

DOI: 10.11929/j.swfu.201902066

引文格式: 甘沛华, 李旦, 沈德周, 等. 不同瓣型腾冲红花油茶的遗传多样性与遗传结构分析 [J]. 西南林业大学学报 (自然科学), 2019, 39(4): 46–52.

不同瓣型腾冲红花油茶的遗传多样性与遗传结构分析

甘沛华^{1,2} 李旦^{1,3} 沈德周^{1,2} 周安佩^{1,2} 谢忠利^{1,3} 何承忠^{1,2,4}

(1. 西南林业大学云南省高校林木遗传改良与繁育重点实验室, 云南昆明 650233; 2. 西南林业大学西南地区生物多样性保育国家林业局重点实验室, 云南昆明 650233; 3. 西南林业大学云南生物多样性研究院, 云南昆明 650233; 4. 西南林业大学西南山地森林资源保育与利用教育部重点实验室, 云南昆明 650233)

摘要: 采用荧光 AFLP 标记技术, 对采集于腾冲的 3 个自然类型 90 份腾冲红花油茶样本进行遗传变异分析, 结果显示: 7 对 AFLP 引物扩增出 697 条带, 多态性条带百分率 (PPB) 为 100%, 有效等位基因数 (N_e) 为 1.361 4, 基因多样性指数 (H) 为 0.257 6, Shannon's 信息指数 (I) 为 0.421 5, 腾冲红花油茶具有较为丰富的遗传变异。在自然类型水平上, 基因多样性指数 (H_{nfp}) 和 Shannon's 信息指数 (I_{nfp}) 分别介于 0.241 8~0.255 8 和 0.395 9~0.413 2 之间, 遗传多样性水平为单瓣类型>半重瓣类型>重瓣类型。3 个自然类型之间的遗传分化系数 (G_{st}) 为 0.034 5, 与 AMOVA 分析结果一致 ($\Phi_{st}=0.056$), 表明自然类型内不同个体的遗传差异是腾冲红花油茶遗传多样性的主要来源, 需要对现存个体加强保护。基于 Nei's 遗传距离的 UPGMA 聚类分析, 将 3 个自然类型分为 2 个大组, 其中单瓣类型独自构成一组, 半重瓣类型与重瓣类型构成另一组。而基于单株之间 Nei's 遗传距离的 UPGMA 聚类结果, 将 90 个个体主要聚分为 3 个大组, 较清晰地将 3 个自然类型分开, 并表明半重瓣是单瓣和重瓣类型的过渡类型, 且 3 种自然类型具有各自特有的遗传物质基础。因此, 腾冲红花油茶划分为 3 种自然类型具有一定的科学性和合理性。

关键词: 腾冲红花油茶; 不同瓣型; 遗传多样性; 遗传结构; AFLP 标记

中图分类号: S722

文献标志码: A

文章编号: 2095-1914(2019)04-0046-07

Analysis on Genetic Diversity and Genetic Structure of Different Floral Patterns of *Camellia reticulata* f. *simplex*

Gan Peihua^{1,2}, Li Dan^{1,3}, Shen Dezhou^{1,2}, Zhou Anpei^{1,2}, Xie Zhongli^{1,3}, He Chengzhong^{1,2,4}

(1. Key Laboratory for Forest Genetic and Tree Improvement & Propagation in Universities of Yunnan Province, Southwest Forestry University, Kunming Yunnan 650233, China; 2. Key Laboratory of State Forestry Administration for Biodiversity Conservation in Southwest China, Southwest Forestry University, Kunming Yunnan 650233, China; 3. Yunnan Academy of Biodiversity, Southwest Forestry University, Kunming Yunnan 650233, China; 4. Key Laboratory of Ministry of Education for Forestry Resources Conservation and Utilization in the Southwest Mountains of China, Southwest Forestry University, Kunming Yunnan 650233, China)

Abstract: Fluorescent AFLP markers were used to analyze the genetic varieties of 90 samples from 3 natural floral patterns of *Camellia reticulata* f. *simplex* collected from Tengchong County. The results showed that a total of 697 DNA fragments were produced by 7 AFLP primer combinations. At species level, all DNA fragments were found to be polymorphic (100%), effective number of alleles (N_e) was 1.361 4, Nei's gene diversity (H) was

