

# 基于SRAP的叶子花种质资源遗传多样性及遗传关系分析

唐源江\*, 武晓燕, 曹雯静

(华侨大学花卉工程研究所, 福建 厦门 361021)

**摘要:** 为探讨叶子花(*Bougainvillea* sp.)品种间的遗传关系,应用 SRAP (Sequence-related amplified polymorphism)标记技术对 48 个叶子花品种的遗传多样性及遗传关系进行了分析。结果表明,从 208 对引物中筛选出 25 对多态性较高的引物组合,共扩增出 773 条清晰条带,其中多态性条带 750 条,平均多态性条带百分率达 97.02%。UPGMA 聚类分析结果表明,48 个叶子花品种的遗传相似性系数为 0.4058 ~ 0.8568,在遗传相似性系数 0.558 水平上,可分为 4 个类群,福摩萨叶子花与毛叶紫花叶子花各自成一类,其它品种分为两大类群。SRAP 标记可较好地反映叶子花种质间的遗传关系,为合理利用叶子花种质资源及提高育种效率提供了科学基础。

**关键词:** 叶子花; 种质资源; 品种; 遗传多样性; SRAP

doi: 10.3969/j.issn.1005-3395.2014.02.007

## Genetic Diversity and Relationship of *Bougainvillea* Germplasm Resources Based on SRAP Markers

TANG Yuan-jiang\*, WU Xiao-yan, CAO Wen-jing

(Institute of Flower Engineering, Huaqiao University, Xiamen 361021, China)

**Abstract:** In order to understand the genetic relationship of *Bougainvillea* germplasms, the SRAP (sequence-related amplified polymorphism) markers were firstly applied on analysis of genetic diversity and relationship among 48 *Bougainvillea* cultivars. The results showed that twenty-five primer pairs screened from 208 primer pairs amplified a total of 773 bands, of which 750 were polymorphic bands, and the percentage of polymorphic bands was 97.02%. The genetic similar coefficient of *Bougainvillea* germplasms ranged from 0.4058 to 0.8568, and UPGMA (Unweighted pair-group method arithmetic average) analysis showed that 48 cultivars could clustered into 4 groups with the genetic similarity coefficient of 0.558. However, the cultivar *B. glabra* 'Formosa' and *B. spectabilis* 'Spectabilis' were clustered into a separate cluster, respectively, the other cultivars were clustered into two groups. The genetic relationships of all cultivars examined would be made clear based on SRAP molecular markers. The results could provide scientific foundation for using germplasm resource appropriately and improving the efficiency of screening new cultivars.

**Key words:** *Bougainvillea spectabilis*; Germplasm resource; Cultivar; Genetic diversity; SRAP

叶子花属(*Bougainvillea* L.)植物隶属于紫茉莉科(Nyctaginaceae),最早由法国大探险家刘易斯·布

干维尔(Louis-antoine de Bougainville)于 1766 – 1769 年在南美洲的巴西发现并以他的名字命名<sup>[1]</sup>。该属

收稿日期: 2013-04-16

接受日期: 2013-10-11

基金项目: 华侨大学高层次人才引进项目(2009BS506)资助

\* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: yjtang2009@hqu.edu.cn

约有 18 种<sup>[2]</sup>,其中叶子花(*Bougainvillea spectabilis* Willd.)、光叶叶子花(*B. glabra* Choisy)以及秘鲁叶子花(*B. peruviana* H. & B.)等 3 原种具有较好的观赏价值,也是叶子花主要园艺品种的育种亲本。在这 3 原种的基础上经过自然杂交、人工育种等,形成了包括原种、变种、杂交种、栽培种等品种数量近 300 个的庞杂的种质资源体系,我国引种培育的有约 100 个品种<sup>[3]</sup>。叶子花种质资源已在我国园林园艺业获得广泛应用。

迄今为止,尽管在叶子花种质资源的收集、保存、分类鉴定及栽培育种等方面取得了一定进展,但问题仍然存在不少<sup>[4-5]</sup>。尤其在种质分类与品种鉴定方面,目前仍以传统的形态学依据为主,如叶子花苞片的颜色、叶色、叶形及枝条形态等,然而由于这些形态特征随着植株的生长发育从幼嫩至成熟的变化较为明显,且易受环境条件的影响,因此,从形态上区分叶子花品种存在一定的局限性;此外,由于大量人工选择的参与及互相引种,叶子花品种的演化轨迹及遗传关系变得更为复杂,谱系愈趋混乱;这些问题的存在不仅给叶子花种质资源管理者带来了新的难题,而且也给研究者们特别是育种工作者们提出了新的挑战。引入新的方法,特别是 DNA 分子标记技术,是解决种质分类鉴定困难及谱系混乱问题的有效途径。

