

福建省杪椋科植物的分子分类学研究

陈鹭真, 李振基, 周涵韬

(厦门大学生命科学学院, 福建 厦门 361005)

摘要: 杪椋科下等级设立长期以来存在一定的争议. 以福建省内 5 种杪椋科植物刺杪椋 (*Alsophila spinulosa* (Hook.) Tryon)、黑杪椋 (*Gymnosphaera podophylla* (Hook.) Copel.)、针毛杪椋 (*G. metteniana* (Hance) Tagawa)、粗齿杪椋 (*G. hancockii* (Copel.) Ching)、牛姆林杪椋 (*G. niuulinensis* Li, Chen et Deng) (新拟) 为材料, 采用改进的 CTAB 法获得了纯度较高, 得率高, 片段完整 (片段大小均大于 23 kb) 的基因组 DNA, 并运用 RAPD 技术对这 5 种杪椋进行了遗传多样性分析. 从 40 个 10-mer 随机引物中筛选 30 个有效引物, 并利用这 30 个有效引物共扩增出 1 073 条 DNA 带. 利用 UPGA 法对杪椋科的 5 个种的种间亲缘关系进行聚类分析, 得出 5 个种的 DNA 分子分类系统图. 结果表明, 可以分为针毛杪椋、刺杪椋和黑杪椋 3 组, 平均遗传距离为 0.61, 符合属间的关系, 从而确定了 RAPD 技术用于杪椋科植物分子分类研究的可行性. 结合前人在形态解剖学方面的工作, 提出这 5 种杪椋科植物可以分为 3 个类群, 即刺杪椋类、黑杪椋类和针毛杪椋类, 并提供了 3 个类群的检索表.

关键词: 杪椋; RAPD; 分子分类

中图分类号: Q 753

文献标识码: A

杪椋科 (Cyatheaceae) 植物是地球上的最古老的蕨类植物, 在地球上已有 2 亿多万年的历史, 中生代侏罗纪时期生长繁茂, 但由于第四纪冰川的侵袭, 杪椋的生存受到严重影响, 分布范围大大缩小, 仅在一些低纬度的生境中生存. 由于杪椋科植物具有古老性和子遗性, 它对研究物种的形成和植物地理区系具有重要价值, 在《国家重点保护野生植物名录》中, 杪椋科植物被列为国家二级保护植物; 在《濒危野生动植物种国际贸易公约》(CITES) 中杪椋科植物被列为附录 物种; 在《森林法》第三十八条制定的《国家禁止、限制出口的珍贵树木名录》中, 全部杪椋被列为限制出口的树种. 目前, 在我国主要分布于台湾、福建、海南、广东、广西、贵州、四川、云南、西藏等省区的高湿、荫蔽的生境中.

目前野生杪椋面临着严重的威胁, 包括毁林开荒过程中受到的破坏, 生态旅游过程中生境改变, 环境污染, 药材与其他原因的采集与挖掘, 一些种类甚至没来得及被定名可能就被破坏了, 因此野生杪椋的资源调查、多样性研究和保护, 已经成了目前濒危种类研究和保护的重要内容.

国内外对杪椋科植物已开展了较多的生物学研究工作, 工作大多集中在生态学^[1~3]、解剖学^[4,5]、繁殖生物学^[6]、生理学^[7]以及核型研究^[8]等方面, 对杪椋科植物的分类主要通过形态比较、细胞学观察, 包括核型观察等进行研究^[4~18], 但还未见应用分子生物学方法对杪椋科植物进行分类的报道. 本文通过对福建省内的 5 种杪椋科植物进行 RAPD 分析, 从 DNA 分子水平上探讨杪椋科不同种之间的遗传关系, 从而为进一步保护珍稀濒危的杪椋种类, 有效地利用常见的杪椋资源提供科学依据.

1 材料和方法

1.1 材料

(1) 杪椋科植物样品: 实验用 5 种杪椋科植物嫩叶样品为: 刺杪椋 (*Alsophila spinulosa* (Hook.) Tryon)、黑杪椋 (*Gymnosphaera podophylla* (Hook.) Copel.)、针毛杪椋 (*G. metteniana* (Hance) Tagawa)、粗齿杪椋 (*G. hancockii* (Copel.) Ching)、牛姆林杪椋 (*G. niuulinensis* Li, Chen et Deng) (新拟). 除刺杪椋采自位于东经 117°14', 北纬 24°56' 的福建虎伯寮国家级自然保护区的和溪乐土外, 其余 4 种杪椋

收稿日期: 2001-11-20

作者简介: 陈鹭真 (1977-), 女, 硕士研究生.

