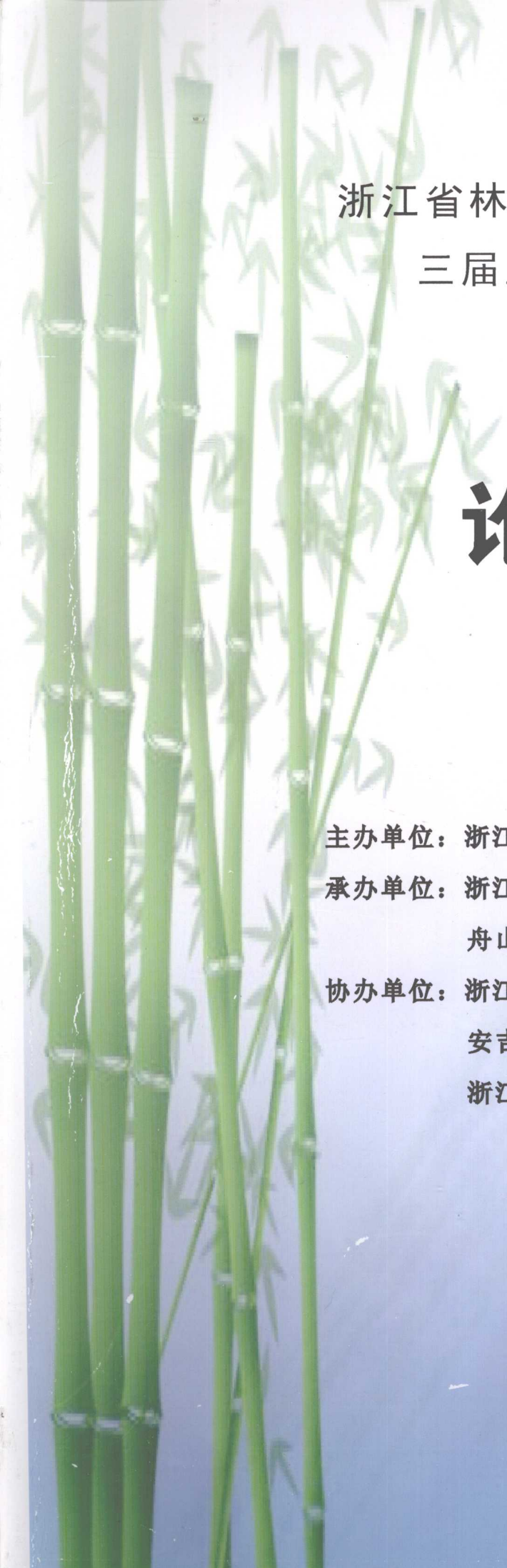




浙江省林学会竹类专业委员会
三届五次学术研讨会

论文集

主办单位：浙江省林学会竹类专业委员会

承办单位：浙江省林业科学研究院

舟山市农林局

协办单位：浙江省竹类研究重点实验室

安吉竹业省级区域科技创新服务中心

浙江省竹产业科技创新服务平台

浙江·舟山

2010年9月

目 录

第一部分 竹林培育	1
花吊丝竹立竹生态构件和地上部分生物量分配特征研究	2
部分竹类植物亲缘关系的 AFLP 和 ISSR 分析	10
孝顺竹杂交育种试验研究	17
盐胁迫对雷竹生理生化特性的影响	24
不同种植年限雷竹林土壤有机氮的矿化	30
绿竹 <i>BoEMF2</i> 基因的克隆和功能分析	36
Identification of genes related to the development of Bamboo rhizome bud	42
毛竹笋用林挖掘鞭笋对春笋的影响分析	55
耐寒丛生竹种—椴竹的生物量研究	59
无公害竹笋高效经营中主要因子的调控	68
斑苦竹笋的营养成分分析及其评价	75
皱竹出笋成竹规律的初步研究	81
盐胁迫下雷竹的离子选择性吸收能力研究	85
Somatic embryogenesis and organogenesis in <i>Dendrocalamus hamiltonii</i>	89
绿竹 <i>BoYABBY1</i> 基因克隆与功能分析	98
绿竹成花基因 <i>BoTFL1</i> 的克隆及生物信息学分析	105
茭白草覆盖雷竹栽培技术研究	112
黄甜竹地下部分和地上部分生长发育规律研究	115
毛竹液流特征及其与环境因子的关系	119
低温锻炼对麻竹苗耐寒性及抗氧化酶活性的影响	126
合江方竹不同海拔梯度引种栽培试验	132
庆元县竹林培育“三级科技示范网络”机制初探	136
江山市毛竹不同经营类型施肥试验分析报告	139
安吉县毛竹资源及其生物量研究	147
第二部分 竹子加工与利用	150
改性竹粉对亚甲基蓝的吸附性能的研究	151

竹单板胡桃的染色工艺试验	156
用 1-MCP 处理保鲜竹笋研究	160
竹炭负载壳聚糖对 Zn(II) 吸附动力学与机制分析	166
毛竹蒲头粉碎机械开发的几点构想	172
竹材染色的计算机配色技术研究	175
第三部分 竹产业与竹文化	181
浅议农业观光园中竹子的景观形态	182
浙江安吉 FSC 竹林认证实践	187
浅谈“八大创新”举措, 推进竹产业转型升级	190
安吉县现代林业园区示范功能特点分析	193
安吉竹加工产业成长及影响因素分析	196
长兴县毛竹现代示范园区建设的实践与思考	201
德清县笋竹产业现状与发展展望	205
以科学发展观为指导 实现竹产业可持续发展	208
临安市竹笋产业转型升级的实践与思考	211
青田县竹产业发展现状与对策	214
衢州市竹产业转型升级的调查与思考	218
松阳县竹产业现状与可持续发展探讨	223
武义县竹产业发展现状与对策建议	227
浙江省龙泉市竹产业现状与发展对策	230
竹业对生态文明建设的重要促进作用	234

第一部分 竹林培育

花吊丝竹立竹生态构件和地上部分生物量分配特征研究

郭子武¹, 陈双林¹, 李迎春¹, 杨清平¹, 邹跃国²

(中国林业科学研究院亚热带林业研究所, 浙江 富阳 311400. 福建省华安县林业局, 福建, 华安, 363800)

