

SSR 分子标记在杜鹃花属植物中的研究进展

姚 姚, 张 浩, 王秀云, 夏宜平, 周 泓

(浙江大学农业与生物技术学院/观赏植物基因组与基因工程实验室, 杭州 310058)

摘要: 杜鹃花是中国十大名花之一, 观赏价值极高, 深受人们喜爱。杜鹃花属内物种数量多、种间自然杂交频繁、部分种类园艺化程度很高, 且品种命名不统一, 使得国家和地区间的品种交流受到一定影响。SSR 标记在种质鉴定、遗传多样性分析、分子标记辅助育种等方面具有优势。本文综述了近 20 年来 SSR 标记在杜鹃花属植物中的研究进展。目前, 利用各类生物数据库信息、二代测序技术, 及其他方法开发杜鹃花属 SSR 标记共约 509 对, 部分标记在近缘物种中的引物通用性在 50% 到 100% 不等。在杜鹃花属物种保护方面, SSR 标记被应用于物种保护策略研究、交配系统研究和基因交流研究, 为物种遗传多样性保护提供科学依据。SSR 标记还被应用于杜鹃花属杂交后代真实性鉴定和性状-标记关联分析等方面, 在叶片褪绿和花色等性状上展开研究。对未来 SSR 标记的应用前景进行了展望, 在以杜鹃花属濒危物种为重点大力开发属内 SSR 标记、开展重要性状关联辅助育种、构建 DNA 指纹图谱加强品种鉴定等方面深入研究, 以期对杜鹃花属植物的研究、保护和遗传育种提供参考。

关键词: 微卫星; 物种保护; 遗传多样性; 杂交后代鉴定; 性状-标记关联分析

Research Progress on SSR Molecular Markers in *Rhododendron* Species

YAO Yao, ZHANG Hao, WANG Xiuyun, XIA Yiping, ZHOU Hong

(College of Agriculture and Biotechnology, Zhejiang University/Genomics and Genetic Engineering Laboratory of
Ornamental Plants, Hangzhou 310058)

Abstract: As one of China's ten most iconic flowers, *Rhododendron* is renowned for its ornamental value and cultural significance. The genus exhibits remarkable species diversity, extensive natural hybridization, and advanced horticultural development in selected varieties. However, persistent inconsistencies in varietal nomenclature have impeded international germplasm exchange. SSR markers have emerged as powerful tools for addressing these challenges, offering critical advantages in germplasm identification, genetic diversity assessment, and marker-assisted breeding. This review summarizes two decades of research progress on SSR marker applications in *Rhododendron* species. Approximately 509 SSR markers have been developed to date via diverse methodologies, including bioinformatics databases mining and next-generation sequencing. These markers showed cross-species transferability rate of 50% to 100% among closely related species. In terms of species conservation, SSR markers have facilitated the conservation strategy formulation, mating system analysis, and gene flow monitoring, providing empirical support for preserving genetic diversity. SSR markers are also used for authenticity identification of hybrid progeny, as well as trait-marker association studies targeting key horticultural traits such as leaf chlorosis and floral pigmentation. Finally, this review proposes future prospects of SSR markers, including development of SSR markers for endangered *Rhododendron* species,

收稿日期: 2024-06-21 网络出版日期: 2024-11-11

URL: <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20240621002>

第一作者研究方向为杜鹃花分子遗传育种, E-mail: 22316284@zju.edu.cn

通信作者: 周 泓, 研究方向为花卉抗性机理及育种, E-mail: lilyzhou@zju.edu.cn

基金项目: 浙江省农业新品种选育重大科技专项(2021C02071-2); 国家自然科学基金(32271936, 31800597)

Foundation projects: Zhejiang Science and Technology Major Program on Agricultural New Variety Breeding (2021C02071-2); National Natural Science Foundation of China(32271936, 31800597)

marker-assisted breeding for important traits, and establishment of DNA fingerprinting databases to standardize variety identification, expecting to provide references for assessment, conservation, and breeding of *Rhododendron* species.

Key words: microsatellite; species conservation; genetic diversity; identification of hybrid offspring; trait-marker association analysis

杜鹃花是杜鹃花科 (Ericaceae) 杜鹃花属 (*Rhododendron* L.) 植物的总称, 属常绿或落叶灌木, 是我国十大传统名花之一, 与龙胆花 (*Gentiana* L.)、报春花 (*Primula* L.) 合称为中国三大天然名花和世界三大高山花卉^[1], 观赏价值极高。目前, 全世界记载的杜鹃花有 1200 余种^[2], 全球杜鹃花品种已经超过 3 万个^[3]。我国杜鹃花属种类丰富, 有 734 种, 其中 464 种为特有种^[4]。杜鹃花在我国分布广泛, 除新疆和宁夏外, 其他省份均有分布。因为杜鹃花属植物部分种类间自然杂交频繁^[5], 且各地区品种命名不统一、品种形态有所差异, 造成杜鹃花品种较为混乱, 在一定程度上限制了其在育种、品种交流传播等方面的发展, 使得我国杜鹃花园艺化程度与国外有明显差距, 对产业发展较为不利。

简单序列重复 (SSR, simple sequence repeat), 亦被称作微卫星 (Microsatellite), 为基因组中由 1~6 个核苷酸组合而成的基本单位进行多次重复从而构成的一段 DNA 序列。SSR 分子标记以其共显性、所需 DNA 用量少、操作简单、数量丰富、种属间具有很强的通用性和多态性、实验重复性好等优点, 在杨树 (*Populus* L.)^[6]、彩叶香樟 (*Cinnamomum camphora* Nees)^[7]、楠木 (*Phoebe zhennan* S. K. Lee & F. N. Wei)^[8] 等林木, 玉米 (*Zea mays* L.)^[9]、小麦 (*Triticum aestivum* L.)^[7]、甘蔗 (*Saccharum officinarum* L.)^[10] 等农作物的相关研究中被广泛使用, 后来逐渐运用在观赏植物的研究中, 如石斛 (*Dendrobium* Sw.)^[11]、非洲菊 (*Gerbera jamesonii* Bolus)^[12]、紫云英 (*Astragalus sinicus* L.)^[13]、绣球 (*Hydrangea macrophylla* (Thunb.) Ser.)^[14], 应用方向主要集中在遗传多样性分析、基因定位及分子标记辅助育种、遗传图构建及种子纯度和真伪鉴定等方面^[15]。

SSR 技术最早在 1991 年由 Moore 等^[16]提出, 首次在杜鹃花属植物上应用是在 1998 年 Naito 等^[17]用于 *R. metternichii* Sieb. et Zucc. var. *hondoense* Nakai 的微卫星的分离和鉴定。1998-2023 年, 关于杜鹃花属 SSR 分子标记的文章共计约 70 篇。根据发文章量可分成两个阶段: 1998-2016 年, 杜鹃花属相关的

SSR 研究较少, 可利用的 SSR 标记也较少; 2016-2023 年随着高通量测序技术的成熟, 以及基因组、转录组学的发展, 杜鹃花属 SSR 标记的开发及相关研究逐渐增多。本文对 SSR 标记在杜鹃花属中的开发方法、标记数量, 及其在物种保护、杂交后代真实性鉴定、性状-标记关联分析中的相关研究进行总结, 以期为今后杜鹃花属植物的研究、保护和遗传育种提供参考。

1 杜鹃花属 SSR 标记的开发情况

1.1 基于生物数据库信息开发 EST-SSR 标记

根据来源可将 SSR 分为基因组 SSR 和表达序列标签 SSR (EST-SSR, expressed sequence tag-simple sequence repeat), EST-SSR 主要是从 NCBI 公共数据库中下载杜鹃花的相关表达序列进行筛选并开发引物。

王书珍等^[18]从 NCBI 数据库中的 1323 条杜鹃花 EST 序列中分析得到 65 个 SSR 位点, SSR 出现频率为 7.1272%。Li 等^[19]从杜鹃 (*R. simsii* Planch.) 的 EST 序列中开发了 7 对新的 EST-SSR 标记, 并对来自湖北桂峰山的 32 份野生杜鹃花样品进行遗传多样性分析, 每个位点的等位基因数为 4.43。李美芹等^[20]从 2535 条杜鹃花 EST 序列中搜索到 435 个 SSR 位点, 其中 14 个 SSR 位点具有多态性, 平均等位基因数 3.8 个。龚记熠等^[21]利用 NCBI 数据库中杜鹃花属基因组和 EST 序列, 第一次对 SSR 位点特征进行系统分析, 共检索出 SSR 位点 2698 个, 平均密度为 1.19 个/kb, 共设计出引物 1643 对, 占总位点数的 60.89%。Sharma 等^[22]从椭圆叶杜鹃 (*R. catawbiense* Michx.) 和白花杜鹃 (*R. mucronatum* var. *Ripense* (Makino) E.H. Wilson) 中发现了 168 条 EST-SSR 序列可用于开发引物, 随机选取的 30 对引物中有 26 个 SSR 标记 (86.66%) 能够较好地可重复扩增。这与茶树 (*Camellia sinensis* L. Kuntze, 为 84.2%^[23])、小麦 (为 60.8%^[24])、百合 (*Lilium* L., 为 78.26%^[25]) 等物种的可用率近似, 说明 EST 序列中 SSR 标记的分布在物种间具有一定的相似性, 且标记开发可用率较高, 可以为杜鹃花属的遗传多样性

分析、品种鉴定等研究提供有效的手段。

1.2 基于二代测序技术开发 SSR 标记

随着以 Illumina 公司的 Solexa、ABI 公司的 SOLiD 和 Roche 公司的 454 焦磷酸法测序技术为代表的通量测序技术^[26]的发展,将基因组学的研究带入了一个新的时期^[27],推动了非模式植物的全基因组测序工作^[28]。杜鹃花属植物 DNA 序列信息获取更加容易,极大方便了 SSR 标记的开发,相关 SSR 的开发也转向基于基因组和转录组测序进行。

