

山楂 (*Crataegus pinnatifida* Bge.) 遗传多样性的 RAPD 和 ISSR 标记分析

代红艳^{1,2}, 郭修武^{1,2}, 张叶¹, 李媛媛^{1,2}, 李贺^{1,2}, 周传生², 张志宏^{1,2*}
(¹ 沈阳农业大学果树生物技术与遗传改良创新团队, 沈阳 110161; ² 沈阳农业大学园艺学院, 沈阳 110161)

摘要: 利用 RAPD 和 ISSR 标记对 35 份山楂 (*Crataegus pinnatifida* Bge.) 资源进行了 DNA 多态性分析。12 个 RAPD 引物共扩增出 110 条清晰的谱带, 其中 89 条显示多态性, 平均每个引物扩增出 7.4 条多态性谱带。13 个 ISSR 引物共扩增出 110 条清晰的谱带, 其中 94 条显示多态性, 平均每个引物扩增出 7.2 条多态性谱带。基于 RAPD 和 ISSR 标记, 利用 UPGMA 分别构建了 35 份山楂资源的聚类树状图。距离系数分别为 0~0.62 (RAPD) 和 0~0.64 (ISSR), 表明山楂具有较高的遗传多样性。

关键词: 山楂; RAPD; ISSR; 遗传多样性

中图分类号: S 661.5 文献标识码: A 文章编号: 0513-353X (2008) 08-1117-08

Genetic Diversity of *Crataegus pinnatifida* Bge. as Evaluated by RAPD and ISSR Markers

DAI Hong-yan^{1,2}, GUO Xiu-wu^{1,2}, ZHANG Ye¹, LI Yuan-yuan^{1,2}, LI He^{1,2}, ZHOU Chuan-sheng², and ZHANG Zhi-hong^{1,2*}

(¹ Team of Biotechnology and Genetic Improvement of Fruit Trees, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161, China; ² College of Horticulture, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161, China)

Abstract: The DNA polymorphism of thirty-five hawthorn accessions (*Crataegus pinnatifida* Bge.) were analyzed using randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) and inter-simple sequence repeat (ISSR) markers in the present study. Twelve RAPD primers generated a total of 110 clear and reproducible bands, of which 89 were polymorphic, with an average of 7.4 polymorphic fragments per primer. Thirteen ISSR primers generated a total of 110 clear and reproducible bands, of which 94 were polymorphic, with an average of 7.2 polymorphic fragments per primer. The dendrogram based on RAPD and ISSR data were constructed separately by using UPGMA analysis. The distance coefficient of the analyzed materials ranged from 0 to 0.62 and 0 to 0.64 for RAPD and ISSR markers, respectively. The results indicated that the *C. pinnatifida* species had high level of genetic diversity.

Key words: *Crataegus pinnatifida* Bge.; RAPD; ISSR; genetic diversity

山楂属 (*Crataegus* spp.) 植物广泛分布于亚洲、欧洲、中北美洲及南美洲的北部。全世界的山楂属植物约 200 个种 (Phipps et al., 2003), 起源于中国的山楂属植物有 18 个种和 6 个变种 (赵焕淳和丰宝田, 1996), 其中山楂 (*C. pinnatifida* Bge.) 是最主要的栽培种。山楂有众多变异类型, 仅从大果山楂变种 (*C. pinnatifida* Bge. var. *major* N. E. Br.) 中选育出的栽培品种就有数百个 (赵焕淳和丰宝田, 1996)。

虽然中国山楂资源研究工作开展较早, 但至今仍然主要是通过常规方法对山楂资源进行评价鉴

收稿日期: 2008-02-03; 修回日期: 2008-06-11

基金项目: 沈阳农业大学青年教师科研基金项目

* 通讯作者 Author for correspondence (E-mail: zhangz@syau.edu.cn)

定。RAPD 和 ISSR 标记都是基于 PCR 技术的分子标记, 具有操作简单、费用低廉、多态性强、DNA 用量少等优点 (Fowler et al., 1998; Qian et al., 2001; Mattioni et al., 2002; Kuras et al., 2004), 已被广泛应用于植物遗传图谱构建、亲缘关系分析和品种鉴定、遗传多样性分析等研究中 (Tikunov et al., 2003; Souframanien & Gopalakrishna, 2004; Meloni et al., 2006; 王志刚 等, 2007)。

本研究在探索建立并优化山楂 RAPD 和 ISSR 分析体系的基础上, 利用 RAPD 和 ISSR 标记对国家果树种质沈阳山楂圃保存的 35 份山楂资源进行分析, 为山楂核心种质的确定提供依据。

