

从核糖体DNA ITS区序列研究甘蔗属及其近缘属种的系统发育关系*

陈辉¹ 范源洪^{1*} 向余颈攻² 蔡青¹ 张亚平²

(¹云南省农业科学院甘蔗研究所, 云南开远, 661600; ²中国科学院昆明动物所细胞与分子进化开放研究实验室, 云南昆明 650223)

摘要 测定了甘蔗属及其近缘属的13个种共43个个体和1个橡草(*Pennisetum schumacheri*)外群的核糖体DNA中的内转录间隔区(ITS)及5.8S rDNA基因的序列。结果表明:甘蔗属及其近缘属种的ITS区(含ITS1, 5.8S rDNA和ITS2)序列的长度范围为589~591bp, 变异位点为140个, 信息位点为60个;其中, ITS1和ITS2的长度范围分别为205~208bp和216~220bp, 变异位点分别为64和68个, 信息位点分别为33和24个;5.8S rDNA长度范围为164bp, 变异位点为8个, 信息位点为3个。以狼尾草属的橡草(*P. schumacheri*)作为外群, 运用PAUP4.0b软件构建的系统发育NJ树表明:浙江果蔗(R45)应属于热带种(*S. officinarum*);河王八属与蔗茅属的亲缘关系较近, 各自的金猫尾种与蔗茅种、河王八种与滇蔗茅种分别交叉聚在2个不同的小分支中;斑茅(*S. arundinaceum*或*E. arundinaceum*)具有其他属不同的特异位点, 是距甘蔗属较远的一个独立分支, 从分子水平上提出了斑茅并不属于甘蔗属的观点, 但其是否属于蔗茅属, 还是应当立为单种属则需进一步的研究论证。

关键词 甘蔗属及其近缘属种; ITS; 系统发育

中图分类号: S566 文献标识码: A

Phylogenetic Relationships of *Saccharum* and Related Species Inferred from Sequence Analysis of the nrDNA ITS Region

CHEN Hui¹ FAN Yuan-Hong^{1*} XIANG-YU Jin-Gong² CAI Qing¹ ZHANG Ya-Ping²

(1. Sugarcane Research Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kaiyuan, Yunnan 661600, China; 2. Laboratory of Cellular and Molecular Evolution, Kunming Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Kunming, Yunnan 650223, China)

Abstract The internal transcribed spacer (ITS) regions of nuclear ribosomal DNA from 14 species of *Saccharum* and related genera were sequenced. The regions ranged in length from 589 to 591 bp, with ITS1 (205~208 bp) slightly shorter than ITS2 (216~220 bp). Of the 591 bp aligned positions, there were 140 variable sites (64 in ITS1, 68 in ITS2, 8 in 5.8S region), and 60 informative sites (33 in ITS1, 24 in ITS2, 3 in 5.8S region). The neighbor-joining tree based on the ITS sequences analysis with *P. schumacheri* as outgroup indicated that Zhejiang fruit sugarcane should belong to *S. officinarum*. *N. fallax* and *E. fulvus*, *N. porphyrocoma* and *E. rockii* should be placed in a same genus *Arundinaceum* has different variable sites from other species, it is an independent clade isolated from *Saccharum* and *Erianthus*. The present analysis demonstrated that *Arundinaceum* should not belong to *Saccharum*, which is consistent with the results from morphology and cytology.

Key words *Saccharum* and related species; ITS; Phylogeny

在传统的分类系统中,甘蔗属(*Saccharum* L.)主要包括热带种(*S. officinarum* L.)、中国种(*S. sinense* Roxb.)、印度种(*S. barberi* Jesweit)、割手密(*S. spontaneum* L.)、大茎野生种(*S. robustum* Brandes et Jesw. ex. Grassl)等,甘蔗属与蔗茅属(*Erianthus* Michx.)、芒属(*Miscanthus* Anderss.)、硬

* 基金项目: 云南省自然科学基金重点项目资助(96C005Z)。

作者简介: 陈辉(1971-), 男, 广东兴宁人, 助理研究员。研究方向: 分子生物技术。通讯作者: Author for correspondence, E-mail: YSR1@public.km.yn.cn

Received (收稿日期): 2002-01-22, Accepted (接受日期): 2002-10-15.