Delmas 等^[29]和 Pan 等^[30]利用二代测序技术在欧洲杜鹃(*R. ferrugineum* L.)和都支杜鹃(*R. shanii* Fang)上分离得到微卫星位点,并设计引物进行扩增,每个位点的平均等位基因数在 1~20 之间。周晓君等^[31]、陈凯云等^[32]、杨彬^[33]和刘梦露等^[34]利用简化基因组测序(RAD-seq, restriction-site associated DNA sequence)技术或 Illumina HiSeq 测序技术分别对灵宝杜鹃(*R. henanense* subsp. *Lingbaoense* Fang)、红马银花(*R. vialii* Delavay & Franch.)、云锦杜鹃(*R. fortunei* Lindl.)和羊躑躅(*R. molle* (Blume) G. Don)进行基因组测序和 SSR 标记开发,每个位点的平均等位基因数在 5.25~8.70 之间。李太强等^[35]、Zhang 等^[36]、张越^[37]、王华等^[38]利用高通量测序平台对长梗杜鹃(*R. longipedicellatum* L. Cai & Y. P. Ma)、大王杜鹃(*R. rex* H. Lév.)、2 年生杜鹃花白凤 4 号(*R. pulchurum* Planch (“BaiFeng 4” variety))叶片进行转录组测序,检测到 SSR 的出现频率分别为 31.30%、9.32%、20.73%。Xing 等^[39]、陈明辉等^[40]利用 Illumina 测序技术对鹿角杜鹃(*R. latoucheae* Franch.)、杜鹃花品种(*R. hybridum* Hort)的茎、叶、茎尖、花蕾、花和幼果的混合物进行测序,设计并筛选出 EST-SSR 进行扩增,每个位点的等位基因数在 2~13 个。王书珍等^[41]采用 RNA-seq 技术对‘紫鹤’(*R. pulchrum* Planch (“ZiHe” variety))品种的花蕾进行转录组测序,开发出 13 对多态性良好的 SSR 标记,平均每个位点有效等位基因数在 1.684~5.930。王书珍等^[42]还利用 RNA-seq 技术对羊躑躅花瓣进行转录组测序,筛选并得到 30 对 EST-SSR 引物。

测序技术的发展为杜鹃花属植物基因表达和调控的研究提供了新视角,从早期的 454 焦磷酸测序技术到第三代高通量测序技术,杜鹃花属 SSR 标记的开发得到了极大的推动,测序材料也从单一的叶片拓展至其他器官。利用开发的 SSR 标记对不同种群或个体进行遗传多样性分析,平均等位基因数在 1.5~20.0,这反映了杜鹃花属内不同种类或种

群间的遗传差异和进化潜力。

1.3 其他方法开发 SSR 分子标记

在全基因组测序技术被大规模应用之前,基因文库探针富集是一种常用的基因组分析方法,早期(1999-2010年)杜鹃花属 SSR 标记的开发就使用该方法,如 Naito 等^[17]利用 *R. metternichii* Nakai 基因组文库探针富集开发 7 对 SSR 多态性引物。Dendauw 等^[43]利用富集法在 2 种杜鹃(*R. simsii* hybrid Mevr. Van Belle 和 *R. simsii* Daoxian)中开发了 8 对标记引物,其中 6 对有较好的扩增效果和多态性。Wang 等^[44]利用基因组文库探针富集的方法在马缨杜鹃(*R. delavayi* Franch.)中开发了 15 对 SSR 引物并进行了多态性分析。Wang 等^[45]利用该方法在美容杜鹃(*R. calophytum* Franch.)上开发了 15 对 SSR 引物。Wang 等^[46]从大白杜鹃(*R. decorum* Franch.)中开发了 24 对多态性良好的 SSR 引物。

磁珠富集法(FIASCO, fast isolation by AFLP sequences containing repeats)是一种通过扩增含有重复序列的 AFLP 标记,快速分离和鉴定 DNA 的方法,该方法也适用于 SSR 标记的开发,如 Li 等^[47]从濒危物种牛皮杜鹃(*R. aureum* Franch.)中开发了 12 个 EST-SSR 标记,与从 GenBank 数据库中筛选出的 7 个 EST-SSR 标记共 19 个标记,对 3 个牛皮杜鹃种群进行扩增,每个标记的等位基因数为 1~8 个。王书珍等^[48]构建了杜鹃的(AG)_n微卫星富集文库,并筛选出 39 个序列供后续引物开发使用。Tan 等^[49]从杜鹃中分离并鉴定了 8 个微卫星位点。

生物素-链霉亲和素捕获方法^[50]是一种基于生物素与链霉亲和素间高特异性和强亲和力的生物分子捕获技术。Liu 等^[51]基于此方法开发了 16 个多态性和 7 个单态性微卫星引物,利用这 16 个多态位点对来自中国 3 个群体的 89 个马银花(*R. ovatum* (Lindl.) Planch. ex Maxim.)个体进行了进一步的研究,每个位点的等位基因数在 4~30 之间。Choudhary 等^[52]用该方法从树形杜鹃(*R. arboreum* Sm.)中开发了 38 个位点,在 3 个树形杜鹃种群中扩增,等位基因数在 2~14 之间。

1.4 引物通用性检测

SSR 标记通常在近缘物种中具有较高的通用性,转移近缘物种的 SSR 标记已成为遗传信息缺乏物种的一种便捷、高效的分子标记开发方法^[53]。开展通用性检测有利于丰富基因组信息较少的物种的 SSR 数据库^[54],提高引物利用效率,加速物种的遗传多样性、亲缘关系以及近缘种内和近缘种间的

物种起源与演化分析。

Wang等^[44]研究了从马缨杜鹃开发的SSR标记在大白杜鹃和迷人杜鹃(*R. agastum* Balf. f. & W. W. Sm.)中的跨物种扩增。Wang等^[46]发现从大白杜鹃开发的24对SSR引物有12对能在8个杜鹃花属物种中具有多态性。王书珍等^[55]发现前期开发的7个杜鹃SSR标记能够在4个杜鹃花近缘种中跨物种扩增。张露等^[56]综合利用椭圆叶杜鹃EST数据库、杜鹃和马缨杜鹃基因组,在12份差异较大的高山杜鹃野生种和杂交种的材料中筛选得到26个通用性良好的SSR引物。Pan等^[30]发现24个都支杜鹃微卫星位点中的大部分能在8个同属物种中扩增出条带。从马缨杜鹃和大白杜鹃开发的38个微卫星位点^[57]在杜鹃花属不同组的6个物种中通用性在55%~89%。从牛皮杜鹃中开发16个EST-SSR和SSR^[47]在兴安杜鹃(*R. dauricum* L.)、短果杜鹃(*R. brachycarpum* D. Don ex G. Don)中的通用性大约在84.2%。Zhang等^[36]、张越^[37]发现从大王杜鹃开发的36对EST-SSR标记在6个亚属18个物种中具有58.33%~83.33%的通用性。在鹿角杜鹃中开发的EST-SSR多态性引物^[39]在37种杜鹃中显示出100%的通用性。从‘紫鹤’中开发的13对SSR标记^[40]在30个杜鹃样品中的通用性为100%。32个从杜鹃^[58]、椭圆叶杜鹃和白花杜鹃^[22]中开发的EST-SSR

在不同的亚属和组中的通用性在59.38%~93.75%。从云锦杜鹃开发的25对SSR引物^[33]在其他31种不同杜鹃花属植物(或品种)中的通用性较好,达到78.13%。

杜鹃花属的SSR标记开发研究显示(表1),常绿杜鹃亚属是开发和应用最多的亚属,共开发了287对SSR引物。马银花亚属与映山红亚属的开发均有一定的积累,分别开发了61对和50对。羊躑躅亚属研究相对较少,但引物数较高,达到50对。杜鹃亚属中的开发相对较弱,仅有9对引物。还有一些不确定亚属但在实验中进行应用的SSR引物,如陈明辉等^[40]开发的引物,总体而言具有一定使用价值的杜鹃花属SSR引物约509对。杜鹃花属SSR的跨物种扩增已经拓展为跨亚属间通用性检测,但杜鹃花科范围内的通用性检测仅有Delmas等^[29]在杜鹃花科另外两个物种黑果越橘(*Vaccinium myrtillus* L.)和长穗石南(*Erica scoparia* L.)上进行过尝试。从杜鹃花属开发的SSR标记在近缘物种中的通用性在50%~100%,其中EST-SSR的通用性介于58.33%~100%之间。亚属间较高的通用性表明利用亚属内重点种质开发SSR标记,就可进行属内近缘物种的系统发育、物种进化及亲缘关系等的研究。

表1 杜鹃花属SSR标记的开发情况统计(按亚属分类)

Table 1 Statistics on the development of SSR markers in the genus *Rhododendron* (by subgenus)