收稿日期: 2019-02-22; 修回日期: 2019-03-25

基金项目: 云南省应用基础研究青年项目 (2014FD028) 资助; 西南林业大学大学生创新项目 (C15070) 资助。

第 1 作者: 甘沛华 (1994—), 男, 硕士研究生。研究方向: 林木分子生物学。Email: ganpeihua33@sina.cn。

通信作者: 何承忠 (1970—), 男, 教授, 博士生导师。研究方向: 林木遗传育种与分子生物学。Email: hcz70@163.com。

0.257 6, and Shannon's information index was (J) 0.421 5. All of the genetic diversity parameters revealed that there was a relatively high level of genetic diversity in *C. reticulata* f. *simplex*. On the level of natural floral pattern, the scope of H_{nfp} and I_{nfp} was from 0.241 8 to 0.255 8 and from 0.395 9 to 0.413 2, respectively. The order of genetic diversity level was single floral pattern > semi-double floral pattern > double floral pattern. Genetic differentiation coefficient (G_{st}) among 3 natural floral patterns was 0.034 5, which was consistent with the result of AMOVA (Φ_{st} =0.056). It is suggested that higher degree of genetic varieties within natural floral pattern were the main source of genetic diversity in *C. reticulata* f. *simplex*, and close protective attention should be paid to individuals. The 3 natural floral patterns were divided into 2 groups by UPGMA analysis based on Nei's genetic distances. Of which, one group was composed of simple floral pattern, and the other group was composed of semi-double floral pattern and double floral pattern. Furthermore, UPGMA clustering result showed that 90 individuals were divided into mainly 3 groups based on Nei's genetic distances among individuals, and clearly separate the 3 natural types. This clustering result revealed that semi-double floral pattern was a transitional pattern between single floral pattern and double floral pattern, and the 3 natural floral patterns occupied their own unique genetic material basis. Therefore, it was scientific and reasonable that *C. reticulata* f. *simplex* was classified into 3 natural floral patterns.

Key words: *Camellia reticulata* f. *simplex*; different floral pattern; genetic diversity; genetic structure; AFLP markers

腾冲红花油茶 (*Camellia reticulata* f. *simplex*) 隶属于山茶科 (Theaceae) 山茶属 (*Camellia*), 是云南山茶花的原始种, 被列为国家二级珍稀保护物种^[1]。前期资源调查结果表明, 腾冲红花油茶属于窄分布种, 为局限性生态幅物种^[2], 自然分布范围仅限于滇西山地及滇中高原^[3], 而其原始天然林集中分布于保山市昌宁县、腾冲市、隆阳区, 大理州永平县、云龙县、南涧县、巍山县, 临沧市凤庆县, 丽江市华坪县, 楚雄州楚雄市^[4]。其中, 腾冲市打云山以及大麓丛山周围的云华、中和、固东和曲石等乡镇分布着极其丰富的腾冲红花油茶天然野生种群, 该区域也是云南山茶的故乡和起源地^[1, 5-7]。腾冲红花油茶的茶油中不饱和脂肪酸含量高达 85%, 品质优良, 是一种优质耐储藏的食用油^[4, 8]。同时, 长期在自由授粉、天然杂交、分布区小气候类型多样等自然因素的综合作用下, 形成了缤纷多样的花型和花色, 为云南八大名花之一的“山茶花”优良观赏品种培育提供了丰富的育种资源^[9-11]。因此, 腾冲红花油茶不仅是云南特有的优良木本油料树种, 又由于花型多样, 花色丰富, 也是观赏价值很高的园林绿化树种, 具有巨大的开发利用潜力和经济价值。

