

基于 ISSR 标记分析浙江省樱花种质资源的遗传多样性

蒋冬月^{1,2}, 沈鑫¹, 吴帆¹, 李因刚¹, 石从广¹, 杨少宗¹, 柳新红¹

(1. 浙江省林业科学研究院, 浙江 杭州 310023; 2. 中国科学院 植物研究所, 北京 100093)

摘要: 为探究浙江省樱花种质资源的亲缘关系和遗传多样性, 运用 ISSR 分子标记从 100 条引物中筛选出 17 条多态性好的引物对 95 份樱花种质资源进行分析。结果表明, 17 条引物共扩增出 110 条清晰条带, 其中 101 条具有多态性, 平均多态性条带比率为 91.78%。95 份资源间的遗传相似系数为 0.38~0.90, 平均 0.61; 遗传距离为 0.10~1.38, 平均 0.50。根据 UPGMA 聚类分析, 在遗传相似系数为 0.5775 时, 95 份种质资源可分为四大类, 分别包含了 23 份、42 份、25 份和 5 份材料。研究结果表明浙江省樱花种质资源具有较为丰富的遗传多样性。

关键词: 樱花; 种质资源; ISSR; 遗传多样性; 浙江

中图分类号: S685.99 文献标识码: A 文章编号: 1001-3776(2018)04-0001-07

Genetic Diversities of *Cerasus* spp. from Zhejiang Province Based on ISSR Markers

JIANG Dong-yue^{1,2}, SHEN Xin¹, WU Fan¹, LI Yin-gang¹, SHI Cong-guang¹, YANG Shao-zong¹, LIU Xin-hong¹

(1. Zhejiang Academy of Forestry, Hangzhou 310023, China; 2. Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093, China)

Abstract: Collections of 95 germplasm resources of *Cerasus* spp. were carried out in May and June of 2016 from 14 counties of Zhejiang province. Experiments were implemented for their genetic diversities using 17 ISSR (inter simple sequence repeat) markers from 100 ones. The results showed that 110 bands were amplified by 17 primers, in which 101 bands were polymorphic with average percentage of ISSR polymorphism of 91.78%. The genetic similarity coefficients of tested resources ranged from 0.38 to 0.90, with an average of 0.61. The genetic distances ranged from 0.10 to 1.38, with an average of 0.5. UPGMA (unweighted pair-group method with arithmetic means) analysis demonstrated that 95 germplasm resources could be divided into four categories when genetic similarity coefficient was 0.5775. The results indicated that there were rich genetic diversities in *Cerasus* spp. from Zhejiang.

Key words: *Cerasus* spp.; germplasm resources; ISSR; genetic diversity

樱花是蔷薇科 Rosaceae 李亚科 Prunoideae 樱属 *Cerasus* 典型樱亚属植物 Subg. *Cerasus* 的泛称。全世界约 150 种, 分布于亚洲、欧洲、北美洲等北半球温和地带, 我国有 38 个种, 8 个变种; 其中, 浙江省有 10 个种, 包括浙闽樱桃 *C. schneideriana*, 迎春樱桃 *C. discoidea*, 尾叶樱桃 *C. dielsiana*, 大叶早樱 *C. subhirtella*, 山樱花 *C. serrulata*, 华中樱桃 *C. conradinae* 等^[1-3]。樱花是浙江省早春开花植物之一, 种质资源丰富, 分布范围广, 形态变异大, 花色丰富。花色有白色、粉色、玫红色、黄绿色及各种渐变色和交叉色, 花期一般在 2-5 月, 少数 11 月至翌年 1 月; 果色多为红色、紫红色、深红色至黑色, 果期为 4-6 月, 少数 10 月^[4]。樱花既有高大挺拔

收稿日期: 2017-10-29; 修回日期: 2018-03-26

基金项目: 浙江省樱亚属遗传多样性研究(2017F30017); 国产樱花新品系无性快繁技术体系研发(2016F50024); 浙江省十三五林木新品种选育项目(2016C02056-12)

作者简介: 蒋冬月, 助理研究员, 从事园林植物应用研究; E-mail: jdyzjforestry@163.com。通信作者: 柳新红, 研究员, 从事林木育种研究; E-mail: sliuxh@163.com。

