

鸢尾属植物遗传多样性的 RAPD 和 ISSR 分析

张敏, 黄苏珍^①, 仇硕, 孙延东

(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: 应用 RAPD 和 ISSR 标记技术, 对来自不同产地的鸢尾属 (*Iris* L.) 4 个野生种的遗传多样性进行了分析。结果表明, 12 个 RAPD 和 ISSR 引物分别扩增出 225 和 196 条带, 多态性条带分别为 215 和 196 条, 多态性条带百分率分别为 95.56% 和 100.00%; 种间总基因多样性分别为 0.368 9 和 0.357 5、种内基因多样性分别为 0.107 7 和 0.138 0, 表明鸢尾属种间遗传多样性较高, 且种间变异大于种内变异。4 个野生种中, 蝴蝶花 (*I. japonica* Thunb.) 的遗传组成较为丰富。此外, 种内遗传关系与地理分布和环境差异有一定的相关性。

关键词: RAPD; ISSR; 鸢尾属; 居群; 遗传多样性

中图分类号: Q949.71+8.28; Q344+.4 文献标识码: A 文章编号: 1004-0978(2007)02-0006-06

Analysis of RAPD and ISSR on genetic diversity of *Iris* L. plants ZHANG Min, HUANG Suzhen^①, QIU Shuo, SUN Yan-dong (Institute of Botany, Jiangsu Province and the Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210014, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2007, 16(2): 6-11

Abstract: The genetic diversity of four wild species of *Iris* L. from different production areas was analyzed by RAPD and ISSR techniques. The results show that 225 and 196 bands are amplified by twelve RAPD primers and twelve ISSR primers respectively. There are 215 and 196 polymorphic bands amplified by RAPD and ISSR primers respectively, and the percentages of polymorphic bands are 95.56% and 100.00% respectively. The gene diversity among species (*Ht*) and within species (*Hs*) are 0.368 9, 0.357 5 and 0.107 7, 0.138 0 respectively. It is suggested that the genetic diversity among species of *Iris* is relatively rich and the interspecies variation degree is higher than intraspecies. The genetic composition of *I. japonica* Thunb. is the richest in the four species. It is concluded that the genetic variation of intraspecies relates to geographical location and environment differentiation.

Key words: RAPD; ISSR; *Iris* L.; population; genetic diversity

鸢尾属 (*Iris* L.) 是鸢尾科 (Iridaceae) 中最大的 1 个属, 中国约产 60 种、13 变种及 5 变型, 主要分布于西北、西南及东北等地^[1]。鸢尾属植物大多具有较高的观花和观叶价值, 广泛用于切花、盆栽及园林绿化等领域。目前, 有关鸢尾属植物种间遗传多样性的研究较多^[2-6], 而对种内遗传多样性的研究则较少^[7,8]。作者以 RAPD 和 ISSR 分子标记技术为检测手段, 在分子水平上探讨了鸢尾属 4 个野生种 23 个居群间的遗传多样性, 并进一步比较了 RAPD 和 ISSR 分子标记技术在鸢尾属种间和种内不同居群间遗传多样性和遗传变异检测中的有效性, 为评价鸢尾属植物种质资源的遗传多样性及研究该属植物分子遗传特征提供一定的理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

供试鸢尾属植物马蔺 [*I. lactea* var. *chinesis* (Fisch.) Koidz.] 引种自黑龙江八一农垦大学、黑龙江 856 农场、黑龙江密山、黑龙江虎林、新疆乌鲁木齐植物园、黑龙江大庆, 另外还有 1 个种源引种自美国密苏里植物园; 喜盐鸢尾 (*I. halophila* Pall.) 引

收稿日期: 2007-01-11

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30270940)

作者简介: 张敏 (1982-), 女, 江苏泗洪人, 硕士研究生, 主要从事观赏植物资源保护与利用研究。

^① 通讯作者 E-mail: hsz1959@163.com

种、自新疆乌鲁木齐植物园新疆乌鲁木齐近郊、黑龙江哈尔滨和新疆天山; 蝴蝶花 (*I. japonica* Thunb.) 引种自江苏南京、湖南衡阳、江苏南京市郊、四川成都、四川峨眉山、贵州万山和贵州铜仁; 鸢尾 (*I. tectorum* Maxim.) 引种自江苏南京中山植物园、云南丽江、四川峨眉山、湖南衡阳和江苏南京市郊。每种材料均以引种单株的无性繁殖群体为保存单位, 全部活植物保存于江苏省·中国科学院植物研究所鸢尾种质圃内。