表 1 5 种桫欏科植物生境特征

Tab. 1 Habitat characteristics of 5 species of Cyatheaceae

种 类	海拔/m	土壤	年均温/	年降水量/mm	离沟谷距离/m	湿度/%	光照要求
刺桫欏 (<i>Alsophila spinulosa</i>)	255	砖红壤性红壤	20.4	2 000	1~5	100	耐荫
黑桫欏 (<i>Gymnosphaera podophylla</i>)	660	山地红壤	17.5	1 700	1~3	100	弱阳性
针毛桫欏 (<i>G. metteniana</i>)	580	山地红壤	17.5	1 700	5~10	80~90	耐荫
粗齿桫欏 (<i>G. hancockii</i>)	580	山地红壤	17.5	1 700	5~10	80~90	耐荫
牛姆林桫欏 (<i>G. niuulinensis</i>)	670	山地红壤	17.5	1 700	1~2	90~95	弱阳性

均采自位于东经 117 55 ~ 117 57 , 北纬 25 23 ~ 25 ° 25 的永春县境内的福建牛姆林自然保护区核心区, 采集时间为 2001 年 3 月, 生境特征详见表 1. 鲜样采后保存在 - 70 的低温冰箱中.

新拟的牛姆林桫欏高 60 ~ 100 cm, 地上无主干, 叶簇生, 叶柄、叶轴和羽轴栗黑色至深紫红色, 叶片卵状长圆形, 长 30 ~ 60 cm, 宽 20 ~ 30 cm, 二回羽状深裂, 羽片约 12 对, 近对生, 斜展, 下部 2 ~ 3 对羽片有柄, 羽片长 8 ~ 15 cm, 下部羽片深裂至近羽轴, 上部羽片浅裂, 顶端长渐尖. 叶脉羽状, 不明显, 叶纸质, 下面灰绿色, 叶轴和羽轴上面被棕色鳞片. 孢子囊群圆形, 沿中脉两侧排成 2 ~ 3 行, 无孢子囊群盖, 无隔丝.

(2) 试剂: Taq DNA 聚合酶、单核苷酸 (dNTPs)、分子 Marker、CTAB 等均为 Promega 公司产品; 所用引物 (表 2) 为 Operon 公司产品; 其它试剂均为国产分析纯试剂.

(3) 仪器 PCR 仪: Biometra, T3 型; 紫外分光光度计: 752 型; 电泳仪: BIO-RAD 公司, Power300 型; 凝胶成像系统: UVP 公司, GDS8000.

1.2 实验方法

(1) 桫欏科植物 DNA 的提取及检测

桫欏科植物总基因组的提取, 采用改进的 CTAB (cetyl trimethyl ammonium bromide, 十六烷基三甲基溴化铵法)^[20]. 称取 0.8 g 桫欏的叶状体 (去除维管束), 加液氮研磨成粉状, 加入预热至 65 的 CTAB 抽提缓冲液 (1% - 巯基乙醇, 2% CTAB, 1.4 mol/dm³ NaCl, 20 mmol/dm³ EDTA, 100 mmol/dm³ Tris-HCl, pH8.0) 混匀, 65 恒温 1 h. 加入等体积的氯仿 异戊醇 (24:1) 抽提. 于 15 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 加入 2/3 体积异丙醇混匀, 置于 - 20 冰箱中 60 min. 于 15 000 r/min 离心 10 min. 弃上清液, 沉淀用 70% 的酒精洗两次, 待酒精挥发干后, 加入 400 μL

