

DOI: 10.3969/j.issn.1000-3142.2014.03.025

考安都,王述贵,王艳芹,等. 65份野生油茶种质遗传多样性的 ISSR 和 RAPD 标记分析[J]. 广西植物,2014,34(3):419-425

Kao AD, Wang SG, Wang YQ, et al. Analyses of genetic diversity among 65 wild *Camellia oleifera* based on ISSR and RAPD[J]. *Guihaia*, 2014, 34(3): 419-425

65 份野生油茶种质遗传多样性的 ISSR 和 RAPD 标记分析

考安都¹, 王述贵¹, 王艳芹¹, 徐 洲¹, 周永红², 丁春邦^{1*}(1. 四川农业大学 生命科学与理学院, 四川 雅安 625014; 2. 四川农业大学
作物基因资源与遗传改良教育部重点实验室, 成都 611130)

摘要: 利用 ISSR 和 RAPD 标记, 对名邛台地野生油茶种质进行遗传多样性分析。从 60 条简单重复序列引物中筛选出 16 条引物, 在 65 份样品中共扩增出 213 条带, 其中多态位点为 203 个, 多态位点百分率为 95.31%; 从 30 条寡核苷酸引物中筛选出 8 条引物, 共扩增出 105 条带, 其中多态性位点 94 个, 多态位点百分率为 89.52%。结果表明: 名邛台地野生油茶种质具有较丰富的遗传多样性, ISSR 和 RAPD 标记可以应用于油茶种质遗传多样性分析。

关键词: 油茶; 遗传多样性; ISSR; RAPD; 聚类分析

中图分类号: Q949.93 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2014)03-0419-07

Analyses of genetic diversity among 65 wild *Camellia oleifera* based on ISSR and RAPD

KAO An-Du¹, WANG Shu-Gui¹, WANG Yan-Qin¹, XU Zhou¹,
ZHOU Yong-Hong², DING Chun-Bang^{1*}(1. College of Biology and Science, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China; 2. Key
Laboratory of Crop Germplasm Resources and Gene Improvement, Ministry of Education,
Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China)

Abstract: The genetic diversity among 65 wild *Camellia oleifera* from Mingqiong platform were discussed. 213 loci were identified with 16 simple sequence repeat primers screened from 60 primers, out of which 203 loci were polymorphic and the percentage of polymorphic bands was 96.31%; 105 loci were identified with 8 oligonucleotide primers screened from 30 primers, out of which 94 loci were polymorphic and the percentage of polymorphic bands was 89.52%. The results showed that ISSR and RAPD markers could be used in genetic diversity analysis. *C. oleifera* had a high level of genetic diversity.

Key words: *Camellia oleifera*; genetic diversity; ISSR; RAPD; cluster analysis

油茶(*Camellia oleifera*)属山茶科(Theaceae)山茶属(*Camellia*)常绿灌木或小乔木,是我国南方重要的木本油料树种,也是世界四大木本油料作物

之一(庄瑞林,2008)。茶油是从油茶籽中提取的一种高级食用油,主要由棕榈酸、硬脂酸、油酸、亚油酸组成,其中饱和和脂肪酸以油酸、亚油酸为主,含量

收稿日期: 2013-09-29 修回日期: 2013-11-10

基金项目: 四川省科技厅科技支撑计划项目(2011SZ0283)

作者简介: 考安都(1986-),女,山东烟台人,硕士,研究方向为植物资源学,(E-mail)kaolala-156369@163.com。

*通讯作者: 丁春邦,博士,教授,主要研究方向为植物资源评价与利用,(E-mail)dcb@sicau.edu.cn。

高达 85%，有“东方橄榄油”的美誉(李克瑞等, 1984)。茶油除可食用外,还可作为原料应用于肥皂、凡士林、生发油、机械润滑油以及医药上制作青、链霉素油剂(马力等,2009)。我国油茶资源主要分布于湖南、江西、广西、浙江、福建、四川等 17 个省(区),其中,湖南、江西、广西三省分布面积最大(胡芳名等,2006)。

分子标记能够直接从 DNA 水平来揭示物种的差异,更为准确、直观的描述物种的遗传多样性,而且不受季节、环境的限制,稳定性高。ISSR 和 RAPD 标记技术不需要预先获知序列信息,操作简便,重复性高,稳定性好,多态性丰富,作为常用的分子标记技术(John *et al.*,1990a,b),已广泛应用于植物种质资源的遗传多样性评价(潘文等,2012;马朝芝等,2003;汪琼等,2013)。目前我国对油茶的研究大多在栽培与常规育种以及茶油加工等方面,对遗传多样性评价的研究较少,而且主要集中于油茶无性系遗传多样性的分析。王保明等(2008)采用 ISSR 分子标记技术对 23 个油茶无性系进行遗传标记分析,结果显示油茶无性系多态性比率为 68.6%,相似系数分布较广;黄永芳等(2006)通过 18 条 RAPD 引物对 90 份油茶优良无性系种质进行鉴别, DNA 多态位点数为 95.11%,得出油茶无性系研究材料遗传背景复杂;温强等(2008)采用 ISSR 标记方法对 25 个油茶无性系进行分子鉴别,多态性比率达 87.96%。

