

中国红皮砂梨品种的 SSR标记分析

张 东¹, 舒 群^{2*}, 滕元文^{1*}, 仇明华², 鲍 露¹, 胡红菊³

(¹ 浙江大学园艺系, 农业部园艺植物生长发育与生物技术重点开放实验室, 杭州 310029; ² 云南省农业科学学院园艺研究所, 昆明 650205; ³ 湖北省农业科学院果树茶叶研究所, 武汉 430209)

摘 要: 采用 SSR (Simple sequence repeat) 标记技术对 29 个砂梨品种或类型 (主要为红皮型) 做了鉴定, 并对其亲缘关系进行了分析。6 对 SSR 引物 (BGA35、KU10、BGT23b、NH004a、NH011b 和 NH015a) 均扩增出了较多的等位基因。NH004a 位点的等位基因数、有效等位基因、杂合度和香农多样性指数都较高, 显示了良好的品种鉴定能力。除 3 对品种或类型可能为同物异名或芽变类型无法区分外, 6 对引物组合可以成功地鉴定其它品种。聚类分析可以将 29 个砂梨品种 (类型) 明显分成 4 个组。第 1 组全部来自云南, 其中包括 2 个绿皮砂梨品种, 其余为红皮砂梨, 说明该组内红皮砂梨的祖先可能与这些绿皮砂梨亲缘关系很近。在第 2、3 组中, 来自四川会理的红梨品种和云南的红梨品种交叉组合, 可能是两地间品种交流的历史反映。第 4 组中来自四川会理的‘香酥梨’、‘栽秧梨’, 原产云南弥渡的‘弥渡香酥梨’以及原产云南丽江的‘长水火把梨’相互间及与其它梨的亲缘关系均较远。分布在云南各地的火把梨可能有不同的起源。

关键词: 砂梨; SSR; 品种鉴定; 亲缘关系

中图分类号: S 661.2 文献标识码: A 文章编号: 0513-353X (2007) 01-0047-06

Simple Sequence Repeat Analysis on Genetic Assessment of Chinese Red Skinned Sand Pear Cultivars

ZHANG Dong¹, SHU Qun^{2*}, TENG Yuan-wen^{1*}, QIU Ming-hua², BAO Lu¹, and HU Hong-ju³

(¹ Department of Horticulture, Zhejiang University, the State Agricultural Ministry Laboratory of Horticultural Plant Growth, Development & Biotechnology, Hangzhou 310029, China; ² Institute of Horticulture, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650205, China; ³ Institute of Fruit and Tea, Hubei Academy of Agricultural Sciences, Wuhan 430209, China)

Abstract: A total of 29 sand pear germplasm (mainly red skinned) native to southwest of China were subjected to simple sequence repeat (SSR) analysis. Six pairs of SSR primers (BGA35, KU10, BGT23b, NH004a, NH011b and NH015a) could generate a large number of alleles. The primer NH004a, which produced the highest allele numbers and the most effective alleles, and high heterozygosity and Shannon information index, showed the best identification power. Using six pairs of SSR primers, all accessions or types could be distinguished except for three pairs of cultivars, which might belong to the synonymy cases or bud mutants. Twenty nine pear accessions could be divided into four major groups obviously based on the UPGMA cluster analysis. Group 1 consisted of cultivars all native to Yunnan province, including two green and nine red skinned sand pears, inferring a near genetic relationship between the red and green skinned pears. In groups 2 and 3, the red skinned pears from Huili County of Sichuan Province and from Yunnan Province mingled together, which might suggest cultivar movement from Yunnan to Sichuan. In group 4, not only were Xiangsuli and Zaiyangli from Huili County of Sichuan Province, Midu Xiangsuli and Changshui Huobali native to Yunnan Province not closely clustered, but also were far from other groups. Huobali pear types distributed in Yunnan and Sichuan provinces might have different origins. The results above indicates large genetic diversity of germplasm resources of red skinned sand pear cultivars in China.