DNA 标记技术已有几十种,较常用的有 RFLP、RAPD、AFLP、SSR 等,现已广泛应用于遗传多样性分析、遗传图谱构建、品种鉴定及遗传关系等方面的研究<sup>[6-12]</sup>。SRAP (Sequence-related amplified polymorphism, SRAP)标记<sup>[13]</sup>是在 SSR 的基础上设计的,与其它分子标记相比,具有实验操作过程简单快捷,多态性高,重复性好,产率中等,扩增谱带清晰,引物设计简单且具有通用性,成本低等优点,目前也已得到广泛应用<sup>[14-18]</sup>。近年来基于 DNA 分子标记技术研究叶子花遗传多样性及遗传关系的报道较少。Srivastava 等<sup>[19]</sup>曾应用 RAPD 标记研究了 21 份叶子花材料,目的在于确认叶子花杂种与亲本的关系及种质识别,结果表明 RAPD 标记比传统形态学方法更可靠;陈兆贵等<sup>[20]</sup>应用 ISSR 标记研究了 17 份叶子花材料,认为 ISSR 能有效揭示种质间的遗传差异,能很好地将所有种质材料区分开来,ISSR 标记适合于叶子花不同种质材料的鉴定,同时认为叶子花种质间的遗传多样性虽然较丰富,但种质的遗传基础仍比较狭窄,有必要进一步拓宽

其遗传基础。然而由于其研究材料的数量少且命名不规范,研究结论有待进一步确认;李房英等<sup>[21]</sup>利用 ISSR 标记研究了 68 份叶子花材料,得出了与陈兆贵等<sup>[20]</sup>相似的结论。不过,虽然他们研究的材料较多,但并没有对材料按国际登录名进行整理,因而难以在亲缘关系分析的基础上明晰其种源基础。从现有的叶子花分子标记研究来看,使用的方法有限,研究仍不够深入,种质分类与品种鉴定困难、谱系混乱等问题仍然较突出,这显然不利于我们今后对叶子花种质资源的管理和应用。鉴于此,本文拟应用 SRAP 标记进一步研究叶子花种质资源的遗传差异,以期揭示其遗传多样性规律,梳理种质间的谱系关系,为后续叶子花种质资源的规范管理、合理利用及良种繁育奠定基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

本研究所用材料均取自于厦门市园林植物园叶子花专类园。专类园的叶子花种质主要引自于福建、广东、广西、云南等我国叶子花主要种植区。各材料根据引种记录、登录名及特征描述进行了整理(表 1)。叶子花材料共 48 个品种,其中 1~35 号为记录较全的品种,隶属于 5 种(3 原种,2 杂交种),36~48 号(数字前加 \* 号)为记录不全,根据形态特征描述尚不能确定种系归属的品种,暂以属名加品种加词命名并置于后。

采集各种质材料的嫩叶装入自封袋,每袋 10~20 片叶,加入硅胶,使硅胶充满到袋子的 2/3,一般为 1:20(材料重/硅胶重),保留少量空气封袋,使叶片与硅胶混匀,以便快速干燥。第一次加入的硅胶量一定要充足,确保叶片完全干燥,待叶片彻底干燥后存放于 -80℃ 冰箱备用。

### 1.2 总 DNA 的提取与检测

采用改良 CTAB 法<sup>[22]</sup>提取叶片基因组 DNA,用 0.8% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 浓度及完整性。最后用超纯水将 DNA 定量到 10 ng  $\mu\text{L}^{-1}$ , -20℃ 保存备用。