的乔木, 又有低矮稠密的灌木, 其花朵数量多, 独树成景, 成片种植时花海极为震撼。由于樱花种质资源分布广泛, 变异丰富, 种间或种内的自然杂交频频发生, 这给野生樱花的分类鉴定工作带来了很大的困难; 且樱花在各地同名异物或同物异名的现象时有发生, 因此, 仅仅依靠形态特征的鉴定已不能满足樱花资源的分类和选育。分子标记作为一种以核酸多态性为基础的遗传标记, 因其不受组织类别、发育时期、环境条件等干扰, 具有数量极多、多态性高等优点, 被证实是评价种属间亲缘关系和遗传多样性的理想标记^[5-7]。ISSR (Inter-simple Sequence Repeat) 是建立在 SSR (Simple Sequence Repeat) 基础上的一种新型的分子标记技术, 具有操作简单、成本低、多态性高和重复性好等优点^[8], 已广泛应用于香茅属 *Cymbopogon*^[9], 鸢尾属 *Iris*^[10], 风信子 *Hyacinth orientalis*^[11], 桃 *Prunus persica*^[12] 等植物的遗传多样性和亲缘关系研究。本研究以浙江省野生樱花资源为试验材料, 利用 ISSR 标记从分子水平研究野生资源的亲缘关系和遗传多样性, 为野生樱花资源的分类、保护和利用提供参考。

1 材料与方 法

1.1 材 料

2016 年 5-6 月, 从浙江省的 14 个县(区、市)共采集到 95 份樱花野生资源(表 1), 隶属 6 种 2 变种, 包括迎春樱桃, 浙闽樱桃, 大叶早樱, 山樱花, 毛叶山樱花 *C. serrulata* var. *pubescens*, 华中樱桃, 毛萼华中樱 *C. conradinae* var. *trichocalyx* 和尾叶樱桃。每份资源均采集新鲜、无病害的幼嫩叶片作为提取基因组 DNA 的供试材料, 放置于装有硅胶的自封袋中密封保存至完全干燥。

表 1 樱花种质资源及采集地点
Table 1 Location of collection of *Cerasus* spp.