腾冲红花油茶的主要观赏器官是花朵。在 20 世纪 30 年代, 英国植物学家 George Forrest 将腾冲采集到的单瓣类型腾冲红花油茶命名为 *C.*

reticulata var. *simplex*, 并认为是云南山茶的原始种, 而 Sealy 于 1958 年将腾冲红花油茶拉丁名修订为 *C. reticulata* f. *simplex*^[12]。因此, 腾冲红花油茶最初是指单瓣类型。之后, 俞德浚等^[13] 又根据花瓣轮数, 初步将腾冲红花油茶分为单瓣、半重瓣和重瓣 3 个类型, 在此基础上, 根据花瓣数及其轮数, 具体划分为单瓣组、半重瓣组和重瓣组^[1], 司马永康等^[10] 利用计算机技术, 采用直接观察计数、数理统计和数量分类学的方法, 将云南红花油茶划分为腾冲红花油茶、云南红花油茶、重瓣红花油茶和叠瓣红花油茶 4 个变种。沈立新等^[9] 以花、果性状与形态、用途及经济价值为依据, 将腾冲红花油茶划分为单瓣花系、半重瓣花系、重瓣花系 3 个自然类型, 进一步根据果形特征等将单瓣花系细分为 5 个品种类群, 根据花的形态特征等将半重瓣和重瓣花系分别细分为 5 个和 10 个品种类群。上述分类主要依据表型性状, 而表型是基因与环境共同作用的结果, 受环境条件影响明显, 表现出较大的可塑性。

AFLP 分子标记技术能够准确地开展物种鉴别、遗传多样性分析以及系统发育关系建立等, 具有较好的稳定性和可重复性^[14-17]。然而, 从分子层面对不同瓣型腾冲红花油茶的遗传多样性研究尚为空白。为此, 本研究以采集于腾冲市腾冲红花油茶天然野生种群和种质资源收集保存基地的 3 个自然类型 90 株个体为材料, 采用 AFLP 分

子标记技术揭示其遗传多样性和遗传结构,以期阐明腾冲红花油茶遗传变异水平和遗传变异规律,为种质资源的收集与保存提供科学依据,为类型的划分提供分子证据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

依据沈立新等^[9]对腾冲红花油茶单瓣、半重

瓣与重瓣 3 个自然类型的划分,在盛花期从腾冲市腾冲红花油茶天然野生种群及种质资源保存基地中按不同类型采集样本,每个类型采集样本 30 份,共计 90 份样本。天然野生种群中同一类型的样株间隔在 30 m 以上。采集嫩叶,用变色硅胶快速干燥处理,带回实验室备用。各样本详细信息见表 1。

表 1 测试样本信息

Table 1 Information of the test samples

自然类型	采集地	东经	北纬	海拔/m	样本数
单瓣类型	猴家山	98°28'	25°03'	1 811~1 890	10
	沙坝林场	98°35'	24°57'	2 052~2 274	10
	明光乡	98°33'	25°32'	1 875~1 907	5
	马站乡	98°27'	25°09'	1 969~2 045	5
半重瓣类型	龙华寺	97°27'	25°17'	1 964~1 987	5
	种质资源基地	98°29'	25°01'	1 660~1 723	25
重瓣类型	龙华寺	97°27'	25°17'	1 953~2 007	18
	种质资源基地	98°29'	25°01'	1 673~1 725	12

1.2 测试样本总 DNA 提取

依照 Ezup plant genomic DNA prep Kit (上海生工)说明书的步骤提取测试样本总 DNA,利用 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测提取 DNA 的完整性,通过核酸蛋白检测仪 Agilent 2100 (Agilent Technologies, CA, USA)对 DNA 的纯度和浓度进行检测,稀释至 50 ng/ μ L 的终浓度,于 -20 °C 保存,备用。

