

# 牡丹矮化品种亲缘关系的 AFLP 分析

侯小改<sup>1,2</sup> 尹伟伦<sup>1</sup> 李嘉珏<sup>3</sup> 王华芳<sup>1</sup>

(1 北京林业大学生物科学与技术学院 2 河南科技大学农学院 3 洛阳大学环境与化学工程学院)

**摘要:**利用荧光标记 AFLP 技术,采用 8 对 M+3 和 P+3 引物组合对 4 个牡丹野生种和 26 个矮化及高大品种间的亲缘关系进行了分析,共获得 1 133 条可统计的条带,其中 948 条呈多态性,多态性带百分率达 84%,揭示了牡丹组植物丰富的遗传多样性。聚类结果表明:在受试的 4 个牡丹野生种中,与栽培牡丹亲缘关系从近到远依次为:杨山牡丹、矮牡丹、紫斑牡丹和卵叶牡丹;矮牡丹和卵叶牡丹有较近的亲缘关系。牡丹品种间的聚类结果表明,部分矮化品种、高大品种分别相聚,而一些矮化与高大品种也相聚。不同相似系数的遗传聚类划分与株高间并没有完全一致的关系,但在其他性状相差不大时,株高相近的品种间亲缘关系相对较近。

**关键词:**牡丹, AFLP, 亲缘关系

**中图分类号:**S685.11 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-1522(2006)05-0073-05

HOU Xiao-gai<sup>1,2</sup>; YIN Wei-lun<sup>1</sup>; LI Jia-jue<sup>3</sup>; WANG Hua-fang<sup>1</sup>. **Phylogenetic relationship of dwarf tree peony cultivars by AFLP analysis.** *Journal of Beijing Forestry University* (2006) **28**(5) 73-77 [Ch, 18 ref.]

1 College of Biological Sciences and Biotechnology, Beijing Forestry University, 100083, P. R. China;

2 College of Agronomy, He'nan University of Science and Technology, Luoyang, 471003, P. R. China;

3 College of Environmental and Chemical Engineering, Luoyang University, 471023, P. R. China.

AFLP technique was used to elucidate the systematic relationships among four Chinese wild species and 26 dwarf and tall types of tree peony cultivars. Eight AFLP primer combinations (M+3 and P+3) were used to produce 1 133 recognizable bands, among which 948 bands were polymorphic. The percentage of polymorphic bands was 84%, suggesting abundant genetic diversity among *Paeonia* sect. *Moutan*. Clustering analysis showed that the systematic relationships among the four wild species and cultivars were in the order of *P. ostii*, *P. qiui*, *P. rockii* and *P. jishanensis* from close to far. Among these species, the closest relationship was observed between *P. jishanensis* and *P. qiui*. The clustering results based on DNA bands among the cultivars showed that some dwarf and tall peony types clustered separately and some of both also clustered each other. Genetic clustering classification of different resemble coefficients was not consisted with that based on the plant height. However, the two clustering results were identical among the cultivars with same plant height and similar phenotypes.

**Key words** tree peony, AFLP, phylogenetic relationship

芍药属(*Paeonia* L.)牡丹组(sect. *Moutan* DC.)植物为中国特有,栽培品种也起源于中国<sup>[1]</sup>,遗传资源十分丰富。我国牡丹在长期的栽培驯化过程中,已形成了具有不同花瓣颜色、花瓣数目、花型、叶型的栽培品种近千个<sup>[2]</sup>。但由于对其遗传背景、亲缘关系缺乏深入系统的研究,育种工作受到很大限制,

宜盆栽、切花等特色品种稀少,制约着牡丹的产业化发展。于玲、裴颜龙、邹喻萍、陈向明、孟丽、Hosoki K、袁涛等曾对牡丹野生种间的蛋白质谱带、牡丹组种内、种间及牡丹品种间的遗传关系等进行了 RAPD 及 AFLP 分析<sup>[3-9]</sup>,赵宣等<sup>[10]</sup>对牡丹组全部 8 个种的 15 份材料进行了 GPAT 基因片段的 PCR-

收稿日期:2005-11-23

<http://journal.bjfu.edu.cn>

**基金项目:**河南省自然科学基金项目(0411030200)、河南省科技攻关项目(0524030004)。

**第一作者:**侯小改,博士生。主要研究方向:植物生物技术。电话:0379-64282340 Email: hxx382@163.com 地址:100083 北京林业大学生物科学与技术学院。

**责任作者:**王华芳,教授,博士生导师。主要研究方向:植物生物技术。电话:010-62338249 Email: hfwang@bjfu.edu.cn 地址:同上。

RFLP 分析,并对其中 9 份材料进行了核苷酸序列分析.但有关牡丹矮化品种与高大品种间亲源关系的分子生物学研究极少报道.