RAPD 分析用 *Taq* DNA 聚合酶和 *dNTPs* 均购自 Takara(宝) 生物工程公司, 引物购自南京生兴生物技术有限公司; 所用仪器为 PTC-100TM 型热循环仪。

ISSR 分析用 *Taq* DNA 聚合酶购自南京博彩生物技术有限公司, *dNTPs* 和 Marker DL 2 000 均购自 Takara(宝) 生物工程公司, 引物购自南京赛吉生物技术有限公司; 所用仪器为 PE-9600 PCR 扩增仪。

1.2 方法

1.2.1 总 DNA 的提取 每个居群随机选取 3~5 个单株, 每株剪取 1 片嫩叶, 洗净晾干后剪碎, 混匀后, 于液氮中研磨成粉, 参照 Rogers 和 Bendich 的 CTAB 法^[9] 提取总 DNA。总 DNA 经 RNase 酶解纯化后, 用等体积的氯仿-异戊醇 (V/V, 24:1) 混合液进行抽提, 无水乙醇沉淀后, 溶于 TE 中。0.8% 琼脂糖凝胶电泳检测总 DNA 的分子量, 并根据荧光强度确定 DNA 的浓度, 最后将 DNA 浓度调至 $20 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$, $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 保存备用。

1.2.2 RAPD 和 ISSR 分子标记的分析方法 选取 3 份纤维发达程度不同的鸢尾属植物的叶片 DNA 样品进行 RAPD 和 ISSR 引物筛选。从 100 个 RAPD 随机引物中共筛选出条带清晰且重复性好的 RAPD 引物 12 个; 从 80 个 ISSR 随机引物中筛选出条带清晰且重复性好的 ISSR 引物 12 个。2 种方法筛选到的引物分别用于所有供试样品的扩增反应。

RAPD 扩增反应总体积为 $20 \mu\text{L}$, 其中包括 1 U *Taq* DNA 聚合酶, $2.0 \mu\text{L}$ $1 \times \text{PCR buffer}$, $1.6 \mu\text{L}$ $25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ MgCl}_2$, $2.0 \mu\text{L}$ $2.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ dNTPs}$, $2.0 \mu\text{L}$ $2.0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 引物和 20 ng DNA 模板。PCR 反应程序为: $94 \text{ }^\circ\text{C}$ 预变性 5 min ; 然后进行 40 个循环反应, 反应条件为 $94 \text{ }^\circ\text{C}$ 变性 1 min , $38 \text{ }^\circ\text{C}$ 退火 1 min , $72 \text{ }^\circ\text{C}$ 延伸 2 min ; 最后于 $72 \text{ }^\circ\text{C}$ 延伸 7 min 。扩增产物 $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 保存备用。

ISSR 扩增反应总体积为 $20 \mu\text{L}$, 其中包括 1 U *Taq* DNA 聚合酶, $2.0 \mu\text{L}$ $1 \times \text{PCR buffer}$, $1.6 \mu\text{L}$ $25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ MgCl}_2$, $1.0 \mu\text{L}$ $2.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ dNTPs}$, $0.6 \mu\text{L}$ $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 引物和 40 ng DNA 模板。PCR 反应程序为: $94 \text{ }^\circ\text{C}$ 预变性 3 min ; 然后进行 40 个循环反应, 反应条件为 $94 \text{ }^\circ\text{C}$ 变性 45 s , $56 \text{ }^\circ\text{C} \sim 60 \text{ }^\circ\text{C}$ 退火 30 s , $72 \text{ }^\circ\text{C}$ 延伸 1.5 min ; 最后于 $72 \text{ }^\circ\text{C}$ 延伸 5 min 。扩增产物 $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 保存备用。

RAPD 和 ISSR 扩增产物分别在 2.0% 琼脂糖 (含 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ EB}$) 凝胶上进行电泳, UVP 凝胶成像系统观察结果并照相。

