刘恒,汪城坤,冀雪楠,等.基于叶绿体基因片段的井冈寒竹属系统发育关系研究[J].江西农业大学学报,2024,46(4): 954-968.

LIU H, WANG C K, JI X N, et al. Phylogenetic relationships of *Gelidocalamus* Wen based on chloroplast gene segments[J]. Acta agriculturae universitatis Jiangxiensis, 2024, 46(4):954–968.

基于叶绿体基因片段的井冈寒竹属系统 发育关系研究

刘 恒,汪城坤,冀雪楠,杨光耀,国春策,张文根*

(江西农业大学 林学院/江西省竹子种质资源与利用重点实验室,江西 南昌 330045)

摘要:【目的】井冈寒竹属(Gelidocalamus Wen)属于禾本科(Poaceae)竹亚科(Bambusoideae)青篱竹族(Trib. Arundinarieae),是中国亚热带地区的特产散生竹属。该属植物为灌木状木本竹,地下茎呈复轴型,秆细长,每节 多分枝,当年不再产生次级分枝,小枝末端通常仅有1片叶子,花序为圆锥型,雄蕊为3枚,秋冬季节发笋。井冈 寒竹属植物主要产自中国长江以南的低海拔地区,其中南岭地区是该属植物物种多样性的分布中心,其栖息在 林下、沟涧的阴凉潮湿处,呈现片状分布,具有观赏价值、食用价值和生态平衡效应。目前,该属植物的系统发 育关系仍存在较大争议。本研究旨在对叶绿体基因片段的系统发育重建,初步探讨该属植物种间的亲缘关系, 为深入理解竹类植物的演化历史提供一定的参考资料。【方法】试验广泛采用青篱竹族11个支系26属82种以及 簕竹属(Bambusa)和牡竹属(Dendrocalamus)外类群6种作为样品。利用7个叶绿体基因片段,即rpl32-trnL、 rps16-trnQ、trnC-rpoB、trnD-trnT、trnT-trnL、trnG-trnT(t)和matK,对井冈寒竹属及其近缘类群的系统发育关系进 行重建。结合通过分子钟估算,探究其起源和类群间的分化时间。【结果】(1)系统发育分析结果表明,井冈寒竹 属(Gelidocalamus)为复系类群,成员分别聚在青篱竹族的Shibataea clade(IV)和Phyllostachys clade(V)两个分支 中;(2)分化时间估算结果表明,IV、V分支分别在5.44 Mya和3.41 Mya分化出来,除小蒙竹(G. monophyllus)外, 井冈寒竹属其余种在约3 Mva间陆续分化出来。【结论】井冈寒竹属不是一个自然的单系类群:红壳寒竹(G. rutilans)应归于箬竹属下;亮竿竹(G. annulatus)可能为井冈寒竹属和箬竹属的杂交起源;冬顶寒竹(G. dongdingensis)与同春箬竹(I. tongchunensis)近缘,或为箬竹属成员,或为一独立分支。本研究通过重建井冈寒 竹属的系统发育关系,对该属内成员的系统位置进行了初步阐述,为争议类群的归属问题提供了参考依据。

关键词:温带木本竹;井冈寒竹属;系统发育关系;分化时间估算 中图分类号:Q111.4 文献标志码:A 开放科学(资源服务)标识码(OSID): 文章编号:1000-2286(2024)04-0954-15



Phylogenetic relationships of *Gelidocalamus* Wen based on chloroplast gene segments

LIU Heng, WANG Chengkun, JI Xuenan, YANG Guangyao, GUO Chunce, ZHANG Wengen^{*}

Project supported by the National Natural Science Foundation of China(31960051,31960335,31260043)

作者简介:刘恒,硕士生,orcid.org/0009-0008-4900-4025,lheng1218@163.com;*通信作者:张文根,副教授,博士,主要从事竹类植物分类研究,orcid.org/0000-0003-0946-8614,wgzhang@jxau.edu.cn。

收稿日期:2023-11-28 修回日期:2014-02-26

基金项目:国家自然科学基金地区基金项目(31960051、31960335、31260043)

^{©《}江西农业大学学报》编辑部,开放获取 CC BY-NC-ND 协议

(Jiangxi Provincial Key Laboratory for Bamboo Germplasm Resources and Utilization, College of Forestry, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China)

Abstract: [Objective] Gelidocalamus Wen, a genus of bamboo plants, belongs to the tribe Arundinarieae in the subfamily Bambusoideae of the family Poaceae. It is a genus of scattered bamboo endemic to the subtropical regions of China. These plants are characterized by their shrubby woody stems, underground rhizomes in a complex axis, slender stems, branching at each node, with no secondary branches produced in the same year, typically one leaf at the end of each small branch, and conical flower clusters with three stamens. They also produce shoots in the autumn and winter. Gelidocalamus species are mainly found in the low-altitude south regions of the Yangtze River in China. The Nanling Region is the distribution center of species diversity of this genus. Inhabiting in the shade, cool and humid places of forests and ditches, these plants occur in patches, and they are valued for their ornamental and edible qualities as well as their ecological balance effects. However, the phylogenetic relationship of this genus is still controversial. In this study, the genetic relationship among the species of this genus was preliminarily investigated by phylogenetic reconstruction of chloroplast gene segments, which provided reference for deepening our understanding of the evolutionary history of bamboo plants. Method This study collected 82 species from 26 genera belonging to 11 tribes of the Arundinarieae and six species from Bambusa and Dendrocalamus as samples. Seven chloroplast gene segments, including rpl32-trnL, rps16-trnQ, trnC-rpoB, trnD-trnT, trnT-trnL, trnG-trnT(t), and matK, were utilized to reconstruct the phylogenetic relationships of Gelidocalamus and its close relatives. Molecular clock estimation was employed to reveal the origin and divergence times between taxa. [Result] The phylogenetic analysis indicates that Gelidocalamus was a paraphyletic group, with its members clustering in two branches of the Arundinarieae tribe: the Shibataea clade(IV) and the Phyllostachys clade(V). The divergence time estimation suggests that the IV and V branches diverged around 5.44 Mya and 3.41 Mya, respectively. Apart from G. monophyllus, the other species of Gelidocalamus gradually diverged around 3 Mya. [Conclusion] Gelidocalamus is not a natural monophyletic group; G. rutilans should be classified under the genus Bambusa; G. annulatus may have originated from hybridization between Gelidocalamus and Bambusa; G. dongdingensis is closely related to I. tongchunensis and may belong to the genus Bambusa or represent an independent branch. This study performed the reconstruction of the phylogenetic relationships within *Gelidocalamus*, and the systematic position of the members in this genus was preliminarily expounded, which provides reference for the attribution of controversial groups.