1.3 AFLP 体系

采用 *Eco*R I + *Mse* I 限制性内切酶组合对测试样本的总 DNA 进行双酶切,取 4 μ L 双酶切产物连接 *E*-adaptor 和 *M*-adaptor。以添加接头后的产物 4 μ L 为模板,采用 $E_{00} + M_{00}$ 引物组合进行 PCR 预扩增,将预扩增产物稀释 20 倍作为选择性扩增模板。选择性 PCR 扩增引物组合方式为 $E_{+3} + M_{+3}$ 。取选择性扩增产物 5 μ L 与双指示剂 (溴酚蓝+二甲苯青)充分混合后上样于 6% 变性聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,进行选择性扩增引物的筛选。参照 IRDyeTM Fluorescent AFLP Kit 说明书对筛选出的选择性扩增引物锚定荧光标记,荧光 AFLP 选择性 PCR 扩增产物在 LI-COR 4300 DNA 测序仪上进行毛细管电泳分离。PCR 扩增均在 PTC-100TM Thermal PCR 仪上进行。

1.4 数据统计与分析

应用 GeneMarker V2.2.0 对所得数据进行人工校对,统计不同样本同一位置峰值的“有”“无”,转换为 1/0 数据矩阵。采用 POPGENE 1.32 软件^[18]对腾冲红花油茶 3 个自然类型的多态性条带百分率 (PPB)、有效等位基因数 (N_e)、Nei's 基因多样性指数 (H)、Shannon's 信息指数 (I)、Nei's 总基因多样性 (H_t)、类型内基因多样性 (H_s)、遗传分化系数 (G_{st})、基因流 (N_m) 以及类型间的 Nei's 遗传距离等参数进行计算。运用 AMOVA 软件^[19]进行 3 个类型间的分子方差分析。应用 MEGA5.0 软件^[20]基于 Nei's 遗传距离分别构建 3 个自然类型和 90 个样株的 UPGMA 聚类图。

2 结果与分析

2.1 腾冲红花油茶 3 个自然类型的遗传多样性

筛选出 7 对 AFLP 引物组合用于腾冲红花油茶 3 个自然类型共 90 份样本的遗传变异分析,共扩增得到有效条带 697 条,其中多态性条带百分率 (PPB) 为 100%,有效等位基因数 (N_e) 为 1.361 4,基因多样性指数 (H) 和 Shannon's 信息指数 (I) 分别为 0.257 6 和 0.421 5,表明腾冲红

花油茶具有丰富的遗传多样性。3个自然类型之间，多态性条带百分率（PPB_{nfp}）变化范围为99.14%~99.71%，平均为99.47%，半重瓣类型的多态性条带百分率最高，而单瓣类型最低；有效等位基因数（N_{enfp}）变幅为1.3479~1.3770，平均为1.3616，基因多样性指数（H_{nfp}）和Shannon's

信息指数（I_{nfp}）分别介于0.2418~0.2558和0.3959~0.4132之间，均值分别为0.2487和0.4047，该3个参数的最大值均出现在单瓣类型，最小值为重瓣类型（表2）。以基因多样性指数为参照，3个自然类型的遗传多样性水平依次为单瓣类型>半重瓣类型>重瓣类型。

表2 腾冲红花油茶3个自然类型的遗传多样性

Table 2 Genetic diversity of 3 natural floral patterns of *C. reticulata* f. *simplex*

自然类型	样本数	多态性条带百分率/%	有效等位基因数	基因多样性指数	Shannon's信息指数
单瓣类型	30	99.14	1.3770±0.2228	0.2558±0.1133	0.4132±0.1452
半重瓣类型	30	99.71	1.3600±0.2056	0.2486±0.1085	0.4049±0.1396
重瓣类型	30	99.57	1.3479±0.2052	0.2418±0.1089	0.3959±0.1413
平均	/	99.47	1.3616±0.0146	0.2487±0.0070	0.4047±0.0087
总计	90	100.00	1.3614±0.1415	0.2576±0.0763	0.4215±0.0958

2.2 腾冲红花油茶自然类型的遗传结构

POPGENE 分析结果显示，腾冲红花油茶的总基因多样度（H_t）为0.2576，自然类型内的基因多样度（H_s）为0.2487，不同自然类型之间的基因流（N_m）为13.99，说明不同自然类型之间的基因交流频繁，不存在基因交流的屏障。遗传分化系数（G_{st}）为0.0345，表明自然类型之间的遗传变异仅占总变异的3.45%，而96.55%的遗传