穗茅属 [*Sclerostachya* (Anderss ex Hack) A. Camus], 河八王属 (*Narenga* Bor) 组成“甘蔗属复合体”(“*Saccharum* Complex”), 而“甘蔗属复合体”又与白茅属 (*Imperata* Cyr)、油芒属 (*Eccoilopus* Steud)、大油芒属 (*Spodiogogon* Trin.) 等组成了甘蔗亚族 (“*Saccharastrae*”) [1-3]。然而, 关于甘蔗属及其近缘属种在植物分类上的地位较为复杂, 它们之间的系统发育关系并不十分明确, 特别是斑茅 [*S. arundinaceum* Retz 或 *E. arundinaceum* (Retz) Jeswiet] 的分类地位在国内甘蔗界和植物学界并没有统一, 有些学者把它归入甘蔗属 (*Saccharum*), 有些学者把它归入蔗茅属 (*Erianthus*), 甚至有些学者提出应当把它立为单种属, 而在国外甘蔗界把它归入蔗茅属 (*Erianthus*) 已没有什么争议 [4-7]。目前, 关于甘蔗属及其近缘属种的系统发育关系的讨论主要是基于形态、细胞及生理生化水平的研究, 而根据 DNA 序列的分析仍很少见报道 [8-13]。

近年来, 作为 18S-26S 核 rDNA 的内转录间隔区 (Internal Transcribed Spacer, ITS), 由于进化速率较快、稳定性好和测序方便等特点, 已成为研究植物系统发育及分子进化的有效工具和重要标记 [14-19]。本研究首次通过测定核糖体 DNA 的 ITS 区序列来探讨甘蔗属及其近缘属种的系统发育关系。

1 材料和方法

1.1 材料

实验中选用了甘蔗属 6 个种和 3 个近缘属 7 个种共 43 个个体及橡草 (*P. schumacheri*) 外群的 1 个个体 (见表 1)。所有样品均采自云南省农业科学院甘蔗研究所“国家甘蔗种质资源圃”。

1.2 实验方法

1.2.1 植物总 DNA 的提取 DNA 提取参照范源洪等 [8]。

1.2.2 ITS 区序列的引物设计、PCR 扩增及纯化 实验中共使用了 2 对引物 ITS4 (5'-3') TC-CTCCGCTTA TTGA TAG, ITS5 (5'-3') GGAA TAAA GTCGTAACAA GG [19] 和 ITSr (5'-3') TCCTCCGCTTA TTGA TAG, ITSf (5'-3') TCGTAACAA GGTTCCGTA G 对目的片段进行扩增和测序, 它们的相对扩增位置如图 1 所示。

PCR 扩增反应在 Biometra (德国) 公司的 PCR 仪上进行, 反应总体积为 50 μ L, 扩增条件为: 94 变性 1 min, 45~50 退火 1 min, 72 延伸 1 min 30s, 35~40 个循环。第一个循环前于 95 预变性 3 min,

表 1 实验材料及其来源

Table 1 The origin of materials used in this study					
编号 Number	属名 Genus	种名 Species	名称 Name	GenBank 登录号 Accession number	
R1	甘蔗属 <i>Saccharum</i>	热带种 <i>S. officinarum</i>	拔地拉	AF345229	
R2			黑车里本	AF345230	
R3			克林斯它林	AF345231	
R4	印度种 <i>S. barberi</i>		Mango	AF331657	
R5			Naygori	AF345199	
R6			Chunnee	AF345200	
R7	中国种 <i>S. sinense</i>		犍为芦蔗	AF345241	
R8			光泽竹蔗	AF345242	
R9			合庆草甘蔗	AF345243	
R10	大茎野生种 <i>S. robustu</i>		Uba	AF345240	
R12			大茎野生种	AF345238	
S110			细茎野生种 <i>S. spontaneum</i>	云南 83-228	AF345244
S126	地方种 Land race		仙游割手密	AF345245	
R43			歪俄	AF345223	
R44			红叶蔗	AF345224	
R45	甘蔗属 <i>Saccharum</i>	斑茅 <i>S. arundinaceum</i> or	浙江果蔗	AF345225	
R46			罗汉蔗	AF345226	
R15	或蔗茅属 <i>Erianthus</i>	<i>E. arundinaceum</i>	云南 82-118	AF345201	
R16	云南 82-128		AF345202		
R17	云南 83-218		AF345203		
R18	云南 82-28		AF345204		
R19	云南 83-241		AF345205		
R20	云南 84-250		AF345206		
R21	贵州 78-1-24		AF345207		
R22	南安斑茅		AF345208		
R23	四川 79-2-2		AF345209		
R24	四川 92-1		AF345210		
R26	广东 32 号		AF345211		
R27	海南 92-109		AF345212		
R25	狼尾草属 <i>Pennisetum</i>		橡草 <i>P. schumacheri</i>	橡草	AF345232
R28	芒属 <i>Miscanthus</i>		五节芒 <i>M. floridulus</i>	云南 82-122	AF345214
R31	芒 <i>M. sinensis</i>			广东芒	AF345228
R30		广西 798		AF345227	
R29		云南 95-35		AF345215	
R32	河王八属 <i>Narenga</i>	金猫尾 <i>N. fallax</i>	云南 83-172	AF345213	
R33	河王八 <i>N. porphyrocan</i>		云南 82-102	AF345233	
R34			江西 91-7	AF345234	
R35	蔗茅属 <i>Erianthus</i>	滇蔗茅 <i>E. rockii</i>	贵州 79-2-20	AF345235	
R36			四川 92-11	AF345236	
R37	蔗茅 <i>E. fulvus</i>		云南 82-93	AF345216	
R38			四川 92-19	AF345217	
R40			大理蔗茅	AF345218	
R41	云南 97-6		云南 97-6	AF345219	
R42			云南 97-4	AF345220	