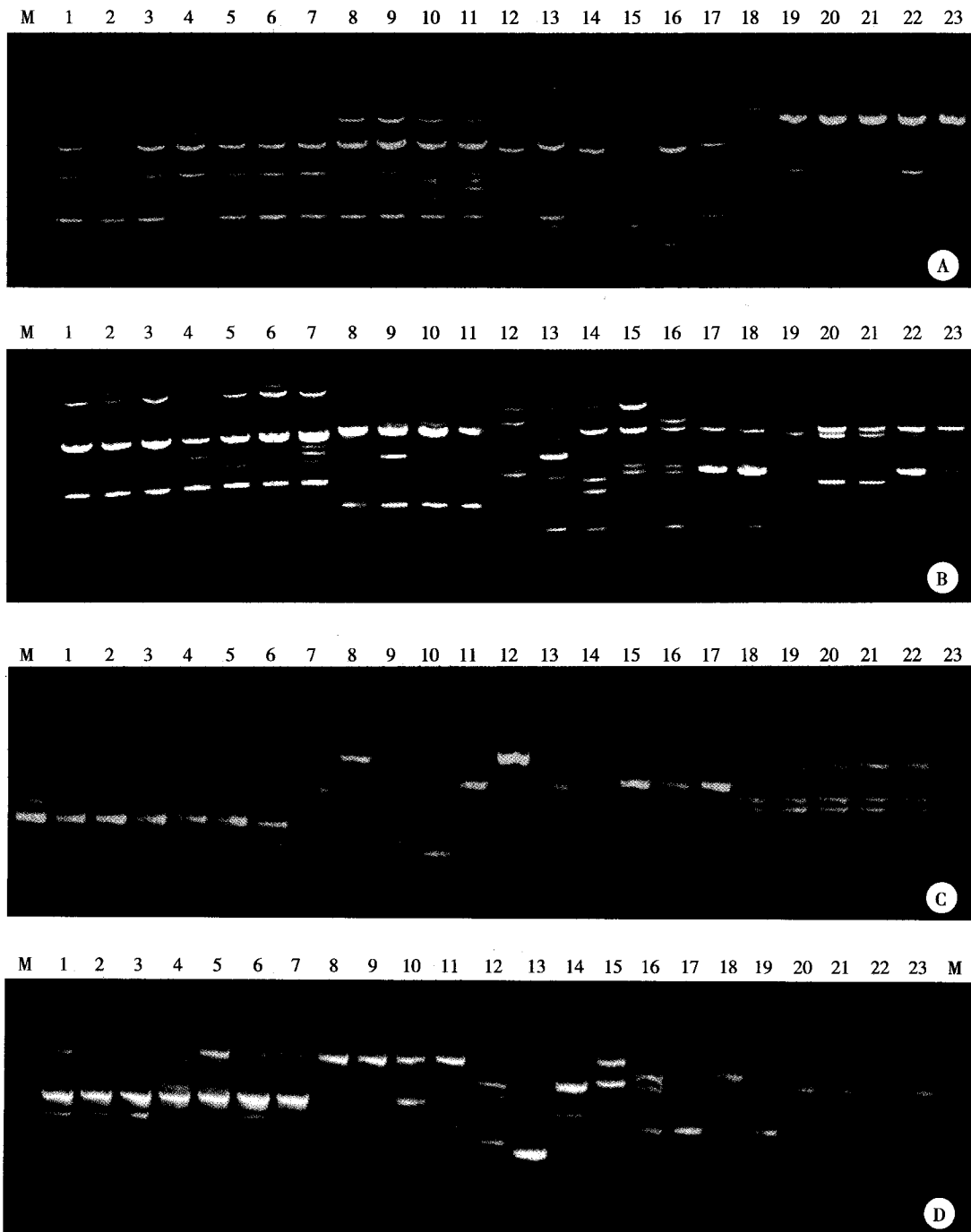
1.3 数据记录与统计处理

RAPD 和 ISSR 电泳图谱中, 1 个条带视为 1 个分子标记 (marker), 并代表 1 个引物的结合位点。根据凝胶同一位置上 DNA 条带的有无进行统计, 有带且重复出现的记为“1”, 无带记为“0”, 并据此分别形成 RAPD 和 ISSR 表型数据矩阵, 采用 POPGENE Version 1.32 软件进行下列遗传参数分析: 多态性条带百分率 (*PPB*, percentage of polymorphic bands)、等位基因数 (*N_a*, number of alleles per locus)、有效等位基因数 (*N_e*, effective number of alleles per locus)、Nei's 基因多样性指数 (*H*, Nei's gene diversity)、Shannon 信息指数 (*I*, Shannon's information index)、种间基因多样性 (*H_t*, gene diversity among species)、种内基因多样性 (*H_s*, gene diversity within species)、种间基因分化系数 (*G_{st}*, coefficient of species gene differentiation) 和种间基因交流 (*N_m*, gene intercourse among species), 并对结果进行聚类分析。

2 结果和分析

2.1 RAPD 和 ISSR 标记的多态性分析

2.1.1 种间遗传多态性分析 部分 RAPD 引物和 ISSR 引物对鸢尾属 4 个野生种类 23 个居群总 DNA 的扩增图谱见图 1。12 个 RAPD 和 12 个 ISSR 引物的序列及扩增结果见表 1。从表 1 可以看出, 每条 RAPD 引物扩增的条带数为 10~23 条, 12 条引物共扩增出 225 条带, 其中多态性条带有 215 条, 多态性条带百分率为 95.56%; 每条 ISSR 引物扩增的条带数为 8~20 条, 12 条引物共扩增出 196 条带, 且均为多态性条带, 多态性条带百分率为 100.00%。



A: RAPD primer AP18; B: RAPD primer AP17; C: ISSR primer ISSR5; D: ISSR primer UBC848. M: Marker. 1-7. 马蔺 *I. lactea* var. *chinesis* (Fisch.) Koidz.; 1. 