变异存在于自然类型内的不同个体之间。应用 AMOVA 软件对3个自然类型遗传变异的分子方差分析结果（表3）显示，不同自然类型间的基因分化系数（Φ_{st}）为0.056，变异组分为7.76，变异占总变异的5.59%，而自然类型内的变异占总变异的94.41%。POPGENE 和 AMOVA 分析结果均表明，自然类型内不同个体之间的遗传差异是腾冲红花油茶遗传多样性的主要来源。

表3 腾冲红花油茶3个自然类型的 AMOVA 分析

Table 3 Analysis of molecular variance among 3 natural floral patterns of *C. reticulata* f. *simplex*

变异来源	自由度	方差和	均方	变异组分	变异百分率/%	Φ _{st}
自然类型间	2	728.11	364.06	7.76	5.59	0.056
自然类型内	87	11407.47	131.12	131.12	94.41	
总计	89	12135.58				

2.3 遗传距离与聚类分析

为揭示腾冲红花油茶3个自然类型在不同层次上的差异变化，分别以自然类型和个体作为分析基本单元进行遗传距离的统计分析。由表4可见，以自然类型为基本单元时，3个自然类型之间的遗传距离变幅为0.0161~0.0213，平均为0.0179，半重瓣类型与重瓣类型之间的遗传距离最小，其次为单瓣类型与半重瓣类型之间，而单瓣类型与重瓣类型之间的遗传距离最大。UPGMA 聚类结果显示，在遗传距离0.0082处，3个自然类型聚为2个大组，第1组由半重瓣类型和重瓣类型构成，第2组仅有单瓣类型（图1），半重瓣类型和重瓣类型可能由单瓣类型演化而形成。

表4 腾冲红花油茶3个自然类型间遗传距离

Table 4 Genetic distance among 3 natural floral patterns of *C. reticulata* f. *simplex*

自然类型	单瓣类型	半重瓣类型	重瓣类型
单瓣类型		0.5089	0.5197
半重瓣类型	0.0162		0.5012
重瓣类型	0.0213	0.0161	

注：对角线下方为基于自然类型单元的遗传距离；对角线上方为基于个体单元的遗传距离。

以腾冲红花油茶样本单株为基本单元进行分析，3个自然类型的90个个体之间的遗传距离介于0.2683~0.6719，平均为0.4981。其中，单瓣类型30个单株之间的遗传距离变幅在0.2683~

0.606 6, 平均为 0.481 9; 半重瓣类型个体之间的遗传距离变化范围为 0.279 6~0.588 4, 平均为 0.475 6; 重瓣类型样株间的遗传距离介于 0.344 2~0.638 6 之间, 平均为 0.463 3。单瓣类型的单株间遗传距离变幅最大, 说明其个体遗传差异较大, 遗传背景较丰富。基于 90 个个体间的遗传距离 UPGMA 聚类结果 (图 2) 显示, 90 个腾冲红花油茶单株主要聚分为 3 个大组, 第 1 组由单瓣类

型 16 个个体 (53.33%) 构成, 第 2 组包含有单瓣类型 14 个个体 (46.67%) 和半重瓣类型 19 个个体 (63.33%), 第 3 大组包含半重瓣类型 5 个个体 (16.67%) 和重瓣类型 27 个个体 (90.00%)。由此可见, 腾冲红花油茶的单瓣类型、半重瓣类型和重瓣类型具有各自的遗传物质基础, 其 3 个自然类型划分具有科学性和合理性, 且半重瓣类型为单瓣类型和重瓣类型的过渡类型。

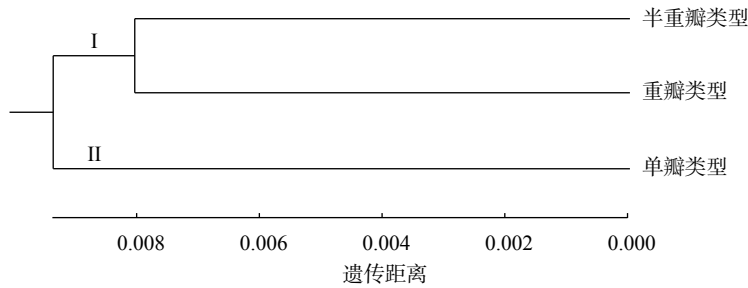


图 1 基于 Nei's 遗传距离的腾冲红花油茶 3 个自然类型聚类

Fig. 1 UPGMA dendrogram among 3 natural floral patterns of *C. reticulata* f. *simplex* based on Nei's genetic distance

