

基于转录组数据的月季 SSR 标记开发及花色遗传性分析

张非亚^{1,2}, 罗玉兰¹, 有祥亮¹, 贾桂霞^{2*}, 张冬梅^{1*}

(1. 上海市园林科学规划研究院, 上海 200231; 2. 北京林业大学 园林学院, 北京 100083)

摘 要:在转录组数据的基础上,以 *Rosa laxa* (疏花蔷薇)、*R. rugosa* ‘White’ (‘白玫瑰’)、*R. cv.* ‘Pink Peace’ (‘粉和平’)、*R. multiflora* var. *albo-plena* (白玉堂)、*R. xanthina* Lindl f. *normalis* (单瓣黄刺玫) 5 个亲缘关系相差比较远的种或品种为筛选和开发 SSR 引物的植物材料,基于所开发引物对杂交组合‘电子表’×‘红法兰西’所得的 79 株 F₁ 代群体进行了遗传多样性评价。结果表明:1)设计 SSR 引物 80 对,筛选出具有目的条带的 SSR 引物 44 对,具有多态性的 SSR 引物 28 对。2)对‘电子表’×‘红法兰西’的 F₁ 代群体的遗传多样性进行评价,杂交 F₁ 代群体的遗传距离在 0.52~0.94 之间。3)聚类结果与后代的花色分离有一定相关性,当遗传距离为 0.52 时,F₁ 代群体聚为 2 大类,其中一类跟母本‘电子表’(HT-13)聚为一类,花色大多是黄色;另一类跟父本‘红法兰西’(HT-12)聚在一起,花色普遍为红色到粉色之间。研究认为,这一花色分离成因主要与花色遗传有关,在这方面红色对黄色为显性性状;这一分离情况可能也与色素黄酮与花色素苷等色素代谢途径有关。

关键词:月季;SSR;引物开发;遗传多样性;花色分离

中图分类号:S685.12 **文献标志码:**A **文章编号:**1001-7461(2017)04-0081-06

Development of SSR Markers Based on the Transcriptome Data of Rose and Analysis of Flower Color Inheritance

ZHANG Fei-ya^{1,2}, LUO Yu-lan¹, YOU Xiang-liang¹, JIA Gui-xia^{2*}, ZHANG Dong-mei^{1*}

(1. Shanghai Academy of Landscape Architecture Science and Planning, Shanghai 200231, China;

2. Landscape Architecture School, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China)

Abstract: On the basis of the transcriptomic data of rose, the SSR primers were developed with plant materials of *R. laxa*, *R. rugosa* ‘White’, *R. cv.* ‘Pink Peace’, *R. multiflora* Thunb. var. *albo-plena* and *R. xanthina* Lindl f. *normalis*, which had far relationship between each other. The genetic diversity of F₁ group hybridized from *R. cv.* ‘Funkuhr’ × *R. cv.* ‘Red France’ was evaluated by using these developed primers. The results were as follows: 1) 80 pairs of SSR primers had designed, among which 44 were with target fragment, besides, 28 were with polymorphism. 2) The genetic distance of F₁ group was between 0.52 and 0.94. 3) Clustering analysis showed that F₁ group at genetic distance 0.52 was divided into two categories, one was with their female parent ‘Funkuhr’ (HT-13), in which the flower color was generally yellow, the other was with male parent ‘Red France’ (HT-12), in which the color was generally between red and pink. The results suggested that the cause of the color separation was mainly associated with color inheritance, that the color red was the dominant character to yellow. The color separation might also associated with metabolism of flavonoids and anthocyanin.

Key words: rose; SSR; molecular marker development; genetic diversity; color separation