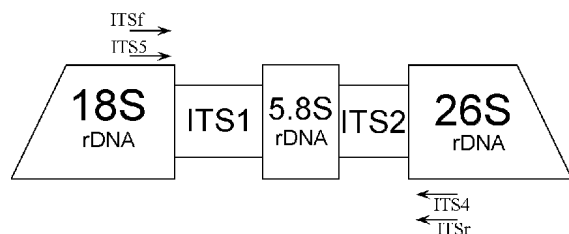


图1 甘蔗 18S-26S rDNA 的基本结构: 箭头所示为 PCR 扩增和测序引物的相对位置

Fig 1 The structure of 18S-26S rDNA in sugarcane: the arrows denote the primers used for PCR amplification and sequencing

最后一个循环后于 72 °C 保温 10 min。扩增产物采用华舜公司生产的 PCR 产物纯化试剂盒进行回收。

1.2.3 序列测定 测序反应在 PE (美国) 公司的 PCR 仪上进行, 反应程序为: 96 °C 变性 30 s, 50 °C 退火 15 s, 60 °C 延伸 4 min, 25 个循环, 反应总体积为 10 μL。在 PE 公司 ABI 377 全自动测序仪上进行正反链双向测序, 测序试剂采用 PE 公司的 BigDye M atrix 2 Sequencing Kit

1.2.4 序列分析和分子系统发育树的构建 对所测基因序列片段采用 DNA STAR^[20] 软件包 (DNA STAR Inc, 1995) 进行同源性排列和编辑后, 以狼尾草属的橡草 (*P. schumacheri*) 为外群, 运用 PAUP 4.0b^[21] 软件 (Swofford, 1998) 进行分析。每一位点均视为无序特征, 经 MEGA 2b3^[22] 软件 (Sudhir Kumar, 2000) 中 Kimura 2-Parameter Distance 参数转换成遗传距离值后用 NJ 法构树; 同时, 进行 1000 次 Bootstrap 自展法检验。

2 结果与分析

本研究测定的甘蔗属及其近缘属种 43 个个体和 1 个橡草个体的整个 ITS 区序列 (含 ITS1, 5.8S rDNA 和 ITS2) 均已在 GenBank 中登记注册 (登录号见表 1), 它们的长度范围为 589~591 bp, 变异位点为 140 个, 信息位点为 60 个; 其中, ITS1 和 ITS2 的长度范围分别为 205~208 bp 和 216~220 bp, 变异位点为 64 和 68 个, 信息位点为 33 和 24 个; 5.8S rDNA 长度为 164 bp, 变异位点为 8 个, 信息位点为 3 个。序列比较显示: 所测的甘蔗属及近缘属种的 ITS 区序列长度相近, 变异程度较高; 其中, ITS1 的长度短于 ITS2, 变异位点也少于 ITS2, 但 ITS1 所提供的信息量 (位点) 却明显多于 ITS2, 这与已报道的被子植物研究中, 大多数类群的这两个片段所提

供的信息量相近的结论不同^[15]; 而 5.8S rDNA 长度均为 164 bp, 且非常保守, 在所有参试个体中只有 8 个变异位点和 3 个信息位点, 这一结果与已研究过的大多数禾本科植物的 5.8S rDNA 基因非常保守的结果相同^[19]。在植物系统学研究中, 虽然仅根据 ITS1 或 ITS2 的序列即可得出重要的系统学结论, 但考虑到这两个片段的长度有限, 各自的信息量并不十分充足, 且 5.8S rDNA 基因序列所能提供的系统学信息却非常有限, 因此, 建议在植物系统学研究中最好将 ITS1 和 ITS2 两个片段综合起来分析, 可不考虑或不测定 5.8S rDNA 基因的序列, 以获取更准确的结论^[15]。

