

引用格式:

陈咸吉, 聂现辉, 艾文胜, 孟勇, 肖扬波, 周楚人, 彭逸斯, 汪启明, 彭国平. 基于叶绿体 DNA 条形码的竹子种属聚类分析与耐盐性鉴定[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2021, 47(5): 514–522.

CHEN X J, NIE X H, AI W S, MENG Y, XIAO Y B, ZHOU C R, PENG Y S, WANG Q M, PENG G P. Species clustering and salt tolerance identification of Bambusoideae by chloroplast DNA barcoding[J]. Journal of Hunan Agricultural University(Natural Sciences), 2021, 47(5): 514–522.

投稿网址: <http://xb.hunau.edu.cn>



## 基于叶绿体 DNA 条形码的竹子种属聚类分析与耐盐性鉴定

陈咸吉<sup>1,2</sup>, 聂现辉<sup>1,2#</sup>, 艾文胜<sup>3</sup>, 孟勇<sup>3</sup>, 肖扬波<sup>1,2</sup>, 周楚人<sup>1,2</sup>, 彭逸斯<sup>2</sup>, 汪启明<sup>1,2</sup>, 彭国平<sup>1,2\*</sup>

(1.湖南农业大学生物科学技术学院, 湖南 长沙 410128; 2.道地药用植物规范栽培与综合利用湖南省工程实验室, 湖南 长沙 410128; 3.湖南省林业科学院竹类研究所, 湖南 长沙 410011)

**摘要:** 利用 3 种叶绿体 DNA 条形码序列 *ndhF*、*psbA-trnH*、*rps16* 对竹亚科植物 17 个属的 98 个竹种进行 DNA 条形码聚类分析, 并对已知的 43 个耐盐竹种进行聚类分析。结果显示: 3 种 DNA 条形码序列对竹子具有良好的通用性, 平均通用性在 96% 以上; *psbA-trnH* 未能对瓜多竹外的竹亚科植物种属进行聚类, 能对部分耐盐竹种进行聚类; *ndhF*、*rps16* 条形码序列能对部分种属进行聚类, 对牡竹属、簕竹属、苦竹属中包含的耐盐竹种聚类效果较好。

**关键词:** 竹亚科植物; DNA 条形码; NJ 系统发育树; 耐盐性

中图分类号: Q943.2; S795

文献标志码: A

文章编号: 1007-1032(2021)05-0514-09

### Species clustering and salt tolerance identification of Bambusoideae by chloroplast DNA barcoding

CHEN Xianji<sup>1,2</sup>, NIE Xianhui<sup>1,2#</sup>, AI Wensheng<sup>3</sup>, MENG Yong<sup>3</sup>, XIAO Yangbo<sup>1,2</sup>,  
ZHOU Churen<sup>1,2</sup>, PENG Yisi<sup>2</sup>, WANG Qiming<sup>1,2</sup>, PENG Guoping<sup>1,2\*</sup>

(1.College of Bioscience and Biotechnology, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China; 2.Hunan Engineering Laboratory for Good Agricultural Practice and Comprehensive Utilization of Famous-Region Medicinal Plants, Changsha, Hunan 410128, China; 3.Institute of Bamboo Research, Hunan Academy of Forestry, Changsha, Hunan 410011, China)

**Abstract:** In this study, we used three chloroplast DNA barcoding, *ndhF*, *psbA-trnH* and *rps16*, for cluster analysis of 98 bamboo species belonging to 17 genera collected from Fujian Province plant garden and then performed the analysis on the 43 known salt tolerant bamboo species. The results showed that the used three DNA barcodes had good generality for bamboos with average generality of above 96%. The *psbA-trnH* could not cluster the species and genera of Bambusoideae other than *Guadua*, but could cluster some salt tolerant bamboo species. The *ndhF* and *rps16* barcode sequences could cluster some species and genera, and the clustering effect of salt tolerant bamboos in *Dendrocalamus*, *Bambusa* and *Pleioblastus* was better.

**Keywords:** Bambusoideae; DNA barcode; NJ-tree; salt tolerance

禾本科竹亚科植物是禾本科植物中的一个重要分支, 通称“竹子”。中国拥有全球竹子种类的 50%

以上, 约有 50 个属, 500 余种。竹子的花和种子难以获取<sup>[1-2]</sup>, 采用系统分类法进行种属鉴定难度较

收稿日期: 2020-08-27

修回日期: 2020-09-28

基金项目: 国家重点研发计划项目(2018YFD0600102)

作者简介: 陈咸吉(1996—), 男, 湖南长沙人, 硕士研究生, 主要从事植物逆境分子生物学研究, [cxjhnd@163.com](mailto:cxjhnd@163.com); #并列第一作者, 聂现辉(1995—), 男, 河南周口人, 硕士研究生, 主要从事植物逆境生理研究, [2279119006@qq.com](mailto:2279119006@qq.com); \*通信作者, 彭国平, 博士, 副教授, 主要从事中药规范化栽培与应用研究, [pgphh@163.com](mailto:pgphh@163.com)

大，常出现混淆或歧义<sup>[3-6]</sup>。在滨海地区和盐碱地，竹子的自然分布与种植较少，开发利用耐盐竹资源对丰富该地区的生物多样性具有重要意义。

目前，DNA 条形码在植物分类和鉴定中得到了广泛的应用<sup>[7-10]</sup>。前人<sup>[11-13]</sup>应用 ITS 序列和 rbcL-matK 序列成功地对部分竹种进行了鉴定。但核基因 ITS 条形码在使用的过程中对部分物种分类不适用，无法正确构建系统进化树<sup>[14]</sup>。严福林等<sup>[15]</sup>研究发现，psbA-trnH、matK、pbsK-pbsI 叶绿体条形码可区分部分青风藤属物种。本研究中，利用 3 种叶绿体 DNA 条形码序列 ndhF、psbA-trnH、rps16 对竹亚科植物 17 个属的 98 个竹种进行聚类分析，并对已知的耐盐竹种进行聚类分析，旨在探究

psbA-trnH、rps16、ndhF 叶绿体 DNA 条形码对供试 98 种竹子的通用性，以找出便捷的竹种分类方法，为鉴定耐盐竹种提供新的方法。

1 材料与方法

1.1 材料

所取的 98 种竹子(表 1)叶片均采集于福建省华安市华安竹类植物园。竹种名录由该园邹跃国提供。所取试验材料中包含陈松河<sup>[16]</sup>提供的 4 个耐盐等级的 43 个耐盐竹种，其中有 I 级耐盐竹种 1 种、II 级耐盐竹种 15 种、III 级耐盐竹种 25 种、IV 级耐盐竹种 2 种。

