

刚竹属3种重要散生竹光系统Ⅰ基因(*Lhca1*) 的克隆、序列分析和蛋白结构预测

唐文莉¹ 彭镇华^{1,2} 高 健¹

(1 国际竹藤网络中心, 国家林业局竹藤科学与技术重点开放实验室 2 中国林业科学研究院林业研究所)

摘要:光系统Ⅰ(PSⅠ)在植物光合系统中具有重要功能,*Lhca1*是编码PSⅠ复合物中最主要的捕光色素蛋白LHCⅠ的基因。该研究采用RT-PCR法,从毛竹中克隆了捕光叶绿素a/b结合蛋白基因*LhcaPe01*(GenBank EU035496)的全长,从红壳竹和角竹中克隆了长度分别为616、613 bp的捕光叶绿素a/b结合蛋白基因片段*LhcaH01*(GenBank EU513200)、*LhcaJ01*(GenBank EU513201)。运用生物信息学方法对其核苷酸序列、编码的氨基酸序列以及蛋白结构进行预测。结果表明,*LhcaPe01*基因序列从第39 bp开始到第779 bp含有1个开放阅读框和一个中止密码子,该基因全长1 051 bp,在5'端有38 bp的非编码区,在3'端含有242 bp的非编码区和Poly(A) 30 bp。对这3个基因的保守片段的序列分析表明,刚竹属3种竹种毛竹、红壳竹和角竹保守区内核酸序列同源性非常高,在禾本科内不同属之间毛竹与小麦序列同源性最高,玉米次之。编码的氨基酸序列同源性一致,最高是毛竹与小麦、水稻次之。经推测*LhcaPe01*编码的蛋白质等电点和分子量分别为5.400 0和22 107.34 D。蛋白质结构预测表明,毛竹、小麦、水稻、玉米的LHCⅠ蛋白结构非常相似。

关键词:毛竹;红壳竹;角竹;*Lhca1*;克隆;序列分析;结构预测

中图分类号:S718.3; S759 文献标识码:A 文章编号:1000-1522(2008)04-0109-07

TANG Wen-li¹; PENG Zhen-hua^{1,2}; GAO Jian¹. **Cloning and sequence analysis of the light harvesting complex Ⅰ gene(*Lhca1*) from three kinds of *Phyllostachys* and structure prediction of the protein.** *Journal of Beijing Forestry University*(2008)30(4) 109-115 [Ch, 16 ref.]

1 Key Laboratory of Bamboo and Rattan Science & Technology of State Forestry Administration, International Centre for Bamboo and Rattan, Beijing, 100102, P. R. China;

2 Research Institute of Forestry, Chinese Academy of Forestry, Beijing, 100091, P. R. China.

Light harvesting complex Ⅰ (LHC Ⅰ), is a chlorophyll a/b-binding protein, which plays a key role in plant photosynthesis. A full-length cDNA encoding *Lhca1* gene was cloned from the first strand of *Phyllostachys edulis* cDNA through RT-PCR method, named as *LhcaPe01* (GenBank EU035496). 616 bp cDNA fragment is cloned from the first strand of *P. iridescens* cDNA, named as *LhcaH01* (GenBank EU513200) and 613 bp cDNA fragment is cloned from the first strand of *P. fimbriiligula* cDNA, named as *LhcaJ01* (GenBank EU513201). The length of *LhcaPe01* is 1 051 bp, which contains an open reading frame encoding 249 amino acids from 39 to 779 positions and has 38 bp and 242 bp untranslated regions of 5' end and 3' end, respectively. There is a 30 bp Poly(A) in 3' end. The *pI* and *Mw* of protein encoded by *LhcaPe01* are predicted to be 5.400 0 and 22 107.34 D, respectively. The similarity of *LhcaPe01* DNA sequence and encoding amino acid sequence blast with barley is the highest in Gramineae family. In *Phyllostachys* genus, the *Lhca1* similarity of *P. iridescens*, *P. fimbriiligula* and *P. edulis* is more higher than that in Gramineae family. The prediction of the protein structure indicates that Moso bamboo, barley, rice and maize have high similarity.