亚属 Subgen	开发SSR对象 Sources of SSR	数量 Number	类型 Type	应用 Application
常绿杜鹃亚属 Subgen. <i>Hymenanthes</i>	梅特尼氏杜鹃 <i>R. metternichii</i> Nakai	7对 ^[17]	SSR	基因组文库探针富集法开发、 交配系统研究
	椭圆叶杜鹃 <i>R. catawbiense</i> Michx.	12对 ^[22]	EST-SSR	生物数据库信息开发标记
	大王杜鹃 <i>R. rex</i> H. Lév.	36对 ^[36-37]	EST-SSR	二代测序技术开发标记、通用性研究
	都支杜鹃 <i>R. shanii</i> Fang	24对 ^[30]	SSR	二代测序技术开发标记、通用性研究
	锦绣杜鹃“紫鹤”品种 <i>R. pulchrum</i> Planch (“Zihe” variety)	13对 ^[41]	EST-SSR	二代测序技术开发标记、通用性研究
	灵宝杜鹃 <i>R. henanense</i> subsp. <i>Lingbaoense</i> Fang	15对 ^[31]	SSR	二代测序技术开发标记、序列特征分析
	云锦杜鹃 <i>R. fortunei</i> Lindl.	32对 ^[59]	EST-SSR	二代测序技术开发标记、序列特征分析、 通用性研究
	马缨杜鹃 <i>R. delavayi</i> Franch.	15对 ^[44]	SSR	基因组文库探针富集法开发、 通用性研究
	美容杜鹃 <i>R. calophytum</i> Franch.	15对 ^[45]	SSR	基因组文库探针富集法开发、 杂交后代的真实性鉴定
	大白杜鹃 <i>R. decorum</i> Franch.	24对 ^[46]	SSR	基因组文库探针富集法开发、通用性研究
牛皮杜鹃 <i>R. aureum</i> Franch.	12对 ^[47]	EST-SSR	FIASCO法开发标记、通用性研究	

表 1 (续)

亚属 Subgen	开发 SSR 对象 Sources of SSR	数量 Number	类型 Type	应用 Application	
常绿杜鹃亚属 <i>Subgen. Hymenanthes</i>	毛脉杜鹃 <i>R. pubicostatum</i> T. L. Ming	12 对 ^[60]	SSR	基因交流研究	
	锈红杜鹃 <i>R. bureavii</i> Franch.				
	川西杜鹃 <i>R. sikangense</i> Fang				
	NCBI 数据库椭圆叶杜鹃 <i>R. catawbiense</i> Michx.	14 对 ^[56]	EST-SSR	生物数据库信息开发标记、通用性研究、 杂交后代真实性鉴定-推测亲本	
	马缨杜鹃 <i>R. delavayi</i> Franch.	6 对 ^[56]	SSR	通用性研究、杂交后代真实性鉴定-推测 亲本	
	树形杜鹃 <i>R. arboreum</i> Sm.	38 对 ^[52]	SSR	生物素-链酶亲和素捕获法开发	
	翘首杜鹃 <i>R. protistum</i> Balf. f. & Forrest	10 对 ^[61]	SSR	物种保护策略	
马银花亚属 <i>Subgen. Azaleastrum</i>	<i>Rhododendron</i> Cunningham's White	2 对 ^[62]	SSR	性状-标记关联分析(叶片退绿和花色)	
	鹿角杜鹃 <i>R. latoucheae</i> Franch.	37 对 ^[39]	EST-SSR	二代测序技术开发标记、通用性研究	
	红马银花 <i>R. vialii</i> Delavay & Franch.	8 对 ^[32]	SSR	二代测序技术开发标记、物种保护-保护 策略	
映山红亚属 <i>Subgen. Tsutsusi</i>	马银花 <i>R. ovatum</i> (Lindl.) Planch. ex Maxim.	16 对 ^[51]	SSR	生物素-链酶亲和素捕获法开发	
	杜鹃 <i>R. simsii</i> hybrid Mevr. Van Belle 和 <i>R. simsii</i> Daoxian	6 对 ^[43]	SSR	基因组文库探针富集法开发、 序列特征分析	
	白花杜鹃 <i>R. mucronatum</i> var. <i>Ripense</i> (Makino) E.H. Wilson	14 对 ^[22]	EST-SSR	生物数据库信息开发标记	
	NCBI 数据库杜鹃 <i>R. simsii</i> Planch.	7 对 ^[19]	EST-SSR	生物数据库信息开发标记	
	杜鹃 <i>R. simsii</i> Planch.	8 对 ^[49]	SSR	FIASCO 法开发标记	
	NCBI 数据库杜鹃 <i>R. simsii</i> Planch.	14 对 ^[58]	EST-SSR	生物数据库信息开发标记、遗传多样性、 通用性研究	
	NCBI 数据库杜鹃 <i>R. simsii</i> Planch.	1 对 ^[56]	EST-SSR	生物数据库信息开发标记、通用性研究、 杂交后代真实性鉴定-推测亲本	
羊躑躅亚属 <i>Subgen. Pentanthera</i>	杜鹃 ^[48] <i>R. simsii</i> Planch.	/	/	FIASCO 法开发标记	
	杜鹃花白凤 4 号 ^[38] <i>R. pulchurum</i> Planch ("BaiFeng 4" variety)	/	/	二代测序技术开发标记、序列特征分析	
	黄杜鹃/羊躑躅 <i>R. molle</i> (Blume) G. Don	30 对 ^[42]	EST-SSR	二代测序技术开发标记	
杜鹃亚属 <i>Subgen. Rhododendron</i>	羊躑躅 <i>R. molle</i> (Blume) G. Don	20 对 ^[34]	SSR	二代测序技术开发标记	
	欧洲杜鹃 <i>R. ferrugineum</i> L.	9 对 ^[29]	SSR	二代测序技术开发标记、通用性研究、物 种保护-交配系统研究	
	长梗杜鹃 ^[35] <i>R. longipedicellatum</i> L. Cai & Y. P. Ma	/	SSR	二代测序技术开发标记、序列特征分析	
	/	杜鹃花种质资源 <i>R. hybridum</i> Hort	21 对 ^[40]	EST-SSR	二代测序技术开发标记
	/	NCBI 数据库	14 对 ^[20]	EST-SSR	生物数据库信息开发标记
	/	NCBI 数据库	1643 对 ^{[21]*}	EST-SSR	生物数据库信息开发标记、序列特征分析
	/	GenBank 数据库	7 对 ^[47]	EST-SSR	生物数据库信息开发标记、通用性研究
/	/	10 对 ^[63]	SSR	杂交后代的真实性鉴定	

/为数据不明或参考文献中未明确提及; *为仅设计引物,并未实际开发验证,不计入开发引物数量统计

/ means that the data are unknown or not explicitly mentioned in the reference; * means that the primers were only designed and not actually developed and validated, so they are not included in the count of developed primers

2 SSR分子标记在杜鹃花属植物中的应用

在研究杜鹃花属植物的过程中,许多研究人

员使用了现有的SSR(表2),主要用于物种保护研究、杂交后代的真实性鉴定以及性状-标记关联分析等,为后续研究提供了宝贵的参考依据。

表2 利用现有SSR分子标记进行杜鹃花属植物研究统计

Table 2 Statistics on the use of existing SSR molecular markers for the study of *Rhododendron*

序号 No.	研究对象 Objectives	SSR引物 SSR primers	应用 Application
1	4个杜鹃花近缘种:毛杜鹃、西洋杜鹃、棕背杜鹃、羊躑躅 ^[55]	7对 ^[48]	通用性研究
2	高山杜鹃杂交种 ^[56]	5对 ^[43,49]	通用性研究、杂交后代真实性鉴定-推测亲本
3	8个杜鹃花属物种:露珠杜鹃、迷人杜鹃、窄叶杜鹃、羊躑躅、杜鹃、云上杜鹃、碎米花、 <i>R. fuyuanensis</i> ^[57]	38对 ^[17,43,46,49]	通用性研究
4	喜马拉雅山脉东段杜鹃花属 ^[58]	18对 ^[22]	生物数据库信息开发标记、遗传多样性、通用性研究
5	兴安杜鹃 ^[64]	9对 ^[31,56,59]	保护策略、性状-标记关联分析
6	杜鹃花杂交子代 ^[65-66]	15对 ^[20,22] 、9对自主设计	杂交子代真实性鉴定
7	四明山6种野生杜鹃花:映山红、满山红、华顶杜鹃、云锦杜鹃、马银花和羊躑躅 ^[67]	6对 ^[32]	物种保护策略
8	红棕杜鹃 ^[68]	6对 ^[44,46-47]	物种保护策略
9	大树杜鹃 ^[69]	14对 ^[44,46-47]	物种保护策略
10	羊躑躅野生幼苗 ^[70]	20对 ^[34]	物种保护策略
11	<i>R. metternichii</i> var. <i>Hondoense</i> Nakai ^[71]	6对 ^[17]	交配系统研究
12	<i>R. metternichii</i> var. <i>Hondoense</i> Nakai ^[72]	8对(其中2对 ^[17])	交配系统(亲缘结构)
13	大白杜鹃 ^[73]	8对 ^[46]	交配系统研究
14	藏东南杜鹃花属植物 ^[74]	12对 ^[33,37]	基因交流研究
15	西南高原山地4种杜鹃花属植物:大王杜鹃、毛脉杜鹃、大树杜鹃和爆杖花 ^[75]	7对 ^[46,47,57]	基因交流研究
16	贵州百里杜鹃保护区杜鹃属主要野生种:马缨杜鹃、露珠杜鹃、大白杜鹃、皱叶杜鹃 ^[76]	20对 ^[39,52]	基因交流研究
17	常绿杜鹃 ^[77]	10对 ^[43]	杂交子代真实性鉴定(亲缘关系鉴定)
18	杜鹃的四个杂交种 ^[78]	23对 ^[43,62,71,77]	性状-标记关联分析
19	杜鹃花品种 ^[79]	6对 ^[43]	DNA指纹图谱

2.1 杜鹃花属的物种保护研究

种群遗传结构维持了物种的遗传多样性和适应性,对于物种的长期生存和抵御环境压力至关重要。杜鹃花属起源于白垩纪^[80],是杜鹃花科中最原始的属,杜鹃花属的系统发育反映了古地质和古气候的变迁^[81],为理解生物进化、地质剧变和气候变迁的研究提供参考。杜鹃花属分化剧烈,种类众多,往往生活在范围较小的生境中,容易受到环境变化和人类活动的影响导致灭绝,同时彼此之间存在频繁的杂交渐渗^[82]可能会导致基因流的均质化,降低遗传多样性,因此需要对杜鹃花属植物进行种

