

台湾含笑变异株群‘中山含笑’的形态特征和遗传变异分析

殷云龙^①, 王芝权, 杨颖, 刘向东, 於朝广

[江苏省中国科学院植物研究所(南京中山植物园), 江苏南京 210014]

摘要: 从台湾含笑(*Michelia compressa* (Maxim.) Sarg.)自然授粉子代中发现18株表型明显变异单株,命名为‘中山含笑’(*Michelia ‘Zhongshanhanxiao’*)。为明确‘中山含笑’的表型变异及遗传变异状况,弄清其遗传背景和亲缘关系,以‘中山含笑’18株单株、台湾含笑母树及其表型无变异子代单株为样本,在表型特征观察基础上,采用荧光毛细管电泳技术,利用5对SSR引物进行扩增和分析。结果显示:与母树相比,‘中山含笑’的整株、叶片和花的形状均无明显变化,但叶片和花的大小却变化明显;4年生‘中山含笑’的株高、地径、胸径、冠幅、叶长和叶宽分别是同龄表型无变异子代的1.41~1.55、2.49~2.97、2.79~3.16、2.38~2.74、1.40~2.04和1.50~2.17倍,且‘中山含笑’的叶长和叶宽以及花被片的长度和宽度均大于母树,花被片的长度和宽度分别是母树的3.50~4.53和4.33~7.00倍。SSR标记分析结果表明:母树与表型无变异子代的扩增结果完全一致,但与‘中山含笑’18株单株的扩增结果存在明显差异。5个SSR位点中,有4个在母树与表型无变异子代中为纯合位点,而这5个位点在‘中山含笑’大部分单株中为杂合位点。‘中山含笑’供试单株的观测等位基因数、有效等位基因数、观测杂合度、期望杂合度、Shannon’s多样性指数和Nei’s基因多样性指数分别为表型无变异子代的2.50、1.67、3.44、4.06、5.73和4.74倍。母树与表型无变异子代单株的遗传距离均为0.000,表明二者间无遗传差异;‘中山含笑’单株间的遗传距离为0.000~0.539,‘中山含笑’与母树的遗传距离为0.192~0.399,说明‘中山含笑’单株之间、‘中山含笑’与母树之间均存在遗传分化。通过聚类分析,在遗传一致度0.50处,可将供试样本分成2组,其中母树与表型无变异子代单株聚为I组,‘中山含笑’18株单株聚为II组;在遗传一致度0.64处,‘中山含笑’18株单株还可进一步分为4个亚组。综合分析结果表明:‘中山含笑’供试单株在表型性状上具有明显的超亲特征,且较表型无变异子代具有更高的遗传多样性;除含有台湾含笑母树的遗传信息外,‘中山含笑’供试单株还含有来源于母树之外的遗传信息,据此推测‘中山含笑’为台湾含笑与其他木兰科植物的种间杂交后代。

关键词: 台湾含笑;‘中山含笑’;表型特征;SSR分子标记;遗传变异;遗传关系

中图分类号: Q946-33; S685.99 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-7895(2022)03-0044-10

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2022.03.06

Analysis on morphological characteristics and genetic variation of *Michelia compressa* variants *Michelia ‘Zhongshanhanxiao’* YIN Yunlong^①, WANG Zhiqian, YANG Ying, LIU Xiangdong, YU Chaoguang (Institute of Botany, Jiangsu Province and Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210014, China), *J. Plant Resour. & Environ.*, 2022, 31(3): 44–53

Abstract: Eighteen individuals with obvious phenotypic variations were found from progenies of *Michelia compressa* (Maxim.) Sarg. with natural pollination, and were named as *Michelia ‘Zhongshanhanxiao’*. To clarify the phenotypic and genetic variations of *M. ‘Zhongshanhanxiao’* and figure out its genetic

收稿日期: 2021-06-25

基金项目: 江苏省农业科技自主创新资金资助项目[CX(21)3044]

作者简介: 殷云龙(1964—),男,江苏丹阳人,博士,研究员,主要从事植物遗传育种和生态保护等方面的研究。

①通信作者 E-mail: yinyl066@sina.com

引用格式: 殷云龙,王芝权,杨颖,等.台湾含笑变异株群‘中山含笑’的形态特征和遗传变异分析[J].植物资源与环境学报,2022,31(3):44–53.

background and relationship, eighteen individuals of *M. ‘Zhongshanhanxiao’*, mother tree of *M. compressa* and its progenies without phenotypic variation were selected as samples, and amplification and analysis were carried out with five pairs of SSR primers by using fluorescence capillary electrophoresis technique based on observations of phenotypic characteristics. The results show that there is no significant variation in shape of whole plant, leaf, and flower of *M. ‘Zhongshanhanxiao’* compared with the mother tree, but the sizes of leaf and flower vary obviously; the height, ground diameter, diameter at breast height, crown width, leaf length, and leaf width of four-year-old *M. ‘Zhongshanhanxiao’* are 1.41–1.55, 2.49–2.97, 2.79–3.16, 2.38–2.74, 1.40–2.04 and 1.50–2.17 times of the progenies without phenotypic variation with the same age, the leaf length, leaf width, and the length and width of perianth of *M. ‘Zhongshanhanxiao’* are also larger than those of the mother tree, and the length and width of perianth of *M. ‘Zhongshanhanxiao’* are 3.50–4.53 and 4.33–7.00 times of the mother tree, respectively. The result of SSR marker analysis shows that the amplification results of the mother tree are completely consistent with those of the progenies without phenotypic variation, but are obviously different from those of the eighteen individuals of *M. ‘Zhongshanhanxiao’*. Among the five SSR loci, four loci are homozygous in the mother tree and the progenies without phenotypic variation, while the five loci are mostly heterozygous in the individuals of *M. ‘Zhongshanhanxiao’*. The number of observed alleles, number of effective alleles, observed heterozygosity, expected heterozygosity, Shannon’s diversity index, and Nei’s gene diversity index of test individuals of *M. ‘Zhongshanhanxiao’* are 2.50, 1.67, 3.44, 4.06, 5.73, and 4.74 times of the progenies without phenotypic variation, respectively. The genetic distances between the mother tree and progenies without phenotypic variation are all 0.000, indicating that there is no genetic difference between them; the genetic distances among the individuals of *M. ‘Zhongshanhanxiao’* are 0.000–0.539, and those between *M. ‘Zhongshanhanxiao’* and the mother tree are 0.192–0.399, indicating that there are genetic differentiations among the individuals of *M. ‘Zhongshanhanxiao’*, also between *M. ‘Zhongshanhanxiao’* and the mother tree. The test samples can be clustered into two groups at the genetic identity of 0.50 by clustering analysis, in which, the mother tree and progenies without phenotypic variation are clustered into group I, and the eighteen individuals of *M. ‘Zhongshanhanxiao’* are clustered into group II; at the genetic identity of 0.64, the eighteen individuals of *M. ‘Zhongshanhanxiao’* are further divided into four subgroups. The comprehensive analysis results show that the test individuals of *M. ‘Zhongshanhanxiao’* exhibit obvious transgressive traits in phenotypic characteristics, and have higher genetic diversity than the progenies without phenotypic variation. In addition to the genetic information of the mother tree of *M. compressa*, the test individuals of *M. ‘Zhongshanhanxiao’* also contain genetic information absent from the mother tree. It is speculated that *M. ‘Zhongshanhanxiao’* is the interspecific hybrids between *M. compressa* and other species of Magnoliaceae.

