

Wang, X.Q. & Li, Z.Y. 1998

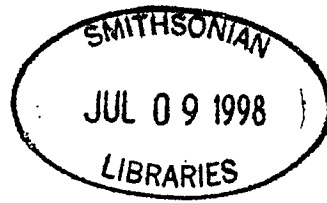
The application of sequence analysis of rDNA fragment to the systematic study of the subfamily Cyrtandroideae (Gesneriaceae).

Acta Phytotax. Sin. 36: 97-105. [In Chinese with English abstract.]

REFNO: 2795

KEYWORDS:

Anna, Briggsia, Chirita, Cyrtandra, Molecular Systematics, Whytockia



rDNA 片段的序列分析在苦苣苔亚科 系统学研究中的应用*

汪小全 李振宇

(中国科学院植物研究所系统与进化植物学开放研究实验室 北京 100093)

THE APPLICATION OF SEQUENCE ANALYSIS OF rDNA FRAGMENT TO THE SYSTEMATIC STUDY OF THE SUBFAMILY CYRTANDROIDEAE (GESNERIACEAE)

WANG Xiao-Quan LI Zhen-Yu

(Laboratory of Systematic and Evolutionary Botany, Institute of Botany, the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093)

Abstract A molecular phylogeny of the subfamily Cyrtandroideae represented by five genera of four tribes was constructed using sequence analysis of the internal transcribed spacers (ITS) and partial 5.8 S rRNA gene (3' end) of nuclear ribosomal DNA. Direct PCR sequencing method was used in the study. The sequences of ITS-1 in the five species range from 234 bp to 258 bp in size and those of ITS-2 from 218 bp to 246 bp. The ITS-1 (258 bp) and ITS-2 (218 bp) of *Whytockia bijieensis* differ greatly from those of the other species in size, sequence and G + C content, and therefore the tribe Klugieae represented by *W. bijieensis* may have diverged from the ancestor of the subfamily Cyrtandroideae at a very early time. In PAUP analysis, *W. bijieensis* was used as the functional outgroup, and only one most parsimonious Fitch tree was obtained through exhaustive search. The tree has 353 steps, with CI = 0.932 and RI = 0.529. In the tree, *Chirita crassifolia* is basal to a monophyletic group comprising *Cyrtandra umbellifera*, *Briggsia longipes* and *Anna mollifolia*, and the monophyletic group is strongly supported by the bootstrap value (97). The tribes Trichosporeae and Cyrtandreae represented respectively by *Anna mollifolia* and *Cyrtandra umbellifera* both evolved from the tribe Didymocarpeae, which can explain why many intermediate taxa exist among the three tribes. According to this, the present authors suggest that the tribe Trichosporeae and the tribe Cyrtandreae be merged with the tribe Didymocarpeae.

Key words Cyrtandroideae; Internal transcribed spacers (ITS); Molecular phylogeny
摘要 本文测定了苦苣苔亚科 4 族、5 属、5 种植物的核糖体 DNA 中的内转录间隔区 (ITS) 序列及 5.8 S rRNA 基因的 3' 端序列。这几种苦苣苔亚科植物的 ITS-1 的长度范围为 234~258 bp, ITS-2 的长度范围为 218~246 bp。 *Whytockia bijieensis* 的 ITS-1 (258 bp) 和 ITS-2 (218 bp) 在长度、序列及 GC 含量上均与其它几个种有较大差异, 其代表的尖舌苣苔族可能很早就自苦苣苔亚科的祖先沿单独的一个分支演化。以 *W. bijieensis* 作为功能性外类群, 运用 PAUP 软件分析仅得到一个最简约树。在简约树上, *Cyrtandra umbellifera*、*Briggsia longipes* 和 *Anna mollifolia* 形成一个单系群, bootstrap 分析对该分支的

* 国家自然科学基金“九·五”重点项目 (39630030) 资助。
潘开玉和洪德元教授给予热情指教, 王印政博士提供部分实验材料, 韩英小姐参加部分实验, 谨此一并致谢。
1997-12-20 收稿, 1998-01-12 收修改稿。

辰宇 (97)
开玉 (106)
……
家恒 (111)
E海 (119)
……
家恒 (128)
惠元 (134)
嵩阳 (145)
文采 (150)
文森 (173)
文民 (178)