中国黑龙江八一农垦大学 August First Agriculture University, Heilongjiang of China; 2. 中国黑龙江 856 农场 856 Farm, Heilongjiang of China; 3. 中国黑龙江密山 Mishan, Heilongjiang of China; 4. 中国黑龙江虎林 Hulin, Heilongjiang of China; 5. 中国新疆乌鲁木齐植物园 Urumchi Botanical Garden, Xinjiang of China; 6. 中国黑龙江大庆 Daqing, Heilongjiang of China; 7. 美国密苏里植物园 Missouri Botanical Garden of USA. 8-11. 喜盐鸢尾 *I. halophila* Pall.; 8. 中国新疆乌鲁木齐植物园 Urumchi Botanical Garden, Xinjiang of China; 9. 新疆乌鲁木齐近郊 The outskirts of Urumchi, Xinjiang of China; 10. 中国黑龙江哈尔滨 Harbin, Heilongjiang of China; 11. 中国新疆天山 Tianshan Mountain, Xinjiang of China. 12-18. 蝴蝶花 *I. japonica* Thunb.; 12. 中国江苏南京 Nanjing, Jiangsu of China; 13. 中国湖南衡阳 Hengyang, Hu'nan of China; 14. 中国江苏南京市郊 The outskirts of Nanjing, Jiangsu of China; 15. 中国四川成都 Chengdu, Sichuan of China; 16. 中国四川峨眉山 Emei Mountain, Sichuan of China; 17. 中国贵州万山 Wanshan, Guizhou of China; 18. 中国贵州铜仁 Tongren, Guizhou of China. 19-23. 鸢尾 *I. tectorum* Maxim.; 19. 中国江苏南京中山植物园 Nanjing Botanical Garden Mem. Sun Yat-Sen, Jiangsu of China; 20. 中国云南丽江 Lijiang, Yunnan of China; 21. 中国四川峨眉山 Emei Mountain, Sichuan of China; 22. 中国湖南衡阳 Hengyang, Hu'nan of China; 23. 中国江苏南京市郊 The outskirts of Nanjing, Jiangsu of China.