AFLP(Amplified Fragment Length Polymorphism 扩增片段长度多态性)作为一种分子标记方法,因其具有带型丰富、用样量少、灵敏度高、快速高效等特点,已成为植物材料间遗传多样性和分类研究的有效手段<sup>[11-16]</sup>.本研究选择了对中原牡丹形成有影响的 4 个野生种<sup>[7,9,17]</sup>及 26 个矮化与高大牡丹品种<sup>[14]</sup>进行 AFLP 分析,旨在从分子水平上探讨矮化与高大牡丹品种间的亲缘关系,为选育矮生宜盆栽的牡丹品种提供理论依据.

表 1 供试材料的名称、来源及主要生物学特性

TABLE 1 Names, sources and biological characteristics of materials in the experiment			
序号	种/品种	产地	生物学特性
1	紫斑牡丹 <i>P. rockii</i>	湖北保康	二或三回羽状复叶,小叶披针形,全缘,下多少被长柔毛;花白色,单瓣,花瓣基部具紫黑色斑块;株高约 1.5 m
2	杨山牡丹 <i>P. ostii</i>	河南嵩县	二回羽状复叶,小叶狭卵形或卵状披针形,下无毛;花白色,单瓣;株高约 1.5 m
3	矮牡丹 <i>P. jishanensis</i>	山西稷山	二回三出复叶,小叶 9,近圆形或卵圆形,下被长柔毛;花白色,单瓣;株高约 1.2 m
4	卵叶牡丹 <i>P. qiui</i>	湖北保康	二回三出复叶,小叶 9,卵形或卵圆形,上面多紫红色晕,顶生小叶有时 2 浅裂或具齿;花粉或粉红色,单瓣;株高约 0.8 m
5	‘金谷春晴’		皇冠型,粉带蓝色,中花,株型矮,直立
6	‘青山贯雪’		皇冠型,白色,早花,株型矮,半开展
7	‘白玉’		皇冠型,白色,中花,株型矮,半开展
8	‘豆绿’		皇冠型,黄绿色,晚花,株型矮,半开展
9	‘西瓜瓢’		皇冠型,红色,中花,株型矮,半开展
10	‘姚黄’		皇冠型,淡黄色,中花,株型高,直立
11	‘蓝田玉’		皇冠型,粉带蓝色,中晚花,株型矮,半开展
12	‘金玉交章’		皇冠型,乳白色,早花,株型矮,半开展
13	‘斗珠’		皇冠型,粉带蓝紫色,中花,株型矮,直立
14	‘天香湛露’		皇冠型,粉带紫色,中花,株型高,直立
15	‘软枝兰’		皇冠型,粉带蓝色,晚花,株型高,开展
16	‘珊瑚台’		皇冠型,红色,中花,株型矮,半开展
17	‘鸡爪红’		皇冠型,红色,中晚花,株型矮,半开展
18	‘变叶红’		皇冠型,红色,中花,株型矮,半开展
19	‘小胡红’		皇冠型,红色,中晚花,株型矮,半开展
20	‘萍实艳’		皇冠型,深粉色,中花,株型高,半开展
21	‘银粉金鳞’		皇冠型,粉色,晚花,株型矮,开展
22	‘银鳞碧珠’		皇冠型,粉紫色,中花,株型高,直立
23	‘宝蓝冠’		皇冠型,粉带蓝色,中花,株型矮,半开展
24	‘藏枝红’		皇冠型,紫红色,早花,株型矮,半开展
25	‘紫红争艳’		皇冠型,深紫红色,中花,株型高,直立
26	‘首案红’		皇冠型,深紫红色,中晚花,株型高,直立
27	‘绿香球’		绣球型,粉色,晚花,株型高,开展
28	‘雪映朝霞’		绣球型,粉白色,晚花,株型高,开展
29	‘玉楼点翠’		楼子台阁型,白色,晚花,株型高,开展
30	‘盛丹炉’		楼子台阁型,粉带紫色,晚花,株型高,开展

注:牡丹品种全部来自河南洛阳.