群遗传结构的研究。SSR标记能为杜鹃花属物种保护提供丰富的遗传信息,在确定物种的避难所及其迁移路线^[83]、指导迁地保护、评估保护成效^[84]等方面具有良好的应用前景。在全球变化(包括气候、人类活动干扰等)背景下,SSR标记能更好地为物种保护提供指导。目前已在*R. metternichii* var. *Hondoense* Nakai、欧洲杜鹃、大白杜鹃、大树杜鹃、翘首杜鹃、兴安杜鹃等几十种杜鹃花上开展了相关研究工作,主要分为3大类:杜鹃花保护策略研究、杜鹃花交配系统研究、杜鹃花基因流动研究。

运用SSR标记研究保护策略,主要通过遗传多

多样性和遗传结构分析,揭示遗传威胁因素等方面,确定遗传多样性较高的群体优先保护,并进一步提出就地或迁地等保护建议。吴富勤^[69]利用14个SSR标记分析了极小种群野生植物大树杜鹃的2个残存居群的遗传结构、遗传多样性和历史动态,提出保护建议。李盛辉^[61]利用从受威胁物种翘首杜鹃中开发的10对引物对12个野生居群中的260个野生个体进行了遗传多样性及遗传结构的分析,提出了居群的综合保护策略。董丽敏等^[70]利用SSR对羊躑躅野生幼苗进行遗传多样性和遗传结构研究,发现生境片段化已对羊躑躅的生存构成极大的威胁,并提出了具体保护措施。陈凯云等^[32]从红马银花基因组上开发了8对SSR引物,对红马银花居群的遗传多样性进行分析,推测其濒危的主要原因是生境遭到破坏,遗传多样性暂时未受很大影响,建议以就地保护为主。李东宾等^[67]利用6对红马银花EST-SSR引物^[32]分析四明山6种野生杜鹃花的遗传多样性,建议对遗传多样性最低的珍稀濒危植物华顶杜鹃进行就地保护和迁地保育。张丽芹^[68]利用6对SSR引物与5个DNA序列对红棕杜鹃8个居群进行遗传多样性、遗传结构和种群动态研究,提出维持生境从而防止过度的片段化是保障该物种应对全球变化适应性的关键。王丹^[64]从13个兴安杜鹃居群得到9个多态性SSR位点,进行遗传多样性研究,提出了重点保护的种源和建议遗传多样性较高的群体优先进行就地保护。

利用SSR标记研究杜鹃花的交配系统,可分析繁殖模式对环境变化的适应,从繁殖生物学角度出发为濒危物种的保护提供参考。Naito等^[17]利用开发的7对引物分析了*R. metternichii* var. *Hondoense* Nakai的种群是由有性生殖和无性生殖共同维持的。Kameyama等^[71]利用6对Naito等^[17]开发的引物对18株开花的*R. metternichii* var. *Hondoense* Nakai的150 m×70 m样方内的花粉流动模式进行了研究,仅用6个微卫星位点就识别了95%的花粉供体,说明SSR标记可以提供关于自然群体中花粉介导的基因流的精确信息。Delmas等^[29]利用从欧洲杜鹃开发的9对SSR引物来研究杜鹃花科物种的遗传结构,从而理解欧洲杜鹃的交配系统对荒地破碎化的进化响应。Wang等^[73]利用之前开发的8个SSR位点分析了10个自然居群和4个采花居群的247个杜鹃个体的遗传多样性,结果表明当地居民采食大白杜鹃的行为没有导致其遗传变异的丢失。

通过SSR标记对杜鹃花属植物基因流进行研

究,评估杜鹃花属杂交渐渗、近交、自交等现象,减少近交/远交衰退的风险,提出促进基因交流的保护策略。Kameyama等^[72]基于8个位点微卫星分析了日本广岛县一个区域内的174个*R. metternichii* var. *hondoense*个体间的亲缘关系,揭示了该种群可进一步分为3个亚群,并推测亚群内部和亚群之间不同的亲缘关系结构可能是由个体分布模式和种群密度不同导致的不同程度的基因流造成的。Zhang等^[60]利用12个SSR分析了云南轿子山3种同域杜鹃花物种的遗传多样性和种群结构,确定了其特有的极少种群濒危植物毛脉杜鹃的杂交起源,为其物种保护提供新的思路。丁礼梅^[75]利用前人开发的SSR对西南高原山地4种杜鹃花属植物大王杜鹃、毛脉杜鹃(极小种群野生植物)、大树杜鹃(濒危)和爆杖花(特有)进行了遗传多样性及小尺度空间遗传结构分析,发现它们均有较高的遗传多样性和一定的近交现象,并据此提出其源种群种子收集的最小距离,为种群回归遗传配置提供依据。李倩等^[76]利用已发表的20对SSR引物对贵州百里杜鹃保护区杜鹃花属4个主要种包括马缨杜鹃、露珠杜鹃、大白杜鹃和皱叶杜鹃共120份材料进行遗传多样性分析,发现它们之间存在广泛的自然杂交渐渗。袁一波^[74]利用12对SSR分子标记对18个野生种居群165份资源进行扩增,表明藏东南杜鹃花属植物整体遗传多样性较高,但大部分种间基因交流受到限制。

2.2 杂交后代真实性鉴定

杂交种的分子鉴定是判定杂交是否发生与杂交程度的关键,确定其遗传结构对杂交种的评估具有重要意义,而对物种杂交后代的真伪鉴定是杂交育种的重要环节^[85]。杜鹃花属种质资源丰富,遗传背景复杂,仅依靠形态学很难精确分辨,而分子标记能够在DNA水平上鉴定杂交后代,更加方便准确。利用SSR标记鉴定杂交后代真实性已在绣球^[14]、月季^[86]、非洲菊^[12]等观赏植物中成功实践,在杜鹃花属上也有一定的应用。

利用SSR标记鉴定杂交后代的真实性,为筛选新种质提供依据。Scario等^[77]比较了AFLP、STMS、EST三种标记在常绿杜鹃遗传关系的鉴别能力,结果表明STMS、EST具更高的能力,但三者联合会更有效。Wang等^[45]比较了DNA条形码与基于美容杜鹃开发的15对SSR标记的物种界定效果,表明SSR不仅能在基因组水平上区分所有物种群和每个物种中相对纯合的个体,还能在一些形态上不同的物

种个体中揭示隐秘的内源杂交现象。苏鸣^[65]、Su等^[66]筛选出15对EST-SSR引物对3个杜鹃花杂交组合的88个杂交子代真实性进行批量鉴定,结果表明最少只需要2对引物就可以对所有杂交子代进行鉴定。沈梓力等^[63]首次利用表型性状结合开发的10对SSR标记,检测 F_1 群体49个个体及亲本的基因型,发现SSR标记的聚类与表型性状的聚类有一定的相关性但并不完全一致,并筛选出2个性状稳定且遗传优良的新种质。

利用SSR标记推测亲本,为杜鹃花属杂交育种的亲本选择提供参考。张露等^[56]综合利用筛选得到的10对SSR引物对69份不同高山杜鹃杂交种质资源的亲缘关系进行了评价,杂交种间的非加权配对算术平均(UPGMA, unweighted pair group method with arithmetic mean)聚类结果与其谱系分析结果基本一致,可对一些未知来源的育成品种资源进行祖先亲本类型的推测。

2.3 性状-标记关联分析

利用标记连锁图(LM, linkage mapping)和合适的分离群体进行连锁分析以及QTL定位是解析植物数量性状遗传基础的主要方法^[87]。在杜鹃花属中尚未单独利用SSR标记来构建遗传连锁图谱,通常与RAPD、AFLP等标记一起进行构建,主要关注的性状为表型性状,如花色、叶片长宽比、株高、地径、花径、分枝数、花量等,且图谱精度有限,还有很多重要性状如重瓣性、花香、抗性未见报道。

Dunemann等^[62]利用种间杂交的分离群体开发了一张以RAPD标记为基础,辅以RFLPs和SSRs的第一张杜鹃花遗传连锁图谱,并对数量性状叶片褪绿和花色进行QTL分析。De Keyser等^[78]在杜鹃(*R. simsii* Planch.)的4个杂交种的单独连锁图谱上建立了一个整合的框架图谱,以AFLP和SSR标记作为参考骨架,增加功能标记(EST和MYB)作为候选基因进行QTL分析。王丹^[64]利用从兴安杜鹃上挖掘的3个SSR标记与表型性状(叶片长宽比、花色、株高、地径、花径、分枝数、花量)进行关联分析,获得与花色和叶片长宽比关联性较高的2个SSR位点,可为花色辅助育种提供新的标记参考。

3 总结与展望

虽然SSR标记在杜鹃花属植物的研究中取得了许多进展,但并非没有局限性。PCR扩增过程中的DNA聚合酶的滑脱(Replication slippage)产生滞后带(Stutter bands)^[88],导致假阳性的SSR基因型比

例过高,影响目标SSR基因型的准确鉴定^[89],优化PCR扩增条件可减少滞后带的影响^[90]。多倍体或非整倍体植物种的应用还有待进一步验证^[91],多倍体植物的复杂基因结构易于出现假阳性,增加读带难度而误判,影响结果的准确性。此外,SSR每个位点的等位基因数量较多,可能会增大或抑制群体的群体间分化系数(F_{st} , fixation index)^[92]。SSR使用位点数量相对较少,基因分型误差可能会导致较大的下游分析偏差^[92]。无效等位基因会使等位基因被高估^[88],如在Zhang等^[60]在研究中发现存在无效等位基因和样本数量不足的可能性。可通过筛选微卫星位点^[88],优化引物设计以提高特异性,以及通过增加重复测量,减少应用过程中可能产生的误差。