收稿日期: 2016-11-14 修回日期: 2016-12-21

基金项目: 上海市科委科技攻关项目“耐湿热月季育种与种质创制”(13391900902)。

作者简介: 张非亚, 女, 硕士, 研究方向: 园林植物遗传育种。E-mail: zhangfeiya0207@163.com

* 通信作者: 贾桂霞, 女, 教授, 博导, 研究方向: 园林植物遗传育种。E-mail: gxjia@bjfu.edu.cn

张冬梅, 女, 教授级高工, 研究方向: 园林植物遗传育种。E-mail: 418517920@qq.com

月季(*Rosa* spp.)是蔷薇科蔷薇属植物,为中国十大名花之首,因其品种多、花期长、适应性广泛,深受市民喜爱^[1]。月季育种备受关注,分子标记辅助育种使月季育种工作上了一个新的台阶^[2]。SSR 标记以其位点丰富、多态性高、共显性标记、可重复性高等优点,被广泛应用到月季等蔷薇科植物的辅助育种^[3-7],如月季种质资源鉴定、居群遗传、亲缘关系分析以及构建图谱等方面^[8]。T. Debener^[9]等用 SSR 标记构建了二倍体月季的遗传图谱,并成功定位了月季抗黑斑病相关基因 *Rdr1*。K. Rusanov^[10]、L. H. Zhang^[11]等利用 SSR 分子标记,将关于 4 倍体月季的 2 张遗传图谱进行对比整合,其所设计的 SSR 引物的多态性比例高达 57%^[10-11]。邱显钦^[12]等用 SSR 标记对 8 个大花香水月季的自然群体进行了群体多样性分析,结果表明个体间的变异是群体变异的主要来源,群体的遗传距离与地理位置没有显著的相关性。邵珠华^[13]等采用 SSR 标记对云南的 8 个长尖叶蔷薇天然居群的遗传多样性进行了分析,发现居群内遗传多样性较高,居群间存在中度的遗传分化。邱显钦^[14-15]等用 SSR 对蔷薇属的 13 个野生种(包括变种、变型)和 29 个品种的遗传多样性进行了分析,13 个蔷薇野生种聚类分为 5 个组,聚类结果与植物形态学的分类结果几乎一致,用 SSR 分子标记分析了云南月季种质资源的关系,证明其在分子水平上具有丰富的遗传多样性,5 个野生种和古老月季品种表现出较近的亲缘关系。罗玉兰^[16]等用 6 对 SSR 标记以及形态学性状对红刺玫与现代月季杂交得到的 5 个 F1 代植株成功进行了鉴定^[16]。

SSR 标记在月季育种中得到了广泛应用,但目前关于月季 SSR 标记的开发研究较少。多数 SSR 引物背景不清楚,信息不全面。而月季是经过几百年反复杂交高度杂合的一个物种,开发最佳的 SSR 分子标记对性状的关联分析、遗传多样性评价至关重要。使用高通量测序数据开发的 SSR 标记,不仅具有 EST-SSR 标记的优点,同时相比 EST-SSR,转录组海量的数据为 SSR 标记的开发提供了更全面的信息,极大提高了遗传多样性和分子标记辅助育种研究的准确性^[17]。因此本研究在转录组数据的基础上,开发具有自主知识产权的月季 SSR 标记,对‘电子表’×‘红法兰西’的杂交群体进行遗传多样性分析,探讨月季花色遗传和分离规律,从而为杂种群体的遗传多样性评价、QTL 定位奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

选用疏花蔷薇、‘白玫瑰’、‘粉和平’(月季品

种)、白玉堂(一种野蔷薇)、单瓣黄刺玫 5 个亲缘关系较远的种类作为引物筛选材料;用于群体遗传多样性分析材料为杂交组合‘电子表’×‘红法兰西’的 79 株 F1 代杂种苗。

1.2 DNA 的提取及检测

取新鲜幼嫩的上部叶片提取基因组 DNA,方法参考北京艾德莱生物科技有限公司(Aidlab Biotechnologies Co., Ltd)CATB 法提取植物基因组 DNA 试剂盒说明书。DNA 的浓度质量和浓度用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳和超微量紫外分光光度计(Nanodrop 2000)测定,测定合格后-20℃冻存。

1.3 引物设计

用于测序的植物材料为高抗月季品种‘粉和平’,提取其叶片的总 RNA,测序公司进行转录组测序。将转录组数据进行整理,分析含有 SSR 位点的 Unigene,选择合适的有 SSR 位点的 Unigene,用 Primer premier 6.0 软件,设计基因组随机 SSR 引物 80 对。

1.4 PCR 扩增

PCR 反应体系(25 μ L):2×Taq PCR Master-Mix 12.5 μ L,正反向引物各 1 μ L,ddH₂O 14.5 μ L, DNA 模板 1 μ L。

PCR 扩增程序:95℃预变性 5 min,94℃变性 45 s,48℃退火 1 min,72℃延伸 1 min,35 个循环,最后 72℃延伸 7 min,4℃保存。

1.5 SSR 引物多态性筛选

以疏花蔷薇、‘白玫瑰’、‘粉和平’、白玉堂、单瓣黄刺玫 5 个亲缘关系相差比较远的种或品种作为模板,对设计 SSR 引物进行 PCR 扩增。首先用 2.0% 的琼脂糖凝胶电泳检测有无条带,有条带的引物再通过聚丙烯酰胺凝胶(PAGE)电泳进行多态性检测。