收稿日期:2007-09-11

<http://www.bjfujournal.cn>, <http://journal.bjfu.edu.cn>

基金项目:“948”国家林业局引进项目(2005-4-38、2004-4-60)、“十一五”国家科技支撑计划课题(2006BAD19B0203)、国家人事部留学回国人员科技择优资助项目。

第一作者:唐文莉, 博士生。主要研究方向:竹子生物技术。电话:010-84789803 Email: tangwenli@icbr.ac.cn 地址:100102 北京朝阳区望京阜通东大街8号国际竹藤网络中心。

责任作者:高健, 研究员。主要研究方向:林木分子生理与遗传育种。电话:010-84789801 Email: gaojian@icbr.ac.cn 地址:同上。

Key words *Phyllostachys edulis*; *Phyllostachys iridescens*; *Phyllostachys fimbriatigula*; *Lhca1*; gene cloning; sequence analysis; structure prediction

绿色植物通过捕光叶绿素结合蛋白(LHC)接受太阳能,最终同化 CO₂。在高等植物中大部分的叶绿素分子都结合在光系统 I (PS I) 和光系统 II (PS II) 的天然色素蛋白复合物上。它由光能吸收、传递和转化所需要的一系列蛋白质和结合在这些蛋白上的色素分子及电子传递链组分组成。高等植物和绿藻的 PS I 复合物由 PS I 核心复合物(PS I-CC)和捕光色素蛋白复合体 I (LHC I) 两部分组成。真核生物的 PS I 复合物包括了一系列捕光色素蛋白即 LHC I, 它们结合大约 100 个叶绿素分子以增大捕光截面, 并且因为含有叶绿素 b(Chlb) 和类胡萝卜素而可以捕获光谱中不同波长的光, 现已知道 LHC I 蛋白由核基因编码, 在细胞质中合成后在引导肽的作用下被运输进叶绿体并整合到类囊体膜上^[1-2]。通常 LHC I 含有 4 种蛋白质: LHCA1、LHCA2、LHCA3 和 LHCA4。根据荧光发射波长的不同, LHC I 又分为 LHC I-730 和 LHC I-680 两部分, 其中 LHC I-730 是由 LHCA1 和 LHCA4 形成的异源二聚体; LHC I-680 由 LHCA3 和 LHCA2 形成的同源二聚体^[3-4]。PS I 在类囊体膜上起到被光驱动的质体蓝素-铁氧化还原蛋白氧化还原酶的作用^[5]。

PS I 相对于 PS II 在植物上的研究而言涉足较少, 高荣孚等^[6]曾对油松(*Pinus tabulaeformis*)上的光系统 I 进行了研究, 得到了在油松上存在两种光系统 I 的结论。在竹子上对两个光系统研究甚少, 目前只在丛生竹绿竹上克隆了 PS II 的 *Lhcb* 基因^[7-8], 而尚无我国目前利用最多、经济价值最高的毛竹(*Phyllostachys edulis*)等散生竹光合作用的分子生物学研究。

刚竹属(*Phyllostachys*)植物在我国有 50 余种, 在竹亚科(Bambusoideae)中是种类最多的属。除新疆、内蒙、东北、青海等地外, 全国各地均有自然分布或栽培。该属是竹类植物中较耐寒的类群, 成为我国北方地区发展竹类生产和园林绿化的主要栽培对象^[9]。

毛竹特产中国, 属禾本科(Gramineae)竹亚科刚竹属, 是中国竹林中分布范围最广、面积最大(占全国竹林总面积的 2/3 以上)、经济价值最高的竹种^[10]。同属中的红壳竹(*Phyllostachys iridescens*), 又名浙江淡竹, 耐寒, 耐盐碱, 为优良观笋竹种, 也是中国特有的笋用、材用、观赏竹种, 在中国分布较广, 人工栽培面积大^[11]。同属中的角竹(*Phyllostachys*

fimbriatigula), 发笋能力强, 笋味略苦, 加工罐头尤佳, 是著名的“晚熟”高产笋用竹, 经济价值甚高^[12]。毛竹的光合速率较高, 而红壳竹和角竹的光合作用尚无人进行研究。作为刚竹属的重要经济竹种, 提高其生长量和产笋量是竹林培育的目标, 而提高产量和出笋量的理论基础之一就是弄清光合机制。