从甘蔗属及其近缘属 13 个种的 ITS 区序列 (ITS1+ITS2) 的变异位点排列结果看 (见表 2), ITS 区序列在各属种间的变异程度较高, 且各属种均有特定的变异位点或信息位点。如: 在 91 bp 处甘蔗属存在特有的变异位点为“A”, 而其他属为“G”; 芒属分别在 34 bp、52 bp、238 bp、267 bp、279 bp、360 bp 和 399 bp 处均存在特有的变异位点, 分别为“A”、“A”、“T”、“C”、“T”、“T”和“T”, 而其他属在此处的位点分别为“C”、“G”、“G”、“T”、“C”、“C”和“A”; 值得一提的是, 斑茅与其他属种相比有明显的差异, 分别在 56 bp、68 bp、72 bp、103 bp、192 bp、234 bp、235 bp、369 bp 和 401 bp 共 9 处存在“C”、“A”、“C”、“G”、“G”、“T”、“C”、“G”和“C”特定的变异位点以及在 241 bp 处存在 1 个缺失位点等; 这些为甘蔗属及其近缘属种的系统发育和分类学的研究提供了重要的分子依据和信息。

利用邻接法 (NJ 法) 构建的 50% 多数一致树表明 (见图 2): 外群橡草 (R25) 首先与其他属种分开; 在明显的 2 个一级分支中, 甘蔗属的 6 个种 17 个个体聚为一个分支, 支持强度为 94%, 其他近缘属聚为另一个分支; 而在甘蔗属的 3 个二级分支中, 热带种和 1 个地方种 (浙江果蔗 R45) 及印度种、割手密、大茎野生种及中国种, 3 个地方种 (歪俄 R43, 红叶蔗 R44, 罗汉蔗 R46) 分别聚在一起, 且具有较高的支持强度; 在近缘属的 4 个二级分支中, 斑茅和芒属各自聚为一个单独的分支, 支持强度分别为 99% 和 100%; 而滇蔗茅种与河王八种, 蔗茅种与金猫尾种则分别聚在一起, 构成另外 2 个分支, 支持强度分别为 97% 和 78%, 这一结果与滇蔗茅种和蔗茅种 (蔗茅属), 河王八种和金猫尾种 (河王八属) 分别与同一个属的传统分类系统不同^[1-3]。