图1 部分 RAPD 和 ISSR 引物对鸢尾属 4 个种类不同居群的扩增指纹图谱

Fig. 1 Fingerprints of different populations of four species of *Iris* L. amplified by part of RAPD and ISSR primers

表1 鸢尾属4个种类的 RAPD 和 ISSR 扩增结果

Table 1 The amplification results on four species of *Iris* L. by RAPD and ISSR primers

RAPD 引物 RAPD primer	5'→3'序列 5'→3'sequence	扩增条带数 Number of band	PPB/% ¹⁾	ISSR 引物 ISSR primer	5'→3'序列 5'→3'sequence	扩增条带数 Number of band	PPB/% ¹⁾
A001	AAGACCACGG	14	100.00	ISSR3	(AC) ₈ TT	18	100.00
A015	GAAGGCTCCC	20	90.00	ISSR4	(AC) ₈ AG	19	100.00
A019	GTTCTGGAC	23	95.65	ISSR5	(AC) ₈ TT	17	100.00
AP07	ACCACCCGCT	23	100.00	ISSR32	(AG) ₈ AC	19	100.00
AP17	ACGGCACTCC	19	94.74	ISSR35	(AG) ₈ TA	18	100.00
AP18	GTGGTGGACA	20	100.00	ISSR56	(AG) ₈ TT	17	100.00
AR02	CACCTGCTCA	22	100.00	ISSR59	(AG) ₈ GC	17	100.00
AR03	GTGAGGGCA	16	87.50	ISSR63	(AG) ₈ CT	20	100.00
AR13	GGGTGGGCTT	20	100.00	ISSR69	(TC) ₇ TG	11	100.00
AU03	ACGAAACGGG	21	95.24	UBC848	(CA) ₈ RG	17	100.00
B08	GTCCACACGG	17	100.00	UBC878	(GGAT) ₄	8	100.00
F13	GGCTGCAGAA	10	70.00	UBC881	(GGGGT) ₃	15	100.00

¹⁾ PPB: 多态性条带百分率 Percentage of polymorphic bands.

根据 RAPD 和 ISSR 扩增结果计算出的遗传参数见表2。结果表明,根据 RAPD 和 ISSR 扩增结果得到的 Nei's 基因多样性指数和 Shannon 信息指数分别为 0.368 9 和 0.541 5、0.357 5 和 0.533 1。

比较发现, RAPD 引物扩增出的总带数略高于 ISSR 引物,且由 RAPD 扩增结果计算出的 Nei's 基因多样性指数和 Shannon 信息指数也略高,但用 ISSR 引物扩增出的多态性条带百分率则略高于 RAPD 引物。

2.1.2 种内居群间的遗传多样性分析 从表2可以看出,利用 ISSR 方法得到的多态性条带百分率均高于 RAPD 方法。基于 RAPD 分析方法计算出的4个种类居群间的 Nei's 基因多样性指数为 0.079 1 ~

0.159 6, Shannon 信息指数为 0.121 3 ~ 0.237 4; 而基于 ISSR 方法得到的4个种居群间的 Nei's 基因多样性指数为 0.084 9 ~ 0.211 2。另外,在这2种方法中,均以蝴蝶花7个居群间的多态性条带百分率最高,同时其 Nei's 基因多样性指数和 Shannon 信息指数也最高,说明蝴蝶花居群间的遗传多样性较高。

2.2 种间遗传变异分析

鸢尾属4个种类间的遗传变异分析结果见表3。研究表明,供试的4个种类间存在较大的遗传分化。根据 RAPD 和 ISSR 分析结果得到的种间基因分化系数分别为 70.81% 和 63.19%, 由于种间基因分化系数表示种间遗传变异占总遗传变异的百分比,因此,供试的鸢尾属4个种类间的遗传变异主要存在于

表2 鸢尾属4个种类居群间的遗传多样性分析¹⁾Table 2 The analysis of genetic diversity among populations in four species of *Iris* L.¹⁾

