

肖 政, 苏家乐, 刘晓青, 等. 杜鹃花种质资源遗传多样性的 SRAP 分析[J]. 江苏农业学报, 2016, 32(2): 442-447.
doi:10.3969/j.issn.1000-4440.2016.02.031

杜鹃花种质资源遗传多样性的 SRAP 分析

肖 政, 苏家乐, 刘晓青, 李 畅, 何丽斯, 陈尚平

(江苏省农业科学院园艺研究所/江苏省高效园艺作物遗传改良重点实验室, 江苏 南京 210014)

摘要: 采用 SRAP 分子标记分析了 30 个杜鹃花物种的遗传多样性。20 对引物共检测到 306 个位点, 平均每对引物扩增出 15.3 个位点, 多态位点百分率为 100%。物种水平的 Nei's 基因多样性指数(H)为 0.352, Shannon's 信息指数(I)为 0.525, 相似系数在 0.543 至 0.761 之间, 表明参试的 30 份杜鹃花材料具有较高的遗传多样性。主坐标分析(PCA)结果和 UPGMA 法构建的系统树显示, 30 份杜鹃花材料可分为 5 类, 其中云锦杜鹃和光枝杜鹃、井冈山杜鹃和皱叶杜鹃、迎红杜鹃和兴安杜鹃、露珠杜鹃和大果杜鹃分别聚为一组, 结果与基于表型特征的分类基本一致, 表明 SRAP 标记具有较准确的鉴别能力, 是进行杜鹃花属植物遗传多样性分析的有效分子标记。

关键词: 杜鹃花属; 序列相关扩增多态性; 遗传多样性; 主坐标分析

中图分类号: S759.95

文献标识码: A

文章编号: 1000-4440(2016)02-0442-06

SRAP analysis of genetic relationships among *Rhododendron* species

XIAO Zheng, SU Jia-le, LIU Xiao-qing, LI Chang, HE Li-si, CHEN Shang-ping

(Institute of Horticulture, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences/Jiangsu Key Laboratory for Horticultural Crop Genetic Improvement, Nanjing 210014, China)

Abstract: Genetic diversity across 30 species of *Rhododendron* was analyzed using SRAP molecular markers. A total of 306 polymorphic bands were generated using 20 pairs of SRAP primers and the polymorphism percentage was 100%. Each pair of primers generated 15.3 bands on average. At the species level, Nei's gene diversity (H) was 0.352, Shannon's information index (I) was 0.525 and the similarity coefficient ranged from 0.543 to 0.761, indicative of a high genetic diversity among 30 species. Principal component analysis and the unweighted pair group method with arithmetic mean (UPGMA) cluster analysis reveal that the 30 species were divided into 5 groups. *R. fortunei* Lindl. and *R. haoful* Chun et Fang, *R. jinggangshanicum* Tam and *R. denudatum* Levl., *R. mucronulatum* Turcz. and *R. dauricum* L., *R. irroratum* Franch and *R. sinonuttallii* Balf. f. et Forrest were clustered together, respectively, consistent with the classification based on phenotypic characteristic. The result suggests that the SRAP is an effective molecular marker to analyze the *Rhododendron* genetic diversity.

Key words: *Rhododendron*; SRAP; genetic diversity; principal coordinates analysis

收稿日期: 2015-07-29

基金项目: 国家科技支撑计划项目(2013BAD01B070403); 江苏省自然科学基金项目(BK20150548、BK2012789); 江苏省农业科技自主创新项目[CX(13)2016]

作者简介: 肖 政(1984-), 男, 福建三明人, 博士, 助理研究员, 主要从事花卉遗传育种研究。

通讯作者: 苏家乐, (E-mail) suj166@yahoo.com.cn

杜鹃花属(*Rhododendron*)是杜鹃花科中最大的属, 全世界约有 960 种, 广泛分布于欧洲、亚洲、北美洲, 主产于东亚和东南亚, 形成本属的 2 个分化中心。中国约有杜鹃花 542 种, 除新疆、宁夏外各地均有, 但集中在华南、西南^[1]。SRAP (Sequence-related amplified polymorphism) 标记是基于 PCR 技术的一