Key words: *Michelia compressa* (Maxim.) Sarg.; *Michelia ‘Zhongshanhanxiao’*; phenotypic characteristics; SSR molecular marker; genetic variation; genetic relationship

木兰科(Magnoliaceae)含笑属(*Michelia* Linn.)植物有80余种,主要分布于亚洲热带、亚热带,中国约有70种,主要产于中国西南部至东部^[1],其主要分类特征为花腋生、花药侧向开裂和具柄雄蕊明显^[2,3]。含笑属种类均为常绿乔木或灌木,花色有白色、黄色、紫色和红色等,形态多样性丰富,是中国南方地区极具开发潜力的观赏植物,也是北亚热带区域普遍引种的常绿园林绿化树种^[4,5],因此,含笑属植物的引种和利用一直备受关注,已经成为植物育种创新的热点树种之一^[2,6,7]。例如:龚润等^[3,8]以云南含笑(*M. yunnanensis* Franch. ex Finet et Gagnep.)和灰岩含笑(*M. calcicola* C. Y. Wu)为亲本,从杂交群体中选育

出‘雏菊含笑’(‘Chujuhanxiao’)等9个新品种;邵文豪等^[9]以乐昌含笑(*M. chapensis* Dandy)和紫花含笑(*M. crassipes* Y. W. Law)为亲本,从杂交群体中选育出新品种‘梦缘’(‘Mengyuan’);毛常丽等^[10]从球花含笑(*M. sphaerantha* C. Y. Wu ex Z. S. Yue)与云南含笑的杂交群体中选育出新品种‘晚春含笑’(‘Wanchunhanxiao’)。近年来,虽然含笑属植物的杂交育种研究取得了一定进展,但是能推广应用的品种仍然十分缺乏。

台湾含笑[*M. compressa* (Maxim.) Sarg.]又名台湾白兰花、乌心石和黄心树,为木兰科含笑属常绿乔木,原产于台湾地区,为该地区主要用材树种之一,株

高可达20 m、胸径达1 m^[11]。早在20世纪80年代初,江苏省中国科学院植物研究所就成功地对台湾含笑进行了引种驯化^[11]。与同一地点栽培的含笑属其他树种相比,台湾含笑的抗寒性优于深山含笑(*M. maudiae* Dunn)和乐昌含笑等种类^[12,13];且与同一地点栽培的其他常绿阔叶树种相比,台湾含笑的耐寒性优于香樟[*Cinnamomum camphora* (Linn.) Presl]、石楠(*Photinia serrulata* Lindl.)、乳源木莲(*Manglietia yuyuanensis* Law)、山杜英(*Elaeocarpus sylvestris* (Lour.) Poir.)、白楠(*Phoebe neurantha* (Hemsl.) Gamble]和石栎(*Lithocarpus glaber* (Thunb.) Nakai]等常绿阔叶树种^[11],是在江苏南北过渡地带(北纬31°~35°)具有应用潜力的耐寒常绿阔叶树种。然而,与花朵硕大、色彩艳丽的常见木兰科观赏树种相比,台湾含笑花型较小、花被片淡黄色、观花特性不明显,限制了其推广应用。

‘中山含笑’(*Michelia ‘Zhongshanhanxiao’*)是在台湾含笑嫁接苗自然授粉子代的育苗过程中发现的表型显著变异子代,其观赏价值明显优于台湾含笑母树及其表型无变异子代,但是目前对‘中山含笑’的遗传背景并不清楚。SSR分子标记具有多态性高、种属间通用性良好等优点,目前已广泛用于杂种鉴定、遗传图谱构建、指纹图谱分析等相关领域^[14~16],例如:王紫阳等^[17]筛选出7对SSR引物对‘中山杉’品种具有较高的鉴别率,段豪等^[18]采用SSR分子标记构建了落羽杉种质资源的指纹图谱,袁金玲等^[19]基于SSR分子标记对丛生竹杂交种进行准确鉴定,分析杂种与亲本间的遗传关系,并构建指纹图谱。作者在对‘中山含笑’与台湾含笑母树及其表型无变异子代进行表型特征观察的基础上,采用SSR分子标记技术对他们的遗传变异和遗传多样性以及亲缘关系进行了分析,以期为含笑属观赏树种的新品种培育奠定基础。

1 材料和方法

1.1 材料

江苏省中国科学院植物研究所于1982年从福建省引进了台湾含笑实生苗1株,通过嫁接扩繁成无性系(共7株)后定植于南京中山植物园内,并培育成单一基因型的台湾含笑母树,平均株高15 m,平均胸径30 cm,目前均已开花结实,具有较好的生态适应性和观赏价值。

于2015年秋季采集母树的成熟种子,脱去外种

皮后用湿沙层积储藏,翌年春季播种育苗。2016年9月,从当年育成的2万余株台湾含笑实生苗群体中发现18株表型明显变异的单株,占实生苗总数的0.09%;2017年春季对全部实生苗进行移栽,株距和行距均为50 cm。2018年,少数表型变异子代单株开始开花,初步观察发现这些单株具有生长快、枝叶茂密、叶片大而厚实、花大量多、花香浓郁、耐热、耐寒等特点,观赏价值明显高于表型无变异子代,为此,参照鹅掌楸属(*Liriodendron* Linn.)种质‘优酉’(‘Youyou’)的命名^[20]将表型变异子代株群命名为‘中山含笑’,18株单株依次编号为Z601至Z618,并据此扩繁成无性系。

1.2 方法

1.2.1 形态观察和表型性状测定 分别于2019年与2020年的2月底至3月初,对‘中山含笑’与台湾含笑母树及其表型无变异子代的物候期进行记录,并对树干、枝、叶和花等器官的形态指标进行观测。对开花早、生长量大和性状优良的3株‘中山含笑’(Z602、Z608、Z615)以及7株母树和36株表型无变异子代进行形态特征变异统计分析。

用钢围尺(精度1 mm)在树干距地面0.1和1.3 m处分别测量地径和胸径;用布鲁莱斯测高器(德国卡尔莱斯公司,精度0.1 m)和量杆(精度1 cm)测量树高;用量杆分别测量树冠东西向和南北向的投影直径,二者平均值即冠幅。在各单株高1.5~2.0 m处的朝南方向选取大小基本一致的枝条,利用直尺(精度1 mm)测量枝条上所有叶片的叶长(叶梗至叶尖的长度)和叶宽(叶最宽处的宽度),从而获得叶长和叶宽的测量值范围。于盛花期,在各单株高1.5~2.0 m处的朝南方向统计单枝着花数;采用目测法对花色进行判定;随机采集5朵盛开的花朵,统计花被片数量,并利用直尺测量花被片长度(花被片基部至顶端的长度)和花被片宽度(花被片最宽处的宽度),从而获得花被片长度和宽度的测量值范围。