表 1 供试竹种及其耐盐性信息

Table1 Sample information of tested bamboos						
编号	竹种名称	拉丁名 <sup>[17]</sup>	文中缩写	中文属名	耐盐等级	生长类型
B1 1	沙罗单竹	<i>Schizostachyum funghomii</i> McClure	<i>Sch_FM</i>	思罗竹属	未知	丛生竹
B2 1	金毛空竹	<i>Cephalostachyum virgatum</i> (Munro) Kurz	<i>Cep_Vi</i>	空竹属	未知	丛生竹
B3 1	泰竹	<i>Thyrsostachys siamensis</i> (Kurz ex Munro) Gamble	<i>Thy_Si</i>	泰竹属	II	丛生竹
B3 2	大泰竹	<i>Thyrsostachys oliveri</i> Gamdler	<i>Thy_Ol</i>	泰竹属	未知	丛生竹
B4:11	印度簕竹	<i>Bambusa arundinacea</i> (Retz.) Willd.	<i>Bam_Ar</i>	簕竹属	未知	丛生竹
B4:12	簕竹	<i>Bambusa blumeana</i> J. A. et J. H. Schult.	<i>Bam_Bl</i>	簕竹属	III	丛生竹
B4:13	小簕竹	<i>Bambusa flexuosa</i> Munro	<i>Bam_Fl</i>	簕竹属	未知	丛生竹
B4:14	车筒竹	<i>Bambusa sinospinosa</i> McClure	<i>Bam_SM</i>	簕竹属	III	丛生竹
B4:15	油簕竹	<i>Bambusa lapidea</i> McClure	<i>Bam_LM</i>	簕竹属	未知	丛生竹
B4:16	坭竹	<i>Bambusa gibba</i> McClure	<i>Bam_GM</i>	簕竹属	III	丛生竹
B4:17	佛肚竹	<i>Bambusa ventricosa</i> McClure	<i>Bam_VM</i>	簕竹属	III	丛生竹
B4:18	吊罗坭竹	<i>Bambusa diaoluoshanensis</i> Chia et H. L. Fung	<i>Bam_Di</i>	簕竹属	III	丛生竹
B4:19	牛角竹	<i>Bambusa. cornigera</i> McClure	<i>Bam_CM</i>	簕竹属	未知	丛生竹
B4:21	马甲竹	<i>Bambusa tulda</i> Roxb.	<i>Bam_Tu</i>	簕竹属	未知	丛生竹
B4:22	大眼竹	<i>Bambusa eutuldoides</i> McClure	<i>Bam_EM</i>	簕竹属	III	丛生竹
B4:23	银丝大眼竹	<i>Bambusa eutuldoides</i> McClure var. <i>basistriata</i> McClure	<i>Bam_Eb</i>	簕竹属	III	丛生竹
B4:24	青丝黄竹	<i>Bambusa eutuldoides</i> McClure var. <i>viridi-vittata</i> (W.T.Lin) Chia	<i>Bam_EV</i>	簕竹属	III	丛生竹
B4:25	撑篙竹	<i>Bambusa pervariabilis</i> McClure	<i>Bam_PM</i>	簕竹属	未知	丛生竹
B4:26	花眉竹	<i>Bambusa longispiculata</i> Gamble ex Brandis	<i>Bam_Lo</i>	簕竹属	III	丛生竹
B4:27	青秆竹	<i>Bambusa tulldoides</i> Munro	<i>Bam_Ts</i>	簕竹属	未知	丛生竹
B4:28	鼓节青秆竹	<i>Bambusa tulldoides</i> Munro f. <i>swolleninternode</i> (N. H. Xia)Yi	<i>Bam_TS</i>	簕竹属	III	丛生竹
B4:29	信宜石竹	<i>Bambusa subtruncata</i> Chia et H. L. Fung	<i>Bam_Su</i>	簕竹属	未知	丛生竹
B4:210	黄金间碧竹	<i>Bambusa vulgaris</i> Schrader ex Wendland f. <i>Vittata</i> (A. et C.Riv.)Yi	<i>Bam_VV</i>	簕竹属	III	丛生竹
B4:211	大佛肚竹	<i>Bambusa vulgaris</i> Schrader ex Wendland f. <i>Waminii</i> Wen	<i>Bam_VW</i>	簕竹属	IV	丛生竹
B4:212	花竹	<i>Bambusa albo-lineata</i> Chia	<i>Bam_Al</i>	簕竹属	II	丛生竹
B4:213	藤枝竹	<i>Bambusa lenta</i> Chia	<i>Bam_Le</i>	簕竹属	未知	丛生竹
B4:214	观音竹	<i>Bambusa multiplex</i> (Lour.) Raeuschel ex J. A. et J. H. Schult. var. <i>riviereorum</i> R. Maire	<i>Bam_MR</i>	簕竹属	II	丛生竹
B4:215	小琴丝竹	<i>Bambusa multiplex</i> (Lour.) Raeuschel ex J. A. et J. H. Schult. f. <i>alphonso-Karri</i> (Mitford) Sasaki ex Keng f.	<i>Bam_Mf</i>	簕竹属	III	丛生竹
B4:216	银丝竹	<i>Bambusa multiplex</i> (Lour.) Raeuschel ex J. A. et J. H. Schult. f. <i>silverstripe</i> (R. A. Young)Yi	<i>Bam_MS</i>	簕竹属	III	丛生竹

表 1(续)