Keywords: temperate woody bamboo; *Gelidocalamus* Wen; phylogenetic relationship; divergence time estimation

【研究意义】井冈寒竹属(Gelidocalamus Wen)隶属于禾本科(Poaceae)竹亚科(Bambusoideae)青篱竹族(Arundinarieae),约有13种,是中国特有的亚热带灌木状散生竹,主要分布在长江以南地区,喜阴湿环境,常生长于山谷沟壑、林下和涧边等地^[1-2]。该属植物的主要特征包括地下茎呈复轴型、节间呈圆筒形无沟槽、单芽多分枝、常见一枝一叶、花序大型顶生呈圆锥状、雄蕊3枚以及秋冬季节发笋^[3-4]。井冈寒竹属植物在园艺观赏、水土保持和食用等方面有着广泛的应用前景^[5]。【前人研究进展】关于井冈寒竹属的分类和系统位置一直存在争议。耿伯介^[6]将其归入青篱竹族赤竹亚族(subtrib.Sasinae),后来又调整为北美箭竹亚族(subtrib.Arundinariinae)。Clayton等^[7]根据子房附属物、花序与竿箨宿存与否等特征认为,井冈寒竹属应并入箬竹属(Indocalamus)。而王正平^[8]根据花器官特征发现,井冈寒竹属与巴山木竹属(Bashania)、少穗竹属(Oligostachyum)和矢竹属(Pseudosasa)经常混淆,可将这些属并入北美箭竹属(Arundinaria Michx.)。后续研究基于广义形态学特征的分支系统学研究以及基于部分功能基因如ppMADS1、MONOCULM1和TEOSINTE BRANCHED1的分子系统学研究均表明,井冈寒竹属可能不是单系起源^[9-10]。Guo等^[11]对青篱竹族进行了广泛取样,并利用ddRAD技术筛选核基因组数据为分子标记,研究结果支持井冈寒竹属为多系类群。

【本研究切入点】本研究在对青篱竹族广泛取样的基础上,利用7个叶绿体基因片段(rpl32-trnL、 rps16-trnQ、trnC-rpoB、trnD-trnT、trnT-trnL、trnG-trnT(t)和matK),对井冈寒竹属进行系统发育关系的重 建,利用分子钟进行分化时间的估算,通过分子数据对井冈寒竹属及青篱竹族的起源与演化式样进行探 讨。【拟解决的关键问题】针对井冈寒竹属内部系统发育关系尚不清楚的问题,在广泛取样基础上,利用 分子数据对该属系统发育关系和演化式样进行重建与探讨,为该属乃至整个青篱竹族系统发育关系研 究提供新的证据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

为了研究井冈寒竹属及其近缘属的系统关系,试验采集了包括青篱竹族11个支系26个属82种植物,以及簕竹属(Bambusa)和牡竹属(Dendrocalamus)在内的6种外类群的样本(表1和附表1)。其中井冈寒竹属的所有13个种的样本均采集自其模式产地,凭证标本存放于江西农业大学标本馆(JXAU)。试验选取了7个具有较多简约性信息位点的叶绿体基因片段(rpl32-trnL、rps16-trnQ、trnC-rpoB、trnD-trnT、trnT-trnL、trnG-trnT(t)和matK)(附表2)来重建井冈寒竹属的系统发育关系。部分数据来自NCBI数据库(https://www.ncbi.nlm.nih.gov/)。

Tab.1Main materials and information in the study								
物种名	学名	采集地	凭证标本					
Species	Scientific Name	Locality	Voucher					
井冈寒竹	Gelidocalamus stellatus	江西省,吉安市,井冈山,行洲	JGS003(JXAU)					
抽筒竹	Gelidocalamus tessellatus	贵州省,荔波县,茂兰镇,甲介	SJJ033(JXAU)					
亮竿竹	Gelidocalamus annulatus	贵州省,赤水市,葫芦镇	20151122001(JXAU)					
冬顶寒竹	Gelidocalamus dongdingensis	福建省,龙岩市,漳平镇冬顶山	DD004(JXAU)					
台湾矢竹	Gelidocalamus kunishii	台湾省,南投县	TW003(JXAU)					
掌竿竹	Gelidocalamus latifolius	广西省,融水县,四荣乡	RS019(JXAU)					
箭靶竹	Gelidocalamus longiinternodus	湖南省,靖州县,坳上镇	JZ025(JXAU)					
小蒙竹	Gelidocalamus monophyllus	湖南省,宁远县,九嶷山黄河村	20161023(JXAU)					
多叶井冈寒竹	Gelidocalamus multifolius	湖南省,宁远县,九嶷山电站	JYS109(JXAU)					
红壳寒竹	Gelidocalamus rutilans	浙江省,江山市,裴家地	JS032(JXAU)					
近实心井冈寒竹	Gelidocalamus subsolidus	广东省,信宜市,大雾岭	20160415(JXAU)					
实心短枝竹	Gelidocalamus solidus	广西省,融水县,九万大山	20160501001(JXAU)					
寻乌寒竹	Gelidocalamus xunwuensis	江西省,寻乌县,小龙归	XLG106(JXAU)					

表1 主要材料及其采集信息

1.2 试验方法

1.2.1 DNA提取、扩增和测序

本研究以取自模式产地的13个井冈寒竹属物种叶片作材料,采集后硅胶干燥保存,取20~30 mg叶 片进行粉碎研磨,采用改良CTAB法提取植物总DNA。叶绿体片段选取简约性信息位点较多的6个基因 间区[rpl32-trnL、rps16-trnQ、trnC-rpoB、trnD-trnT、trnT-trnL、trnG-trnT(t)]和1个编码区片段matK,进行 引物设计和PCR扩增,引物序列见附表2。扩增反应体系为25 μL,包括正反向引物1 μL,2×Taq PCR Master Mix缓冲液12.5 μL,DNA模板1 μL,ddH₂O 9.5 μL,7个片段的PCR扩增的具体程序见附表2,扩增 出的产物用1%琼脂糖凝胶电泳检测,纯化后送交生工生物工程股份(上海)有限公司进行数据测序,测 序后序列上传至NCBI GeneBank数据库。

1.2.2 序列拼接、比对

测序得到的原始序列用Conting Express软件^[12]进行组装。利用BLAST程序比对确定目标片段,在 MEGA 7.0^[13]中对序列进行调整,用MAFFT 7.0^[14]比对,之后利用trimAl 1.2软件^[15]剪除两端不可靠的碱基 序列。将最终的序列比对后,用DNAsp 6.0软件^[16]统计序列的长度、总位点数和GC含量等。

1.2.3 系统发育树构建

基于7个片段的联合矩阵,分别用 IQtree1.6.2^[17-18]和 MrBayes 3.2^[19]构建最大似然(maximum likelihood,ML)树和贝叶斯(Bayesian inference,BI)树。构建最大似然树时,先利用Jmodeltest 3.7软件^[20]对联合序列进行最佳核酸进化模型选择,采用AIC(akaike information criterion)标准,得到的联合序列最佳模型为TIM1+I+G,进行10 000次自展重复(bootstrap replicates)计算进化树各分枝的支持率(ML bootstrap values,MLBS)。贝叶斯分析中,选用与上述相同的分子进化模型,随机选取1棵系统发育树作为初始树,使用马尔可夫链蒙特卡罗算法(Markov chain Monte Carlo,MCMC)运算50 000 000代,每1 000代抽取1棵树,当ASDFs(the average standard deviation of the split frequencies)<0.01时,将前25%的系统树作为老化样本舍弃,用剩余样本构建一致树(consensus tree),并计算后验概率(posterior probability,PP)。用Figtree v.1.4.4对系统树进行查看和可视化。当MLBS支持率大于70%,PP大于0.95则认为支持率比较可靠^[21]。

1.2.4 分化时间估算

为揭示井冈寒竹属起源与分化的时间,利用BEAST v.2.6.2¹²¹对其进行分化时间估算。由于青篱 竹族缺乏化石信息,本研究中分化时间节点校正选用的化石点为竹亚科化石 Bambusoideae cf. Chusquea,并参考 Zhang 等^[23]的研究结果。具体如下:(1)选用化石点 Bambusoideae cf. Chusquea(35~ 90 Ma);(2)Clade IV Shibataea 的冠群分化时间 4.01 Ma(2.16~6.58):(3)Clade V Phyllostachys 的冠群 分化时间 2.38 Ma(1.24~3.82)。同时,本研究还参考了 Guo 等^[11]基于 ddRAD 数据分别采用 BEAST 以 及 treePL 两种软件得到的结果,并分别选择基于核基因和叶绿体基因推测出的青篱竹族干群时间 30.05 Ma(20.22~51.51)和35.18 Ma(34.41~35.84)以及包括涵盖11个主要支系物种的节点分化时间 13.65 Ma(9.34~18.88)和15.71 Ma(15.39~16.03)作为二次标定点进行比较分析。依据 ML 树的拓扑结 构,Site Model选项中核苷酸替代模型选择GTR+G,碱基替代速率选择1.0,Clock Model选项选择宽松 分子钟(relaxed clock log normal), Priors 选项选择 Yule Model, 选择 Uniform distribution 模型, 根据选取 的标定点限制最大和最小值,马尔可夫链蒙特卡洛(MCMC)设置为20000000代,每1000代打印一 棵拓扑树,得到结果后用Tracer v.1.7.2软件^[24]对所得到的Tree.log文件进行参数质量检查,当所有参 数的有效样本大小(effective sample sizes, ESS)数值都超过200时视为合格,根据Tracer给出的运算结 果,用BEAST软件包中TreeAnotator v.2.6.6进行老化样品舍弃处理, Node heights选择 Mean heights, 对 剩下的所有系统树进行一致树的构建,并生成带有分化时间信息的系统发育树。最后在Figtree v1.4.4软件中进行查看和编辑。