种新型分子标记,通过对开放阅读框进行扩增,因不同个体或物种的内含子启动子及间隔区长度不同而产生多态性,该标记具有操作简单、成本低廉、重复性好、便于克隆等优点,目前已经广泛应用于丹参 (*Salvia miltiorrhiza* Bunge.)^[2]、辣椒 (*Capsicum annuum* L.)^[3]、欧洲油菜 (*Brassica napus* L.)^[4]、梨 (*Pyrus* L.)^[5] 等植物的遗传多样性、比较基因组学、基因定位、遗传图谱构建和杂种优势预测等方面的研究及园艺植物遗传图谱构建、遗传多样性分析和比较基因组学等研究中^[6]。目前,杜鹃花属植物的系统发育研究绝大部分是基于 nrDNA ITS 序列分析^[7-9]。Iqbal 等用 RAPD 标记研究了 13 种杜鹃花的遗传关系^[10]。金则新等采用 ISSR 分子标记研究了 5 个云锦杜鹃自然居群和 5 个美容杜鹃野生种群的遗传多样性^[11]。而关于 SRAP 标记在杜鹃花属植物的应用还停留在 SRAP-PCR 反应体系优化的初步研究阶段^[11-14],缺乏进一步利用 SRAP 标记对杜鹃花属物种间遗传多样性的分析。

本研究将应用 SRAP 技术对杜鹃花种质资源的遗传多样性和亲缘关系进行分析,旨在探索 SRAP 分子标记应用于杜鹃花属物种亲缘关系、系统发育和分类学等研究中的可行性,为杜鹃花种质资源的保存、评价、创新及分子标记的开发利用提供理论依据和技术支持。

1 材料与方法

1.1 材料

试验材料采自江苏省农业科学院杜鹃花种质资源圃(表 1),随机选取同一物种 3 株不同植株上的嫩叶等量混合,提取基因组 DNA,样品于 -80 °C 冰箱保存。引物由北京鼎国公司合成。

1.2 DNA 的提取

采用改良的 CTAB 法提取杜鹃花基因组 DNA,在 CTAB 提取液中加 2% 的 PVP 和 1% 的巯基乙醇,用氯仿/异戊醇抽提 2 次。用 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 质量,用 NanoDrop ND-2000 核酸测定仪检测 DNA 的浓度和纯度。将 DNA 浓度调至 200 ng/μl,于 -20 °C 冰箱内保存备用。

1.3 PCR 扩增与引物筛选

依据 Li 等^[15]提出的 SRAP 引物原则设计正、反向引物各 9 条,随机选取 5 个试材为 DNA 模板,进行 SRAP 引物组合的多态性筛选。从 81 对引物组合