本文从刚竹属中特选笋用竹、材用竹和笋材两用竹 3 个竹种来克隆光系统 I 基因。本研究首次从毛竹中克隆了光系统 I 基因的全长 *LhcaPe01* (GenBank EU035496), 从红壳竹和角竹中克隆了光系统 I 基因的片段 *LhcaH01* (GenBank EU513200) 和 *LhcaJ01* (GenBank EU513201), 同时应用生物信息学方法对毛竹的 LHC I 蛋白进行结构预测和分析, 为进一步研究毛竹高效光合作用的分子机制, 研究刚竹属竹种光合基因的特点, 研究禾本科内不同属间和同属内不同物种的亲缘关系等奠定了基础, 同时 *LhcaPe01*、*LhcaH01* 和 *LhcaJ01* 3 基因的克隆为研究 LHC I 家族基因在毛竹等刚竹属竹种中的功能提供了条件。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

植物材料为当年生毛竹实生苗, 当年生红壳竹和角竹移鞭苗。pGEM-T easy 载体(Promega); RNase A(TakaRa); Taq DNA 聚合酶(TakaRa); IPTG、X-gal、氨苄青霉素; cDNA 合成试剂盒(Clontech); Trizol RNA 提取试剂盒(Invitrogen)。

1.2 总 RNA 提取与 cDNA 合成

采用 Invitrogen 公司的 Trizol reagent 提取毛竹叶片总 RNA。严格按照 Promega 公司的反转录试剂盒合成 cDNA。采用 Clontech 公司的 SMARTTM RACE cDNA Amplification Kit 合成 5' 和 3' cDNA。

1.3 *Lhca1* 基因的克隆与测序

1.3.1 保守片段的克隆

引物 1 和 2 根据大麦(*Hordeum vulgare*) *Lhca1* 基因序列的保守区设计。

引物 1: 5'-AGCCCCGCCCCGCCATCT-3'

引物 2: 5'-ATCGCCAGCCGCCCCGTTCTTGA-3'

以毛竹 cDNA 为模版, 进行梯度 PCR。引物 1 和 2 反应条件为 94℃, 预变性 5 min; 94℃, 1 min; 64~70℃, 1 min; 72℃, 2 min, 35 个循环; 72℃延伸 10 min。回收 PCR 产物, 取 5 μL 回收的 DNA 片段连接到 T-easy 载体上, 转化大肠杆菌(*Escherichia coli*) DH 5α

菌株,蓝白斑筛选,质粒提取,酶切鉴定片段大小后进行测序鉴定。

根据毛竹 *Lhca1* 基因序列设计引物(数据略),扩增红壳竹和角竹的 *Lhca1* 基因序列。

1.3.2 5'和3'端的克隆和测序

引物3根据上面扩增出的片段序列和 RACE 试剂盒引物的要求重新设计,均由上海生工合成。引物3: 5'-AGTTCGTCGCCATCGCCTTCGCGGAGCA-3', 引物3应用于3'端扩增,反应条件为: 94℃, 30 s; 72℃, 3 min, 5个循环; 94℃, 30 s; 70℃, 30 s; 72℃, 3 min, 5个循环; 94℃, 30 s; 68℃, 30 s; 72℃, 3 min, 25个循环。

引物2用于5'端扩增,反应条件为: 94℃, 30 s; 68℃, 30 s; 72℃, 3 min, 30个循环。UPM (10 × Universal A Mix) 和 NUP(Nested Universal Primer A) 为 RACE 所带的通用引物。

PCR 产物电泳分析后用上海申能博采生物回收试剂盒回收目的片段 DNA, 采用 Promega 连接试剂盒, 连接 16~18 h。取 5 μL 连接产物加入 45 μL 的感受态细胞中, 1 800 V 电击转化, 用 500 μL SOC 洗转化杯, 转入 1.5 mL 离心管中 37℃ 水浴 30 min。取 200 μL 液体涂于 LB 平板 + AMP^r 中, 放入 37℃ 培养箱过夜。经蓝白斑筛选, 挑蓝斑附近的单菌落白斑, 放入 5 mL LB 液体培养基 + AMP^r, 37℃, 180 r/min, 摇菌 16~18 h。收取菌液装满 1.5 mL 离心管, 提取质粒, 8 000 r/min, 1 min, 弃上清。加溶液 I 100 μL/管, 剧烈震荡, 混匀, 加溶液 II 200 μL/管, 轻轻混匀, 冰浴 5 min, 加入溶液 III, 150 μL/管, 混匀, 冰浴 5 min, 13 000 r/min, 离心 5 min, 上清转入新管中, 加 2 倍体积无水乙醇混匀, -20℃ 沉淀 20~30 min, 13 000 r/min, 离心 5 min, 弃上清, 沉淀加 1 mL 70% 乙醇洗涤, 13 000 r/min, 离心 5 min, 弃上清, 晾干, 加 30 μL 超纯水溶解^[13]。质粒经 *EcoR* I 酶切图谱分析后, 进行测序鉴定。