1 材料与方法

1.1 植物材料

以国家果树种质沈阳山楂圃种植保存的 35 份山楂 (*C. pinnatifida* Bge.) 资源为试材, 包括新宾软籽、开原软籽、垂枝山里红、大山里红、粉山里红等 5 个野生类型和 30 个在《中国果树志·山楂卷》(赵焕淳和丰宝田, 1996) 中有记载的不同类型的大果山楂 (*C. pinnatifida* Bge. var. *major* N. E. Br.) 栽培品种。同时以辽宁山楂 (*C. sanguinea* Pall.) 作为外群。

1.2 总 DNA 的提取

采用改进的 CTAB 法从山楂幼叶中提取总 DNA, 具体操作参见肖敏等 (2005) 的报道, 提取缓冲液中 CTAB 的浓度由 2% 提高至 3%。

1.3 RAPD 和 ISSR 扩增

RAPD 反应体积为 20 μL , 内含 1 \times PCR 反应缓冲液 (Promega), 2.0 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ MgCl_2 , 0.2 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ dNTP, 0.3 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 随机引物, 0.5 U *Taq* DNA 聚合酶 (Tiangen), 50 ng 总 DNA。扩增程序为 94 $^{\circ}\text{C}$ 30 s; 94 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 40 $^{\circ}\text{C}$ 2 min, 72 $^{\circ}\text{C}$ 3 min, 45 个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 7 min。

ISSR 反应体积为 20 μL , 内含 1 \times PCR 反应缓冲液 (Promega), 3.0 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ MgCl_2 , 0.2 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ dNTP, 0.3 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ISSR 引物, 0.5 U *Taq* DNA 聚合酶 (Tiangen), 50 ng 总 DNA。扩增程序为 94 $^{\circ}\text{C}$ 3 min; 94 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 退火温度 (通过温度梯度 PCR 筛选出的适宜温度) 1 min, 72 $^{\circ}\text{C}$ 2 min, 38 个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 7 min。

1.4 扩增产物检测和数据统计分析

用含 EB (0.5 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 的 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测扩增产物。在紫外透射仪 (UVP 3UVTM Transilluminator) 上观察电泳结果, 用数码相机记录凝胶图像。

RAPD 和 ISSR 的扩增产物以 0、1 统计。对清晰的带 (包括强带和清晰可辨的弱带), 在相同迁移位置上有带记录为 1, 无带记录为 0, 形成二元数据, 统计各引物的多态性位点, 建立由“0、1”组成的原始数据库。

采用 DPS (Data Processing System) 软件 (7.05 版), 按照 Nei & Li 系数 ($S_{ij} = 2N_{ij} / (N_i + N_j)$) 计算各个供试材料之间的相异系数, 然后基于非加权配对算术平均法 (unweighted pair group method using arithmetic average, UPGMA) 构建聚类树状图。

2 结果与分析

2.1 山楂遗传多样性的 RAPD 分析

2.1.1 RAPD 多态性在山楂上的表现

通过研究循环次数、反应体系中 Mg^{2+} 浓度、DNA 模板质量、*Taq* DNA 聚合酶的来源和浓度等因素对山楂属植物 RAPD 效果的影响, 建立并优化了山楂属植物 RAPD 分析体系。部分引物的扩增结果见图 1。

