

# 32 个杜鹃花品种遗传关系的 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 分子标记对 32 个杜鹃花品种进行了分析。21 对引物共检测到 232 个多态位点,平均每对引物扩增出 12.2 个位点,多态位点百分率为 90.27%。32 个杜鹃花品种的 Nei's 基因多样性指数( $H$ )为 0.340,Shannon's 信息指数( $I$ )为 0.503,相似系数介于 0.541~0.805 之间。3 个品种群间遗传分化系数( $G_{st}$ )为 0.157 2,表明 84.28%遗传变异发生在品种群内。采用 UPGMA 法构建系统进化树,32 个杜鹃花品种可分为 3 类:14 个东鹃品种、10 个西鹃品种和 8 个夏鹃品种,结果与传统分类完全一致。表明 SRAP 分子标记技术能准确地分析杜鹃花品种的遗传多样性和亲缘关系。

**关键词:**杜鹃花;序列相关扩增多态性(SRAP);亲缘关系;遗传多样性

**中图分类号:**S685.21      **文献标志码:**A      **文章编号:**1001-7461(2016)04-0123-06

## Genetic Relatedness of 32 Varieties of *Rhododendron simsii* Using SRAP Markers

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, Nangjing,Jiangsu 210014,China)

**Abstract:** Genetic diversity across 32 varieties of *Rhododendron simiss* was analyzed using sequence-related amplified polymorphism (SRAP). A total of 232 polymorphic bands were generated using 21 pairs of SRAP primers and the polymorphism percentage was 90.27%. Each pair of primers generated 12.2 on average. Nei's gene diversity was 0.340,Shannon's information index was 0.503 and the similarity coefficient varied from 0.541 to 0.805. In addition,the gene differentiation coefficient ( $G_{st}$ ) was 0.157 2,which showed that 84.28% genetic diversity existed within the populations. The 32 varieties could be divided into three groups based on the result of UPGMA: 14 varieties of "Dongjuan" population,10 varieties of "Xijuan" population and 8 varieties of "Xiajuan" population,which was consistent with the traditional classification completely. These results indicated that artificial breeding causes confusion in the genetic background of *R. simsii* varieties. However,SRAP could be applied to study the genetic diversity and relationship of *R. simsii* accurately.

**Key words:** *Rhododendron*; sequence-related amplified polymorphism; genetic relationship; genetic diversity

杜鹃花(*Rhododendron simsii*)是我国著名的传统观赏花木之一,通过杂交育种,现已培育出花大、色艳,花期长的园艺品种 8 000 个以上<sup>[1]</sup>。我国目前广泛栽培的园艺品种约有二、三百种,其主要血统是映山红,根据其表型、亲本和来源,分为东洋鹃(东鹃)、毛鹃、西洋鹃(西鹃)、夏鹃 4 个类型<sup>[2]</sup>。杜

鹃花的树姿美,花色繁多,多数种类经冬不凋,观赏价值很高,既可盆栽,也可丛植或成片成林,已成为庭园中不可缺少的园林绿化树种。随着越来越多杜鹃花品种在商品市场的涌现,人们对大量栽培品种的分类反而大感兴趣。然而由于育种工作者在育种上互相保守秘密,不公布杂种的亲本,在杜鹃新品种

收稿日期:2015-10-14 修回日期:2015-11-29

基金项目:国家科技支撑计划(2013BAD01B070403);江苏省自然科学基金(BK20150548、BK2012789);江苏省农业科技自主创新项目(CX(14)2026)。