表 2 30 个有效引物对 5 种桫欏 DNA 的扩增情况

Tab. 2 Amplifications of 30 effective primers on 5 species of Cyatheaceae

编号	引物名	序列 (5' ~ 3')	总带数	带数/样品
1	S11	GTA GACCCGT	21	4.2
2	S12	CCTTGACGCA	52	10.4
3	S13	TTCCTCCGCT	19	3.8
4	S15	GGA GGGTGT	16	3.2
5	S17	AGGGAACGAG	41	8.2
6	S21	CAGCCCTTC	55	11.0
7	S22	TGCCGAGCTG	40	8.0
8	S23	AGTCA GCCAC	50	10.0
9	S24	AATCGGGCTG	42	8.4
10	S26	GGTCCCTGAC	43	8.6
11	S28	GTGACGTAGG	11	2.2
12	S29	GGGTAACGCC	32	6.4
13	S49	CTCTGGAGAC	19	3.8
14	S51	AGCCCATTTG	31	6.2
15	S52	CACCGTATCC	48	9.6
16	S53	GGGGTGACGA	37	7.4
17	S54	CTTCCCAAG	61	12.2
18	S55	CATCCGTGCT	40	8.0
19	S56	AGGGCGTAAAG	38	7.6
20	S58	GAGAGCCAAC	29	5.8
21	S59	CTGGGGACTT	27	5.4
22	S61	TTCGAGCCAG	42	8.4
23	S62	GTGAGGCGTC	28	5.6
24	S63	GGGGGICTTT	31	6.2
25	S64	CCGCATCTAC	28	5.6
26	S65	GATGACCCCC	30	6.0
27	S66	GAACGGACTC	41	8.2
28	S67	GTCCTGACGA	43	8.6
29	S68	TGGACCGGTG	36	7.2
30	S69	CTCACCCTCC	42	8.4
	平均		35.8	7.2

TE缓冲液溶解.加入 RNase 至终浓度为 50 ng/cm^3 , 置于 37°C 恒温水浴 60 min .加入等体积酚 氯仿 异戊醇(25 24 1)抽提两次,于 $15\,000 \text{ r/min}$ 离心 10 min .取上清液,加入 $1/10$ 体积 3 mol/dm^3 NaAc 和 2 倍体积的无水乙醇,置于 -20°C 冰箱中 90 min .于 $15\,000 \text{ r/min}$ 离心 10 min ,弃上清液,沉淀用 70% 的酒精洗两次.待酒精挥干后,加入 $50 \mu\text{L}$ TE 缓冲液溶解.

(2) RAPD 反应

聚合酶链式反应(PCR)体系 Taq DNA 聚合酶 1 U ,引物 ($5 \mu\text{mol/dm}^3$) $2 \mu\text{L}$, dNTPs (1 mmol/dm^3) $2.5 \mu\text{L}$, $10 \times$ buffer $2.5 \mu\text{L}$, MgCl_2 (2 mmol/dm^3) $2.5 \mu\text{L}$, 模板 DNA 50 ng ,加超纯水至 $25 \mu\text{L}$. PCR 循环设置为: 94°C 变性 1 min , 36°C 复性 1 min , 72°C 延伸 2 min ,共 40 个循环,然后 72°C 延伸 7 min ,最后将结果置于 4°C 冰箱保存.然后做电泳观察.

(3) 数据的统计与分析

按琼脂糖凝胶同一位置上 DNA 带的有无进行统计,有带的记为 '1' (包括弱带),无带的记为 '0'.利用 UPGA (unweighted pair group average) 统计软件对所得数据进行统计分析.

2 结果与分析

2.1 DNA 提取结果

提取的 5 种桫欏科植物 DNA 溶液.琼脂糖凝胶电泳检测结果见图 1.

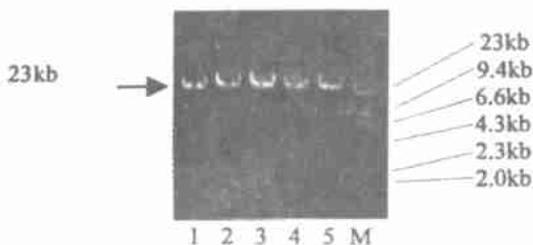


图 1 5 种桫欏科植物 DNA 电泳检测图谱

(1~5 依次为: 1. 针毛桫欏, 2. 牛姆林桫欏, 3. 粗齿桫欏, 4. 黑桫欏, 5. 刺桫欏; M 为 DNA/ Hind 分子量标记)

Fig. 1 DNA electrophoresis examination of 5 species of Cyatheaceae

由图 1 可知, 5 种桫欏的 DNA 纯度较好, DNA

的片段大小均一, 长度均大于 23 kb , 有利于 RAPD 扩增.