名邛台地(四川省境内的蒲江、邛崃、名山、雅安一带)有较为丰富的野生油茶资源,但由于长期处于原始状态,野生资源没有得到合理的开发利用与保护。本文利用 ISSR 和 RAPD 分子标记技术分析名邛台地野生油茶种质遗传多样性,为开展油茶良种选育与栽培提供一定的理论依据。

1 材料与方 法

1.1 样品采集

实验材料采自四川名邛台地(表 1)。采摘当年的嫩叶,放入冰盒带回实验室洗净、晾干,保存于 -80℃ 超低温冰箱待用。

1.2 实验方法

1.2.1 总 DNA 的提取 本文采用改良后的 CTAB 法提取基因组 DNA,通过 0.8% 琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测 DNA 浓度和纯度,用 1×TE

稀释至 100 ng/μL,放入 -20℃ 冰箱中保存备用。

1.2.2 PCR 的扩增与检测 (1)ISSR 的 PCR 扩增与检测: C1000 PCR 仪上进行 PCR 扩增,25 μL 的反应体系包括 2×PCR Mix 12.5 μL, DNA 模板溶液 1.25 μL,引物 1.25 μL (10 pmol/L), ddH₂O 补足至 25 μL。PCR 程序: 94℃ 预变性 3 min, 94℃ 变性 35 s, 58℃ 退火 45 s, 72℃ 延伸 90 s, 35 个循环, 72℃ 保温 7 min, 4℃ 保存。PCR 产物在 1.5% 的琼脂糖凝胶中电泳, Gold View (GV) 染色, 凝胶成像系统拍照。(2) RAPD 的 PCR 扩增与检测: C1000 PCR 仪上进行 PCR 扩增, 25 μL 的反应体系包括 2×PCR Mix 12.5 μL, DNA 模板溶液 1 μL, 引物 1 μL (10 pmol/L), ddH₂O 补足至 25 μL。PCR 程序: 94℃ 预变性 3 min, 94℃ 变性 50 s, 36.4℃ 退火 45 s, 72℃ 延伸 90 s, 40 个循环, 72℃ 保温 7 min, 4℃ 保存。PCR 产物在 1.5% 的琼脂糖凝胶中电泳, Gold View (GV) 染色, 凝胶成像系统拍照。

1.2.3 引物筛选 筛选北京华大基因测序公司设计生产的 ISSR 引物 60 个, 上海英潍捷基贸易有限公司设计生产的 RAPD 引物 30 个, 选取其中扩增条带丰富, 重复性好的 16 个简单重复序列引物(表 2) 和 8 个寡聚核苷酸引物(表 3) 进行扩增。

1.3 数据分析

电泳图谱中, 强带和弱带均记为“1”, 无带记为“0”, 将 ISSR 和 RAPD 扩增结果转化为二元数据, 计算多态性。应用 NTSYS-pc (Version 2.10e) 计算样品间的遗传相似系数和遗传距离, 按照 UPGMA 进行聚类分析。

2 结果与分析

2.1 ISSR-PCR 扩增结果

16 条 ISSR 引物共扩增出 213 个位点, 平均每条引物扩增出 13.3 个位点, 其中多态性位点 203 个, 多态位点百分率 (Percentage of polymorphic sites, PPS) 为 95.31% (表 2)。扩增条带大小集中在 250~2 000 bp 之间, 其中引物 UBC881 扩增出的多态性位点最多为 18 个。图 1 显示了引物 UBC835 的扩增结果。

2.2 RAPD-PCR 扩增结果

8 条 RAPD 引物共扩增出 105 个位点, 平均每条引物扩增出 13.1 个位点, 其中多态性位点 94 个, 多态位点百分率为 89.52% (表 3)。扩增条带大小