表 1 供试材料

Table 1 Experimental materials

序号	名称	学名	原产地
1	白花杜鹃	<i>Rhododendron mucronatum</i> (Blume) G. Don	江西
2	云锦杜鹃	<i>R. fortunei</i> Lindl.	陕西
3	川西杜鹃	<i>R. sikangense</i> Fang	四川
4	百合花杜鹃	<i>R. liliiflorum</i> Levl.	贵州
5	江西杜鹃	<i>R. kiangsiense</i> Fang	江西
6	猴头杜鹃	<i>R. simiarum</i> Hance	江西
7	桃叶杜鹃	<i>R. annae</i> Franch.	贵州
8	光枝杜鹃	<i>R. haoful</i> Chun et Fang	江西
9	井岗山杜鹃	<i>R. jinggangshanicum</i> Tam	江西
10	毛棉杜鹃	<i>R. moulmainense</i> Hook.	江西
11	溪畔杜鹃	<i>R. rivulare</i> Hand.-Mazz.	广西
12	皱叶杜鹃	<i>R. denudatum</i> Levl.	四川
13	黄山杜鹃	<i>R. maculiferum</i> Franch.	安徽
14	红滩杜鹃	<i>R. chihsinianum</i> Chun et Fang	广西
15	睫毛杜鹃	<i>R. ciliicalyx</i> Franch.	云南
16	背绒杜鹃	<i>R. hypoblematosum</i> Tam	江西
17	迎红杜鹃	<i>R. mucronulatum</i> Turcz.	内蒙
18	兴安杜鹃	<i>R. dauricum</i> L.	内蒙
19	云南杜鹃	<i>R. yunnanense</i> Franch.	云南
20	鹿角杜鹃	<i>R. latoucheae</i> Franch.	江西
21	马银花	<i>R. ovatum</i> (Lindl.) Planch. Ex Maxim	浙江
22	碎米花	<i>R. scabrifolium</i> Franch.	贵州
23	映山红	<i>R. simsii</i> Planch.	江苏
24	长蕊杜鹃	<i>R. stamineum</i> Franch.	安徽
25	刺毛杜鹃	<i>R. championae</i> Hook.	广东
26	羊躑躅	<i>R. molle</i> (Blum) G. Don	江苏
27	糙叶杜鹃	<i>R. scabrifolium</i> Franch.	四川
28	露珠杜鹃	<i>R. irroratum</i> Franch	云南
29	大果杜鹃	<i>R. sinonuttallii</i> Balf. f. et Forrest	云南
30	大字杜鹃	<i>R. schlippenbachii</i> Maxim	辽宁

中筛选出 20 对扩增条带清晰、多态性条带较多、重复性好的引物(表 2),用于杜鹃花种质的 SRAP-PCR 反应。

表 2 SRAP 扩增引物

Table 2 Primers for SRAP amplification

引物组合	正向引物(5'→3')	反向引物(5'→3')
M1/E1	TGAGTCCAAACCGGATA	GACTGCGTACGAATTAAY
M1/E2	TGAGTCCAAACCGGATA	GACTGCGTACGAATTYAA
M1/E3	TGAGTCCAAACCGGATA	GACTGCGTACGAATTCAR
M1/E4	TGAGTCCAAACCGGATA	GACTGCGTACGAATTTGM
M2/E1	TGAGTCCAAACCGGAGC	GACTGCGTACGAATTAAY
M2/E6	TGAGTCCAAACCGGAGC	GACTGCGTACGAATTGYC
M2/E7	TGAGTCCAAACCGGAGC	GACTGCGTACGAATTAYT
M2/E8	TGAGTCCAAACCGGAGC	GACTGCGTACGAATTAYC
M3/E1	TGAGTCCAAACCGGART	GACTGCGTACGAATTAAY
M3/E2	TGAGTCCAAACCGGART	GACTGCGTACGAATTYAA
M3/E5	TGAGTCCAAACCGGART	GACTGCGTACGAATTCSA
M3/E6	TGAGTCCAAACCGGART	GACTGCGTACGAATTGYC
M4/E5	TGAGTCCAAACCGGACC	GACTGCGTACGAATTCSA
M4/E8	TGAGTCCAAACCGGACC	GACTGCGTACGAATTAYC
M5/E1	TGAGTCCAAACCGGAYG	GACTGCGTACGAATTAAY
M5/E2	TGAGTCCAAACCGGAYG	GACTGCGTACGAATTYAA
M5/E7	TGAGTCCAAACCGGAYG	GACTGCGTACGAATTAYT
M6/E1	TGAGTCCAAACCGGTGC	GACTGCGTACGAATTAAY
M8/E6	TGAGTCCAAACCGGTRC	GACTGCGTACGAATTGYC
M9/E1	TGAGTCCAAACCGGAYT	GACTGCGTACGAATTAAY

根据预试验结果,确定 SRAP 反应体系为:10× Buffer 缓冲液 2 μl、1.5 mmol/L Mg^{2+} 、0.2 mmol/L dNTP、0.5 μmol/L 引物、1.5 U *Taq* 酶、100 ng DNA、无菌水补足到 20 μl。PCR 扩增程序为:94 ℃ 预变性 5 min;前 5 个循环为 94 ℃ 1 min,35 ℃ 80 s,72 ℃ 1 min;后 35 个循环将复性温度提高到 54 ℃,最后 72 ℃ 延伸 10 min,4 ℃ 保存。PCR 产物用 Gelred 核