编号	材料	采集地	编号	材料	采集地	编号	材料	采集地
YZ01	华中樱	温州市文成县	YZ33	大叶早樱	金华市磐安县	YZ65	尾叶樱	台州市三门县
YZ02	华中樱	温州市永嘉县	YZ34	大叶早樱	宁波市鄞州区	YZ66	尾叶樱	宁波市鄞州区
YZ03	华中樱	温州市文成县	YZ35	大叶早樱	金华市磐安县	YZ67	尾叶樱	杭州市临安区
YZ04	华中樱	温州市永嘉县	YZ36	迎春樱	杭州市西湖区	YZ68	尾叶樱	杭州市淳安县
YZ05	华中樱	温州市文成县	YZ37	迎春樱	丽水市莲都区	YZ69	尾叶樱	杭州市淳安县
YZ06	华中樱	丽水市莲都区	YZ38	迎春樱	杭州市淳安县	YZ70	尾叶樱	杭州市淳安县
YZ07	华中樱	丽水市莲都区	YZ39	迎春樱	杭州市西湖区	YZ71	尾叶樱	杭州市临安区
YZ08	华中樱	温州市文成县	YZ40	迎春樱	丽水市庆元县	YZ72	尾叶樱	丽水市景宁县
YZ09	华中樱	温州市文成县	YZ41	迎春樱	丽水市莲都区	YZ73	尾叶樱	杭州市临安区
YZ10	毛萼华中樱	丽水市庆元县	YZ42	迎春樱	杭州市西湖区	YZ74	尾叶樱	宁波市鄞州区
YZ11	华中樱	温州市文成县	YZ43	迎春樱	丽水市莲都区	YZ75	尾叶樱	温州市文成县
YZ12	华中樱	丽水市景宁县	YZ44	迎春樱	杭州市建德市	YZ76	尾叶樱	宁波市鄞州区
YZ13	华中樱	温州市永嘉县	YZ45	迎春樱	丽水市庆元县	YZ77	毛叶山樱花	杭州市临安区
YZ14	华中樱	温州市文成县	YZ46	迎春樱	丽水市庆元县	YZ78	山樱花	杭州市临安区
YZ15	华中樱	温州市永嘉县	YZ47	迎春樱	杭州市临安区	YZ79	山樱花	杭州市临安区
YZ16	华中樱	温州市文成县	YZ48	迎春樱	丽水市庆元县	YZ80	毛叶山樱花	杭州市临安区
YZ17	华中樱	丽水市景宁县	YZ49	迎春樱	杭州市临安区	YZ81	毛叶山樱花	杭州市临安区
YZ18	毛萼华中樱	温州市文成县	YZ50	迎春樱	丽水市莲都区	YZ82	浙闽樱	宁波市鄞州区
YZ19	华中樱	金华市磐安县	YZ51	迎春樱	丽水市庆元县	YZ83	山樱花	杭州市临安区
YZ20	华中樱	温州市永嘉县	YZ52	迎春樱	杭州市西湖区	YZ84	毛叶山樱花	杭州市临安区
YZ21	华中樱	金华市磐安县	YZ53	迎春樱	丽水市莲都区	YZ85	浙闽樱	宁波市鄞州区
YZ22	华中樱	温州市乐清市	YZ54	迎春樱	杭州市西湖区	YZ86	毛叶山樱花	宁波市鄞州区
YZ23	华中樱	金华市磐安县	YZ55	尾叶樱	金华市磐安县	YZ87	毛叶山樱花	杭州市临安区
YZ24	华中樱	温州市文成县	YZ56	尾叶樱	杭州市临安区	YZ88	毛叶山樱花	杭州市临安区
YZ25	华中樱	温州市乐清市	YZ57	尾叶樱	宁波市鄞州区	YZ89	山樱花	杭州市临安区
YZ26	华中樱	金华市磐安县	YZ58	尾叶樱	台州市三门县	YZ90	毛叶山樱花	杭州市临安区
YZ27	华中樱	丽水市景宁县	YZ59	尾叶樱	台州市三门县	YZ91	毛叶山樱花	宁波市鄞州区
YZ28	华中樱	温州市乐清市	YZ60	尾叶樱	宁波市鄞州区	YZ92	山樱花	宁波市鄞州区
YZ29	大叶早樱	宁波市鄞州区	YZ61	尾叶樱	金华市磐安县	YZ93	山樱花	杭州市临安区
YZ30	大叶早樱	宁波市鄞州区	YZ62	尾叶樱	金华市磐安县	YZ94	毛叶山樱花	杭州市临安区
YZ31	大叶早樱	台州市天台县	YZ63	尾叶樱	台州市三门县	YZ95	毛叶山樱花	温州市文成县
YZ32	大叶早樱	宁波市鄞州区	YZ64	尾叶樱	台州市三门县			

1.2 试验方法

1.2.1 DNA 提取 利用植物基因组 DNA 提取试剂盒 (DP3112, Biotek, 北京) 提取 95 份供试材料的基因组 DNA, 提取前利用预冷的缓冲液^[13] (0.25 M NaCl, 0.2 M Tris-HCl pH 8.0, 50 mM EDTA, 2% PVP, 1% 巯基乙醇) 对样品进行预处理, 以去除大量的多糖、色素等杂质。利用 1% 的琼脂糖凝胶电泳法检测 DNA 质量, 用 Nanodrop 超微量分光光度计 (NanoDrop 2 000, Thermo Scientific) 测定 DNA 浓度, 并将其稀释到 $50 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ 。