1.6 荧光 SSR 分析

将筛选出来的具有多态性的 PCR 引物 5'端加入 FAM 荧光标记,扩增产物由睿博兴科生物技术有限公司进行毛细管电泳扫描。用 Genemarker 软件设定需要的 Kit、Panels、Bins,对测序结果进行分型分析,适当对电泳峰图做出修改,获得每个样品的等位基因数、峰图和基因型。

2 结果与分析

2.1 SSR 引物设计与多态性筛选

分析月季转录组测序数据,共得到 3 055 736 个 contig,其中有重复序列的 14 672 个,占 contig 总数的 0.480 15%。在 14 672 个重复序列中,单碱基重复 6 914 个,占 47.1%;双碱基重复 4 325 个,占 29.5%;三碱基重复 3 318 个,占 22.6%;四碱基重

复 104 个,占 0.7%,不同重复数的碱基比例见图 1,设计 SSR 引物 80 对。80 对引物中具有目的条带的 SSR 引物 44 对(图 2);同时选取在蔷薇亚属中性状、亲缘关系相对差异较大的 5 个种作为模板筛选引物多态性,44 对引物中具有多态性的 SSR 引物 28 对(图 3、表 1)。

在以内标 LIZ500 作为标准,通过遗传分析仪测定扩增片段的大小,部分荧光引物的毛细管电泳峰图见图 5。

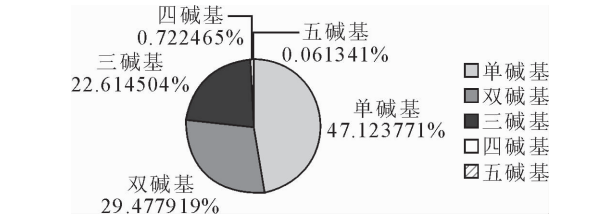


图 1 月季转录组中 SSR 重复单元分布特征
Fig. 1 Distribution of the SSR motifs in *Rosa*

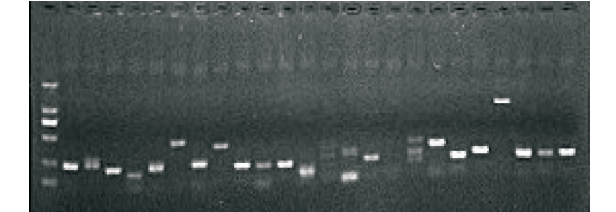


图 2 SSR 引物目的片段的筛选
Fig. 2 Screening of SSR purpose fragment

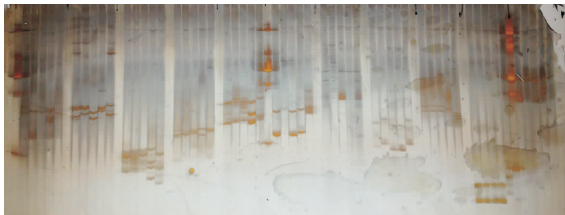


图 3 SSR 引物多态性的筛选
Fig. 3 Screening of SSR polymorphism

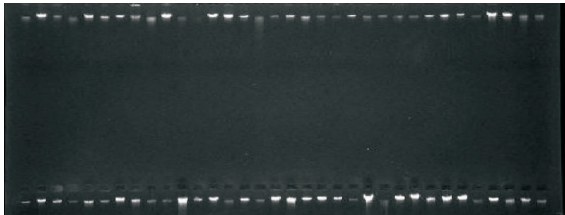
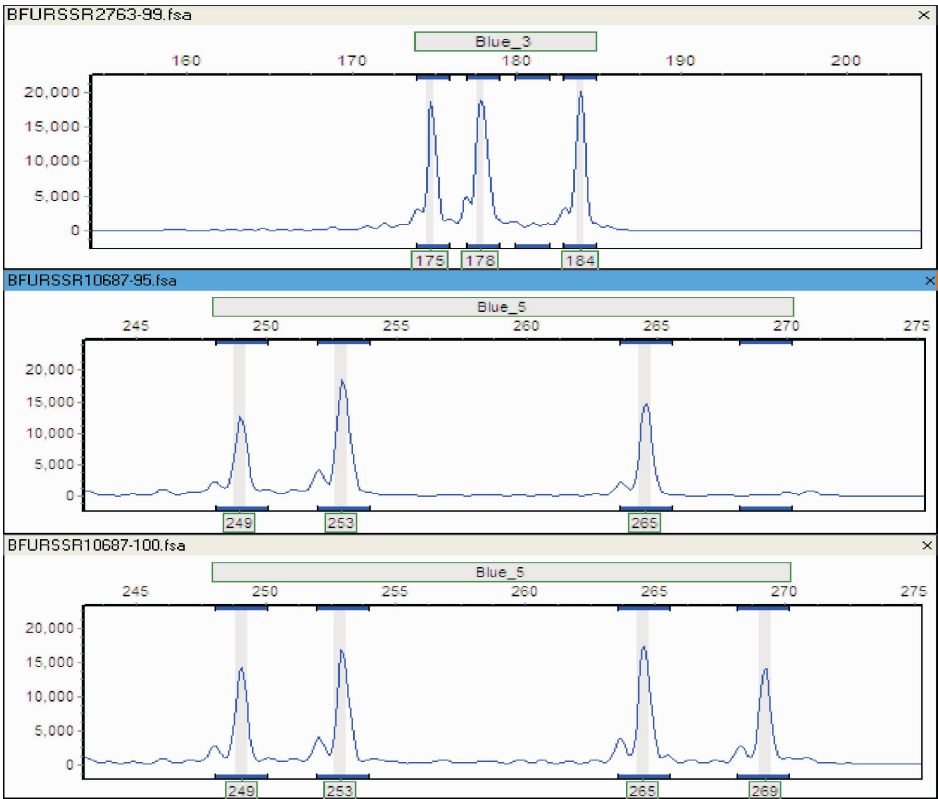