酸染料染色,用 2% 琼脂糖凝胶于 5 V/cm 电压下电泳 60 min,电泳结果采用凝胶成像系统拍照保存。

1.4 数据分析

采用 20 对引物进行杜鹃花 SRAP-PCR 反应,每个样品重复 3 次。凝胶上清晰可辨的条带全部用于统计分析,按扩增条带有无计数,有条带记为 1,没有条带或模糊不清的记为 0,将结果输入 Excel 表格,得到 0 和 1 组成的原始矩阵。采用 POPGEN1.32 软件计算多态性位点百分比(*PPL*)、*Nei*'s 基因多样性指数(*H*)、遗传相似系数(*H_s*)、*Shannon*'s 信息指数(*I*)和有效等位基因数(*N_e*)。用 NTSYS-pc2.10e 软件进行计算分析,按照 *Nei* 等的方法^[16],用 UPGMA (Unweighted pair group method using arithmetic averages) 法对得到的遗传相似系数矩阵进行聚类分析,并进行基于遗传相似系数的主坐标分析 (Principal coordinates analysis, PCA)。

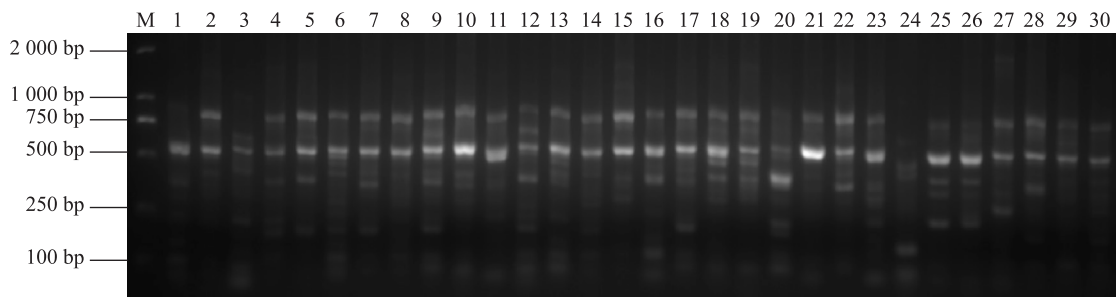
2 结果与分析

2.1 SRAP-PCR 扩增片段多态性

用 20 对 SRAP 引物对 30 份杜鹃花材料分别进行 PCR 扩增,得到不同的引物扩增指纹图谱, DNA 片段大小为 100~2 000 bp(图 1)。20 对 SRAP 引物总共检测到 306 个标记位点,其中引物 M4/E8 和 M9/E1 扩增条带最多,为 20 条,引物 M2/E7 扩增条带最少,为 10 条,平均每对引物可检测出 15.3 个标记位点。所检测到的位点均具有多态性,多态性条带占总条带比率为 100%。