摘要: 基于为丛生笋用、材用、观赏竹种花吊丝竹区域推广栽培提供理论依据, 研究了立竹地上部分生物量分配及主要生态构件因子间的关系, 结果表明: 立竹地上部分器官含水率大小顺序为竹叶>竹枝>竹秆, 竹秆、竹枝含水率与立竹年龄呈显著负相关, 竹叶含水率与立竹年龄相关不显著; 1-3年生立竹地上部分生物量分配均为竹秆>竹枝>竹叶; 而不同年龄的立竹竹秆生物量变化趋势与竹枝、竹叶不同, 竹秆生物量比例随立竹年龄的增大呈高一低一高的变化趋势, 竹枝、竹叶生物量比例随立竹年龄的增大而提高; 立竹全高、枝下高是立竹胸径的从属因子, 器官和地上部分总生物量与立竹胸径、全高均呈显著或极显著正相关, 可以用相对生长模型模拟; 不同径级立竹壁厚率(RWT)变化趋势一致, 从竹秆基部到顶部呈高一低一高分布规律, 与立竹胸径、全高、枝下高呈极显著或显著负相关, 与立竹胸径的关系方程式为 $AWT = 0.2899 - 0.0539D + 0.0014D^2$ ($R^2=0.7735$, $R_{adj}^2=0.7567$, $F=46.0949$, $P<0.0001$)。

关键词: 花吊丝竹; 生物量; 立竹胸径; 壁厚率

Study on biomass allocation and ecological component characteristic of *Dendrocalamus minor* var. *amoenus*

GUO Zi-wu, CHEN Shuang-lin, LI Ying-chun, YANG Qing-ping

(1. The Research Institute of Subtropical Forestry CAF, Zhejiang, Fuyang, 311400; 2. Forestry Bureau of Huaan, Fujian, Huaan, 363800)

Abstract: Based on theoretical foundation for region promotion and cultivation of *Dendrocalamus minor* var. *amoenus* used for shooting, timber, afforestation and water and soil conservation, bamboo with different ages (1a, 2a and 3a) were sampled to research biomass and relationship among ecological structure factors. The results indicated that water content of organ is ordered by leaf>branch>culm, and there was a significant negative correlation relationship between bamboo age and water content of branch and culm, and not found between that of leaf. Biomass above ground partition was ordered by culm > branch > leaf. With the increase of age, culm biomass showed high-low-high variation trend, and biomass of branch and leaf increased. Total height and branch height was dependent factor of DBH, and significant or highly significant positive correlation was found between DBH and organ and total biomass, which were simulated by allometric model. There was same change tendency of wall thickness ratio among different DBH, and significant negative correlation with DBH, which showed high-low-high tendency from bottom to top of bamboo. The equation of DBH and wall thickness ratio was $AWT = 0.2899 - 0.0539D + 0.0014D^2$ ($R^2=0.7735$, $R_{adj}^2=0.7567$, $F=46.0949$, $P<0.0001$).
Key words: *Dendrocalamus minor* var. *amoenus*; Biomass; Diameter at breast height(DBH); Wall thickness ratio

*基金项目: 科技部农业科技成果转化项目“丛生笋用竹种质资源发掘利用及高效培育技术示范”。

作者简介: 邹跃国(1964-), 男, 福建华安人, 高级工程师, 主要从事竹子分类、种质资源保存及竹业科技推广。

竹类植物作为重要的克隆植物,集经济、生态和社会效益于一体,具有用途广,成林快,一次造林科学经营可永续利用等特点,在当今国内外环境保护倍受关注,森林资源趋于匮乏的大背景下,被誉为21世纪最有发展和应用前景的植物类型。虽然,我国竹类植物种质资源丰富,竹林面积居世界第一位^[1,2],但目前也仅有少量竹种大面积栽培、推广应用,许多具有优良经济性状的竹种还未得到规模化开发利用。花吊丝竹(*Dendrocalamus minor* var. *amoenus*)隶属牡竹属,为大型丛生竹种,分布于我国的广西、广东、云南、福建等省份,笋期5-10月,竹笋产量高,笋味鲜美细嫩,竹材可用于造纸,竹秆淡黄色,有深绿色纵条纹,顶梢长而下垂,形态优美,是优良的笋用、材用和观赏竹种[3]。花吊丝竹生态适应性强,在石灰岩山地生长良好,是我国石漠化地区可以推广应用的优良竹种[4]。

生物量是衡量植物光合作用和干物质积累能力的重要指标,植物器官生物量分配与经济性状密切相关。目前就花吊丝竹生物学、生态学等方面的研究少有涉及,生物量分配特征及各立竹生态构件关系的研究鲜报道。为进一步评价其推广应用价值,笔者就花吊丝竹立竹构件及地上部分生物量分配特征开展了初步研究,旨在探明大型丛生竹花吊丝竹地上部分各器官生物量分配规律及立竹生态构件(秆、枝、叶)因子[5]间的关系,为其规模化推广应用和高效栽培提供生物学和生态学理论依据。

1 试验地概况

试验地位于中亚热带与南亚热带气候过渡区的福建省华安县竹类植物园,海拔 155m,年均气温 17.3-21.2℃,极端最高气温 39.5℃,极端最低气温-3.7℃,年均降水量 1448-2021mm,属低山缓坡地,土壤为砖红壤性红壤,土壤疏松,土层厚度 1m 以上, pH 值 4.32,有机质含量 31.79 g·kg⁻¹,全氮、全磷、全钾含量分别为 1.11 g·kg⁻¹、0.279 g·kg⁻¹、0.691 g·kg⁻¹,速效氮、速效磷、速效钾含量分别为 175.84mg·kg⁻¹、30.01 mg·kg⁻¹、26.92mg·kg⁻¹。

2 试验材料与方法

2.1 试验竹林

试验竹林处于华安县竹类植物园南面的缓坡地,于 2002 年 4 月移母竹单株埋茆营造,面积 20 hm²,初植密度 600 丛·hm⁻²。幼林期除弱小笋、退笋采收外,其它竹笋留笋长竹,2007 年出笋后成林,于出笋中期留养径级较大的健康竹笋成竹,年留养新竹数 4-5 株·丛⁻¹,其余竹笋悉数采收,秋冬季伐除弱小竹和部分 2 年生立竹。2008 年 7 月林分调查时,试验竹林竹丛平均立竹密度 8 株·丛⁻¹,立竹年龄结构比 1 年生:2 年生:3 年生为 4:3:1,最大立竹高度和胸径分别为 16.26m、7.11cm,立竹平均胸径 4.23cm。试验竹林不施肥,只进行夏季 1 次中耕除草。