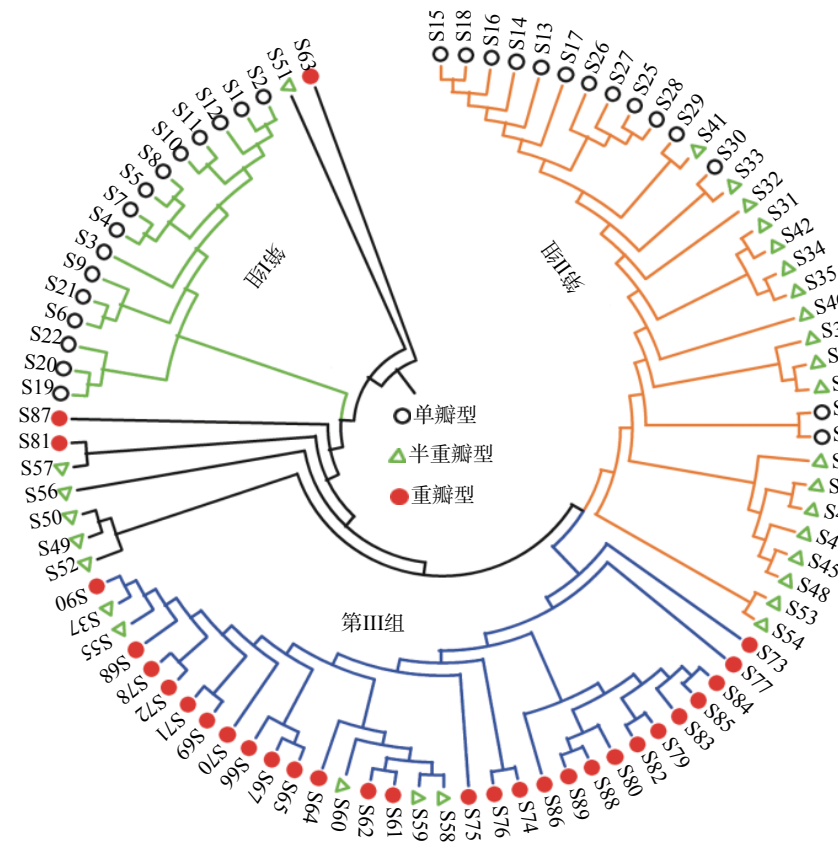


图 2 基于 Nei's 遗传距离的腾冲红花油茶 90 个单株聚类

Fig. 2 UPGMA dendrogram among 90 individuals of *C. reticulata* f. *simplex* based on Nei's genetic distance

3 结论与讨论

前期调查结果表明, 腾冲红花油茶的花型与花色^[9-11]、果实形态^[8, 21-24]、以及茶油成分组成^[8, 25-26]

等均存在较大的变异, 种质资源的遗传背景十分丰富。Xin 等^[27]采用 AFLP 标记技术对采自云南省 5 个群体 190 份样本云南山茶遗传多样性进行了分析, 4 对 AFLP 引物共扩增出 387 条带, 其中