# 1 材料与方法

## 1.1 材 料

实验材料包括 4 个牡丹野生种及 26 个牡丹品种,4 个牡丹野生种均为对中原牡丹形成有影响的野生种<sup>[7,9,17]</sup>,26 个栽培品种是根据本课题组采集的 322 个牡丹品种株高数据进行统计分析后,按照王莲英<sup>[14]</sup>制定的标准,对矮生、中高、高大品种进行排序,再结合中国洛阳国家牡丹基因库现有牡丹品种的情况,确定的试验用牡丹品种.供试材料的名称及主要生物学特征见表 1.

## 1.2 方 法

### 1.2.1 总 DNA 制备

采用改进的 CTAB 法<sup>[15]</sup>从硅胶干燥好的幼叶中提取总 DNA.

### 1.2.2 AFLP 实验

利用北京鼎国生物技术公司的试剂盒及其实验指南进行.

1)各样品基因组 DNA 的酶切和接头的连接在同一反应中进行,反应体系为 20  $\mu\text{L}$ .其中 DNA 模板 (50  $\text{ng}/\mu\text{L}$ )4  $\mu\text{L}$ ,Pst I 和 Mse I 接头共 1  $\mu\text{L}$ ,Pst I (4 U/ $\mu\text{L}$ )和 Mse I (4 U/ $\mu\text{L}$ )共 2  $\mu\text{L}$ ,10  $\times$  buffer 2.5  $\mu\text{L}$ ,ATP(10  $\text{mmol}/\text{L}$ )2.5  $\mu\text{L}$ ,T4 Ligase (3 U/ $\mu\text{L}$ )1  $\mu\text{L}$ ,超纯水 7  $\mu\text{L}$ .将上述混合液混匀离心数秒,依次 37 $^{\circ}\text{C}$  保温 5 h,8 $^{\circ}\text{C}$  保温 4 h,4 $^{\circ}\text{C}$  过夜.

2)预扩增反应.用预扩增引物组合进行预扩增,反应体系为 25  $\mu\text{L}$ .其中酶切连接产物 2  $\mu\text{L}$ ,Pst I 和 Mse I 预扩增引物 1  $\mu\text{L}$ ,dNTPs 1  $\mu\text{L}$ ,10 $\times$  PCR buffer 2.5  $\mu\text{L}$ ,TaqDNA 聚合酶(2 U/ $\mu\text{L}$ )0.5  $\mu\text{L}$ ,超纯水 18  $\mu\text{L}$ .预扩增反应程序为:94 $^{\circ}\text{C}$  30 s,56 $^{\circ}\text{C}$  30 s,72 $^{\circ}\text{C}$  80 s,循环 30 次.预扩增产物稀释 20 倍,-20 $^{\circ}\text{C}$  保存备用.

3)选择性扩增反应.用荧光标记的经过筛选的 8 对引物进行选择性扩增.其中 MseI 引物的 5'端用荧光染料进行标记,反应体系为 25  $\mu\text{L}$ .其中预扩增产物稀释后的 DNA 样品 2  $\mu\text{L}$ ,10  $\times$  PCR buffer 2.5  $\mu\text{L}$ ,dNTPs 0.5  $\mu\text{L}$ ,Pst I 引物 (5  $\text{ng}/\mu\text{L}$ )1  $\mu\text{L}$ ,Mse I 引物 (30  $\text{ng}/\mu\text{L}$ )1  $\mu\text{L}$ ,Taq 酶(2 U/ $\mu\text{L}$ ) 0.5  $\mu\text{L}$ ,超纯水 17.5  $\mu\text{L}$ .选择性扩增 PCR 扩增程序为:94 $^{\circ}\text{C}$  30 s,65 $^{\circ}\text{C}$  (以后每轮循环温度递减 0.7 $^{\circ}\text{C}$ )30 s,72 $^{\circ}\text{C}$  80 s,扩增 12 轮;然后 94 $^{\circ}\text{C}$  30 s,55 $^{\circ}\text{C}$  30 s,72 $^{\circ}\text{C}$  80 s,再进行 23 个循环.