2.2 调查方法

2.2.1 竹丛结构调查

在试验竹林中随机选取样丛 10 丛,调查样丛的立竹数和立竹胸径、立竹年龄。

2.2.2 生物量调查

在试验竹林中随机选取 1-3a 生立竹各 30 株,齐地伐倒后逐株测量立竹胸径(D/mm)、全高(H/m)、枝下高(L/m)等立竹结构因子,然后将秆、枝、叶分离,并分别称鲜重。每个年龄立竹选取 5 株样竹,分别取竹秆、竹枝上中下部和竹叶的混合样(竹秆、竹枝、竹叶各 5 份),105℃杀青后,85℃下烘干至

恒重，测定各器官含水率，计算各器官的生物量。

2.2.3 立竹生态构件因子调查

对选取的 1-3 年生各 30 株样竹，在立竹胸径、全高、枝下高测量后，劈除竹秆上枝条，按 100cm 长度将竹秆分成区段，用自动显示游标卡尺分别从四个方向测量每段竹秆的上端壁厚 (wt/mm) 和上端直径 (d/mm)，用于计算壁厚率 (AWT)。

2.3 数据分析

竹秆壁厚率：

$$AWT = \frac{wt}{d} \quad (1)$$

式中，AWT—壁厚率，wt—立竹某一竹高处竹壁厚度，d—该竹高处竹秆直径。

生物量模拟：采用相对生长模型进行模拟^[6]。

$$LnW = a + bLn(D^2H) \quad (2)$$

式中，W—生物量 (kg)，D—立竹胸径，H—立竹全高。

立竹生态构件因子关系：分析了立竹胸径、全高、枝下高、壁厚率等立竹生态构件因子间的关性，并构建了壁厚率与立竹胸径的关系方程式。

文中相关分析采用 SPSS 统计软件相关模块分析，方程拟合采用 SAS 统计软件相关模块分析。文中图表采用 Sigmaplot 及 Excel 软件完成。

3 结果与分析

3.1 立竹器官含水率变化规律

含水率与竹子生物量积累、竹子材性密切相关^[7]，较低的含水率也就意味着较好的材性和较高的生物量积累效率^[8]。花吊丝竹不同年龄立竹器官含水率均为竹叶>竹枝>竹秆（表1），与其他竹种器官含水率变化规律一致^[9,10]。不同年龄立竹竹秆含水率存在显著性差异，随立竹年龄的增大而显著下降，说明竹材材性质量随立竹年龄的增大而不断提高；不同年龄立竹竹叶含水率差异不显著；竹枝含水率与竹秆含水率随立竹年龄的变化趋势一致，随立竹年龄的增大而显著下降；花吊丝竹3年生立竹竹秆含水率显著低于同一栽培地的3年生绿竹 (*Dendrocalamopsis oldhami*) (36.18%-44.66%)^[11]和撑麻7号 (*Bambusa pervariabUis* X *Dendrocalamus latiflorus*) (54.5%)^[12]的竹秆含水率，说明花吊丝竹材用性能较好。

表 1 器官含水率差异分析

Table 1 Variation analysis of organ water content of *D. minor var. amoenus*

立竹年龄 (a)	器官含水率 (%)		
	竹秆	竹枝	竹叶
1	38.22 a	51.89 a	53.93 a
2	37.19 a	48.92 ab	54.20 a
3	31.55 b	42.09 b	53.67 a

3.2 地上部分生物量分配

3.2.1 器官生物量分配

由图 1 分析可知，花吊丝竹 1-3 年生立竹地上部分各器官生物量分配规律均为竹秆>竹枝>竹叶。竹秆生物量比例随立竹年龄的增大呈高一低一高的变化趋势，竹枝、竹叶生物量比例随立竹年龄的增大而提高，这与花吊丝竹的生长发育节律相符，1 年生立竹竹秆虽然木质化程度低，但新竹长成的当年不能完全完成抽枝展叶，因而竹枝、竹叶生物量所占比例较低，随着立竹年龄的增大，立竹抽枝展叶完整，竹枝、竹叶生物量比例就相应提高。花吊丝竹枝叶茂盛，1-3 年生立竹平均竹枝生物量占地上部分总生物量的比例达 20.70%，显著高于我国主要经济竹种毛竹(*Phyllostachys pubescens*) (11.93%)^[13]，这和该竹种特性及生长发育规律密切相关

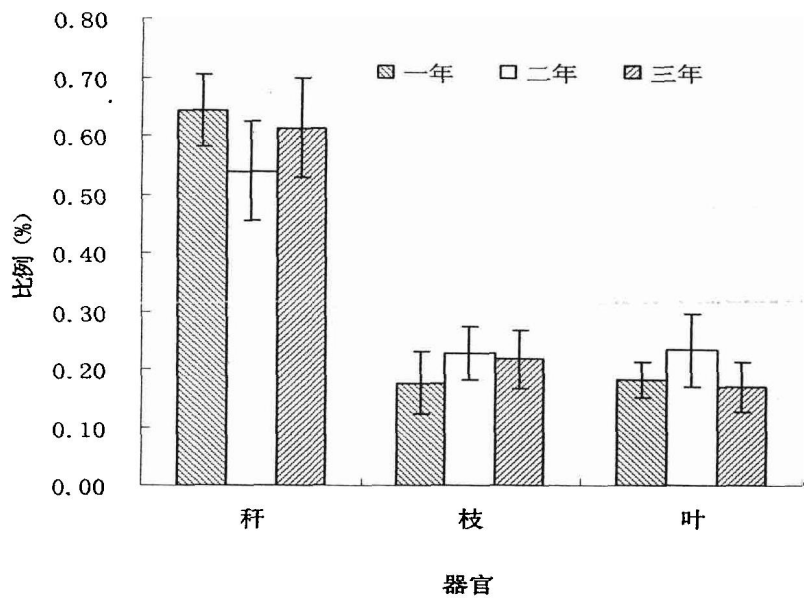


图 1 各龄立竹器官生物量比例

Fig 1 Allocation proportion of organ biomass of *D. minor var. amoenus*

3.2.2 立竹生态构件因子与地上生物量关系

表2 立竹生态构件因子与地上部分器官生物量的相关系数矩阵

Table 2 Correlation matrix between ecological component and over-ground biomass of *D. minor var. amoenus*