1.4 软件

DNASar; GENEDOC; MatchCode; Primer Premier 5.0; Cluster W; Rasmol Version 2.7.0.1。

2 结果与分析

2.1 基因保守片段的克隆与分析

设计的引物 1、2 从毛竹 cDNA 中扩增出大小约 400 bp 的 DNA 片段(图 1A), 对其进行酶切分析得到(图 1B)。

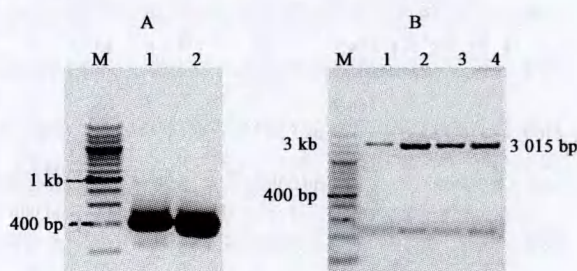


图 1 RT-PCR 产物和 *EcoR* I 酶切产物电泳检测

FIGURE 1 Gel electrophoresis of RT-PCR products and *EcoR* I digested products

注: 图 1 A 中 1 和 2 泳道均是 RT-PCR 产物, B 中 4 个泳道均是 20 μL *EcoR* I 酶切产物。M: 200 bp。

从红壳竹和角竹的 cDNA 中扩增出大小分别为 616 和 613 bp 的 DNA 片段(图略), 并经酶切验证。得到基因 *Lhca* H01 (GenBank EU513200) 和 *Lhca* J01 (GenBank EU513201)。

2.2 5'和3'端 RACE 扩增与分析

为获得毛竹基因的全长, 分别设计了 5'和 3'引物, 并利用 RACE 试剂盒所带的通用引物 UPM 和 NUP, 配对进行扩增(图 2A、B), 分别得到大小约 600 bp 的产物。对它们进行酶切分析验证(图 2C、D), 与目的片段完全吻合。