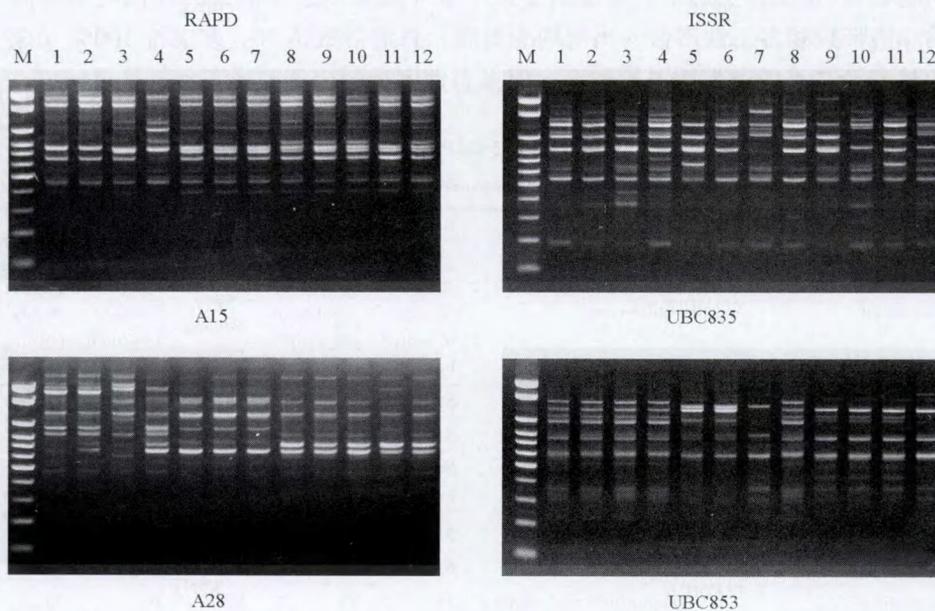


图 1 部分引物的山楂 RAPD 和 ISSR 扩增

M: 100 bp ladder; 1~12: 不同的山楂资源。

Fig. 1 RAPD and ISSR amplification products obtained from hawthorn

M: 100 bp DNA ladder; 1-12: Different hawthorn accessions.

根据谱带的多少、多态性、清晰性, 从 146 个 RAPD 引物中筛选出 12 个适宜于山楂遗传分析的引物 (表 1)。

12 个 RAPD 引物在 35 份山楂野生资源和栽培品种上共扩增出 110 条 250~2 100 bp 的清晰谱带, 其中 89 条显示多态性。平均每个引物扩增出 7.4 条多态性谱带, 多态性谱带的平均比例为 79.4% (表 1)。

表 1 RAPD 引物在 35 份山楂资源上的扩增结果

Table 1 Amplifications with RAPD primers in the 35 accessions of *C. pinnatifida*

引物 Primer	序列 Sequence	总谱带数 Number of scored bands	多态性谱带数 Number of polymorphic bands	多态性/% Polymorphism
A15	GGTGATGTCC	11	7	63.6
A56	TCGGCCTGCT	7	6	85.7
A17	GGTTGCCGT	11	9	81.8
A20	AGCACTGTCA	7	4	57.1
A28	GGGATCGTGT	12	11	91.7
A53	GATAGCCGAC	9	7	77.8
A70	TGCAGCACCG	5	4	80.0
A76	CCACAGCACT	6	5	83.3
A88	GAGCCCTCCA	16	16	100
A91	GTGCCTAACC	7	6	85.7
A95	TGCCCGTCGT	9	5	55.6
A96	CTCTCCGCCA	10	9	90.0
总计 Total		110	89	
平均 Average		9.2	7.4	79.4

不同的引物在 35 份山楂资源中扩增出的多态性谱带数和多态性谱带的比例均不相同, 其中引物 A88 扩增出的总谱带数和多态性谱带的比例均为最高, 总谱带数达 16, 多态性 100% (表 1)。

不同的山楂资源具有的谱带数差异较大, 但多态性谱带的比例差异不大 (表 2)。

表 2 供试山楂资源名称及 RAPD 和 ISSR 谱带的多态性

Table 2 Name of the *C. pinnatifida* accessions and polymorphism of RAPD and ISSR bands