2 结果与分析

2.1 基因片段序列信息及分子进化模型的选择

由于单个片段有效信息位点较少,本研究将7个叶绿体基因序列串联成联合矩阵来构建系统发育树,选用的7个片段信息及对应的分子进化模型详见表2。比对后的联合矩阵全长为8062bp,平均GC 含量为31.8%,一共检测到变异位点553个,其中简约性信息位点315个。除去外类群后总变异信息位点

1 au.	2 Sequence information in this study	
基因片段 Plastid DNA regions	序列长度/bp Sequence length	模型选择 Model selection
rpl32-trnL	1 169	TPM3uf+I+G
rps16-trnQ	1 162	TPM1uf+G
trnC-rpoB	785	TPM2uf+I+G
trnD-trnT	1 221	TVM+I+G
trnT-trnL	817	TPM1uf+I+G
trnG- $trnT(t)$	1 477	TIM1+I+G
MatK	1 441	TVM+I+G
多基因片段联合	8 062	TIM1+I+G

表2 本研究所用的序列信息 b2 Securación in this study 数为387个,简约性信息位点136个。在这7个片段中,以*rps*16-*trn*Q信息位点比例最高(75.48%),而 *trn*D-*trn*T的信息位点最低(22.73%)。

2.2 井冈寒竹属的系统发育关系

基于最大似然法与贝叶斯推断分析得到的系统发育树拓扑结构基本一致。系统发育结果显示,所 有的青篱竹族类群聚为一个单系,得到了较高的支持(MLBS=100%,PP=1.00),且各支系作为单系也得到 了较高的支持率,但内部的类群如箬竹属(Indocalamus)、玉山竹属(Yushania)、箭竹属(Fargesia)、寒竹属 (Chimonobambusa)与刚竹属(Phyllostachys)等表现为多系或并系。井冈寒竹属的13个种分别聚在Shibataea(IV)分支(MLBS=99%,PP=0.99)和Phyllostachys(V)分支(MLBS=100%,PP=0.99)中,与近缘属物种相 互嵌套,为多系类群(图1)。



分支上的数值代表 ML树自展支持率和 BI树后验概率, MLBS 低于 70或 PP 低于 0.95 用-表示。 The numbers on the branches represent the bootstrap support values for ML tree and posterior probabilities for BI tree. "-" indicates ML bootstrap support below 70 or PP below 0.95.

图 1 基于7个叶绿体基因片段*rpl32-trnL、rps*16-*trnQ、trnC-rpoB、trnD-trnT、trnT-trnL、trnG-trnT*(t) 和*Mat*K的井冈寒竹属系统发育树

Fig.1 Phylogenetic tree of *Gelidocalamus* based on seven plastid DNA regions($rpl32-trnL_rps16-trnQ_trnC-rpoB_trnD-trnT_trnT-trnL_trnG-trnT(t)_MatK$)

20 15 25 0 (Mya) 30 10 40 35 Miocene Plio. Quat. Oligoce Chimonobambusa hejiangensis Chimonobambusa luzhiensis Gelidocalamus latifolius rapid radiation .41 Gelidocalamus stellatus 1.14 Gelidocalamus stetians Indocalamus herklotsii Ч Indocalamus tessellatus Indocalamus ressentitus Indocalamus guangdongensis Gelidocalamus annulatus Gelidocalamus solidus .35 0.69 Indocalamus decorus Indocalamus longiauritus Fargesia fungosa Gelidocalamus kunishii Geitadocalamus kunishii Phyllostachys nigra Phyllostachys bambusoides Yushania brevipaniculata Phyllostachys heteroclada Phyllostachys nidularia Bashania qingchengshanensis Gelidocalamus longiinternodus Prachysteilawum demoil anum 28 Gelidocalamus longiniternodus Brachystachyum densiflorum Fargesia nitida Fargesia robusta Bashania fargesii Chimonobambusa quadrangularis Chimonobambusa marmorea Phyllostachys edulis Bustactones anavifolia 3.41 Phyllostachys parvifolia Drepanostachyum ampullare Himalayacalamus falconeri Thamnocalamus spathiflorus 3.69 4.15 Indocalamus sinicus Ampelocalamus actinotrichus Chimonocalamus delicatus Chimonocalamus dumosus 5.19 Gaoligongshania megalothyrsa Oldeania alpina Kuruna debilis 5.86 Bergbambos tessellata Ravenochloa wilsonii Ferrocalamus rimosivaginus Shibataea chinensis Shibataea hispida Shibataea lanceifolia Gelidocalamu tessellatus 1.80 Gelidocalamus multifolius Gelidocalamus dongdingensis Gelidocalamus subsolidus 1.91 Gelidocalamus xunwuensis 1.19 Indocalamus tongchunensis Indocalamus pseudosinicus Gelidocalamus monophyllus Gelidocalamis monophyllus Sinosasa longiligulata Acidosasa chienouensis Acidosasa edulis Indosasa gigantea Oligostachyum scabriflorum Oligostachyum sulcatum Pseudosasa amabilis Indosasa amabilis Indosasa subsolida Indosasa sinica Pseudosasa hindsii Pleioblastus maculatus ዥ 7.01 Pleioblastus maculatus Oligostachyum lubricum Indosasa triangulata Indosasa shibataeoides Sinobambusa intermedia Acidosasa purpurea Sinobambusa tootsik Acidosasa chinensis 36.05 co Pleioblastus argenteastriatus Sasa auricoma Pleioblastus simonii Semiarundinaria fastuosa Pleioblastus fortunei Pleioblastus gramineus 5.60 Pseudosasa japonica Arundinaria appalachiana Arundinaria tecta Arundinaria gigantea Bambusa bambos Bambusa multiplex Dendrocalamus farinosus Dendrocalamus latiflorus 8.94 Ramhusa textilis Dendrocalamus giganteus Plio. Quat. Oligocene Miocen Т Т Т Т 20 15 40 35 30 25 10 5 0 (Mya) 图2 基于7个叶绿体DNA序列片段及3个时间校准点及采用BEAST分析的井冈寒竹属的分化时间 Fig.2 Divergence times of Gelidocalamus based on seven chloroplast DNA segments

and three time calibration points using the BEAST software

在IV分支中,分布的6个竹种分别为小蒙竹(G. monophyllus)、冬顶寒竹(G. dongdingensis)、寻乌寒竹(G. xunwuensis)、近实心井冈寒竹(G. subsolidus)、抽筒竹(G. tessellatus)和多叶井冈寒竹(G. multifolius)。

抽筒竹和多叶井冈寒竹,寻乌寒竹和近实心井冈寒竹分别聚为两个单系分支;冬顶寒竹与箬竹属的同春 箬竹(*I. tongchunensis*)为姐妹群,与鹅毛竹属、箬竹属部分种及铁竹属共同组成一个单系分支;而小蒙竹 与赤竹(*Sasa longiligulata*)位于基部位置,为该IV分支较早分化的类群。