标记 Marker	种类 Species	N	Tn	PB	PPB/%	Na	Ne	H	I
RAPD	马蔺	7	124	54	43.55	1.240 0	1.128 0	0.079 1	0.121 3
	喜盐鸢尾	4	127	45	35.43	1.200 0	1.152 0	0.085 0	0.122 9
	蝴蝶花	7	148	96	64.86	1.426 7	1.272 7	0.159 6	0.237 4
	鸢尾	5	120	53	44.17	1.235 6	1.161 1	0.093 2	0.137 1
	总计 Total	23	225	215	95.56	1.955 6	1.651 9	0.368 9	0.541 5
ISSR	马蔺	7	112	62	55.36	1.316 3	1.201 6	0.118 7	0.176 5
	喜盐鸢尾	4	99	53	53.53	1.270 4	1.190 8	0.110 3	0.161 4
	蝴蝶花	7	117	111	94.87	1.566 3	1.358 4	0.211 0	0.314 4
	鸢尾	5	82	41	50.00	1.209 2	1.149 2	0.084 9	0.124 1
	总计 Total	23	196	196	100	2.000 0	1.614 3	0.357 5	0.533 1

¹⁾ 马蔺 *Iris lactea* var. *chinesis* (Fisch.) Koidz.; 喜盐鸢尾 *I. halophila* Pall.; 蝴蝶花 *I. japonica* Thunb.; 鸢尾 *I. tectorum* Maxim.; N: 居群数 Number of population; Tn: 总条带数 Total number of band; PB: 多态性条带数 Number of polymorphic band; PPB: 多态性条带百分率 Percentage of polymorphic band; Na: 等位基因数 Number of alleles per locus; Ne: 有效等位基因数 Effective number of alleles per locus; H: Nei's 基因多样性指数 Nei's gene diversity; I: Shannon 信息指数 Shannon's information index.

种间。尽管利用 2 种分析方法得到的遗传变异分析指标有一定的差异,但计算出的基因流都小于 1,表明 4 个种类间的基因交流有限。

2.3 遗传关系的聚类分析

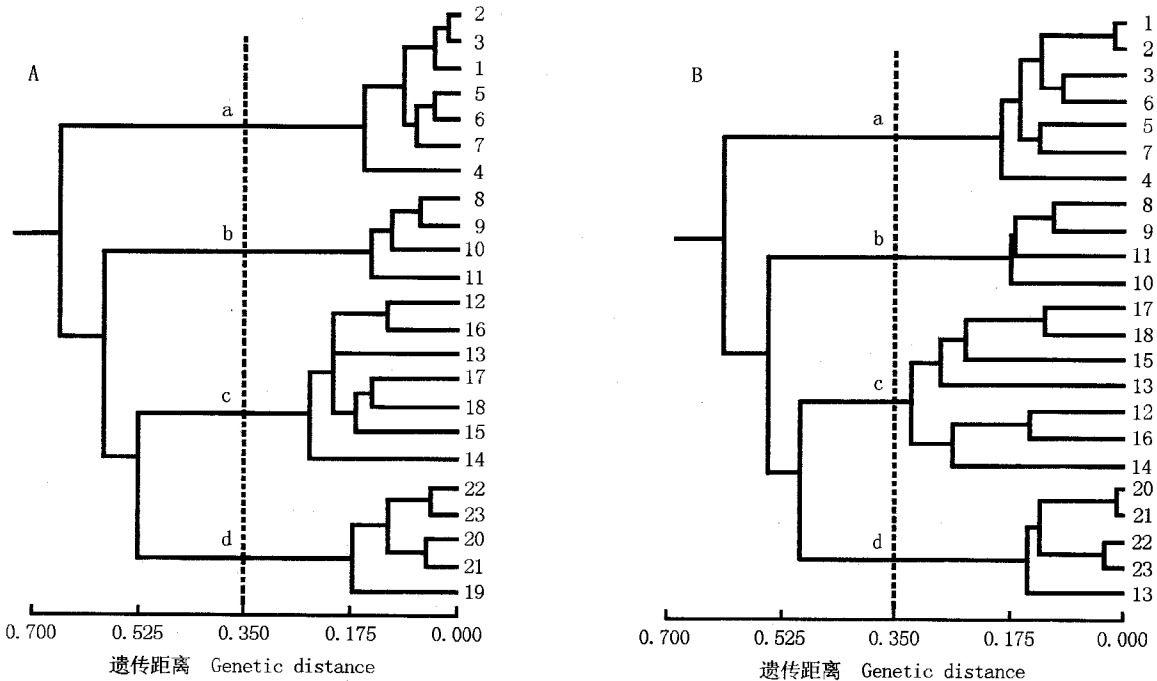
依据 RAPD 和 ISSR 方法计算鸢尾属 4 个种类不同居群间的遗传距离,分别进行聚类分析并构建聚类图,结果见图 2。由图 2 可见,用 RAPD 和 ISSR 方法得到的聚类图相似。当 $\lambda = 0.350$ 时,供试的