4)电泳与数据处理.取选择扩增后的样品在 ABI 377 自动测序仪上电泳分离检测,得到 AFLP 的

DNA 指纹图谱.利用 GeneScan3.1 软件将 30 个个体 8 对荧光引物产生的电泳胶图转换为[0,1]矩阵.用 NTSYS 2.11 版软件中的 DICE 法计算样品间的相似系数,并用 SAHNClustering 进行不加权重对算术平均法(UPGMA)聚类分析.

2 结果与分析

2.1 不同引物组合扩增结果的多态性分析

采用筛选出的 8 对 AFLP 引物对 4 个牡丹野生种和 26 个牡丹栽培品种的基因组 DNA 进行片段长度多态性扩增,结果表明,牡丹具有较高的 AFLP 多态性(表 2,图 1),共扩增出可统计的谱带 1 133 条 (50~500 bp),其中 948 条具有多态性,占 84%,平均每对引物扩增 142 条带,其中 119 条具有多态性,充分体现了该组植物的遗传多样性.

2.2 聚类分析

聚类分析结果见图 2.在相似系数 0.62 处,可将 30 份牡丹材料分成两组,紫斑牡丹、卵叶牡丹及矮牡丹 3 个野生种聚在一起,杨山牡丹与所有牡丹品种聚在一起.在相似系数 0.65 处,紫斑牡丹被独立出来,卵叶牡丹和矮牡丹聚在一起,杨山牡丹与‘豆绿’、‘变叶红’、‘小胡红’、‘玉楼点翠’聚在一起,其他栽培品种聚在一起.这说明供试的 4 个野生种中卵叶牡丹和矮牡丹可能有较近的亲缘关系 (二者相似系数为 0.679 7,大于其他野生种间的相似系数),杨山牡丹与栽培品种间亲缘关系较近.在相似系数

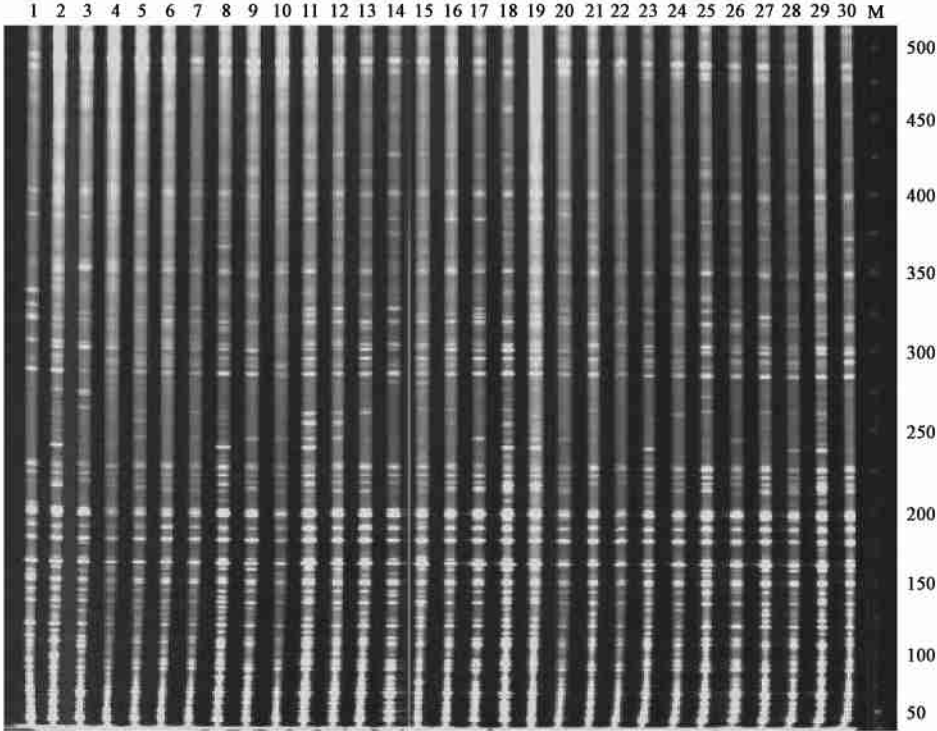


图 1 利用 P-GAC/M-CTT 引物组合对牡丹的 AFLP 扩增图谱

FIGURE 1 AFLP fingerprinting patterns of tree peony using the primer combination of P-GAC/M-CTT