### 1.3 SRAP-PCR 引物筛选及其检测

参考 Budak 等<sup>[23]</sup>的引物,由 13 条正向引物,16 条反向引物,随机组成 208 对引物组合,采用优化

表 1 供试叶子花种质

Table 1 List of *Bougainvillea* samples tested

序号 No.	种 Species	品种 Cultivar
1	光叶子花 <i>Bougainvillea glabra</i>	光叶斑叶紫花叶子花 'Variegata'
2		金边浅紫叶子花 'Mrs Eva Mauve Variegata'
3		金叶紫花叶子花 'Golden Lady'
4		新加坡大宫粉叶子花 'Singapore Beauty'
5		福摩萨叶子花 'Formosa'
6		新加坡大白花叶子花 'Singapore White'
7		粉蝶叶子花 'Fatima'
8		塔紫叶子花 'Pink pixie'
9		斑叶塔紫叶子花 'Pink Pixie Variegata'
10		亮叶紫花叶子花 'Sanderiana'
11		金斑大红叶子花 'Lateritia Gold'
12		银斑枣红叶子花 'Butt Variegata'
13	叶子花 <i>B. spectabilis</i>	枣红叶子花 'Gloucsster Royal'
14		胭脂红叶子花 'Rose Catalina'
15		砖红叶子花 'Lateritia'
16		毛叶紫花叶子花 'Spectabilis'
17		细叶小桃红叶子花 'Chilli Red'
18		金斑橙红叶子花 'Poultolni Orange Variegata'
19		银斑深红叶子花 'Tropical ainbow'
20	秘鲁叶子花 <i>B. peruviana</i>	异叶叶子花 'Mona Lisa'
21		宫粉叶子花 'Mrs.H.C.Buck'
22		金心叶子花 'Thimma'
23		樱花叶子花 'Imperial Delight'
24		花叶子花 'Surprise'
25	<i>B. × buttiana</i>	橙红叶子花 'Afterglow'
26		水红色叶子花 'Rosenka'
27		柠檬黄叶子花 'Golden Glow'
28		珊红叶子花 'Manila Magic Pink'
29		怡红叶子花 'Los Banos Beauty'
30		黄锦叶子花 'Roseville' s Delight'
31		洒金大红叶子花 'Red Dania'
32		大叶塔紫叶子花 'Kuala Lumpur Beauty'
33	<i>B. × specto-glabra</i>	小叶浅紫叶子花 'Tequila Sunrise'
34		玲玲红叶子花 'Mardi Gras'
35		黄蝶叶子花 'Ratana Yellow'
*36	<i>Bougainvillea</i> sp.	皱叶樱花叶子花 'Zhouye Yinhua'
*37		金斑白花叶子花 'Jingban Baihua'
*38		暗斑白花叶子花 'Angban Baihua'
*39		塔橙叶子花 'Tacheng Yinzi'
*40		银色紫斑叶子花 'Yingse Ziban'
*41		银斑宫粉叶子花 'Yinban Gonfen'
*42		银斑柠檬黄叶子花 'Yinban Yingmenghuang'
*43		白里透红叶子花 'Baili Touhon'
*44		银斑细叶小花深紫叶子花 'Yibanxiy Xiaohuashenzi'
*45		洒金宫粉叶子花 'Saking gonfen'
*46		橙红双色叶子花 'Chenhong Shuangse'
*47		银斑深紫叶子花 'Yingban shenzi'
*48		金斑叶紫花叶子花 'Kingban Zihua'

\*: 根据形态特征尚不能确定种系归属的品种。

\*: The cultivars were not identified germ line based on morpho-agronomic characters.

的 SRAP-PCR 体系<sup>[24]</sup>:25  $\mu\text{L}$  体系中,包含  $10 \times \text{PCR}$  buffer 2.5  $\mu\text{L}$ , 60 ng 模板 DNA、 $\text{Mg}^{2+}$  2.5  $\text{mmol L}^{-1}$ 、dNTPs 0.25  $\text{mmol L}^{-1}$ 、引物 0.3  $\mu\text{mol L}^{-1}$ 、*Taq* DNA 聚合酶 1.0 U。对‘樱花叶子花’的 DNA 进行 PCR 扩增,扩增产物用 6.0% 非变性聚丙烯酰胺凝胶检测。EB 染色,在凝胶成像系统中观察并拍照。

#### 1.4 数据统计处理

根据扩增结果,在同一电泳迁移位置上,清晰且可重复出现的条带记为“1”,没有出现条带的记为“0”,从而生成由“1”和“0”组成的原始矩阵。计算多态性引物的总扩增条带数、多态性条带数和多态性条带比率。按照 Botstein 公式计算多态信息含量(Polymorphism information content, PIC)。用 NTSYS-pc2.10e 软件 UPGMA(非加权组平均法)方法进行聚类分析构建聚类图,计算遗传相似性系数(GS)。

## 2 结果和分析

### 2.1 遗传多样性分析

从 208 对引物中筛选出 25 对可以扩增出较多特异性条带、且条带清晰的引物。图 1 为引物对 Me2/Em4 对 23 个叶子花品种的 SRAP-PCR 扩增

图谱。用 25 对引物对 48 个叶子花品种进行 SRAP 扩增,总共获得 773 条带, DNA 片段长度在 100 ~ 2000 bp 之间,不同引物对的扩增带数为 17 ~ 50 条不等。在 773 条扩增带中,多态性条带有 750 条,平均多态性条带百分率为 97.02%。

PIC 值是衡量引物合适程度的重要指标,可以反映引物揭示信息量的多少, PIC 值越高包含的信息量越大,当  $\text{PIC} > 0.5$  时,引物为高度多态性信息引物。在供试材料中, 25 对 SRAP 引物检测到的 PIC 值为 0.9106 ~ 0.9690,平均为 0.9463,均为多态性引物。可见所筛选出来的引物均为高度多态性信息引物,反映了叶子花种质具有较高的基因多样性水平(表 2)。