1.2.2 SSR分子标记分析 2020年5月,以‘中山含笑’18株单株(Z601至Z618)和1株台湾含笑母树(M)及其表型无变异子代的3株单株(N1至N3)为样株,每株采集3~5枚幼嫩叶片,于-80 °C冰箱中保存,用于SSR分子标记分析。

1.2.2.1 DNA提取 使用新型快速植物基因组DNA提取试剂盒(北京百泰克生物技术有限公司)提取嫩叶基因组DNA,并用Colibri超微量分光光度计(德国

Berthold 公司) 检测提取的基因组 DNA 的浓度和纯度, 用 EB 缓冲液将基因组 DNA 稀释至 $10 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$, 置于 -20°C 冰箱保存、备用。

1.2.2.2 SSR 引物筛选 依据目前已公布的木兰科植物北美鹅掌楸 [*Liriodendron chinense* (Hemsl.) Sarg.]^[21]、深山含笑^[22,23]、阿希氏木兰 (*Magnolia ashei* Weath.)^[24]、西畴含笑 (*Michelia coriacea* Hung T. Chang et B. L. Chen)^[25]、火力楠 (*Michelia macclurei* Dandy)^[26] 和灰木莲 (*Manglietia conifera* Dandy)^[27] 的 SSR 标记分析结果, 挑选出 62 对通用性较高的引物, 以‘中山含笑’Z601、Z605、Z609、Z613 和 Z617 的基因组 DNA 为模板进行引物初筛。

PCR 反应体系总体积 $15.0 \mu\text{L}$, 包括 $2\times\text{Taq PCR Master Mix}$ $7.5 \mu\text{L}$ 、 $10.0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 正向和反向引物各 $0.9 \mu\text{L}$ 、模板 DNA $1.0 \mu\text{L}$ 及双蒸水 $4.7 \mu\text{L}$ 。PCR 扩增程序为: 95°C 预变性 3 min ; 94°C 变性 30 s 、 62°C 退火 30 s 、 72°C 延伸 45 s , 共 10 个循环, 每个循环降低 0.5°C ; 94°C 变性 30 s 、 54°C 退火 30 s 、 72°C 延伸 45 s , 共 20 个循环; 72°C 延伸 7 min 。每个样本重复扩增 3 次, 扩增产物于 4°C 保存。

在扩增产物中加入 $1.5 \mu\text{L}$ 溴酚蓝染液, 混合均匀后, 用质量体积分数 8% SDS-PAGE 进行电泳分离及银染。筛选出 5 对扩增条带清晰、多态性丰富及重复性高的引物, 用于遗传多样性分析。5 对引物序列如下: MMA72-F 为 5'-TTTTCCACCCCTCTCGAATA-3', MMA72-R 为 5'-CCATTATGCTGGGCTGTCTT-3'; M02-F 为 5'-CAGCTCCCATTTCCTGTCGC-3', M02-R 为 5'-TCTGCAGATCAAGGCCCTGG-3'; M23-F 为 5'-GTTCTCCACAAAGCTGGCG-3', M23-R 为 5'-CGTCCCCATCTTCCTGTCC-3'; MA3-7-F 为 5'-CATGCTAACCCATCTAGTCACG-3', MA3-7-R 为 5'-TCCAATACCCATCCCAGTA-3'; MA3-12-F 为 5'-AGCCAAGGAGACAACAGAA-3', MA3-12-R 为 5'-GGTTTCTCCATGTTGT-3'。

1.2.2.3 PCR 扩增和毛细管电泳 在每对引物正向引物的 5' 端添加荧光基团合成荧光引物, 其中引物 MMA72 和 M02 进行 FAM 修饰, 引物 M23、MA3-7 和 MA3-12 进行 HEX 修饰, 荧光引物由上海捷瑞生物工程有限公司合成。以上述 22 株样株的基因组 DNA 为模板, 在遮光条件下, 按照前述反应体系和程序进行扩增。扩增产物由上海捷瑞生物工程有限公司进行毛细管电泳荧光检测, 步骤为: PCR 扩增产物

先用双蒸水稀释 10 倍, 再用 HIDI(已混合 ROX500) 稀释 10 倍, 95°C 变性 3 min, 立即冰水浴, 最后用 ABI 3730XL 遗传分析仪(美国 ThermoFisher 公司) 进行检测。每个扩增产物重复检测 4 次。

1.3 数据处理和分析

通过 EXCEL 2007 软件进行数据转换, 分别计算台湾含笑母树及其表型无变异子代的地径、胸径、树高、冠幅的均值 (\bar{X}) 和标准差 (SD)。根据毛细电泳实验结果, 以每对引物扩增位点的“有”“无”组成“1”“0”矩阵, 输入 PopGene 32 软件, 计算各位点的观测等位基因数、有效等位基因数、观测杂合度、期望杂合度、Shannon's 多样性指数、Nei's 基因多样性指数、遗传距离和遗传一致度; 不同位点的遗传多样性参数的平均值即为群体的遗传多样性参数值。利用 NTSys 2.10 软件进行 UPGMA(非加权类平均法)聚类分析, 绘制 22 株样株的遗传关系聚类图。