0.72 处,矮化品种‘蓝田玉’与‘宝蓝冠’、‘斗珠’和‘银粉金鳞’分别相聚在一起;高大品种‘天香湛露’与‘紫红争艳’相聚,矮化品种‘藏枝红’与‘鸡爪红’相聚,高大品种‘银磷碧珠’与矮化品种‘金玉交章’相聚,高大品种‘萍实艳’与矮化品种‘白玉’也相聚.这说明依据相似系数划分的遗传聚类组与株高间可能有一定的关系,但并没有完全一致的关系.

表 2 8 对 AFLP 选择性扩增引物产生的条带多态性

TABLE 2 Polymorphism of AFLP bands obtained by selective amplification based on the eight primer pairs

序号	引物组合	总带 数/条	多态性带 数/条	多态性带 百分率/%
1	P-GAA/M-CTG	163	137	84
2	P-GAC/M-CAA	144	118	82
3	P-GAC/M-CAC	113	93	82
4	P-GAC/M-CIT	154	134	87
5	P-GTG/M-CAT	124	113	91
6	P-GTT/M-CAT	132	100	76
7	P-GTT/M-CTA	138	113	82
8	P-GTT/M-CTG	165	140	85
合计		1 133	948	
平均		142	119	84

结合相似系数可知,4 个野生种与栽培品种的亲缘关系由近到远可排列为杨山牡丹(0.637 9)、矮牡丹(0.627 7)、紫斑牡丹(0.617 1)和卵叶牡丹(0.605 6),但最大与最小的相似系数差别甚小.

此外,图 2 还显示,部分花色、花型相同、株高相近(高大型和矮化型)的品种聚在一起,如:‘变叶红’和‘小胡红’;‘斗珠’和‘银粉金鳞’.也有花色、花型相同、株高相近的品种先相聚,然后再与株高等性状不同的品种相聚.如:‘蓝田玉’和‘宝蓝冠’两个矮化品种先聚在一起,然后再与高大品种‘雪映朝霞’相聚.在花型相同,但花色、株高不同的品种中,也有株高类型相同的品种先聚在一起,而后再与株高不同的品种相聚.如:高大品种‘天香湛露’与‘紫红争艳’先相聚,后与矮化品种‘珊瑚台’相聚.这种差异是否由于植株高度的差异而引起,还有待于进一步研究.但说明在其他性状相差不大时,植株高度相近的品种间可能有较近的亲缘关系,但也有出现交叉的现象.这种现象可能是由于牡丹栽培品种起源的复杂性及多样性引起,表明相同株高类型的不同品种间可能有不同的起源.

### 3 结论与讨论

野生牡丹与栽培牡丹的关系,是近年来颇受关注的热点,李嘉珏在提出中国栽培牡丹多元起源的观点后,又根据中原品种群的主要形态特征、分布区域及主要起源地野生牡丹分布,推断对该品种群影

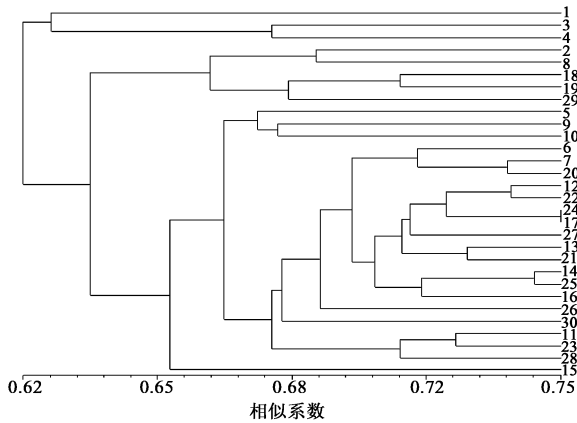


图 2 依据 AFLP 标记的牡丹种质聚类图  
FIGURE 2 Dendrogram of cluster analysis for tree peony based on AFLP markers