### 2.2 聚类分析

用 NTSYS-pc2.10e 软件的 UPGMA(非加权组平均法)方法进行聚类分析并构建聚类图,计算遗传相似性系数(GS)。从图 2 可见, 48 个叶子花品种间的遗传相似系数在 0.4058 ~ 0.8568 之间,说明供试叶子花种质的遗传背景具有较丰富的多样性。其中 12 号(银斑枣红叶子花)和 15 号(砖红叶子花)遗传相似系数最大为 0.8568, 5 号(福摩萨叶子花)和 27 号(柠檬黄叶子花)的遗传相似系数最小为 0.4058。在相似系数 0.558 水平上,所有供试品

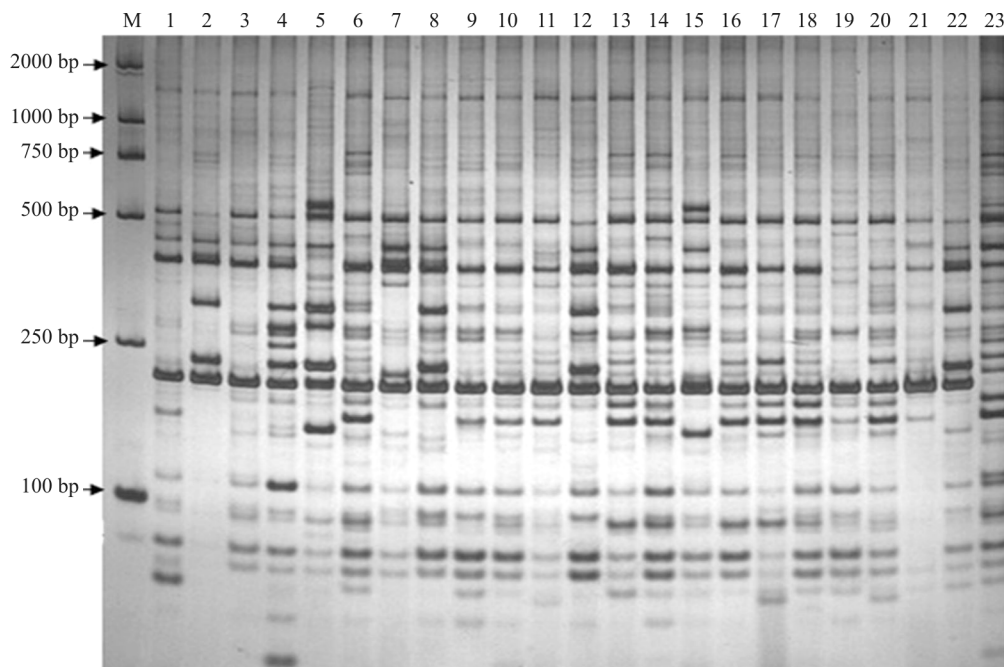


图 1 引物组合 Me2/Em4 的 SRAP-PCR 扩增结果。M: DNA marker; 1 ~ 23 见表 1。

Fig. 1 SRAP-PCR amplification by primer pair of Me2/Em4. M: DNA marker; 1 - 23 see Table 1.

表 2 SRAP 引物对的扩增结果

Table 2 Results and polymorphism of SRAP primer combinations

序号 No.	引物对 Primer pair	总带数 Total number of bands	多态性条带数 Number of polymorphic band	多态性条带百分率 % of polymorphic band	多态性信息含量 Polymorphism information content (PIC)
1	Me1/Em2	22	18	81.82	0.9106
2	Me1/Em9	19	19	100	0.9541
3	Me2/Em1	23	23	100	0.9429
4	Me2/Em2	24	23	95.83	0.9438
5	Me2/Em4	19	17	89.47	0.9292
6	Me2/Em8	25	25	100	0.9471
7	Me2/Em11	34	34	100	0.9257
8	Me2/Em14	34	31	91.18	0.9440
9	Me3/Em2	28	28	96.43	0.9296
10	Me3/Em4	31	31	100	0.9423
11	Me3/Em7	41	41	100	0.9498
12	Me3/Em8	28	26	92.86	0.9446
13	Me3/Em9	31	31	100	0.9587
14	Me3/Em11	30	30	100	0.9436
15	Me3/Em16	22	22	100	0.9359
16	Me5/Em15	37	35	94.59	0.9571
17	Me5/Em6	25	23	92.00	0.9443
18	Me6/Em2	36	35	97.22	0.9583
19	Me6/Em9	44	43	97.73	0.9605
20	Me6/Em15	34	34	100	0.9653
21	Me9/Em5	36	36	100	0.9690
22	Me9/Em11	50	50	100	0.9593
23	Me12/Em9	34	32	94.12	0.9540
24	Me13/Em3	41	39	95.12	0.9637
25	Me13/Em16	25	25	100	0.9240
平均 Mean		30.92	30	97.02	0.9463