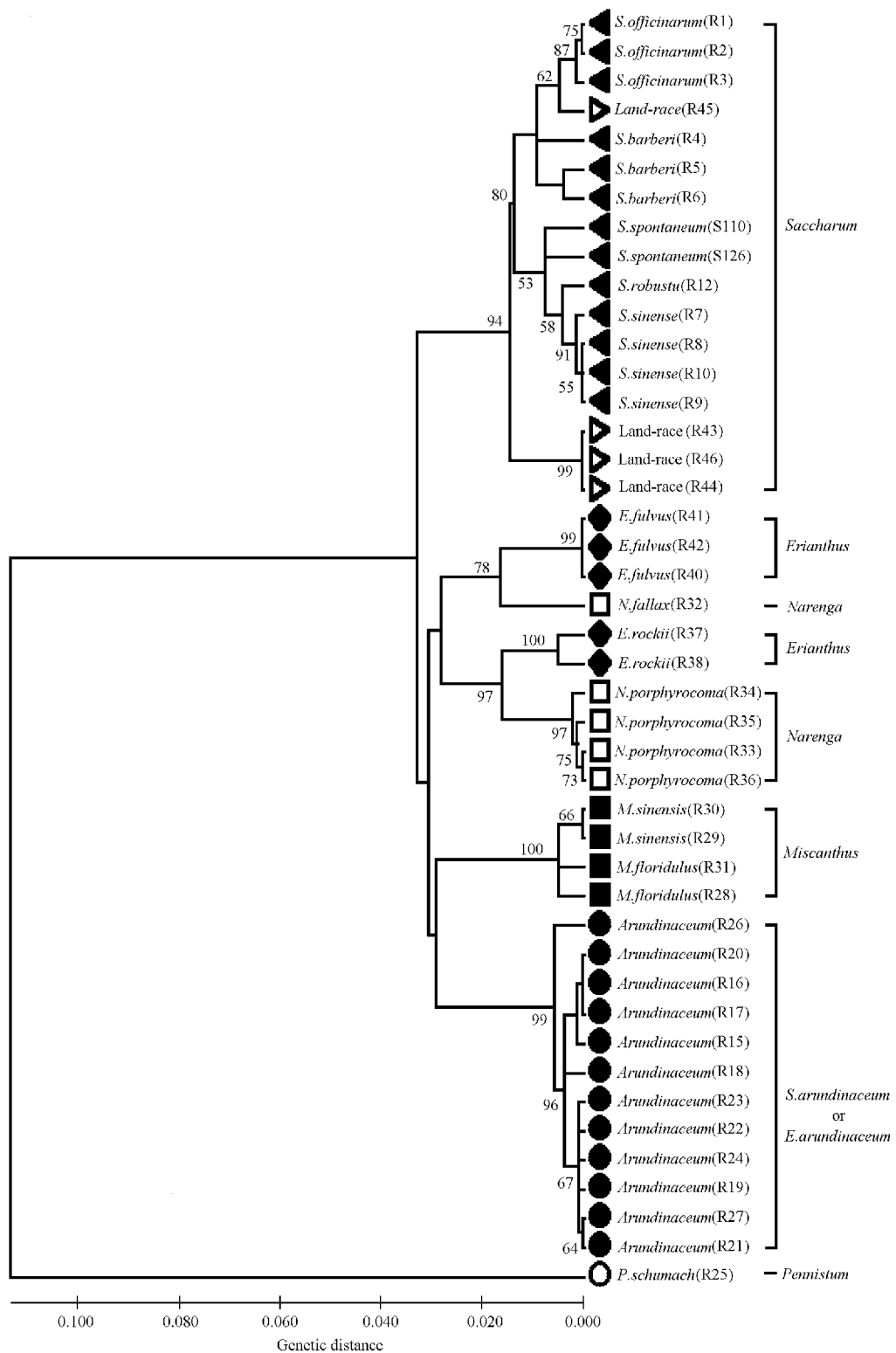


图2 以狼尾草属的橐草(*P. schumach*)为外群,基于14个甘蔗属及其近缘属种的ITS区序列构建的NJ树。分支上的数字是1000次重复抽样检验的bootstrap值

Fig 2 The Neighbor-joining tree based on 14 *Saccharum* and related species of ITS sequences analysis with *P. schumach* as outgroup. Numbers above the branches are bootstrap values(%) of 1000 replications

表 2 甘蔗属及其近缘属 13 个种的 ITS 区序列 (ITS1+ ITS2) 的变异位点排列

Table 2 Aligned variable sites of ITS (ITS1+ ITS2) sequences among 13 *Saccharum* and related species