在V分支中,分布的7个竹种分别为井冈寒竹(G. stellatus)、掌竿竹(G. latifolius)、亮竿竹(G. annulatus)、实心短枝竹(G. solidus)、台湾矢竹(G. kunishii)、红壳寒竹(G. rutilans)和箭靶竹(G. longiinternodus)。 箭靶竹为V分支的基部类群,模式种井冈寒竹与掌竿竹聚在一支,与广东箬竹(G. guangdongensis)、红壳 寒竹、粽巴箬竹(I. herklotsii)、合江方竹和光竹等亲缘关系较近;红壳寒竹、亮竿竹和实心短枝竹都位于 箬竹属类群内,分别与箬竹(I. tessellatus)、广东箬竹、粽巴箬竹、箬叶竹(I. longiauritus)和美丽箬竹(I. decorus)聚为单系分支;台湾矢竹则与刚竹属和玉山竹属物种聚为单系分支。

2.3 分化时间估算

基于化石点和 Zhang 等^[23]的核基因数据集的二次标定点,本研究采用 ND 法估算井冈寒竹属的分化时间。结果(图 2)显示,青篱竹族和簕竹族的分化时间为 36.05 Ma(95% 置信区间:35~39.57 Ma, C0),青篱竹族的冠群时间为 7.01 Ma(95% 置信区间:4.83~9.38 Ma, C1), *Shibataea*(IV)支和 *Phyllostachys*(V)支的冠群时间分别为 5.44 Ma(95% 置信区间:4.83~9.38 Ma, C2)和 3.41 Ma(95% 置信区间: 2.94~3.74 Ma, C3)。在井冈寒竹属中,最早分化出来的为小蒙竹(4.42 Ma, 95% 置信区间: 3.14~5.78 Ma), 其次是箭靶竹(2.89 Ma, 95% 置信区间: 2.37~3.39 Ma), 较晚分化出来的是台湾矢竹(0.63 Ma, 95% 置信区间: 0.17~1.13 Ma),具体节点信息详见表 3,井冈寒竹属大部分物种分化于上新世至更新世。而利用Guo等^{IIII}基于核基因和叶绿体基因得到的分化时间分别作为二次标定点进行分化时间估算,结果显示青篱竹族和簕竹族的分化时间(C0)分别为 24.10 Ma(95% 置信区间: 20.22~34.53 Ma)和 35.06 Ma(95% 置信区间: 3.441~35.76 Ma),青篱竹族的冠群时间(C1)分别为 14.48 Ma(95% 置信区间: 10.31~18.88 Ma)和 15.73 Ma(95% 置信区间: 15.43~16.03 Ma), *Shibataea*(IV)的冠群时间(C2)分别为 11.34 Ma(95% 置信区间: 7.28~16.07 Ma)和 12.76 Ma(95% 置信区间: 9.72~15.10 Ma), *Phyllostachys*(V)的冠群时间(C3)分别为C3,时间为 8.58 Ma(95% 置信区间: 5.20~12.50 Ma)和 9.76 Ma(95% 置信区间: 7.29~12.22 Ma),详见 图 3和附图 4。

	arter genee time in inajor	10405
节点	分化时间/Ma	95% 置信区间/Ma
Node	Divergence Time	95%HPD
Arundinarieae stem	36.05	35.00~39.57
Branch A+VIII+IV/Clade VI split	7.01	4.99~9.78
Clade IV crown	5.44	4.18~6.58
Clade V crown	3.41	2.94~3.74
Branch A+VIII/Clade IV split	5.86	4.32~7.59
Clade VI crown	5.60	3.69~7.87
Gelidocalamus monophyllus divergence	4.42	3.14~5.78
G. longiinternodus divergence	2.89	2.37~3.39
G. dongdingensis divergence	1.91	0.91~3.10
G. tessellatus/G.multifolius split	1.80	0.73~3.12
G. annulatus divergence	1.35	0.64~2.08
G. latifolius/G.stellatus split	1.23	0.50~1.93
G. subsolidus/G.xunwuensis split	1.19	0.44~2.28
G. rutilans divergence	1.14	0.55~1.73
G. solidus divergence	0.69	0.17~1.33
G. kunishii divergenc	0.63	0.17~1.13

表 3 主要分化时间节点估算表 Tab.3 List of estimated divergence time in major nodes



Beast01,根据Guo等^[11]得到的分化时间分别作为二次标定点。

Beast01, the divergence times obtained by Guo et al.^[11]were used as secondary calibration points.
 图 3 基于7个叶绿体 DNA 序列片段及1个时间校准点采用 BEAST 软件分析的井冈寒竹属分化时间
 Fig.1 Divergence times of *Gelidocalamus* based on seven chloroplast DNA sequence segments and one time calibration points analyzed using the BEAST software.



Treepl01, The divergence times obtained by Guo et al.^[11]were used as secondary calibration points. 图 4 基于7个叶绿体DNA序列片段及1个时间校准点采用treePL软件分析的井冈寒竹属分化时间

Fig.4 Divergence times of Gelidocalamus based on seven chloroplast DNA sequence segments

and one time calibration points analyzed using the treePL software.

3 结论与讨论

3.1 井冈寒竹属的归属及系统关系

关于井冈寒竹属的系统位置问题,自该属发表以来一直存在争议。Clayton等¹⁷将井冈寒竹属并入箬 竹属(*Indocalamus*)中,而王正平¹⁸¹基于花器官特征则将其归类于北美箭竹属(*Arundinaria* Michx.)。此外, 基于广义形态学特征的分支系统学研究以及部分功能基因的分子系统学研究均表明,井冈寒竹属可能 不是单系起源^{19-10,251}。前人研究涉及的类群较少,使用不同的分子标记得到的结果分辨率较低,并存在拓 扑结构冲突等问题。为解决这些问题,本研究通过扩大取样并联合应用多种分子标记,获得了较高分辨 率的系统发育关系。结果显示,井冈寒竹属的成员分散在*Shibataea*(IV)和*Phyllostachys*(V)两个支系中, 与以往研究得到的框架基本一致。

在本研究中,对井冈寒竹属及其近缘属的系统关系进行了探究。其中,小蒙竹被发现作为Shibataea (IV)支系的基部类群具有较高的支持率。尽管最初被归类于玉山竹属,但后来被重新划分到井冈寒竹 属,一度被误认为与井冈寒竹属相同种¹²⁶。进一步的研究发现,小蒙竹的竿背面密布棕色刺毛,与光滑 的井冈寒竹有显著差异;在叶下表皮微观形态方面,这两者在乳突类型和气孔器结合方式上存在显著区 别^[27]。根据Guo等^[11]的结果,小蒙竹与多叶井冈寒竹关系较近。本研究发现大多数井冈寒竹属植物与掌 竿竹聚集在Phyllostachys(V)支系,而小蒙竹位于Shibataea(IV)支系,故支持小蒙竹应被视为独立的物 种。此外,冬顶寒竹与同春箬竹聚为一支,两者的模式产地均位于福建漳平,其形态上与同春箬竹的区 别仅在于末级小枝叶数不同。本研究结果与Guo等¹¹¹的结果一致,推测冬顶寒竹可能为箬竹属物种且与 同春箬竹亲缘关系较近。抽筒竹与多叶井冈寒竹以较高支持率聚为一支,且在形态上也相似,与铁竹属 和鹅毛竹属等近缘,与Zeng等^[28]、Zhang等^[23]、Guo等^[29]的结果一致。近实心井冈寒竹、寻乌寒竹和冬顶寒 竹与箬竹属成员聚为一支,实心短枝竹与美丽箬竹等聚在Phyllostachys(V)分支,但在Guo等¹¹¹的研究结 果中,近实心短枝竹和箬竹属植物聚为单系。红壳寒竹与箬竹、粽巴箬竹和广东箬竹等近缘,这与Zhang 等¹⁰⁰的研究结果一致,且在Cuo等¹¹¹的研究结果中也与箬竹属的物种相近,因此推测红壳寒竹为箬竹属 植物。亮竿竹不具备箬竹属的特征,但仍以高支持率与箬叶竹聚在一起,而根据Guo等¹¹¹的分析结果,亮 竿竹与井冈寒竹属物种聚为单系,可能是因为箬叶竹与亮竿竹存在重叠的分布区域,推测亮竿竹可能为 井冈寒竹属和箬竹属的杂交种。台湾矢竹与刚竹属的桂竹(Phyllostachys bambusoides)、毛竹(Phyllostachys edulis)以及玉山竹属的短锥玉山竹(Yushania brevipaniculata)聚为一支,与Guo等凹的研究结果位 于箬竹属中有较大差异,可能与对箬竹属的取样范围相关。由于受限于叶绿体片段信息位点不足,本研 究中很多类群内部的系统关系并没有得到很好的支持。而且,基于叶绿体基因与核基因构建的井冈寒 竹属以至青篱竹族系统发育关系存在着强烈的核质冲突再次被证明,说明这个类群的叶绿体和核基因 可能具不同的进化历史。基于本研究的局限性,要解决这些问题可能还需要更多的信息,如叶绿体全基 因组、转录组、基因组以及形态特征等,进行综合讨论。