作者简介:肖 政,男,博士,研究方向:花卉遗传育种。E-mail:xzforestry@163.com

\* 通信作者:苏家乐,男,研究员,研究方向:花卉品种选育及栽培技术。E-mail:sujl66@aliyun.com

的命名上各行其是,使得新品种的命名十分紊乱,无法追根探源,影响对新品种开展深入研究。

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*)<sup>[3]</sup>、辣椒 (*Capsicum annuum*)<sup>[4]</sup>、欧洲油菜 (*Brassica napus*)<sup>[5]</sup>、梨 (*Pyrus*)<sup>[6]</sup>等植物的生物多样性、基因定位、遗传图谱构建和杂种优势预测等方面的研究。前人已经采用不同的分子标记技术对杜鹃花属植物展开了研究,如 Wolf<sup>[7]</sup>和 Brown<sup>[8]</sup>等基于 nrDNAITS 序列分析对杜鹃属植物开展了大量的系统发育研究;Iqbal<sup>[9]</sup>等用 RAPD 标记研究了 13 种杜鹃花的遗传关系;赵冰<sup>[10]</sup>等采用 ISSR 分子标记研究了美容杜鹃 5 个野生种群的遗传多样性,而关于 SRAP 标记应用于杜鹃花品种分类的研究还少见报道。

本研究应用 SRAP 技术对杜鹃花品种的遗传多样性和亲缘关系进行分析,旨在从分子水平上研究杜鹃花品种的亲缘关系,为杜鹃花品种的分类、命名和开发利用提供参考和技术支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

试验材料于 2015 年 3 月从江苏省农业科学院杜鹃花种质资源圃中采集获得(表 1),选取当年萌发的嫩芽和嫩叶用于基因组 DNA 的提取,试材保存在-20℃冰箱中。本试验所用的引物由北京鼎国合成。

### 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 150 ng·μL<sup>-1</sup>,保存于-20℃冰箱中备用。

### 1.3 PCR 扩增与引物筛选

依据 Li<sup>[11]</sup>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 个引物组合中筛选出扩增条带清晰、多态性条带较多、重复性好的引物,用于杜鹃花品种的 SRAP-PCR 反应。预试验一共筛选出 21 对扩增条带清晰且重复性好的引物(表 2)。

表 1 供试材料

Table 1 Experimental materials

编号	品种名称	分类	编号	品种名称	分类
1	‘九厘米’	东鹃	17	‘柳叶喷砂’	西鹃
2	‘红珍珠’	东鹃	18	‘西德 1 号’	西鹃
3	‘粉妆楼’	东鹃	19	‘红珊瑚’	西鹃
4	‘柳浪闻莺’	东鹃	20	‘火花’	西鹃
5	‘红富士’	东鹃	21	‘白佳人’	西鹃
6	‘汉堡’	东鹃	22	‘铁红’	西鹃
7	‘秋霞’	东鹃	23	‘白云’	西鹃
8	‘琉球红’	东鹃	24	‘五宝珠’	西鹃
9	‘红月’	东鹃	25	‘夏玫红’	夏鹃
10	‘状元红’	东鹃	26	‘粉团’	夏鹃
11	‘大鸳鸯锦’	东鹃	27	‘荣冠’	夏鹃
12	‘小鸳鸯锦’	东鹃	28	‘四方春’	夏鹃
13	‘大和之春’	东鹃	29	‘秋月’	夏鹃
14	‘紫鹃’	东鹃	30	‘炮仗红’	夏鹃
15	‘玉麒麟’	西鹃	31	‘海棠红’	夏鹃
16	‘丹麦红’	西鹃	32	‘荷花灯’	夏鹃

表 2 SRAP 扩增引物

Table 2 Primes used in SRAP

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	GACTGCGTACGAATTTCAR
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
M9/E6	TGAGTCCAAACCGGAYT	GACTGCGTACGAATTGYC

根据预试验,确定杜鹃花较稳定的 SRAP 反应体系为:10×buffer 缓冲液 2 μL、1.5 mmol·L<sup>-1</sup> Mg<sup>2+</sup>、0.2 mmol·L<sup>-1</sup> dNTP、0.5 μmol·L<sup>-1</sup> 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%的琼脂糖凝胶于 5 V·cm<sup>-1</sup> 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 21 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 DNA 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( $H_s$ )和 Shannon's 信息指数( $I$ )。用 NTSYS-pc2.10e 软件进行计算分析,按照 M. Nei<sup>[12]</sup> 等的方法,用 UPG-MA (Unweighted pair group method using arithmetic averages)法对得到的遗传相似系数矩阵进行