2.2 杜鹃花物种的遗传多样性

利用 POPGENE 软件对试验数据进行统计分析,30 份杜鹃花材料的遗传相似系数介于 0.543 和 0.761 之间,其中云锦杜鹃和光枝杜鹃的遗传相似



M: DNA marker; 1~30 为供试材料见表 1。

图 1 SRAP 引物 M2/E7 扩增杜鹃花材料

Fig.1 SRAP analysis of *Rhododendron* species with primer M2/E7

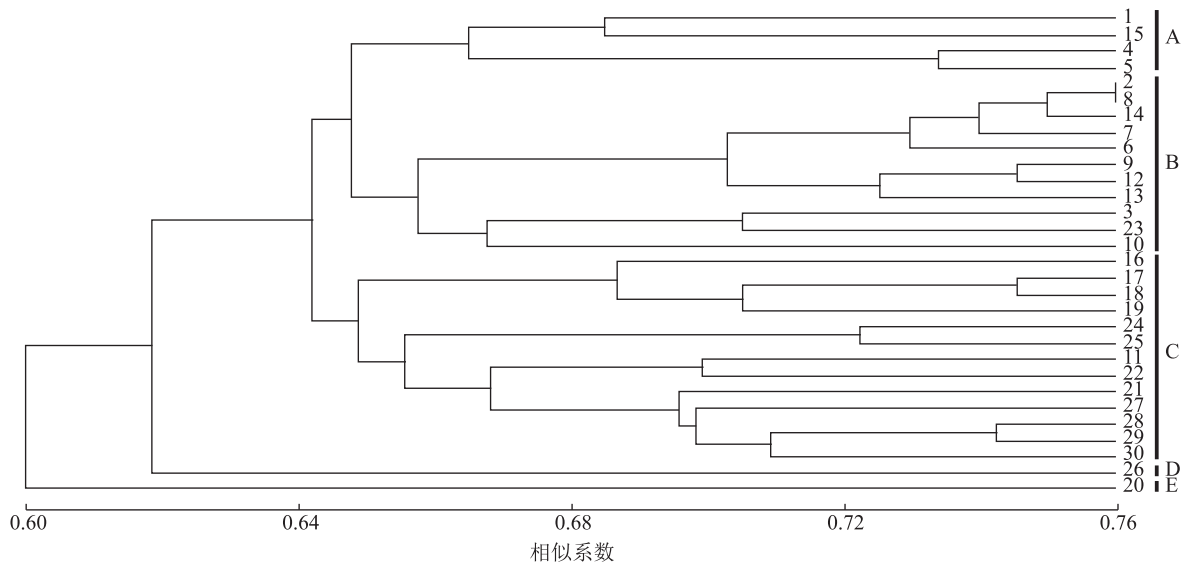
系数最高,为 0.761,亲缘关系最近;其次是红滩杜鹃和云锦杜鹃,遗传相似系数为 0.758;而鹿角杜鹃与背绒杜鹃遗传相似系数最小,为 0.543,亲缘关系最远。30 份杜鹃花材料平均有效等位基因数(N_e)为 1.605, Nei's 基因多样性指数(H)为 0.352, Shannon's 信息指数(I)为 0.525。

2.3 杜鹃花物种的聚类分析及主坐标分析

根据 SRAP 标记数据计算种质材料间的遗传相似系数矩阵,采用 UPGMA 法构建 30 份杜鹃花样品的遗传关系树状图(图 2)。从图 2 可见,在相似系

数为 0.65 的水平上,可将 30 份材料分为 5 个类群。其中 A 类群有 4 个物种, B 类群有 16 个物种, C 类群有 11 个物种, D 类群和 E 类群各只有 1 个物种。羊躑躅和鹿角杜鹃分别单独聚类,表明这 2 个物种与其他物种的亲缘关系较远。

利用 NTSYS2.1 软件对 30 份杜鹃花资源进行基于遗传距离的主坐标分析(PCA),前 3 个主坐标显示遗传变异分别为 8.23%、6.71%和 6.30%。从三维散点图(图 3)可以看出,主坐标分析和聚类分析所得结果基本一致。