编号	竹种名称	拉丁名 <sup>[17]</sup>	文中缩写	中文属名	耐盐等级	生长类型
B4:217	凤尾竹	<i>Bambusa multiplex</i> (Lour.) Raeuschel ex J. A. et J. H. Schult. f. <i>fernleaf</i> (R. A. Young) Yi	<i>Bam_MF</i>	簕竹属	III	丛生竹
B4:218	撑麻青 1 号	<i>Bambusa pervariabilis</i> McClure × <i>Dendrocalamus latiflorus</i> Munro + <i>Bambusa textilis</i> McClure No.1	<i>Bam_PL No.1</i>	簕竹属	III	丛生竹
B4:219	紫秆竹	<i>Bambusa textilis</i> McClure f. <i>purpurascens</i> (N.H.Xia) Yi	<i>Bam_TM</i>	簕竹属	III	丛生竹
B4:220	青皮竹	<i>Bambusa textilis</i> McClure	<i>Bam_Te</i>	簕竹属	III	丛生竹
B5 1	粉单竹	<i>Lingnania chungii</i> (McClure) McClure	<i>Lin_Ch</i>	单竹属	III	丛生竹
B5 2	天鹅绒竹	<i>Lingnania chungii</i> (McClure) McClure var. <i>velutina</i> Yi et J.Y.Shi	<i>Lin_CV</i>	单竹属	未知	丛生竹
B5 3	大木竹	<i>Lingnania wenchouensis</i> Wen	<i>Lin_WW</i>	单竹属	IV	丛生竹
B5 4	油竹	<i>Lingnania surrecta</i> Q.H.Dai	<i>Lin_Sa</i>	单竹属	III	丛生竹
B5 5	绵竹	<i>Lingnania intermedia</i> (Hsueh et Yi) Yi	<i>Lin_Im</i>	单竹属	未知	丛生竹
B5 6	料慈竹	<i>Lingnania distegia</i> (Keng et Keng f.) Keng f.	<i>Lin_Da</i>	单竹属	未知	丛生竹
B6 1	金丝慈竹	<i>Neosinocalamus affinis</i> (Rendle) Keng f. f. <i>Viridiflavus</i> (Yi) Yi	<i>Neo_Av</i>	慈竹属	未知	丛生竹
B6 2	大琴丝竹	<i>Neosinocalamus affinis</i> (Rendle) Keng f. f. <i>flavidorivens</i> (Yi) Yi	<i>Neo_Af</i>	慈竹属	未知	丛生竹
B7 1	吊丝单	<i>Dendrocalamopsis vario-striata</i> (W. T. Lin) Keng f.	<i>Deo_Vs</i>	绿竹属	未知	丛生竹
B7 2	绿竹	<i>Dendrocalamopsis oldhami</i> (Munro) Keng f.	<i>Deo_Ol</i>	绿竹属	III	丛生竹
B7 3	大绿竹	<i>Dendrocalamopsis daii</i> Keng f.	<i>Deo_Da</i>	绿竹属	未知	丛生竹
B7 4	壮绿竹	<i>Bambusa Validus</i> (Q. H. Dai) W. T. Lin	<i>Deo_Va</i>	绿竹属	未知	丛生竹
B7 5	白绿竹	<i>Dendrocalamopsis oldhami</i> (Munro) Keng f. (White)	<i>Deo_OW</i>	绿竹属	未知	丛生竹
B7 6	美国绿竹	<i>Dendrocalamopsis oldhami</i> (Munro) Keng f. (USA)	<i>Deo_OU</i>	绿竹属	未知	丛生竹
B7 7	大头典竹	<i>Dendrocalamopsis beecheyana</i> (Munro) Keng f. var. <i>pubescens</i> (P. F. Li) Keng f.	<i>Deo_BP</i>	绿竹属	III	丛生竹
B8 1	野龙竹	<i>Dendrocalamus semiscandens</i> Hsueh et D. Z. Li	<i>Deu_Se</i>	牡竹属	未知	丛生竹
B8 2	黄竹	<i>Dendrocalamus membranaceus</i> Munro	<i>Deu_Me</i>	牡竹属	未知	丛生竹
B8 3	牡竹	<i>Dendrocalamus strictus</i> (Roxb.) Nees	<i>Deu_St</i>	牡竹属	未知	丛生竹
B8 4	勃氏甜龙竹	<i>Dendrocalamus brandisii</i> (Munro) Kurz	<i>Deu_Br</i>	牡竹属	未知	丛生竹
B8 5	麻竹	<i>Dendrocalamus latiflorus</i> Munro	<i>Deu_La</i>	牡竹属	III	丛生竹
B8 6	花吊丝竹	<i>Dendrocalamus minor</i> (McClure) Chia et H.L.Fung var. <i>amoenus</i> (Q.H.Dai et C.F.Huamg) Hsueh et D.Z.Li	<i>Deu_Ma</i>	牡竹属	II	丛生竹
B8 7	龙竹	<i>Dendrocalamus giganteus</i> Munro	<i>Deu_Gi</i>	牡竹属	未知	丛生竹
B8 8	巨龙竹	<i>Dendrocalamus sinicus</i> Chia et J. L. Sun	<i>Deu_ES</i>	牡竹属	未知	丛生竹
B8 9	倒吊麻竹	未命名		牡竹属	未知	丛生竹
B9 1	晾衫竹	<i>Sinobambusa intermedia</i> McClure	<i>Sin_IM</i>	唐竹属	未知	混生竹
B9 2	唐竹	<i>Sinobambusa tootsik</i> (Sieb.) Makino	<i>Sin_Tm</i>	唐竹属	II	混生竹
B9 3	光叶唐竹	<i>Sinobambusa tootsik</i> (Sieb.) Makino var. <i>tenuifolia</i> (Koidz.) S.Suzki	<i>Sin_TT</i>	唐竹属	未知	混生竹
B10 1	刚竹	<i>Phyllostachys sulphurea</i> (Carr.) A. et C. Riv var. <i>viridis</i> R. A. Young	<i>Phy_SV</i>	刚竹属	II	散生竹
B10 2	绿皮黄筋竹	<i>Phyllostachys sulphurea</i> (Carr.) A. et C. Riv. f. <i>houzeauana</i> (C.D.Chu et C. S.Chao) C.S.Chao et S.A.Renv	<i>Phy_SH</i>	刚竹属	未知	散生竹
B10 3	罗汉竹	<i>Phyllostachys aurea</i> Carr. ex A. et C. Riv.	<i>Phy_Au</i>	刚竹属	II	散生竹
B10 4	早园竹	<i>Phyllostachys propinqua</i> McClure	<i>Phy_PM</i>	刚竹属	II	散生竹
B10 5	红哺鸡竹	<i>Phyllostachys iridescens</i> C. Y. Yao et S. Y. Chen	<i>Phy_Ir</i>	刚竹属	III	散生竹
B10 6	角竹	<i>Phyllostachys fimbriatigula</i> Wen	<i>Phy_Fi</i>	刚竹属	III	散生竹
B10 7	黄竿乌哺鸡竹	<i>Phyllostachys vivax</i> McClure f. <i>aureocaulis</i> N. X. Ma	<i>Phy_VA</i>	刚竹属	II	散生竹
B10 8	龟甲竹	<i>Phyllostachys heterocycla</i> (Carr.) Mitford	<i>Phy_EH</i>	刚竹属	未知	散生竹
B10 9	乌哺鸡竹	<i>Phyllostachys vivax</i> McClure	<i>Phy_DM</i>	刚竹属	III	散生竹
B10 10	斑竹	<i>Phyllostachys bambusoides</i> Sieb. et Zucc. f. <i>lacrima-deae</i> Keng f. et Wen	<i>Phy_BL</i>	刚竹属	II	散生竹
B10 11	高节竹	<i>Phyllostachys prominens</i> W. Y. Xiong	<i>Phy_Pr</i>	刚竹属	II	散生竹
B10 12	富阳乌哺鸡竹	<i>Phyllostachys nigella</i> Wen	<i>Phy_Ni</i>	刚竹属	未知	散生竹
B10 13	实肚竹	<i>Phyllostachys nidularia</i> Munro f. <i>farcata</i> H. R. Zhao et A. T. Lin	<i>Phy_NF</i>	刚竹属	未知	散生竹