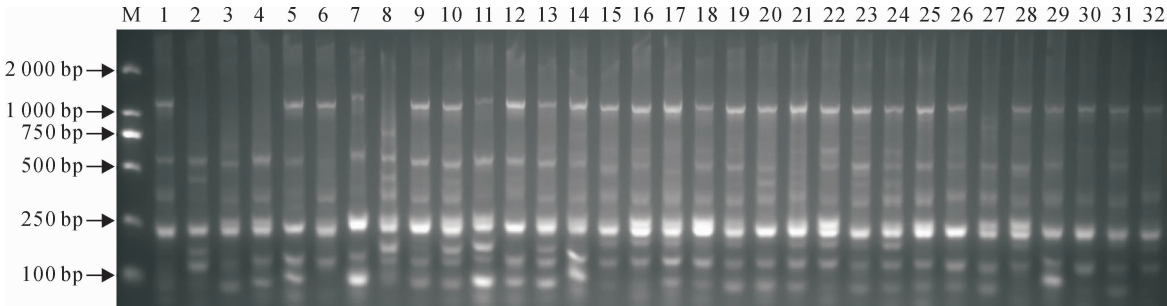
聚类分析。

2 结果与分析

2.1 SRAP-PCR 扩增片段多态性分析

试验选取 21 对 SRAP 引物对 32 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 片段大小在 100~2 000 bp 之间(图 1)。

21 对 SRAP 引物总共检测到 257 个标记位点,多态性位点 232 个,多态性条带占总条带比率( $PPB$ )为 90.27%,平均每对引物可检测出 12.2 个标记位点,其中引物 M6/E1 扩增条带最多,为 17 条,引物 M1/E3 扩增条带最少,为 7 条。



注:M:DNA marker;材料编号同表 1。

图 1 引物 M3/E6 扩增图谱

Fig. 1 Electrophoresis amplified with primer M3/E6

2.2 杜鹃花物种遗传多样性分析

利用 POPGENE 软件对试验数据进行统计分析,32 份杜鹃花材料的遗传相似系数介于 0.541~0.805 之间(表 3),其中‘粉妆楼’和‘柳浪闻莺’的遗传相似系数最高,为 0.805,亲缘关系最近;其次是‘铁红’和‘五宝珠’、‘海棠红’和‘荷花灯’,遗传相似

系数为 0.778;而‘红珊瑚’与‘炮仗红’、‘琉球红’和‘四方春’遗传相似系数最小,为 0.541,亲缘关系最远。32 个杜鹃花品种平均有效等位基因数( $N_e$ )为 1.590,Nei's 基因多样性指数( $H$ )为 0.340,Shannon's 信息指数( $I$ )为 0.503。

表 3 部分杜鹃花品种的遗传距离(GD)及相似性(GI)

Table 3 Genetic distance(GD) and genetic identity(GI) of some *R. simsii* varieties

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1	——	0.763	0.747	0.763	0.720	0.708	0.697	0.638	0.697	0.634	0.638	0.708	0.638
2	0.271	——	0.743	0.774	0.708	0.681	0.708	0.697	0.654	0.615	0.627	0.611	0.642
3	0.292	0.297	——	0.805	0.669	0.735	0.685	0.611	0.646	0.623	0.595	0.595	0.642
4	0.271	0.256	0.216	——	0.662	0.697	0.693	0.642	0.654	0.615	0.595	0.627	0.634
5	0.329	0.345	0.402	0.413	——	0.716	0.728	0.630	0.728	0.697	0.638	0.739	0.638
6	0.345	0.384	0.307	0.362	0.334	——	0.724	0.634	0.700	0.677	0.658	0.658	0.665
7	0.362	0.345	0.379	0.367	0.318	0.323	——	0.724	0.658	0.642	0.669	0.662	0.732
8	0.449	0.362	0.493	0.443	0.462	0.455	0.323	——	0.630	0.560	0.627	0.619	0.720
9	0.362	0.425	0.437	0.425	0.318	0.356	0.419	0.462	——	0.767	0.700	0.700	0.700
10	0.455	0.487	0.474	0.487	0.362	0.390	0.443	0.579	0.266	——	0.700	0.724	0.700
11	0.449	0.468	0.519	0.519	0.449	0.419	0.402	0.468	0.356	0.356	——	0.712	0.720
12	0.345	0.493	0.519	0.468	0.302	0.419	0.413	0.480	0.356	0.323	0.340	——	0.728
13	0.449	0.443	0.443	0.455	0.449	0.407	0.313	0.329	0.356	0.356	0.329	0.318	——