3.2 井冈寒竹属的起源与演化分析

关于青篱竹族的起源和演化,已经取得了相当多的研究进展。由于缺乏化石证据,研究人员根据不同类型和策略的分子标记研究结果推断:青篱竹族的干群出现时间分别为40.33,28.66,23.02,43.26,30.05,35.18 Ma等,对应的冠群分化时间为18.81,8.96,10.01,12.72,18.73,20.96 Ma。其中,包含十一个核心支系的分化时间约在7.24,13.65,15.71 Ma^[11,23,31-34]。本研究利用BEAST软件基于3种标定策略,估算出的青篱竹族的干群出现时间分别为36.05,24.10,35.06 Ma,青篱竹族的冠群分化时间约为7.01,14.48,15.73 Ma,井冈寒竹属所在的IV分支分化时间分别为5.44,11.34,12.76 Ma,V分支分化时间分别为3.41,8.58,9.76 Ma。

基于第一种标记策略得到的青篱竹族干群分化时间(36.05 Ma,95%置信区间:35~39.57 Ma)与Guo 等^[11]的35.18 Ma相近;其他分支的分化时间结果基本与Zhang等^[23]的结果一致,但远小于基于核基因数据 集的结果,且核质之间的系统发育树拓扑结构也明显不同。已有研究表明,温带木本竹的叶绿体基因与 核基因可能具有不同的演化历史^[23]。叶绿体基因的进化速率较慢,而核基因的进化速率则相对较快,且 在演化的过程中伴随着复杂的网状进化,这也可能是造成核质之间冲突的重要原因。除了选取不同的 标记导致的拓扑结构差异和分化时间差异外,基于不同分析软件以及取样范围的选择同样也可能会导 致结果的较大差异。

辐射演化在生物多样性形成过程中扮演着关键角色。青篱竹族植物由于其形态特征多样、生境复 奈以及分子差异较小等特点,被认为经历了快速辐射。Hodkinson等^[33]推断青篱竹族在大约10 Ma经历 了快速辐射演化,其中板块运动导致的山系变化是推动这一演化的重要原因之一。而Guo等^[11]和Zhang 等^[33]的研究结果则认为亚洲季风气候两次显著增强(分别发生在15.5~13 Ma和7~8 Ma)是青篱竹族快速 辐射演化的关键因素和推动力。这种增强的季风气候为亚洲带来了丰富的降水,喜欢湿润阴凉环境的 温带木本竹类成为湿润山坡沟壑等地理位置的优势物种。这些进化出的特性使得具真鞭类群在传播方 面相对其他类群具有明显优势,能够迅速扩张和分化。本研究基于化石点参考,青篱竹族在大约7 Ma时 开始了快速辐射分化,而井冈寒竹属的起源较晚(0.63~4.42 Ma),且存在多个起源。除了小蒙竹外,其他 成员都在3 Ma左右分化出来,这与之前的研究结果一致。因此,推测井冈寒竹属在起源与演化过程中受 到的两次季风气候显著增强事件影响较小。然而,祖先的特征,如具有地下茎具真鞭保留等,在一定程 度上促进了种群的传播扩散。在漫长的进化过程中,由于生境相似和地理分布的重叠,导致了属内或属 间的基因交流。井冈寒竹属演化出的独特特征,如多分枝、一枝一叶以及秋冬季节发笋(相对于春夏季 节),被认为是进化的特征。温带木本竹研究中广泛报道的属种间的杂交^[34]、基因水平转移^[35]以及不完全 谱系分选^[39]等现象,也可能是造成井冈寒竹属系统关系解决较为困难的原因。要解决这些问题,还需要 结合更多的证据进行进一步探讨。

附表1 本研究所用类群以及序列信息

Supplement tab.1 Information of taxa and sequences used in this study

物种名	学名	叶绿体基因片段 Plastid DNA Segments							
Species	Scientific Name	trnG-trnT	trnT-trnL	trnD-trnT	trnC-rpoB	rpl32-trnL	rps16-trnQ	matK	Voucher
Ingroup									
毛花酸竹	Acidosasa purpurea	KF797054	FJ64412	FJ643976	FJ643883	GU355500	FJ643790	JN247078	Ν
射毛悬竹	Ampelocalamus actinotrichus	KF797055	KF797188	GU354761	KM264859	KM264978	KM264431	NC_036815	Ν
Arundinaria appalachiana	Arundinaria appalachiana	KF797058	FJ644129	FJ6443978	FJ643885	FJ355501	FJ643792	NC_023934	Ν
青篱竹	Arundinaria gigantea	KF797062	KF797194	FJ6443980	FJ643887	KF796820	FJ643794	KJ772557	Ν
Arundinaria tecta	Arundinaria tecta	KF797064	FJ644132	FJ644398	FJ643888	KF643762	FJ643795	EF125165	Ν
Bergbambos tessellata	Bergbambos tessellata	KF797072	FJ644214	FJ644063	FJ643970	KF796827	FJ643877	JX518203	Ν
樟木镰序竹	Drepanostachyum ampullare	KF797093	GU354941	GU354789	GU354441	GU355559	GU354599	KP685601	Ν
华西箭竹	Fargesia nitida	KF797096	FJ644150	FJ643999	GU354480	GU355600	FJ643813	HG794022	Ν
拐棍竹	Fargesia robusta	KF797097	KF797218	GU354763	GU354443	KF796845	GU354603	KF685625	Ν
裂箨铁竹	Ferrocalamus rimosivaginus	KF797099	KF79220	FJ644000	FJ643907	KF796847	FJ643814	HQ337794	Ν
贡山竹	Gaoligongshania megalothyrsa	KF797102	KF797222	GU354801	GU354481	GU355601	GU354641	JX513419	Ν
喜马拉雅筱竹	Himalayacalamus falconeri	KF797117	FJ644157	FJ644006	FJ643913	GU355586	FJ643820	KP685636	Ν
锦帐竹	Indocalamus pseudosinicus	KF797119	KF797239	GU354769	GU354449	KF796866	GU354609	JN247122	Ν
水银竹	Indocalamus sinicus	KF797120	GU354994	GU354834	GU354514	GU355634	GU354674	NC_036819	Ν
鄂西箬竹	Indocalamus wilsonii	KF797121	GU354946	GU354466	GU354465	GU355586	GU354626	NC_024720	Ν
中华大节竹	Indosasa sinica	KF797122	KF797240	FJ644013	FJ643920	KF764919	FJ643827	JN247133	Ν
Kuruna debilis	Kuruna debilis	KF797060	KF797192	FJ638191	KJ638200	KF796818	KJ38172	NC_036824	Ν
高地竹	Oldeania alpina	KF797133	KF797251	FJ644064	FJ643971	KF796878	FJ644125	NC_036824	Ν
菲白竹	Pleioblastus fortunei	KF797151	JN008006	JN007989	JN007972	GU355568	JN007955	MF597491	Ν
大明竹	Pleioblastus gramineus	KF797149	FJ644176	FJ644025	FJ643932	GU355505	FJ643839	KP685638	Ν
斑苦竹	Pleioblastus maculatus	KF797150	KF797263	FJ644030	FJ643937	GU355537	FJ43844	JN247148	Ν
篲竹	Pseudosasa hindsii	KF797154	KF797266	FJ644036	FJ643943	GU355510	FJ643850	JN247156	Ν
矢竹	Pseudosasa japonica	KF797155	FJ644189	FJ644038	FJ643945	GU355507	FJ643852	KX146434	Ν
赤竹	Sasa longiligulata	KF797165	FJ644196	FJ644045	FJ6443952	GU354930	GU354610	NC_036825	Ν
业平竹	Semiarundinaria fastuosa	KF797171	KF797279	FJ644053	FJ643960	KF796909	FJ643867	KX146439	Ν
唐竹	Sinobambusa tootsik	KF797177	FJ644210	FJ644059	GU354393	GU3555	GU354551	FR832836	Ν
筱竹	Thamnocalamus spathiflorus	KF797180	KC020564	KC020544	GU354479	GU355599	FJ643876	NC_024724	Ν
短锥玉山竹	Yushania brevipaniculata	KF97184	GU354912	GU354752	GU354434	GU355522	GU354592	KP685642	Ν
棚竹	Indosasa longispicata	OR713994 (this study)	OR713995 (this study)	OR713996 (this study)	OR713997 (this study)	OR713998 (this study)	OR713999 (this study)	OR714000 (this study)	Ν