表 1 实验材料

Table 1 List of materials used for ISSR and RAPD analysis

编号 No.	采集地 Locality	叶型 Leaf type	编号 No.	采集地 Locality	叶型 Leaf type
1	蒲江县成佳镇 Chengjia town, Pujiang county	倒卵形 Obovate	34	天全县紫石乡 Zishi township, Tianquan county	长椭圆形, 广椭圆形 Long oval, Wide oval
2	蒲江县成佳镇 Chengjia town, Pujiang county	椭圆形 Elliptical	35	天全县紫石乡 Zishi township, Tianquan county	长椭圆形, 倒卵形 Long oval, Obovate
3	蒲江县成佳镇 Chengjia town, Pujiang county	椭圆形 Elliptical	36	天全县紫石乡 Zishi township, Tianquan county	长椭圆形, 倒卵形 Long oval, Obovate
4	蒲江县成佳镇 Chengjia town, Pujiang county	广椭圆形 Wide oval	37	天全县紫石乡 Zishi township, Tianquan county	椭圆形, 长椭圆形 Elliptical, Long oval
5	蒲江县成佳镇 Chengjia town, Pujiang county	倒卵形, 长椭圆形 Obovate, Long oval	38	天全县紫石乡 Zishi township, Tianquan county	椭圆形 Elliptical
6	蒲江县成佳镇 Chengjia town, Pujiang county	倒卵形, 椭圆形 Obovate, Elliptical	39	名山县中峰乡 Zhongfeng township, Mingshan county	椭圆形, 卵形 Elliptical, Ovate
7	蒲江县成佳镇 Chengjia town, Pujiang county	广椭圆形 Wide oval	40	名山县中峰乡 Zhongfeng township, Mingshan county	卵圆形 Ovoid
8	蒲江县成佳镇 Chengjia town, Pujiang county	狭椭圆形 Narrow oval	41	名山县中峰乡 Zhongfeng township, Mingshan county	长椭圆形, 卵形, 倒卵形 Long oval, Ovate, Obovate
9	名山县联江乡 Lianjiang town, Mingshan county	椭圆形 Elliptical	42	名山县中峰乡 Zhongfeng township, Mingshan county	椭圆形 Elliptical
10	名山县联江乡 Lianjiang town, Mingshan county	广椭圆形 Wide oval	43	名山县中峰乡 Zhongfeng township, Mingshan county	广椭圆形 Wide oval
11	名山县联江乡 Lianjiang town, Mingshan county	椭圆形 Elliptical	44	名山县中峰乡 Zhongfeng township, Mingshan county	广椭圆形 Wide oval
12	名山县茅河乡 Maohe township, Mingshan county	椭圆形 Elliptical	45	名山县中峰乡 Zhongfeng township, Mingshan county	椭圆形 Elliptical
13	名山县茅河乡 Maohe township, Mingshan county	椭圆形 Elliptical	46	名山县中峰乡 Zhongfeng township, Mingshan county	长椭圆形, 倒卵形 Long oval, Obovate
14	名山县茅河乡 Maohe township, Mingshan county	椭圆形, 狭椭圆形, 倒卵形 Elliptical, narrow oval, obovate	47	雨城区凤鸣乡 Fengming township, Yucheng county	长椭圆形, 倒卵形 Long oval, Obovate
15	名山县茅河乡 Maohe township, Mingshan county	椭圆形 Elliptical	48	雨城区凤鸣乡 Fengming township, Yucheng county	椭圆形, 卵形, 倒卵形 Elliptical, Ovate, Obovate
16	名山县茅河乡 Maohe township, Mingshan county	倒卵形 Obovate	49	雨城区凤鸣乡 Fengming township, Yucheng county	广椭圆形 Wide oval
17	名山县茅河乡 Maohe township, Mingshan county	广椭圆形 Wide oval	50	雨城区凤鸣乡 Fengming township, Yucheng county	椭圆形 Elliptical
18	名山县茅河乡 Maohe township, Mingshan county	广椭圆形 Wide oval	51	名山县车岭镇 Cheling town, Mingshan county	长椭圆形, 椭圆形 Long oval, Elliptical
19	名山县黑竹镇 Heizhu town, Mingshan county	广椭圆形, 倒卵形 Wide oval, Obovate	52	名山县车岭镇 Cheling town, Mingshan county	长椭圆形, 椭圆形 Long oval, Elliptical
20	名山县黑竹镇 Heizhu town, Mingshan county	椭圆形 Elliptical	53	名山县车岭镇 Cheling town, Mingshan county	长椭圆形, 倒卵形 Long oval, Obovate
21	名山县黑竹镇 Heizhu town, Mingshan county	广椭圆形 Wide oval	54	名山县车岭镇 Cheling town, Mingshan county	长椭圆形, 倒卵形 Long oval, Obovate
22	名山县黑竹镇 Heizhu town, Mingshan county	椭圆形 Elliptical	55	名山县车岭镇 Cheling town, Mingshan county	椭圆形, 狭椭圆形, 倒卵形 Elliptical, Narrow oval, Obovate
23	名山县黑竹镇 Heizhu town, Mingshan county	椭圆形, 倒卵形 Elliptical, Obovate	56	名山县解放乡 Jiefang township, Mingshan county	长椭圆形, 椭圆形 Long oval, Elliptical
24	蒲江县甘溪乡 Ganxi township, Pujiang county	椭圆形 Elliptical	57	名山县解放乡 Jiefang township, Mingshan county	长椭圆形, 椭圆形 Long oval, Elliptical
25	蒲江县甘溪乡 Ganxi township, Pujiang county	狭椭圆形, 倒卵形 Narrow oval, Obovate	58	名山县解放乡 Jiefang township, Mingshan county	椭圆形 Elliptical
26	蒲江县大塘镇 Datang town, Pujiang county	狭椭圆形, 卵圆形 Narrow oval, Ovoid	59	名山县双河乡 Shuanghe township, Mingshan county	椭圆形, 倒卵形 Elliptical, Obovate
27	蒲江县大塘镇 Datang town, Pujiang county	广椭圆形, 卵圆形 Wide oval, Ovoid	60	雨城区沙坪镇 Shaping town, Yucheng district	广椭圆形, 椭圆形, 倒卵形 Wide oval, Elliptical, Obovate
28	邛崃市临邛镇 Linqiong town, Qionglai city	椭圆形, 长椭圆形 Elliptical, Long oval	61	雨城区沙坪镇 Shaping town, Yucheng district	广椭圆形, 广倒卵形 Wide oval, Wide Obovate
29	邛崃市临邛镇 Linqiong town, Qionglai city	广椭圆形, 倒卵形 Wide oval, Obovate	62	雨城区沙坪镇 Shaping town, Yucheng district	广椭圆形, 倒卵形 Wide oval, Obovate
30	邛崃市临邛镇 Linqiong town, Qionglai city	长椭圆形, 倒卵形 Long oval, Obovate	63	雨城区大兴镇 Daxing town, Yucheng district	广椭圆形, 椭圆形, 倒卵形 Wide oval, Elliptical, Obovate
31	名山县百丈镇 Baizhang town, Mingshan county	长椭圆形, 卵圆形 Long oval, Ovoid	64	雨城区大兴镇 Daxing town, Yucheng district	广椭圆形, 倒卵形 Wide oval, Obovate
32	名山县百丈镇 Baizhang town, Mingshan county	长椭圆形, 倒卵形 Long oval, Obovate	65	雨城区大兴镇 Daxing town, Yucheng district	长椭圆形 Long oval
33	名山县百丈镇 Baizhang town, Mingshan county	倒卵形, 椭圆形 Obovate, Elliptical			