响较大的野生种依次为矮牡丹、紫斑牡丹、杨山牡丹等,卵叶牡丹影响相对较小<sup>[16-17]</sup>,本次研究结果与上述推断基本相符,仅杨山牡丹排序靠前,其余依次为矮牡丹、紫斑牡丹及卵叶牡丹,但它们之间的遗传距离相差不大.然而这一结果与孟丽等<sup>[7]</sup>的相关研究所得结论有较大出入.他们研究的 5 个野生种中,除杨山牡丹外,其余种与中原牡丹品种的亲缘关系由近到远依次为四川牡丹、卵叶牡丹、紫斑牡丹和矮牡丹,排序截然相反.可见这个问题还有待于进一步探讨.应当提到,四川牡丹仅分布于四川西北部,在各地多年品种调查中,未能发现与该种形态、生态习性相近的植株或品种<sup>[17]</sup>.

在卵叶牡丹与矮牡丹的种间关系上,赵宣等<sup>[10]</sup>、袁涛等<sup>[18]</sup>支持它们有较近的亲缘关系;但 RAPD 的证据并不支持这一观点<sup>[5]</sup>.本研究与前者的研究结果相一致.

从聚类结果看,部分矮化品种、高大品种分别相聚,而一些矮化与高大品种也相聚.依据相似系数划分的遗传聚类组与植株高度间有一定的关系,主要是在其他性状相差不大时,株高相近的品种间亲缘关系相对较近.但不同相似系数的遗传聚类划分与植株高度间并没有完全一致的关系.此与陈向明等<sup>[6]</sup>对不同花色牡丹品种亲缘关系的 RAPD-PCR 分析及 Hosoki T 等<sup>[8]</sup>对日本 19 个牡丹品种间亲缘关系进行的 RAPD 分析结果有相似之处,陈向明认为来源相同、花色相同的品种间亲缘关系相对较近,但多数遗传组的划分与花色系列间并没有一致的关系.Hosoki T 等认为遗传聚类组的划分与花色并不完全一致.但是,这种结果仍给我们选育宜盆栽的矮化牡丹品种提供了借鉴.一方面可以通过其他性状相近的矮化牡丹品种进行杂交;同时对那些可能因基因突变而形成的矮化品种,也可通过基因操作来选择矮化牡丹新品种.

参 考 文 献

[ 1 ] 洪德元,潘开玉. 芍药属牡丹组的分类历史和分类处理[J]. 植物分类学报, 1999, 37(4): 351-368.  
HONG D Y, PAN K Y. Taxonomical history and revision of *Paeonia* sect. *Moutan* (Paeoniaceae) [J]. *Acta Phytotaxonomica Sinica*, 1999, 37(4): 351-368.

[ 2 ] 周志钦,潘开玉,洪德元. 牡丹组野生种间亲缘关系和栽培牡丹起源研究进展[J]. 园艺学报, 2003, 30(6): 751-757.  
ZHOU Z Q, PAN K Y, HONG D Y. Advances in studies on relationships among wild tree peony species and the origin of cultivated tree peonies[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2003, 30(6): 751-757.

[ 3 ] 于玲,何丽霞,李嘉珏,等. 牡丹野生种间蛋白质谱带的比较研究[J]. 园艺学报, 1998, 25(1): 99-101.  
YU L, HE L X, LI J J, *et al.* Comparative studies on protein zones of wild tree peony species[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 1998, 25(1): 99-101.

[ 4 ] 裴颜龙,邹喻苹,尹秦,等. 矮牡丹与紫斑牡丹 RAPD 分析初报[J]. 植物分类学报, 1995, 33(4): 350-356.  
PEI Y L, ZOU Y P, YIN Q, *et al.* Preliminary report of RAPD analysis in *Paeonia suffruticosa* subsp. *spontanea* and *Paeonia rockii* [J]. *Acta Phytotaxonomica Sinica*, 1995, 33(4): 350-356.

[ 5 ] 邹喻苹,蔡美琳,王子平. 芍药属牡丹组的系统学研究——基于 RAPD 分析[J]. 植物分类学报, 1999, 37(3): 220-227.  
ZOU Y P, CAI M L, WANG Z P. Systematic studies on *Paeonia* sect. *Moutan* DC. based on RAPD analysis [J]. *Acta Phytotaxonomica Sinica*, 1999, 37(3): 220-227.