2.2 引物的筛选及扩增结果

从 40 个 10-mer 随机引物中筛选出 30 个有效引物(表 2). 引物的筛选是根据以下原则进行的: 扩增多态性引物的能力; 条带强度; 扩增条带数; 多态性位点数目和扩增的重复性. 这 30 个有效引物在 5 种桫欏中共扩增出 1 073 条 DNA 带, 平均每个引物扩增条带数为 35.8 条, 引物扩增得到 PCR 指纹图谱见图 2. 并对 DNA 带型进行统计.

2.3 桫欏植物 RAPD 聚类分析

利用 UPGA 统计软件对 30 个有效引物在 5 种桫欏科植物 DNA 中扩增产生的共 1 073 条 DNA 带进行分析. 首先得到的是 5 种桫欏科植物间的遗传距离矩阵(表 3). 遗传距离越大, 其种间的亲缘关系也就越远. 在表 3 的基础上进而作出 5 个种的 DNA 分子分类系统图(图 3). 从图 3 中可以清楚的看到, 5 个种的遗传距离的远近. 聚类分析的结果, 可将 5 种桫欏科植物分为 3 组, 第 1 组为针毛桫欏、粗齿桫欏; 第 2 组为刺桫欏; 第 3 组为牛姆林桫欏和黑桫欏.

表 3 5 种桫欏科植物种间的遗传距离矩阵

Tab. 3 Genetic distance matrix among 5 species of Cyatheaceae

	针毛桫欏	牛姆林桫欏	粗齿桫欏	黑桫欏	刺桫欏
针毛桫欏	0				
牛姆林桫欏	0.64	0			
粗齿桫欏	0.49	0.60	0		
黑桫欏	0.65	0.62	0.63	0	
刺桫欏	0.56	0.64	0.63	0.64	0

3 讨论

3.1 桫欏遗传距离之间的关系

从聚类分析的结果看, 这 5 种桫欏科植物平均遗传距离为 0.61, 可分为 3 组. 第 1 组为针毛桫欏、粗齿桫欏, 遗传距离是 0.49. 第 2 组为刺桫欏, 和第 1 组平均距离是 0.595. 第 3 组为牛姆林桫欏和黑桫欏, 其与前两组的遗传距离是 0.635.

桫欏科植物是真蕨中的一个独特的类群, 因其大多具有树状的自立茎, 又称为树蕨. 桫欏科植物基

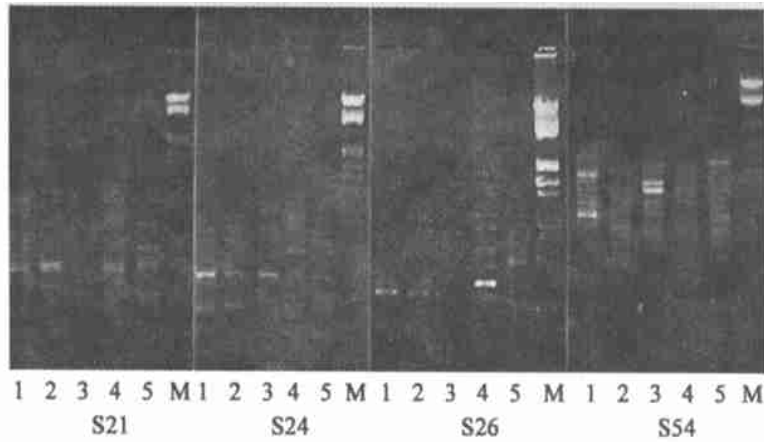


图2 桫欏科5种植物的DNA指纹图谱

(1~5依次为:1. 针毛桫欏,2. 牛姆林桫欏,3. 粗齿桫欏,4. 黑桫欏,5. 刺桫欏;M为DNA EcoR / Hind 分子量标记)