	D	H	L	W1	W2	W3	W
H	0.667**						
L	0.463*	0.566**					
W1	0.940**	0.778**	0.493**				
W2	0.734**	0.393*	0.052	0.682**			
W3	0.750**	0.398*	0.115	0.672**	0.899**		
W	0.942**	0.686**	0.363*	0.954**	0.860**	0.851**	
AWT	-0.823**	-0.432*	-0.352	-0.676**	-0.614**	-0.629**	-0.715**

注：**, $P < 0.01$; *, $P < 0.05$ 。

表 3 花吊丝竹地上各器官生物量模型

Table 3 Biomass model of over-ground organs for *D. minor* var. *amoenus*

立竹年龄 (a)	生物量	模型	R^2	F	P
1	竹秆生物量	$\ln W1 = -3.5516 + 0.8382 \ln(D^2H)$	0.9817	391.07	<0.0001
	竹枝生物量	$\ln W2 = -2.0611 + 0.3385 \ln(D^2H)$	0.5419	9.47	0.0152
	竹叶生物量	$\ln W3 = -3.6967 + 0.632 \ln(D^2H)$	0.7936	30.77	0.001
	总生物量	$\ln w = -2.4654 + 0.7217 \ln(D^2H)$	0.9726	283.78	<0.0001
2	竹秆生物量	$\ln W1 = -2.8657 + 0.7228 \ln(D^2H)$	0.9792	376.73	<0.0001
	竹枝生物量	$\ln W2 = -3.0576 + 0.5901 \ln(D^2H)$	0.7259	21.57	0.002
	竹叶生物量	$\ln W3 = -2.4469 + 0.473 \ln(D^2H)$	0.7259	13.75	0.006
	总生物量	$\ln w = -1.7257 + 0.6229 \ln(D^2H)$	0.9129	83.89	<0.0001
3	竹秆生物量	$\ln W1 = -2.3365 + 0.6448 \ln(D^2H)$	0.9672	236.02	<0.0001
	竹枝生物量	$\ln W2 = -2.144 + 0.4223 \ln(D^2H)$	0.7339	22.06	0.002
	竹叶生物量	$\ln W3 = -2.7916 + 0.4924 \ln(D^2H)$	0.7170	20.26	0.002
	总生物量	$\ln w = -1.3433 + 0.5561 \ln(D^2H)$	0.9734	292.71	<0.0001

表 2 中 W1、W2、W3、W 分别为竹秆、竹枝、竹叶生物量和地上部分总生物量。相关分析表明，立竹胸径与各器官生物量和地上部分总生物量均呈极显著正相关。立竹全高与竹秆生物量、地上部分总生物量极显著正相关，与竹枝、竹叶生物量显著正相关。立竹枝下高与竹秆生物量相关极显著，与地上部分总生物量相关显著，而与竹枝、竹叶生物量、壁厚率相关不显著。器官、地上部分总生物量之间均呈极显著正相关，但与壁厚率均为极显著负相关。综合立竹生态构件因子间及与器官、地上部分总生物量的关系，花吊丝竹 1-3 年生立竹器官、地上部分总生物量与立竹胸径、全高的相对生长模型均达显著或极显著水平（表 3）。因此，可以用立竹胸径、全高对器官和地上部分总生物量进行估算。

3.3 立竹生态构件因子关系

3.3.1 主要生态构件因子相关性分析

竹子生态构件因子间存在着很大的相关性[14-17]。花吊丝竹立竹胸径与立竹全高呈极显著正相关 ($P < 0.0001$)，与枝下高呈显著正相关 ($P < 0.05$)，全高与枝下高呈极显著正相关 ($P < 0.0001$) (表2)，说明立竹全高、枝下高是立竹胸径的从属因子，这与在毛竹中的研究结论一致[18]。但立竹胸径、全高、枝下高均与壁厚率存在负相关关系，其中，立竹胸径、全高与壁厚率呈极显著负相关 ($P < 0.0001$)，立竹全高与壁厚率呈显著负相关 ($P < 0.05$)。

3.3.2 立竹胸径与壁厚率关系

竹壁厚度对竹秆生物量有重要影响，是竹子材性和材质的重要指标之一。除立地条件、气候条件和人工经营干扰外，立竹胸径是壁厚率的主要影响因子，一般为胸高壁厚随立竹胸径的增大而增大。为比较不同径级立竹的竹壁厚度差异，引入壁厚率的概念。花吊丝竹的平均壁厚率在 0.076~0.343 之间。且不同胸径立竹的壁厚率呈一致的变化趋势，即从竹秆基部到顶部呈高一低一高的分布规律，以立竹竹秆顶部最大，基部次之，竹秆中下部最小(图 2)，且随着立竹胸径的增大，立竹平均壁厚率呈下降趋势，

进一步验证了上述的壁厚率与立竹胸径呈极显著负相关的结论。

为探讨立竹胸径与立竹平均壁厚率的数量关系，以立竹胸径为自变量，立竹平均壁厚率为因变量，建立方程 $AWT = 0.2899 - 0.0539D + 0.0014D^2$ 。经检验，方程 $R^2=0.7735$, $Radj^2=0.7567$, $F=46.0949$, $P<0.0001$ ，说明方程显著。对方程系数显著性检验表明(表 4)，方程常数项系数 y_0 ($P<0.0001$)，一次项系数 a ($P<0.0001$)，二次项系数 b ($P=0.0022$) 均达极显著水平，即该方程能够很好地反映立竹胸径与壁厚率的关系(图 2)。

表 4 方程及系数显著性检验

Table 4 Significance test of equation and its parameters for relationship between DBH and AWT				
	Coefficient	Std. Error	T/F	P
Y_0	0.2899	0.0253	11.4561	<0.0001
a	-0.0539	0.0113	-4.7655	<0.0001
b	0.0041	0.0012	3.3907	0.0022
方程			46.0949	<0.0001