近年来,SSR分子标记在杜鹃花属中的应用研究日益增多,但由于公开发表的杜鹃花属基因组数据极为有限,只有10个物种,分别为灵宝杜鹃、白花杜鹃、杜鹃、朱红大杜鹃(*R. griersonianum* Balf. f. & Forrest)、红马银花、羊蹄躅、马银花、欧洲杜鹃、*R. kiyosumense* (Makino) Makino、圆叶杜鹃(*R. williamsianum* Rehder & E. H. Wilson),只占整个杜鹃花属物种数量的0.8%,而杜鹃花植物组基因数据库(RPGD, the *Rhododendron* Plant Genome Database)^[93]也仅鉴定了马缨杜鹃、圆叶杜鹃、杜鹃3个物种的SSR并设计引物,但并未进行实际的开发应用,因此,利用SSR标记进行杜鹃花属植物的研究仍有很大空间,可重点围绕以下几个方面展开。

3.1 以濒危物种为重点大力开发属内SSR标记

根据《中国生物多样性红色名录——高等植物卷(2020)》^[94],共收录杜鹃花属695种,其中受威胁(易危、濒危和极度濒危)的杜鹃花属植物有124种,包含极度濒危(CR, critically endangered)10种,濒危(EN, endangered)28种,易危(VU, vulnerable)86种。仅有14种利用SSR标记进行了遗传多样性研究,占受威胁物种的11.3%,占总数的2.01%,说明我国在杜鹃花属植物的物种保护研究方面仍有较大空白,很多物种保护现状不明。

濒危物种的遗传资源通常较为有限,种群数量稀少,开发濒危物种的SSR标记可以更精确地识别出濒危物种中的杂合位点,了解物种的遗传变异程度和基因流动情况,从而评估其适应环境和应对环境变化的能力。因此,大力开发杜鹃花属内SSR标记,尤其是濒危物种的SSR标记,在明确的遗传信息的指导下进行引种、迁地保护、回归等项目实践,

对研究杜鹃花物种尤其是濒危物种的适应性和可持续性起积极作用,使物种保护工作更加精准有效。

3.2 重要性状关联辅助育种

SSR 标记适用于遗传连锁图谱的构建、QTL 定位、关联分析和分子标记辅助选择育种,在观赏植物上已有不少关键育种性状进行了 QTL 定位和关联分析,如蔷薇属^[95]对花瓣数、花期、花香、花色、花径、生长势、皮刺、株形和抗白粉病等多个农艺性状进行了 QTL 定位,但在杜鹃花属中仅有 Dunemann 等^[62]和 De Keyser 等^[78]构建了遗传连锁图谱进行 QTL 分析,进行性状关联的 SSR 标记较少,应用于分子辅助育种还有相当大的差距。因此,需要开发更多 SSR 标记,建立杜鹃花属高精度的遗传连锁图谱。

在性状选择方面,除观赏性状(花色、花形、重瓣性、开花习性、花香、花期等)外,也须对生物胁迫(如黑斑病、红蜘蛛、根腐病、叶斑病等)抗性、非生物胁迫(如低温、高温、干旱、盐碱等)抗性等展开研究,使杜鹃花属植物重要农艺性状相关基因的精细定位及基因编辑成为可能,积极推动分子辅助育种选育优良品种,实现科学研究与实际生产应用相结合。

3.3 构建 DNA 指纹图谱加强品种鉴定

杜鹃花属在长期的自然演化和种间杂交过程中形成了生态适应性各异、数量庞大的变异新异种或新无性系,同时我国杜鹃花品种名称存在大量的同物异名、同名异物及品种译名不当的现象,已有的鉴定主要通过农艺和形态表型性状进行,性状差异小,误差大,难以将种质材料完全区分开,分子手段可以弥补上述不足。DNA 指纹图谱(DNA fingerprinting)是现在品种鉴定的主要手段之一,而 SSR 标记是目前最成熟的 DNA 指纹图谱建库技术^[96],在其他植物上已有较多应用,如向日葵 *Helianthus annuus* L.、芍药 *Paeonia lactiflora* Pall^[91]等观赏植物,西瓜 *Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai、玉米等作物^[91],可借鉴其他物种 SSR 指纹库构建的成功经验,如核心位点组合法的建库思路、核心位点选择的指标等^[96],在杜鹃花属内进行应用。周泓^[79]利用表型性状的数量分类和 AFLP、SSR 分子标记,构建了 130 个国内保存品种指纹图谱,但 SSR 标记位点比较有限。今后需要扩大群体数量,利用更多的标记数量来承载尽量多的遗传信息,提高图谱的精准性和应用效率。高效精确的

DNA 指纹图谱将有助于杜鹃花新品种的审核和认定,为科学有效地保护植物品种知识产权、维护生产者和育种者的合法权益提供依据。

参考文献

- [1] 李婧,汤升虎,童琪,李朝楨,蒙文萍,周艳. 杜鹃属植物及在园林景观中的应用. 现代园艺, 2020, 43(15): 66-68
Li J, Tang S H, Tong Q, Li C Z, Meng W P, Zhou Y. *Rhododendron* and its application in landscape gardening. *Contemporary Horticulture*, 2020, 43(15): 66-68
- [2] 刘德团,常宇航,马永鹏. 本底资源不清严重制约我国杜鹃花属植物的生物多样性保护. 植物科学学报, 2020, 38(4): 517-524
Liu D T, Chang Y H, Ma Y P. Unclear resource background seriously restricts biodiversity conservation of *Rhododendron* in China. *Plant Science Journal*, 2020, 38(4): 517-524
- [3] 常宇航,田晓玲,张长芹,马永鹏. 中国杜鹃花品种分类问题与思考. 世界林业研究, 2020, 33(1): 60-65
Chang Y H, Tian X L, Zhang C Q, Ma Y P. Problems and thoughts on the classification of *rhododendron* cultivars in China. *World Forestry Research*. 2020, 33(1): 60-65
- [4] 程洁婕. 中国野生杜鹃花属植物地理分布格局和贵州省野生杜鹃花属植物观赏价值评价. 贵阳: 贵州大学, 2022
Cheng J J. Geographic distribution pattern of wild *Rhododendron* in China and evaluation of the ornamental value of wild *Rhododendron* in Guizhou province. Guiyang: Guizhou University, 2022
- [5] 张序,刘雄芳,万友名,张秀姣,李正红,马宏. 杜鹃属植物自然杂交研究进展. 世界林业研究, 2019, 32(6): 20-24
Zhang X, Liu X F, Wan Y M, Zhang X J, Li Z H, Ma H. Research progress in natural hybridization of *Rhododendron*. *World Forestry Research*. 2019, 32(6): 20-24
- [6] 贯春雨,陈肃,邢政华,李树森,王福森. 11 个杨树品种 SSR 指纹图谱构建及遗传关系研究. 西北林学院学报, 2023, 38(2): 107-112
Guan C Y, Chen S, Xing Z H, Li S S, Wang F S. Finger print and genetic analysis of 11 varieties of *Populus* using SSR markers. *Journal of Northwest Forestry University*, 2023, 38(2): 107-112
- [7] 孔琳琳,孟现东,王建军,俞金健,胡现铭,林二培,黄华宏. 彩叶香樟转录组 SSR 鉴定及指纹图谱构建. 农业生物技术学报, 2023, 31(11): 2423-2434
Kong L L, Meng X D, Wang J J, Yu J J, Hu X G, Lin E P, Huang H H. SSR identification of transcriptome and fingerprint construction in color-leafed *Cinnamomum camphora*. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2023, 31(11): 2423-2434
- [8] 时如霞,曾琴,赵丹. 基于楠木转录组的 SSR、SNP、Indel 分子标记技术特征分析. 山地农业生物学报, 2023, 42(4): 83-87
Shi R X, Zeng Q, Zhao D. Characterization of SSR, SNP, and Indel molecular marker technologies based on the