盘版)》免
中国学术
单位未设

作者, 及
外的各种
告本刊编
刊投稿的

编辑部

支持强度达 97%, *Chirita crassifolia* 位于该分支的基部。由于系统树上 *Cyrtandra umbellifera* 代表的浆果苣苔族和 *Anna mollifolia* 代表的芒毛苣苔族均起源于长蒴苣苔族, 结合这 3 个族在形态上存在过渡系列, 建议将浆果苣苔族和芒毛苣苔族均并入长蒴苣苔族。

关键词 苦苣苔亚科; ITS; 分子系统发育

苦苣苔亚科 Cyrtandroideae 主要分布于亚洲及非洲热带地区(王文采等, 1990), 该亚科内族的划分、族的范围及族间关系存在较多争议。Burt (1962) 将该亚科分为 5 个族, 即浆果苣苔族 Trib. Cyrtandreae、芒毛苣苔族 Trib. Trichosporeae、尖舌苣苔族 Trib. Klugiae、出蕊苣苔族 Trib. Loxonieae 和长蒴苣苔族 Trib. Didymocarpeae。后来, Burt 又将 Trib. Loxonieae 并入尖舌苣苔族, 将 *Cyrtandromoea* (Burt, 1965) 和 *Jerdonia* 先后移置于玄参科, 至此, 苦苣苔亚科共分为 4 个族。由于浆果苣苔族、长蒴苣苔族和芒毛苣苔族间存在明显过渡系列, 性状上存在交叉, Burt (1977) 提出是否将这 3 个族并为 1 个族, 下设 3 个亚族, 或将尖舌苣苔族提升为亚科。Wang *et al.* (1992) 将苦苣苔亚科分为 6 个族, 即苦苣苔族 Trib. Ramondeae、长蒴苣苔族、芒毛苣苔族、浆果苣苔族、尖舌苣苔族和台闽苣苔族 Trib. Titanotricheae, 其苦苣苔族为 Burt (1962) 系统中的长蒴苣苔族的一部分, 台闽苣苔族仅含台闽苣苔属 *Titanotrichum*。

九十年代以来, 分子系统学的飞速发展给植物系统学中很多疑难问题的解决提供了重要佐证。Smith *et al.* (1997) 根据叶绿体基因 *ndhF* 的序列分析构建了苦苣苔科的系统树, 这一工作涉及苦苣苔科的 47 个属(所有的族), 澄清了一些争议属的系统位置 (Smith *et al.*, 1997), 对苦苣苔科的系统发育研究具有重要意义。然而, 叶绿体基因是单亲遗传的, 在揭示网状进化事件方面具有极大的局限性。考虑到苦苣苔科内的网状进化事件十分频繁 (Smith *et al.*, 1996; Luegmayr, 1993; Wagner *et al.*, 1990), 有必要选择双亲遗传的核基因对该科的系统发育进行进一步研究。近年来, 核糖体 DNA 中的内转录间隔区 (ITS) 序列已被广泛用于植物属内、近缘属间乃至科内的系统发育研究, 并取得了一系列重要进展 (Baldwin *et al.*, 1995; Sang *et al.*, 1995; Hodges & Arnold, 1994; Suh *et al.*, 1993)。笔者尝试 ITS 及 5.8 S rRNA 基因序列分析在苦苣苔亚科系统发育研究中的价值。

1 材料与方法

1.1 材料来源

用于 DNA 提取的材料为苦苣苔亚科 4 族、5 属、5 种植物的新鲜或硅胶干燥的叶片, 来源见表 1。

1.2 总 DNA 提取

总 DNA 提取方法为 CTAB 法 (Rogers & Bendich, 1988), 但将 1V CTAB 沉淀液沉淀 DNA 这一步骤改为 1V 异丙醇沉淀 DNA。

1.3 引物设计及选择

ITS-1 的扩增引物 (P_1 , P_2) 根据水稻 rRNA 基因序列 (Takaiwa *et al.*, 1985) 设计。 P_1 位于 18 S rRNA 基因 3' 端上游 48~23 个碱基处, 其序列为 5'-AGA AGT CGT AAC

lifer 代表的形态上存在过

1990), 该亚科为 5 个族, 苔族 Trib. 来, Burtt 又 *nia* 先后移和芒毛苣苔为 1 个族, 斜分为 6 个苣苔族和台苣苔族的一部

解决提供了苦苣苔科的系系统位置本基因是单网状进化必要选择中的内转究, 并取得 1994; Suh 发育研究

燥的叶片,

淀粉液沉淀

85) 设计。

CGT AAC

AAG GTT TCC GTA GG -3'; P_2 位于 5.8 S rRNA 基因 5' 端下游 15~39 个碱基处, 其序列为 5'-GAT GCG AGA GCC GAG ATA TCC GTT G -3'。ITS-2 的扩增引物 P_3 和 P_4 分别同 White *et al.* (1990) 的 ITS-3 和 ITS-4 序列。