注:编号 1~13 表示前 13 个杜鹃花品种;左下为 GD,右上为 GI。

在品种群水平上,东鹃、西鹃和夏鹃品种群的 Nei's 基因多样性指数( $H$ )分别为 0.245、0.236 和 0.214。3 个品种群之间的基因流为 2.680,品种群间基因分化系数为 0.157 2,表明参试的 32 个品种总遗

传变异的 15.72%来自于品种群间,而 84.28%来自于品种群内,即品种群间的遗传分化比品种群内小。

2.3 聚类及主坐标分析

根据 SRAP 标记数据计算参试材料间的遗传相

似系数矩阵,采用 UPGMA 法构建 32 个杜鹃花品种的遗传关系树状图(图 2)。在相似系数为 0.65 的水平上,可将 32 份材料分为 3 个类群,其中 A 类群有 14 个品种,均为东鹃品种;B 类群有 10 个品种,均为西鹃品种;C 类群有 8 个品种,均为夏鹃品种。

利用 NTSYS2.1 软件对 32 份杜鹃花品种资源进行基于遗传距离的主坐标分析(PCA),3 个主坐标显示遗传变异分别为 11.15%、8.80%和 6.08%。从图 3 可以看出,主坐标分析和聚类分析的结果基本一致。

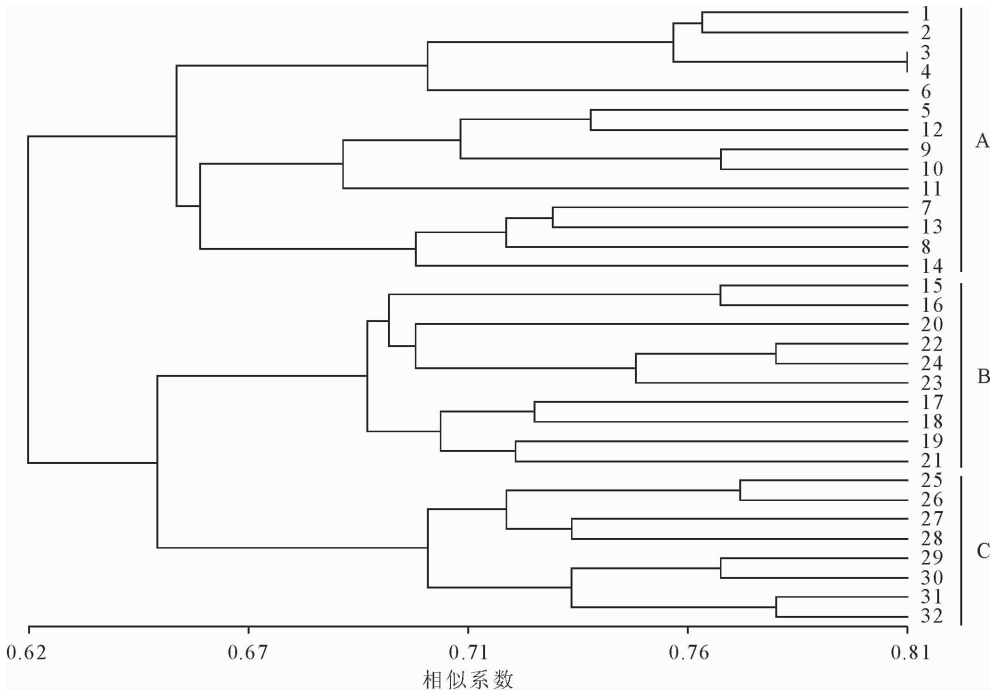


图 2 基于 SRAP 标记的聚类分析  
Fig. 2 Dendrogram based on SRAP markers

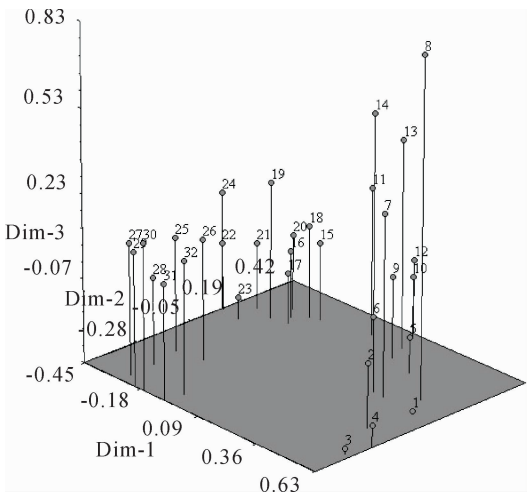


图 3 32 个杜鹃花品种的主坐标分析结果  
Fig. 3 Principal coordinates analysis on 32 varieties  
of *R. simsii*

### 3 结论与讨论

SRAP 标记具有简便、稳定性好、高共显性、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,现在已经广泛用于华山松(*Pinus armandii*)<sup>[13]</sup>、菊花(*Chrysanthemum × morifolium*)<sup>[14]</sup>和美洲黑杨(*Populus deltoides*)<sup>[15]</sup>等植物研究中。本

研究利用 SRAP 标记对中国杜鹃花属 32 个品种的亲缘关系进行了研究,其遗传相似系数介于 0.541~0.805 之间,Nei's 基因多样性指数(*H*)为 0.340,准确地将 32 个品种归为夏鹃、西鹃和东鹃 3 大类,表明该标记能有效注释杜鹃花品种间的遗传多样性。