- transcriptome of *Phoebe hennan*. Journal of Mountain Agriculture and Biology, 2023, 42(4): 83-87
- [9] 李松, 施德林, 董云武, 杨亚丽, 余娇娇. 基于SSR标记的云南35个玉米自交系遗传多样性分析. 云南农业大学学报: 自然科学, 2023, 38(5): 732-738
Li S, Shi D L, Dong Y W, Yang Y L, Yu J J. Analysis of genetic diversity of 35 maize inbred lines in yunnan based on SSR markers. Journal of Yunnan Agricultural University: Natural Science, 2023, 38(5): 732-738
- [10] 石祥鹏, 谢雨彤, 吴曼妮, 朱光枫, 吴祥瑶. SSR标记在甘蔗遗传育种中的应用综述. 江西农业, 2018(14): 42
Shi X P, Xie Y T, Wu M N, Zhu G F, Wu X Y. A review on the application of SSR markers in sugarcane genetic breeding. Jiangxi Agriculture, 2018(14): 42
- [11] 周胜芳, 夏豫川, 刘钰, 邓春莉, 孙蕾, 任羽. 石斛SSR分子标记的研究进展. 分子植物育种, 2023, 21(4): 1239-1254
Zhou S F, Xia Y C, Liu Y, Deng C L, Sun L, Ren Y. Advances in SSR molecular markers of *Dendrobium*. Molecular Plant Breeding, 2023, 21(4): 1239-1254
- [12] 曹奕鸯, 夏朝水, 陈玮婷, 甘玮欣, 林辉锋, 林发壮, 周辉明. 应用SSR分子标记鉴定非洲菊F₁代杂种的真实性. 福建农业学报, 2023, 38(7): 842-850
Cao Y Y, Xia Z S, Chen W T, Gan W X, Lin H F, Lin F Z, Zhou H M. Authentication of F₁ *Gerbera jamesonii* hybrids using SSR molecular markers. Fujian Journal of Agriculture Sciences, 2023, 38(7): 842-850
- [13] 虞啸. 紫云英种质资源的遗传多样性分析及新品系选育. 南京: 南京农业大学, 2022
Yu X. Analysis of genetic diversity in Chinese Milk Vetch collections and selection of breed lines. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2022
- [14] 陆泓锦, 吴宜静, 张一鸣, 续言, 王露, 赵天祯, 章寒, 蔡明, 杨玉勇, 张启翔. 分子标记在绣球属育种中的应用研究进展. 西北林学院学报, 2022, 37(4): 173-180
Lu H J, Wu Y J, Zhang Y M, Xu Y, Wang L, Zhao T Y, Zhang H, Cai M, Yang Y Y, Zhang Q X. Research progress on molecular markers of *Hydrangea* genus. Journal of Northwest Forestry University, 2022, 37(4): 173-180
- [15] 蒋彩虹, 王元英, 孙玉合. SSR和ISSR标记技术应用进展. 中国烟草科学, 2007(2): 1-5
Jiang C H, Wang Y Y, Sun Y H. Application advance of molecular marker techniques of SSR and ISSR. Chinese Tobacco Science, 2007(2): 1-5
- [16] Moore S S, Sargeant L L, King T J, Mattick J S, Georges M, Hetzel D J S. The conservation of dinucleotide microsatellites among mammalian genomes allows the use of heterologous PCR primer pairs in closely related species. Genomics, 1991, 10(3): 654-660
- [17] Naito K, Isagi Y, Kameyama Y, Nakagoshi N. Population structures in *Rhododendron metternichii* var. *hondoense* assessed with microsatellites and their implication for conservation. Journal of Plant Research, 1999, 112(4): 405-412
- [18] 王书珍, 张传进, 程华, 方元平, 项俊, 郑永良, 金卫斌. 杜鹃花表达序列标签资源中的微卫星信息分析. 湖北林业科技, 2014, 43(2): 7-10
Wang S Z, Zhang C J, Cheng H, Fang Y P, Xiang J, Zheng Y L, Jin W B. Analysis of simple sequence repeats information in expressed sequence tag resources of *Rhododendron simsii*. Hubei Forestry Science and Technology, 2014, 43(2): 7-10
- [19] Li Z L, Cheng C, Zhang G W, Fang Y P, Jin W B, Wang S Z. EST-SSR marker-based genetic diversity analysis of *Rhododendron simsii* germplasm in Guifeng Mountain. Agricultural Science & Technology, 2016, 17(5): 1073-1076
- [20] 李美芹, 潘叶羽, 钱萍仙, 卢丹, 明萌, 饶慧云, 刘蓉, 谢晓鸿, 吴月燕. 杜鹃花EST-SSR标记的开发及遗传多样性分析. 植物生理学报, 2016, 52(3): 356-364
Li M Q, Pan Y Y, Qian P X, Lu D, Ming M, Rao H Y, Liu R, Xie X H, Wu Y Y. Development of EST-SSR markers and genetic diversity analysis in *Rhododendron*. Journal of Plant Physiology, 2016, 52(3): 356-364
- [21] 龚记熠, 刘欢, 张习敏, 孙威, 李菲. 杜鹃花属序列中微卫星位点特征分析和引物开发. 分子植物育种, 2018, 16(22): 7403-7406
Gong J Y, Liu H, Zhang X M, Sun W, Li F. Characteristic analysis of microsatellite sites and primers development in sequences of *Rhododendron* spp.. Molecular Plant Breeding, 2018, 16(22): 7403-7406
- [22] Sharma H, Kumar P, Singh A, Aggarwal K, Roy J, Sharma V, Rawat S. Development of polymorphic EST-SSR markers and their applicability in genetic diversity evaluation in *Rhododendron Arboreum*. Molecular Biology Reports, 2020, 47(4): 2447-2457
- [23] 金基强, 崔海瑞, 陈文岳, 卢美贞, 姚艳玲, 忻雅, 龚晓春. 茶树EST-SSR的信息分析与标记建立. 茶叶科学, 2006, 26(1): 17-23
Jin J Q, Cui H R, Chen W Y, Lu M Z, Yao Y L, Xin Y, Gong X C. Data mining for SSRs in ESTs and development of EST-SSR marker in tea plant (*Camellia sinensis*). Journal of Tea Science, 2006, 26(1): 17-23
- [24] 陈军方, 任正隆, 高丽锋, 贾继增. 从小麦EST序列中开发新的SSR引物. 作物学报, 2005, 31(2): 154-158
Chen J F, Ren Z L, Li G F, Jia J Z. Developing new SSR markers from EST of wheat. Acta Agronomica Sinica, 2005, 31(2): 154-158
- [25] 杨素丽, 明军, 刘春, 穆鼎, 李名扬. 基于EST信息的百合SSR标记的建立. 园艺学报, 2008(7): 1069-1074
Yang S L, Ming J, Liu C, Mu D, Li M Y. Data mining for simple sequence repeats marker development in expressed sequence tags from *Lilium* L.. Acta Horticulturae Sinica, 2008(7): 1069-1074
- [26] 秦楠, 栗东芳, 杨瑞馥. 高通量测序技术及其在微生物学研究中的应用. 微生物学报, 2011, 51(4): 445-457
Qin N, Liu D F, Yang R F. Next-generation sequencing

- technology and its application in microbiology. *Acta Microbiologica Sinica*, 2011, 51(4): 445-457
- [27] 王兴春, 杨致荣, 王敏, 李玮, 李生才. 高通量测序技术及其应用. *中国生物工程杂志*, 2012, 32(1): 109-114
Wang X C, Yang Z R, Wang M, Li W, Li S C. High-throughput sequencing technology and its application. *China Biotechnology*, 2012, 32(1): 109-114
- [28] 冯健, 赵雪崑. 高通量测序技术及其在植物研究中的应用. *辽宁林业科技*, 2012(4): 29-33, 37, 44
Feng J, Zhao X W. High-throughput sequencing technology and its application in plant research. *Journal of Liaoning Forestry Science & Technology*, 2012(4): 29-33, 37, 44
- [29] Delmas C E L, Lhuillier E, Pornon A, Escaravage N. Isolation and characterization of microsatellite loci in *Rhododendron Ferrugineum* (Ericaceae) using pyrosequencing technology. *American Journal of Botany*, 2011, 98(5): e120-e122
- [30] Pan T, Pei Y, Zhao K, Liu X, Wang C C, Zhang B W. Isolation and characterization of microsatellite loci for *Rhododendron Shanii* (Ericaceae). *Applications in Plant Sciences*, 2019, 7(2): e01222
- [31] 周晓君, 王海亮, 李方玲, 张凯, 王俞娜, 押辉远. 基于 RAD-seq 技术开发灵宝杜鹃多态性 SSR 标记. *农业生物技术学报*, 2019, 27(1): 55-62
Zhou X J, Wang H L, Li F L, Zhang K, Wang Y N, Ya H Y. Development of polymorphic SSR markers in *Rhododendron henanense* subsp. *lingbaoense* based on RAD-seq. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2019, 27(1): 55-62
- [32] 陈凯云, 刘巧, 王禹, 李东徽, 张敬丽. 基于 SSR 分子标记对红马银花的遗传多样性分析. *云南农业大学学报: 自然科学*, 2020, 35(5): 818-825
Chen K Y, Liu Q, Wang Y, Li D H, Zhang J L. Genetic diversity analysis of *Rhododendron vialii* based on microsatellite marker. *Journal of Yunnan Agricultural University: Natural Science*, 2020, 35(5): 818-825
- [33] 杨彬. 云锦杜鹃转录组分析、SSR 标记开发及多倍体诱导. 杭州: 浙江农林大学, 2022
Yang B. Transcriptome analysis, transcriptome analysis, SSR marker development and polyploid induction of *Rhododendron fortunei*. Hangzhou: Zhejiang Agriculture & Forestry University, 2022
- [34] 刘梦露, 戴亮芳, 程马龙, 张金, 李海燕, 谢建坤, 罗向东. 濒危植物羊躑躅全基因组 SSR 标记开发与鉴定研究. *西北植物学报*, 2018, 38(5): 850-857
Liu M L, Dai L F, Cheng M L, Zhang J, Li H Y, Xie J K, Luo X D. Genome-wide identification of SSR markers in endangered species *Rhododendron molle* G. Don. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2018, 38(5): 850-857
- [35] 李太强, 刘雄芳, 万友名, 李正红, 李钰莹, 刘秀贤, 马宏. 滇东南濒危植物长梗杜鹃转录组微卫星特征分析. *林业科学研究*, 2017, 30(4): 533-541
Li T Q, Liu X F, Wan Y M, Li Z H, Li Y Y, Liu X X, Ma H. Characteristic analysis of microsatellites in the transcriptome of *Rhododendron longipedicellatum*, an endangered species endemic to Southeastern Yunnan, China. *Forest Research*, 2017, 30(4): 533-541
- [36] Zhang Y, Zhang X, Wang Y H, Shen S K. *De Novo* assembly of transcriptome and development of novel EST-SSR markers in *Rhododendron Rex* Lévl. through Illumina sequencing. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8: 1664
- [37] 张越. 西南特有植物大王杜鹃的转录组分析与 EST-SSR 分子标记开发. 昆明: 云南大学, 2020
Zhang Y. Transcriptomic analysis and ESLSSR molecular markers development of *Rhododendron rex* subsp. *rex*, an endemic plant in southwest of China. Kunming: Yunnan University, 2020
- [38] 王华, 汪王微, 王冬良, 张石虎, 胡新芳, 卢诗雨, 龚雪梅. 杜鹃花叶片转录组测序数据组装及功能注释. *浙江农业学报*, 2018, 30(7): 1149-1159
Wang H, Wang W W, Wang D L, Zhang S H, Hu X F, Lu S Y, Gong X M. *De novo* assembly and functional annotation of transcriptome data of *Rhododendron pulchrum* cv. Baifeng 4 leaf. *Zhejiang Journal of Agriculture*, 2018, 30(7): 1149-1159
- [39] Xing W, Liao J, Cai M, Xia Q F, Liu Y, Zeng W, Jin X L. *De Novo* assembly of transcriptome from *Rhododendron latoucheae* Franch. using illumina sequencing and development of new EST-SSR markers for genetic diversity analysis in *Rhododendron*. *Tree Genetics & Genomes*, 2017, 13(3): 53
- [40] 陈明辉, 廖孟杰, 王健胜, 程世平. 基于转录组测序的杜鹃 EST-SSR 引物开发与鉴定. *分子植物育种*, 2019, 17(17): 5709-5715
Chen M H, Liao M J, Wang J S, Cheng S P. Development and identification of *Rhododendron hybridum* EST-SSR primers based on transcriptome sequencing. *Molecular Plant Breeding*, 2019, 17(17): 5709-5715
- [41] 王书珍, 张羽佳, 黄诗颖, 罗炎炎, 金正强, 李志良, 金卫斌. 基于锦绣杜鹃花蕾转录组的 SSR 标记开发及应用. *林业科学研究*, 2019, 32(3): 97-104
Wang S Z, Zhang Y J, Huang S Y, Luo Y Y, Jin Z Q, Li Z L, Jin W B. Development and application of SSR markers based on the transcriptome of flower buds of *Rhododendron pulchrum* Planch.. *Forest Research*, 2019, 32(3): 97-104
- [42] 王书珍, 李志良, 金卫斌, 张明菊, 胡雨晴, 杜睿琛. CN201811560600.8 基于转录组测序开发的黄杜鹃 SSR 引物对及筛选方法与应用. 2021-09-24
Wang S Z, Li Z L, Jin W B, Zhang M J, Hu Y Q, Du R C. CN201811560600.8 SSR primer pairs and screening method and application of *Rhododendron molle* G. Don developed based on transcriptome sequencing. 2021-09-24
- [43] Dendauw J, De Riek J, Arens P, Van Bockstaele E, Vosman B, De Loose M. Development of sequenced tagged microsatellite site (Stms) markers in *Azalea*. *Acta Horticulturae*, 2001(546): 193-197
- [44] Wang N, Chang Q Z, Yang J, Zhang J L. Development and