1.2.2 ISSR-PCR 反应 经过预实验确定 PCR 优化体系为 20 μL 反应液, 包括 $2 \times \text{Taq PCR Master Mix}$ (TSINGKE, 北京) 10 μL , $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ISSR-primer 0.6 μL , 模板 DNA 1.0 μL , ddH₂O 8.4 μL 。PCR 扩增程序为 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min; 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s, 47.10~59.50 $^{\circ}\text{C}$ 复性 30 s (见表 2), 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 90 s, 共 35 个循环; 最后 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 7 min, 于 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。PCR 扩增产物在 1.5% 琼脂糖凝胶中 150 V 电泳 30 min, 然后置于自动凝胶成像系统 (ChemiDoc XRS+, Bio-Rad) 中拍照、记录。ISSR 引物来源于美国哥伦比亚大学 (UBC) 公布的 ISSR 通用引物, 由生工生物工程 (上海) 股份有限公司合成。

1.3 数据处理

采用人工计数法对电泳结果进行统计, 同一引物扩增出的相同条带记为 1, 无相同条带记为 0, 构建 0, 1 数据矩阵^[14]。根据 0, 1 数据矩阵, 利用 Ntsys 2.1 软件计算各样品间的遗传相似系数 (Coefficient), 并采用 UPGMA 法进行聚类^[15]。

2 结果与分析

2.1 ISSR 标记多态性分析

从 100 条 ISSR 通用引物中共筛选出 17 条扩增条带清晰、稳定、重复性好的多态性引物, 见表 2、图 1。利用这 17 条 ISSR 引物分别对 95 份樱花材料的基因组 DNA 进行扩增, 共获得 110 条清晰的条带, 长度介于 250~1 200 bp 之间, 其中多态性条带为 101 条。不同 ISSR 引物扩增的多态性条带数介于 4~8 条, 平均每个引物扩增 5.94 条多态性条带, 平均多态性条带比率为 91.78%。这些均表明 17 条 ISSR 引物对野生樱花基因组 DNA 扩增的多态性较高, 说明分布于浙江省的樱花种质资源具有丰富的遗传多样性。

表 2 ISSR 引物退火温度及扩增结果
Table 2 Annealing temperature and amplification results of ISSR markers

引物名称	引物序列	退火温度/ $^{\circ}\text{C}$	多态性条带/条	条带总数/条	多态性比率/%
UBC811	(GA) ₈ C	52.2	7	7	100.00
UBC813	(CT) ₈ T	49.8	7	7	100.00
UBC814	(CT) ₈ A	49.8	6	6	100.00
UBC815	(CT) ₈ G	52.9	5	6	83.33
UBC816	(CA) ₈ T	47.1	6	6	100.00
UBC827	(AC) ₈ G	52.2	5	6	83.33
UBC834	(AG) ₈ YT	50.3	5	5	100.00
UBC836	(AG) ₈ YA	50.3	6	6	100.00
UBC841	(GA) ₈ YC	52.6	5	5	100.00
UBC842	(GA) ₈ YG	52.6	8	9	88.89
UBC848	(CA) ₈ RG	52.6	7	7	100.00
UBC853	(TC) ₈ RT	50.3	7	7	100.00
UBC855	(AC) ₈ YT	50.3	5	6	83.33
UBC857	(AC) ₈ YG	52.6	4	6	66.67
UBC866	(CTC) ₆	59.5	5	6	83.33
UBC873	(GACA) ₄	49.2	8	8	100.00
UBC880	(GGAGA) ₃	51.2	5	7	71.43
总计			101	110	
均值			5.94	6.47	91.78