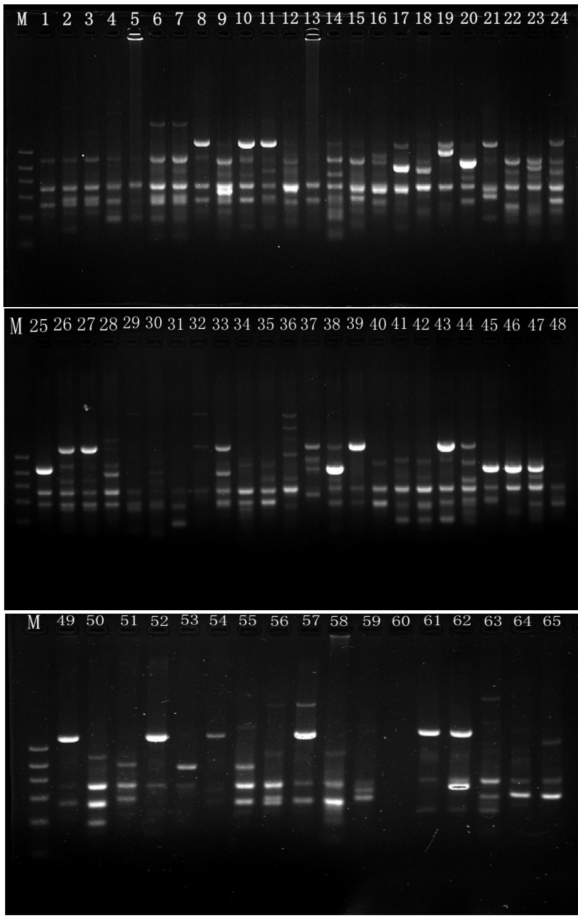


图 1 引物 UBC835 扩增的 ISSR 图谱
Fig.1 ISSR amplified by primer UBC835

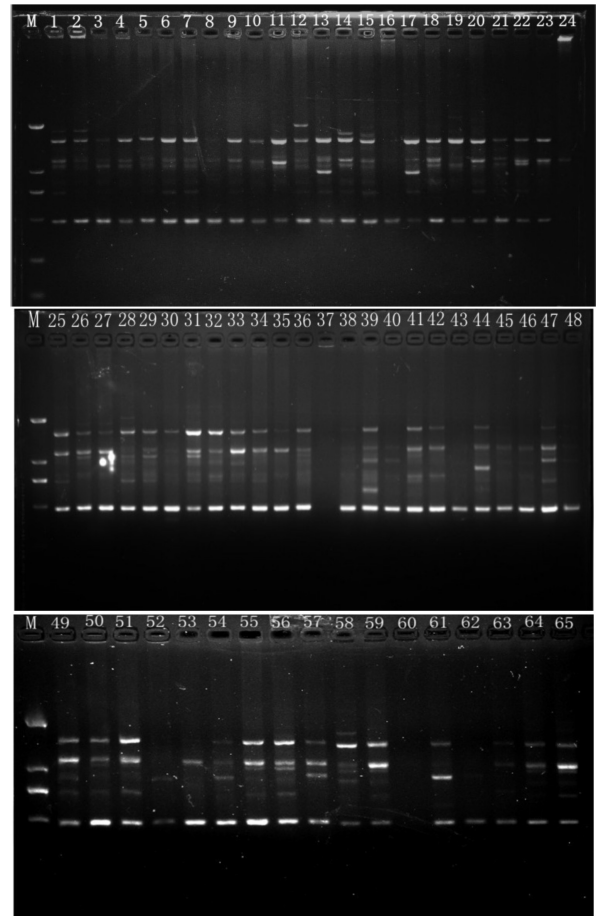


图 2 引物 S285 扩增的 RAPD 图谱
Fig. 2 RAPD amplified by primer S285

集中在 500~2 000 bp 之间,其中引物 S39 和 S256 扩增出的多态性位点最多,为 17 个。图 1 显示了引物 S285 的扩增结果。

2.3 野生油茶种质聚类分析

2.3.1 ISSR 标记聚类分析 对 16 个引物的扩增结果进行聚类分析,绘制聚类图(图 3)。65 份材料间遗传相似系数在 0.63~0.92,表明这些材料之间存在一定的遗传差异。材料 6 和 7 之间的相似系数最大为 0.92,说明两者遗传差异最小。材料 14 和 60 之间的相似系数最小为 0.59,说明两者遗传差异最大。在遗传相似系数为 0.651 时将 65 份样品材料划分为 5 个类群,结果显示采自邛崃市临邛镇的 28、29、30 样品没有完全聚在一起,表明油茶遗传变异与地理分布未呈现明显的相关性。

2.3.2 RAPD 标记聚类分析 由聚类图可知(图 4),65 份野生油茶种质之间的遗传相似系数分布在 0.59~0.98,说明这些材料之间存在一定的遗传差异。材料 6 和 7 之间的相似系数最大为 0.92,说明

两者遗传差异最小。材料 1 和 12 之间的相似系数最小为 0.63,说明两者遗传差异最大。在遗传相似系数为 0.708 时,将 65 份材料分为 5 个类群。结果显示,材料 1、2、9、15、21、29、50、10、51、65 聚在一起,叶型椭圆形 4 个、倒卵形 2 个、广椭圆形 3 个、长椭圆形 1 个,表明油茶种质的遗传变异与表型和地理分布没有明显的相关性。

2.3.3 ISSR 和 RAPD 标记的综合分析 基于 ISSR 和 RAPD 两种分子标记扩增 65 份名邛台地野生油茶种质,通过样品的综合数据计算遗传距离和遗传相似系数,遗传相似系数为 0.62~0.93,表明这些材料之间存在一定的遗传差异。在相似系数为 0.668 时,将 65 份供试样品划分为 5 个类群(图 5)。来自名山县的 35 份材料聚在第一类群 19 份,第二和第三类群各 7 份,第四和第五类群各 1 份;蒲江县的 12 份材料全部聚在第一类群;雨城区的 10 份材料聚在第一类群 3 份,第二类群 6 份,第三类群 1 份;天全县的 5 份材料聚在第一类群 3 份,第三和第四