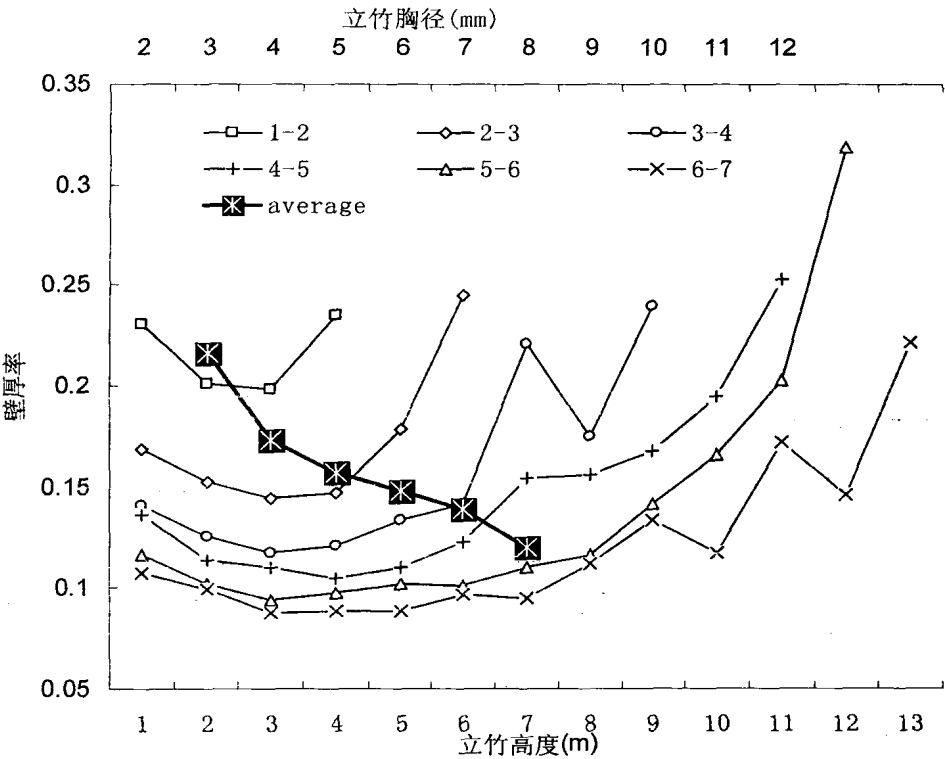


图 2 立竹壁厚率与立竹全高及胸径关系
Fig 2 Relationship between DBH, H and AWT

4 结论与讨论

花吊丝竹立竹器官含水率竹叶>竹枝>竹秆,不同年龄立竹竹秆、竹枝含水率随立竹年龄的增大而显著下降,而不同年龄立竹竹叶含水率差异并不显著,与陈双林等^[5]对毛竹(*Phyllostachys pubescens*)竹叶含水率变化的研究结果不同,这与花吊丝竹1年换1次叶的生物学特性有关。竹材是竹林主要收获产品之一,其含水率对竹材材性有较大的影响,而且含水率高的竹材容易霉变腐烂,再者,丛生竹靠立竹莖部的笋芽萌发成竹,一般2年生以上立竹失去出笋能力。因此,在竹丛立竹年龄结构调控中,既要考虑竹材的质量,也要考虑立竹的自然更新能力,伐竹时伐除3年生及以上和部分2年生立竹,竹丛主要以1年生、2年生立竹为主,适当在空隙处保留少量3年生立竹。

植物地上部分生物量是初级生产力的重要组成部分和表现形式^[19],生物量在不同器官中的分配特征,在很大程度上反映了竹林的冠层结构、生产潜力和生活周期^[20]。花吊丝竹不同年龄立竹地上部分器官生物量分配规律均为竹秆>竹枝>竹叶,但随着立竹年龄的增大,竹秆、竹枝、竹叶生物量所占比例发生变化,具体表现在竹秆生物量比例下降,而竹枝、竹叶生物量比例提高,这主要受花吊丝竹抽枝长叶的生物习性影响。立竹胸径、全高是影响地上生物量的重要生态构件因子,应用相对生长模型构建出拟合程度高的不同年龄立竹器官和地上部分总生物量与立竹胸径、全高的数学模型。

花吊丝竹立竹壁厚率随竹秆高度的升高呈高一低一高的分布规律,立竹平均壁厚率区间为0.076~0.343,与立竹胸径呈极显著负相关,这与散生型毛竹立竹平均壁厚率随立竹径级的变化而相对稳定的规律不同^[18],可能与花吊丝竹为丛生型竹种,在密集的竹丛中,大的个体在竹笋—幼竹拔节生长的形态建成过程中,在资源竞争中占据优势,可得到比小的个体更多的养分,有利于幼竹的高生长,但也对幼竹的居间分生组织横向生长产生一定的影响等有关^[8]。建立了能够比较好地反映立竹平均壁厚率与立竹胸径关系的一元二次方程式($RWT = 0.2899 - 0.0539D + 0.0014D^2$)。

总之,在花吊丝竹的丰产培育中,要获取高的竹林生物量,提高竹林产品质量,须在了解其生物量分配和积累特征的基础上,对竹丛结构进行科学定向调控,特别是竹丛立竹密度、立竹胸径等。针对花吊丝竹的经营目标(笋用、材用、笋材兼用或观赏竹苗生产),进一步开展定向培育的丰产林分结构模式的研究。

参考文献:

- [1]李昌荣,屠六邦,王进荣,等.关于调整竹林生态系统食物链的研究[J].生态学杂志,1995,14(6):21-24.
- [2]Yang Qing, Duan Zhu-biao, Wang Zheng-liang, et al. Bamboo resources, utilization and ex-situ conservation in Xishuangbanna, South-eastern China[J]. Journal of Forestry Research, 2008, 19(1):79-83.
- [3]邓恢.花吊丝竹丰产培育技术[J].林业科技开发,2008,22(1):80-83.
- [4]滕华卿.花吊丝竹在水土流失治理中的应用[J].福建水土保持,2004,16(3):23-23,38.
- [5]陈双林,吴柏林,吴明,等.退化低丘红壤新造毛竹林地上部分生物量的研究[J].江西农业大学学报,2008,26(4):527-51.