Key words: Sand pear; SSR; Cultivar identification; Genetic relationship

收稿日期: 2006 - 04 - 01; 修回日期: 2006 - 11 - 21

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30370988); 云南省科技厅攻关项目 (2003NG13)

* 通讯作者 Author for correspondence (E-mail: ywteng@zju.edu.cn; shuqun@public.km.vn.cn)

红色果皮的梨品种相对较少。过去记载的红色梨品种主要集中在秋子梨、西洋梨和白梨等系统中 (Kajiura, 1978)。随着对中国梨属植物的深入调查, 在砂梨资源中发现了珍贵的红皮梨类型 (张文炳 等, 1993, 1997)。这些红皮砂梨资源主要分布在云南省及四川省的南部 (陶磅 等, 2004)。张文炳等 (1997) 描述了收集于云南各地区的 14 个红色梨品种和类型。位于湖北农业科学院果树茶叶研究所的中国砂梨种质资源圃和云南省农业科学院园艺研究所分别保存了一些红皮砂梨的品种和类型。然而, 对于所收集的红皮砂梨品种和类型缺乏品种鉴定和亲缘关系方面的研究, 限制了对它们的正确评价和合理利用。所以鉴定红皮砂梨品种, 揭示它们间的亲缘关系具有非常重要的意义。

利用分子标记技术对红皮砂梨品种进行鉴定和揭示亲缘关系的研究尚未见报道。由于 SSR (Simple sequence repeat) 标记具有高多态性、共显性、标记带型简单以及覆盖整个基因组等特点 (Powell et al, 1996), 在梨品种鉴定和亲缘关系等研究领域得到了有效地应用 (Kimura et al, 2002; Yamamoto et al, 2002)。本研究利用 SSR 标记技术对原产于中国西南地区的红皮砂梨进行鉴定, 并揭示红皮砂梨品种或类型间的亲缘关系, 为这些资源的合理保存和利用提供理论支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本试验所用品种和类型的幼叶采自湖北省果树茶叶研究所中国砂梨种质资源圃 (HIFT)、中国农业科学院果树研究所国家梨种质资源圃 (CPGR)、云南省农业科学院园艺科学研究所 (YNHI) 和中国农业科学院郑州果树研究所 (ZZFI) (表 1)。