种可明显分为 4 类(即 I、II、III、IV)。其中 I 类包括 15 个品种, II 类包括 31 个品种, III 类仅毛叶紫花叶子花 1 个品种, IV 类也仅福摩萨叶子花 1 个品种(图 2)。

### 3 讨论

#### 3.1 关于叶子花种质资源的遗传多样性

SRAP 分子标记是 Li 和 Quiros<sup>[13]</sup>首先从芸薹类作物中开发出来的。SRAP 标记是针对基因的外显子 GC 含量丰富而启动子和内含子里 AT 丰富的特点设计引物进行扩增,可检测基因的可读框区

域,体现的是种质间基因的多态性,检测的结果更能反映种质的遗传性和亲缘关系。目前不仅在水稻(*Oryza sativa*)、番茄(*Lycopersicon esculentum*)、黄瓜(*Cucumis sativus*)、棉花(*Gossypium hirsutum*)、大蒜(*Allium sativum*)、烟草(*Nicotiana tabacum*)、辣椒(*Capsicum annuum*)、马铃薯(*Solanum tuberosum*)、芹菜(*Apium graveolens*)、拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)、油菜(*Brassica campestris*)、小麦(*Triticum aestivum*)等经济作物的研究中得到成功应用,而且在果树及林木遗传育种研究工作中也得到广泛应用<sup>[14-17]</sup>。在观赏植物中的应用,虽然起步晚,但发展迅速。已见报道的有近百种观赏植物,主要应用涵盖了遗传