表 2 ISSR 扩增结果
Table 2 Results of ISSR amplification

引物 Primer	序列(5'→3') Sequence(5'→3')	退火温度(°C) Annealing temperature(%)	总条带数 No. of bands recorded	多态性条带数 No. of polymorphic bands	多态位点百分比 PPS (%)
UBC 823	TCT CTC TCT CTC TCT CC	55.5	14	13	92.86
UBC 824	TCT CTC TCT CTC TCT CG	50.8	17	17	100
UBC 825	ACA CAC ACA CAC ACA CT	56.0	11	10	90.9
UBC 826	ACA CAC ACA CAC ACA CC	55.5	13	13	100
UBC 827	ACA CAC ACA CAC ACA CG	55.5	11	10	90.9
UBC 829	TGT GTG TGT GTG TGT GC	56.0	12	12	100
UBC 835	AGA GAG AGA GAG AGA GYC	58.0	16	15	93.75
UBC 836	AGA GAG AGA GAG AGA GYA	56.3	10	9	90
UBC 855	ACA CAC ACA CAC ACA CYT	54.0	14	13	92.86
UBC 856	ACA CAC ACA CAC ACA CYA	52.0	12	12	100
UBC 864	ATG ATG ATG ATG ATG ATG	50.3	7	5	71.43
UBC 873	CAC AGA CAG ACA GAC A	52.0	13	13	100
UBC 880	GGA GAG GAG AGG AGA	50.0	13	12	92.31
UBC 881	GGG TGG GGT GGG GTG	52.0	18	18	100
UBC 889	DBD ACA CAC ACA CAC AC	50.0	8	8	100
UBC 895	AGA GTT GGT AGC TCT TGA TC	54.0	11	10	90.9