表 3 鸢尾属 4 个种类间的遗传变异分析¹⁾

Table 3 The analysis of genetic variation among four species of *Iris* L.¹⁾

标记 Marker	<i>H</i> t	<i>H</i> s	<i>G</i> st	<i>N</i> m
RAPD	0.368 9	0.107 7	0.708 1	0.206 1
ISSR	0.357 5	0.138 0	0.613 9	0.314 4

¹⁾ *H*t: 种间总基因多样性 Gene diversity among species; *H*s: 种内基因多样性 Gene diversity within species; *G*st: 种间基因分化系数 Coefficient of species gene differentiation; *N*m: 种间基因交流 Gene intercourse among species.



1-7. 马蔺 *I. lactea* var. *chinesis* (Fisch.) Koidz.: 1. 中国黑龙江八一农垦大学 August First Agriculture University, Heilongjiang of China; 2. 中国黑龙江 856 农场 856 Farm, Heilongjiang of China; 3. 中国黑龙江密山 Mishan, Heilongjiang of China; 4. 中国黑龙江虎林 Hulin, Heilongjiang of China; 5. 中国新疆乌鲁木齐植物园 Urumchi Botanical Garden, Xinjiang of China; 6. 中国黑龙江大庆 Daqing, Heilongjiang of China; 7. 美国密苏里植物园 Missouri Botanical Garden of USA. 8-11. 喜盐鸢尾 *I. halophila* Pall.: 8. 中国新疆乌鲁木齐植物园 Urumchi Botanical Garden, Xinjiang of China; 9. 新疆乌鲁木齐近郊 The outskirts of Urumchi, Xinjiang of China; 10. 中国黑龙江哈尔滨 Harbin, Heilongjiang of China; 11. 中国新疆天山 Tianshan Mountain, Xinjiang of China. 12-18. 蝴蝶花 *I. japonica* Thunb.: 12. 中国江苏南京 Nanjing, Jiangsu of China; 13. 中国湖南衡阳 Hengyang, Hu'nan of China; 14. 中国江苏南京市郊 The outskirts of Nanjing, Jiangsu of China; 15. 中国四川成都 Chengdu, Sichuan of China; 16. 中国四川峨眉山 Emei Mountain, Sichuan of China; 17. 中国贵州万山 Wanshan, Guizhou of China; 18. 中国贵州铜仁 Tongren, Guizhou of China. 19-23. 鸢尾 *I. tectorum* Maxim.: 19. 中国江苏南京中山植物园 Nanjing Botanical Garden Mem. Sun Yat-Sen, Jiangsu of China; 20. 中国云南丽江 Lijiang, Yunnan of China; 21. 中国四川峨眉山 Emei Mountain, Sichuan of China; 22. 中国湖南衡阳 Hengyang, Hu'nan of China; 23. 中国江苏南京市郊 The outskirts of Nanjing, Jiangsu of China.

图 2 基于 RAPD(A) 和 ISSR(B) 分析的鸢尾属 4 个种类的聚类图
Fig. 2 Dendrogram of four species of *Iris* L. based on RAPD (A) and ISSR (B) analysis

23 个居群被划分为 4 组,且同一种类被聚为一组;蝴蝶花和鸢尾的亲缘关系最近,首先被聚在一起,马蔺与蝴蝶花和鸢尾及喜盐鸢尾的亲缘关系最远。这一结果与鸢尾属植物的演化进程^[10]相符。

由图 2 还可以看出,根据 RAPD 和 ISSR 方法得到的聚类图中,除鸢尾种内各居群间(d 组)的聚类关系相似外,其他 3 个种的种内居群间的聚类结果

(a、b 和 c 组)存在一定的差异。

3 讨 论

用 RAPD 引物对鸢尾属 4 个种类 23 个居群的 DNA 进行扩增,扩增条带的多态性条带百分率为 95.56%;用 ISSR 引物进行扩增,扩增条带的多态性