- characterization of 15 microsatellite loci for *Rhododendron delavayi* Franch. (Ericaceae). *HortScience*, 2010, 45 (3) : 457-459
- [45] Wang J, Luo J, Ma Y Z, Mao X X, Liu J Q. Nuclear simple sequence repeat markers are superior to DNA barcodes for identification of closely related *Rhododendron* species on the same mountain. *Journal of Systematics and Evolution*, 2019, 57(3): 278-286
- [46] Wang X Q, Huang Y, Long C L. Isolation and characterization of twenty-four microsatellite loci for *Rhododendron Decorum* Franch. (Ericaceae). *HortScience*, 2009, 44(7): 2028-2030
- [47] Li L F, Yin D X, Song N, Tang E H, Xiao H X. Genomic and EST microsatellites for *Rhododendron Aureum* (Ericaceae) and cross-amplification in other congeneric species. *American Journal of Botany*, 2011, 98(9): e250-e252
- [48] 王书珍, 金卫斌, 项俊, 郑永良, 方元平, 干建平, 程华, 杜航. 杜鹃基因组微卫星富集文库的构建. *湖北农业科学*, 2015, 54(3): 627-630, 635
Wang S Z, Jin W B, Xiang J, Zheng Y L, Fang Y P, Gan J P, Cheng H, Du H. Constructing microsatellite - enriched library of *Rhododendron simsii* Planch. *Hubei Agricultural Science*, 2015, 54(3): 627-630, 635
- [49] Tan X X, Li Y, Ge X J. Development and characterization of eight polymorphic microsatellites for *Rhododendron Simsii* Planch (Ericaceae). *Conservation Genetics*, 2009, 10 (5) : 1553-1555
- [50] Tong X, Xu N, Li L, Chen X Y. Development and characterization of polymorphic microsatellite markers in *Cyclobalanopsis glauca* (Fagaceae). *American Journal of Botany*, 2012, e120-e122
- [51] Liu D, Zhang Y, Wang S S, Liao M Y, Fan X Y, Li Y Y, Wang R. Development and characterization of 23 microsatellite loci for *Rhododendron Ovatum* (Ericaceae). *Applications in Plant Sciences*, 2017, 5(1): 1600106
- [52] Choudhary S, Thakur S, Saini R G, Bhardwaj P. Development and characterization of genomic microsatellite markers in *Rhododendron Arboreum*. *Conservation Genetics Resources*, 2014, 6(4): 937-940
- [53] 杨梦婷, 黄洲, 干建平, 徐君驰, 庞基良. SSR分子标记的研究进展. *杭州师范大学学报: 自然科学版*, 2019, 18(4): 429-436
Yang M T, Huang Z, Gan J P, Xu J C, Pang J L. Research progress of SSR molecular markers. *Journal of Hangzhou Normal University: Natural Science Edition*, 2019, 18 (4) : 429-436
- [54] 钟敏, 程须珍, 王丽侠, 王素华, 王小宝. 绿豆基因组 SSR引物在豇豆属作物中的通用性. *作物学报*, 2012, 38(2): 223-230
Zhong M, Cheng S Z, Wang L X, Wang S H, Wang X B. Transferability of mungbean genomic-SSR markers in other *Vigna* species. *Acta Agronomica Sinica*, 2012, 38 (2) : 223-230
- [55] 王书珍, 骆亮, 曾宜, 金卫斌, 向福, 方元平. 映山红多态性微卫星标记的跨物种扩增研究. *北方园艺*, 2016(3): 100-103
Wang S Z, Luo L, Zeng Y, Jin W B, Xiang F, Fang Y P. Cross-species amplification of polymorphic microsatellite markers in *Rhododendron simsii*. *Northern Horticulture*, 2016 (3): 100-103
- [56] 张露, 王继华, 解玮佳, 蔡艳飞, 宋杰, 彭绿春, 李树发, 李世峰. 基于系谱和 SSR 标记的高山杜鹃杂交种亲缘关系分析. *西北植物学报*, 2016, 36(12): 2421-2432
Zhang L, Wang J H, Xie W J, Cai Y F, Song J, Peng L C, Li S F, Li S F. Ancestor parents speculation for alpine *Rhododendron* hybrids based on the pedigree and SSR markers. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2016, 36 (12) : 2421-2432
- [57] Wang X, Huang Y, Long C. Cross-amplification and characterization of microsatellite loci for the genus *Rhododendron*. *HortScience*, 2010, 45(9): 1394-1397
- [58] Sharma H, Bhandawat A, Rawat S. Cross-transferability of SSR markers developed in *Rhododendron* species of Himalaya. *Molecular Biology Reports*, 2020, 47(8): 6399-6406
- [59] 杨彬, 许蔷薇, 牛明月, 楼雄珍, 黄华宏, 童再康, 林二培. 云锦杜鹃转录组 SSR 分析及其分子标记开发. *核农学报*, 2018, 32(12): 2335-2345
Yang B, Xu Q W, Niu M Y, Lou X Z, Huang H H, Tong Z K, Lin E P. SSR analysis of the transcriptome of *Rhododendron yunnanensis* and its molecular marker development. *Journal of Nuclear Agriculture*, 2018, 32 (12) : 2335-2345
- [60] Zhang X M, Qin H T, Xie W J, Ma Y P, Sun W B. Comparative population genetic analyses suggest hybrid origin of *Rhododendron Pubicostatum*, an endangered plant species with extremely small populations endemic to Yunnan, China. *Plant Diversity*, 2020, 42(4): 312
- [61] 李盛辉. 翘首杜鹃的保护生物学研究. 北京: 中国科学院大学, 2018
Li S H. Conservation biology of *Rhododendron protistum*. Beijing: University of Chinese Academy of Sciences, 2018
- [62] Dunemann F, Kahnau R, Stange I. Analysis of complex leaf and flower characters in *Rhododendron* using a molecular linkage map. *Theoretical and Applied Genetics*, 1999, 98 (6-7): 1146-1155
- [63] 沈梓力, 李美芹, 邱甜, 吴燕燕, 吴月燕, 谢晓鸿. 杜鹃花 F_1 代群体主要表型性状及 SSR 标记的多样性分析. *江苏农业科学*, 2019, 47(18): 177-181
Shen Z L, Li M C, Qiu T, Wu Y Y, Wu Y Y, Xie X H. Diversity analysis of major phenotypic traits and SSR markers in F_1 generation population of *Rhododendron*. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2019, 47(18): 177-181
- [64] 王丹. 兴安杜鹃遗传多样性及花色调控关键基因的研究. 哈尔滨: 东北林业大学, 2023
Wang D. The study on genetic diversity and key genes