2.3 cDNA 全长的克隆与序列分析

通过对 5'和 3'端基因片段序列的拼接获得了一

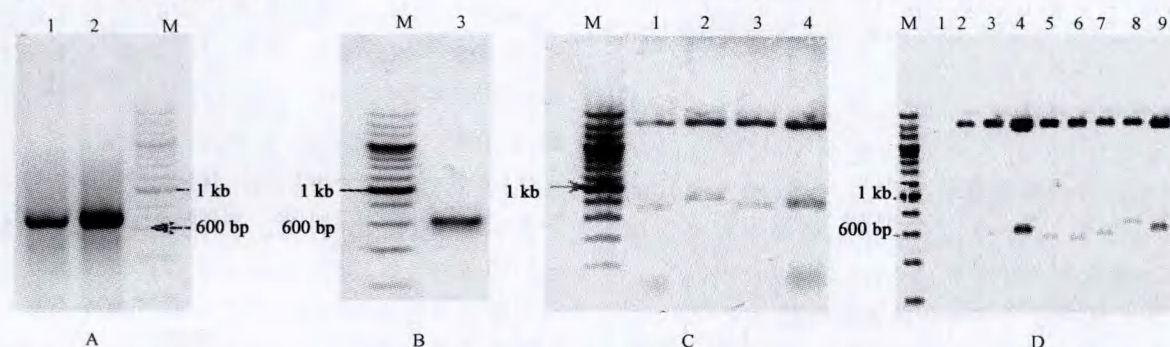
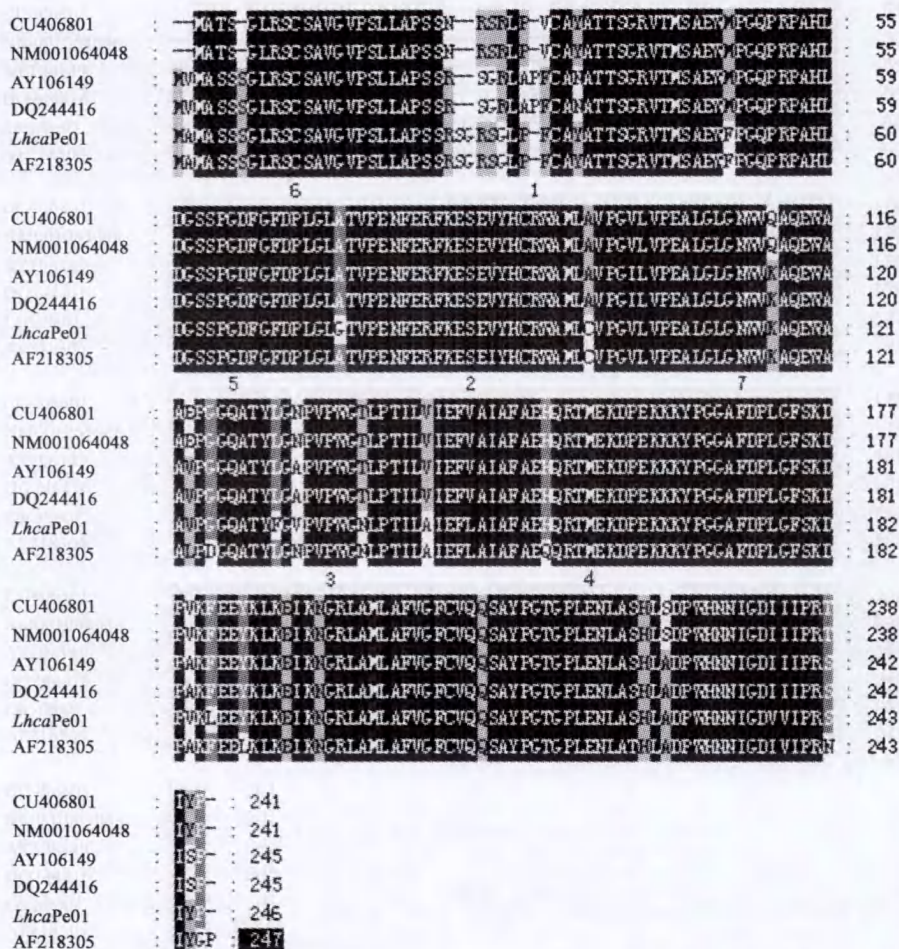
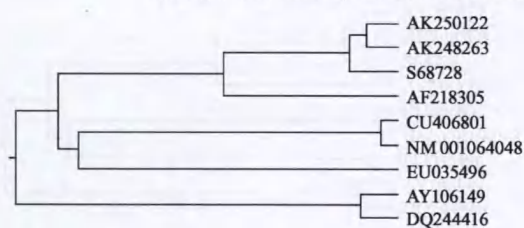


图 2 5'和 3'末端 RACE-PCR 产物以及 *EcoR* I 酶切产物电泳

FIGURE 2 Gel electrophoresis of RACE-PCR products and *EcoR* I digested products of 5' end and 3' end

注: A 两个泳道均为 5' RACE-PCR 产物, C 中泳道 1 为 5' RACE 酶切结果,

D 中泳道 4 和 9 为 3' RACE 酶切结果。M 为 200 bp。

图 4 毛竹 *LhcaPe01* 基因编码的氨基酸与禾本科其他属物种的 *Lhca* 家族基因编码的氨基酸序列多序列比较FIGURE 4 Multiple sequence alignments of amino acids deduced by *LhcaPe01* gene of *P. edulis* and *Lhca* genes of other plants in Gramineae family注: 基因库登录号为 *Oryza rufipogon*: CU406801; *Oryza sativa*: NM001064048;*Zea mays*: AY106149, DQ244416; *Horedeum vulgare*: AF218305, AK250122, AK248263, S68728。图 5 同此。图 5 毛竹 *LhcaPe01* 基因与其他植物的 *Lhca1* 系统树分析FIGURE 5 Phylogenetic tree analysis of *LhcaPe01* of*P. edulis* and *Lhca1* from different plants

的两个 4Fe-4S 铁还原氧化蛋白的信号区, 为 4Fe-4S 铁还原氧化蛋白的信号区(4Fe-4S ferredoxins); 方框 3 和 4 为两个 2Fe-2S 铁还原氧化蛋白的信号区(2Fe-2S ferredoxins); 方框 5、6、7 和 8 为 4 个过敏毒素域信号(Anaphylatoxin domain signature); 方框 9 和 10 为两个 EGF-like 域信号(EGF-like domain signature 1); 方框 11 为 C 端胱氨酸结信号(C-terminal cystine knot signature)。显然, 毛竹与模式植物不同。