Y=(C,T),B=(C,G,T),D=(A,G,T)。

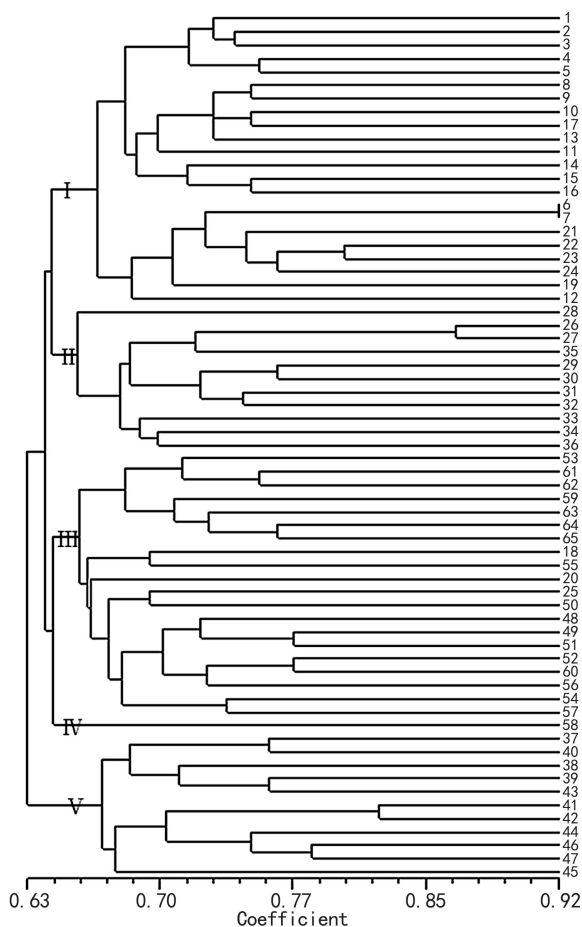


图 3 ISSR 聚类分析图

Fig. 3 ISSR clustering analysis maps

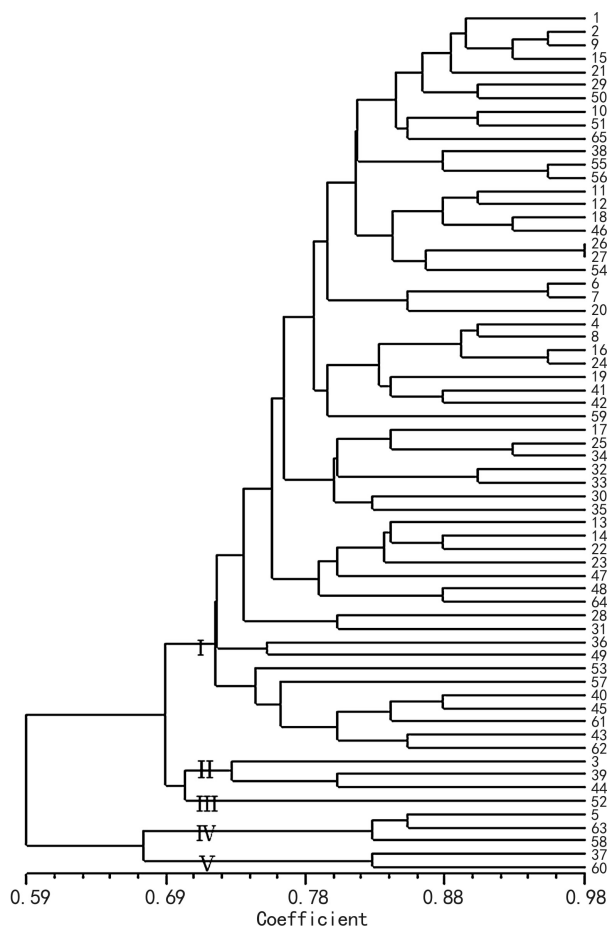


图 4 RAPD 聚类分析图

Fig. 4 RAPD clustering analysis maps

表 3 RAPD 扩增结果

Table 3 Results of RAPD amplification

引物 Primer	序列(5'→3') Sequence(5'→3')	退火温度(°C) Annealing temperature	总条带数 No. of bands recorded	多态性条带数 No. of polymorphic bands	多态位点百分比 PPS (%)
S8	CCACAGCAGT	36.4	14	14	100
S31	CAATCGCCGT	41.0	14	12	85.71
S39	CAAACGTCGG	40.5	12	12	100
S91	TGCCCGTCGT	40.5	17	17	100
S111	CTTCCGCAGT	37.4	7	7	100
S201	GGGCCACTCA	36.4	11	4	36.36
S256	CTGCGCTGGA	41.0	18	17	94.44
S285	GGCTGCGACA	36.4	12	11	91.67