传统的分子标记 RAPD、AFLP、SSR 和 ISSR 等在杜鹃属植物上的研究已经有了诸多报道。郑宇<sup>[16]</sup>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%;ISSR 分子标记应用于云锦杜鹃,其多态性比率为 88.24%<sup>[17]</sup>,应用于美容杜鹃,其多态性比率为 83%<sup>[18]</sup>;AFLP 分子标记应用于马缨杜鹃,其多态性比率为 72.49%<sup>[19]</sup>;RAPD 分子标记应用于大字杜鹃,其多态性比率为 86.93%<sup>[20]</sup>;吴月燕<sup>[21]</sup>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%。而本试验采用 21 对 SRAP 引物共获得 232 条多态性条带,多态性比率为 90.27%,高于 ISSR、AFLP 和 RAPD 分子标记在杜鹃花上研究结果,表明 SRAP 标记在杜鹃花属植物中具有较高的多态性,稳定性好,能高效鉴定杜鹃花品种间的遗传差异;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,更适合于杜鹃花属植物的遗传多样性研究。

SRAP 扩增的是 ORF 区域,ORF 的识别基本决定了基因对应的蛋白序列,是证明不同物种或品种间差异的重要因素<sup>[22]</sup>。Ferriol、Budak<sup>[23-24]</sup>等认为 SRAP 技术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。本研究基于 SRAP 标记数据计算 32 个杜鹃花品种的遗传相似系数矩阵,构建遗传关系树状图。32 个杜鹃花品种归为 3 类,A 类为东鹃,是从日本引入的杂种杜鹃,叶薄色淡,体型矮小,花小繁密,花色多,在江南一带 4 月至 5 月初开花,其中‘粉妆楼’和‘柳浪闻莺’的遗传相似系数最高,为 0.805,亲缘关系最近;B 类为西鹃,最早在西欧的荷兰、比利时育成,是花色最多、花型最美的一类,体型矮壮,树冠紧密,习性娇嫩,其中‘铁红’和‘五宝珠’的遗传相似系数较高,为 0.778;C 类为夏鹃,原产印度和日本,叶片狭长,排列紧密,枝叶纤细,花色、花型同西鹃一样丰富多变,其中‘海棠红’和‘荷花灯’的相似系数较高,为 0.778。而西鹃品种‘红珊瑚’与夏鹃品种‘炮仗红’、东鹃品种‘琉球红’和夏鹃品种‘四方春’遗传相似系数最小,为 0.541,亲缘关系最远。研究结果表明,根据 SRAP 分子标记的聚类分析结果与已知杜鹃花品种的传统分类完全一致,说明基于 SRAP 标记对杜鹃花品种的遗传多样性评价是可行的,可应用于杜鹃花新品种资源的鉴定。