利用原始的序列分析, 花样搜寻和蛋白折叠识别来比较蛋白结构模型是一种准确的结构预测方

法^[15-16]。图 6 中深灰色所示为红壳竹与毛竹不同的蛋白位点; 方框 A、B、C、D 4 个螺旋区域是较大保守蛋白折叠区, 其中浅灰色表示潜在的配体叶绿素(potential Chl ligands)和保守的色素结合位点(conserved pigment-binding sites)。对蛋白二级结构的组成进行分析, 得出表 2。

表 2 毛竹、大麦、水稻和玉米 LHC I 分子二级结构组成

TABLE 2 Components of LHC I protein secondary structure from Moso bamboo, barley, rice and maize

	毛竹	大麦 (AK248263)	水稻 (NM001064048)	玉米 (AY106149)
氢键	252	251	261	251
螺旋	19	20	18	19
链	6	8	8	6
转角	42	42	43	42

从表 2 中可以看出禾本科的毛竹、大麦、水稻和玉米的 LHC I 蛋白分子的二级结构组成相似。

根据 SWISS MODEL (<http://swissmodel.expasy.org/SWISS-MODEL.html>) 预测和模拟, 以软件中自动生成的最优化的菠菜 1rwfF 结构为模板, 得出毛竹、

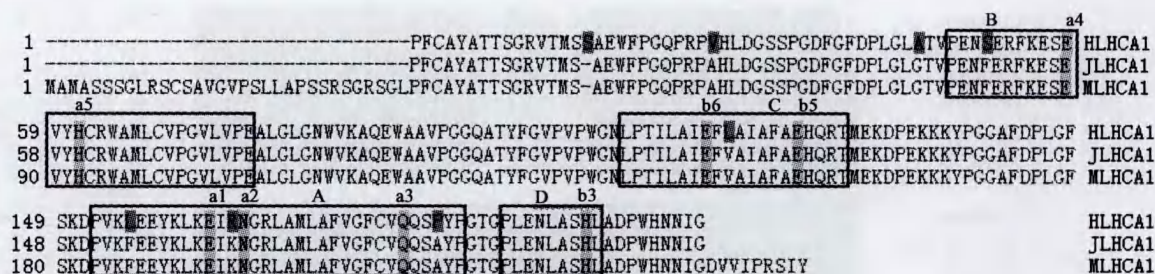


图6 毛竹 *Lhca*Pe01 基因编码的氨基酸与同属内其他竹种的 *Lhca*1 家族基因编码的氨基酸序列多序列比较

FIGURE 6 Multiple sequence alignment of amino acids deduced by *P. edulis*'s *Lhca*Pe01

and *Lhca*1 sequences of other plants in the same genus

注:HLHCA1、JLHCA1 和 MLHCA1 分别为红壳竹、角竹和毛竹。

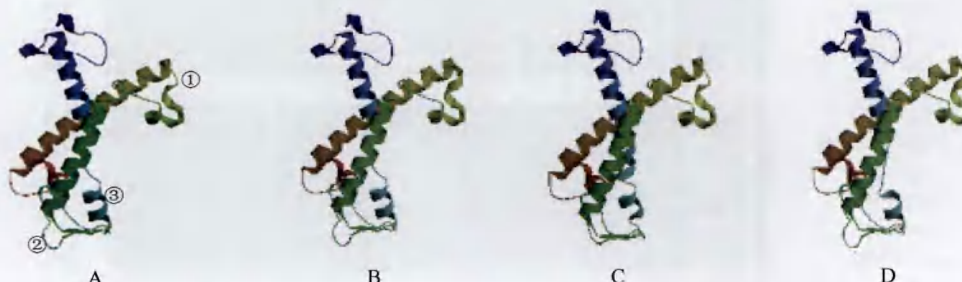


图7 毛竹、大麦、水稻和玉米 LHC I 分子蛋白三维结构

FIGURE 7 Tertiary protein structure of LHC I from Moso bamboo, barley, rice and maize