	111111	1111111111	1122222222	2222222222	2222223333	3333333333	3333344444	444		
	2223344445	5556667888	8889014445	5566677888	9900000333	3334445566	7778990000	1445566677	7789900011	111
	0184802481	2671782123	6781341242	5924639089	2912589024	5680196807	3898250568	4120204901	2651901906	789
<i>A. rundinaceum</i> (R15)	ACCCTTGGCG	GCCCACTTC	CCC GC TTTT	TCGCGTCCGC	GAA TTTCACT	CGGA -GTGCT	AGCGTGGCGA	TTCCCCGCG	CCGAA TCGCA	CCG
<i>A. rundinaceum</i> (R16)	T..
<i>A. rundinaceum</i> (R17)	T..
<i>A. rundinaceum</i> (R18) C T.....	A..
<i>A. rundinaceum</i> (R19) A C C	T..
<i>A. rundinaceum</i> (R20)	T..
<i>A. rundinaceum</i> (R21) C C	T A
<i>A. rundinaceum</i> (R22) C C	T..
<i>A. rundinaceum</i> (R23) C C	T..
<i>A. rundinaceum</i> (R24) C C	T..
<i>A. rundinaceum</i> (R26) C	TA.
<i>A. rundinaceum</i> (R27) C C	T A
<i>E. rockii</i> (R37) T. TGTGC	. A T A . C .	. T A T A G C C C A A	. A - . G C A T T . . . A . .	. T . . . G . .	T..
<i>E. rockii</i> (R38) T. TGTGC	. A T A . C .	. T A T A G C C C A A	. A - . G C T A A G . .	T..
<i>E. fulvus</i> (R40) TTT GTCC	. T A A A G	. A . G A T C T . . . A . A	. T . . . G . .	T..
<i>E. fulvus</i> (R41) TTT GTCC	. T A A A G	. A . G A T C T . . . A . A	. T . . . G . .	T..
<i>E. fulvus</i> (R42) TTT GTCC	. T A A A G	. A . G A T C T . . . A . A	. T . . . G . .	T..
Land+race (R43)	C . . C T . . G T . C	. . A A . C A .	G T A . C A G	. A . G A . . T A A G . G	TA.
Land+race (R44)	C . . C T . . G T . C	. . A A . C A .	G T A . C A G	. A . G A . . T A A G . G	TA.
Land+race (R45) C T . T . G T . C	. . T A A . C . .	G T A . A C T T .	. A . . . A . T . G	. A . G A . . T A G . .	TA.
Land+race (R46)	C . . C T . . G T . C	. . A A . C A .	G T A . C A G	. A . G A . . T A A G . G	TA.
<i>M. floriidulus</i> (R28)	... AC A T . T T T . C	... A A A	. A . T G A A . . C	. A T . . . T T T . A A T T . G A .	T..
<i>M. floriidulus</i> (R29)	... AC A T . T T C T . C	... A A A	. A . T G A . . C	... T T . A A T T . G . .	T..
<i>M. sinensis</i> (R30)	... AC A T . T T C T . C	... A A A	. A . T G A . . C	... T T . A A T T . G . .	T..
<i>M. sinensis</i> (R31)	... AC A T . T T T . C	... A A A	. A . T G A . . C	... T G T A A T T . G . .	T..
<i>N. fallax</i> (R32) C T . T T G T C C	... A A A A . G A	. A . G G . . T T	. C T . . . A . .	. T . G . G . G	T..
<i>N. pophyrocan</i> (R33) A . .	. T . . G T C C	. A T A . C .	. . A A G C C . A A	. G C . G C T A C A T
<i>N. pophyrocan</i> (R34) A . .	. T . . G T C C	. A T A . C .	. . A A G C C . A A	. G C . G . T A C A T	T..
<i>N. pophyrocan</i> (R35) A . .	. T . . G T C C	. A T A . C .	. . A A G C C . A A	. G C . G C T A C A T	T..
<i>N. pophyrocan</i> (R36) A . .	. T . . G T C C	. A T A . C .	. . A A G C C . A A	. G C . G C T A C A T
<i>S. barberi</i> (R4)	. T T . C T T T . G T . C T	. . T A A . C . .	G T A . A C T . .	. A . . . A . . G	. A . - A . . T C A G T .	TA.
<i>S. barberi</i> (R5)	. . T . C T . T . G T . C	. . T A A . C . .	G T A . C T . .	. A G	. A . - A . . T A . . A A G . .	TA.
<i>S. barberi</i> (R6)	. . T . C T . T . G T . C	. . T A A . C . .	G T A . C T . T	. A G	. A . - A . . T C A G . .	TA.
<i>S. officinarum</i> (R1)	. . T . C T . T . G T . C T	. . T A A . C . .	G T A . A C T T .	. A T . G	. A . - A . . T A A G . .	TA.
<i>S. officinarum</i> (R2)	. . T . C T . T . G T . C T	. . T A A . C . .	G T A . A C T T .	. A T . G	. A . - A . . T A A G . .	TA.
<i>S. officinarum</i> (R3) C T . T . G T . C T	. . T A A . C . .	G T A . A C T T .	. A T . G	. A . - A . . T A A G . .	TA.
<i>S. robustu</i> (R12)	. T . C . . T .	. T . T . G T . C	. G T A A . C . .	G T A . C A G	. A . G A . . T A G . .	TA.
<i>S. sinense</i> (R10)	. T . C . . T T .	. T . T . G T . C	. G T A A . C . .	G T A . C . A .	. A G	. A . G A . . T A A G . .	TA.
<i>S. sinense</i> (R7)	. T . C . . T T .	. T . T . G T . C	. G T A A . C . .	G T A . C . A .	. A G	. A . G A . . T A . . . A A G . .	TA.
<i>S. sinense</i> (R8)	. T . C . . T T .	. T . T . G T . C	. G T A A . C . .	G T A . C . A .	. A G	. A . G A . . T A A G . .	TA.
<i>S. sinense</i> (R9)	. T . C . . T T .	. T . T . G T . C	. G T A A . C . .	G T A . C . A .	. A G	. A . G A . . T A A G . .	TA.
<i>S. spontaneum</i> (S110) C . . T .	. T . T . G T . C	. G T A A . C . .	G T A . C . . T	. A G	. A . G A . . T A A A . . A . .	TA.
<i>S. spontaneum</i> (S126) C . . T .	. T . T . G T . C	. G T A A . C . .	G T A . C T . .	. A . . . A . . G	. A . G A . . T A T A A	TA.