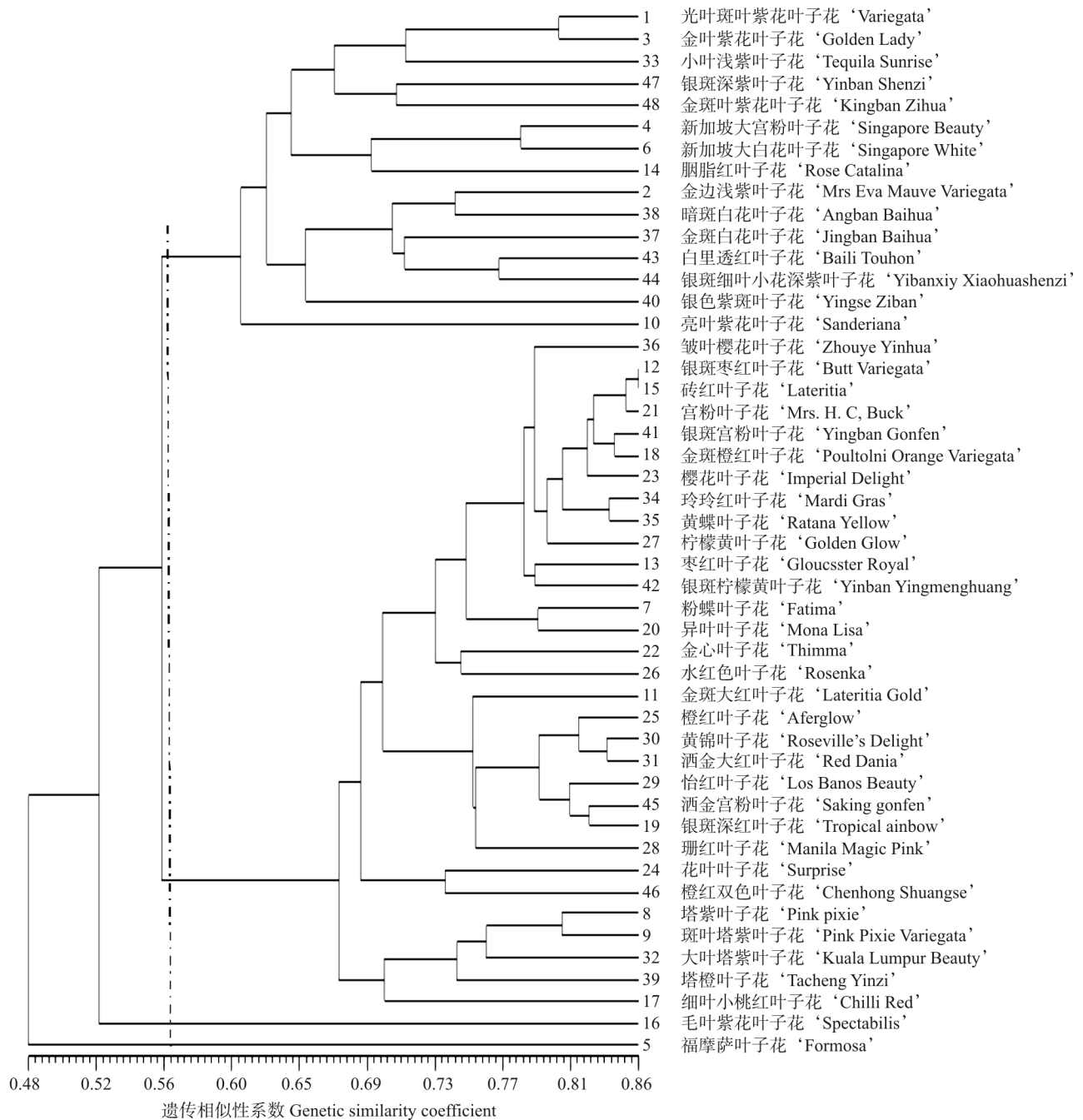


图2 基于 SRAP 标记的聚类分析图

Fig. 2 UPGMA dendrogram of 48 samples based on SRAP markers

多样性评价与亲缘关系分析、种质资源的鉴定与遗传图谱的构建、重要性状的分子标记与基因克隆等方面<sup>[18]</sup>。本研究应用 SRAP 标记对 48 个叶子花品种的遗传多样性进行分析,结果表明,25 对引物对 48 个叶子花品种进行 SRAP 扩增,平均多态性条带百分率达 97.02%,说明 SRAP 标记技术在叶子花种质的遗传多样性研究中有较高的检出率。样本间的遗传相似系数在 0.4058 ~ 0.8568 之间,结合遗

传多样性分析相关参数值看(表 2),供试样本间具有丰富的遗传多样性,这与 Richa Srivastava 等<sup>[19]</sup>基于 RAPD 标记的研究结果一致。目前观赏叶子花种质的遗传基础主要源于叶子花(*B. spectabilis*)、光叶子花(*B. glabra*)以及秘鲁叶子花(*B. peruviana*)等 3 原种及由它们衍生的杂交种,而本研究的材料基本涵盖了这些种质范围,因此,具有丰富的遗传多样性应是叶子花种质遗传多样性水平的真实反

映。然而陈兆贵等<sup>[20]</sup>应用 ISSR 标记研究 17 个叶子花品种的遗传多样性, 后来李房英等<sup>[21]</sup>应用同样的标记对 68 份叶子花种质进行了进一步的研究, 他们均认为叶子花品种间的遗传相似性较大, 遗传多样性不是特别丰富, 品种之间的种质资源交流较多, 进化分支的差异较小。从他们的研究看, 主要的问题在于材料名称信息不全, 仅有中名, 由于叶子花种质中名的命名及名称记录常常存在不规范现象, 因而在不确定其研究材料的种系范围的情况下, 尽管不影响对供试材料间的区分及亲缘关系判断, 但会影响其整体研究结论的参照性和适用性。事实上, 李房英等的分析也正好说明了这点, 他们经过聚类认为 68 份材料隶属于 3 种(2 原种, 1 杂交种), 因此, 遗传多样性水平偏低, 应是由于他们的研究材料遗传基础相对较窄而引起的, 结论的适用范围有它的局限性。

### 3.2 关于叶子花种质间的遗传关系及谱系

SRAP 标记的 UPGMA 聚类分析结果表明, 供试 48 个品种可以清楚地被区分开来。在遗传相似性系数 0.558 水平上, 样本可明显分为 4 类, 第一类包括 15 个品种, 约占供试总样本数的 1/3, 从登录信息及形态特征上看, 其中 6 个品种源于原种 *B. glabra*, 1 个品种源于原种 *B. spectabili*, 1 个品种源于杂交种 *B. × specto-glabra*, 还有 7 个形态上暂无法确定归属的品种, 然而从聚类结果可以清楚地看到, 15 个品种应是由上述两原种和 1 杂交种发展而来, 7 个形态上不能确定归属的品种应属引种栽培过程中记录缺失或无记录现象, 可根据它们与已知品种的遗传及亲缘关系确定其归属并合理命名; 第二类包括 31 个品种, 它们的遗传相似性系数较大, 亲缘关系较近, 其中 3 个品种源于 *B. glabra*、7 个品种源于 *B. spectabili*、5 个品种源于 *B. peruviana*、10 个品种源于 *B. × buttiana*、暂未确定归属的品种 6 个。根据聚类分析结果, 在遗传相似性系数 0.69 处又可细分为 3 支, 其中塔紫叶子花(8)、斑叶塔紫叶子花(9)、大叶塔紫叶子花(32)、塔橙叶子花(39)及细叶小桃红叶子花(17)等 5 个品种聚成一支, 与其它品种遗传距离较远, 分化较早; 花叶子花(24)和橙红双色叶子花(46)组成一支; 其余的 24 个品种间的相似性系数较大, 亲缘关系近, 暂未确定归属的 6 个品种也可依据相互间的亲缘关系确定种系归属。