1~30:杜鹃花物种编号,见表 1。

图 2 基于 SRAP 标记的杜鹃花属 30 个种的聚类分析

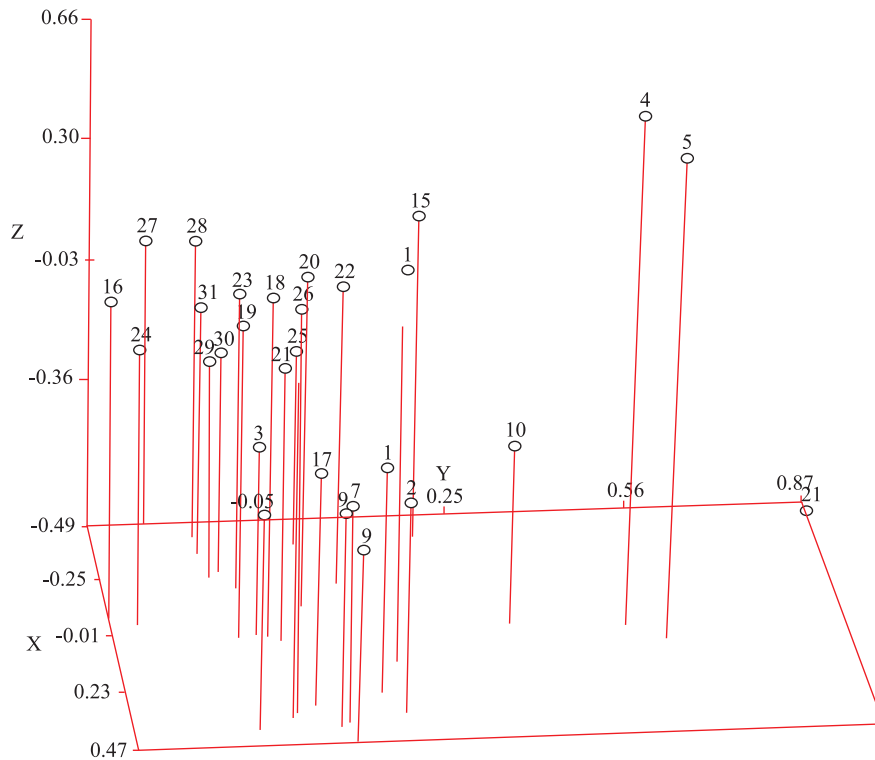
Fig.2 Dendrogram of 30 *Rhododendron* species based on SRAP markers

3 讨论

SRAP 标记具有操作简单、稳定性好、引物通用性好、多态性高和易测序等优点,最初应用于油菜中,现在已经被广泛用于甘蓝 (*Brassica oleracea* var. capitata)^[17]、油茶 (*Camellia oleifera* Abel.)^[18]、菊花 (*Chrysanthemum morifolium* Ramat.)^[19] 和红掌 (*Anthurium andreanum* Dakota)^[20] 等植物研究中。本研究利用 SRAP 标记对中国杜鹃花属 30 个种的遗传多样性进行了研究,30 份材料的遗传相似系数在 0.543 至 0.761 之间, Nei's 基因多样性指数(H)为 0.352,表明 SRAP 标记具有较准确的鉴别能力,也是进行杜鹃花属植物遗传多样性分析的有效分子

标记。

吴月燕等采用 10 对 SRAP 引物从 24 个西洋杜鹃 (*R. hybridum*) 品种中扩增出 217 条带,多态性比率为 97.35%^[13]。赵玉辉等采用 22 对 SRAP 引物扩增 57 份山楂品种,获得 246 条多态性条带,多态性比率为 84.83%^[21]。刘丹丹等采用 19 对 SRAP 引物扩增高丹草品种,获得 369 条多态性条带,多态性比率为 82.2%^[22]。而本试验使用 20 对 SRAP 引物共获得 306 条多态性条带,单引物组合最多可以获得 21 条多态性条带,多态性比率为 100%,高于前人在杜鹃品种和其他物种中的研究结果,表明 SRAP 标记在杜鹃花属植物中具有较高的多态性、较好的稳定性,能高效鉴定杜鹃花属不同种间的遗



1~30:杜鹃花物种编号,见表1。X、Y、Z分别代表前3个主成分对遗传变异的贡献率。

图3 杜鹃花属植物主坐标分析的三维散点图

Fig.3 Three-dimensional representation of principal coordinate analysis among *Rhododendron* species

传差异。前人采用传统的分子标记已经在杜鹃花属植物中开展了一些研究。郑宇等采用13条ISSR引物扩增11个比利时杜鹃(*R. hybridum*)品种,获得多态性位点106个,多态性比率为85.48%^[23];云锦杜鹃中ISSR分子标记的多态性比率为88.24%^[11];美容杜鹃中ISSR分子标记的多态性比率为83%^[12];马缨杜鹃中AFLP分子标记的多态性比率为72.49%^[24];大字杜鹃中RAPD分子标记的多态性比率为86.93%^[25]。本研究中30份杜鹃花属植物的多态性比率达到100%,可见SRAP标记作为一种新型的基于PCR技术的分子标记相对于其他传统的分子标记,在杜鹃花属植物的生物多样性研究中具有较高的应用价值。