多态性条带百分率为 100%, 基因多样性指数 (H) 为 0.339 7, Shannon's 信息指数 (I) 为 0.523 6, 且群体内的遗传变异 (96.31%) 高于群体间的遗传变异 (3.69%)。Wang 等^[28]应用 ISSR 标记技术对收集于云南省和四川省各 3 个群体共 114 个样本的云南山茶 (*C. reticulata*) 遗传变异进行了研究, 7 对引物扩增得到 108 条带, 多态性条带百分率为 88.89%, H 和 I 分别为 0.280 9 和 0.427 8, 群体间遗传分化系数为 0.380 7。刘婵^[29]应用 ISSR 标记技术分析了收集于腾冲市的 46 个山茶花品种遗传多样性, 17 对引物扩增出 193 个位点, 其中多态性位点 183 个 (94.8%), 17 对引物的平均 I 为 2.628。本研究采用荧光 AFLP 分子标记技术, 筛选出 7 对引物组合从 90 份样本中扩增得到有效条带 679 条, 多态性条带百分率 (PPB) 为 100%, 有效等位基因数 (N_e) 为 1.361 4, H 为 0.257 6, I 为 0.421 5, 遗传分化系数 (G_{st}) 为 0.034 5。腾冲红花油茶的遗传多样性参数相同或略低于云南山茶, 可能是腾冲红花油茶的分布区域较狭窄, 仅分布于云南省楚雄州、保山市、大理州、临沧市和丽江市的部分区域, 且较集中分布于腾冲市境内, 而云南山茶的分布区域从云南省的滇中、滇西、滇西北地区延伸至四川省的凉山州、攀枝花市以及贵州省的部分地区。但腾冲红花油茶与云南山茶的遗传变异规律相同, 均为群体内的遗传变异大于群体间的遗传变异。因此, 加强对其现存个体的保护, 将是保护腾冲红花油茶遗传多样性的有效措施。

本研究采用 AFLP 分子标记技术, 对依据单瓣、半重瓣和重瓣 3 个自然类型分类系统采集的各类型 30 份样本共计 90 个单株基于 Nei's 遗传距离进行聚类分析, 单瓣类型的 30 个个体被聚分为 2 个分支, 16 个单株处于同一分支, 其余 14 个单株与半重瓣类型 19 个单株聚于一个分支, 而重瓣类型的 27 个单株与半重瓣类型 5 个单株相聚构成一个分支。由此可见, 单瓣、半重瓣和重瓣类型在 DNA 水平存在差异, 具有各自独特的遗传物质基础, 表明腾冲红花油茶划分为单瓣、半重瓣和重瓣 3 个自然类型具有一定的科学性和合理性。同时, 本研究结果也支持半重瓣为单瓣与重瓣腾冲红花油茶的过渡类型^[9, 11]。而将云南红花油茶划分为腾冲红花油茶 (*C. reticulata* f. *simplex*)、云南红花油茶 (*C. reticulata* var. *reticulata*)、重瓣红花油茶 (*C. reticulata* var. *pleiopetala*) 和叠瓣红花油茶 (*C. reticulata* var. *Pleistopetala*) 4 个变

种是否具有分子水平依据, 有待于进一步研究。

[参 考 文 献]

