

## 部分芍药种质资源的 RAPD 分析

郭先锋<sup>1\*</sup>, 王莲英<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>山东农业大学林学院, 山东泰安 271018; <sup>2</sup>北京林业大学园林学院, 北京 100083)

**摘要:** 对 5 种野生芍药和 26 个栽培芍药品种的亲缘关系进行了 RAPD 分析。17 条引物在所有供试样本中共扩增出 153 条反应带, 其中多态带 149 条。对 RAPD 扩增结果采用 UPGMA 法进行聚类分析, 在遗传相似度 0.32 处, 块根芍药 (*Paeonia anomala*) 被单独分为一类, 其它 30 份材料归为另一类; 在遗传相似度 0.54 处, 川赤芍 (*P. veitchii*)、草芍药 (*P. obovata*) 和美丽芍药 (*P. mairei*) 3 个野生种先后从 30 份材料中分别单独分离出来, 而野生种芍药 (*P. lactiflora*) 则与所有的栽培品种聚为一类。该结果表明 26 个品种间的遗传背景相对一致, 并与野生种芍药的遗传基础最为近密, 与其它 4 种野生芍药的遗传差异则较大。按照与栽培品种亲缘关系由近到远的次序, 4 个野生近缘种依次排布为: 美丽芍药、草芍药、川赤芍和块根芍药。研究结果从分子水平揭示出中国芍药品种群遗传背景狭窄, 利用野生近缘种改良现有品种尚具有广阔空间。

**关键词:** 芍药; 种质资源; 亲缘关系; RAPD

**中图分类号:** S 682.1+2 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2007) 05-1321-06

## Genetic Relationship of Partial Peony Germplasm Resources with RAPD Markers

GUO Xian-feng<sup>1\*</sup> and WANG Lian-ying<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> College of Forestry, Shandong Agricultural University, Tai'an, Shandong 271018, China; <sup>2</sup> College of Landscape Architecture, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China)

**Abstract:** Relationship among 5 wild species and 26 cultivars were analyzed using RAPD (Random amplified polymorphic DNA) markers. One hundred and fifty three amplified fragments were detected by applying 17 10-mer primers, among them 149 fragments were polymorphic. Cluster analysis was then performed by UPGMA method. In the dendrogram based on the genetic similarity coefficients, *Paeonia anomala* were separated from other 30 samples at GSC (Genetic Similarity Coefficient) of 0.32; And at GSC of 0.54, *P. veitchii*, *P. obovata* and *P. mairei* were individually separated, while *P. lactiflora* was still linked together with all of the cultivars. The result suggested high genetic homogeneity between the cultivars and *P. lactiflora*. Comparatively, the other 4 wild species showed distant genetic relationship with the cultivars, and the order based on the GSC from close to distant was arranged as *P. mairei*, *P. obovata*, *P. veitchii* and *P. anomala*. This molecular study revealed the narrow genetic background of the cultivated peonies native to China, so there exists broad space of improving the cultivars with wild species.

**Key words:** Peony; Germplasm resource; Relationship; RAPD

我国芍药种质资源丰富, 野生分布约 8 个种, 西北、华北及东北地区均有; 栽培芍药则种植广泛, 山东菏泽、河南洛阳、北京、江苏扬州等地广有栽培 (秦魁杰和李嘉珏, 2000)。据作者调查, 在芍药品种资源收集最全的山东菏泽地区约有 400 多个芍药品种。掌握和研究芍药种质资源的遗传多

收稿日期: 2007-05-25; 修回日期: 2007-08-23

基金项目: 国家林业局重点基金项目 (97-17); 山东农业大学中青年创新基金项目 (23214)

\* E-mail: guoxf@sda.edu.cn

样性及其相互关系, 对其栽培起源探讨及品种的改良均具有十分重要的意义。

关于芍药种质资源的研究已有报道, 但研究的对象却分散不一。日本学者 Hosoki 等 (1997b) 探讨了亚洲和欧洲的部分芍药品种和野生种的遗传多样性, 揭示了供试对象在种间水平上的亲缘关系, 但该研究所采用的中国品种材料仅 4 个, 且未涉及原产中国的野生芍药种质资源; 国内则主要研究种内的遗传多样性 (周红涛 等, 2002; 陈丙奎 等, 2003; 于恒秀 等, 2006), 基本不涉及野生种或仅仅涉及野生芍药 (*Paeonia lactiflora*) 一个种。本研究以原产中国的 5 个野生芍药和 26 个栽培品种为研究对象, 通过 RAPD 标记在分子水平上探讨其遗传多样性及亲缘关系。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