注: Y=(C,T); R=(A,G)。

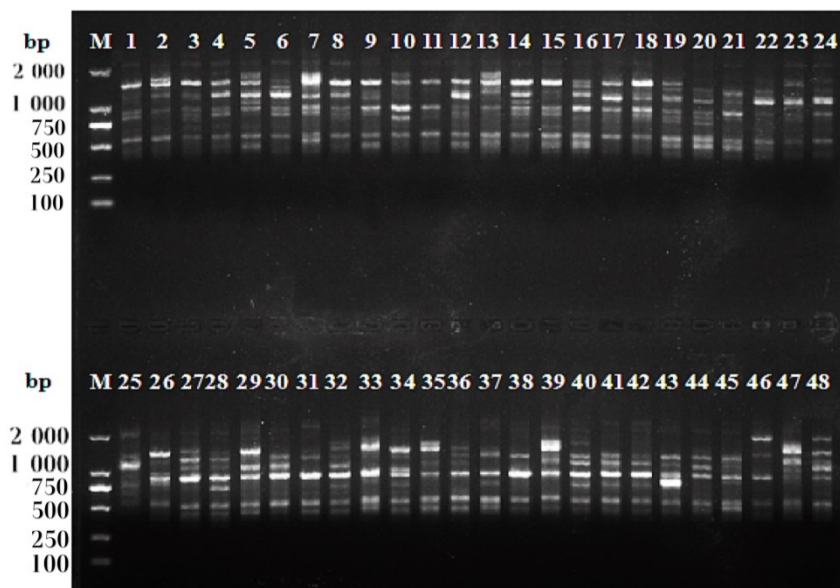


图 1 UBC813 引物对部分樱花基因组 DNA 的扩增图谱

Figure 1 Gel diagram of genomic DNA of *Cerasus* spp. amplified with primer UBC813

2.2 樱花种质资源遗传多样性和聚类分析

95 份野生樱花资源的遗传相似系数范围为 0.38 ~ 0.90, 平均 0.61; 根据遗传相似系数对 95 份樱花种质资源进行聚类分析, 在遗传相似系数为 0.577 5 时, 95 份野生樱花分为四大类 (图 2)。A 类群共 23 份材料, 均为华中樱桃, 其中 2 个毛萼华中樱桃在一起; 包括 3 份资源来自金华市, 4 份资源来自丽水市, 16 份来自温州市。

B 类群共 42 份材料, 当遗传相似系数为 0.595 时, 将 B 类群又分为 3 小类。B1 类群有 1 份材料来自丽水景宁县的华中樱桃。B2 类群有 24 份材料, 其中 6 份迎春樱聚为一类, 18 份尾叶樱桃聚为一类。B3 类群有 17 份材料, 包括 12 份迎春樱, 3 份华中樱桃, 2 份大叶早樱。

C 类群共 25 份材料, 当遗传相似系数为 0.609 时, 将 C 类群又分为 2 小类。C1 类群 17 份材料, 主要为山樱花类, 包括 9 份毛叶山樱花, 6 份山樱花, 1 份迎春樱, 1 份华中樱桃, 其中山樱花和毛叶山樱花聚为 1 类。C2 类群有 8 份材料, 包括 4 份尾叶樱桃, 2 份毛叶山樱花和 2 份浙闽樱桃。

D 类群共 5 份材料, 均为大叶早樱, 其中 3 份来自宁波市, 1 份来自台州市, 1 份来自金华市。

3 结论与讨论

分子标记技术是继形态标记、细胞标记以及生化标记之后发展起来的直接反应遗传多样性的一种遗传标记, 可以高效、稳定、准确地鉴定植物材料, 评价种属间亲缘关系和遗传多样性, 已在牡丹 *Paeonia suffruticosa*^[16], 月季花 *Rosa chinensis*^[17], 风信子 *Hyacinth orientalis*^[11], 杜鹃 *Rhododendron* spp.^[18] 等花卉中广泛应用。在樱花种质资源的研究上, Badenes 等^[19]、曹东伟等^[20]利用 RFLP 标记得出不同樱桃的亲缘关系; Gerlach 等^[21]、周春玲等^[22]、Hormaza^[23]成功利用 RAPD 技术对樱花进行亲缘关系鉴定和品种分类; Antonius 等^[24]、Kato 等^[25]、商韬等^[26]通过 SSR 标记研究樱花资源的遗传多样性。本研究中所用引物平均多态性条带比率为 91.78%, 说明这 17 条 ISSR 引物能够较好的将 95 份供试材料分开, 表现出较高的鉴别效率。这与下列研究结果一致, 宋常美等^[27]利用 21 条 ISSR 引物对 64 份中国樱桃资源多样性进行分析, 得到引物的多态性比例为 87.28%; 艾呈祥等^[28]对 34 份樱桃资源进行 ISSR 分析, 得到多态性比率为 95.97%; Shahi 等^[29]通过 ISSR 对伊朗的野生樱花资源多样性研究, 得出其多态性比率均大于 81.80%; 这些研究均证明 ISSR 标记可以将樱花种质资源区分开, 可作为资源