- regulating flower color in *Rhododendron dauricum* L..Harbin: Northeast Forestry University, 2023
- [65] 苏鸣. 基于形态标记和分子标记的杜鹃花品种杂交子代真实性研究. 宁波: 宁波大学, 2023
- Su M. Studies on the progeny authenticity of azalea hybrids based on morphological markers and molecular markers. Ningbo: Ningbo University, 2023
- [66] Su M, Zhang C, Feng S. Identification and genetic diversity analysis of hybrid offspring of Azalea based on EST-SSR markers. *Scientific Reports*, 2022, 12(1): 15239
- [67] 李东宾, 徐婧, 何立平, 许志斌, 沈登锋. 四明山野生杜鹃花资源遗传多样性和亲缘关系分析. *林业科技*, 2023, 48(1): 15-19, 47
- Li D B, Jing X, He L P, Xu Z B, Shen D F. Genetic diversity and kinship analysis of wild *Rhododendron* in Siming mountain. *Forestry Science & Technology*, 2023, 48(1): 15-19, 47
- [68] 张丽芹. 西南高原山地红棕杜鹃的居群遗传多样性及海拔适应性研究. 昆明: 云南大学, 2022
- Zhang L Q. Study on the population genetic diversity and altitude adaptability of *Rhododendron rubiginosum* in southwest plateau mountains of China. Kunming: Yunnan University, 2022
- [69] 吴富勤. 极小种群野生植物大树杜鹃的保护生物学研究. 昆明: 云南大学, 2015
- Wu F Q. Conservation biology of the wild plants with extremely small population *Rhododendron protistum* var. *giganteum*. Kunming: Yunnan University, 2015
- [70] 董丽敏, 戴亮芳, 白李唯丹, 刘梦露, 谢建坤, 罗向东. 濒危羊躑躅子代幼苗遗传多样性的 SSR 分析. *西北植物学报*, 2019, 39(4): 613-619
- Dong L M, Dai L F, Bai L W D, Liu M L, Xie J K, Luo X D. Genetic diversity of wild seedlings of endangered *Rhododendron molle* G. Don by SSR. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2019, 39(4): 613-619
- [71] Kameyama Y, Isagi Y, Naito K, Nakagoshi N. Microsatellite analysis of pollen flow in *Rhododendron Metternichii* Var. Hondoense. *Ecological Research*, 2000, 15(3): 263-269
- [72] Kameyama Y, Isagi Y, Nakagoshi N. Relatedness structure in *Rhododendron Metternichii* Var. Hondoense revealed by microsatellite analysis. *Molecular Ecology*, 2002, 11(3): 519-527
- [73] Wang X, Huang Y, Long C. Assessing the genetic consequences of flower-harvesting in *Rhododendron Decorum* Franchet (Ericaceae) using microsatellite markers. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2013, 50: 296-303
- [74] 袁一波. 藏东南杜鹃花属植物种质资源评价. 武汉: 华中农业大学, 2023
- Yuan Y B. Evaluation of *Rhododendron* germplasm resources in southeast Tibet. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2023
- [75] 丁礼梅. 西南高原山地四种杜鹃属植物小尺度空间遗传结构的的研究. 昆明: 云南大学, 2021
- Ding L M. Study on the fine scale spatial genetic structure of 4 *Rhododendron* species in southwest plateau mountains of China. Kunming: Yunnan University, 2021
- [76] 李倩, 李慧娥, 杨兰, 郭其强, 黄家湧. 贵州百里杜鹃保护区杜鹃属 4 个主要种的遗传多样性分析. *分子植物育种*, 2021, 19(17): 5746-5754
- Li Q, Li H E, Yang L, Guo Q Q, Huang J Y. Genetic diversity analysis of four main species of *Rhododendron* in the Baili *Rhododendron* Reserve, Guizhou province. *Molecular Plant Breeding*, 2021, 19(17): 5746-5754
- [77] Scariot V, De Keyser E, Handa T, De Riek J. Comparative study of the discriminating capacity and effectiveness of AFLP, STMS and EST markers in assessing genetic relationships among evergreen azaleas. *Plant Breeding*, 2007, 126(2): 207-212
- [78] De Keyser E, Shu Q, Van Bockstaele E, De Riek J. Multipoint-likelihood maximization mapping on 4 segregating populations to achieve an integrated framework map for QTL analysis in pot azalea (*Rhododendron Simsii* Hybrids). *BMC Molecular Biology*, 2010, 11(1): 1-20
- [79] 周泓. 杜鹃花品种资源多样性研究及品种分类体系构建. 杭州: 浙江大学, 2013
- Zhou Hong. Analysis of azalea cultivar diversity and establishment of cultivar classification system. Hangzhou: Zhejiang University, 2013
- [80] 闵天禄, 方瑞征. 杜鹃属(*Rhododendron* L.)的地理分布及其起源问题的探讨. *云南植物研究*, 1979, 1(2): 17-28
- Min T L, Fang R Z. Discussion on the geographical distribution and origin of *Rhododendron* L.. *Acta Botanica Yunnanica*, 1979, 1(2): 17-28
- [81] 闵天禄, 方瑞征. 杜鹃属的系统发育与进化. *云南植物研究*, 1990, 12(4): 353-365
- Min T L, Fang R Z. The phylogeny and evolution of genus *Rhododendron*. *Acta Botanica Yunnanica*, 1990, 12(4): 353-365
- [82] 毛星星. 杜鹃属云锦杜鹃亚组的物种界定和分类学研究. 成都: 四川大学, 2021
- Mao X X. Species delimitation and taxonomic treatment of *Rhododendron* subsect. *Fortunea*. Chengdu: Sichuan University, 2021
- [83] 李美琼, 高浦新, 朱友林, 李绍波. 微卫星(SSR)分子标记应用于濒危植物保护的研究进展. *南方林业科学*, 2011(2): 24-28
- Li M Q, Gao P X, Zhu Y L, Li S B. Progress of microsatellite (SSR) molecular markers for endangered plant conservation. *South China Forestry Science*, 2011(2): 24-28
- [84] 李媛媛, 刘超男, 王嵘, 罗水兴, 农寿千, 王静雯, 陈小勇. 分子标记在濒危物种保护中的应用. *生物多样性*, 2020, 28(3): 367-375
- Li Y Y, Liu C N, Wang R, Luo S X, Nong S Q, Wang J W, Chen X Y. Applications of molecular markers in conserving

- endangered species. *Biodiversity Science*, 2020, 28 (3): 367-375
- [85] 邓衍明,叶晓青,余建明,汤日圣. 植物远缘杂交育种研究进展. *华北农学报*, 2011, 26(S2): 52-55
Deng Y M, Ye X Q, She J M, Tang R S. The research progress on distant hybridization of plant breeding. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2011, 26(S2): 52-55
- [86] 吴钰滢,周璇,徐庭亮,常征,易星湾,高华北,赵红霞,王佳,程堂仁,张启翔,潘会堂. 现代月季品种‘赞歌’和粉团蔷薇杂交后代鉴定与评价. *北京林业大学学报*, 2019, 41 (3): 124-133
Wu Y Y, Zhou X, Xu T L, Chang Z, Yi X W, Gao H B, Zhao H X, Wang J, Cheng T R, Zhang Q X, Pan H T. Identification and evaluation of F_1 hybrids between *Rosa* ‘Sanka’ \times *R. multiflora* var. *cathayensis*. *Journal of Beijing Forestry University*, 2019, 41(3): 124-133
- [87] 金亮,包劲松. 植物性状-标记关联分析研究进展. *分子植物育种*, 2009, 7(6): 1048-1063
Jin L, Bao J S. Progress on the trait-marker association analysis in plants. *Molecular Plant Breeding*, 2009, 7(6): 1048-1063
- [88] Dewoody J, Nason J D, Hipkins V D. Mitigating scoring errors in microsatellite data from wild populations. *Molecular Ecology Notes*, 2006, 6(4): 951-957
- [89] 方治伟,李论. SSR分型技术研究进展. *生物化工*, 2018, 4 (1): 118-121
Fang Z W, Li L. Research progress of SSR typing technology. *Biological Chemical Engineering*, 2018, 4(1): 118-121
- [90] Hosseinzadeh-Colagar A, Haghghatnia M J, Amiri Z, Mohadjerani M, Tafrihi M. Microsatellite (SSR) amplification by PCR usually led to polymorphic bands: Evidence which shows replication slippage occurs in extend or nascent DNA strands. *Molecular Biology Research Communications*, 2016, 5 (3): 159-166
- [91] 王玲玲,陈东亮,黄丛林,邢震. SSR分子标记技术在植物研究中的应用. *安徽农业科学*, 2017, 45(36): 123-126, 130
Wang L L, Chen D L, Huang C L, Xing Z. Application of SSR molecular marker technology in plant research. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2017, 45(36): 123-126, 130
- [92] Hodel R G J, Segovia-Salcedo M C, Landis J B, Crowl A, Sun M. The report of my death was an exaggeration: A review for researchers using microsatellites in the 21st century. *Applications in Plant Sciences*, 2016, 4(6): 1600025
- [93] Liu N Y W, Zhang L, Zhou Y L, Wu Z Z, Ma Y P, Wang J H, Zhang C J. The *Rhododendron* Plant Genome Database (RPGD): A comprehensive online omics database for *Rhododendron*. *BMC Genomics*, 2021, 22(1): 376
- [94] 中华人民共和国生态环境部,中国科学院. 中国生物多样性红色名录——高等植物卷(2020). (2023-05-18) [2024-06-20]. https://www.mee.gov.cn/xxgk/xxgk/xxgk01/202305/t20230522_1030745.html
Ministry of Ecology and Environment of the People's Republic of China, Chinese Academy of Sciences. The Red List of China's biodiversity-higher plants volume (2020). (2023-05-18) [2024-06-20]. https://www.mee.gov.cn/xxgk/xxgk/xxgk01/202305/t20230522_1030745.html
- [95] 车代弟,张晓莹,张金柱,杨涛,张微微,熊燕,陈雪,黄泽. 蔷薇属植物数量性状位点定位的研究进展. *园艺学报*, 2016, 43(9): 1765-1775
Che D D, Zhang X Y, Zhang J Z, Yang T, Zhang W W, Xiong Y, Chen X, Huang Z. A review of the quantitative trait loci in *Rosa*. *Chinese Journal of Horticulture*, 2016, 43(9): 1765-1775
- [96] 王凤格,赵久然,田红丽,杨扬,易红梅. 农作物品种DNA指纹库构建研究进展. *分子植物育种*, 2015, 13(9): 2118-2126
Wang F G, Zhao J R, Tian H L, Yang Y, Yi H M. The progress of the crop varieties DNA fingerprint database construction. *Molecular Plant Breeding*, 2015, 13(9): 2118-2126