图 4 ‘电子表’×‘红法兰西’F₁ 代 DNA 电泳图谱
Fig. 4 DNA agarose gel electrophoresis of the hybrid F₁ from ‘Funkuhr’×‘Red France’

2.2 遗传多样性评价

选取筛选好的具有多态性的引物: BFURSSR1191、BFURSSR2763、BFURSSR3868、BFURSSR5762、BFURSSR10687、BFURSSR13531、BFURSSR13763、BFURSSR16676、BFURSSR 16820、BFURSSR17125 共 10 对引物评价杂交群体‘电子表’×‘红法兰西’的遗传多样性(图 4),后代 DNA 基本符合 PCR 扩增的需求。通过 SSR-PCR 检测结果,对



注:引物 BFURSSR 2763、BFURSSR 10607 和 BFURSSR 10687 分别在样品 99、95 和 100 的扩增产物调整后的毛细管电泳图。

图 5 部分荧光标记引物扩增产物的毛细管电泳峰图
Fig. 5 Plot of capillary electrophoresis of some fluorescence labeled primers' amplification

表 1 28 对 SSR 多态性引物序列信息

Table 1 Polymorphism sequence information of 28 pairs of primers

名称	目的 片段	重复 基元	引物	名称	目的 片段	重复 基元	引物
BFURSSR1191	256	(CT)6	F:ATAGGCTTGGTTTCTGCAGGTAT R:ACAGAGCCATGAATTGTCTCATT	BFURSSR12081	150	(GGT) 5	F:GTGCAACGGTGCCTCAACTAA R:AAAGCTACCCACCACCTCCT
BFURSSR2763	184	(ACT)5	F:TGACTAGAAGAAGTTGCTTTATTGGA R:GTCTAAGCAAAGAGGCCTAACTAGA	BFURSSR13531	152	(GTA)5	F:TGCTCGTTTTGGGAACCTAC R:AAAAACCATTTTTCACACGCC
BFURSSR3331	202	(AAC)5	F:TCCTCTTATTGAAATGGCCG R:GGCTTCACCTCAACGTAAG	BFURSSR13763	145	(AAG)5	F:CTCTTTGTCATCATTCGTCATC R:AACAAAACAACCCATCATGGA
BFURSSR3868	185	(GGTTG)5	F:GGAGAGAACGTTGGCTATTGAA R:CTAAACCTCTTTACCGGAGCA	BFURSSR13793	189	(AT)6	F:TCCCTTAATTCACTCGCTCG R:GATTGCTCGCCTGTCTCTCT
BFURSSR5672	211	(AG)6	F:GATCTGGTGCAACATAACTGGA R:TTTGGCGTTTCTCTCTCAGACT	BFURSSR15872	171	(AC)6	F:AAGTTCTCAACTCGATCCCG R:TTGCTTGCAGTTTTGTTTGG
BFURSSR5730	241	(CAA)5	F:TCCCTTCCCTTCTCTTCTCTTC R:CTGGATCTCAGCCTCTTCATTT	BFURSSR15966	168	(TC)8	F:CTTGACAGTCACGCCAGAGA R:TTGCAAGAGGATTAAACGGC