遗传多样性是生物在长期进化过程中形成的,是物种的种群和个体遗传变异的总和。Hamrick<sup>[25]</sup>等认为在自交的遗传变异中,平均 51%存在于居群之间,基因分化系数为 0.510;而异交的植物类群,其遗传变异主要存在居群内,基因分化系数为 0.216。金则新<sup>[17]</sup>等采用 ISSR 技术对 5 个云锦杜鹃居群的研究,发现 40.03%变异存在于居群间,59.97%存在于居群内。本研究结果表明,东鹃、西鹃和夏鹃品种群间基因分化系数为 0.157 2,与异交植物类群基因分化系数接近,这与杜鹃花以风媒或虫媒授粉为主的生活习性相一致。东鹃、西鹃和夏鹃品种群间遗传变异占总变异的 15.72%,品种群内遗传变异占总变异的 84.28%,说明 32 份参试材料的遗传变异主要存在于品种群内。

现在杜鹃花品种无论是来自国外引种,还是国内选育,尚未见到一份完整的品种记载专著。而植物志或植物图鉴对杜鹃花也只描述到野生种或变种为止,栽培品种多见于广告或售品目录式的图册中,

很不完整。杜鹃花栽培品种的分类,还因为富含商业性的市场竞争,造成上万种杜鹃花品种的分类混乱,严重制约了人们对其展开研究。在本研究中,SRAP 标记技术可以对杜鹃花品种的遗传多样性进行系统分析,准确地进行归类,为追踪杜鹃花新品种的亲缘关系,进一步展开深入研究提供技术支持和理论依据。

参考文献:

[1] 余树勋. 杜鹃花[M]. 北京:金盾出版社,1992:180-183.

[2] 陈俊愉,程绪珂. 中国花经[M]. 上海:上海文化出版社,1990:142-143.

[3] 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(2): 84-92.

[4] 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.

[5] 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.

[6] 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.

[7] 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.

[8] BROWN G K, CRAVEN L A, UDOVICIC F, *et al.* Phylogenetic relationships of *Rhododendron* section *Vireya* (Ericaceae) inferred from the ITS nrDNA region[J]. *Australian Systematic Botany*, 2006, 19(4): 329-342.

[9] IQBAL M J, PADEN D W, RAYBUM A L. Assessment of genetic relationships among *Rhododendron* species, varieties and hybrids by RAPD analysis[J]. *Scientia Horticulturae*, 1995, 63(3): 215-223.

[10] 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(3): 761-767.

    ZHAO B, ZHENG X Z, LI H H. Genetic diversity of 5 wild populations of *Rhododendron calophytum* in Qinling, China by ISSR analysis[J]. *Guihaia*, 2015, 35(3): 761-767. (in Chinese)

[11] 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]. *TAG Theoretical and Applied Genetics*, 2001, 103(2): 455-461.

[12] NEI M. F-statistics and analysis of gene diversity in subdivided populations[J]. *Annals of Human Genetics*, 1977, 41(2): 225-233.

[13] 赵杨, 李玉璞, 代毅. 华山松 SRAP-PCR 反应体系的优化[J].

西北林学院学报,2012,27(5):87-90.

ZHAO Y,LI Y P,DAI Y. Optimization of SRAP-PCR system for *Pinus armandii*[J]. Journal of Northwest Forestry University,2012,27(5):87-90. (in Chinese)

[14] 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.

[15] 郭娟,樊军锋,梁军,等. 利用 SRAP 标记鉴别美洲黑杨及指纹图谱构建[J]. 西北林学院学报,2014,29(2):98-102.

GUO J,FAN J F,LIANG J, *et al.* Identification and fingerprinting of *Populous deltoides* using SRAP markers[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2014, 29(2): 98-102. (in Chinese)

[16] 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.

[17] 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.

[18] 赵冰,徐曼,司国臣,等. 秦岭秀雅杜鹃野生种群遗传多样性和遗传分化的 AFLP 分析[J]. 应用生态学报,2012,23(11):2983-2990.