Fig.2 Genomic DNA fingerprints of 5 species of Cyatheaaceae

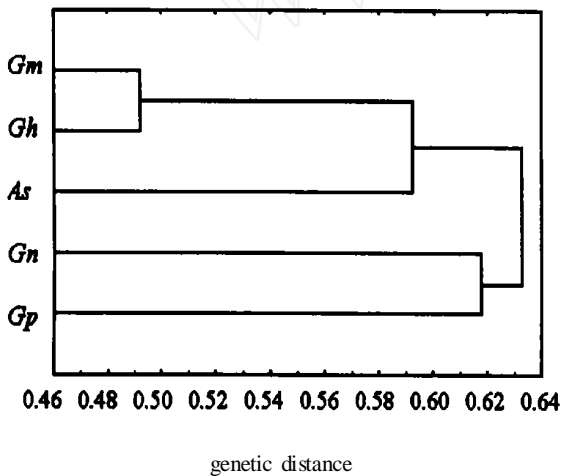


图3 桫欏科5种植物的分子聚类图

(Gm: 针毛桫欏, Gh: 粗齿桫欏, As: 刺桫欏, Gn: 牛姆林桫欏, Gp: 黑桫欏)

Fig.3 DNA molecular dendrogram of 5 species of Cyatheaaceae

部有多数不定根,或地下根状茎粗大,顶部密被鳞片.叶大型且被毛或近基部有大鳞片,鳞片质坚厚.叶片为二回或三回羽状,分离或少有连结.孢子囊群圆形,有或无囊群盖^[13].目前,全世界约有该科植物500种^[14~17],中国已知有20余种,其中木桫欏属(*Alsophila*)10余种,黑桫欏属(*Gymnosphaera*)约5种,白桫欏属(*Sphaeropteris*)3种^[12,13].在福建省境内已报道的有这3个属共6种1变种植物^[11,12],其中厦门引种栽培的笔筒树^[11]已不复存在,福建植物志中报道的福建桫欏^[12]已被并入小黑桫欏(即针毛桫欏)^[11],我们在永春牛姆林科学考察过程中发现一

新种,因此实际上福建目前有2属5种1变种桫欏科植物.

长期以来,桫欏科科下等级的设立有一定的争议.1810年Brown根据孢子囊群盖的有无以及盖的形状,将它划分为*Cyathea*、*Hemitelia*和*Alsophila*3属,1930年Domin把它们并为1属,Copeland(1947)将桫欏科植物分成7属^[11].近年来Tyron对美洲桫欏科植物研究之后提出6属^[14,16],受到广泛注意.而Holttum(1957,1974,1981)认为所查明的桫欏科植物的染色体数目都是 $n=69$,坚持合并为1属^[18].秦仁昌1978年将中国的桫欏科植物分为木桫欏属*Alsophila*、白桫欏属*Sphaeropteris*和黑桫欏属*Gymnosphaera*^[12],夏群(1989)根据叶柄基部的鳞片和叶轴背面两侧的气囊体的异同把桫欏科植物归为2属,即白桫欏属*Sphaeropteris*和桫欏属*Alsophila*,把黑桫欏属并入桫欏属^[11].

我们从分子分类学的角度来研究桫欏科植物的亲缘关系表明:5种福建所采集到的桫欏科植物的遗传距离范围在0.49到0.64之间,遗传距离较近,符合属间的关系.因此这里我们暂把它们分为3个类群,即刺桫欏类、黑桫欏类和针毛桫欏类.刺桫欏类自成体系毫无疑问,如秦仁昌、吴兆洪等都将其作为1个属来处理^[12,13],夏群也提出桫欏亚属(即木桫欏亚属)的植物有孢子囊群盖,每个孢子囊能产生16个孢子,而黑桫欏类植物无孢子囊群盖,每个孢子囊能产生64个孢子^[11].我们注意到前者不仅在形态上叶轴呈禾秆色,而且叶轴的质地很硬,后者绝非如此.在孢子形态上它们也相差很大(待发表).

表 4 福建桫欏科 3 个类群植物分类检索表

Tab. 4 Classification of 3 groups of Cyatheaceae on morphology in Fujian

1. 有囊群盖;每个孢子囊能产生 16 个孢子;叶柄和叶轴在新鲜时常为绿色 木桫欏类 *Alsophila*
1. 无囊群盖;每个孢子囊能产生 64 个孢子;叶柄和叶轴通常黑色、深紫褐色或棕色。
2. 叶为一至二回羽状;能育小羽片与不育小羽片略呈二形;叶柄和叶轴通常黑色、深紫褐色,小羽片边缘仅具疏钝锯齿或波状圆齿,其相邻两组羽状脉的基部一对侧脉的基部一对侧脉通常在中部或上部联结于囊群无隔丝,分布于林内光窗,地理分布范围在南亚热带以南,海拔高度偏低 2. 黑桫欏类 *Eugymnosphaera*
2. 叶为三回羽裂;能育小羽片与不育小羽片不呈二形;叶柄和叶轴通常棕色,小羽片边缘羽裂至深羽裂,侧脉全部分离,不联结;孢子囊群有隔丝,分布于阴暗生境,地理分布范围在南亚热带以南,海拔高度偏低 3. 针毛桫欏类 *Tripinnatopteris*