26 个芍药栽培品种, 主要根据花型花色等特征从原产我国的传统芍药品种和近些年新育成的品种中选取而来, 均来自我国芍药种质资源收集最全的山东菏泽地区。其形态的差异主要集中于花色和花型 (表 1), 而根叶性状基本一致, 均为肉质直根, 叶片不裂或浅裂, 小叶狭卵形或椭圆形, 叶缘有白色骨质细齿。

表 1 供试栽培品种材料

Table 1 The cultivated materials used in the study

| 编号<br>Code | 品种名<br>Name              | 花色和花型<br>Flower color and flower form | 编号<br>Code | 品种名<br>Name               | 花色和花型<br>Flower color and flower form |
|------------|--------------------------|---------------------------------------|------------|---------------------------|---------------------------------------|
| 1          | 白玉盘<br>Baiyupan          | 白色, 单瓣型<br>White, single              | 14         | 凤羽落金池<br>Fengyu Luojinchi | 复色, 托桂型<br>Double color, anemone-like |
| 2          | 美菊<br>Meiju              | 红色, 托桂型<br>Red, anemone-like          | 15         | 晴雯<br>Qingwen             | 粉色, 台阁类<br>Pink, proliferate          |
| 3          | 晨曦<br>Chenxi             | 粉色, 皇冠型<br>Pink, crown-like           | 16         | 粉珠盘<br>Fenzhupan          | 粉色, 台阁类<br>Pink, proliferate          |
| 4          | 英雄花<br>Yingxiong Hua     | 红色, 皇冠型<br>Red, crown-like            | 17         | 多花玫瑰<br>Duohua Meigui     | 红色, 多花型<br>Red, invariable form       |
| 5          | 莲台子<br>Liantaizi         | 复色, 托桂型<br>Double color, anemone-like | 18         | 乌龙探海<br>Wulong Tanhai     | 黑色, 皇冠型<br>Black, crown-like          |
| 6          | 雪山红星<br>Xueshan Hongxing | 复色, 台阁类<br>Double color, proliferate  | 19         | 莲台<br>Liantai             | 复色, 托桂型<br>Double color, anemone-like |
| 7          | 铁杆紫<br>Tieganzhi         | 紫色, 托桂型<br>Purple, anemone-like       | 20         | 粉玉奴<br>Fenyunu            | 粉色, 单瓣型<br>Pink, single               |
| 8          | 金带围<br>Jindaiwei         | 白色, 金环型<br>White, golden-ring-like    | 21         | 大富贵<br>Dafugui            | 红色, 蔷薇型<br>Red, rose-like             |
| 9          | 紫莲托金<br>Zilian Tuojin    | 紫色, 荷花型<br>Purple, lotus-like         | 22         | 桃花飞雪<br>Taohua Feixue     | 粉色, 菊花型<br>Pink, chrysanthemum-like   |
| 10         | 杨妃出浴<br>Yangfei Chuyu    | 白色, 蔷薇型<br>White, rose-like           | 23         | 黄金轮<br>Huangjinlun        | 黄色, 皇冠型<br>Yellow, crown-like         |
| 11         | 胭脂点玉<br>Yanzhi Dianyu    | 白色, 台阁型<br>White, proliferate         | 24         | 巧灵<br>Qiaoling            | 白色, 托桂型<br>White, anemone-like        |
| 12         | 袭人<br>Xiren              | 粉色, 金环型<br>Pink, golden-ring-like     | 25         | 种生粉<br>Zhongshengfen      | 粉色, 台阁类<br>Pink, proliferate          |
| 13         | 佛光<br>Foguang            | 复色, 托桂型<br>Double color, anemone-like | 26         | 冰青<br>Bingqing            | 白色, 皇冠型<br>White, crown-like          |