[ 6 ] 陈向明,郑国生,孟丽. 不同花色牡丹品种亲缘关系的 RAPD-PCR 分析[J]. 中国农业科学, 2002, 35(5): 546-551.  
CHEN X M, ZHENG G S, MENG L. RAPD-PCR analysis of genetic diversity of different colour 35 tree peony cultivars [J]. *Science Agriculture Sinica*, 2002, 35(5): 546-551.

[ 7 ] 孟丽,郑国生. 部分野生与栽培牡丹种植资源亲缘关系的 RAPD 研究[J]. 林业科学, 2004, 40(5): 111-115.  
MENG L, ZHENG G S. Phylogenetic relationship analysis among Chinese wild species and cultivars of *Paeonia* sect. *Moutan* using RAPD markers[J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 2004, 40(5): 111-115.

[ 8 ] HOSOKI T, KIMURA D, HASEGAWA R, *et al.* Comparative study of Chinese tree peony cultivars by random amplified polymorphic DNA (RAPD) ananysis [J]. *Scientia Horticulturae*, 1997, 70(1): 67-72.

[ 9 ] 袁涛. 中国牡丹部分种与品种(群)亲缘关系的研究[D]. 北京:北京林业大学, 1998.

YUAN T. Studies on the genetic diversity of Chinese tree peony species and varieties [D]. Beijing: Beijing Forestry University, 1998.

[10] 赵宣,周志钦,林启冰,等. 芍药属牡丹组 (*Paeonia* sect. *Moutan*) 种间关系的分子证据: GPAT 基因的 PCR-RFLP 和序列分析[J]. 植物分类学报, 2004, 42(3): 236-244.  
ZHAO X, ZHOU Z Q, LIN Q B, *et al.* Molecular evidence for the interspecific relationship in *Paeonia* sect. *Moutan*: PCR-RFLP and sequence analysis of glycerol-3-phosphate acyltransferase (GPAT) gene[J]. *Acta Phytotaxonomica Sinica*, 2004, 42(3): 236-244.

[11] AGGARWAL K K, BRAR D S, NANDI S, *et al.* Phylogenetic relationship among *Oryza* species revealed by AFLP markers [J]. *Theor Appl Genet*, 1999, 98: 1 320-1 328.

[12] TOMKINS J P, WOOD T C, BARNES L S, *et al.* Evaluation of genetic variation in the daylily ( *Hemerocallis* spp.) using AFLP markers[J]. *Theor Appl Genet*, 2001, 102: 489-496.

[13] KOOPMAN W J M, ZEVENBERGEN M J, VAN DEN BERG R G. Species relationships in *Lactuca* S. L. (Lactuceae, Asteraceae) inferred from AFLP fingerprints [J]. *American Journal of Botany*, 2001, 88(10): 1 881-1 887.

[14] 王莲英. 中国牡丹品种图志[M]. 北京:中国林业出版社, 1997: 40.  
WANG L Y. *Pictorial record of Chinese tree peony varieties* [M]. Beijing: China Forestry Publishing House, 1997: 40.

[15] 邹喻苹,葛颂. 系统与进化植物学中的分子标记[M]. 北京:科学出版社, 2001: 16-17.  
ZOU Y P, GE S. *Molecular markers of plant systematics and evolution* [M]. Beijing: Science Press, 2001: 16-17.

[16] 李嘉珏. 中国牡丹起源的研究[J]. 北京林业大学学报, 1998, 20(2): 22-26.  
LI J J. Studies on the origin of Chinese mudan (tree peony) [J]. *Journal of Beijing Forestry University*, 1998, 20(2): 22-26.

[17] 李嘉珏. 中国牡丹品种图志(西北·西南·江南卷)[M]. 北京:中国林业出版社, 2006.  
LI J J. *Pictorial record of Chinese tree peony varieties (Volume Xibei · Xi'nan · Jiangnan)* [M]. Beijing: China Forestry Publishing House, 2006.

[18] 袁涛,王莲英. 几个牡丹野生种的花粉形态及其演化、分类的探讨[J]. 北京林业大学学报, 1999, 21(1): 17-21.  
YUAN T, WANG L Y. Pollen morphology of several tree peony wild species and discussion on its evolution and taxonomy [J]. *Journal of Beijing Forestry University*, 1999, 21(1): 17-21.

(责任编辑 赵 勃)