表 1 材料来源
Table 1 The origin of materials

Tribe	Species	Locality	Voucher
Trichosporaeae Fritsch	<i>Anna mollifolia</i> (W. T. Wang) W. T. Wang et K. Y. Pan	Dongzhongcao, Xichou, Yunnan	Wang Yin-Zheng 93013
Didymocarpeae Endl.	<i>Briggsia longipes</i> (Hemsl. et Oliv.) Craib	Fadou, Xichou, Yunnan	Wang Yin-Zheng 92045
Didymocarpeae Endl.	<i>Chirita crassifolia</i> Z. Y. Li et Y. Z. Wang, ined.	Longgang, Longzhou, Guangxi	Wang Yin-Zheng 92105
Cyrtandreae Bl.	<i>Cyrtandra umbellifera</i> Merr.	Lanyu Island, Taiwan	Li Zhen-Yu 11036
Klugiaceae Fritsch	<i>Whytockia bijieensis</i> Y. Z. Wang et Z. Y. Li	Shengji, Bijie, Guizhou	Wang Yin-Zheng 95001

1.4 ITS 的扩增和纯化

ITS 的扩增采取 $P_1 + P_4$ 进行整段扩增, 或用 $P_1 + P_2$ 、 $P_3 + P_4$ 分别扩增 ITS-1 和 ITS-2。 $P_1 + P_4$ 和 $P_3 + P_4$ 的扩增程序为: 70°C, 4 min → 94°C, 1 min; 55°C, 20 s; 72°C, 50 s; 两个循环 → 94°C, 20 s; 55°C, 20 s; 72°C, 50 s; 38 个循环 → 72°C, 4 min。 $P_1 + P_2$ 的扩增程序基本同上述程序, 但将退火温度改为 65°C, 延伸时间改为 30 s。 扩增反应在 PE 公司的 9600 型 PCR 仪上进行, 反应体积均为 50 μ l, 内含 50 mmol/L Tris-HCl (pH8.3), 0.025 g/L BSA, 2 mmol/L MgCl₂, 1.5 U Taq DNA 聚合酶(中国农业大学产品), dATP、dGTP、dCTP 和 dTTP 各 200 μ mol/L, 10~20 ng 总 DNA, 相应的正反向引物各 12.5 pmols。 PCR 产物经 Sephaglas™ Bandprep Kit (Pharmacia Co.) 或 Wizard PCR Preps DNA Purification System (Promega) 纯化后直接用于测序反应。

1.5 测序反应及检测

测序工作在 LKB DNA 测序仪上进行, 试剂选用 Promega 公司的银染测序系统 (Silver Sequence™ DNA Sequencing System), 每个物种的 ITS 均用 P_1 、 P_2 、 P_3 和 P_4 4 个引物测定, 即均对正反链进行测定。 测序反应使用薄壁管并在 PE 公司的 9600 型 PCR 仪上进行, 反应体积为 6 μ l。 P_3 及 P_4 的测序反应程序为: 94°C, 1 min → 94°C, 30 s; 45°C, 15 s; 70°C, 50~60 s; 两个循环 → 94°C, 15 s; 45°C, 15 s; 70°C, 50~60 s; 50 个循环。 P_1 及 P_2 的测序反应程序基本同 P_3 及 P_4 的测序反应程序, 仅退火温度变为 60°C, 延伸温度变为 72°C, 延伸时间变为 30 s。

1.6 序列分析及系统树构建

ITS-1 及 ITS-2 的范围根据水稻 rDNA 序列确定, 序列排列用 CLUSTAL V 软件 (Higgins, 1994) 完成, 然后手工适当调整以尽量减少排列所需缺隙 (gap) 的数目。 排列好的序列用 PAUP 3.1.1 系统发育分析软件进行分析 (Swofford, 1993)。 PAUP 分析中,

碱基处理作 Fitch 性状(无序), 缺隙分别作为缺失(missing)状态和第五碱基作两种分析。*Whytockia bijieensis* (王印政, 李振宇, 1997) 始终作为功能性外类群(functional outgroup), 最简约树采用竭力法(Exhaustive)寻找。为进一步判断简约树中各分支的可信度, 本文采用 bootstrap 检验方法(500 次重复)。