野生芍药材料包括 5 个近缘种: 川赤芍 (*P. veitchii*)、块根芍药 (*P. anomala*)、芍药 (*P. lactiflora*)、美丽芍药 (*P. mairei*) 和草芍药 (*P. obovata*), 分别来自甘肃兴隆山、新疆伊宁地区、内蒙古阿尔山、陕西户县和河南伏牛山, 其性状的差异除花部器官差异外, 根、叶等器官的差异也很

明显。其具体编号及主要性状差异见表 2。

供提取 DNA 的材料均为嫩叶, 分别自 3~5 棵植株 (随机取样) 采集后混合而成。

表 2 供试野生材料  
Table 2 The wild materials used in the study

| 编号<br>Code | 种名<br>Name                 | 花色、花型<br>Flower color and<br>flower form | 根形<br>Root form          | 叶部差异<br>Leaf difference  |
|------------|----------------------------|--|--------------------------|--|
| 27         | 川赤芍<br><i>P. veitchii</i>  | 粉色, 单瓣型<br>Pink, single                  | 圆柱形直根<br>Column tap root | 羽状深裂, 裂片为披针形<br>Pinnately parted, lanceolate pinnule   |
| 28         | 块根芍药<br><i>P. anomala</i>  | 红色, 单瓣型<br>Red, single                   | 纺锤形块根<br>Spindle tuber   | 羽状深裂, 裂片线状披针形<br>Pinnately parted, line-lanceolate pinnule   |
| 29         | 美丽芍药<br><i>P. mairei</i>   | 粉色, 单瓣型<br>Pink, single                  | 圆柱形直根<br>Column tap root | 不裂或浅裂, 小叶狭卵形或椭圆形, 叶缘全缘<br>Entire or lobate, narrow ovate or elliptic leaflet, entire leaf margin       |
| 30         | 芍药<br><i>P. lactiflora</i> | 白或粉, 单瓣型<br>White or pink, single        | 圆柱形直根<br>Column tap root | 不裂或浅裂, 小叶狭卵形或椭圆形, 叶缘有骨质细齿<br>Entire or lobate, narrow ovate or elliptic leaflet, serrulate leaf margin |
| 31         | 草芍药<br><i>P. obovata</i>   | 白或粉, 单瓣型<br>White or pink, single        | 圆柱形直根<br>Column tap root | 不裂或浅裂, 小叶倒卵形, 叶缘全缘<br>Entire or lobate, obovate leaflet, entire leaf margin                            |

## 1.2 方法

CTAB 法提取基因组 DNA (Doyle & Doyle, 1987)。RAPD-PCR 反应体系为: 总体积 25  $\mu\text{L}$ , 其中 10 $\times$  buffer [200 mmol/L Tris-HCl, 100 mmol/L  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 100 mmol/L KCl, 1% Triton X-100, 20 mmol/L  $\text{MgCl}_2$ , pH 8.8] 2.5  $\mu\text{L}$ ; dNTP (each 10 mmol/L) 0.5  $\mu\text{L}$ ; 引物 (8 pmol/ $\mu\text{L}$ ) 1  $\mu\text{L}$ ; Taq 聚合酶 (2 U/ $\mu\text{L}$ ) 0.5  $\mu\text{L}$ ; DNA 模板 (100 ng/ $\mu\text{L}$ ) 0.4  $\mu\text{L}$ ; ddH<sub>2</sub>O 为 20.1  $\mu\text{L}$ 。反应程序为: 94 $^\circ\text{C}$  预变性 3 min; 94 $^\circ\text{C}$  变性 30 s, 37 $^\circ\text{C}$  退火 30 s, 72 $^\circ\text{C}$  延伸 80 s, 42 个循环; 72 $^\circ\text{C}$  维持 5 min。PCR 反应在 PE9600 上进行。扩增产物于 0.8% 琼脂糖凝胶上进行电泳分离。

统计和记录条带。以 Dice 系数计算所有参试样品间的遗传相似度, 计算公式为:  $S(ij) = 2a / (2a + b + c)$ , 其中, a 代表 i 和 j 共有的位点数, b 代表 i 有 j 无的位点数, c 代表 j 有 i 无的位点数。将每个样品作为一个分类运算单位 (OTU, Operational Taxonomic Unit), 采用 UPGMA 法 (非加权配对类平均法, Unweighted Pair-group Method Using Arithmetic Average) 进行聚类分析, 并依此构建聚类树形图。数据处理均采用 NTSYS-PC2.02 和 EXCEL 软件。