表 1(续)

编号	竹种名称	拉丁名 <sup>[17]</sup>	文中缩写	中文属名	耐盐等级	生长类型
B10 14	水竹	<i>Phyllostachys heteroclada</i> Oliv.	<i>Phy_He</i>	刚竹属	未知	散生竹
B10 15	毛竹	<i>Phyllostachys heterocycla</i> (Carr.)Mitford var. <i>pubescens</i> (Mazel ex H.de Lehaie)Ohwi	<i>Phy_Ed</i>	刚竹属	未知	散生竹
B11 1	爬竹	<i>Drepanostachyum. scandens</i> (Hsueh et W.D.Li)Keng f. ex <i>Dre_Sc</i> Yi		悬竹属	未知	丛生竹
B12 1	黄甜竹	<i>Acidosasa. edulis</i> (Wen) Wen	<i>Aci_Ed</i>	酸竹属	未知	散生竹
B12 2	斑箨酸竹	<i>Acidosasa macula</i> W.T. Lin et Z.M.Wu	<i>Aci_Ma</i>	酸竹属	未知	散生竹
B12 3	橄榄竹	<i>Acidosasa gigantea</i> (Wen) Q. Z. Xie et W. Y. Zhang	<i>Aci_Gi</i>	酸竹属	II	散生竹
B13 1	四季竹	<i>Oligostachyum lubricum</i> (Wen) Keng f.	<i>Oli_Lm</i>	少穗竹属	II	混生竹
B13 2	少穗竹	<i>Oligostachyum sulcatum</i> Z.P. Wang et G.H.Ye	<i>Oli_Su</i>	少穗竹属	未知	混生竹
B14 1	秋竹	<i>Pleioblastus gozadakensis</i> Nakai	<i>Ple_Go</i>	苦竹属	未知	混生竹
B14 2	大明竹	<i>Pleioblastus gramineus</i> (Bean) Nakai	<i>Ple_Gr</i>	苦竹属	未知	混生竹
B14 3	斑苦竹	<i>Pleioblastus maculatus</i> (McClure) C. D. Chu et C. S. Chao	<i>Ple_Ma</i>	苦竹属	未知	混生竹
B14 4	杭州苦竹	<i>Pleioblastus amarus</i> (Keng) Keng f. var. <i>hangzhouensis</i> S. L. Chen et S. Y. Chen	<i>Ple_AH</i>	苦竹属	未知	混生竹
B14 5	狭叶青苦竹	<i>Pleioblastus. chino</i> (Frnach. et Savat.) Makino var. <i>hisauchii</i> Makino	<i>Ple_Ch</i>	苦竹属	II	混生竹
B15 1	福建茶秆竹	<i>Pseudosasa amabilis</i> (McClure) Keng f. var. <i>convexa</i> Z. P. Wang et G. H. Ye	<i>Pse_AC</i>	茶秆竹属	未知	混生竹
B16 1	美丽箬竹	<i>Indocalamus decorus</i> Q. H. Dai	<i>Ins_De</i>	箬竹属	未知	混生竹
B16 2	广东箬竹	<i>Indocalamus guangdongensis</i> H.R.Zhao et Y.L.Yang	<i>Ins_Gu</i>	箬竹属	未知	混生竹
B16 3	都昌箬竹	<i>Indocalamus cordatus</i> Wen et Y. Zou	<i>Ins_Co</i>	箬竹属	未知	混生竹
B16 4	锦帐竹	<i>Indocalamus pseudosinicus</i> McClure	<i>Ins_Ps</i>	箬竹属	未知	混生竹
B16 5	箬竹	<i>Indocalamus tessellatus</i> (Munro) Keng f.	<i>Ins_Te</i>	箬竹属	未知	混生竹
B16 6	具耳箬竹	<i>Indocalamus auriculatus</i> (H.R.Zhao et Y.L.Yang) Y.L.Yang	<i>Ins_Au</i>	箬竹属	未知	混生竹
B16 7	阔叶箬竹	<i>Indocalamus latifolius</i> (Keng) McClure	<i>Ins_LM</i>	箬竹属	II	混生竹
B16 8	同春箬竹	<i>Indocalamus tongchunensis</i> K. F. Huang et Z. L. Dai	<i>Ins_To</i>	箬竹属	未知	混生竹
B16 9	箬叶竹	<i>Indocalamus longiauritus</i> Hand.-Mazze.	<i>Ins_Lo</i>	箬竹属	未知	混生竹
B17 1	瓜多竹	<i>Guadua angustifolia</i> Kunth	<i>Gua_An</i>	瓜多竹属	I	丛生竹
B18 1	粉竹	<i>Yushania falcata</i> aurita Hsueh et Yi	<i>Yus_Fa</i>	玉山竹属	未知	散生竹

B 后面的数字代表属；“.”后第 1 位数字代表亚属，第 2、3 位数字代表在该亚属中的序号；“文中缩写”是根据竹种拉丁学名编写的缩写符号。

1.2 方法

1.2.1 DNA 的提取

使用 TIANGEN 植物基因组 DNA 提取试剂盒 (离心柱型,目录号 DP305)提取供试材料叶片 DNA。DNA 样品在-20 ℃环境中保存。

1.2.2 PCR 的扩增

对 1.2.1 中提取的 DNA 样品进行 PCR 扩增，以获得 DNA 条形码序列。PCR 反应引物信息列于表 2。反应体系为：金牌 MIX 45 μL；正、反向引物(10 μmol/L)各 2 μL；DNA 模板 1 μL。psbA-trnH、ndhF 的反应条件为：98 ℃预变性 2 min；98 ℃变性 10 s；55 ℃退火 10 s；72 ℃延伸 1 min，共 30 个循环；72 ℃延伸 2 min。rps16 的反应条件为：98 ℃预变性 2 min,98 ℃变性 10 s,56 ℃退火 10 s；72 ℃延伸 1 min，共 30 个循环；72 ℃延伸 2 min。

表 2 DNA 条形码序列

Table 2 DNA barcode sequences		
片段	引物名称	引物序列(5'—3')
psbA-trnH	fwd	GTTATGCATGAACGTAATGCTC
	rev	CGCGCATGGTGGATTCACAATCC
rps16	F	AAACGATGTGGTAGAAAGCAAC
	R	ACATCAATTGCAACGATTTCGATA
ndhF	1311F	ACTGCAGGATTAAGTGC GTT
	2091R	GACCCACTCCATTGGTAATTC