2 实验结果

本文共测得 5 种苦苣苔亚科植物的 ITS-1 和 ITS-2 的完整序列及其 5.8 S rRNA 基因 3' 端的近 90 个碱基序列, ITS-1 的长度范围为 234~258 bp, ITS-2 的长度范围为 218~246 bp。*Whytockia bijieensis* 的 ITS-1 和 ITS-2 的长度与其它 4 种植物 ITS-1 和 ITS-2 的长度有较大差异, 其序列中的 GC 含量也明显低于其它 4 种苦苣苔亚科植物(表 2)。排列后的 ITS-1, 5.8 S rRNA 基因 3' 端和 ITS-2 序列见图 1。当 gap 处理作缺失状态时,

表 2 苦苣苔亚科 5 种植物的 ITS-1 和 ITS-2 的序列长度及其 GC 含量
Table 2 Sizes and percent G+C content of ITS-1 and ITS-2 of five species in the subfamily Cyrtandroideae

Species	ITS-1		ITS-2	
	Size(bp)	% G+C	Size(bp)	% G+C
<i>Anna mollifolia</i>	238	57	245	56
<i>Briggsia longipes</i>	242	55	237	56
<i>Chirita crassifolia</i>	239	54	246	57
<i>Cyrtandra umbellifera</i>	234	58	242	55
<i>Whytockia bijieensis</i>	258	43	218	47

表 3 苦苣苔亚科 5 种植物的 ITS 及 5.8 S rRNA 基因 3' 端序列间的绝对遗传距离和平均遗传距离
Table 3 Pairwise genetic distances of ITS and partial 5.8 S rRNA gene sequences of five species in the subfamily Cyrtandroideae. Below diagonal are absolute distances while above diagonal are mean distances.

	1	2	3	4	5
1 <i>Anna mollifolia</i>	-	0.099	0.163	0.121	0.368
2 <i>Briggsia longipes</i>	55	-	0.179	0.143	0.374
3 <i>Chirita crassifolia</i>	91	98	-	0.164	0.371
4 <i>Cyrtandra umbellifera</i>	66	77	89	-	0.371
5 <i>Whytockia bijieensis</i>	196	198	199	196	-

列后的序列经 PAUP 分析得到 5 种苦苣苔亚科植物的 ITS 和部分 5.8 S rRNA 基因序列间的绝对遗传距离(核苷酸差异数)和相对遗传距离见表 3, *Whytockia bijieensis* 与苦苣苔亚科其它 4 种植物间的遗传距离均很大。用 Exhaustive 法寻找仅得到一个最简约树, 这个简约树的长度为 353 步, 其一致性指数(CI)和维持性指数(RI)值分别为 0.932 和 0.529。在这个简约树上, *Cyrtandra umbellifera*、*Briggsia longipes* 和 *Anna mollifolia* 形成一个单系群, bootstrap 分析的支持强度达 97%。*Chirita crassifolia* 位于 *Cyrtandra umbellifera* 和外类群 *Whytockia bijieensis* 之间, *Anna mollifolia* 为 *Briggsia longipes* 的姐