## 2 结果与分析

### 2.1 RAPD 分析

首先选用 4 个品种的模板 DNA 对 80 条随机引物进行了筛选, 其中 17 条获得清楚的、可重复的扩增产物, 将这些引物对全部 31 份材料进行扩增, 并对其扩增产物进行统计分析。扩增产物的长度多集中在 300~1 500 bp 之间, 最长的可达 3 000 bp (图 1 示引物 B20 的扩增图谱)。17 条引物在所有供试材料中共扩增出 153 条反应带, 其中多态带 149 条; 5 个野生种间共扩增出 106 条反应带, 多态带 104 条, 多态性频率为 98%; 品种间共扩增出 114 条反应带, 多态带 102 条, 多态性频率为 89%, 说明栽培品种间具有一定的保守序列, 因而具有较近的亲缘关系; 而野生种的扩增图谱却显示出它们具有丰富的多态性条带, 说明供试的 5 个野生种之间存在着较大的遗传差异, 亲缘关系疏远。

以引物 B20 的扩增图谱为例 (图 1), 可以看出, 川赤芍 (OTU27) 在 700 bp 处、块根芍药 (OTU28) 在 800 bp 处, 草芍药 (OTU31) 在 1 500 bp、3 000 bp 处均出现特异性条带, 这些特异性条带进一步揭示出 5 个野生种之间遗传差异明显。

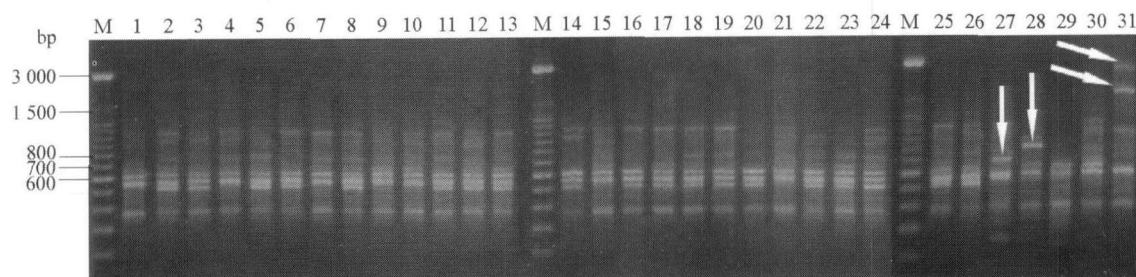


图1 引物 B20 在所有样品中的 RAPD 扩增图

M. Marker; 1~31 为样品编号, 详见表 1 和表 2。

Fig. 1 RAPD-PCR profiles of all samples using primer B20

M. Marker; Samples codes 1-31 see Table 1 and Table 2.

## 2.2 通过聚类结果分析品种和野生种之间的亲缘关系

将 17 条引物在 31 个样品中扩增的 153 条 DNA 条带采用 NTSYS 软件进行统计分析, 其聚类结果见图 2。为方便分析, 在两次跃变的中心作等级结合线 L1 和 L2。