1.2.3 系统发育树的构建

PCR 产物测序后，将测序所得的双向拼接序列与 BLAST 数据库进行比对，建立本地数据库。使用 Clustal W 1.6 进行比对,人工辅助校正,得约 730 bp 的 ndhF 序列、约 530 bp 的 psbA-trnH 序列、约 800 bp 的 rps16 序列。用 MEGA7.0.26 进行分析，制作 NJ-tree 系统发育树，用自助法(Bootstrap

method)进行 1000 次迭代聚类分析, 略去自展值低于 30%的分支。

## 2 结果与分析

### 2.1 ndhF 聚类分析

应用表 2 中的引物 1311F、2091R 对供试竹种 DNA 序列 PCR 扩增后进行双向拼接, 测序后得到 96 个竹种的 ndhF 片段(图 1), 测序成功率为 97.96%。从图 1 可以看出, 绿色分支 B17 组瓜多竹属在二级

分支被单独聚类为 1 支; 粉色分支 B1 组思筭竹属在三级分支中被单独分为 1 支; 黄色分支聚类 6 个簕竹属竹种和其他 2 个竹种; 蓝色分支中聚类了 10 个竹种, 其中包含 B8 组牡竹属 5 个竹种; 其他属种分类区分度较低。耐盐竹种聚类情况表明, 红色分支中 17 个竹种中聚类了 13 个已知的耐盐竹种; 黄色分支中聚类了 8 个竹种, 其中 4 个为已知的耐盐竹种。

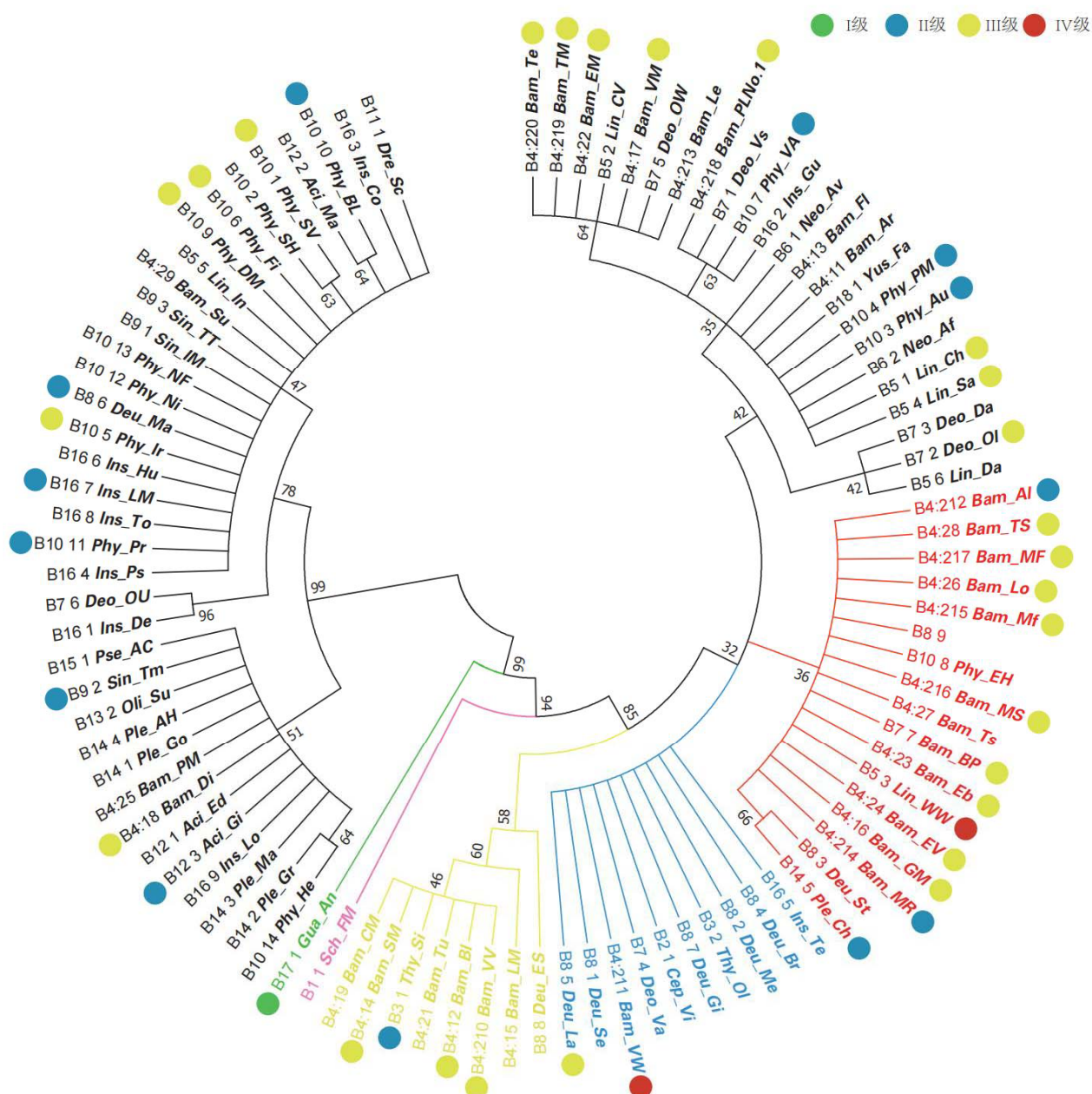


图 1 基于 ndhF 序列构建的 NJ 系统发育树

Fig. 1 NJ-tree based on ndhF sequence



## 2.2 rps16 聚类分析

应用表 2 中引物 F、R 对供试竹种的 DNA 序列 PCR 扩增后进行双向拼接, 测序, 得到 96 个竹种的 rps16 片段, 测序成功率为 97.96%。从图 2 可以看出, rps16 序列对一些竹种属间具有较好的分辨效果; 绿色分支 B17 组瓜多竹属在二级分支中被单独聚类为 1 支; 黄色分支 B6 组慈竹属植物单独聚

类为 1 支; 红色分支聚类了 12 种竹种, 其中包含 B8 组牡竹属 7 种竹种。在耐盐竹种聚类方面, 在三级分支之后进化树右侧的蓝色分支中聚类了 36 个竹种, 其中包含 24 个已知耐盐竹种(占耐盐竹种数量的 55.8%)。说明叶绿体 DNA 条形码 rps16 对耐盐竹种的聚类有较高的有效性。