两种分析。
outgroup),
度,本文采

S rRNA 基
范围为 218
-1 和 ITS-2
(表 2)。排
状态时,排

Cyrtandroideae

G+C

56

56

57

55

47

遗传距离
species

5

0.368

0.374

0.371

0.371

基因序列
与苦苣苔
的约树,这
932 和 0.
olia 形成
Cyrtandra
ipes 的姐

妹群。当 gap 处理作第五碱基状态时,经 RAUP 分析构建的系统树的结构与图 2 完全一致。

3 讨 论

3.1 ITS 及 5.8 S rRNA 基因序列分析在苦苣苔亚科系统学研究中的价值

本文测定了 5 种苦苣苔亚科植物的 ITS 及 5.8 S rRNA 基因的 3' 端序列,用这 5 个种代表苦苣苔亚科的 4 族、5 属,代表性虽然不足,但除代表尖舌苣苔族的 *Whytockia bijieensis* 外,其它 3 族、4 属、4 种的 ITS 序列的排列并不困难(图 1),说明属间的遗传距离并不太大(表 3),加上高度保守的 5.8 S rRNA 基因序列对揭示远缘属间的系统发育关系能提供一定的信息量(图 1),故结合 ITS 和 5.8 S rRNA 基因序列重建苦苣苔亚科的系统发育是可行的。由于 ITS 序列具有相对较快的进化速率,使其主要用于种间和近缘属间等较低分类等级的系统发育研究,一般不适用于较高分类等级的系统发育研究,如 Kim & Jansen (1996) 发现 ITS-1 序列分析不适用于小檗科的系统发育研究,但 ITS 序列分析应用于科内系统发育研究的例子有很多(Schultheis & Baldwin, 1994; Manos, 1993; Suh *et al.*, 1993)。ITS 序列的进化速率与植物的生活型有一定的相关性(Baldwin *et al.*, 1995),这与叶绿体 DNA 的进化规律是相似的。由于 ITS 在不同植物类群中的进化速率有很大差异,其在系统学研究中的应用范围应视类群而定。

3.2 大苞苣苔属和浆果苣苔属的系统位置及苦苣苔亚科内族的划分问题

Burt (1962) 将大苞苣苔属 *Anna* 置于长蒴苣苔族,但王文采和潘开玉(1982)根据该属的种子两端具钻形附属物将其改置于芒毛苣苔族,本文的研究表明,大苞苣苔属与长蒴苣苔族的 2 属间的遗传距离不大,其在系统树上(图 2)作为 *Briggsia longipes* 的姐妹群得到了 bootstrap 分析的有力支持(94%)。 *Cyrtandra umbellifera* (浆果苣苔族)、 *Briggsia longipes* (长蒴苣苔族) 和 *Anna mollifolia* 形成一个单系的分支, bootstrap 分析对该支的支持强度达 97%, *Chirita crassifolia* (长蒴苣苔族) 位于该分支的基部。系统树的这一分支结构说明有两种可能: (1) 长蒴苣苔族本身不是一个单系群; (2) 芒毛苣苔族和浆果苣苔族均不成立, 均应并入长蒴苣苔族。苦苣苔亚科的 *ndhF* 基因树(Smith *et al.*, 1997) 也表明芒毛苣苔族和长蒴苣苔族均不是单系群。长蒴苣苔族和芒毛苣苔族的差别仅在于后者的种子两端具尾状附属物, 但紫花苣苔属 *Loxostigma* (属芒毛苣苔族) 中有一个陆生种的种子不具尾状附属物, 另有一些附生种的种子具尾状附属物(Burt, 1997)。 *Anna* 和吊石苣苔属 *Lysionotus* (芒毛苣苔族) 中原始的 Sect. *Didymocarpoides* 为地生灌木, 其种子两端仅具钻状突起(李振宇, 1996; 王文采, 1983)。以上事实说明长蒴苣苔族和芒毛苣苔族间存在明显过渡系列, 种子两端具尾状附属物仅是一个有利于传播的特化形式。浆果苣苔族与长蒴苣苔族的区别仅在于前者的果实成熟时肉质化, 变成白色或黄绿色的浆果, 这两个族在花部形态及果实等性状上也存在交叉: 短筒苣苔属 *Boeica* (长蒴苣苔族) 与线柱苣苔属 *Rhynchotechum* (浆果苣苔族) 均具短筒状、裂片稍不等大的花冠和 4 枚雄蕊(Burt, 1997); *Hexatheca* 的果实应是开裂的蒴果, 但实际上并不开裂, 其果皮在植物体上腐烂, 然后释放种子, 并留下一些维管组织, 因此该属有时放在具蒴果(开裂)的长蒴苣苔族, 有时又放在具浆果(不开裂)的浆果苣苔族(Burt, 1962), 以上事实又说明长蒴苣苔