大麦、水稻和玉米(A、B、C、D) *Lhca*1 基因编码的蛋白模型(图7)。

从图7的A、B、C和D中可以看出4者具有非常相似的结构,但如图7A所标示区域①、②的转角和③的螺旋区内有所不同,①区毛竹与水稻相同,②区毛竹与大麦、玉米相同,③区毛竹与大麦相同。整体来说,在这4种物种中毛竹 *LHCA*1 蛋白模型与大麦的相似性最高,这与图4中氨基酸序列比对结果一致。

3 结论与讨论

通过 Blast 软件分析,在 NCBI 核酸数据库中,与毛竹 *Lhca*1 序列相似性最高的是大麦,且相似性前3位分别为大麦、玉米和水稻。在蛋白数据库中,与毛竹 *Lhca*1 编码的氨基酸序列同源性最高的也是大麦,然后是水稻。这为利用同源基因的进化来推断禾本科各属间的进化关系提供了依据,也为今后毛竹光合作用的研究提供了适宜的借鉴对象。同时,对刚竹属3竹种红壳竹、毛竹和角竹进行保守区内同源性比对,得出它们的同源性非常高,红壳竹与毛竹和角竹的同源性分别为98.1%和98.9%,而毛竹和角竹的同源性高达99.7%。这说明禾本科内物种的 *Lhca*1 基因相当保守,属内同源性高于属间同源性。

对推导出的氨基酸序列进行比对,得出了和核

酸序列比对相一致的结论。在不同属之间,毛竹与大麦相似性最高,在属内毛竹和角竹同源性100%。

蛋白分子结构特征在研究蛋白功能、进行分子设计中具有重要作用,近年来随着基因组学、蛋白质组学相继兴起,数以万计的蛋白质分子三维结构等待解析,但是蛋白质分子结构测定有相当难度。利用已经解析的研究光合捕光蛋白的模式植物菠菜的蛋白结构来预测毛竹等的蛋白结构,将有助于对毛竹这一蛋白结构和功能特征的理解。

*LHCA*1 家族的蛋白三维结构比原始序列更加保守,*LHCA*1 基础同源的3D结构被用来预测 LHC I 蛋白的结构特色,对 PS I-LHC I 复合物外围捕光组织的结构功能的理解是非常重要的^[16]。根据 ExPasy 中的 SWISS MODEL 预测和模拟,毛竹、大麦、水稻和玉米 *Lhca*1 基因编码的蛋白模型大体相同,只是某些局部区域有差别,这些差别可能导致各物种在光合功能上的不同,这需要进一步研究。

在拟南芥中 *Lhca*1、*Lhca*2、*Lhca*3 和 *Lhca*4 基因都是以单拷贝形式存在于基因组中,以二聚体形式单独地结合 PS I。竹子中 *Lhca*1 基因以何种形式结合在 PS I 上,有待深入研究。

Lhca Pe01、*Lhca* H01 和 *Lhca* J01 基因的克隆将为在分子水平上揭示 PS I 的功能及其基因表达调控的研究提供基础;光合生物对光能的吸收、传递和转化都是在光合膜上具有一定的分子排列和空间构象