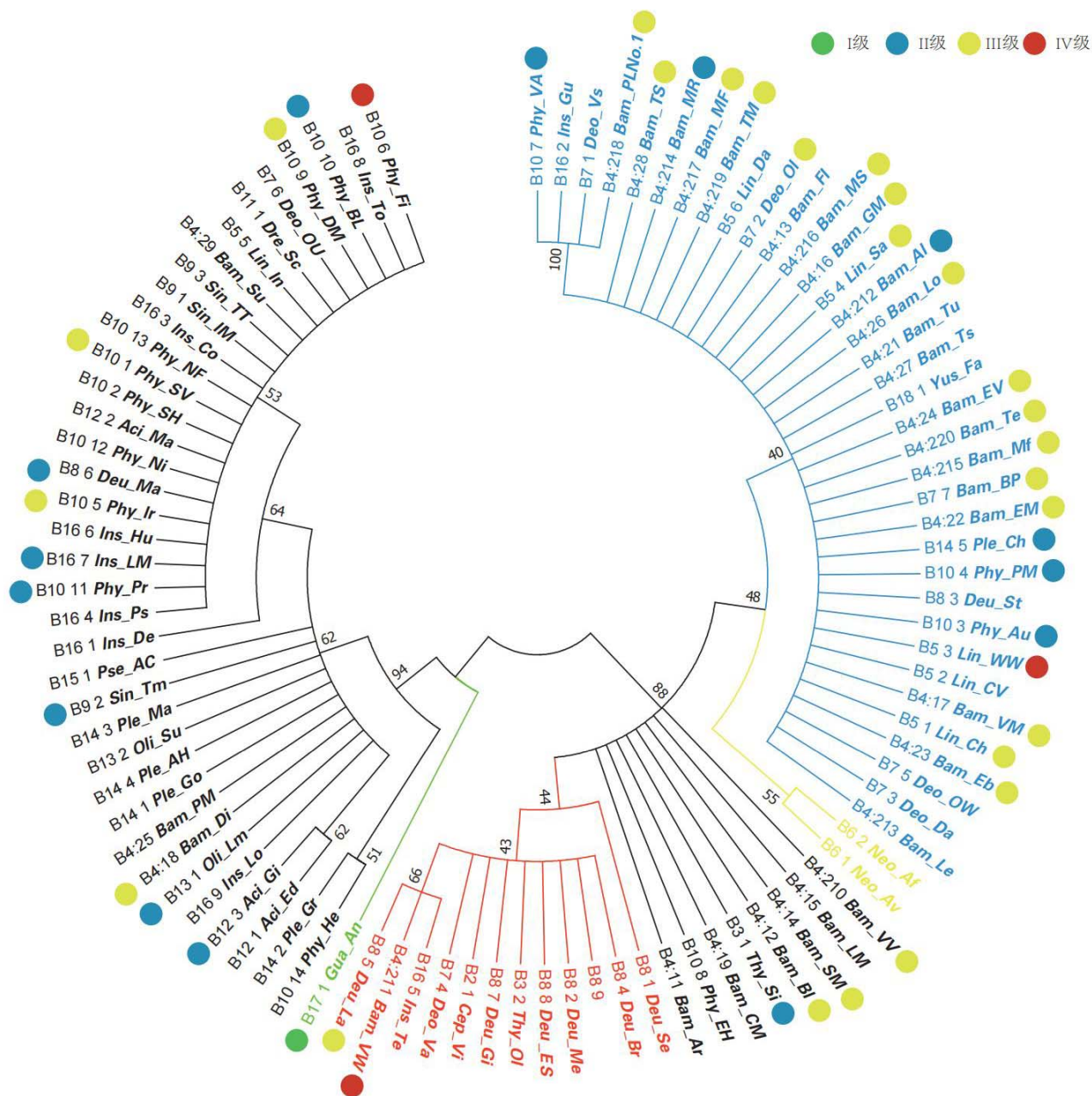


图 2 基于 rps16 序列构建的 NJ 系统发育树

Fig. 2 NJ-tree based on rps16 sequence

## 2.3 psbA-trnH 聚类分析

应用表 2 中引物 fwd、rev 对供试竹种 DNA 序列 PCR 扩增后进行双向拼接, 测序后得到 95 个竹

种的 psbA-trnH 片段(图 3), 测序成功率为 96.94%。可见, psbA-trnH 序列对本试验的竹种具有较高的通用性, 但是相对 ndhF、rps16 的条形码, 其区分

各个属种的能力稍弱,不能较好地分离大部分竹子的属种,只在二级分支聚类出图 3 中绿色分支 B17 组瓜多竹属。在已知的耐盐性竹种聚类方面,黄色一级分支中籼竹属孝顺竹亚属的观音竹、紫秆竹以