表 1 本研究所用梨的品种和类型

Table 1 Accessions used in this study

编号 No	梨品种或类型 Cultivars or lines	原产地 Origin	红色果皮 Red skin	采集地 Sampling source
1	满天红 (幸水 ×火把梨) Mantianhong (Kousui ×Huobali)	河南郑州 Zhengzhou, Henan	是 Yes	YNHI
2	美人酥 (幸水 ×火把梨) Meirensu (Kousui ×Huobali)	河南郑州 Zhengzhou, Henan	是 Yes	YNHI
3	雄古火把梨 1号 Xiongnu Huobali 1	云南丽江 Lijiang, Yunnan	是 Yes	HIFT
4	会理 2号 Huili 2	四川会理 Huili, Sichuan	是 Yes	YNHI
5	索美 Suomei	云南丽江 Lijiang, Yunnan	否 No	ZZFI
6	宝珠梨 Baozhuli	云南呈贡 Chenggong, Yunnan	否 No	CPGR
7	会理 1号 Huili 1	四川会理 Huili, Sichuan	是 Yes	YNHI
8	长水火把梨 Changshui Huobali	云南丽江 Lijiang, Yunnan	是 Yes	HIFT
9	丽江面梨 Lijiang Mianli	云南丽江 Lijiang, Yunnan	是 Yes	HIFT
10	雄古火把梨 2号 Xiongnu Huobali 2	云南丽江 Lijiang, Yunnan	是 Yes	HIFT
11	砚山红梨 Yanshan Hongli	云南砚山 Yanshan, Yunnan	是 Yes	YNHI
12	云红梨 2号 Yunhongli 2	云南文山 Wenshan, Yunnan	是 Yes	HIFT
13	文山红梨 Wenshan Hongli	云南文山 Wenshan, Yunnan	是 Yes	HIFT
14	丽江白梨 Lijiang Baili	云南丽江 Lijiang, Yunnan	否 No	ZZFI
15	云红梨 1号 Yunhongli 1	云南砚山 Yanshan, Yunnan	是 Yes	ZZFI
16	弥渡火把梨 Midu Huobali	云南弥渡 Midu, Yunnan	是 Yes	HIFT
17	弥渡香酥梨 Midu Xiangsuli	云南弥渡 Midu, Yunnan	是 Yes	HIFT
18	瓢形火把梨 Piaoxing Huobali	四川会理 Huili, Sichuan	是 Yes	YNHI
19	弥渡小红梨 Midu Xiaohongli	云南弥渡 Midu, Yunnan	是 Yes	HIFT
20	老鸦梨 Laoyali	四川会理 Huili, Sichuan	是 Yes	YNHI
21	文山红雪梨 Wenshan Hongxueli	云南文山 Wenshan, Yunnan	是 Yes	ZZFI
22	彩面鸭梨 Caimian Yali	四川会理 Huili, Sichuan	是 Yes	YNHI
23	香酥梨 Xiangsuli	四川会理 Huili, Sichuan	是 Yes	YNHI
24	大理火把梨 Dali Huobali	云南大理 Dali, Yunnan	是 Yes	HIFT
25	栽秧梨 Zaiyangli	四川会理 Huili, Sichuan	是 Yes	YNHI
26	大理胭脂梨 Dali Yanzhili	云南大理 Dali, Yunnan	是 Yes	HIFT
27	长把火把梨 Changba Huobali	四川会理 Huili, Sichuan	是 Yes	YNHI
28	火把梨 Huobali	云南武定 Wuding, Yunnan	是 Yes	HIFT
29	巍山红雪梨 Weishan Hongxueli	云南巍山 Weishan, Yunnan	是 Yes	YNHI

1.2 试验方法

1.2.1 DNA 提取 采用改良 SDS 法从幼叶中提取总基因组 DNA，提取结束后，采用分光光度计 (Beckman DU800, USA) 将 DNA 浓度调整为 10 ng/μL。所用的 BGA35、NH011b、BGT23b、NH015a、KU10 和 NH004a (表 2) 是从 Yamamoto 等 (2002) 开发的梨属植物 SSR 系列引物中选出的被证明多态性好、分辨率高的引物 (Kimura et al, 2002)，由 Invitrogen™ 公司合成。

1.2.2 PCR 扩增 反应体系总体积为 20 μL，其中包括 1.0 μL (10 ng/μL) 模板 DNA、2.0 μL 10 × buffer (MgCl₂ 终浓度为 1.5 mmol/L)、2.0 μL 2.5 mmol/L dNTPs、1.0 μL primer (10 pmol)、0.2 μL Taq polymerase (Takara Biotechnology Company, Japan) 和 13.8 μL ddH₂O。扩增反应程序随引物的不同而不同，NH011b、NH015a 和 NH004a 等 3 对 SSR 引物采用一般的扩增程序：94 预变性 2 min，94 变性 1 min，55 退火 1 min 和 72 延伸 2 min，共 35 个循环。对于 BGA35、BGT23b、KU10 则为变温扩增程序：94 预变性 2 min，94 变性 1 min，60 退火 1 min 和 72 延伸 2 min，10 个循环，每个循环降 0.5 °C，随后以 94 预变性 2 min，94 变性 5 min，55 退火 1 min 和 72 延伸 2 min，再进行 35 个循环 (Kimura et al, 2002)。

扩增结束后，先将 PCR 产物于 1.0% 的琼脂糖胶上检测，如扩增片段大小为 100 ~ 200 bp 左右，表明扩增成功，扩增产物和变性液 (二甲苯青 1 mg，溴酚蓝 1 mg，0.5 mol/L EDTA，溶于去离子甲酰胺) 以等体积混合，于 94 °C 5 min 进行变性 (Vos et al, 1995)，随后立即置于冰上或保存于 4 °C 备用。