SRAP扩增的是ORF区域,ORF的识别基本决定了基因对应的蛋白质序列,是证明不同物种或品种间差异的重要因素^[26]。SRAP标记在生态型变异和进化史上比AFLP标记更具有有一致性,在对育种目标性状的评价方面优于RAPD标记,具有较高的多态性比率,是评价遗传多样性、系统发生和品种鉴

定的有效工具^[27-28]。本研究基于SRAP标记数据计算杜鹃花种质间的遗传相似系数矩阵,构建了30份杜鹃花种质的遗传关系树状图。在参试材料中,云锦杜鹃和光枝杜鹃同属常绿杜鹃亚属常绿杜鹃组^[29],二者的遗传相似系数最高,达到0.761;红滩杜鹃与云锦杜鹃同属常绿杜鹃亚属常绿杜鹃组,花色均为粉色,二者的遗传相似系数也较高,为0.758;迎红杜鹃和兴安杜鹃同属迎红杜鹃亚属,主要分布在中国华北、东北,花色均为紫红色,二者在遗传进化树上聚为一类,亲缘关系较近;羊躑躅属羊躑躅亚属,在中国只有1个种,分布于西南、华南、华中和华东地区,与其他参试材料的平均遗传相似系数为0.599,遗传距离较远。本研究结果表明,根据SRAP标记的聚类分析结果与基于植物表型特征的分类基本一致,特别是参试材料间的遗传相似系数越高,杜鹃花的表型特征也越相似,说明SRAP标记可应用于杜鹃花植物物种和品种的鉴定。

SRAP标记扩增区域包含开放阅读框,其扩增引物和扩增产物都较长,使得扩增产物更容易克隆

测序,方便差异基因的筛选和准确定位。随着近年来不断有新物种基因组测序的完成,特别是杜鹃花属近缘物种基因组序列的公开,使得 SRAP 标记将不仅可以应用在杜鹃花生物多样性研究、杂种优势预测和遗传图谱构建,而且在杜鹃花基因定位和克隆中也具有较高的潜在应用价值。

参考文献:

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志(第 57 卷第 1 分册)[M]. 北京: 科学出版社,1999: 1-15.
- [2] PENG L, RU M, WANG B, et al. Genetic diversity assessment of a germplasm collection of *Salvia miltiorrhiza* Bunge. based on morphology, ISSR and SRAP markers[J]. Biochemical Systematics and Ecology, 2014,55: 84-92.
- [3] JI J J, HUANG W, YIN Y X, et al. Development of a SCAR marker for early identification of S-cytoplasm based on mitochondrial SRAP analysis in pepper (*Capsicum annuum* L.) [J]. Molecular Breeding, 2014,33(3): 679-690.
- [4] AHMAD R, QUIROS C F, RAHMAN H, et al. Genetic diversity analyses of *Brassica napus* accessions using SRAP molecular markers[J]. Plant Genetic Resources, 2014, 12(1): 14-21.
- [5] ZHANG R P, WU J, LI X G, et al. An AFLP, SRAP, and SSR genetic linkage map and identification of QTLs for fruit traits in pear (*Pyrus* L.) [J]. Plant Molecular Biology Reporter, 2013,31(3): 678-687.
- [6] 李 莉,彭建营,白瑞霞,等. SRAP 与 TRAP 标记及其在园艺植物研究中的应用[J]. 西北植物学报,2006,26(8): 1749-1752.
- [7] KAMEYAMA Y, ISAGI Y, NAKAGOSHI N. Relatedness structure in *Rhododendron metternichii* var. *hondoense* revealed by microsatellite analysis [J]. Molecular Ecology, 2002, 11(3): 519-527.
- [8] WOLF P G, DOCHE B, GIELLY L, et al. Genetic structure of *Rhododendron ferrugineum* at a wide range of spatial scales[J]. Journal of Heredity, 2004, 95(4): 301-308.
- [9] BROWN G K, CRAVEN L A, UDOVICIC F, et al. Phylogeny of *Rhododendron* section *Vireya* (Ericaceae) based on two non-coding regions of cpDNA [J]. Plant Systematics and Evolution, 2006,257(1): 57-93.
- [10] IQBAL M J, PADEN D W, RAYBURN A L. Assessment of genetic relationships among *rhododendron* species, varieties and hybrids by RAPD analysis [J]. Scientia Horticulturae, 1995,63(3): 215-223.
- [11] 金则新,李钧敏,顾奇萍. 云锦杜鹃自然居群遗传多样性的 ISSR 分析[J]. 园艺学报,2006,33(6): 1263-1267.
- [12] 赵 冰,郑茜子,李厚华. 秦岭山区美容杜鹃 5 个野生种群遗传多样性的 ISSR 分析[J]. 广西植物, 2015,35(5): 761-767.
- [13] 吴月燕,陶巧静,李 波,等. 西洋杜鹃 SRAP 体系优化及遗传多样性分析[J]. 浙江农林大学学报,2013,30(6): 844-851.
- [14] 苏家乐,刘晓宏,刘晓青,等. 杜鹃花属植物 SRAP-PCR 反应体系的优化及其应用[J]. 江苏农业学报,2010,26(6): 1352-1356.
- [15] LI G, QUIROS C F. Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in *Brassica* [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2001,103(2): 455-461.
- [16] NEI M. F-statistics and analysis of gene diversity in subdivided populations [J]. Annals of Human Genetics, 1977, 41(2): 225-233.
- [17] 缪体云,薄天岳,陈锦秀,等. 甘蓝种质资源遗传多样性的 SRAP 分析[J]. 分子植物育种,2010,8(1): 94-98.
- [18] 韩 欣,张党权,王志平,等. 基于 SRAP 的赣南油茶良种分子鉴别研究[J]. 中南林业科技大学学报,2012,32(3): 147-151.
- [19] 张冬菊,李世超,吴鹏夫,等. 基于表型和 SRAP 标记的切花菊品种遗传多样性分析[J]. 园艺学报,2014,41(1): 118-130.
- [20] 王呈丹,牛俊海,张志群,等. 红掌品种亲缘关系 SRAP 分析[J]. 植物遗传资源学报,2013,14(4): 759-763.
- [21] 赵玉辉,王 岗,苏 凯,等. 山楂种质资源遗传多样性的 SRAP 分析[J]. 分子植物育种,2014,12(6): 1281-1287.
- [22] 刘丹丹,逯晓萍,张瑞霞,等. 高丹草种质资源 SRAP 指纹图谱构建及遗传多样性分析[J]. 华北农学报,2012,27(2): 72-76.
- [23] 郑 宇,何天友,陈凌艳,等. 比利时杜鹃栽培品种(系)的 ISSR 分析[J]. 福建农林大学学报:自然科学版,2011,40(3): 271-275.
- [24] 纵 丹,员 涛,李佳蔓,等. 马缨杜鹃不同完整性居群遗传多样性的 AFLP 分析[J]. 中南林业科技大学学报,2014,34(9): 117-122.
- [25] 姬文秀,金东淳,李虎林. 大字杜鹃种质资源遗传多样性与亲缘关系的 RAPD 分析[J]. 东北农业大学学报,2010,41(12): 30-34.
- [26] 司 源,郭亦琦,孔航辉. 基于 ORF Finder 方法的植物 ITS 片段结构特点分析[J]. 华北农学报,2005,20(5): 54-56.
- [27] FERRIOL M, PICÓ M B, NUEZ F. Genetic diversity of some accessions of *Cucurbita maxima* from Spain using RAPD and SBAP markers[J]. Genetic Resources and Crop Evolution, 2003, 50(3): 227-238.
- [28] BUDAK H, SHEARMAN R C, PARMAKSIZ I, et al. Molecular characterization of buffalograss germplasm using sequence-related amplified polymorphism markers[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2004,108(2): 328-334.
- [29] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志(第 57 卷第 2 分册)[M]. 北京: 科学出版社,1994: 30-32.

(责任编辑:张震林)