进一步我们对传统的黑桫欏属进行讨论。它们聚类分析的结果分别排在第 1 组与第 3 组,中间为木桫欏类所断开。进一步从形态上对它们进行认真比较,表明它们之间也可以较明显地分为 2 个类群:针毛桫欏类和黑桫欏类。吴兆洪曾提及传统的黑桫欏属可以分为 2 个组,真黑桫欏组 *Eugymnosphaera* 的能育小羽片与不育小羽片略呈二形,而 *Thysanobotrya* 组的能育小羽片与不育小羽片明显二形(我国不产)^[13]。我们注意到针毛桫欏类的针毛桫欏、粗齿桫欏和未能采集到的光叶小黑桫欏变种的能育小羽片与不育小羽片不呈二形,在分布范围上它们处于中国桫欏分布的北界的广东、广西中部以北的几个省份和较高海拔的位置,在生境需求方面它们更耐荫。因此在这里我们将它们分成针毛桫欏类和黑桫欏类。这 3 个类群的检索表如表 4。

3.2 桫欏科植物遗传多样性研究的意义

桫欏科植物均为珍惜的子遗植物,因为其具有较高的药用和庭园观赏价值,所以其遗传育种更受到人们的关注。由于在野生状态下桫欏科植物的孢子繁殖力不高,这样对桫欏的遗传育种研究更为重要。对桫欏科植物的分子分类学研究,对桫欏资源的保护和开发具有重要意义。另外,目前桫欏引栽幼株的方法成活率虽然高,但若配以遗传育种的方法,能够大大推广桫欏的种植。目前,有一些桫欏种类已经得到试管苗,可以选择与之遗传距离相近的种类进行培养。因此,桫欏科植物的亲缘关系的研究,可以指导桫欏科植物的遗传育种,具有较大的现实意义。

RAPD 反应采用合成的 10 核苷酸随机引物,对核基因组 DNA 进行 PCR 扩增。它具有较大的丰富性、高效性和灵敏性^[20],理论上所检测的遗传变异可反映整个基因组的变化,技术上简便易行,对所需设备要求也不高,而且在条件控制得当时,也具有较高的重复性。但是 RAPD 技术只有在筛选到能特异扩

增的有效引物后,才能将它用于分子分类学的研究。本实验结果表明在科下亲缘关系的研究结果与传统的形态分类存在一定的差异,这与两种分类方法建立的基础不同有关。汪小全等认为 RAPD 方法应用于种间乃至近缘属之间亲缘关系的研究,但有一定的局限性^[22]。这种差异有待于进一步研究。但通过重复性实验得到的结果表明本实验能较为客观地反映这 5 种桫欏科植物的相互关系。为了建立一套更客观的桫欏科植物的自然分类系统,我们还要从传统分类学、蛋白质水平,以及 DNA 水平上,进一步开展研究工作。

参考文献:

- [1] Arens N C. Variation in performance of the tree fern *Cyathea caracasana* (Cyatheaceae) across a successional mosaic in an Andean cloud forest[J]. *Amer. J. Bot.*, 2001, 88: 545 - 551.
- [2] Arens N C, Sánchez Baracaldo P. Distribution of tree ferns (Cyatheaceae) across the successional mosaic in an Andean cloud forest, Nariño, Colombia[J]. *Amer. Fern J.*, 1998, 88: 60 - 71.
- [3] Arens N C, Sánchez Baracaldo P. Variation in tree fern stipe length with canopy height: tracking preferred habitat through morphological change[J]. *Amer. Fern J.*, 2000, 90: 1 - 15.
- [4] Carlquist S, Schneider E L. SEM Studies on vessels in ferns. 16. Pacific tree ferns (Blechnaceae, Cyatheaceae, Dicksoniaceae)[J]. *Pac. Sci.*, 2000, 54(1): 75 - 86.
- [5] Lucansky T W. Anatomical studies of *Sphaeropteris* and *Cnemidaria* (Cyatheaceae)[J]. *Amer. Fern J.*, 1985, 75: 80 - 91.
- [6] Huckaby C S, Raghavan V. Spore germination patterns in the ferns, *Cyathea* and *Dicksonia*[J]. *Ann. Bot.*, 1981, 47: 397 - 403.
- [7] Bittner J, Breckle S W. The growth rate and age of tree fern