注: “.”代表与第一列序列相同的位点;“-”为缺失位点。

Note: “.”denoted same sites with first sequence,“-”denoted absent sites

3 讨论

随着现代分子生物学技术的迅猛发展,许多新的技术和方法已广泛应用于植物分类学、系统发育、物种形成与进化等方面的研究^[8-13,15]。目前,作为18S-26S rDNA 一个组成部分的内转录间隔区(ITS),由于在核基因组中是高度重复的,且通过不等交换和基因转换使这些重复单位间发生位点内或位点间的同步进化(concerted evolution);同时,在大多数禾本科植物中其长度比较稳定,进化速率也较快,这些就为PCR扩增及测序奠定了基础,从而使ITS成为植物系统发育和分子进化研究的重要标记^[14-19]。

从本研究的ITS序列分析结果来看(表2和图2),在甘蔗属的大分支中,地方种的3个个体(R43、R44和R46)聚在一起,而另1个个体(浙江果蔗R45)则与热带种聚在同一个次级分支上,支持强度为62%,说明该种可能属于热带种;3个热带种聚为两种类型,拔地拉(R1)和黑车里本(R2)为同一类型,在28bp处的位点为“T”,克林斯它林(R3)则为另一种类型,在28bp处的位点为“C”;3个印度种中的Mango(R4)与Naygori(R5)、Chunnee(R6)分别聚为两种类型,分别在21bp、83bp、166bp、205bp和410bp处存在位点差异,但均与热带种聚在同一个次级分支上,说明热带种和印度种具有较近的亲缘关系,该结果支持印度种是热带种的天然杂交种的观点^[1-3];割手密、大茎野生种和中国种聚为甘蔗属的另一个次级分支,其中,在4个中国种中,芦蔗(R7)聚为一种类型,竹蔗(R8)、草甘蔗(R9)和Uba(R10)则为另一种类型,在288bp处存在位点差异,但四者均与割手密和大茎野生种具有较近的亲缘关系,说明中国种可能是割手密或大茎野生种的天然杂交种。

与甘蔗属距离较近的是河王八属和蔗茅属,它们与甘蔗属具有较多相同的位点和较近的亲缘关系;同时,河王八属和蔗茅属聚在同一个分支,说明它们是甘蔗近缘属中亲缘关系较近的两个属。河王八属中的河王八种的4个个体,金猫尾种的1个个体(R32),蔗茅属中的蔗茅种3个个体(R40、R41和R42)和滇蔗茅种的2个个体(R37和R38)分别聚为4个独立的分支。然而,与传统的分类结果不同的是:河王八属中的金猫尾种与蔗茅属的蔗茅种聚在一起,而河王八种则与滇蔗茅种聚在另一个分支上,

且bootstrap检验值分别为78%和97%,具有较高的支持强度。因而,基于本实验结果,我们认为:有必要对河王八属和蔗茅属各自的分类构成作进一步的研究论证。

芒属和斑茅是距甘蔗属较远的2个大的分支,在芒属中,五节芒和芒各自的2个个体分为两种不同的类型;而作为参试个体最多的斑茅,是距甘蔗属距离最远的一个分支,12个个体中,除广东32号(R26)是一个特殊类型外(该种体细胞染色体仅为 $2n=20$),其他11个个体可分为两个明显的类型,R15~R18、R20为一种类型,R19、R21~R24、R27为另一种类型,该结果与细胞学分析结果较为一致,这两种类型的体细胞染色体分别为 $2n=40$ 和 $2n=60$ 。关于甘蔗属及其近缘属种的系统发育关系,特别是斑茅的分类地位在国内甘蔗界和植物学界一直没有统一,而在国外甘蔗界把它归为蔗茅属(*Erianthus*)已没有什么争议^[1-7]。从本研究的分析结果看,斑茅(*S. arundinaceum*或*E. arundinaceum*)具有其他属种所没有的特异位点,是距甘蔗属距离较远的一个独立分支;结合多年来对它们的形态学鉴定结果和染色体分析结果,我们初步认为:斑茅并不属于甘蔗属(*Saccharum*),但其是否属于蔗茅属(*Erianthus*),还是应当立为单种属,有待于进一步的研究探讨。

致谢: 本研究得到中国科学院昆明动物研究所细胞与分子进化开放研究实验室的施鹏、于黎、吕雪梅、禹一川、苟世康等的帮助,采样过程得到云南省甘蔗研究所王丽萍、马丽、夏红明等的帮助,特此致谢!