- [6]王维枫,雷渊才,王雪峰,等.森林生物量模型综述[J]. 西北林学院学报, 2008, 23(2):58-63.
- [7]Chung, K. F. and W. K. Yu.Mechanical properties of structural bamboo for bamboo scaffoldings. Engineering-Structures, 2002, 24: 429-442
- [8]江泽慧.世界竹藤[M].辽宁科学技术出版社,沈阳,2002.
- [9]周玉卿.井冈山寒竹种群生物量结构初步研究[J].西北农业学报, 2004, 13(4):120-123.
- [10]吴丽华.福建南平引种莉竹属植物生物量研究[J]. 经济林研究, 2003, 21(3):17-20.
- [11]郑维鹏,方镇坤,陈良喜,等.福建绿竹不同种源含水率与持水量研究[J]. 福建林业科技, 2004, 31(3): 6-9.
- [12]邱银河.撑麻7号竹地上部分生物量分配研究[J]. 世界竹藤通讯, 2007, 3:29-31.
- [13]彭在清,林益明,刘建斌,等.福建永春毛竹种群生物量和能量研究[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2002, 41(5): 579-583.
- [14]马乃训,陈红星,张文燕.优良经济竹种红竹生物量的研究[J]. 竹子研究汇刊, 1994, 13(1):31-41.
- [15]刘庆,钟章成.斑苦竹无性系种群生物量结构与动态[J]. 竹类研究, 1996, 1:51-56.
- [16]代全林,陈存及,肖书平,等.茶秆竹生物量模型研究[J]. 竹子研究汇刊, 2001, 20(4):67-71.
- [17]董文渊,黄宝龙,谢泽轩,等.筴竹无性系种群生物量结构与动态研究[J]. 林业科学研究, 2002, 15(4):416-420.
- [18]陈双林,吴柏林,虞敏之,等.毛竹材积主要构件因子关系研究及材积表编制[J].福建林业科技, 2008, 35(2):30-33.
- [19]李凯辉,胡玉昆,阿德力·麦地,等. 天山南坡高寒草地物种多样性及地上生物量研究[J]. 干旱区资源与环境, 2007, 21 (1) : 155-159.
- [20]吴福忠,王开运,杨万勤,等.大熊猫主食竹群落系统生态学过程研究进展[J]. 世界科技研究与发展, 2005, 27(3): 79-84.

部分竹类植物亲缘关系的 AFLP 和 ISSR 分析

姜永峰 林新春 方伟*

浙江农林大学亚热带森林培育国家重点实验室培育基地 临安 311300

摘要:本研究采用 AFLP 和 ISSR 分子标记技术对 4 个箬竹属竹种的 12 个变异类型的亲缘关系进行分析。结果:用 12 对 AFLP 引物和 10 个 ISSR 引物分别扩增出 501、171 个位点,多态位点百分率分别为 73.6%(367)、78.8%(137)。两种标记均揭示箬竹属 4 个竹种绿竹、乌脚绿竹、美国绿竹和孝顺竹间存在较高的遗传差异,但竹种内部变异类型间的遗传差异极小。同样的结论在部分刚竹属和矢竹属竹种中得到进一步验证。

Abstract:In this research, amplified fragment length polymorphisms (AFLP) and inter-simple sequence repeats (ISSR) molecular markers were used to detect the genetic relationship among 12 types of variation from 4 species of *Bambusa*. 12 AFLP primer combinations and 10 ISSR primers amplified 501 and 171 bands, of which the polymorphic bands were 367 (73.6%) and 137(78.8%), respectively. Similar results of AFLP and ISSR revealed that there were higher genetic diversity among *B. edulis*、*B. sp.*、*B. oldhami* and *B. multiplex*.

竹类植物是禾本科(Gramineae)竹亚科(Bambusoideae)植物的总称,全世界约有70多属1200多种,其中我国处于世界竹类分布中心和范围之内,竹类资源非常丰富,据不完全统计,共有39属,500种以上^[1,2]。竹子由于适应性较强,同一竹种由于长期适应不同的生境或遗传漂移,往往会形成变种。另外,由于人们长期的栽培,一些竹种,特别是引种栽培的情况下,会形成栽培变型。而我国地域辽阔,气候变化复杂,竹子栽培历史悠久,许多竹种都存在变种或变型,据不完全统计,我国500余种竹子中有近100余种为变种或缘故变型^[3],如毛竹(*Phyllostachys edulis*),有龟甲竹(*Ph. edulis* cv. *Heterocycla*),金丝毛竹(*Ph. edulis* cv. *Gracilis*),圣音毛竹(*Ph. edulis* cv. *Tubaeformis*),厚壁毛竹(*Ph. edulis* cv. *Pachyloen*)等多个变种。

目前已经有许多学者研究过部分竹子变异类型(包括变型、变种、栽培类型)的遗传变异及其遗传多样性。师丽华^[4]、林新春^[5]、郭小勤^[6]等利用RAPD、AFLP等分子标记分析毛竹(*Ph. edulis*)种下等级,发现毛竹不同变异间存在一定得遗传变异。方伟^[7]等利用RAPD标记对雷竹(*Ph. violascens*)的不同栽培类型进行分析,通过聚类得出雷竹不同栽培类型之间亲缘关系密切,但不同栽培类型可以区分。篌竹(*Ph. nidularia*)^[8]、巨龙竹(*Dendrocalamus sinicus*)^[9]等不同变异类型间存在丰富的遗传多样性。

为了进一步了解竹类植物变异类型间的遗传变异及亲缘关系,本研究选择丛生、散生和混生三大竹种的3个属8个竹种共24个变异类型(包括变型、变种、栽培类型)为材料进行分析,同时从DNA分子水平为竹子变异类型的分类提供一定的依据。

1 材料和方法

1.1 实验材料

基金项目:浙江省重大科技专项(2006C12008) 姜永峰:男,助教,从事植物生物技术研究。*通讯作者

24个试验材料(详见表1)目前都引种栽培或以组培试管苗形式保存在浙江农林大学。采集各试验材料新鲜叶片,带回实验室后置于-70℃低温保存备用。

1.2 基因组 DNA 提取

采用改进的CTAB法提取试验材料的基因组DNA^[10],用NanoDrop1000微量核酸蛋白检测仪对DNA进行纯度和浓度检测。用0.8%的琼脂糖凝胶电泳检测DNA质量,最后将基因组DNA定量至100ng/μL,-20℃储存备用。

1.3 AFLP 分析

本实验采用EcoRI/MseI酶切组合。试剂Taq酶、EcoRI、MseI和T₄DNA连接酶均购自NEB公司;dNTPs购自上海Sangon;EcoRI/MseI对应的接头和引物均由上海Sangon合成,接头序列为:EcoRI左接头5'-CTCGTAGACTGCGTACC-3',右接头5'-AATTGGTACGCAGTCTAC-3',MseI左接头5'-GACGATGAGTCCTGAG-3',右接头5'-TACTCAGGACTCAT-3';预扩增引物对选用E+A/M+C,选择性引物选用4个选择性碱基的引物,详见表2。