的色素蛋白复合体上进行的,在分子水平上揭示各种膜蛋白复合体的结构与功能及其相互关系对于揭示光合作用光能转化的机理具有重要意义。

参 考 文 献

- [1] 陈伟,阳振乐,李良璧,等. Triton X-100 对 70℃ 处理后光系统 I 颗粒耗氧速率的影响[J]. 植物生理与分子生物学学报, 2005, 31(3): 298-304.
CHEN W, YANG Z L, LI L B, *et al.* Effects of Triton X-100 on the oxygen uptake rate of photosystem I particles treated at 70℃ [J]. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*, 2005, 31(3): 298-304.
- [2] 郁飞,唐崇钦,辛越勇,等. 光系统 I (PS I) 的结构与功能研究进展[J]. 植物学通报, 2001, 18(3): 266-275.
YU F, TANG C Q, XIN Y Y, *et al.* Progress in the structural and functional study of photosystem I [J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2001, 18(3): 266-275.
- [3] WALTER R G, HORTON P. Structural and functional heterogeneity in the major light-harvesting complexes of higher plants [J]. *Photosynthesis Research*, 1999, 61: 77-89.
- [4] 郭军伟,魏慧敏,吴守锋,等. 低温对水稻类囊体膜蛋白磷酸化及光合机构光能分配的影响[J]. 生物物理学报, 2006, 22(3): 197-202.
GUO J W, WEI H M, WU S F, *et al.* Effects of low temperature on the distribution of excitation energy in photosystem and the phosphorylation of thylakoid membrane proteins in rice [J]. *Acta Biophysica Sinica*, 2006, 22(3): 197-202.
- [5] CHITNIS P R. Photosystem I: Function and physiology [J]. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 2001, 52: 593-626.
- [6] 高荣孚,郑彩霞,童年,等. 高等植物光系统 I 的研究——叶绿体中存在两种光系统 I [J]. 北京林业大学学报, 1997, 19(1): 13-20.
GAO R F, ZHENG C X, TONG N, *et al.* Photosystem I of higher plants (I)—two populations of PS I in chloroplasts [J]. *Journal of Beijing Forestry University*, 1997, 19(1): 13-20.
- [7] 高志民,李雪平,岳永德,等. 绿竹 *cab-B02* 基因的克隆及其表达载体的构建[J]. 分子植物育种, 2007, 5(3): 1-5.
GAO Z M, LI X P, YUE Y D, *et al.* Cloning and construction of expression vector of *cab-B02* gene encoding the light harvesting chlorophyll a/b-binding protein in bamboo [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2007, 5(3): 1-5.
- [8] 高志民,李雪平,彭镇华,等. 竹子捕光叶绿素 a/b 结合蛋白基因全长的克隆和序列分析[J]. 林业科学, 2007, 43(3): 34-38.
GAO Z M, LI X P, PENG Z H, *et al.* Cloning and characterization of a full-length gene encoding the light harvesting chlorophyll a/b-binding protein in bamboo [J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 2007, 43(3): 34-38.
- [9] 黄启民,杨迪蝶,高爱新,等. 不同条件下毛竹光合作用的研究[J]. 竹类研究, 1989(2): 8-18.
HUANG Q M, YANG D D, GAO A X, *et al.* Study on the photosynthesis of *Phyllostachys pubescence* in the different conditions [J]. *Bamboo Research*, 1989(2): 8-18.
- [10] 高素萍,任艳军,陈其兵. 刚竹属 (*Phyllostachys*) 23 个观赏竹种间亲缘关系的 RAPD 分析[J]. 园艺学报, 2006, 33(3): 566-570.
GAO S P, REN Y J, CHEN Q B. RAPD analysis of genetic relationships among the 23 ornamental bamboo species in *Phyllostachys* [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2006, 33(3): 566-570.
- [11] 徐道旺,杨金满,邱章忠. 红壳竹笋用林竹鞭的生长结构及其分布[J]. 林业科技开发, 2004, 18(6): 23-25.
XU D W, YANG J M, QIU Z Z. Study on the bamboo rhizome structure and distribution of *Phyllostachys meyeri* for bamboo shoot [J]. *China Forestry Science and Technology*, 2004, 18(6): 23-25.
- [12] 文兰,高健,李雪平,等. 快速微量提取竹子叶片 DNA 的方法[J]. 世界竹藤通讯, 2005, 3(4): 18-20.
WEN L, GAO J, LI X P, *et al.* A rapid method for isolation DNA from small amount leave of bamboo [J]. *World Bamboo and Rattan*, 2005, 3(4): 18-20.
- [13] SAMBROOK J, FRITSCH E F, MANIATIS T. 分子克隆实验指南[M]. 3 版. 黄培堂,译. 北京: 科学出版社, 2002: 27-28.
SAMBROOK J, FRITSCH E F, MANIATIS T. *Molecular cloning: A laboratory manual* [M]. 3rd ed. HUANG P T, tran. Beijing: Science Press, 2002: 27-28.
- [14] TERAMOTO H, ONO T, MINAGAWA J. Identification of *Lhcb* gene family encoding the light-harvesting chlorophyll-a/b protein of photosystem II in *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. *Plant Cell Physiol*, 2001, 42(8): 849-856.
- [15] TOKUTSU R, TERAMOTO H, TAKAHASHI Y, *et al.* The light-harvesting complex of photosystem I in *Chlamydomonas reinhardtii*: Protein composition, gene structures and phylogenetic implications [J]. *Cell Physiology*, 2004, 45(2): 138-145.
- [16] ALEXANDER N, MELKOZERNOV R E B. Structural and functional organization of peripheral light-harvesting system in photosystem I [J]. *Photosynthesis Research*, 2005, 85: 33-50.

(责任编辑 赵 勃)