值得注意的是, 本研究的材料涵盖了 5 种, 然而 SRAP 标记的 UPGMA 聚类结果显示种质间并没有严格按种源各自形成独自的类群, 而是存在交叉聚类, 如 I 类中至少包含了 *B. glabra*、*B. spectabili* 和 *B. × specto-glabra* 等 3 种。原因可能主要有两方面: 一是 SRAP 为共显性标记, 可以检测出显性和隐性的等位基因, 在区分纯合与杂合基因上有优势, 因此叶子花种质可能在遗传基质上存在一些特异性基因; 二是存在不同种源的基因渗透, 引起种源基因的异质性, 从而导致交叉聚类的发生。郭海林等<sup>[25]</sup>曾利用 SRAP 标记技术对 5 种 1 变种结缕草属植物进行研究, 也发现种质间存在交叉聚类现象, 并不是同一个种源的材料完全聚类。这与本研究的结果相似。

### 参考文献

- [1] Xu S X, Wang L S, Shu Q Y, et al. Progress of study of the biology of the resource plant *Bougainvillea* [J]. *Chin Bull Bot*, 2008, 25(4): 483-490.  
徐凤侠, 王亮生, 舒庆艳, 等. 三角梅属植物的生物学研究进展 [J]. *植物学通报*, 2008, 25(4): 483-490.
- [2] *Delectis Florae Reipublicae Popularis Sinicae, Agendae Academiae Sinicae Edita. Florae Reipublicae Popularis Sinicae, Tomus. 26* [M]. Beijing: Science Press, 1996: 1-6.  
中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志, 第26卷 [M]. 北京: 科学出版社, 1996: 1-6.
- [3] Zhou Q. Research on germplasm resource and propagational technique of *Bougainvillea* L. in China [J]. *Chin Agri Sci Bull*, 2008, 24(12): 321-324.  
周群. 中国叶子花属植物种质资源及其繁殖技术研究 [J]. *中国农学通报*, 2008, 24(12): 321-324.
- [4] Zhou Q, Huang K F, Ding Y L, et al. Investigation and taxonomic identification on introduced ornamental varieties in *Bougainvillea* in China [J]. *Acta Agri Jiangxi*, 2011, 23(5): 53-56.  
周群, 黄克福, 丁印龙, 等. 中国引栽三角梅属观赏品种的调查与分类鉴定 [J]. *江西农业学报*, 2011, 23(5): 53-56.
- [5] Steffen J D, Sachs R M, Hackett W P. Growth and development of reproductive and vegetative tissues of *Bougainvillea* cultured *in vitro* as a function of carbohydrate [J]. *Amer J Bot*, 1988, 75(8): 1219-1224.
- [6] Gong W, Hu T X, Gong Y B, et al. Callus induction and plant regeneration from stem segment of *Bougainvillea glabra* Choisy [J]. *Acta Hort Sin*, 2005, 32(6): 1125-1128.  
龚伟, 胡庭兴, 宫渊波, 等. 光叶子花茎段愈伤组织的诱导及其植株再生的研究 [J]. *园艺学报*, 2005, 32(6): 1125-1128.
- [7] Zhu Y F, Zhu S J, Li Y P, et al. Application of ISSR molecular marker in plant germplasm research [J]. *Seed*, 2010, 29(2): 55-59.