2 结果和分析

2.1 ‘中山含笑’与台湾含笑母树及其表型无变异子代的形态特征比较

对‘中山含笑’与台湾含笑母树及其表型无变异子代的整株、叶片和花形态特征进行观测, 结果见图 1 和表 1。

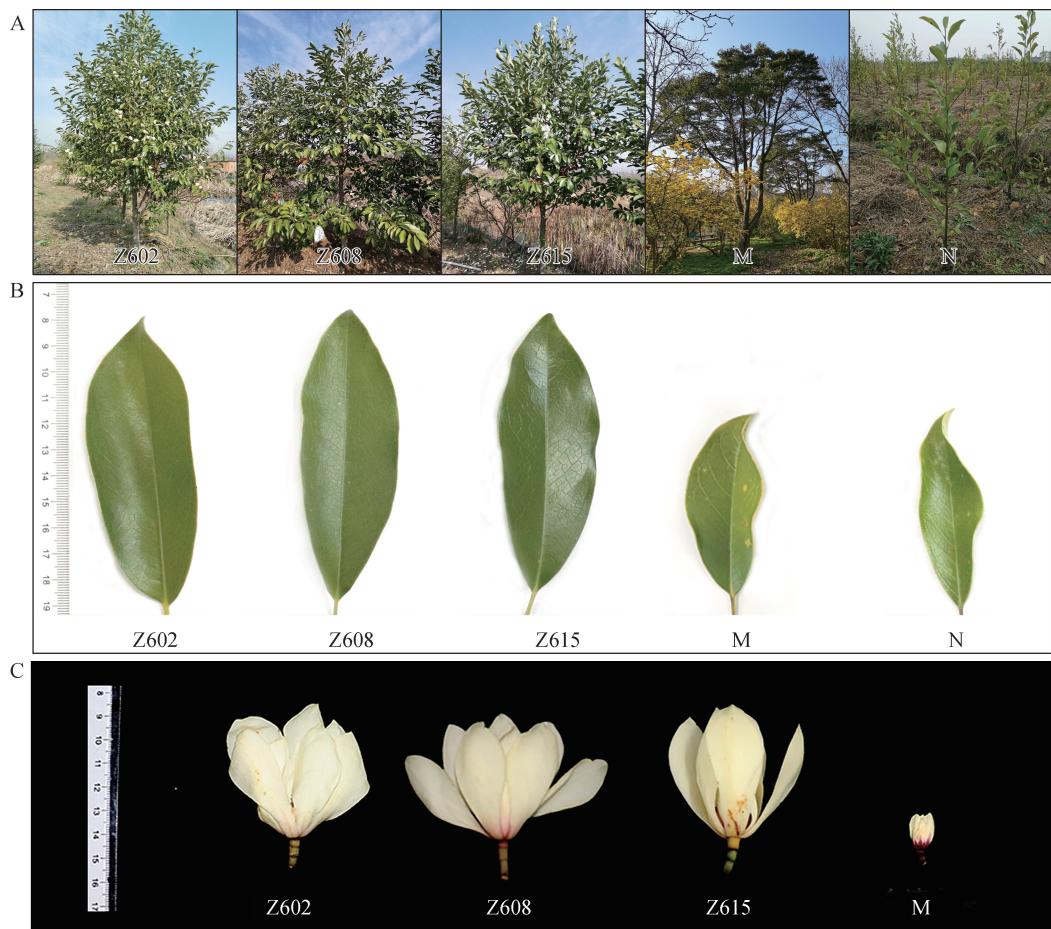
从形态(图 1)上看, 与母树相似, ‘中山含笑’也为常绿乔木, 分枝多, 呈塔状或圆锥状; 供试‘中山含笑’为 4 年生幼树, 最早在第 3 年始花, 早于表型无变异子代(4 年生表型无变异子代暂未始花); 花期 2 月至 3 月, 果期 10 月至 11 月。其叶革质, 倒卵状椭圆形或狭倒卵形, 先端急短尖, 叶正面深绿色且有光泽, 叶背面淡绿色, 叶面积明显大于母树和表型无变异子代。‘中山含笑’开花多且芳香, 单花腋生, 花明显大于母树; 花被片 8~14 枚, 呈螺旋状排列, 倒卵形; 雄蕊群绿色, 柱头带紫红色; 雄蕊群黄绿色, 基部紫色, 雄蕊数量 45~48 枚, 长 $8.0\sim14.0 \text{ mm}$ 。

由表 1 可见: ‘中山含笑’Z602、Z608 和 Z615 的株高、地径、胸径和冠幅分别是表型无变异子代的 $1.41\sim1.55$ 、 $2.49\sim2.97$ 、 $2.79\sim3.16$ 和 $2.38\sim2.74$ 倍; 叶长和叶宽分别是表型无变异子代的 $1.40\sim2.04$ 和 $1.50\sim2.17$ 倍。并且, ‘中山含笑’的叶长和叶宽以及花被片的长度和宽度均大于母树, 花被片的长度和宽度分别是母树的 $3.50\sim4.53$ 和 $4.33\sim7.00$ 倍。母树

和表型无变异子代的叶片大小无明显差异。‘中山含笑’的单枝着花数和花被片数与母树和表型无变异子代相似,但其花被片颜色与母树有差异,为乳白色,近基部带淡紫色或紫色,而母树的花被片为淡黄色。

白色,近基部带深紫色。

综上所述,‘中山含笑’的整株、叶片和花在形状上与母树和表型无变异子代相似,但其叶片和花大小却发生了显著变化。



Z602, Z608, Z615; ‘中山含笑’单株 Individuals of *Michelia ‘Zhongshanhanxiao’*; M; 台湾含笑母树 Mother tree of *M. compressa* (Maxim.) Sarg.; N; 台湾含笑表型无变异子代 Progeny without phenotypic variation of *M. compressa*.

图1 ‘中山含笑’与台湾含笑母树及其表型无变异子代的整株(A)、叶片(B)和花(C)形态的比较

Fig. 1 Comparison on morphologies of whole plant (A), leaf (B), and flower (C) among *Michelia ‘Zhongshanhanxiao’* and mother tree of *M. compressa* (Maxim.) Sarg. and its progenies without phenotypic variation

表1 ‘中山含笑’与台湾含笑母树及其表型无变异子代的形态特征差异¹⁾

Table 1 Differences in morphological characteristics among *Michelia ‘Zhongshanhanxiao’* and mother tree of *M. compressa* (Maxim.) Sarg. and its progenies without phenotypic variation¹⁾

样本 Sample	株高/cm Height	地径/cm Ground diameter	胸径/cm Diameter at breast height	冠幅/cm Crown diameter	叶长/cm Leaf length	叶宽/cm Leaf width	单枝着花数 Flower number of single branch
Z602	400	11.0	5.3	215	7.2~12.5	3.8~5.6	1~4
Z608	440	9.3	6.0	247	7.0~14.3	3.0~6.5	1
Z615	410	9.2	5.4	234	8.3~11.8	3.2~5.3	1~3
M	1 494±184	48.4±8.4	38.0±6.2	831±180	5.0~9.5	2.0~3.6	1~3
N	283±47	3.7±0.8	1.9±0.6	90±18	5.0~7.0	2.0~3.0	—

续表1 Table 1 (Continued)

样本 Sample	花被片数 Number of perianth	花被片 长度/cm Perianth length	花被片 宽度/cm Perianth width	花被片颜色 Perianth color
Z602	8~14	4.5~6.8	1.5~3.3	乳白色, 部分近基部带淡紫色 Ivory white, some with light purple near the base
Z608	13~14	4.3~6.5	1.8~3.5	乳白色, 近基部带紫色 Ivory white, with purple near the base
Z615	9~12	4.2~6.3	1.3~2.5	乳白色, 近基部带淡紫色 Ivory white, with light purple near the base
M	12	1.2~1.5	0.3~0.5	淡黄白色, 近基部带深紫色 Yellowish white, with dark purple near the base
N	—	—	—	—

¹⁾Z602, Z608, Z615: ‘中山含笑’单株 Individuals of *Michelia* ‘Zhongshanhanxiao’; M: 台湾含笑母树 Mother tree of *M. compressa* (Maxim.) Sarg.; N: 台湾含笑表型无变异子代 Progenies without phenotypic variation of *M. compressa*. —: 无数据 No datum. 台湾含笑母树及其表型无变异子代的株高、地径、胸径和冠幅数据以“ $\bar{X} \pm SD$ ”形式表示 The data of height, ground diameter, diameter at breast height, and crown diameter of the mother tree of *M. compressa* and its progenies without phenotypic variation are presented with “ $\bar{X} \pm SD$ ”.