BFURSSR5762	228	(GA)7	F:CTAATGACGTTTCGGGGAATC R:TCCAACGGAAATGTATCACG	BFURSSR16557	194	(TC)6	F:GTCCTCCACACTCCCACT R:CGCCATGTACAGTACTGCT
BFURSSR10357	159	(GAT)5	F:GCTAGTTGAGATCTTTGGTAGCATT R:CAACCGCTTCAAGATATTGC	BFURSSR16676	147	(TCT)6	F:GAAATCGATTCTCTCGCCTG R:GGTAATGGTGGTTGTGAGGG
BFURSSR10687	243	(GA)7	F:TAACCTCCACGAAATCCCTCAT R:CTGAGGACGTATCTGTGGTGAC	BFURSSR16820	165	(TGA)5	F:AATGCGCTTGCCATTAAAAG R:CACCCCTTCGTCTCACTCAT
BFURSSR18100	149	(GAC)5	F:CATTCTTTGGGGCCATACTG R:CTCTGTTTCTGTCTCGCGG	BFURSSR16863	158	(GA)6	F:GCTCCACGCCTCTATTCTTG R:CAGCAGCCACCTTCTCTACC
BFURSSR18547	124	(CT)6	F:TGCACTCCCTTTTCATTTGT R:TGAGTAGGTGGAAGGCCAG	BFURSSR16898	149	(AG)6	F:AGTGAATGGGAAGCCAAAA R:GATGGCCTTATGTTGGTTGG
BFURSSR18929	251	(CT)7	F:AGTAGTTGCGAAGCCAAAA R:AGCGAAAAGCTGTGGTGTTC	BFURSSR16903	156	(AAT)5	F:CTCATCAACCAGAATACACCCA R:GGTCAGGCTCTTCGTTTCA
BFURSSR19041	196	(GA)7	F:CTGAAGCAAAGCACAGACAAAC R:CTCTAGGCCTGAAGAAAACCT	BFURSSR17125	135	(AC)10	F:GAAAGCCCATGCATTCCTAA R:AAAGGGCAATTGATTGACG
BFURSSR17321	191	(CT)7	F:GTCTCCGACACAGGGATGTT R:CAATCCCTGAAGAATCGAA	BFURSSR17850	197	(GGC)5	F:CGGGCAGAGAAGAAGTTGAC R:CGACACTTACAGACTCGCCA

后代进行聚类分析,分析后代的性状分离情况,后代群体基于UPGMA的SSR遗传多样性分析。

杂交群体个体间的遗传距离在0.52~0.94之间,当遗传距离是0.52时,后代群体聚为2类,其中一类跟母本‘电子表’(HT-13)聚为一类,花色普遍黄色;另一类跟父本‘红法兰西’(HT-12)聚在一起,花色普遍为红色到粉色之间,没有黄色。当遗传距离是0.58时,群体聚为3类(图6),第Ⅰ类群与母本聚为一类,有4株,其中75号、42号为黄色花,并且这2株遗传距离较近,聚成一个小进化枝,6号、78号为黄色与红色的复色花;第Ⅱ类群跟父本一类,共48棵,63、98、12、5、36开粉色花,其余大多数绯红色或者红白复色;第Ⅲ类群可能兼有父母本的遗传信息,聚成介于父母本之间的一类,花色有红色、粉色、白色(稍有粉晕)。