条带百分率为 100.00%, 采用 ISSR 分析方法得到的多态性条带百分率大于 RAPD 方法, 与 RAPD 分析方法相比, ISSR 分析方法可检测到更多的遗传多态性信息。因而, 在应用分子标记进行鸢尾属植物种质资源遗传多样性研究时, ISSR 方法比 RAPD 方法更优越, 这可能与采用不同方法对基因组 DNA 进行扩增时引物的结合位置不同有关^[11]。

在 RAPD 标记分析中, 鸢尾属同种不同居群间扩增条带的多态性百分率为 35.43% ~ 64.86%, 远小于所有供试样品的多态性条带百分率; 而在 ISSR 标记分析中, 同种不同居群间扩增条带的多态性百分率为 50.00% ~ 94.87%, 也小于所有供试样品的多态性条带百分率, 说明供试的鸢尾属 4 个种类的种间遗传变异大于居群间的遗传变异。根据 RAPD 和 ISSR 2 种分子标记计算出的种间基因分化系数分别为 0.708 1 和 0.613 9, 也表明供试的鸢尾属 4 个种类的遗传变异主要存在于种间。

另外, 蝴蝶花 7 个居群间的多态性条带百分率、Nei's 基因多样性指数和 Shannon 信息指数均高于其他 3 个种类不同居群间的数值, 表明蝴蝶花 7 个居群间的遗传多样性相对高于其他 3 个种类, 其遗传组成也较为丰富。

聚类分析结果表明, 基于 RAPD 和 ISSR 标记方法得到的鸢尾属 4 个种类间的聚类结果一致, 而对种内居群间的聚类分析结果则存在一定差异, 但总体上看, 同一种类地理位置相同或相近的居群首先聚在一起, 分布较近的居群间的遗传距离也相对较小。一般认为, 植物种群间的遗传变异与该物种的地理分布及生态特征有关^[12], 因此, 地理环境的差异在一定程度上可能对鸢尾属种类种内的遗传变异产生影响。

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 第十六卷 第一分册[M]. 北京: 科学出版社, 1985. 133 - 197.
- [2] Kim S C, Jung Y H, Jang K C, et al. Phylogenetic analysis and the bulbous-specific band identification using random amplified polymorphic DNA in the genus *Iris*[J]. J Kor Soc Hort Sci, 2003, 44(2): 232 - 238.
- [3] Wilson C A. Phylogenetic relationships in *Iris* series Californicae based on ITS sequences of nuclear ribosomal DNA [J]. Systematic Botany, 2003, 28(1): 39 - 46.
- [4] Zhuravlev Y N, Kozyrenko M M, Artyukova E V, et al. Finger printing genomes of the far eastern species of the genus *Iris* L. by RAPD-PCR [J]. Russian Journal of Genetics, 1998, 34(3): 368 - 372.
- [5] 刘云. 吉林省八种鸢尾植物的 RAPD 分析及结构植物学分析[D]. 哈尔滨: 东北师范大学, 2001. 45.
- [6] 黄芸, 杨光. RAPD 法鉴定射干类中药[J]. 中草药, 2002, 33(10): 935 - 937.
- [7] Veerle L, Isabel R, Els C, et al. A study of genetic variation in *Iris pseudacorus* populations using amplified fragment length polymorphisms (AFLPs)[J]. Aquatic Botany, 2002, 73: 19 - 31.
- [8] 黄苏珍. 鸢尾属部分植物资源评价及种质创新研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2004.
- [9] Rogers S O, Bendich A J. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh herbarium and mummified plant tissues [J]. Plant Mol Biol, 1985, 5: 69 - 76.
- [10] Rodionenko G I. The Genus *Iris* L. [M]. London: Bigword & Statple Ltd, 1987.
- [11] Bruford M W, Cheesman D J, Coote T, et al. Microsatellites and their application to conservation genetics[A]. Smith T B, Wayne R K. Molecular Genetic Approaches in Conservation [M]. Oxford: Oxford University Press, 1996. 237.
- [12] Loveless M D, Hamrick J L. Ecological determinants of genetic structure in plant populations [J]. Ann Rev Ecol Syst, 1984, 15: 65 - 95.