AFLP实验程序与Vos^[11]等发明的方法基本相同。选择性扩增产物在6.0%变性聚丙烯酰胺胶电泳检测,电泳缓冲液为1×TBE,电泳结束后银染显色。

表 1 样品名称
Table 1 The name of the samples

编号 CODE	名称 SPECIES	采样地或来源 ORIGIN	备注 REMARKS
1	乌脚绿竹 <i>Bambusa edulis</i>	台湾	
2	花叶乌脚绿竹 <i>B. edulis f. striatus</i>	台湾	叶片有白色条纹
3	美国绿竹 <i>B. sp</i>	美国加州大学河边分校	
4	抗盐绿竹 1 号 <i>B. sp. ST1</i>	美国绿竹经 EMS 诱变	耐盐生长
5	抗盐绿竹 2 号 <i>B. sp. ST2</i>	美国绿竹经 EMS 诱变	耐盐生长
6	绿竹 <i>B. oldhami</i>	浙江温州	
7	花秆绿竹 <i>B. oldhami f. striata</i>	浙江温州	秆有白色条纹
8	花秆花叶绿竹 <i>B. oldhami f. varigata</i>	浙江温州	秆及叶都有白色条纹
9	台湾绿竹 <i>B. oldhami</i>	台湾	
10	孝顺竹 <i>B. multiplex</i>	浙江农林大学竹种园	
11	花孝顺竹 <i>B. multiplex cv. Alphonsekarri</i>	浙江农林大学竹种园	秆金黄色,节间有绿色纵条纹
12	凤尾竹 <i>B. multiplex cv. Fernleaf</i>	浙江农林大学竹种园	植株矮小,叶片小
13	罗汉竹 <i>Phyllostachys aurea</i>	浙江农林大学竹种园	
14	绿皮黄筋罗汉竹 <i>Ph. aurea f. flavescens-inversa</i>	浙江农林大学竹种园	秆绿色并具有黄色沟槽

15	黄皮绿筋罗汉竹 <i>Ph. aurea</i> f. <i>holochrysa</i>	浙江农林大学竹种园	秆金黄色并具有绿色沟槽
16	黄金罗汉竹	浙江农林大学竹种园	秆金黄色
17	桂竹 <i>Phyllostachys bambusoides</i>	浙江农林大学竹种园	
18	斑竹 <i>Ph. bambusoides</i> f. <i>lacrima-deae</i>	浙江农林大学竹种园	秆有紫褐色斑块和斑点
19	黄槽斑竹 <i>Ph. bambusoides</i> f. <i>mixta</i>	浙江安吉竹种园	秆具有斑点并具有黄色沟槽
20	紫竹 <i>Phyllostachys nigra</i>	浙江农林大学竹种园	
21	毛金竹 <i>Ph. nigra</i> var. <i>henonis</i>	浙江农林大学竹种园	秆绿色至灰绿色
22	矢竹 <i>Pseudosasa japonica</i>	浙江农林大学竹种园	
23	花叶矢竹 <i>P. japonica</i> cv. <i>Akebonosuji</i>	浙江农林大学竹种园	叶片有白色条纹
24	辣韭矢竹 <i>P. japonica</i> var. <i>tsutsumiana</i>	浙江农林大学竹种园	秆节间膨胀成花瓶状

1.4 ISSR 分析

引物序列参照加拿大哥伦比亚大学 (UBC) 提供的96个ISSR引物，由上海Sangon合成。PCR反应体系如下：在20 μ L体积中，含60 ng模板DNA，引物0.5 μ mol/L，0.2 mmol/L dNTPs，2 mmol/L MgCl₂，1U Taq酶，1 $\times$ PCR buffer。PCR程序为：94 $^{\circ}$ C预变性3 min；94 $^{\circ}$ C变性45 s，50–55 $^{\circ}$ C（温度依引物不同而改变）退火45 s，72 $^{\circ}$ C延伸90 s，循环35次；72 $^{\circ}$ C延伸7 min，4 $^{\circ}$ C保存。扩增产物在1 $\times$ TAE缓冲条件下，用1.6%琼脂糖胶进行电泳分离，EB染色，采用Amersham Pharmacia的Image Master[®]VDS凝胶成像系统拍照。

1.5 数据处理

对于同一引物的扩增产物，迁移率相同的条带记为1个位点，有扩增位点赋值为1，无扩增位点赋值为0，输入Excel 2003中建立特征数据矩阵用于进一步分析。根据特征数据矩阵计算单位引物多态性条带及多态性条带百分率(the percentage of polymorphic band, PPB)。利用NTSYS-pc(version2.10e)分析软件对数据进行分析，采用Nei-Li的遗传相似性系数 (Genetic Similarity, Gs)计算样品间的遗传相似系数，并用SAHN Clustering进行不加权重对算术平均法(UPGMA)进行聚类分析。同时对AFLP和ISSR的遗传相似性系数矩阵的相关性进行Mantel检测。

2 结果与分析

2.1 部分簕竹属竹种结果分析

2.1.1 扩增结果多态性

12对EcoRI /Mse I 引物组合在12个簕竹属 (*Bambusa*) 变异类型中共得到501个位点(表2)，平均每个引物为41.8个位点，其中多态性位点367个，占扩增位点总数的73.6%。不同的引物组合的PPB相差较大，从60.7%到84.2%不等，其中E+ACCA/M+CACA引物组合的多态性位点百分率最高为84.5%。10个ISSR引物共检测到171个位点(表2、图1)，其中78.8%(137)具有多态性，各个引物的PPB在54.5%–90.9%之间。进一步的分析表明：AFLP和ISSR标记产生的多态位点基本全部来自竹种间的差异，而在竹种与其变异类型间

基本没有检测到差异位点。仅AFLP标记的E+ACAC/M+CAAG引物组合在美国绿竹、抗盐绿竹1号和抗盐绿竹2号中检测到一个差异位点，为保证实验结果的可靠性，重复该实验得到了一致的实验结果，表明这个特异条带有很好的重复性，可供变异类型鉴定之用。

AFLP和ISSR两种标记都能产生各自有效的多态性条带，但多态性水平和检测水平各不相同，从PPB上看，ISSR标记略高于AFLP标记。

2.1.2 供试材料的遗传分析和聚类分析

对扩增结果采用Nei-Li遗传相似性系数的计算方法，得到两种标记扩增结果的相似性系数矩阵。AFLP扩增结果的GS在0.53-1.00之间，平均为0.74；ISSR扩增结果的GS在0.52-1.00之间，平均为0.67。这表明ISSR标记的GS值的范围比AFLP略大，平均GS值小于AFLP。相对而言，ISSR标记比AFLP标记可检测到更大的遗传变异。