C. umbellifera n. C. A. T. GA.
W. bijieensis C. AS. TT. T.
 N. T. TC. TTA. A. T

ITS-2	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100					
	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*					
<i>A. mollifolia</i>	ATCTCTTCGCCCCCTTCC	CCCGACATCCTCTTCC	CACACTCAAAGT-GT	CGGAGACG-ATGC	ATGCGAAG-GGGCGCGG	GATATTGGCCTCCCGTTA									
<i>B. longipes</i>A.....A.....G.....C.....G.....T.....G.....TG.....A.....G.....TA.....GAGC.....C.....									
<i>C. crassifolia</i>T.....A.....GGCTT.....	A.....T.....G.....AC.....T.....C.....G.....T.....G.....A.....G.....CG.....A.....G.....GTG.....											
<i>C. umbellifera</i>G.....G.....T.....A.....G.....C.....G.....C.....A.....G.....											
<i>W. bijieensis</i>	A.....A.....G.....T.....ATC.....T.....A.....CT.....GT.....TC.....GG.....T.....GT.....G.....T.....T.....GGATG.....AA.....A.....C.....										
	110	120	130	140	150	160	170	180	190	200					
<i>A. mollifolia</i>	TC	CC	TG	CGTA-G-GG	CGGCCAAATAGT	ATACCGTGT	CGATGATG	TACATGAT	CGTGGT	TGGATT	TC	CAACTT	-CGA	ACTAT	-GT
<i>B. longipes</i>C.....T.....G.....T.....TT.....CC.....C.....AG.....R.....									
<i>C. crassifolia</i>	A.....GTT.....C.....T.....A.....A.....C.....A.....A.....G.....C.....C.....G.....G.....C.....C.....										
<i>C. umbellifera</i>T.....T.....C.....C.....AC.....G.....C.....G.....G.....G.....G.....A.....CITATA								
<i>W. bijieensis</i>	G.....AT.....TTG.....T.....T.....TAGG.....TT.....TT.....C.....C.....CCCT.....TA.....TTAA.....AC.....G.....T.....G.....C.....								
	210	220	230	240	250	260									
<i>A. mollifolia</i>	CGTGTGGTACTGCATCG	GAGCCAGCCGGT	CAGACCCAA-TGG	CAC-AGATTGCCCTCGAAT											
<i>B. longipes</i>C.....AG.....AA.....G.....C.....											
<i>C. crassifolia</i>A.....G.....T.....G.....A.....AA.....T.....											
<i>C. umbellifera</i>G.....A.....G.....T.....AC.....GC.....T.....											
<i>W. bijieensis</i>CC.....A.....T.....T.....T.....AT.....CCAG.....G.....C.....TTGA.....TGAT.....T.....GCT.....AT.....CC.....									

图1 排列后的苦苣苔亚科5种植物的ITS-1, 5.8s rRNA 基因3'端部分及ITS-2序列。圆点表示与*A. mollifolia*对应位置的核苷酸相同, 横线表示空缺(gap), 问号表示数据缺失。
 Fig. 1 Aligned sequences of ITS-1, 3' end of 5.8s rRNA gene, and ITS-2 from 5 species of Cyrtandroideae. Dots in the lines indicate sequence identity with *A. mollifolia*, dashes are gaps required for alignment, and question marks indicate the missing data. Asterisks and numbers indicate positions of nucleotides that are numbered consecutively from the 5' to 3'.

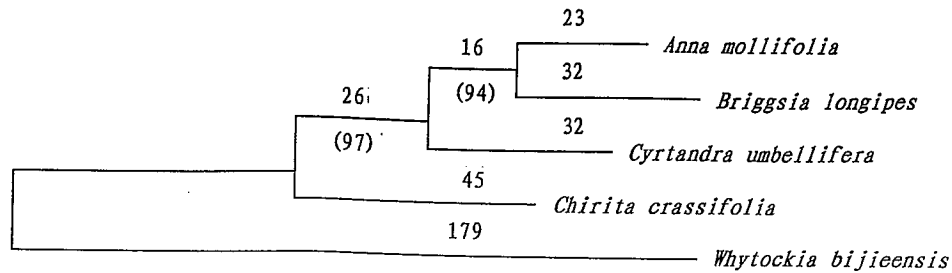


图2 基于 ITS 及 5.8 S rRNA 基因 3' 端序列分析构建的苦苣苔亚科 4 族、5 属植物的系统树。分支上的数值表示碱基替换的数目, 括号内的数值表示 bootstrap 分析对该分支的支持强度(百分比)。该系统树的长度为 353 步, 其 CI 值和 RI 值分别为 0.932 和 0.529。

Fig. 2 The only one most-parsimonious tree (phylogram) constructed from sequence analysis of ITS and 3' end of 5.8 S rRNA gene (rDNA) in 4 tribes of the subfamily Cyrtandroideae represented by 5 genera. The tree has 353 steps, with CI = 0.932 and RI = 0.529. bootstrap values in parentheses are indicated below the branches, and the other values on the branches indicate the number of substitutions.