1.2.3 凝胶电泳及数据分析 取 5 μL 经热变性后的混合液于 6% 聚丙烯酰胺凝胶中电泳 1.0 h (75 W)，参照 Bassam 等 (1991) 的方法进行银染。将重复性好且清晰的条带进行记录 (有无条带分别记为 1 和 0)，然后根据 Nei 和 Li (1979) 的方法计算 Dice 相似系数，建立相似矩阵，采用 NTSYS-pc 程序，以非加权数据分析法 (UPGMA) 生成系统树。对不同的 SSR 谱带 (等位基因) 以字母顺序命名，采用 POPGENE version 1.31 软件计算不同 SSR 位点的等位基因数 (n_o)、每个 SSR 位点的有效等位基因数 (n_e)、观察杂合度 (H_o)、期望杂合度 (H_e) 和香农多样性指数 (I)。

2 结果与分析

6 对 SSR 引物均能产生较多的多态性谱带 (等位基因)，其中以 NH004a 最多，KU10 和 BGA35a 只分别产生了 7 个等位基因 (表 3)。而有效等位基因数也以 NH004a 产生最多。对于每个品种或类型，每对引物一般产生 1 或 2 个等位基因 (图 1)。除了 3 对品种或类型无法区别以外，利用 6 对引物组合可以鉴定所有的品种和类型。本研究中，各位点 H_e 为 0.2861 ~ 0.8699，平均为 0.6788。 H_o 为 0.2069 ~ 1.0000，平均为 0.6839。 I 在各位点为 0.6918 ~ 2.1674，均值为 1.5005 (表 3)。

表 2 SSR 引物的序列及扩增的长度范围

Table 2 SSR primer sequences and allele size ranges

引物 Primers	序列 Sequences	等位基因的大小 Allele size ranges(bp)
BGA35	F AGAGGGAGAAAGGCGATT R GCTTCATCACCGTCTGCT	121 ~ 160
KU10	F AGTATGTGACCAACCCGATGTT R AGAGTCGGTTGGGAAATGATTG	222 ~ 274
BGT23b	F CACATTCAAAGATTAAAGAT R ACTCAGCCTTTTTTCCAC	192 ~ 215
NH004a	F AGGATGGGACGAGTTTAGAG R CCACATCTCTCAACCTACCA	78 ~ 126
NH011b	F TGGTTCACATAGAGAGAGAGAGA R TTTGCCGTTGGACCGAGC	160 ~ 240
NH015a	F TTGTGCCCTTTTCTTACC R CTTTGTATGTTACCCCTTGCTG	105 ~ 180

表 3 红皮砂梨的 SSR 位点特征

Table 3 The characterization of polymorphic SSR loci of red skinned sand pears

位点 Locus	n_o	n_e	H_o	H_e	I
BGT23b	9	1.3912	0.2069	0.2861	0.6918
NH011b	8	2.9561	0.6897	0.6733	1.3875
BGA35a	7	3.3911	0.9655	0.7175	1.3962
KU10	7	2.1674	0.8621	0.8699	2.1674
NH015a	11	3.5940	0.3793	0.7344	1.5431
NH004a	12	4.4973	1.0000	0.7913	1.8169
Mean	9	2.9995	0.6839	0.6788	1.5005

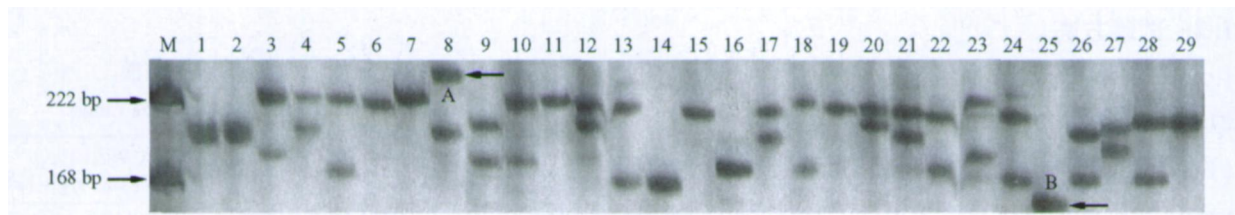


图 1 以 NH011b 为引物的扩增产物于 6.0% 聚丙烯酰胺凝胶电泳图

箭头 A: ‘长把火把梨’的特殊谱带; 箭头 B: ‘栽秧梨’的特殊谱带。材料编号见表 1。

Fig 1 6.0% PAGE gel electrophoresis of amplification products with NH011b primer

Arrow A: The specific band of Changba Huobali; Arrow B: The specific band of Zaiyangli. Numbers refer to the cultivars listed in Table 1.