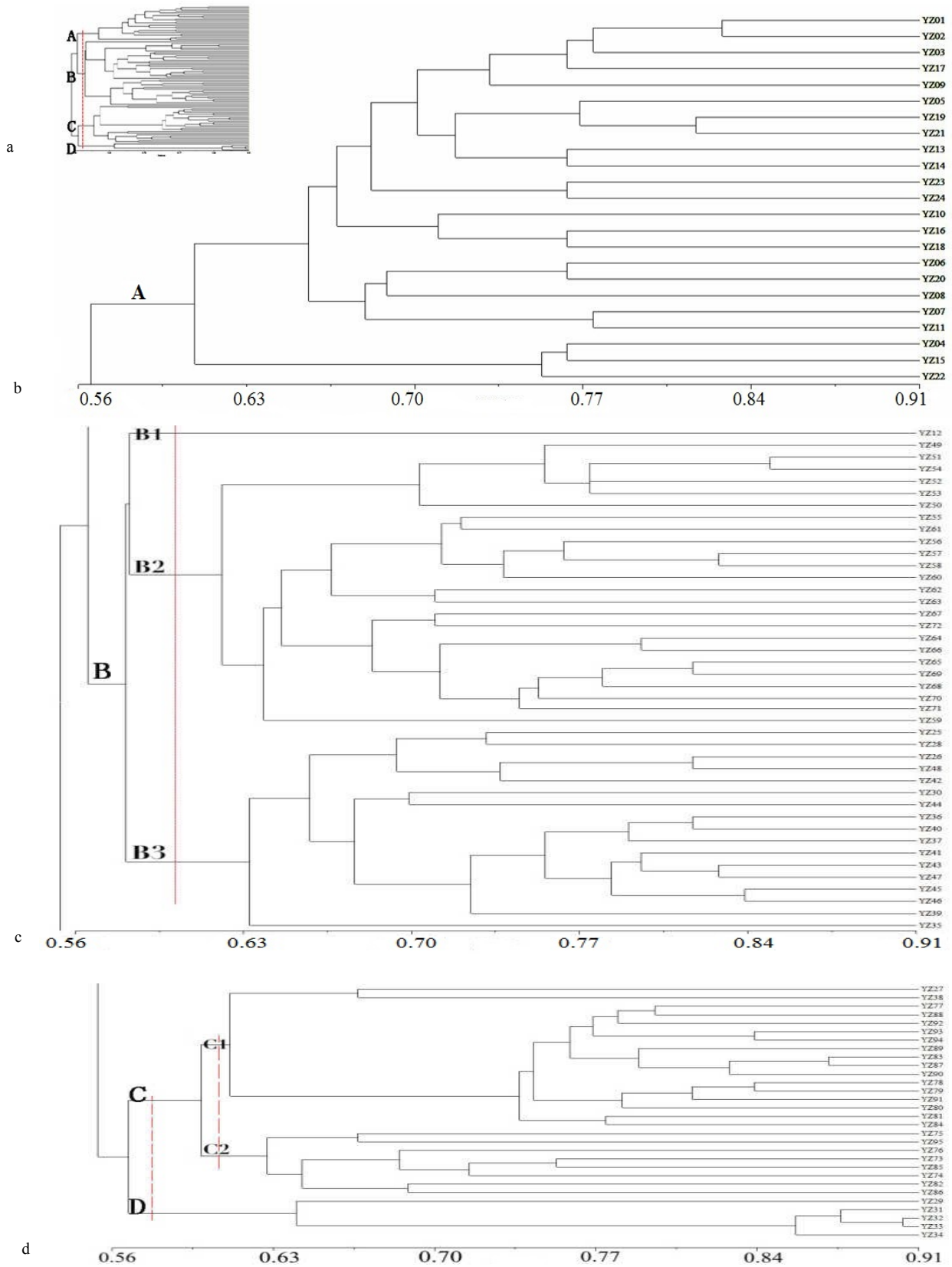


图 2 樱花种质资源基于遗传相似系数的 UPGMA 聚类图

Figure 2 UPGMA dendrogram of *Cerasus* spp. based on genetic similarity coefficients