12711-L	1.11			1. (B. C. C. C. P. C.	I TX I IASUU DIN	A OCZINERIS			专业标本
Species	Scientific Name	trnG-trnT	trnT-trnL	trnD-trnT	trnC-rpoB	rpl32-trnL	rps16-trnQ	matK	Voucher
篌竹	Phyllostachys nidularia	OR714052 (this study)	OR714053 (this study)	OR714054 (this study)	OR714055 (this study)	OR714056 (this study)	OR714057 (this study)	OR714058 (this study)	N
粉酸竹	Acidosasa chienouensis	OR713964 (this study)	GU354887	GU354727	GU354409	GU355527	GU354567	OR713965 (this study)	AJ001
酸竹	Acidosasa chinensis	KF7970531	GU354885	GU354725	GU354407	GU355525	GU354565	OR713993 (this study)	AJ002
黄甜竹	Acidosasa edulis	OR713974 (this study)	GU354896	GU354736	GU354418	GU355536	GU354576	OR713975 (this study)	AJ003
巴山木竹	Bashania fargesii	OR713941 (this study)	GU3547902	GU354742	GU354424	GU355382	GU354582	OR713942 (this study)	AJ004
饱竹子	Bashania qingchengshanensis	OR713943 (this study)	GU354985	GU354825	GU354505	GU355625	GU354665	OR713944 (this study)	AJ005
短穗竹	Brachystachyum densiflorum	KF765075	FJ644138	FJ643987	FJ643894	GU355607	FJ643801	OR713945 (this study)	AJ006
合江方竹	Chimonobambusa hejiangensis	OR713966 (this study)	OR713967 (this study)	OR713968 (this study)	OR713969 (this study)	OR713970 (this study)	OR713971 (this study)	OR713972 (this study)	AJ006
光竹	Chimonobambusa luzhiensis	OR713957 (this study)	OR713958 (this study)	OR713959 (this study)	OR713960 (this study)	OR713961 (this study)	OR713962 (this study)	OR713963 (this study)	AJ007
寒竹	Chimonobambusa marmorea	OR713949 (this study)	FJ644140	FJ643989	FJ643896	FJ643766	FJ643803	EF125168	AJ008
方竹	Chimonobambusa quadrangu- laris	OR713950 (this study)	OR713951 (this study)	OR713952 (this study)	OR713953 (this study)	OR713954 (this study)	OR713955 (this study)	OR713956 (this study)	JXAU001
香竹	Chimonocalamus delicatus	OR713948 (this study)	KM264570	FJ643992	KM264878	KM264998	KM264450	MH28908	YN001
小香竹	Chimonocalamus dumosus	OR713946 (this study)	KM264624	GU354719	KM264932	KM265052	KM264504	OR713947 (this study)	YN002
棉花竹	Fargesia fungosa	OR713973 (this study)	FJ644149	FJ643998	FJ643905	GU355609	FJ643812	KP685614	YN003
美丽箬竹	Indocalamus decorus	OR713984 (this study)	OR713985 (this study)	OR713986 (this study)	OR713987 (this study)	OR713988 (this study)	OR713989 (this study)	OR713990 (this study)	AJ009
广东箬竹	Indocalamus guangdongensis	OR713980(this study)	GU354939	GU354779	GU354459	GU355579	GU354623	OR713981(this study)	AJ0010
粽巴箬竹	Indocalamus herklotsii	OR713982(this study)	GU354943	GU354783	GU354463	GU355583	GU354623	OR713983(this study)	AJ0011
箬叶竹	Indocalamus longiauritus	OR713978(this study)	GU354940	GU354830	GU354570	GU355630	GU354670	OR713979(this study)	AJ0012
箬竹	Indocalamus tessellatus	OR713976(this study)	FJ644162	FJ644011	FJ643918	GU355469	FJ643825	OR713977(this study)	JXAU002
同春箬竹	Indocalamus tongchunensis	OR734987(this study)	GU354883	GU354723	GU354405	GU355523	GU354563	OR734988(this study)	JX001
橄榄竹	Indosasa gigantea	OR713991(this study)	GU354888	GU354728	GU354410	GU355528	GU354568	OR713992(this study)	JXAU003
五爪竹 倭形竹	Indosasa triangulata Indosasa shibataeoides	OR714008(this study) OR714001	GU354855 OR714002	GU354695 OR714003	GU354377 OR714004	GU355495 OR714005	GU354535 OR714006	OR714009(this study) OR714007	YN006 AJ0013
四季竹	Oligostachyum lubricum	(this study) OR714017	(this study) OR714018	(this study) OR714019	(this study) OR714020	(this study) OR714021	(this study) OR714022	(this study) OR714023	JXAU010
糙龙心穂竹	Oligostachvum scabriflorum	(this study) KF765064	(this study) GU354874	(this study) GU354714	(this study) GU354396	(this study) KF764920	(this study)	(this study) IN247140	A 10015
少穗竹	Oligostachyum sulcatum	OR714010 (this study)	OR714011 (this study)	OR714012 (this study)	OR714013 (this study)	OR714014 (this study)	OR714015 (this study)	OR714016 (this study)	AJ0016
毛竹	Phyllostachys edulis	OR714038 (this study)	OR714039 (this study)	OR714040 (this study)	OR714041 (this study)	OR714042 (this study)	OR714043 (this study)	OR714044 (this study)	JXAU021
水竹	Phyllostachys heteroclada	OR714045 (this study)	OR714046 (this study)	OR714047 (this study)	OR714048 (this study)	OR714049 (this study)	OR714050 (this study)	OR714051 (this study)	JXAU013
安吉金竹	Phyllostachys parvifolia	OR714059 (this study)	OR714060 (this study)	OR714061 (this study)	OR714062 (this study)	OR714063 (this study)	OR714064 (this study)	OR714065 (this study)	AJ022
桂竹	Phyllostachys bambusoides	OR714031 (this study)	OR714032 (this study)	OR714033 (this study)	OR714034 (this study)	OR714035 (this study)	OR714036 (this study)	OR714037 (this study)	JXAU020
紫竹	Phyllostachys nigra	OR714024 (this study)	OR714025 (this study)	OR714026 (this study)	OR714027 (this study)	OR714028 (this study)	OR714029 (this study)	OR714030 (this study)	JXAU016
铺地竹	Pleioblastus argenteastriatus	OR714068 (this study)	OR714069 (this study)	OR714070 (this study)	OR714071 (this study)	OR714072 (this study)	OR714073 (this study)	OR714074 (this study)	YN015