根据 Dice 相似系数, 采用 UPGMA 法进行聚类得到的梨系统关系树 (图 2) 可以分成 4 个大组。第 1 组包括 11 个品种, 全部来自云南, 可以进一步分成 3 个亚组。其中第 1 亚组由两个绿皮梨 (来自呈贡的 ‘宝珠梨’ 和丽江的 ‘丽江白梨’) 先以相似系数 0.93 聚合, 再和几个红皮砂梨聚在一起。这些红皮砂梨包括原产文山县的 ‘文山红梨’、‘文山红雪梨’ 和 ‘云红梨 2 号’, 原产砚山县的 ‘云红梨 1 号’ 和 ‘砚山红梨’, 它们之间的相似系数非常高, 均在 0.92 左右。从 SSR 图谱来看, ‘云红梨 1 号’ 与 ‘砚山红梨’ 在 6 个 SSR 位点上均有完全相同的谱带, 同样的情况还出现在采自湖北省果树茶叶研究所中国砂梨种质资源圃的 ‘云红梨 2 号’ 与采自中国农业科学院郑州果树研究所的 ‘文山红雪梨’ 间。另外一个亚组包括了绿皮梨品种 ‘索美’、红皮梨品种 ‘雄古火把梨 1 号’ 和 ‘雄古火把梨 2 号’。三者均原产于丽江, 它们间的相似系数也较高, 其中 ‘雄古火把梨 1 号’ 和 ‘雄古火把梨 2 号’ 间为 0.89, 它们与 ‘索美’ 的相似系数为 0.76。‘丽江面梨’ 相对独立成一个亚组。

第 2 组包括了来自云南大理和四川会理的品种, 其中云南大理的 ‘弥渡小红梨’ 起到了连接第 2 组和本组其它品种的作用。本组也可以明显地区分成两个亚组。一个亚组中四川会理的 ‘瓢形火把梨’ 先与大理弥渡的 ‘弥渡火把梨’ 以 0.85 的高相似系数相聚, 再与 ‘会理 2 号’ 聚为一个亚组。另外一个亚组也是会理的品种和大理的品种交叉组合。在本组中云南武定的 ‘火把梨’ 和原产大理的 ‘大理火把梨’ 的相似系数为 1, 在系统树中并列在一起。

同第 2 组一样, 第 3 组也是云南大理和四川会理的品种混合的组。来自四川会理的 ‘长把火把梨’ 与云南的 ‘大理胭脂梨’ 先聚在了一起, 然后与来自四川会理的 ‘老鸦梨’ 再聚合形成一个与第 2 组亲缘关系较远的大组。

第 4 组中相互间亲缘关系较远。除了人工育成的 ‘美人酥’ 和 ‘满天红’ 以 0.86 的相似系数聚在一起外, 其余的云南丽江的 ‘长水火把梨’、云南大理弥渡的 ‘弥渡香酥梨’、四川会理的 ‘栽