2.2 ‘中山含笑’与台湾含笑母树及其表型无变异子代的遗传变异分析

2.2.1 基于 SSR 分子标记的多态性分析 对‘中山含笑’与台湾含笑母树及其表型无变异子代进行 SSR 标记分析, 5 对引物扩增条带的多态性分析见表 2。由表 2 可见: 5 对 SSR 引物从 22 株单株基因组 DNA 中共检测出 16 个等位基因, 其中, 引物 MMA72、M02 和 MA3-7 的观测等位基因数均为 4, 引物 M23 和 MA3-12 的观测等位基因数均为 2; 有效等位基因数

为 1.4~2.4, 平均值为 1.9。观测杂合度为 0.364~0.818, 5 个引物的观测杂合度由大到小依次为 MMA72 和 MA3-7、M02、M23、MA3-12; 期望杂合度为 0.304~0.589, 由大到小依次为 MA3-7、MMA72、M02、M23、MA3-12。Shannon’s 多样性指数为 0.474~1.031, 平均值为 0.777。Nei’s 基因多样性指数为 0.298~0.575, 平均值为 0.446。总体上看, 引物 MA3-12 的遗传变异指标均最小, 而引物 MA3-7 的遗传变异指标均最大。

表 2 5 对 SSR 引物扩增条带的多态性分析

Table 2 Analysis on polymorphism of amplified bands of five pairs of SSR primers

引物 Primer	观测等位基因数 Number of observed alleles	有效等位基因数 Number of effective alleles	观测杂合度 Observed heterozygosity	期望杂合度 Expected heterozygosity	Shannon’s 多样性指数 Shannon’s diversity index	Nei’s 基因 多样性指数 Nei’s gene diversity index
MMA72	4	2.3	0.818	0.583	1.015	0.569
M02	4	1.8	0.546	0.447	0.828	0.437
M23	2	1.5	0.455	0.359	0.536	0.351
MA3-7	4	2.4	0.818	0.589	1.031	0.575
MA3-12	2	1.4	0.364	0.304	0.474	0.298
平均值 Average	3.2	1.9	0.600	0.456	0.777	0.446
标准差 Standard deviation	1.1	0.4	0.209	0.129	0.262	0.126

2.2.2 基因分型分析 对‘中山含笑’单株与台湾含笑母树及其表型无变异子代进行 SSR 标记分析, 5 对 SSR 引物在 22 株样株中的扩增条带长度见表 3。

母树和表型无变异子代的 3 株单株的扩增结果完全一致, 但与‘中山含笑’18 株单株的扩增结果存在一定差异。其中, 引物 MMA72、M02、M23、MA3-7 和 MA3-12 在表型无变异子代中检测到的等位基因数分别为 1、2、1、1 和 1, 但在‘中山含笑’18 株单株中检测到的等位基因数分别为 4、3、2、4 和 2, 表明‘中山含笑’的等位基因数高于表型无变异子代。

MMA72 和 MA3-7 引物对应的位点在‘中山含笑’18 株单株中为杂合位点; M02 引物对应的位点在‘中山含笑’8 株单株中为杂合位点, M23 引物对应的位点在‘中山含笑’10 株单株中为杂合位点, MA3-12 引物对应的位点在‘中山含笑’8 株单株中为杂合位点。

引物 MMA72、M23、MA3-7 和 MA3-12 在母树和表型无变异子代中的扩增产物长度分别为 212、181、187 和 182 bp, 而在‘中山含笑’18 株单株中除均可扩增出长度一致的条带外, 还可扩增出长度分别为

214~228、174、211~226 和 158 bp 的另一条带。引物 M02 在母树和表型无变异子代的扩增产物长度均为 140 和 150 bp, 而在‘中山含笑’18 株单株中除均可扩增出长度 140 bp 的条带外, 其中 8 株单株还能扩增出长度为 142 或 159 bp 的另一条带。

表 3 5 对 SSR 引物在‘中山含笑’与台湾含笑母树及其表型无变异子代中的扩增条带长度

Table 3 Length of amplified bands of five pairs of SSR primers from *Michelia ‘Zhongshanhanxiao’* and mother tree of *M. compressa* (Maxim.) Sarg. and its progenies without phenotypic variation

样本 ¹⁾ Sample ¹⁾	不同引物的扩增条带长度/bp Length of amplified bands of different primers				
	MMA72	M02	M23	MA3-7	MA3-12
Z601	212, 214	140, 159	181	187, 217	182
Z602	212, 224	140	174, 181	187, 211	182
Z603	212, 214	140	174, 181	187, 211	182
Z604	212, 214	140	174, 181	187, 217	182
Z605	212, 224	140	174, 181	187, 211	182
Z606	212, 224	140	174, 181	187, 211	158, 182
Z607	212, 224	140, 159	181	187, 211	158, 182
Z608	212, 228	140, 142	174, 181	187, 226	182
Z609	212, 224	140, 159	181	187, 211	182
Z610	212, 224	140	181	187, 211	182
Z611	212, 224	140	181	187, 217	158, 182
Z612	212, 214	140, 159	174, 181	187, 217	182
Z613	212, 224	140	174, 181	187, 211	158, 182
Z614	212, 224	140	174, 181	187, 211	158, 182
Z615	212, 214	140	181	187, 217	158, 182
Z616	212, 214	140, 159	174, 181	187, 217	158, 182
Z617	212, 224	140, 159	181	187, 217	158, 182
Z618	212, 224	140, 159	181	187, 217	182
M	212	140, 150	181	187	182
N1	212	140, 150	181	187	182
N2	212	140, 150	181	187	182
N3	212	140, 150	181	187	182

¹⁾ Z601 ~ Z618: ‘中山含笑’单株 Individuals of *Michelia ‘Zhongshanhanxiao’*; M: 台湾含笑母树 Mother tree of *M. compressa* (Maxim.) Sarg.; N1-N3: 台湾含笑表型无变异子代单株 Individuals of progeny without phenotypic variation of *M. compressa*.

表 4 ‘中山含笑’和台湾含笑表型无变异子代的遗传多样性分析

Table 4 Analysis on genetic diversity of *Michelia ‘Zhongshanhanxiao’* and progenies without phenotypic variation of *M. compressa* (Maxim.) Sarg.

样本 ¹⁾ Sample ¹⁾	观测等位基因数 Number of observed alleles	有效等位基因数 Number of effective alleles	观测杂合度 Observed heterozygosity	期望杂合度 Expected heterozygosity	Shannon’s 多样性指数 Shannon’s diversity index	Nei’s 基因 多样性指数 Nei’s gene diversity index
Z	3.0	2.0	0.689	0.487	0.796	0.474
N	1.2	1.2	0.200	0.120	0.139	0.100
均值 Average	1.6	1.6	0.445	0.304	0.468	0.574
标准差 Standard deviation	0.9	0.4	0.245	0.184	0.329	0.187

¹⁾ Z: ‘中山含笑’ *Michelia ‘Zhongshanhanxiao’*; N: 台湾含笑表型无变异子代 Progenies without phenotypic variation of *M. compressa* (Maxim.) Sarg.