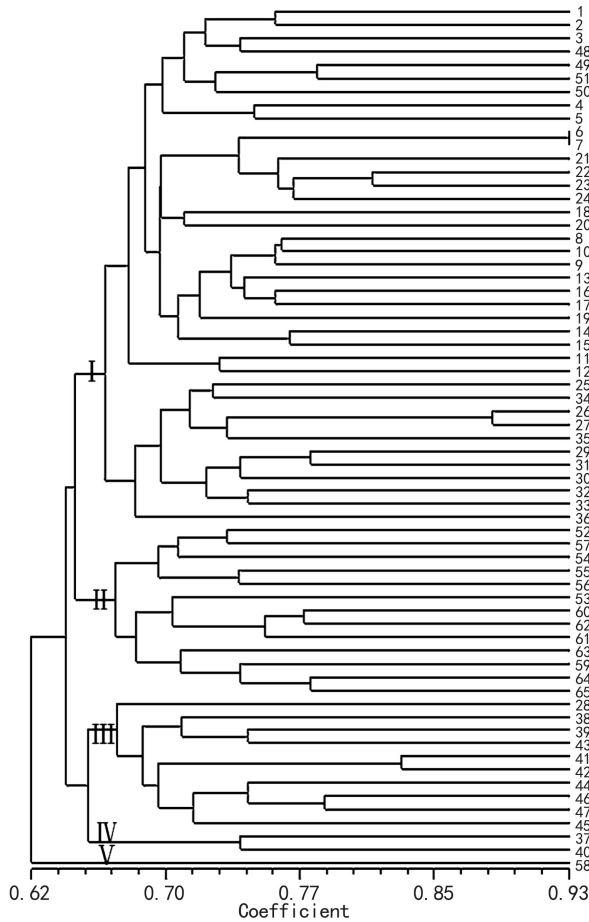


图 5 ISSR 和 RAPD 综合聚类分析图

Fig. 5 ISSR and RAPD clustering analysis maps

类群各 1 份;邕味县的 3 份材料 2 份聚在第一类群, 1 份聚在第三类群。表明油茶种质遗传变异与地理分布未呈现明显的相关性。

3 讨论与结论

3.1 PCR 扩增体系优化

在温强等(2008)和黄永芳等(2006)的 PCR 程

序基础上,对 PCR 扩增程序进行了优化。ISSR-PCR 程序 94°C 预变性时间从 2 min 改为 3 min,变性时间从 30 s 改为 35 s,根据不同引物的退火温度不同退火时间从 30 s 升到 45 s,将 38 个循环改为 35 个循环。实验结果表明减少 3 个循环的扩增,在保证扩增稳定性的基础上缩短了扩增时间,琼脂电泳图中的条带数量、质量与 38 个循环一样。RAPD-PCR 程序变性时间从 1 min 改为 50 s,根据不同引物的退火温度不同对退火时间从 1 min 降到 45 s。变性退火时间减少对产物量影响不大,但缩短了扩增时间。通过扩增体系的改进,提高了扩增产物的特异性和可重复性。

3.2 名邕台地野生油茶种质资源的遗传多样性

多态位点百分率(PPS)在评价遗传多样性的参数中能直观反应遗传多样性程度,ISSR 和 RAPD 标记以其高度多态性在遗传多样性研究方面得到广泛应用(汪琼等,2013;潘文等,2012;马朝芝等,2003)。本研究用 16 条 ISSR 和 8 条 RAPD 引物对 65 份采集地和表型不同的野生油茶种质进行 PCR 扩增,均可得到清晰、明亮和多态性高的谱带,其多态性百分率分别为 95.31%和 73.17%,表明野生油茶种质材料间有着丰富的遗传多样性,存在较大的遗传差异。从遗传学角度看,遗传多样性丰富,适应能力强,进化潜力大,有丰富的育种和遗传改良潜力。从聚类结果看,名邕台地野生油茶种质遗传变异与表型和地理分布没有明显的相关性。

本研究结果表明,ISSR 和 RAPD 分子标记技术能够提供丰富的油茶基因组信息,可以应用于野生油茶种质的遗传多样性分析,为进一步开展油茶良种选育与栽培提供一定的理论依据。

参考文献:

Hu FM(胡芳名),Tan XF(谭晓风),Liu HM(刘惠民). 2006. Culture and Utilization of Chinese Nonwood Product Forest Tress