对AFLP与ISSR的遗传相似性矩阵进行相关性检测，结果两者呈显著相关($r=0.887$, $P=0.005$)，因此将两者数据综合分析，计算总的GS。根据总的GS，利用UPGMA进行聚类分析。从聚类图(图2)可以发现，首先4个竹种(绿竹、乌脚绿竹、美国绿竹、孝顺竹)分成孝顺竹亚属(*Subgen. Leleba*)和绿竹亚属(*Bambusa subg. Dendrocalamopsis*)两大分支，孝顺竹单独一支，而绿竹、乌脚绿竹、美国绿竹在绿竹亚属分支；4个竹种的变异类型都同各自的原种聚在同一分支。

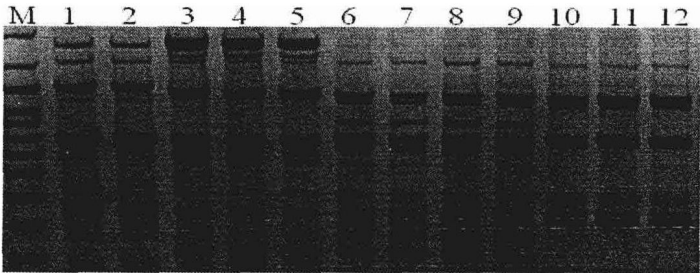


图 1 ISSR 的扩增结果(引物 UBC813) 注:M:100 bp ladder plus;1-12:见表 1

Figuer1 ISSR amplified fingerprints (primer:UBC813) Note:M:100 bp ladder plus;1-12:See table 3

表 2 AFLP 和 ISSR 引物序列及其扩增结果

Table 2 Primer sequence of AFLP and ISSR with the result of amplified

AFLP 引物			ISSR引物			
引物组合 primer combinations	扩增位点数 NO. of bands scored	多态性位点数 NO. of Polymorphic bands	引物 primers	引物序列 Sequence of primer	扩增位点数 NO. of bands scored	多态性位点数 NO. of Polymorphic bands
E+AAGT/M+CACG	28	40	UBC808	(AG) _n C	14	20
E+AAGT/M+CAGC	29	44	UBC813	(CT) _n T	18	20
E+ACAC/M+CAAG	47	60	UBC815	(CT) _n G	12	16
E+ACAC/M+CACT	23	30	UBC823	(TC) _n C	15	19
E+ACAC/M+CATA	19	27	UBC827	(AC) _n G	14	16

E+ACAC/M+CATG	30	39	UBC834	(AG) ₈ YT	12	15
E+AAGT/M+CAAA	31	38	UBC835	(AG) ₈ YC	20	22
E+AAGT/M+CAGG	25	35	UBC843	(CT) ₈ TA	16	19
E+ACCA/M+CACA	32	38	UBC853	(TC) ₈ RT	10	13
E+ACCA/M+CAGA	34	56	UBC859	(TG) ₈ RA	6	11
E+ACCA/M+CAGG	34	49				
E+ACCA/M+CATG	35	45				

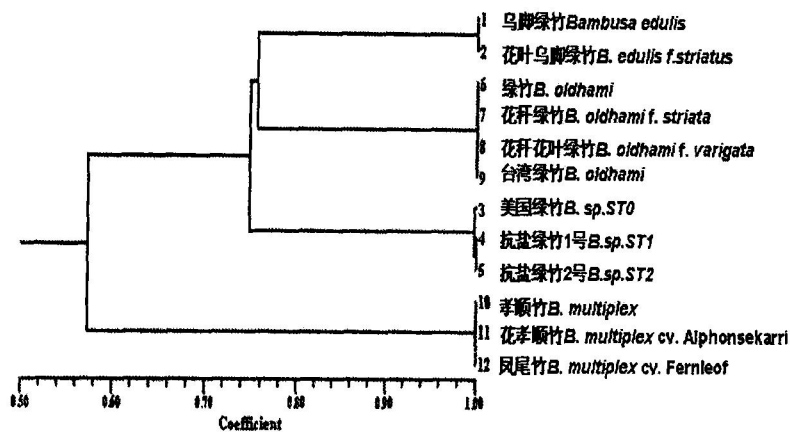


图 2 12 个簕竹属竹种的 UPGMA 聚类图

Figure 2 Dendrogram of 12 species of *Bambusa*

2.2 其它竹属结果分析

为了进一步阐述竹种变异类型间的遗传变异与亲缘关系，本文又选择了矢竹属、刚竹属部分竹种及其变异类型，利用 AFLP、ISSR、SRAP 等分子标记对其进行遗传多样性分析。结果：2 对 AFLP 引物、8 对 SRAP 引物和 8 个 ISSR 引物在罗汉竹与其变异类型间没有检测到差异性。只有部分引物在桂竹与其变异变种间检测到少量的差异位点，同样在矢竹、花叶矢竹、辣韭矢竹间，部分引物检测到花叶矢竹和矢竹间存在少量的差异位点，但辣韭矢竹与矢竹间没有差异位点。（图 3）

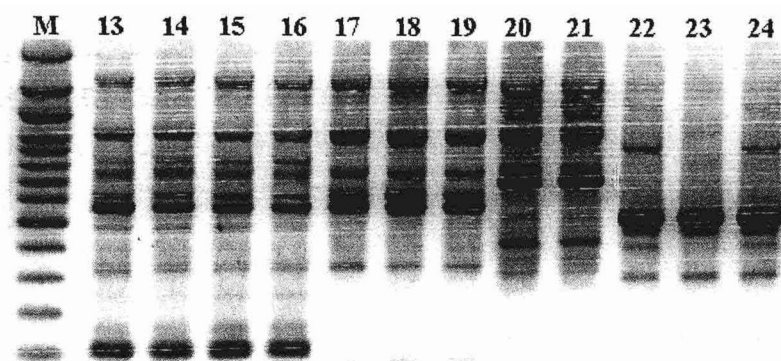


图 3 SRAP 引物 EM5/ME1 扩增结果 注:M:100 bp ladder plus;13-24:见表 1

Figure 3 The amplification result by SRAP primer combination EM5/ME1

Note:M:100 bp ladder plus;13-24:See table 1