总之, 除含有与母树相同的等位基因外, ‘中山含笑’18 株单株还含有来源于母树之外的等位基因。

2.2.3 遗传多样性分析 ‘中山含笑’与台湾含笑表型无变异子代的遗传多样性分析见表 4。结果表明: ‘中山含笑’的观测等位基因数、有效等位基因数、观测杂合度和期望杂合度分别为表型无变异子代的 2.50、1.67、3.44 和 4.06 倍, Shannon’s 多样性指数是表型无变异子代的 5.73 倍, Nei’s 基因多样性指数是表型无变异子代的 4.74 倍。总之, ‘中山含笑’的遗传多样性明显高于表型无变异子代。

2.2.4 遗传一致度和遗传距离分析 对‘中山含笑’与台湾含笑母树及其表型无变异子代进行遗传一致度和遗传距离分析, 结果见表 5。

结果表明: 母树和 3 株表型无变异子代单株的遗传一致度均为 1.000、遗传距离均为 0.000, 3 株表型无变异子代间的遗传一致度也均为 1.000、遗传距离也均为 0.000, 表明母树与表型无变异子代间无遗传差异。

‘中山含笑’18 株单株间的遗传距离变化范围为 0.000~0.539, 平均值为 0.241; 其中, Z602 与 Z605、Z606 与 Z613 和 Z614 间的遗传一致度均为 1.000, 遗传距离均为 0.000, 说明 Z602 与 Z605、Z606 与 Z613 和 Z614 间均无遗传差异; Z607 与 Z608、Z608 与 Z617 间的遗传距离最大(0.539), 说明这 2 组单株间的遗传差异最大。

‘中山含笑’18 株单株与母树的遗传距离变化范围为 0.192~0.399, 平均值为 0.288; 其中 Z610 与母树间的遗传距离最小, Z616 与母树间的遗传距离最大。‘中山含笑’各单株与母树间的遗传距离总体上小于‘中山含笑’单株间的遗传距离, 说明‘中山含笑’与母树具有部分相近的遗传组成; 其中, Z610 与母树的遗传差异最小, Z616 与母树的遗传差异最大。

表5 ‘中山含笑’与台湾含笑母树及其表型无变异子代间的遗传一致度和遗传距离¹⁾

Table 5 Genetic identity and genetic distance among *Michelia ‘Zhongshanhanxiao’* and mother tree of *M. compressa* (Maxim.) Sarg. and its progenies without phenotypic variation¹⁾

样本 Sample	样本间的遗传一致度和遗传距离 Genetic identity and genetic distance among samples										
	Z601	Z602	Z603	Z604	Z605	Z606	Z607	Z608	Z609	Z610	Z611
Z601	—	0.714	0.786	0.857	0.714	0.617	0.772	0.694	0.857	0.802	0.786
Z602	0.337	—	0.929	0.857	1.000	0.926	0.772	0.772	0.857	0.935	0.786
Z603	0.241	0.074	—	0.929	0.929	0.849	0.694	0.772	0.786	0.869	0.714
Z604	0.154	0.154	0.074	—	0.857	0.772	0.617	0.772	0.714	0.802	0.786
Z605	0.337	0.000	0.074	0.154	—	0.926	0.772	0.772	0.857	0.935	0.786
Z606	0.483	0.077	0.164	0.259	0.077	—	0.833	0.667	0.772	0.866	0.849
Z607	0.259	0.259	0.365	0.483	0.259	0.182	—	0.583	0.926	0.866	0.849
Z608	0.365	0.259	0.259	0.259	0.259	0.406	0.539	—	0.694	0.722	0.617
Z609	0.154	0.154	0.241	0.337	0.154	0.259	0.077	0.365	—	0.935	0.786
Z610	0.221	0.067	0.141	0.221	0.067	0.144	0.144	0.326	0.067	—	0.869
Z611	0.241	0.241	0.337	0.241	0.241	0.164	0.164	0.483	0.241	0.141	—
Z612	0.077	0.259	0.164	0.077	0.259	0.406	0.406	0.288	0.259	0.326	0.365
Z613	0.483	0.077	0.164	0.259	0.077	0.000	0.182	0.406	0.259	0.144	0.164
Z614	0.483	0.077	0.164	0.259	0.077	0.000	0.182	0.406	0.259	0.144	0.164
Z615	0.154	0.337	0.241	0.154	0.337	0.259	0.259	0.483	0.337	0.221	0.074
Z616	0.168	0.391	0.274	0.168	0.391	0.314	0.314	0.448	0.391	0.458	0.274
Z617	0.164	0.365	0.483	0.365	0.365	0.288	0.087	0.539	0.164	0.231	0.077
Z618	0.074	0.241	0.337	0.241	0.241	0.365	0.164	0.365	0.074	0.141	0.154
M	0.200	0.280	0.280	0.280	0.280	0.385	0.290	0.290	0.200	0.192	0.280
N1	0.200	0.280	0.280	0.280	0.280	0.385	0.290	0.290	0.200	0.192	0.280
N2	0.200	0.280	0.280	0.280	0.280	0.385	0.290	0.290	0.200	0.192	0.280
N3	0.200	0.280	0.280	0.280	0.280	0.385	0.290	0.290	0.200	0.192	0.280