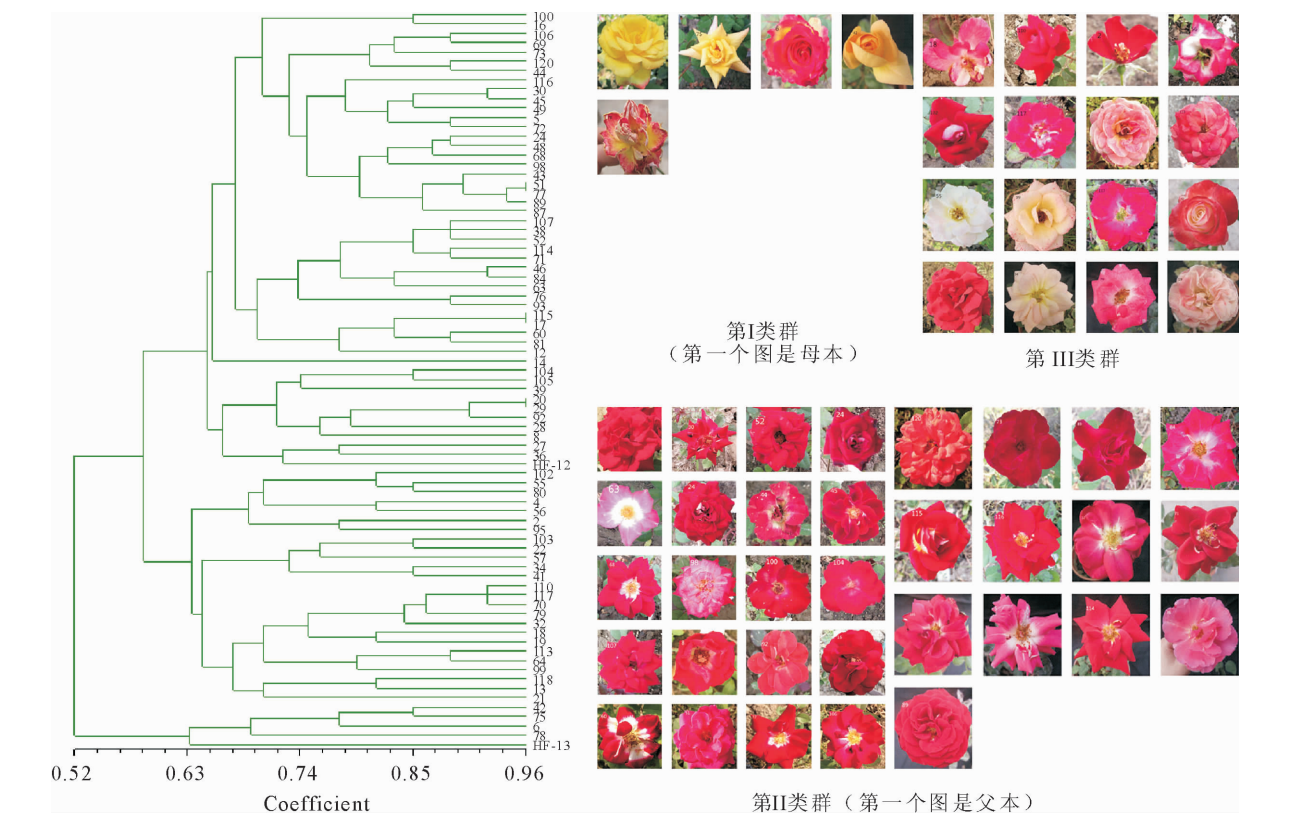
3 结论与讨论

利用月季转录组测序数据,共设计SSR引物80对,其中44对引物具有目的条带,28对引物中具有多态性。本试验通过SSR-PCR检测对杂交F₁代进行聚类分析,发现杂交后代大多跟父本聚类聚在一起。此外,结合后代的花色分离可以看出,后代大多数表现为红色或者粉色,只有2株遗传了母本黄

色花的性状,聚类结果与后代花色分离情况几乎一致。这说明所设计开发的引物可较全面地反映群体遗传信息,可以用于后代遗传多样性的评价。

研究表明,植物花色与诸多因素有关,相互作用比较复杂。花色主要受到6个因素的作用^[18],如:色素种类与含量、液泡pH值、辅色素、花瓣组织结构、金属离子、色素超分子复合体的聚集方式和化学特性^[19]。后代花色普遍偏向父本红色一类的可能原因分析如下:从花色遗传的角度分析,在百合^[20]、朱顶红^[21]等很多观赏植物中,均证明红色对黄色为显性性状。杨旭^[22]等通过对所搜集的月季品种进行聚类,寻找与花色相关的特异性引物,他的研究中也同样证明了控制花色的红色基因因为显性,黄色为隐性。本研究结果与杨旭结果一致,同时也发现,在黄色现代月季与红色现代月季品种杂交时,F₁代大部分都为红色花,少量粉色花,极少量的黄色花。

从花色合成的角度分析,深红色花一般都产生于花色素苷,黄色花的色素组成一般是类胡萝卜素或者类黄酮^[23]。父本‘红法兰西’(HT-12)为深红色,本身含有合成花色素苷的色素基因。母本‘电子表’(HT-13)盛开的时候虽然是黄色,但是临近凋谢时呈粉红色,分析其原因可能随着花朵的开放,色素含量和组成也发生变化,花色素苷代谢含量增多导



注:HT-13:‘电子表’;HT-12:‘红法兰西’;序号是子代的编号。

图 6 基于 UPGMA‘电子表’×‘红法兰西’ F1 代群体 SSR 聚类分析

Fig. 6 SSR cluster analysis of the hybrid F1 from ‘Funkuhr’ × ‘Red France’ based on UPGMA

致花色变红。研究表明现代月季色素基因的作用是可以叠加的^[24-25],母本虽为黄色,但其本身含有花色素苷合成的基因,因此在后代中可能有色素的叠加作用,存在大量的红色花。