- [1] 中国科学院昆明植物研究所. 云南山茶花 [M]. 昆明: 云南人民出版社, 1981: 3-5.
- [2] 陈辉, 刘国敏, 刘玉宝, 等. 油茶丰产林培育 [M]. 福州: 福建科学技术出版社, 2009: 15-20.
- [3] 李世成. 云南省腾冲县红花油茶资源调查及利用分析 [J]. 西南林学院学报, 2008, 28(3): 11-13, 19.
- [4] 袁其琼, 郭玉红, 司马永康, 等. 云南省腾冲红花油茶资源及其开发利用 [J]. 陕西林业科技, 2017(4): 64-67.
- [5] 李旦, 周安佩, 潘瑶, 等. 腾冲红花油茶的研究进展 [J]. 西部林业科学, 2015, 44(3): 123-127.
- [6] 闵天禄. 山茶属山茶组植物的分类, 分化和分布 [J]. 云南植物研究, 1998, 20(2): 127-148.
- [7] 杨忠品, 谢胤, 辛成莲, 等. 高黎贡山以西油用腾冲红花油茶种质资源调查 [J]. 林业调查规划, 2015, 40(1): 86-90.
- [8] 黄佳聪, 何俊, 尹瑞萍, 等. 腾冲红花油茶自然和人工种群种实性状变异研究 [J]. 北京林业大学学报, 2010, 32(5): 94-101.
- [9] 沈立新, 梁洛辉, 王庆华, 等. 腾冲红花油茶自然类型及其品种类群划分 [J]. 林业资源管理, 2009(6): 75-79.
- [10] 司马永康, 郭玉红, 徐德兵, 等. 云南红花油茶基于花瓣数量的分类 [J]. 西部林业科学, 2018, 47(5): 80-88.
- [11] 徐德兵, 郭玉红, 司马永康, 等. 腾冲红花油茶花朵在野生半野生状态下的自然变异 [J]. 西部林业科学, 2018, 47(5): 46-52.
- [12] 俞德浚. 云南山茶花栽培历史和今后发展方向 [J]. 园艺学报, 1985, 12(2): 131-136.
- [13] 俞德浚, 冯辉宗. 云南山茶花图志 [M]. 北京: 科学出版社, 1958: 3-7.
- [14] Belaj A, Cipriani G, Testolin R, et al. Characterization and identification of the main Spanish and Italian olive cultivars by simple-sequence-repeat markers [J]. HortScience, 2004, 39(7): 1557-1561.
- [15] von Kohn C, Conrad K, Kramer M, et al. Genetic diversity of *Magnolia ashei* characterized by SSR markers [J]. Conservation Genetics, 2018, 19(4): 923-936.
- [16] Feng S J, Liu Z S, Chen L, et al. Phylogenetic relationships among cultivated *Zanthoxylum* species in China based on cpDNA markers [J]. Tree Genetics & Genomes, 2016, 12(3): 45.
- [17] Helmkampf M, Wolfgruber T K, Bellinger M R, et al.

- Phylogenetic relationships, breeding implications, and cultivation history of Hawaiian Taro (*Colocasia esculenta*) through genome-wide SNP genotyping [J]. *Journal of Heredity*, 2018, 109(3): 272–282.
- [18] Yeh F C, Yang R C, Boyle T J. Popgene: Microsoft windows - based freeware for population genetic analysis: version 1.32[M]. Canada: Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta, 1999.
- [19] Meirmans P G. Using the AMOVA framework to estimate a standardized genetic differentiation measure [J]. *Evolution*, 2006, 60(11): 2399–2402.
- [20] Tamura K, Peterson D, Peterson N, et al. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2011, 28(10): 2731–2739.
- [21] 靳高中, 任华东, 姚小华, 等. 滇西腾冲红花油茶天然居群种实表型性状变异分析 [J]. *南京林业大学学报(自然科学版)*, 2013, 37(6): 53–58.
- [22] 靳高中, 杨水平, 姚小华, 等. 腾冲红花油茶果实主要性状变异分析 [J]. *西南大学学报(自然科学版)*, 2011, 33(12): 48–53.
- [23] 周志美, 任华东, 俞新水, 等. 腾冲红花油茶果实形态划分及经济性状差异 [J]. *林业科技开发*, 2013, 27(5): 67–69.
- [24] 沈立新, 梁洛辉, 张文, 等. 腾冲红花油茶主要产果类型的果实性状分析 [J]. *西部林业科学*, 2009, 38(4): 9–15.
- [25] 靳高中, 姚小华, 任华东, 等. 腾冲红花油茶产量及脂肪酸组成变异研究 [J]. *江西农业大学学报*, 2012, 34(3): 492–498.
- [26] 范彩慧. 腾冲红花油茶产量及脂肪酸组成的变异研究 [J]. *西部林业科学*, 2012, 41(1): 108–115.
- [27] Xin T, Huang W J, de Riek J, et al. Genetic diversity, population structure, and traditional culture of *Camellia reticulata* [J]. *Ecology and Evolution*, 2017, 7(21): 8915–8926.
- [28] Wang B Y, Ruan Z Y. Genetic diversity and differentiation in *Camellia reticulata* (Theaceae) polyploid complex revealed by ISSR and ploidy [J]. *Genetics and Molecular Research*, 2012, 11(1): 503–511.
- [29] 刘婵. 云南山茶花种质资源遗传多样性的 ISSR 分析 [D]. 昆明: 西南林业大学, 2011.

(责任编辑 张 坤)