- trunks in relation to habitats[J]. *Amer. Fern J.*, 1995, 85: 37 - 42.
- [8] Conant D S, Raubeson L A, Attwood D K, et al. Phylogenetic and evolutionary implications of combined analysis of cpDNA and morphology in the Cyatheaceae (Tree Ferns). *Proceedings of the Royal Botanical Garden Symposium on Pteridophytes*[M]. New York: Kew Botanical Gardens Press, 1998.
- [9] Castony G J, Tryon R M. Spore morphology in the Cyatheaceae. 2. The genera *Lophosoria*, *Metaxya*, *Alsophila* and *Nephelea*[J]. *Amer. J. Bot.*, 1976, 63: 738 - 756.
- [10] 林来官主编. 福建植物志(第一卷)(修订本)[M]. 福州:福建科学技术出版社,1991. 176 - 180.
- [11] 夏群. 中国桫欏科植物的分类[J]. *植物分类学报*, 1989,27(1): 1 - 16.
- [12] 秦仁昌. 中国蕨类植物科属的系统排列和历史来源[J]. *植物分类学报*,1978,16(3): 1 - 19.
- [13] 吴兆洪,秦仁昌. 中国蕨类植物科属志[M]. 北京: 科学出版社,1991. 190 - 198.
- [14] Tryon R M. The classification of the Cyatheaceae[J]. *Contr. Gray Herb.*, 1970, 200: 3 - 53.
- [15] Tryon R M. A revision of the genus *Cyathea*[J]. *Contr. Gray Herb.*, 1976, 206: 19 - 98.
- [16] Tryon R M, Tryon A F. Ferns and allied plants with special reference to tropical America [M]. New York: Springer-Verlag, 1982. 138 - 212.
- [17] Tryon A F, Lugardon B. Spores of the Pteridophytes: Surface, wall structure, and diversity based on electron microscope studies [M]. New York: Springer-Verlag, 1991. 648.
- [18] Holttum R E. The scales of Cyatheaceae[J]. *Kew Bull.*, 1957, 41 - 45.
- [19] Welsh J, McClelland M. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers[J]. *Nucleic Acids Res.*, 1990, 18(24): 7 213 - 7 218.
- [20] Zhou Hantao, Lin Peng, Zheng Dezhang, et al. Molecular classification of seven species of mangroves in Jiulongjiang Estuary in Fujian [J]. *J. Oceanography in Taiwan Strait*, 2001,20(1),66 - 71.
- [21] 王和勇,陈敏,廖志华,等. RFLP,RAPD,AFLP 分子标记及其在植物生物技术中的应用[J]. *生物学杂志*, 1999,16(4):24 - 25.
- [22] 汪小全,邹喻苹,张大明,等. RAPD 应用于遗传多样性和系统学研究中的问题[J]. *植物学报*,1996,38(12):954 - 962.

Study on Molecular Taxonomy of 5 Species of Cyatheaceae in Fujian

CHEN Lu-zhen, LI Zhen-ji, ZHOU Han-tao

(School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: The classification of the species of Cyatheaceae has been disputative for a long time. Genetic method of RAPD was used to analyse the genetic distance of 5 species of Cyatheaceae in Fujian Province. Their DNAs were extracted by the CTAB method. 30 effective primers were screened from 40 arbitrary primers, and 1 073 DNA bands were amplified. Based on UPGA cluster analysis on DNA bands amplified by 30 primers, a DNA molecular dendrogram was established. The 5 species of Cyatheaceae can be divided into 3 groups. Group A, B, C consist of *Gymnosphaera metteniana* and *G. hancockii*, *Alsophila spinulosa*, and *G. podophylla* and *G. niuulinensis*, respectively. The 3 groups of Cyatheaceas plants have been posed from the 5 species combining our molecular analysis with reported morphological and anatomical results.

Key words: Cyatheaceae; RAPD; molecular taxonomy