ZHAO B,XU M,SI G C, *et al.* Genetic diveristy of genetic differentiation of *Rhododendron concinnum* wild populaiotns in Qinling Mountains of northwest China; an AFLP analysis [J]. Chinese Journal of Applied Ecology,2012,23(11):2983-2990. (in Chinese)

[19] 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.

ZONG D,YUAN T,LI J M, *et al.* Analysis on genetic diversity of different integrity population of *Rhododendron delavayi* by AFLP markers[J]. Journal of Central South University of Forestry & Techonology,2014,34(9):117-122. (in Chinese)

[20] 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.

[21] 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.

[22] 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.

[23] FERRIOL M,PICÓ B,NUEZ F. Genetic diversity of a germplasm collection of *Cucurbita pepo* using SRAP and AFLP markers[J]. Theoretical and Applied Genetics,2003,107(2):271-282.

[24] 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.

[25] HAMRICK J L,GODT M,BROWN A H, *et al.* Plant population genetics, breeding, and genetic resources [M]. Sinauer Associates,1990:43-63.

(上接第 98 页)

[14] DONG C B,SUO Y J,KANG X Y. Assessment of the genetic composition of triploid hybrid *Populus* using SSR markers with low recombination frequencies [J]. Canadian Journal of Forest Research,2014,44(7):692-699.

[15] YEH F C,YANG R C,BOYLE T, *et al.* POPGENE, version1. 32;the user friendly software for population genetic analysis [M]. Edmonton;University of Alberta,1999.

[16] HUBISZ M J,FALUSH D,STEPHENS M. Inferring weak population structure with the assistance of sample group information[J]. Molecular Ecology Resources, 2009, 9(5):1322-1332.

[17] EVANNO G,REGNAUT S,GOUDET J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study [J]. Mol. Ecol. , 2005, 14(8):2611-2620.

[18] 张志清,郑有良,魏育明,等. 四川主栽小麦品种遗传多样性的 SSR 标记研究[J]. 麦类作物学报,2002(2):5-9.

[19] HAMRICK J L,GODT M J M,SHERMAN-BROYLES S L. Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species [J]. New Forests,1992,6:95 -124.

[20] LEXER C,FAY M F,JOSEPH A, *et al.* Barrier to gene flow between two ecologically divergent *Populus* species, *P. alba* (white poplar) and *P. tremula* (*European aspen*); the role of ecology and life history in gene introgression[J]. Mol. Ecol. , 2005,14(4):1045-1057.

[21] WANG J,LI Z J,GUO Q H, *et al.* Genetic variation within and between populations of a desert poplar (*Populus euphratica*) revealed by SSR markers [J]. Annals of Forest Science,2011,68:1143-1149.

[22] 沈登锋,薄文浩,徐放,等. 色季拉山不同海拔高度的藏川杨种群遗传多样性研究[J]. 植物遗传资源学报,2014(4):692 -698.

SHEN D F,BO W H,XU F, *et al.* Study on genetic diversity among populations in *Populus szechuanica* var. *tibetica* at different altitudes in Sejila Mountain[J]. Journal of Plant Genetic Resources,2014(4):692 -698. (in Chinese)

[23] WANG J,LI Z J,GUO Q H, *et al.* Genetic variation within and between populations of a desert poplar (*Populus euphratica*) revealed by SSR markers [J]. Annals of Forest Science,2011,68:1143-1149.

[24] FOSSATI T,GRASSI F,SALA F, *et al.* Molecular analysis of natural populations of *Populus nigra* L. intermingled with cultivated hybrids[J]. Mol. Ecol. ,2003,12:2033-2043.

[25] SLAVOV G T,ZHELEV P,JANSSON S, *et al.* Salient biological features,systematics and genetic variation of *Populus* [M]. New York;Springer,2010:15-38.

[26] BROWN A H D,CLEGG M T,KAHLER A L. Plant population genetics, breeding and genetic resources [M]. Sunderland,Massachusetts;Sinauer Associates,1990:44-46.

[27] WRIGHT S. Evolution and the genetics of populations: Vol. 2. the theory of gene frequencies[M]. Chicago: University of Chicago Press,1984.