- 朱岩芳, 祝水金, 李永平, 等. ISSR分子标记技术在植物种质资源研究中的应用 [J]. 种子, 2010, 29(2): 55–59.
- [8] Guan X Q, Wang K L, Liu Q H, et al. The application of RAPD technique in ornamental plants research [J]. North Hort, 2007(4): 75–77.  
管晓庆, 王奎玲, 刘庆华, 等. RAPD技术在我国观赏植物中的应用 [J]. 北方园艺, 2007(4): 75–77.
- [9] Sun S X, Li J, Chen D, et al. Molecular identification of peach germplasm by ISSR markers [J]. Chin Agri Sci Bull, 2011, 27(4): 173–177.  
孙淑霞, 李靖, 陈栋, 等. ISSR分子标记技术在桃品种鉴定中的应用 [J]. 中国农学通报, 2011, 27(4): 173–177.
- [10] Rout G R, Senapati S K, Aparajita S. Studies on the genetic relationship among 13 cultivars of *Calathea* (Marantaceae) using RAPD and ISSR markers [J]. Adv Hort Sci, 2007, 21(3): 147–155.
- [11] Hu W S, Li T, Huang A P, et al. Genetic diversity and relationship analysis of 43 wild loquat (*Eriobotrya japonica*) germplasm in Yunnan [J]. Fujian Fruits, 2010(4): 20–28.  
胡文舜, 李韬, 黄爱萍, 等. 43份云南野生枇杷种质遗传多样性与亲缘关系分析 [J]. 福建果树, 2010(4): 20–28.
- [12] Gui F H, Guo J Y, Wan F H. Application of ISSR molecular marker in invasive plant species study [J]. Chin J Appl Ecol, 2007, 18(4): 919–927.  
桂富荣, 郭建英, 万方浩. ISSR分子标记在入侵植物研究中的应用 [J]. 应用生态学报, 2007, 18(4): 919–927.
- [13] Li G, Ouiros 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]. Theor Appl Genet, 2001, 103(7): 455–461.
- [14] Liu Y P, Guo Z F, Liu Y D, et al. Genetic diversities of *Populus* in Xinjiang based on SRAPs markers [J]. Plant Physiol Commun, 2008, 44(2): 225–228.  
刘艳萍, 郭志富, 刘玉东, 等. 应用SRAP标记分析新疆地区主要杨属树种的遗传多样性 [J]. 植物生理学通讯, 2008, 44(2): 225–228.
- [15] Liu Z Y, Fan W H, Shen S H. SRAP marker in *Broussonetia papyrifera* [J]. Sci Silv Sin, 2009, 4(2): 54–58.  
刘志远, 范卫红, 沈世华. 构树SRAP分子标记 [J]. 林业科学, 2009, 4(2): 54–58.
- [16] Yu C G, Yin Y L, Xu J H. Identification of *Taxodium* hybrids by SRAP analysis [J]. Sci Silv Sin, 2009, 45(2): 142–146.  
於朝广, 殷云龙, 徐建华. 用SRAP标记鉴定落羽杉属植物杂种 [J]. 林业科学, 2009, 45(2): 142–146.
- [17] Zhang T, Qu S P, Cui C S. Application of SRAP marker on genetics and breeding of vegetable crops [J]. J NE Agri Univ, 2009, 40(1): 119–122.  
张彤, 屈淑平, 崔崇士. SRAP标记在蔬菜作物遗传育种中的应用 [J]. 东北农业大学学报, 2009, 40(1): 119–122.
- [18] Sun J Q, Liang J G, Shi S C, et al. Applications of SRAP marker in genetic breeding of ornamental plants [J]. Mol Plant Breed, 2010, 8(3): 577–588.  
孙佳琦, 梁建国, 石少川, 等. SRAP标记在观赏植物遗传育种中的应用 [J]. 分子植物育种, 2010, 8(3): 577–588.
- [19] Srivastava R, Shukla S, Soni A, et al. RAPD-based genetic relationships in different *Bougainvillea* cultivars [J]. Crop Breed Appl Biotechn, 2009(9): 154–163.
- [20] Chen Z G, Huang Y T, Chen J Y. ISSR research on *Bougainvillea* germplasm resources [J]. J Jiangsu Agri Sci, 2009(2): 57–58.  
陈兆贵, 黄雁婷, 陈健仪. 勒杜鹃种质资源的ISSR分子鉴定技术研究 [J]. 江苏农业科学, 2009(2): 57–58.
- [21] Li F Y, Huang Y J, Wu S H. ISSR analysis of germplasm resources of *Bougainvillea spectabilis* Wild. [J]. Chin J Trop Crops, 2011, 32(9): 1692–1696.  
李房英, 黄彦晶, 吴少华. 三角梅种质资源的ISSR分析 [J]. 热带作物学报, 2011, 32(9): 1692–1696.
- [22] Chen K S, Li F, Xu C J, et al. An efficient macro-method of genomic DNA isolation from *Actinidia chinensis* leaves [J]. Hereditas, 2004, 26(4): 529–531.  
陈昆松, 李方, 徐昌杰, 等. 改良CTAB法用于多年生植物组织基因组DNA的大量提取 [J]. 遗传, 2004, 26(4): 529–531.
- [23] Budak H, Shearman R C, Parmaksiz I, et al. Molecular characterization of *Buffalograss* germplasm using sequence-related amplified polymorphism markers [J]. Theor Appl Gen, 2004, 108(5): 328–334.
- [24] Wu X Y, Tang Y J, Cao W J. Optimization of SRAP-PCR reaction system and primer screening in *Bougainvillea* [J]. J Huazhong Norm Univ (Nat Sci), 2012, 46(3): 335–339.  
武晓燕, 唐源江, 曹雯静. 三角梅SRAP-PCR反应体系的建立及引物筛选 [J]. 华中师范大学学报: 自然科学版, 2012, 46(3): 335–339.
- [25] Guo H L, Zheng Y Q, Chen X, et al. Genetic diversity and relationships of *Zoysia* grass as revealed by SRAP markers [J]. Acta Prata Sin, 2009, 18(5): 201–210.  
郭海林, 郑铁琦, 陈宣, 等. 结缕草属植物种间关系和遗传多样性的SRAP标记分析 [J]. 草业学报, 2009, 18(5): 201–210.