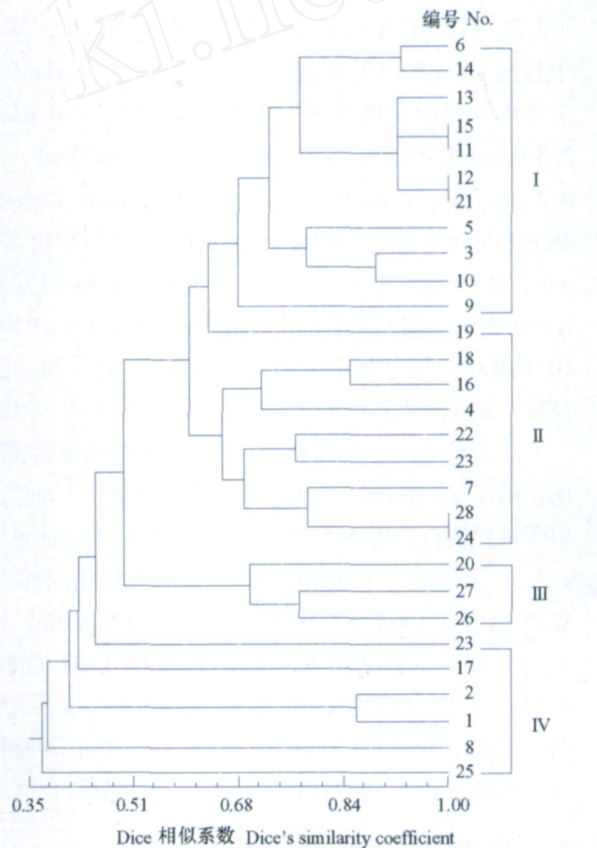


图 2 采用 UPGMA 方法生成的 29 个砂梨品种的系统关系树

Fig 2 The phylogenetic tree of 29 sand pear cultivars (mainly red skinned) based on UPGMA cluster analysis

秧梨’和‘香酥梨’相对独立，没有再进一步聚合。这些品种与其它梨的亲缘关系也较远。

本研究中共有 8 个来自各地的火把梨，它们分散在不同的组中（图 2）。除了来自云南武定的‘火把梨’和‘大理火把梨’相似系数为 1 外，相互间的相似系数从最低的 0.3200（‘雄古火把梨 2 号’与‘瓢形火把梨’）到 0.8889（‘雄古火把梨 1 号’与‘雄古火把梨 2 号’）（表 4）。

表 4 各地 8 个火把梨间的 Dice 相似系数
Table 4 Dice's similarity coefficients for 8 Huobali pear cultivars from different places

编号 No	27	8	24	28	18	17	3
8	0.4348						
24	0.5217	0.5217					
28	0.5217	0.5217	1.0000				
18	0.4615	0.4800	0.6400	0.6400			
17	0.4167	0.4348	0.6087	0.6087	0.84623		
3	0.5600	0.3333	0.5000	0.5000	0.5185	0.4800	
10	0.5385	0.3200	0.4800	0.4800	0.5000	0.4615	0.8889

3 讨论

等位基因数的多少和杂合度的高低可以反映 SSR 标记鉴别植物基因型的能力（Zhebentyayeta et al., 2003）。本研究所检测的 SSR 位点的平均等位基因数为 9，少于 Kimura 等（2002）的 14.8，可能与我们所检测的材料数少有关。本研究中各位点的平均杂合度（ H_o ）为 0.68，这与 Kimura 等（2002）计算出的 0.63 很接近，说明所选用的 6 个 SSR 位点具有很高的杂合性，非常适合于红皮砂梨品种的鉴定。从各位点产生的等位基因数、有效等位基因数、杂合度和香农多样性指数等综合判断，NH004a 为最有效的鉴定红皮砂梨品种的位点。这些指标也同时反映了本研究所用红梨材料具有很高的遗传多样性。Kimura 等（2002）采用 9 个梨 SSR 引物鉴定了 6 个梨属种共 60 个梨品种和类型，鉴别出两个同物异名和两个同名异物品种。本研究中发现 3 对品种或类型可能为同物异名或芽变类型，无法区分开，分别为‘云红梨 1 号’与‘砚山红梨’、‘云红梨 2 号’与‘文山红雪梨’、‘火把梨’与‘大理火把梨’（图 2）。‘云红梨 1 号’是于 1984 年在云南省文山州砚山县发现的‘砚山红梨’基础上，经多年观察试验所选育出的红色梨品种（陶磅等，2003）。本研究所用的 SSR 不能将它们区分开，说明它们之间在遗传上没有差异或差异不在所检测的 SSR 位点之内。‘云红梨 2 号’与‘文山红雪梨’分别采自湖北省果树茶叶研究所中国砂梨种质资源圃和中国农业科学院郑州果树研究所，均原产于文山县，应该为同物异名。武定的‘火把梨’与‘大理火把梨’在湖北省果树茶叶研究所中国砂梨种质资源圃作为两个品种保存，从本试验结果看它们应该为同一品种。