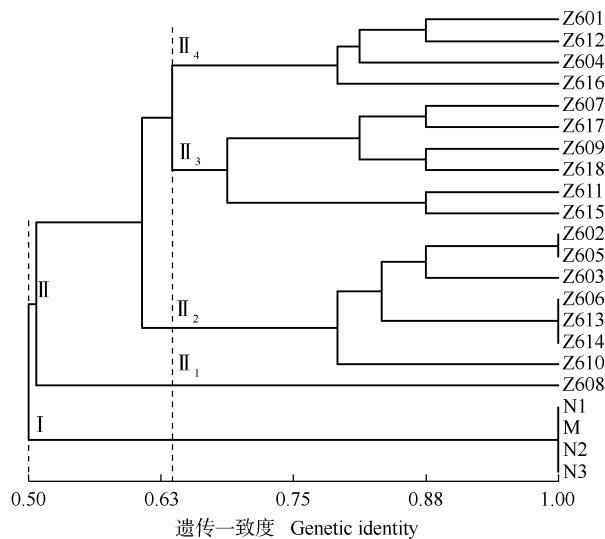
样本 Sample	样本间的遗传一致度和遗传距离 Genetic identity and genetic distance among samples										
	Z612	Z613	Z614	Z615	Z616	Z617	Z618	M	N1	N2	N3
Z601	0.926	0.617	0.617	0.857	0.845	0.849	0.929	0.819	0.819	0.819	0.819
Z602	0.772	0.926	0.926	0.714	0.676	0.694	0.786	0.756	0.756	0.756	0.756
Z603	0.849	0.849	0.849	0.786	0.761	0.617	0.714	0.756	0.756	0.756	0.756
Z604	0.926	0.772	0.772	0.857	0.845	0.694	0.786	0.756	0.756	0.756	0.756
Z605	0.772	0.926	0.926	0.714	0.676	0.694	0.786	0.756	0.756	0.756	0.756
Z606	0.667	1.000	1.000	0.772	0.730	0.750	0.694	0.680	0.680	0.680	0.680
Z607	0.667	0.833	0.833	0.772	0.730	0.917	0.849	0.749	0.749	0.749	0.749
Z608	0.750	0.667	0.667	0.617	0.639	0.583	0.694	0.749	0.749	0.749	0.749
Z609	0.772	0.772	0.772	0.714	0.676	0.849	0.929	0.819	0.819	0.819	0.819
Z610	0.722	0.866	0.866	0.802	0.633	0.794	0.869	0.825	0.825	0.825	0.825
Z611	0.694	0.849	0.849	0.929	0.761	0.926	0.857	0.756	0.756	0.756	0.756
Z612	—	0.667	0.667	0.772	0.913	0.750	0.849	0.749	0.749	0.749	0.749
Z613	0.406	—	1.000	0.772	0.730	0.750	0.694	0.680	0.680	0.680	0.680
Z614	0.406	0.000	—	0.772	0.730	0.750	0.694	0.680	0.680	0.680	0.680
Z615	0.259	0.259	0.259	—	0.845	0.849	0.786	0.756	0.756	0.756	0.756
Z616	0.091	0.314	0.314	0.168	—	0.822	0.761	0.671	0.671	0.671	0.671
Z617	0.288	0.288	0.288	0.164	0.197	—	0.926	0.749	0.749	0.749	0.749
Z618	0.164	0.365	0.365	0.241	0.274	0.077	—	0.819	0.819	0.819	0.819
M	0.290	0.385	0.385	0.280	0.399	0.290	0.200	—	0.000	0.000	0.000
N1	0.290	0.385	0.385	0.280	0.399	0.290	0.200	1.000	—	1.000	1.000
N2	0.290	0.385	0.385	0.280	0.399	0.290	0.200	1.000	0.000	—	1.000
N3	0.290	0.385	0.385	0.280	0.399	0.290	0.200	1.000	0.000	—	—

¹⁾ Z601-Z618: ‘中山含笑’单株 Individuals of *Michelia ‘Zhongshanhanxiao’*; M: 台湾含笑母树 Mother tree of *M. compressa* (Maxim.) Sarg.; N1-N3: 台湾含笑表型无变异子代单株 Individuals of progeny without phenotypic variation of *M. compressa*. 横线上方数据为遗传一致度, 横线下方数据为遗传距离 The data above the lines are genetic identity, those below the lines are genetic distance.

2.3 ‘中山含笑’与台湾含笑母树及其表型无变异子代的遗传关系分析

为进一步探讨‘中山含笑’与台湾含笑母树及其表型无变异子代的遗传关系,根据上述22份样本的遗传一致度采用UPGMA法进行聚类分析,结果见图2。在遗传一致度为0.50处,供试的22份样本分为2组,其中,母树和3个表型无变异子代单株聚为I组,‘中山含笑’18个单株聚为II组。在遗传一致度为0.64处,II组分为4个亚组,其中,‘中山含笑’Z608单独聚为II₁亚组;Z602、Z605、Z603、Z606、Z613、Z614和Z610聚为II₂亚组;Z607、Z617、Z609、Z618、Z611和Z615聚为II₃亚组;Z601、Z612、Z604和Z616聚为II₄亚组。

由此可见,母树和表型无变异子代具有极为紧密的遗传关系,而‘中山含笑’18个单株与母树和表型无变异子代的遗传关系较远;在‘中山含笑’18个单株中,Z608与其他17株单株的遗传关系较远。



Z601-Z618: ‘中山含笑’单株 Individuals of *Michelia ‘Zhongshanhanxiao’*; M: 台湾含笑母树 Mother tree of *M. compressa* (Maxim.) Sarg.; N1-N3: 台湾含笑表型无变异子代单株 Individuals of progeny without phenotypic variation of *M. compressa*.

图2 ‘中山含笑’与台湾含笑母树及其表型无变异子代的 UPGMA 聚类图

Fig. 2 UPGMA dendrogram of *Michelia ‘Zhongshanhanxiao’* and mother tree of *M. compressa* (Maxim.) Sarg. and its progenies without phenotypic variation

3 讨论和结论

SSR标记分析结果表明:台湾含笑3个表型无变

异子代在5个位点上与台湾含笑母树的基因分型完全一致,表明母树与表型无变异子代拥有高度相似的遗传基础。由于供试的母树是由同一株台湾含笑实生苗经采穗嫁接繁殖的无性系,携带完全相同的遗传信息,其不同单株之间花粉传播并授粉产生的子代属于同一基因型的自交子代;而表型无变异子代的叶片形态与母树高度相似,因而,推测表型无变异子代为母树通过自由授粉产生的自交后代。在母树的SSR标记分析中,5个位点中有4个为纯合位点,其自交子代在这4个位点上不会产生遗传分化,因此,表型无变异子代单株也具有这4个纯合位点;但M02引物对应的位点在母树和表型无变异子代单株中均为杂合位点,由于取样单株数量较少,并不能确定该位点是否存在遗传分化,因此,后续将通过扩大表型无变异子代样本的数量,进一步确定该位点的遗传分化程度。

从2万余株台湾含笑自由授粉子代中仅发现少数表型明显变异的单株(即‘中山含笑’),产生这种变异的概率较低,仅0.09%,推测由台湾含笑母树自交产生这种变异的可能性不大。通过SSR标记分析,5个SSR引物在‘中山含笑’不同单株中的扩增产物呈现等位基因的杂合性,即‘中山含笑’18株单株除携带母树的遗传信息外,还各自含有来源于母树之外的遗传信息;加之在表型特征上‘中山含笑’供试单株的叶片和花明显大于母树,且长势也明显高于同龄的表型无变异子代,开花的株龄早于表型无变异子代,因此,推测‘中山含笑’为台湾含笑与木兰科其他植物的种间杂交后代。

聚类分析结果显示:‘中山含笑’18株单株可以分成4个亚组,其中Z608独立成为1个亚组,另外17株单株聚为另3个亚组;其中,在II₂亚组的7株单株中,Z602与Z605、Z606与Z613和Z614单株间的遗传一致度均为1.000,说明Z602与Z605、Z606与Z613和Z614间除具有相同的母本台湾含笑的遗传信息外,也各自具有相同父本的遗传信息。‘中山含笑’18株单株与母树和表型无变异子代可以明显聚为2组,说明‘中山含笑’与台湾含笑有较远的遗传关系,且‘中山含笑’18株单株聚为不同的亚组,说明有些单株的父本可能属于木兰科不同种类,特别是Z608的父本可能更为特殊。有关‘中山含笑’不同单株父本的研究将通过杂交实验进一步验证。