及刚竹属斑竹、牡竹属麻竹这 4 个不同属耐盐竹种被聚类在同一支中;红色分支中共聚类了 34 个竹种中的 21 个已知耐盐竹种,聚类了已知耐盐竹种的 48.8%。

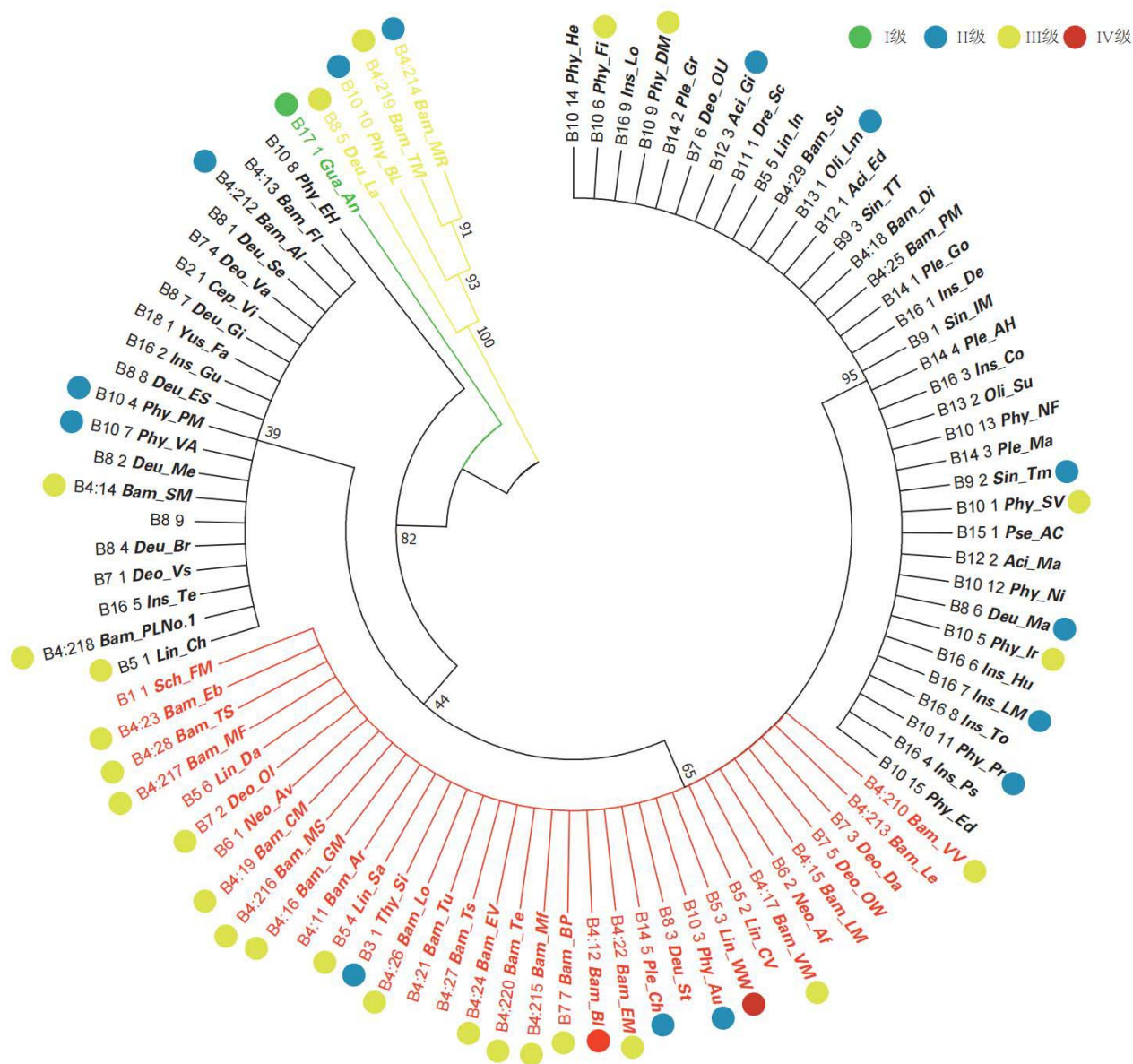


图 3 基于 psbA-trnH 序列构建的 NJ 系统发育树

Fig. 3 NJ-tree based on psbA sequence

### 3 结论与讨论

利用植物 DNA 条形码进行分类存在着局限性,单独使用核 DNA 条形码 ITS 对竹亚科植物进行分类<sup>[14]</sup>会因基因的假基因化而无法正确地分类竹亚科植物。叶绿体 DNA 条形码相较于核 DNA 序列更加保守,对种及以上的分类系统具有优势<sup>[18]</sup>。

目前主流的 DNA 条形码在不同植物中的应用

效果存在较大的差异<sup>[19]</sup>。相关研究表明,叶绿体条形码 rps16 适用于棕榈科的发育关系鉴定<sup>[20]</sup>,但不适用于桑属植物之间的种间鉴定<sup>[21]</sup>。对稗属的分类研究<sup>[22]</sup>发现,单一的 DNA 条形码无论是核基因序列,还是叶绿体基因序列都无法直接完成种属间的完全鉴定,利用多种 DNA 条形码进行鉴定<sup>[23]</sup>,才能更加有效地完成对物种种间及属间的聚类分析。

本研究中,3 种叶绿体 DNA 条形码对 98 个试

验竹种都有较高的通用性,平均通用性在96%以上。在对属间分类过程中,发现3种条形码均可单独聚类瓜多竹属, *ndhF*、*rps16* 条形码对牡竹属可有效聚类为一支,说明瓜多竹属、牡竹属竹子叶绿体DNA相较其他竹种在遗传进化过程中存在较大差异。3种DNA条形码皆可聚类部分已知的耐盐竹种,其中,*rps16* 单独聚类的蓝色分支聚类了已知43种耐盐竹种的55.8%,具有进行耐盐性评价的应用潜力。考虑到竹亚科植物的耐盐性并非简单的遗传、属间差异,还与其竹种自身代谢方式与形态结构息息相关,还需要对更多竹种的耐盐性进行试验,以完善DNA条形码技术在耐盐竹种评价中的应用。

#### 参考文献:

- [1] 李玮剑. 竹亚科井冈寒竹属的分类学研究[D]. 南昌: 江西农业大学, 2017.  
LI W J. A taxonomic study of the genus *Gelidocalamus* Wen(Bambusoideae)[D]. Nanchang: Jiangxi Agricultural University, 2017.
- [2] 朱振贤, 张芬耀, 宋盛, 等. 竹亚科植物分类研究进展[J]. 世界林业研究, 2017, 30(3): 35–40.  
ZHU Z X, ZHANG F Y, SONG S, et al. Research advances in bambuseae taxonomy[J]. World Forestry Research, 2017, 30(3): 35–40.
- [3] 张雨曲. 箭竹属(禾本科: 竹亚科)分子系统学研究[D]. 西安: 陕西师范大学, 2016.  
ZHANG Y Q. Molecular systematics of *Fargesia* Franchet(Poaceae: Bambusoideae)[D]. Xi'an: Shaanxi Normal University, 2016.
- [4] 龙春玲. 井冈寒竹复合体(竹亚科)的分类学研究[D]. 南昌: 江西农业大学, 2015.  
LONG C L. Taxonomic studies on *Gelidocalamus stellatus* complex (Bambusoideae)[D]. Nanchang: Jiangxi Agricultural University, 2015.
- [5] 白琼, 于丽霞, 鄢波. 竹类植物分类研究进展[J]. 河南科技, 2014(9): 188–189.  
BAI Q, YU L X, YAN B. Research Progress on classification of bamboos[J]. Journal of Henan Science and Technology, 2014(9): 188–189.
- [6] 赖广辉. 试论竹子分类和种系鉴定中的若干方法问题[J]. 竹子研究汇刊, 2013, 32(3): 9–13.  
LAI G H. Methodological issues on the classification and identification of bamboo species[J]. Journal of Bamboo Research, 2013, 32(3): 9–13.
- [7] FAZEKAS A J, KUZMINA M L, NEWMASER S G, et al. DNA barcoding methods for land plants[J]. Methods in Molecular Biology (Clifton, N. J.), 2012, 858: 223–252.
- [8] ZHOKHOVA E V, RODIONOV A V, POVYDYSH M N, et al. Current state and prospects of DNA barcoding and DNA fingerprinting in the analysis of the quality of plant raw materials and plant-derived drugs[J]. Biology Bulletin Reviews, 2019, 9(4): 301–314.
- [9] 胡鑫, 王旭, 刘曼, 等. 16个产地地乌药材的系统鉴定及质量评价[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(20): 132–139.  
HU X, WANG X, LIU M, et al. Systematic identification and quality evaluation of *Anemonis Flaccidae* Rhizoma from 16 different places of origin[J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2020, 26(20): 132–139.
- [10] 熊瑶, 金晨, 王晓云, 等. 鸡血藤及其混伪品的DNA条形码分子鉴定研究[J]. 中草药, 2020, 51(12): 3274–3283.  
XIONG Y, JIN C, WANG X Y, et al. Molecular identification of *Spatholobi Caulis* and its adulterants based on DNA barcoding[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2020, 51(12): 3274–3283.
- [11] 朱芳明, 杜建伟, 周国贤, 等. 基于DNA序列分析的刚竹属系统树构建[J]. 西部林业科学, 2015, 44(2): 63–68.  
ZHU F M, DU J W, ZHOU G X, et al. Construction phylogenetic tree in *Phyllostachys* based on the DNA sequence analysis[J]. Journal of West China Forestry Science, 2015, 44(2): 63–68.
- [12] 王苗苗, 王孝仕, 左龙亚, 等. 基于ITS序列的竹亚科植物分子鉴定研究[J]. 西南大学学报(自然科学版), 2018, 40(7): 44–50.  
WANG M M, WANG X S, ZUO L Y, et al. Molecular identification of Bambusoideae plants based on ITS sequences[J]. Journal of Southwest University (Natural Science Edition), 2018, 40(7): 44–50.
- [13] 李桃. EST-SSR标记在竹类植物系统分类中的研究和应用[D]. 杭州: 浙江大学, 2008.  
LI T. Research and application of EST-SSR marker in Bambuseae taxonomy[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2008.
- [14] SONG H X, GAO S P, JIANG M Y, et al. The evolution and utility of ribosomal ITS sequences in Bambusinae and related species: divergence, pseudogenes, and implications for phylogeny[J]. Journal of Genetics, 2012, 91(2): 129–139.
- [15] 严福林, 温迪, 王波, 等. 基于清风藤属植物DNA条形码的叶绿体序列筛选[J]. 种子, 2020, 39(5): 25–29.  
YAN F L, WEN D, WANG B, et al. Chloroplast coding sequence selection based on the DNA barcoding of the