族和浆果苣苔族无法严格区分。鉴于长蒴苣苔族、芒毛苣苔族和浆果苣苔族间存在过渡系列, 加上这 3 个族在基于 ITS 序列构建的系统树(图 2)和 *ndhF* 基因树(Smith *et al.*, 1997)上均不是单系类群, 作者建议将芒毛苣苔族和浆果苣苔族均并入长蒴苣苔族。

3.3 尖舌苣苔族的系统位置及分类等级

本文虽仅测定了尖舌苣苔族中一个种 *Whytockia bijieensis* 的 ITS 序列, 但 *Whytockia bijieensis* 的 ITS-1 和 ITS-2 的长度相差很大(40 个碱基), 其它几种苦苣苔亚科植物(分属 3 个族、4 个属)的 ITS-1 和 ITS-2 的长度相差不大(不足 10 个碱基); *Whytockia bijieensis* 的 GC 含量也显著低于其它几种苦苣苔亚科植物(Table 2), 它与这几种苦苣苔亚科植物的 ITS 序列间也存在极大的差异(Table 3), 说明 *Whytockia bijieensis* 所属的尖舌苣苔族可能是苦苣苔亚科中一个较特殊的孤立类群。在苦苣苔科的 *ndhF* 基因树上(Smith *et al.*, 1997), 尖舌苣苔族是一个单系类群, 并位于苦苣苔亚科中其它族的基部, 这一 DNA 序列证据也支持尖舌苣苔族是很早就自苦苣苔亚科植物的祖先沿单独的一支演化而来, 因此尖舌苣苔族作为一个族的等级是合适的。

参 考 文 献

- 王文采, 1983. 中国吊石苣苔属校订. 广西植物, 3(4): 249~284
 王文采, 潘开玉, 1982. 中国苦苣苔科的研究(三). 植物研究, 2(2): 121~152
 王文采, 潘开玉, 李振宇, 1990. 中国植物志. 第 69 卷. 北京: 科学出版社. 125~581.
 王印政, 李振宇, 1997. 贵州异叶苣苔属一新种. 植物分类学报, 35(1): 67~69
 李振宇, 1996. 苦苣苔亚科的地理分布. 植物分类学报, 34(4): 341~360
 Baldwin B G, Sanderson M J, Porter J M *et al.*, 1995. The ITS region of nuclear ribosomal DNA: a valuable source of evidence on angiosperm phylogeny. Ann Missouri Bot Gard, 82: 247~277
 Burt B L, 1962. Studies on the Gesneriaceae of the Old World XXIV: tentative keys to the tribes and genera. Not Bot Gard Edinb, 24(3): 205~220
 Burt B L, 1965. The transfer of *Cyrtandromoea* from Gesneriaceae to Scrophulariaceae, with notes on the

- classification of that family. Bull Bot Survey India, 7: 73~88
- Burt B L, 1977. Classification above the genus, as exemplified by Gesneriaceae, with parallels from other groups. Pl Syst Evol, Suppl 1: 97~109
- Higgins D G, 1994. CLUSTAL V: Multiple alignment of DNA and protein sequences. In: Griffin A M and Griffin H G eds. Computer Analysis of Sequence Data. Part II. Totowa, New Jersey: Humana Press. 307~318
- Hodges S A, Arnold M L, 1994. Columbines: A geographically widespread species flock. Proc Natl Acad Sci USA, 91: 5129~5132
- Kim Y D, Jansen R K, 1996. Phylogenetic implications of *rbcl* and ITS sequence variation in the Berberidaceae. Syst Bot, 21(3): 381~396
- Luegmayer E, 1993. Pollen of Hawaiian *Cyrtandra* (Gesneriaceae) including notes on Southeast Asian taxa. Blumea, 38: 25~38
- Manos P S, 1993. Cladistic analysis of sequences from the internal transcribed spacers (ITS) of nuclear ribosomal DNA of *Nothofagus*. Amer J Bot, 80 (supplement, abstract): 163
- Rogers S O, Bendich A J, 1988. Extraction of DNA from plant tissues. Pl Molec Biol Manual, A6: 1~10
- Sang T, Crawford D J, Stuessy T F, 1995. Documentation of reticulate evolution in peonies (*Paeonia*) using internal transcribed spacer sequences of nuclear ribosomal DNA: implication for biogeography and concerted evolution. Proc Natl Acad Sci USA, 92: 6813~6817
- Schultheis L M, Baldwin B G. 1994. Molecular systematics of Fouquieriaceae: evidence from nuclear rDNA ITS studies. Amer J Bot, 81(supplement, abstract): 199
- Smith J F, 1996. Tribal relationships within Gesneriaceae: a cladistic analysis of morphological data. Syst Bot, 21(4): 497~513
- Smith J F, Brown K D, Carroll C L *et al.*, 1997. Familial placement of *Cyrtandromoea*, *Titanotrichum*, and *Sanango*: three problematic genera of the Lamiales. Taxon, 46: 65~74
- Smith J F, Burke C C, Wagner W L, 1996. Interspecific hybridization in natural populations of *Cyrtandra* (Gesneriaceae) on the Hawaiian Island: evidence from RAPD markers. Pl Syst Evol, 200: 61~77
- Smith J F, Sytsma K J, 1994. Molecules and morphology: Congruence of data in *Columnea* (Gesneriaceae). Pl Syst Evol, 194: 37~52
- Smith J F, Wolfram J C, Brown K D *et al.*, 1997. Tribal relationships in the Gesneriaceae: evidence from DNA sequences of the chloroplast gene *ndhF*. Ann Missouri Bot Gard, 84: 50~66
- Suh Y, Thien L B, Reeve H E, Zimmer E A, 1993. Molecular evolution and phylogenetic implications of internal transcribed spacer sequences of ribosomal DNA in Winteraceae. Amer J Bot, 80: 1042~1055
- Swofford D L, 1993. PAUP: Phylogenetic Analysis Using Parsimony. Version 3.1.1. computer program distributed by the Illinois Natural History Survey, Champaign, Illinois
- Takaiwa F, Oono K, Sugiura M, 1985. Nucleotide sequence of the 17S-25S spacer region from rice rDNA. Pl Molec Biol, 4: 355~364
- Wang W T, Pan K Y, Li Z Y, 1992. Keys to the Gesneriaceae of China. Edinburgh J Bot, 49: 5~74
- Wagner W L, Herbst D R, Sohmer S H, 1990. Manual of the flowering plants of Hawaii. Honolulu, HI: Bishop Museum Press
- White T J, Bruns T, Lee S, Taylor J, 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis M, Gelfand D, Sinisky J, White T eds. PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications. San Diego, California: Academic Press. 315~322