在本研究中,从62对来自木兰科其他植物的

SSR 标记中筛选出 5 对 SSR 引物, 分别来自深山含笑、灰木莲和阿希氏木兰, 应用于本研究中均具有优良的通用性, 加之本研究选用高分辨率的荧光毛细管电泳基因分型技术, 使用 5 对 SSR 引物共扩增出 16 个等位基因, 表现出较高的多态性。因此, 使用这 5 对 SSR 引物基本能反映‘中山含笑’与母树和表型无变异子代的遗传差异。

台湾含笑在江苏地区具有良好的耐寒性和生态适应性, 是值得大力推广应用的园林绿化树种^[11-13, 28-30]。‘中山含笑’是台湾含笑在迁地保育条件下产生的变异子代, 不仅其生态适应性得到进一步加强, 而且在生长和观赏特征上表现出明显的超亲优势, 具有广阔的应用前景, 因此, 从品种创新的目的出发, 应进一步弄清其遗传背景, 全面了解其生物学特征, 并开展繁育和栽培技术等方面的研究。

参考文献:

- [1] 刘玉壶. 中国木兰[M]. 北京: 科学出版社, 2004: 210-335.
- [2] XU H Y, LI F L, PAN Y Z, et al. Interspecific hybridization processes between *Michelia yunnanensis* and *M. crassipes* and embryogenesis of the heterozygote[J]. HortScience, 2017, 52(8): 1043-1047.
- [3] 龚 润, 张国莉, 潘跃芝, 等. 含笑新品种: 雏菊含笑和春月含笑[J]. 园艺学报, 2003, 30(2): 251.
- [4] 梁淑云. 合肥市观赏树木引种栽培现状分析[J]. 安徽农业大学学报, 1999, 26(2): 229-232.
- [5] 宋良红, 郭欢欢, 陈晓蕾, 等. 郑州市木兰科植物资源调查与应用分析[J]. 河南林业科技, 2016, 36(1): 25-28.
- [6] 王亚玲, 李 勇, 张寿洲, 等. 木兰科植物的人工杂交[J]. 武汉植物学研究, 2003, 21(6): 508-514.
- [7] 陈翔翔, 卢 璐, 范李节, 等. 景宁木兰(*Magnolia sinostellata*)远缘杂交授粉过程障碍研究[J]. 植物研究, 2017, 37(6): 816-824.
- [8] 龚 润, 张国莉, 潘跃芝, 等. 含笑新品种: 郁金含笑、丹芯含笑和沁芳含笑[J]. 园艺学报, 2003, 30(1): 123.
- [9] 邵文豪, 姜景民, 董汝湘, 等. 含笑新品种‘梦缘’[J]. 林业科学, 2015, 51(10): 155.
- [10] 毛常丽, 潘跃芝, 龚 润. 含笑新品种‘晚春含笑’[J]. 园艺学报, 2009, 36(5): 778.
- [11] 刘兴剑, 孙起梦, 黄 斌, 等. 台湾含笑在南京的引种表现及嫁接繁殖试验[J]. 江苏农业科学, 2008, 36(2): 152-154.
- [12] 亓白岩, 周冬琴, 於朝广, 等. 8 种含笑属植物的抗寒性研究[J]. 江苏农业科学, 2010, 38(5): 258-263.
- [13] 亓白岩, 殷云龙, 於朝广, 等. 木兰科含笑属 8 种植物叶片解剖结构性状与抗寒性的关系[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(4): 150-153.
- [14] 郑纪伟, 教忠意, 王保松, 等. 柳树新品种指纹图谱构建[J]. 江苏林业科技, 2020, 47(2): 1-5, 56.
- [15] 辛佳佳, 张南峰, 程华萍, 等. 江西省地方蚕豆种质资源遗传多样性分析及优异资源挖掘[J]. 江苏农业学报, 2022, 38(1): 20-29.
- [16] 朱海生, 李祖亮, 李永平, 等. 基于 SSR 分子标记的普通丝瓜杂交种子纯度鉴定[J]. 江苏农业科学, 2020, 48(8): 53-56.
- [17] 王紫阳, 成彦丽, 殷云龙, 等. 23 个中山杉品种及其父母本的指纹图谱构建[J]. 分子植物育种, 2018, 16(4): 1222-1228.
- [18] 段 豪, 徐建华, 王紫阳, 等. 落羽杉属种类及其杂交子代‘中山杉’系列品种的 SSR 指纹图谱构建及遗传关系分析[J]. 植物资源与环境学报, 2020, 29(4): 11-18, 44.
- [19] 袁金玲, 马婧婧, 钟远标, 等. 基于 SSR 标记的丛生竹杂种鉴定、遗传分析和指纹图谱构建[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2021, 45(5): 10-18.
- [20] 於朝广, 殷云龙, 徐建华, 等. 鹅掌楸属(*Liriodendron L.*)种质‘优酉’的遗传背景研究[J]. 植物资源与环境学报, 2008, 17(3): 1-9.
- [21] 胥 猛, 李火根. 鹅掌楸 EST-SSR 引物开发及通用性分析[J]. 分子植物育种, 2008, 6(3): 615-618.
- [22] 郑纪伟, 教忠意, 窦全琴, 等. 利用荧光 SSR 标记构建含笑种质指纹图谱[J]. 分子植物育种, 2018, 16(14): 4705-4714.
- [23] SUN Y, LIU Y F, WANG J, et al. Ten polymorphic microsatellite markers in *Michelia maudiae* (Magnoliaceae) [J]. American Journal of Botany, 2010, 97(12): e157-e158.
- [24] VON KOHN C, CONRAD K, KRAMER M, et al. Genetic diversity of *Magnolia ashii* characterized by SSR markers [J]. Conservation Genetics, 2018, 19: 923-936.
- [25] ZHAO X F, SUN W B, YANG J B, et al. Isolation and characterization of 12 microsatellite loci for *Michelia coriacea* (Magnoliaceae), a critically endangered endemic to Southeast Yunnan, China [J]. Conservation genetics, 2009, 10: 1583-1585.
- [26] 李清莹. 火力楠种质资源遗传多样性研究[D]. 北京: 中国林业科学研究院热带林业研究所, 2018: 83-84.
- [27] 文珊娜, 仲崇禄, 姜清彬, 等. 灰木莲种质资源遗传多样性的 SSR 分析[J]. 分子植物育种, 2017, 15(9): 3788-3797.
- [28] 凌 华, 孙晓萍, 俞仲铭, 等. 从生态园林谈含笑属树种的应用前景[J]. 浙江林学院学报, 2001, 18(3): 262-266.
- [29] 陈 辉, 周成玲, 胡来宝, 等. 苏北地区 4 种常绿阔叶树种引种栽培适应性分析[J]. 西南林业大学学报(自然科学), 2019, 39(4): 149-154.
- [30] 周冬琴, 芦治国, 吴 斌, 等. 南京地区 7 个常绿阔叶乔木树种的耐寒性评价[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(23): 138-141.

(责任编辑: 吴芯夷)