鉴定的有效手段。95 份樱花种质资源基于遗传相似系数的 UPGMA 聚类分析 (图 2) 表明, 遗传背景相近的樱花资源其彼此间遗传相似系数较大, 遗传距离较小, 具有较近的亲缘关系。A 类群为华中樱类群, 其中毛萼华中樱和华中樱桃聚在一起, 说明作为华中樱桃变种, 其与原种亲缘关系较近, 原种中与 YZ16 号华中樱桃的亲缘关系最近, 这符合原种与变种的变异原则。在 C 类群中, 山樱花和其变种毛叶山樱花也聚在了一起, 形成 C1 类群; 毛叶山樱花、尾叶樱桃和浙闽樱桃聚为 C2 类群。同时, 调查时发现浙闽樱桃的叶片和花部形态特征与毛叶山樱花、尾叶樱的有一定的相似性, 处于中间过渡类型, 因此, YZ82 和 YZ85 可能不是浙闽樱桃, 而是尾叶樱桃和毛叶山樱花的杂交后代, 这有待进一步深入研究。D 类群为大叶早樱类群, YZ30 和 YZ35 号大叶早樱没有聚到 D 类群里, 而是聚到了 B3 类群里; 这 2 份资源虽然形态特征上接近大叶早樱, 但其与 D 类群中大叶早樱的亲缘关系相对较远, 这可能是繁殖过程中部分单株发生了遗传变异, 从而形成一些独特的遗传组成^[30]。

综上所述, 本研究通过 ISSR 标记的方法, 筛选出 17 条多态性好的引物, 在分子水平揭示了所收集到的浙江省野生樱花种质资源具有丰富的遗传多样性; 并基于遗传相似系数将 95 份种质资源分为华中樱类群、大叶早樱类群等四大类。本研究证明了 ISSR 分子标记是分析樱花种质资源遗传多样性十分有效的方法, 通过其遗传多样性和亲缘关系的研究可为今后浙江省野生樱花资源的保护和利用提供理论依据, 为后期新品种选育提供花色艳、花量大、抗逆性强的亲本材料。

参考文献:

- [1] LI C L, BRUCE B. Flora of China. Volume 9: Pittosporaceae through Connaraceae[M]. Beijing: Science Press, 2003: 404–420.
- [2] 中国科学院中国植物志编委会. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1986: 41–87.
- [3] 韦直, 何业祺. 浙江省植物志[M]. 杭州: 浙江科学技术出版社, 1993: 239–252.
- [4] 王贤荣. 中国樱花品种图志[M]. 北京: 科学出版社, 2014: 80–82.
- [5] 李达, 于晓英, 吴莉英, 等. 观赏植物分子标记研究进展[J]. 生物技术通讯, 2007, 18(6): 1060–1063.
- [6] ANTHONY F, BERTRAND B, QUIROS O, *et al.* Genetic diversity of wild coffee (*Coffea arabica* L.) using molecular markers[J]. Euphytica, 2001, 118(1): 53–65.
- [7] WARNAKULA W A D L, KOTTEARACHCHI N S, YAKANDAWALA K. Morphological, SSR and ISSR marker based genetic diversity assessment of mountain papaya germplasm in comparison with *Carica papaya*[J]. J Nat Sci Found Sri Lanka, 2017, 45(3): 255–264.
- [8] ZIETKIEWICZ E, RAFALSKI A, LABUDA D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification[J]. Genomics, 1994, 20(2): 176–183.
- [9] BARUAH J, GOGOI B, DAS K, *et al.* Genetic diversity study amongst *Cymbopogon* species from NE-India using RAPD and ISSR markers[J]. Ind Crop Prod, 2017, 95(1): 235–243.
- [10] 童俊, 周媛, 毛静, 等. 鸢尾属部分园艺品种遗传多样性的 ISSR 分析[J]. 北方园艺, 2015(10): 104–107.
- [11] 胡凤荣, 胡月苗, 王斐, 等. 利用 ISSR 分子标记分析 29 个凤信子品种的遗传多样性[J]. 分子植物育种, 2015, 13(2): 379–385.
- [12] 罗慧, 丁广文, 郭启高, 等. 基于 ISSR 标记的 44 份桃种质资源遗传多样性分析[J]. 西南大学学报: 自然科学版, 2015, 37(5): 45–50.
- [13] 吴帆, 柳新红, 蒋冬月, 等. 典型樱亚属植物基因组 DNA 改良提取方法研究[J]. 中国野生植物资源, 2017, 36(2): 24–27.
- [14] 陈宗游, 黄夕洋, 唐辉, 等. 广西甜茶种质资源遗传多样性的 ISSR 分析[J]. 园艺学报, 2017, 44(1): 161–169.
- [15] WILLIAMS J G, KUBELIK A R, LIVAK K J, *et al.* DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers[J]. Nucl Acid Res, 1990, 18(22): 6531–6535.
- [16] 李宗艳, 秦艳玲, 蒙进芳, 等. 西南牡丹品种起源的 ISSR 研究[J]. 中国农业科学, 2015, 48(5): 931–940.
- [17] 夏至, 周艳, 王璐静, 等. 月季花、玫瑰及其近缘种 ISSR 分析与鉴定[J]. 中草药, 2016, 47(24): 4433–4438.
- [18] 罗清, 卢业飞, 於艳萍, 等. 24 份杜鹃属植物的 ISSR 分子鉴定[J]. 西北林学院学报, 2016, 31(3): 154–158.
- [19] BADENES M L, PARFITT D E. Phylogenetic relationships of cultivated *Prunus* species from an analysis of chloroplast DNA variation[J]. Theor App Genet, 1995, 90(7–8): 1035–1041.
- [20] 曹东伟, 蔡宇良, 杨娟, 等. 中国樱桃的 PCR-RFLP 分析[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2007, 35(5): 173–178.
- [21] GERLACH H K, STÖSSER R. Patterns of random amplified polymorphic DNAs for sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivar identification[J]. Angewandte Bot, 1997, 71(5): 212–218.
- [22] 周春玲, 陈芳, 韩德铎, 等. 青岛市 19 个樱花品种的 RAPD 分析[J]. 西北植物学报, 2007, 27(12): 2559–2563.
- [23] HORMAZA J I. Early selection in cherry combining RAPDs with embryo culture[J]. Sci Hor, 1999, 79(1–2): 121–126.

- [24] ANTONIUS K, AALTONEN M, UOSUKAINEN M, *et al.* Genotypic and phenotypic diversity in Finnish cultivated sour cherry (*Prunus cerasus* L.)[J]. *Genet Res Crop Evol*, 2012, 59 (3) : 375 – 388.
- [25] KATO S, MATSUMOTO A, YOSHIMURA K, *et al.* Origins of Japanese flowering cherry (*Prunus subgenus Cerasus*) cultivars revealed using nuclear SSR markers[J]. *Tree Genet Genom*, 2014, 10 (3) : 477 – 487.
- [26] 商韬, 王贤荣, 南程慧, 等. 基于 SSR 标记的迎春樱自然居群遗传多样性分析[J]. *甘肃农大学报*, 2013, 8 (6) : 04 – 109.
- [27] 宋常美, 文晓鹏, 杨尔泰. 贵州樱桃种质资源的 ISSR 分析[J]. *园艺学报*, 2011, 8 (8) : 531 – 1538.
- [28] 艾呈祥, 张力思, 李国田, 等. ISSR 标记对 34 份樱桃种质资源的遗传分析[J]. *中国农学通报*, 2008, 24 (4) : 47 – 51.
- [29] SHAHI-GHARAHAR A, ZAMANI Z, FATAHI R, *et al.* Estimation of genetic diversity in some Iranian wild *Prunus* subgenus *Cerasus* accessions using inter-simple sequence repeat (ISSR) markers [J]. *Biochemical Systematics & Ecology*, 2011, 39 (4) : 826 – 833.
- [30] 陈红, 杨鑫, 安华明, 等. 贵州桃种质资源遗传多样性的 SCoT 分析[J]. *西北植物学报*, 2014, 34 (8) : 1559 – 1564.