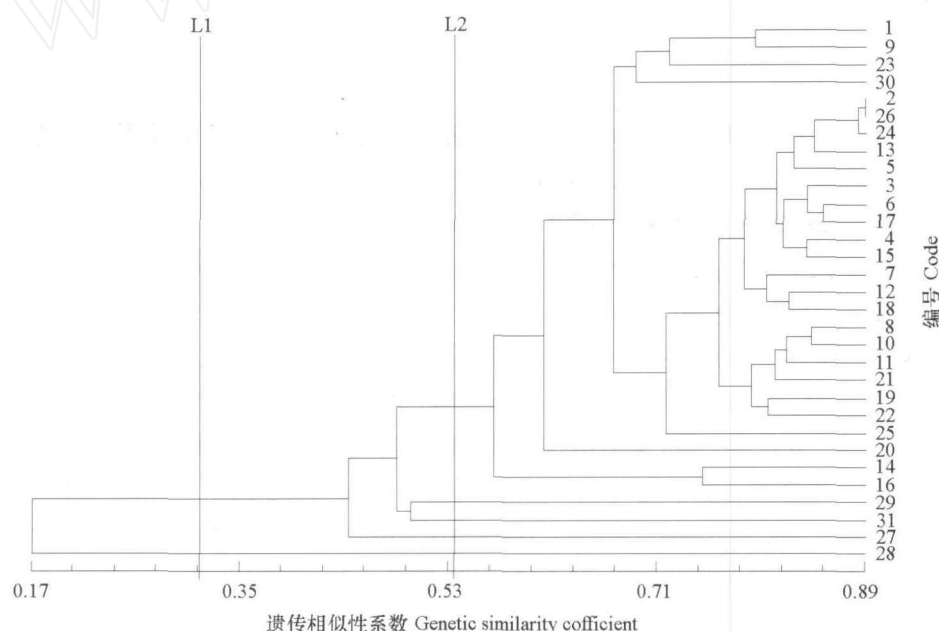


图2 根据 Dice 系数构建的 31 份材料的聚类图

Fig. 2 Dendrogram of 31 samples according to Dice coefficient

等级结合线 L1 ( $S=0.32$ ) 把 31 个分类单位分为两大类: 块根芍药 (OTU28) 自成一类, 其它的 30 个材料聚为一大类, 说明 5 个供试野生种中, 块根芍药与栽培品种的遗传距离最远, 遗传相似度最低。该结果与其地理分布及其形态学表现是一致的。块根芍药野生分布于我国新疆伊宁及阿尔泰地区 (洪德元 等, 1994; 秦魁杰和李嘉珏, 2000), 呈现窄域分布的特点, 与我国芍药品种的主要栽培区 (山东、河南、北京、江苏等) 没有接壤, 并且文献资料中也缺乏对其引种栽培的记载, 因而它几乎不可能与我国栽培芍药发生基因融合。形态特征上, 块根芍药较之于栽培芍药, 其最大的特殊性在于变态肥大的纺锤形根和多裂纤细的叶片, 这两个特征不仅为栽培种所缺乏, 而且供试的其它野生种中也罕见。

结合线 L2 ( $S=0.54$ ) 将第 2 大类进一步划分: 川赤芍 (OTU27)、草芍药 (OTU31) 和美丽芍药 (OTU29) 3 个野生种从中分别单独分离出来; 而所有供试品种未发生分离, 并且与野生种芍药 (OTU30) 紧密聚合在一起。该聚类结果意味着: (1) 供试所有栽培品种的遗传背景相对一致; (2)

栽培品种与野生种遗传基础最为相近, 因而其亲缘关系最密切; (3) 另外 3 个野生种则与我国栽培芍药的遗传组成差异较大, 亲缘关系较远, 根据聚类图中它们与栽培品种结合的先后顺序, 与栽培品种的亲疏关系由近到远依次为: 美丽芍药、草芍药、川赤芍。该结果与其形态学差异密切吻合: 川赤芍尽管广域分布且与栽培品种的主产区有重叠区域, 但其叶片多裂, 与栽培品种的全缘叶差异悬殊, 因而川赤芍成为块根芍药之后首先与栽培群体分离的野生种。草芍药、美丽芍药和芍药 3 个野生种的小叶尽管均不再多裂, 但小叶性状依然存在差异, 野生种芍药与栽培芍药群体的小叶性状最为相似, 均为狭卵形或椭圆形, 且其叶缘均具有骨质细齿这一相对独特的特征 (秦魁杰和李嘉珏, 2000), 因而我国栽培芍药与野生种芍药的关系最为密切。

### 3 讨论

#### 3.1 RAPD 标记在芍药种质资源研究中的分类价值

本研究利用 RAPD 标记清晰地揭示出野生芍药与栽培品种之间的遗传联系与差异, 该结果与建立在比较形态学数据之上的数量分类学结果基本一致 (郭先锋和王莲英, 2005), 说明 RAPD 标记可有效评价芍药种质资源种间水平上的亲疏关系, 而较早将 RAPD 技术应用于芍药遗传差异的研究也表明了该标记在种间水平上的分类价值 (Hosoki et al., 1997b)。