附表1 (续) Supplement tab.1 (Continued)

			Suppleme		continueu /				
物种名	学名			叶绿体基因片	†段 Plastid DN	A Segments			凭证标本
Species	Scientific Name	trnG-trnT	trnT-trnL	trnD-trnT	trnC-rpoB	rpl32-trnL	rps16-trnQ	matK	Voucher
长叶苦竹	Pleioblastus simonii	OR714066(this study)	FJ644183	FJ644032	FJ643939	FJ643777	FJ643846	OR714067(this study)	JXAU017
茶秆竹	Pseudosasa amabilis	OR714075 (this study)	OR714076 (this study)	OR714077 (this study)	OR714078 (this study)	OR714079 (this study)	OR714080 (this study)	OR714081 (this study)	JXAU018
近实心茶秆竹	Pseudosasa subsolida	OR714082 (this study)	OR714083 (this study)	OR714084 (this study)	OR714085 (this study)	OR714086 (this study)	OR714087 (this study)	OR714088 (this study)	JXAU020
菲黄竹	Sasa auricoma	OR714089 (this study)	OR714090 (this study)	OR714091 (this study)	OR714092 (this study)	OR714093 (this study)	OR714094 (this study)	OR714095 (this study)	JGS001
鹅毛竹	Shibataea chinensis	OR714096(this study)	GU354955	GU354795	GU354475	GU355595	GU354635	OR714102(this study)	YN032
芦花竹	Shibataea hispida	OR714103(this study)	GU354959	GU354794	GU354474	GU355594	GU354634	MH428914	AJ015
狭叶倭竹	Shibataea lanceifolia	KF797176	GU354891	GU354736	GU354413	GU355553	GU354571	OR714110(this study)	YF001
晾衫竹	Sinobambusa intermedia	OR714111 (this study)	OR714112 (this study)	OR714113 (this study)	OR714114 (this study)	OR714115 (this study)	OR714116 (this study)	OR714117 (this study)	AJ020
Outgroup									AJ0016
Bambusa bambos	Bambusa bambos	KT227193	KT226359	GU390939	GU390912	GU062947	JN033887	FU434243	Ν
孝顺竹	Bambusa multiplex	KT227209	KT226375	GU390945	GU390918	GU062957	FJ416351	NC_024668	Ν
大叶慈	Dendrocalamus farinosus	KT227241	KT226409	GU354837	GU354517	GU355637	GU354677	KT226167	Ν
青皮竹	Bambusa textilis	OR714118 (this study)	OR714119 (this study)	OR714120 (this study)	OR714121 (this study)	OR714122 (this study)	OR714123 (this study)	OR714124 (this study)	JX02
龙竹	Dendrocalamus giganteus	OR714125 (this study)	OR714126 (this study)	OR714127 (this study)	OR714128 (this study)	OR714129 (this study)	OR714130 (this study)	OR714131 (this study)	YN030
麻竹	Dendrocalamus latiflorus	OR714132 (this study)	OR714133 (this study)	OR714134 (this study)	OR714135 (this study)	OR714136 (this study)	OR714137 (this study)	OR714138 (this study)	YN031

附表1 (续) Supplement tab.1(Continued)

附表2 引物和PCR扩增反应条件

Supplement tab.2 Primers and PCR reaction conditions

片段	引物序列	片段大小/bp	PCR扩增程序	参考文献
Region	Primer Sequences $(5'-3')$	Size	PCR Parameters	Reference
rpl32-trnL	<i>rpl</i> 32–F:CAGTTCCAAAAAAACGTACTTC <i>trn</i> L(UAG):CTGCTTCCTAAGAGCAGCGT	~817	95 °C,2 min;35 x(95 °C,1 min; 48 °C,10 s;+17 °C,0.3 °C/s; 65 °C,5 min);65 °C,5 min.	[34]
rps16-trnQ	5'end:1F:GCACGTTGCTTTCTACCACA 929R:TTCTGTCTACTCGGCTTTCG 3'end:538F:CGACTCGAATACCAAAAGAGG 1574R:ATCCTTCCGTCCCAGATTTT	~1 474	95 °C,2 min;35 x(95 °C,1 min; 48 °C,10 s;+17 °C,0.3 °C/s; 65 °C,5 min);65 °C,5 min.	[34]
trnC-rpoB	<i>trn</i> C:TGGGGATAAAGGATTTGCAG <i>rpo</i> B:ATTGTGGACATTCCCTCRTT	~1 210	94 °C,2 min;35 x(96 °C,1 min; touchdown 56~46 °C,2 min;72 °C, 3 min);72 °C,5 min.	[34]
trnD-trnT	<i>trn</i> D–F: ACCAATTGAACTACAATCCC <i>trn</i> T–R: CCCTTTTAACTCAGTGGTA	~1 162	94 °C,2 min;35 x(94 °C,45 s; touchdown 58~48.5 °C,1 min; 72 °C,1 min 15 s);72 °C,5 min.	[34]
trnT-trnL	tmT-LF;CATTACAAATGCGATGCTCT tmT-LR;TCTACCGATTTCGCCATATC	~785	95 °C,2 min;35 x(95 °C,1 min; 48 °C,10 s;+17 °C,0.3 °C/s; 65 °C,5 min);65 °C,5 min.	[34]
<i>trn</i> G- <i>trn</i> T(t)	tmG(UCC)F:CCGATGACTTATGCCTTAC tmT(GGU)(t)R:TTACCAAATGTTCCTCCCA	~1 172	95 °C,2 min; 33 x(95 °C,1 min; 50 °C,10 s;+15 °C,0.3 °C/s; 65 °C,1 min);65 °C,10 min.	[36]
MatK	ML: AAACAGAAATCTCGTCAA MU: AGGGTTCACCAGGTCATT	~1 440	94 °C,6 min;32 x(94 °C,30 s; 51~53 °C,30 s;72 °C,90 s); 72 °C,8 min.	[37]

参考文献 References:

- [1] 廖光庐.井冈寒竹林分特征与开发前景[J].竹子研究汇刊,1991,10(2):19-22.
 LIAO G L.The stand features and exploitative prospects of *Gelidocalamus stellatus* forests[J].Journal of bamboo research, 1991,10(2):19-22.
- [2] 叶居新.井冈山的稀有植物群落[J].南昌大学学报(理科版),1984,77(6):17-24. YE J X.Rare phitocoenosia in Jinggangshan[J].Journal of nanchang university(natural science),1984,77(6):17-24.
- [3] 温太辉.中国竹亚科的几个分类问题[J].竹子研究汇刊,1986,5(2):10-27. WENTH.Some issues of taxa of Bambusoideae in China[J].Journal of bamboo research,1986,5(2):10-27.
- [4] 温太辉.中国竹亚科-新属与若干新种[J].竹子研究汇刊,1982,1(1):20-45.
 WEN T H.A new genus and some new species of Bambusoideae from China[J].Journal of bamboo research, 1982,1(1): 20-45.
- [5] 江灶发.井冈寒竹在园林中的应用[J].北方园艺,2007,187(10):150-151. JIANG Z F.The application of *Gelidocalamus* Wen in landscaping[J].Northern horticulture,2007,187(10):150-151.
- [6] 耿伯介.世界竹亚科各属的考订(之三)[J].竹子研究汇刊,1983,2(1):11-27. GENG B J.A revision of the genera of bamboo from the world(Ⅲ)[J].Journal of bamboo research, 1983,2(1):11-27.
- [7] CLAYTON D, RENVOIZE A, GENERA G.Grasses of the world M.London; H.M.S.O, 1986; 56-60.
- [8] 王正平.中国竹亚科分类系统之我见[J].竹子研究汇刊,1997,16(04):1-6.
 WANG Z P.A proposal concerning a system of classification of Bambusoideae from China[J].Journal of bamboo research, 1997,16(04):1-6.
- [9] 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. LIW J.A taxonomic study of the genus *Gelidocalamus* Wen(Bambusoideae)[D]. Nanchang: Jiangxi Agricultural University, 2017.
- [10] 桑庆亮.基于功能基因MADS1、MOC1和TB1的竹类植物分子系统学研究[D].杭州:浙江大学,2007. SANG Q L.Molecular systematics of bamboo based on functional genes MADS1, MOC1 and TB1[D].Hangzhou: Zhejiang University,2007.
- [11] GUO C, MA P F, YANG G Q, et al. Parallel ddRAD and genome skimming analyses reveal a radiative and reticulate evolutionary history of the temperate bamboos[J].Systematic biology, 2021, 70(4):756-773.
- [12] SABATER B.Chloroplast[M].Switzerland: MDPIAG, 2018: 80-81.
- [13] KUMAR S, STECHER G, TAMURA K.MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets[J]. Molecular biology and evolution, 2016, 33(7): 1870-1874.
- [14] KATOH K, STANDLEY D M.MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability[J].Molecular biology and evolution, 2013, 4(30):772-780.
- [15] CAPELLA G, SILLA-MARTINEZ J M, GABALDON T.tTrimAl: a tool for automated alignment trimming in large-scale phylogenetic analyses[J].Bioinformatics, 2009, 15(25): 1972-1973.
- [16] ROZAS J, FERRER-MATA A, SANCHEZ-DELBARRIO J C, et al.DnaSP 6: DNA sequence polymorphism analysis of large data sets[J].Molecular biology and evolution, 2017, 12(34): 3299-3302.
- [17] NGUYEN L T, SCHMIDT H A, VON H A, et al.IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximumlikelihood phylogenies[J].Molecular biology and evolution, 2015, 32(1):268-274.
- [18] TRIFINOPOULOS J, NGUYEN L T, VON H A, et al. W-IQ-TREE: a fast online phylogenetic tool for maximum likelihood analysis[J].Nucleic acids research, 2016, 44(1):232-235.
- [19] ANDRES J, ARSENEPLOETZE F, BARBE V, et al. Life in an arsenic-containing gold mine: genome and physiology of the autotrophic arsenite-oxidizing bacterium *Rhizobium* sp. NT-26[J].Genome biology and evolution, 2013, 5(5):934-953.
- [20] POSADA D.jModelTest:phylogenetic model averaging[J].Molecular biology and evolution, 2008, 25(7): 1253-1256.
- [21] ZHANG Y X, MA P F, HAVERMANS T, et al.In search of the phylogenetic affinity of the temperate woody bamboos from Madagascar, with description of a new species (Bambusoideae, Poaceae): phylogenetic affinity of Malagasy bamboos [J]. Journal of systematics and evolution, 2017, 55(5):1-13.
- [22] BOUCKAERT R, VAUGHAN T G, BARIDO S J, et al.BEAST 2.5: an advanced software platform for Bayesian evolutionary analysis[J].Plos computational biology, 2019, 15(4):e1006650.

- [23] ZHANG X Z, ZENG C X, MA P F, et al.Multi-locus plastid phylogenetic biogeography supports the Asian hypothesis of the temperate woody bamboos(Poaceae:Bambusoideae)[J].Molecular phylogenetics and evolution, 2016, 96(1):118-129.
- [24] RAMBAUT A, DRUMMOND A J, XIE D, et al. Posterior summarization in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7[J].Systematic biology, 2018,5(67):901-904.
- [25] 龙春玲,孔亭,李玮剑,等.井冈寒竹复合体(竹亚科)的表型变异及其分类学意义[J].植物分类与资源学报,2015,37 (6):704-712.

LONG C L, KONG T, LI W J, et al. Phenotypic variation of *Gelidocalamus stellatus* Wen complex(Bambusoideae)[J].Plant diversity and resources, 2015, 37(6):704-712.

- [26] 季春峰,吴豪,杨光耀.井冈寒竹属一非法名称[J].热带亚热带植物学报,2012,20(5):527-528. JICF,WUH,YANGGY.An illegitimate name of *Gelidocalamus* Wen(Bambusoideae)[J].Journal of tropical and subtropical botany,2012,20(5):527-528.
- [27] 吴豪,龙春玲,于芬,等.井冈寒竹属叶表皮微形态特征及其分类学意义[J].植物科学学报,2014,32(3):211-215. WU H, LONG C L, YU F, et al.Leaf micromorphology of *Gelidocalamus* Wen and its taxonomical significance[J].Plant science journal,2014,32(3):211-215.
- [28] ZENG C, ZHANG Y, TRIPLETT J K, et al.Large multi-locus plastid phylogeny of the tribe Arundinarieae(Poaceae:Bambusoideae)reveals ten major lineages and low rate of molecular divergence[J].Molecular phylogenetics and evolution, 2010, 56 (2):821-839.
- [29] GUO C, GUO Z H, LI D Z.Phylogenomic analyses reveal intractable evolutionary history of a temperate bamboo genus (Poaceae: Bambusoideae) [J].Plant diversity, 2019, 41(4): 213-219.
- [30] ZHANG Y X, ZENG C X, LI D Z. Complex evolution in Arundinarieae (Poaceae: Bambusoideae) : incongruence between plastid and nuclear *GBSSI* gene phylogenies [J]. Molecular phylogenetics and evolution, 2012, 63(3):777-797.
- [31] CHRISTIN P A, BESNARD G, SAMARITANI E, et al.Oligocene CO₂ decline promoted C₄ photosynthesis in grasses[J].Current biology, 2008, 18(1): 37-43.
- [32] BOUCHENAK K Y, SALAMIN N, SAVOLAINEN V, et al. Large multi-gene phylogenetic trees of the grasses (Poaceae): progress towards complete tribal and generic level sampling [J]. Molecular phylogenetics and evolution, 2008, 47 (2): 488-505.
- [33] HODKINSON T R, CHONGHAILE G N, SUNGKAEW S, et al. Phylogenetic analyses of plastid and nuclear DNA sequences indicate a rapid late Miocene radiation of the temperate bamboo tribe Arundinarieae (Poaceae, Bambusoideae) [J]. Plant ecology & diversity, 2010, 3(2): 109-120.
- [34] TRIPLETT J K, CLARK L G.Phylogeny of the temperate bamboos (Poaceae: Bambusoideae: Bambuseae) with an emphasis on Arundinaria and allies [J].Systematic botany, 2010, 35(1):102-120.
- [35] ZHANG Y X, ZENG C X, LI D Z.Scanning electron microscopy of the leaf epidermis in Arundinarieae(Poaceae:Bambusoideae): evolutionary implications of selected micromorphological features[J].Botanical journal of the linnean society, 2014, 176(1):46-65.
- [36] ZHANG Y X, HU Y X, MA P F, et al.Selection of potential plastid DNA barcodes for Bambusoideae(Poaceae)[J].Plant diversity, 2013, 35(6):743-750.
- [37] 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.