References

- [1] Peng S-G(彭绍光). Sugarcane Breeding(甘蔗育种). Beijing: China Agricultural Press, 1990. 7—62(in Chinese).
- [2] Daniels J, Roach B T. A taxonomic listing of *Saccharum* and related genera. *Sugar Cane*, 1997, 16—22
- [3] Tai P Y P, Miller J D, Legendre B L. Preservation of *Saccharum spontaneum* gemplasm in the world collection of sugarcane and related grasses through storage of true seed. *Sugar Cane*, 1999, 3: 4—10
- [4] Liao Z-Z(廖兆周), Tang M-D(唐明德), Jin Y-F(金玉峰). Peroxidase isozymes of *Saccharum, Arundinaceum* and their hybrids. *Acta Bot Sin*(植物学报), 1988, 30: 214—219
- [5] Zheng D-S(郑德森). Isozyme analysis on the relationships between *Saccharum* species and varieties. *Journal of Fujian Agricultural College*(福建农学院学报), 1989, 18: 163—167

- [6] Xiao F-H (萧凤回), Li F-S (李富生), He L-L (何丽莲). The comparable studies of isozyme and morphology among *A. runder-naceum* Retz. and several species of *Saccharum* and *Erianthus Sugarcane* (甘蔗), 1994, 1: 22—27
- [7] Chen P (成萍), Chen X-K (陈西凯). Study in the taxonomy of isozyme bands of Sichuan *S. spontaneum* L. and several sugarcane species *Journal of Southwest Agricultural University* (西南农业大学学报), 1989, 11: 372—377
- [8] Fan Y-H (范源洪), Cai Q (蔡青), Su B (宿兵), Zhang Y-P (张亚平). Effects of DNA extraction and purification processes on the RAPD results of six *Saccharinae* species *Southwest China Journal of Agricultural Sciences* (西南农业学报), 1999, 12: 1—7
- [9] Fan Y-H (范源洪), Chen H (陈辉), Shi X-W (史宪伟), et al. Analyses of *Saccharum spontaneum* L. from different ecosppecific colony in Yunnan *Acta Bot Yunnan* (云南植物研究), 2001, 23: 298—308
- [10] Chen H (陈辉), Fan Y-H (范源洪), Shi X-W (史宪伟), et al. Research on genetic diversity and systemic evolution in *Saccharum spontaneum* L. *Acta Agr Sin* (作物学报), 2001, 27: 645—652
- [11] Chen H (陈辉), Fan Y-H (范源洪), Xiangyu J-G (向余颈攻), et al. Analysis of genetic diversity and phylogeny in *Saccharum spontaneum* L. using RAPD markers *Biochemical Genetics*, 2003
- [12] Sreenivasan T V. *Sugarcane Varietal Improvement* Coimbatore: Sugarcane Breeding Institute Press, 1989. 177—192
- [13] Rao J T. *Sugarcane Varietal Improvement* Coimbatore: Sugarcane Breeding Institute Press, 1988. 83—114
- [14] Lu Z (刘忠), Wang X-Q (汪小全), Chen Z-D (陈之端), et al. The phylogeny of Schidandraceae inferred from sequence analysis of the nrDNA ITS region *Acta Bot Sin* (植物学报), 2000, 42: 758—761
- [15] Wang J-B (王建波), Zhang W-J (张文驹), Chen J-K (陈家宽). Application of ITS sequences of nuclear rDNA in evolutionary studies of angiosperms *Acta Phytotaxon Sin* (植物分类学报), 1999, 37(4): 407—414
- [16] Wang X-Q (汪小全), Deng Z-R (邓嵘嵘), Hong D-Y (洪德元). The systematic position of *Besleria*: evidence from ITS (nrDNA) sequence analysis *Acta Phytotaxon Sin* (植物分类学报), 1998, 36(5): 403—410
- [17] Kong H-Z (孔宏智), Chen Z-D (陈之端). Phylogeny in *Chloranthus Swartz* (Chloranthaceae) inferred from sequence analysis of nrDNA ITS region *Acta Bot Sin* (植物学报), 2000, 42: 762—764
- [18] Liu J-Q (刘建全), Chen Z-D (陈之端), Lu A-M (路安民). The phylogenetic relationships of an endemic genus *Sinodoxa* in the Qinghai-Xizang plateau: evidence from ITS sequence analysis *Acta Bot Sin* (植物学报), 2000, 42: 656—658
- [19] Hsiao C, Chatterton N J, Asay K H. Phylogenetic relationships of the monogenic species of the wheat tribe, Triticeae (Poaceae), inferred from nuclear rDNA (ITS) sequences *Theor Appl Genet*, 1995, 90: 389—398
- [20] DNASTAR. DNASTAR software USA: 1995, DNASTAR Inc
- [21] Swofford D L. PAUP*: Phylogenetic Analysis Using Parsimony (* and Other Methods). Version 4 USA: 1998, Sinauer, Sunderland, Massachusetts
- [22] Sudhir Kumar, Koichiro Tamura, Ingrid B. Jakobsen, Masatoshi Nei MEGA: Molecular Evolutionary Genetics Analysis, Version 2.0 USA: 2000, Pennsylvania State University, University Park, and Arizona State University, Tempe