- (中国主要经济树种的栽培与利用)[M]. Beijing(北京):China Forest Publish House(中国林业出版社):370-383
- Godwin ID, Aitken EA, Smith LW. 1997. Application of inter-simple sequence repeat (ISSR) markers to plant genetics[J]. *Electrophoresis*, **18**:1 524-1 528
- Huang YF(黄永芳), Chen XM(陈锡沐), Zhuang XY(庄雪影), et al. 2006. Analysis of genetic diversity in *Camellia oleifera* germplasm (油茶种植资源遗传多样性分析)[J]. *Sci Silv Sin*(林业科学), **42**(4):38-43
- John GKW, Anne RK, Kenneth JL, et al. 1990a. DNA Polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful a genetic markers[J]. *Nucleic Acid Res*, **18**:6 531-6 534
- John W, Michael M. 1990b. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers[J]. *Nucl Acid Res*, **18**(24):7 213-7 218
- Li KY(李克瑞), Qi LL(漆龙霖), Zhao SD(赵思东), et al. 1984. A study of the physical and chemical properties of the seed oil and its fatty acid compositions of 27 species of *Camellia* (山茶属 27 种植物油脂理化性质及脂肪酸组成的研究)[J]. *J Centr-South For Coll*(中南林学院学报), **4**(2):101-109
- Ma CZ(马朝芝), Fu YD(傅廷栋). 2003. Genetic diversity of chinese and swedish rapeseed (*Brassica napus* L.) analysed by inter-simple sequence repeats (用 ISSR 标记技术分析中国和瑞典甘蓝型油菜的遗传多样性)[J]. *Sci Agric Sin*(中国农业科学), **36**(11):1 403-1 408
- Ma L(马力), Chen YZ(陈永忠). 2009. Analyzed *Camellia* oil of function characteristics (茶油的功能特性分析)[J]. *Chin Agric Sci Bull*(中国农学通报), **25**(8):82-84
- Pan W(潘文), Li YY(李元跃), Chen P(陈攀), et al. 2012. Study on genetic diversity of mangrove plant *Aegiceras corniculatum* populations in Guangxi (广西红树植物桐花树种群遗传多样性分析)[J]. *Guihaia*(广西植物), **32**(2):203-207
- Wang Q(汪琼), Yao QJ(姚青菊), Xu ZL(徐增莱), et al. 2013. Genetic diversity of four populations of *Calycanthus chinensis* based on ISSR and RAPD markers (基于 ISSR 和 RAPD 标记的四个夏蜡梅种群的遗传多样性研究)[J]. *Guihaia*(广西植物), **33**(1):30-34
- Wang BM(王保明), Chen YZ(陈永忠), Tan XF(谭晓风), et al. 2008. Analysis of genetic diversity of *Camellia oleifera* clones by ISSR molecular marker (应用 ISSR 分析油茶无性系的遗传多样性)[J]. *J Northeast For Univ*(东北林业大学学报), **36**(6):19-23, 36
- Wen Q(温强), Lei XL(雷小林), Ye JS(叶金山), et al. 2008. Identification of *Camellia oleifera* superior clones by ISSR molecular markers (油茶高产无性系的 ISSR 分子鉴别)[J]. *J Central South Univ For & Technol*(中南林学科技大学学报), **28**(1):39-43
- Zhuang RL(庄瑞林). 2008. China *Camellia* (中国油茶)[M]. Beijing(北京):China Forest Publishing House(中国林业出版社):3-4
- Zou F(邹锋), Tan XF(谭晓风), Yuan DY(袁德义). 2009. RAPD marker and its application in *Camellia oleifera* genetic breeding (RAPD 分子标记及其在油茶遗传育种研究中的应用)[J]. *Subtrop Plant Sci*(亚热带植物科学), **38**(1):70-73

(上接第 354 页 Continue from page 354)

- Reinbothe S, Reinbothe C, Apel K, et al. 1996. Evolution of chlorophyll biosynthesis: The challenge to survive photooxidation [J]. *Cell*, **86**:703-705
- Shao L, Shu Z, Sun SL, et al. 2008. Enhanced sensitivity of Arabidopsis anthocyanin mutants to photooxidation: a study with fluorescence imaging[J]. *Funct Plant Biol*, **35**:714-724
- Shen GJ(沈国军), Xu ZH(徐正浩), Yu GS(俞谷松). 2005. Distribution and damage of alligator weed, *Alternanthera philoxeroides* and its control (空心莲子草的分布、危害与防除对策)[J]. *Plant Protect*(植物保护), **31**(3):14-18
- Wang JF(王俊峰), Feng YL(冯玉龙), Li Z(李志). 2003. Acclimation of photosynthesis to growth light intensity in *Chromolaena odorata* L. and *Gynura* sp (飞机草和兰花菊三七光合作用对生长光强的适应)[J]. *J Plant Physiol Mol Biol*(植物生理与分子生物学学报), **29**(6):542-548
- Wang JF(王俊峰), Feng YL(冯玉龙), Liang HZ(梁红柱). 2004. Adaptation of *Eupatorium adenophorum* photosynthetic characteristics to light intensity (紫茎泽兰光合特性对生长环境光强的适应)[J]. *Chin J Appl Ecol*(应用生态学报), **15**(8):1 373-1 377
- Wang K(王坤), Yang J(杨继), Chen JK(陈家宽). 2010. Comparison of morphological traits between alligator weed and two congeners under different water and nutrient conditions (不同土壤水分和养分条件下喜旱莲子草与同属种生长状况的比较研究)[J]. *Biodiver Sci*(生物多样性), **18**(6):615-621
- Xu KY(许凯扬), Ye WH(叶万辉), Duan XW(段学武), et al. 2004. Physiological adaptation of *Alternanthera philoxeroides* under water stress condition induced by polyethylene glycol (PEG 诱导水分胁迫下喜旱莲子草的生理适应性)[J]. *J Zhejiang Univ: Agric & Life Sci*(浙江大学学报·农业与生命科学版), **30**(3):271-277
- Yan SJ(闫淑君), Hong W(洪伟), Wu CZ(吴承祯). 2006. Effects of biological invasion on ecological safety of Fujian Province (生物入侵对福建生态安全的影响)[J]. *J Fujian Coll For*(福建林学院学报), **26**(3):275-280
- Zhang Q, Su LJ, Chen JW, et al. 2012. The antioxidative role of anthocyanins in Arabidopsis under high-irradiance [J]. *Biol Plant*, **56**(1):97-104