然而根据聚类结果, RAPD 标记在芍药品种分类中的价值却颇值得商榷。芍药品种的分类, 目前生产上主要以花型、花色作为主要的分类方法 (秦魁杰和李嘉珏, 2000), 本研究选择参试品种时兼顾花型、花色等性状的代表性, 期望能通过分子标记发现其在品种演化与分类中的联系价值。但品种间的聚类相对复杂, 图 2 中, 假使在聚类过程中的第 3 次跃变中心  $S = 0.64$  处作等级结合线  $L_3$ , 那么供试品种将被划分为 3 大类: ‘粉玉奴’ (OTU20) 独自聚为一类, ‘凤羽落金池’ (OTU14) 和 ‘粉珠盘’ (OTU16) 聚为另一类, 其它品种聚一类; 而植株外部形态较为特殊的 ‘黄金轮’ (OTU23, 该品种为现有栽培品种体系中花色唯一纯正黄色的品种, 并且其根、芽等营养器官均呈现一定的黄色), 并未如我们预期的那样从品种的聚类中尽早地完全分离出来, 而是较晚地与 ‘白玉盘’ (OTU1)、‘紫莲托金’ (OTU9) 分离成一类。对照表 1 中花部性状, 可以看出聚类结果与花型、花色没有必然的关联。前人等曾对同属的牡丹品种进行 RAPD 分析, 其结果表明品种的聚类位置亦与其花型、花色等并不一致 (Hosoki et al., 1997a; 陈向明 等, 2001), 而对芍药品种的 ISSR 分析亦表明品种的聚类位置与花型花色关联薄弱 (于恒秀 等, 2006)。作者分析认为: 由于芍药、牡丹均为异花授粉植物, 品种之间极易发生杂交变异, 因此其花型、花色等诸性状极可能存在多重的交叉演化, 导致建立在 RAPD 数据之上的品种聚类结果无明显规律可循。

#### 3.2 中国芍药品种栽培起源的探讨

正如前文所述, RAPD 聚类分析充分反映了芍药品种资源与 5 个供试野生种资源在分子水平上的遗传联系与差异, 该结果有助于我们结合其地理分布与主要形态差异更加深入地探讨中国芍药品种的栽培起源。

我国原产 8 种野生芍药, 其分布范围各自有别 (方文培, 1958), 其中多花芍药 (*P. emodi*)、白花芍药 (*P. sterniana*) 均只分布于西藏地区, 而新疆芍药 (*P. sinjiangensis*) 和块根芍药则只分布于新疆地区, 4 个野生种均呈狭域分布, 并且与栽培芍药的主要分布中心未有接壤; 此外, 迄今为止我国芍药主产区没有对其引种栽培的记载, 因此其遗传基因尚缺乏机会渗透到栽培品种中。本项目研究中, 由于经费条件等诸多限制, 我们未能勘察和引种采集到新疆芍药、多花芍药和白花芍药, 但块根芍药与栽培品种之间分子遗传距离最远的聚类结果在一定程度上支持了以上推断。

另外 4 个野生种, 即芍药、川赤芍、草芍药和美丽芍药的分布相对广泛, 并且与历史上或当今栽培芍药的集中分布区有重叠区域 (秦魁杰和李嘉珏, 2000), 影响栽培品种的形成, 是探讨栽培芍药

起源的研究重点。根据作者观测调查,在观赏植物进化过程中相对保守的根、叶等性状上,栽培品种显然与野生种芍药(*P. lactiflora*)趋于一致(表2),本研究中野生种芍药与栽培品种紧密结合的分子聚类结果更证明了这一点。这些证据表明,栽培芍药主要由芍药一个种演变而来,其演化过程推测如下:野生种芍药(*P. lactiflora*)分布广泛,具有较强的环境耐受力,适宜于引种栽培。经人类有意或无意的引种后,由于其异花授粉的习性,以及在不同生态条件下可能会发生多重变异,因此逐渐演变成目前的栽培体系并始终保持着一定程度的异质性;随着人类对观赏性状需求的提高,栽培品种在花型花色等性状方面的多样性更加突出。