- genus *Sabiaceae*[J]. *Seed*, 2020, 39(5): 25–29.
- [16] 陈松河. 竹类植物耐盐性研究与园林应用[M]. 北京: 中国建筑工业出版社, 2014.
- CHEN S H. *Studies on Bamboo Salt Tolerance and Garden Applications*[M]. Beijing: China Architecture & Building Press, 2014.
- [17] 易同培, 史军义, 马丽莎, 等. 中国竹类图志[M]. 北京: 科学出版社, 2008.
- YI T P, SHI J Y, MA L S, et al. *Iconographia Bambusoidearum Sinicarum*[M]. Beijing: Science Press, 2008.
- [18] 毕毓芳, 温星, 潘雁红, 等. 叶绿体 DNA 条形码在林木中的应用及研究进展[J]. *分子植物育种*, 2020, 18(16): 5444–5452.
- BI Y F, WEN X, PAN Y H, et al. Application and research progress of chloroplast DNA barcoding in forest trees[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2020, 18(16): 5444–5452.
- [19] 陈士林, 宋经元, 姚辉, 等. 药用植物 DNA 条形码鉴定策略及关键技术分析[J]. *中国天然药物*, 2009, 7(5): 322–327.
- CHEN S L, SONG J Y, YAO H, et al. Strategy and key technique of identification of Chinese herbal medicine using DNA barcoding[J]. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 2009, 7(5): 322–327.
- [20] BAKER W J, HEDDERSON T A, DRANSFIELD J. Molecular phylogenetics of subfamily calamoideae (palmae) based on nrDNA its and cpDNA rps16 intron sequence data[J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2000, 14(2): 195–217.
- [21] 刘玲, 张佳钰, 范小敏, 等. 特色桑品种资源 ITS、TrnL-F 和 rps16 序列与亲缘关系分析[J]. *植物遗传资源学报*, 2014, 15(5): 1074–1079.
- LIU L, ZHANG J Y, FAN X M, et al. Analysis of ITS, TrnL-F, rps16 sequence and genetic relationship of characteristic mulberry resources[J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2014, 15(5): 1074–1079.
- [22] 袁国徽, 田志慧, 李涛, 等. 稗属植物 DNA 条形码研究[J]. *中国农学通报*, 2021, 37(15): 106–111.
- YUAN G H, TIAN Z H, LI T, et al. DNA barcodes study of *Echinochloa*[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2021, 37(15): 106–111.
- [23] KRESS W J, ERICKSON D L. A two-locus global DNA barcode for land plants: the coding rbcL gene complements the non-coding trnH-psbA spacer region[J]. *PLoS One*, 2007, 2(6): e508.
- 责任编辑: 毛友纯  
英文编辑: 柳 正
- 
- (上接第 494 页)
- [21] 蒋鹏, 熊洪, 朱永川, 等. 施氮量和氮肥运筹模式对糯稻养分吸收积累和氮肥利用率的影响[J]. *湖南农业大学学报(自然科学版)*, 2016, 42(4): 349–353.
- JIANG P, XIONG H, ZHU Y C, et al. Effect of nitrogen rates and nitrogen application patterns on nutrient accumulation and nitrogen use efficiency of glutinous rice[J]. *Journal of Hunan Agricultural University (Natural Science)*, 2016, 42(4): 349–353.
- [22] 黎星, 汪勇, 成臣, 等. 氮肥运筹对南方优质常规晚粳产量和品质的影响[J]. *中国稻米*, 2019, 25(1): 29–33.
- LI X, WANG Y, CHENG C, et al. Effects of nitrogen application on yield and quality of high-quality conventional late japonica rice in South China[J]. *China Rice*, 2019, 25(1): 29–33.
- [23] 李武, 邓飞, 胡慧, 等. 缓控释氮肥对机插杂交籼稻稻米品质的影响[J]. *核农学报*, 2018, 32(4): 779–787.
- LI W, DENG F, HU H, et al. Effect of controlled-release nitrogen fertilizer on grain quality of machine-transplanted hybrid rice[J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2018, 32(4): 779–787.
- [24] WOPEREIS-PURA M M, WATANABE H, MOREIRA J, et al. Effect of late nitrogen application on rice yield, grain quality and profitability in the Senegal River valley[J]. *European Journal of Agronomy*, 2002, 17(3): 191–198.
- [25] 赵庆勇, 张亚东, 朱镇, 等. 播期与地点对不同生态类型粳稻淀粉 RVA 谱特性的影响[J]. *江苏农业学报*, 2014, 30(1): 1–8.
- ZHAO Q Y, ZHANG Y D, ZHU Z, et al. Effects of sowing dates and sites on starch RVA profile characteristics of different ecological types of rice (*Oryza sativa* L. japonica)[J]. *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences*, 2014, 30(1): 1–8.
- 责任编辑: 毛友纯  
英文编辑: 柳 正