火把梨是著名的云南红皮砂梨品种，一般意义上所指的火把梨原产云南大理，即中国砂梨种质资源圃保存的‘大理火把梨’，而武定的‘火把梨’应该是从大理引种过去的。其余称为火把梨的品种，包括四川会理的‘长把火把梨’和‘瓢形火把梨’、丽江的‘长水火把梨’和‘雄古火把梨 1 号、2 号’及大理弥渡县的‘弥渡火把梨’等则与‘大理火把梨’的遗传相似性较低（表 4）。不仅如此，大部分火把梨之间的相似系数也都不是很高（表 4）。说明分布于不同地区的这些火把梨的起源不同。值得关注的是四川会理的‘瓢形火把梨’和‘长把火把梨’分别与云南大理的‘弥渡火把梨’和‘大理胭脂梨’聚在一起（图 2）。其它来自四川会理的红梨品种也没有独立的聚在一起，而是和云南的红梨品种交叉组合。四川会理和云南省交界，两地间的交流非常频繁，会理的这些红梨有可能是从云南引种过去的（张文炳——原云南省农业科学院园艺研究所研究员，私人通信）。

同样地，在第 2 组（图 2）中不同来源地的品种聚在一起形成亚组也可能反映了梨传播的历史。一般认为‘宝珠梨’原产云南呈贡，但也有本品种自大理宝珠寺传来而得名之说（吴耕民，1993）。在本研究中，它和来自与大理相邻的丽江地区的‘丽江白梨’的相似系数高达 0.93，在系统树中紧密聚合在一起，显示了非常近的亲缘关系。产于云南东南部文山地区的系列红梨与‘宝珠梨’和‘丽江白梨’聚成第 2 组中的第 1 亚组，也反映了这些红皮砂梨或其祖先可能来源于大理或丽江地区。

本研究中的红皮砂梨地方品种聚成了不同的大组（图 2），显示了很广的遗传多样性，同时也说明了它们起源的非单一性。这也可以从某些红皮梨品种间非常低的相似系数得以证明，如‘栽秧梨’

与‘丽江面梨’两者之间的相似系数仅为 0.26。第 3 组中来自丽江的绿皮砂梨‘宝珠梨’、‘丽江白梨’和‘索美’分别与红皮砂梨相互交错聚合,说明这些绿皮砂梨和红皮砂梨有很近的亲缘关系。自然界中,西洋梨和秋子梨红色品种一般起源于绿色品种的芽变(Reimer, 1951; Kajiura, 1978; 焦言英等, 1999),上述结果也表明红皮砂梨很可能缘于绿皮砂梨的芽变。

‘美人酥’和‘满天红’是以‘幸水’为母本,‘火把梨’为父本杂交育成的品种(Vos et al, 1995),其相似系数为 0.86,这与它们的背景一致性相吻合。但是它们并没有和父本‘火把梨’聚在一起,相似系数仅为 0.50,可能是由于其母本‘幸水’属于日本梨系统,与中国梨亲缘较远所致。

在所有样品中,来自四川会理的‘香酥梨’、‘栽秧梨’,原产云南弥渡的‘弥渡香酥梨’以及原产云南丽江的‘长水火把梨’,与其它梨的关系较远。充分说明了红皮砂梨遗传背景的复杂性。

综上所述,本研究利用 SSR 标记技术成功鉴定了原产云南省和来自四川省的红皮砂梨品种或类型,鉴别出 3 对同物异名或芽变品种。我们的结果也揭示了红皮砂梨之间的亲缘关系和丰富的遗传多样性。上述结果为准确保存和合理利用这些红皮砂梨资源提供了理论依据。