pes

eensis

的数值表示碱
53步,其CI值

end of 5.8 S
eps, with CI=
values on the

司存在过渡
with *et al.*,
苣族。

Whytockia

科植物(分

Whytockia

L种苦苣苔

: 所属的尖

基因树上

族的基部,

单独的一支

nal DNA: a

77

ie tribes and

notes on the

PK
355
C4624X
BOT

ISSN 0529-1526
CODEN CFHPA3

植物分类学报

ACTA PHYTOTAXONOMICA SINICA

第 36 卷 第 2 期

Vol. 36 No. 2

1998

中国植物学会 主办
科学出版社 出版

ACTA PHYTOTAXONOMICA SINICA

Vol.36, No.2, April 1998

CONTENTS

The Application of Sequence Analysis of rDNA Fragment to the Systematic Study of the Subfamily Cyrtandroideae(Gesneriaceae) WANG Xiao-Quan and LI Zhen-Yu (97)

The Restoration of the Genus *Cyclocodon* (Campanulaceae) and Its Evidence from Pollen and Seed-coat HONG De-Yuan and PAN Kai-Yu (106)

The Development of Gynoecium after Anthesis and Fertilization in *Eleutherococcus senticosus* (Araliaceae) LIU Lin-De, WANG Zhong-Li, TIAN Guo-Wei and SHEN Jia-Heng (111)

Comparative Anatomy of Secretory Cavities in Leaves of the Rutaceae in China LIU Wen-Zhe and HU Zheng-Hai (119)

Studies on the Structure, Afterripening and Cytochemistry of Seeds in *Eleutherococcus brachypus* Harms TIAN Guo-Wei, WANG Zhong-Li, LIU Lin-De and SHEN Jia-Heng (128)

A Study on Pollination Biology of *Paeonia suffruticosa* subsp. *spontanea* (Paeoniaceae) LUO Yi-Bo, PEI Yan-Long, PAN Kai-Yu and HONG De-Yuan (134)

The Karyotype Analysis of *Michelia* (Magnoliaceae) in China LI Xiu-Lan, SONG Wen-Qin, AN Zhu-Ping and CHEN Rui-Yang (145)

Notulae De Ranunculaceis Sinensibus(XVII) WANG Wen-Tsai (150)

Studies on *Coniopteris tatungensis* of Jurassic from Western Hills of Beijing MA Qing-Wen, WANG Yu-Fei, CHEN Yong-Zhe and LI Cheng-Sen (173)

Notes from A. Takhtajan's "Diversity and Classification of Flowering Plants" TANG Yan-Cheng and LU An-Ming (178)