花色素苷的生物合成主要由查尔酮合成酶(chalcone synsathase ,CHS)、查尔酮-黄烷酮异构酶(chalconeflavanone isomerase,CHI)、黄烷酮羟基化酶(flavanone-3-hydroxylase, F3H)、双氢黄酮醇还原酶(dihydroflavonol 4-reductase, DFR)、UDP-葡萄糖类黄酮-3-氧-葡萄糖基转移酶(UDP glucose flavonoid 3-oxy-glucosyl transferase,UF3GT) 相关基因调控,处于调控通路的下游。在植物液泡中,花色素苷以阳离子的形式存在。研究表明月季许多品种的花瓣外表皮细胞的 pH 值为 3.56~5.36,花色苷在较低 pH 下趋向于显红色且遗传稳定,这也是后代红色花占多数的原因。

随着目前对植物花色的分子机制以及遗传调控研究的深入,导入外源结构基因或者调节基因改变花色也得到广泛应用,并且在矮牵牛、菊花、月季、香石竹等多种观赏植物中取得成功。因此,开发适合的 SSR 分子标记对于进行性状关联分析、花色相关基因的研究与定位至关重要。

参考文献:

[1] 孙宪芝,赵惠恩. 月季育种研究现状分析[J]. 西南林学院学报, 2003,23(4):65-69.
SUN X Z,ZHAO H E. Research status analysis on rosebreeding [J]. Journal of Southwest Forestry College,2003,23(4):65-69. (in Chinese)

[2] 徐勤明,王国良,李晓征,等. 微型月季研究进展综述[J]. 江苏林业科技,2001,28(6):34-38.

[3] 邱显钦,鄢波. DNA 分子标记在月季中的应用[J]. 西南农业学报,2006,19(2):323-329.

[4] 张献龙,唐克轩. 植物生物技术[M]. 北京:科学出版社,2004.

[5] 肖尊安. 植物生物技术[M]. 北京:化学工业出版社,2005.

[6] 白锦荣,张启翔,潘会堂,等. 蔷薇属分子生物技术研究进展[J]. 西北林学院学报,2009,24(6):43- 47.
BAI J R ,ZHANG Q X,PAN H T, *et al.* Recent advances in molecular biotechnology of the genus Rosa L. [J]. Journal of Northwest Forestry University,2009,24(6):43- 47. (in Chinese)

[7] 陶红霞,张军科. 苹果遗传图谱的构建与 QTL 定位研究进展[J]. 西北林学院学报,2015,30(6):161-167.
TAO H X,ZHANG J K. Advances in genetic mapping and QTL localization of apple [J]. Journal of Northwest Forestry University,2015,30(6):161-167. (in Chinese)

[8] 胡宝刚,季静,王罡,等. 常用分子标记在月季种质鉴定和育种中的应用[J]. 天津农业科学,2009,15(5):6-9.

[9] DEBENER T,MATTIESCH L,VOSMAN B. A molecular marker map for rose[J]. Acta Hortic. ,2001,547:283-287.

[10] RUSANOV K ,KOVACHEVA N ,VOSMAN B,*et al.* Microsatellite analysis of *Rosa damascena* mill accessions reveals genetic similarity between genotypes for rose oil production and old damask rose varieties[J]. Theor. Appl. Genet. ,2005; 111(4):804-809.

[11] ZHANG L H,BYRNE D H,BALLARD R E,*et al.* Microsatellite marker development in rose and its application in tetraploid mapping [J]. J. Am. Soc. Hortic Sci. , 2005, 131: 380-387.

[12] 邱显钦,唐开学,蹇洪英,等. 云南大花香水月季居群遗传多样性的 SSR 分析[J]. 华中农业大学学报,2011,30(3):300-304. QIU X Q,TANG K X,JIAN H Y,*et al.* The genetic diversity of the populations of *Rosa odorata* Sweet var. *gigantea* through the SSR analysis [J]. Journal of Huazhong Agricultural University,2011,30(3):300-304. (in Chinese)

[13] 邵珠华,李名扬,邱显钦,等. 大花香水月季天然群体表型多样性研究[J]. 江苏农业科学,2010(2):184-187.