References

- Bassam B J, Caetano-Anolles G, Gresshoff P M. 1991. Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. *Analytical Biochemistry*, 195: 80 - 83.
- Jiao Yan-ying, Zhao Guimin, Chen Ji-zhong. 1999. ‘Hongnanguo’ - a new mutation cultivar originated from ‘Nanguoli’. *China Fruits*, (3): 22. (in Chinese)
- 焦言英, 赵桂敏, 陈继忠. 1999. 南果梨芽变新品种红南果梨. *中国果树*, (3): 22.
- Kajiura I. 1978. Red pear. *Agriculture and Horticulture*, 53 (10): 1229 - 1234. (in Japanese)
- Kimura T, Shi Y Z, Shoda M, Kotobuki K, Matsuta N, Hayashi T, Ban Y, Yamamoto T. 2002. Identification of Asian pear varieties by SSR analysis. *Breeding Science*, 52: 115 - 121.
- Nei M, Li W H. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of United States of America*, 76: 5269 - 5273.
- Powell W, Machray G, Provan J. 1996. Polymorphism revealed by simple sequence repeats. *Trends in Plant Science*, 1 (7): 215 - 222.
- Reimer F C. 1951. A genetical bud mutation in the pear. *J. Heredity*, 42: 93 - 94.
- Tao Pang, Shu Qun, Wang Jian-jun, Zhang Wen-bing. 2004. Present situation and prospect of research and utilization on red pear germplasm resources. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, (47): 409 - 412. (in Chinese)
- 陶 磅, 舒 群, 王建军, 张文炳. 2004. 红色梨资源研究和开发利用的现状与展望. *西南农业学报*, (47): 409 - 412.
- Tao Pang, Shu Qun, Zhang Wen-bing. 2003. A new red pear variety with high quality, late ripening and long storage life—‘Yunhong 1’. *Acta Horticulturae Sinica*, 30 (4): 497. (in Chinese)
- 陶 磅, 舒 群, 张文炳. 2003. 晚熟、耐贮红梨新品种‘云红梨 1 号’. *园艺学报*, 30 (4): 497.
- Vos P, Hogers R, Bleeker M, Reijans M, van de Lee T, Homes M, Frijters A, Pot J, Peleman J, Kuiper M, Zabeau M. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research*, 23: 4407 - 4414.
- Wu Geng-min. 1993. Pomology in temperate zone of China. Zhejiang: Zhejiang Scientific and Technological Press: 145 - 169. (in Chinese)
- 吴耕民. 1993. 中国温带落叶果树栽培学. 浙江: 浙江科学技术出版社: 145 - 169.
- Yamamoto T, Kimura T, Sawamura Y, Manabe T, Kotobuki K, Hayashi T, Ban Y, Matsuta N. 2002. Simple sequence repeats for genetic analysis in pear. *Euphytica*, 124: 129 - 137.
- Zhang Wen-bing, Zhang Jun-ru. 1993. Resources of red pear cultivars in the subtropical region of Yunnan Province. *China Fruits*, (4): 16 - 17. (in Chinese)
- 张文炳, 张浚如. 1993. 云南亚热带地区的红色梨品种资源. *中国果树*, (4): 16 - 17.
- Zhang Wen-bing, Zhang Jun-ru, Li Xue-lin, Shu Qun, Zeng Ya-wen. 1997. Red pear germplasm resources in Yunnan and their utilization. *South China Fruits*, 26 (5): 38 - 39. (in Chinese)
- 张文炳, 张浚如, 李学林, 舒 群, 曾亚文. 1997. 云南红皮梨种质资源及其利用. *中国南方果树*, 26 (5): 38 - 39.
- Zhebentyayeva T N, Reighard G L, Gorina V M, Abbott A G. 2003. Simple sequence repeat (SSR) analysis for assessment of genetic variability in apricot germplasm. *Theoretical and Applied Genetics*, 106: 435 - 444.