### 3.3 通过野化育种改良中国芍药品种群的展望

栽培芍药起源和演化方式的探讨表明,利用相对远缘的野生种改良中国芍药品种尚具有广阔的育种空间。本研究中草芍药花型端庄内敛,川赤芍叶片多裂且裂片纤细,适应性强,块根芍药则不仅叶裂片更加纤细而且抗旱抗瘠薄能力尤为卓越,这些均是我国栽培芍药品种所缺乏的性状,因此,今后我国园艺工作者在开展芍药育种工作时,应充分重视这些野生种质资源甚至同属的其它野生种质资源,挖掘其潜在的利用价值,积极将其优良的基因引入,为这一传统名花的可持续发展奠定坚实的物质基础。

## References

- Chen Bing-luan, Hang Yue-yu, Zhou Yi-feng, Guo Ke-yue, Huang Chun-hong, Li Zheng. 2003. Genetic diversity and relationship of different populations of original plants of *Radix Paeonia alba*. *Journal of Plant Resources and Environment*, 12 (2): 17–21. (in Chinese)
- 陈丙銮, 杭悦宇, 周义锋, 郭可悦, 黄春洪, 李 正. 2003. 白芍传统品种原植物遗传多样性及亲缘关系分析. *植物资源与环境学报*, 12 (2): 17–21.
- Chen Xiang-ming, Zheng Guo-sheng, Zhang Sheng-wang. 2001. RAPD analysis of tree peony cultivars. *Acta Horticulturae Sinica*, 28 (4): 370–372. (in Chinese)
- 陈向明, 郑国生, 张圣旺. 2001. 牡丹栽培品种的 RAPD 分析. *园艺学报*, 28 (4): 370–372.
- Doyle J J, Doyle L. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem. Bull.*, 19: 11–15.
- Fang Wen-pei. 1958. Notes on Chinese paeonies. *Scientia Horticulturae*, 7 (4): 297–314. (in Chinese)
- 方文培. 1958. 中国芍药属的研究. *植物分类学报*, 7 (4): 297–314.
- Guo Xian-feng, Wang Lian-ying. 2005. Study on numerical taxonomy of Chinese cultivated herbaceous peonies and its related wild species. *Acta Horticulturae Sinica*, 32 (3): 473–476. (in Chinese)
- 郭先锋, 王莲英. 2005. 我国栽培芍药与几个近缘种的数量分类学研究. *园艺学报*, 32 (3): 473–476.
- Hong De-yuan, Pan Kai-yu, Li Xue-yu. 1994. *Paeonia* in Xinjiang, China. *Acta Phytotaxonomica Sinica*, 32 (4): 349–355. (in Chinese)
- 洪德元, 潘开玉, 李学禹. 1994. 新疆的芍药属. *植物分类学报*, 32 (4): 349–355.
- Hosoki T, Kimura D, Hasegawa R, Nagasako T, Nishimoto K, Ohta K. 1997a. Comparative study of Chinese tree peony cultivars by random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis. *Scientia Horticulturae*, 70: 67–72.
- Hosoki T, Nagasako T, Kimura D, Nishimoto K, Hasegawa R, Ohta K, Sugiyama M, Haruki K. 1997b. Classification of herbaceous peony (*Paeonia lactiflora*) cultivars by random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 65 (4): 843–849.
- Qin Kui-jie, Li Jia-jue. 2000. *Herbaceous peonies*. Shanghai: Shanghai Scientific & Technical Publishers. (in Chinese)
- 秦魁杰, 李嘉珏. 2000. 芍药. 上海: 上海科学技术出版社.
- Yu Heng-xiu, Wang Miao, Liang Guo-hua, He Xiao-di, Gong Zhi-yun, Sun Wei-juan. 2006. Preliminary identification of relationship among cultivars of *Paeonia lactiflora* Pall by ISSR analysis. *Plant Physiology Communications*, 42 (2): 271–274. (in Chinese)
- 于恒秀, 王 淼, 梁国华, 何小弟, 龚志云, 孙维娟. 2006. ISSR 引物鉴定芍药栽培品种之间亲缘关系的初步研究. *植物生理学通讯*, 42 (2): 271–274.
- Zhou Hong-tao, Hu Shi-lin, Guo Bao-lin. 2002. A study on genetic variation between wild and cultivated populations of *Paeonia lactiflora* Pall. *Acta Pharmaceutica*, 37 (5): 383–388. (in Chinese)
- 周红涛, 胡世林, 郭宝林. 2002. 芍药野生与栽培群体的遗传变异研究. *药学报*, 37 (5): 383–388.