[14] 邱显钦,张颢,李树发,等. 基于 SSR 分子标记分析云南月季种质资源亲缘关系[J]. 西北植物学报,2009,29(9):1764-1771. QIU X Q,ZHANG H,LI S F,*et al.* Relative relationships analysis of rose germplasm in Yunnan based on SSR markers [J]. Acta Botanica Boreali-occidentalia Sinica, 2009, 29(9): 1764-1771. (in Chinese)

[15] 邱显钦,唐开学,王其刚,等. 云南长尖叶蔷薇自然居群遗传多样性分析[J]. 植物遗传资源学报,2013,14(1):85-90. QIU X Q,TANG K X,WANG Q G,*et al.* Genetic diversity analysis of populations of *Rosa longicuspis* in Yunnan [J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2013, 14(1): 85-90. (in Chinese)

[16] 罗玉兰,张冬梅. SSR 标记及形态性状鉴定红刺玫和月季杂交 F₁ 后代[J]. 分子植物育种. 2007,5(6):839-842. LUO Y L,ZHANG D M. Identification of F₁ hybrids derived from the combinations of *Rosa* and modern rose by SSR markers and morphological traits [J]. Molecular Plant Breeding, 2007,5(6):839-842. (in Chinese)

[17] SIMON S A,ZHAI J X,NANDETY R S,*et al.* Short-read sequencing technology for transcriptional analysis[J]. Annu. Rev. Plant Bio. ,2009,60:305-333.

[18] YU O,MATSUNO M,SUBRAMANIAN S. Floriculture, ornamental and plant biotechnology: advances and topical issues[M]. London: Global Science Books Press,2006:283-293.

[19] ANDO T,TATSUZAWA F,SAITO N,*et al.* Differences in the floral anthocyanin content of red petunias and *Petunia exserta*[J]. Phytochemistry,2000,54:495-501.

[20] 王秀刚. 百合种质资源的花色评价及形成分析[D]. 哈尔滨: 东北林业大学,2012.

[21] 闫芳,牛立新,原雅玲,等. 朱顶红若干观赏性状在 F₁ 代的遗传表现[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版,2009,37(7):122-128. YAN F,NIU L X,YUAN Y L,*et al.* Genetic performance of several traits in F₁ hybrids of different cross combinations in *Amaryllis vittata* [J]. Journal of Northwest A&F University: Nat. Sci. Ed. ,2009,37(7):122-128. (in Chinese)

[22] 杨旭. 基于 SSR 标记的现代月季遗传多样性研究及品种指纹数据库建立[D]. 保定: 河北农业大学,2013.

[23] 戴思兰. 园林植物遗传学[M]. 北京: 中国林业出版社,2005.

[24] DE VRIES D P,DUBOIS L A M. Inheritance of pigments[J]. American Rose Annual,1980,65:145-148.

[25] VRIES D P,GARRETSEN F,DUBOIS L A M,*et al.* Breeding research on rose pigments. II. Combining ability analyses of variance of four flavonoids in F₁ populations[J]. Euphytica,1980,29:115-120.

(上接第 39 页)

[20] 张培,郭俊杰,谌红辉,等. 西南桦 24 个无性系的幼苗叶绿素荧光特性[J]. 西北林学院学报,2016,31(2):126-129. ZHANG P,GUO J J,CHEN H H,*et al.* Chlorophyll fluorescence characteristics of twenty-four *Betula alnoides* clones[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2016, 31(2): 126-129. (in Chinese)

[21] YANG C,PENG C,DUAN J,*et al.* Responses of chlorophyll fluorescence and carotenoids biosynthesis to high light stress in rice seedling leaves at different leaf position[J]. Acta Botanica Sinica,2002,44(11):1303-1308.

[22] BILGER W,BJÖRKMAN O. Role of the xanthophyll cycle in photo protection elucidated by measurements of light-induced absorbance changes, fluorescence and photosynthesis in leaves of *Hedera canariensis* [J]. Photosynthesis Research, 1990,25(3):173-85.

[23] 吴志庄,李伟成,熊德礼,等. 不同竹龄青皮竹光合作用与荧光特性的比较[J]. 西北林学院学报,2013,28(6):33-36. WU Z Z,LI W C,XIONG D L,*et al.* A comparative study on photosynthetic and fluorescence characteristics among different aged *Bambusa textilis* [J]. Journal of Northwest Forestry University,2013,28(6):33-36. (in Chinese)

[24] 段爱国,保尔江,张建国,等. 华山松不同叶龄、部位针叶叶绿素荧光参数的动态变化规律[J]. 北京林业大学学报,2008,30(5):26-32. DUAN A G,BAO E J,ZHANG J G,*et al.* Dynamic laws of chlorophyll fluorescence parameters in needle leaves of different leaf ages and locations of *Pinus armandii* [J]. Journal of Beijing Forestry University,2008,30(5):26-32. (in Chinese)

[25] 陈辰,何小定,秦金舟,等. 4 种含笑叶片叶绿素荧光参数 Fv/Fm 特性的比较[J]. 安徽农业大学学报,2013,40(1):32-37.