代号 Code	资源名称 Name of accession	学名 Scientific name	RAPD			ISSR		
			总谱带数 Number of scored bands	多态性谱带数 Number of polymorphic bands	多态性/% Polymorphism	总谱带数 Number of scored bands	多态性谱带数 Number of polymorphic bands	多态性/% Polymorphism
1	新宾软籽 Xinbin Ruanzi	<i>C. pinnatifida</i>	57	49	86.0	51	43	84.3
2	开原软籽 Kaiyuan Ruanzi	<i>C. pinnatifida</i>	51	43	84.3	48	40	83.3
3	大山里红 Dashanlihong	<i>C. pinnatifida</i>	54	46	85.2	48	40	83.3
4	垂枝山里红 Chuizhi Shanlihong	<i>C. pinnatifida</i>	53	45	84.9	42	34	81.0
5	粉山里红 Fenshanlihong	<i>C. pinnatifida</i>	54	46	85.2	45	37	82.2
6	秋金星 Qiujinxing	<i>C. pinnatifida</i>	63	55	87.3	60	52	86.7
7	大金星 Dajinxing	<i>C. pinnatifida</i> var. <i>major</i>	57	65	87.7	61	53	86.9
8	磨盘 Mopan	<i>C. pinnatifida</i> var. <i>major</i>	58	50	86.2	52	44	84.6
9	聂家峪 1 号 Niejiayu 1	<i>C. pinnatifida</i> var. <i>major</i>	57	49	86.0	55	47	85.5
10	聂家峪 2 号 Niejiayu 2	<i>C. pinnatifida</i> var. <i>major</i>	51	43	84.3	52	44	84.6
11	辽红 Liaohong	<i>C. pinnatifida</i> var. <i>major</i>	56	48	85.7	55	47	85.5
12	甜水 Tianshui	<i>C. pinnatifida</i> var. <i>major</i>	56	48	85.7	58	50	86.2
13	秋红 Qihong	<i>C. pinnatifida</i> var. <i>major</i>	67	59	88.1	56	48	85.7
14	秋丰 Qiufeng	<i>C. pinnatifida</i> var. <i>major</i>	57	49	86.0	56	48	85.7
15	西丰红 Xifenghong	<i>C. pinnatifida</i> var. <i>major</i>	52	44	84.6	49	41	83.7
16	隆化粉肉 Longhua Fenrou	<i>C. pinnatifida</i> var. <i>major</i>	56	48	85.7	57	49	86.0
17	益都敞口 Yidu Changkou	<i>C. pinnatifida</i> var. <i>major</i>	59	51	86.4	58	50	86.2
18	山东红面山楂 Shandong Hongmian Shanzha	<i>C. pinnatifida</i> var. <i>major</i>	52	44	84.6	52	44	84.6
19	徐州大货 Xuzhou Dahuo	<i>C. pinnatifida</i> var. <i>major</i>	55	47	85.5	53	45	84.9
20	马刚红 Maganghong	<i>C. pinnatifida</i> var. <i>major</i>	57	49	86.0	57	49	86.0
21	吉林大旺 Jilin Dawang	<i>C. pinnatifida</i> var. <i>major</i>	60	52	86.7	57	49	86.0
22	溪红 Xihong	<i>C. pinnatifida</i> var. <i>major</i>	54	46	85.2	53	45	84.9
23	子母红 Zimuhong	<i>C. pinnatifida</i> var. <i>major</i>	55	47	85.5	53	45	84.9
24	集安紫肉 Ji'an Zirou	<i>C. pinnatifida</i> var. <i>major</i>	60	52	86.7	57	49	86.0
25	通辽红 Tongliaohong	<i>C. pinnatifida</i> var. <i>major</i>	56	48	85.7	55	47	85.5
26	雾灵红 Wulinghong	<i>C. pinnatifida</i> var. <i>major</i>	56	48	85.7	52	44	84.6
27	涧沟 2 号 Jianguo 2	<i>C. pinnatifida</i> var. <i>major</i>	58	50	86.2	55	47	85.5
28	紫珍珠 Zizhenzhu	<i>C. pinnatifida</i> var. <i>major</i>	57	49	86.0	51	43	84.3
29	滦红 Luanhong	<i>C. pinnatifida</i> var. <i>major</i>	63	55	87.3	56	48	85.7
30	古红 Guhong	<i>C. pinnatifida</i> var. <i>major</i>	54	46	85.2	54	46	85.2
31	叶赫山楂 Yeheshanzha	<i>C. pinnatifida</i> var. <i>major</i>	56	48	85.7	56	48	85.7
32	土谷 1 号 Tugu 1	<i>C. pinnatifida</i> var. <i>major</i>	56	48	85.7	59	51	86.4
33	黄宝峪 1 号 Huangbaoyu 1	<i>C. pinnatifida</i> var. <i>major</i>	55	47	85.5	56	48	85.7
34	豫北红 Yubeihong	<i>C. pinnatifida</i> var. <i>major</i>	52	44	84.6	55	47	85.5
35	菏泽大山楂 Heze Dashanzha	<i>C. pinnatifida</i> var. <i>major</i>	52	44	84.6	55	47	85.5
36	辽宁山楂 Liaoning Shanzha (对照 Control)	<i>C. sanguinea</i>	46	38	82.6	44	36	81.8

2.1.2 山楂种质资源遗传多样性的 RAPD 分析

35 份山楂资源的 Nei & Li 相异系数介于 0~0.63 之间。大果山楂 (*C. pinnatifida* Bge. var. *major* N. E. Br.) 栽培品种之间的相异系数相对较小, 其中辽红、甜水和隆化粉肉等 3 个品种在 110 条 RAPD 多态性谱带上完全一致, 它们之间的相异系数为 0。而大果山楂与山楂野生资源的相异系数较大。

基于 35 份山楂资源之间相异系数的矩阵, 利用 UPGMA 进行了聚类分析。从聚类结果 (图 2) 可以看出, 35 份山楂资源的距离系数在 0~0.62 之间。以距离系数 0.35 为标准, 供试的 35 份山楂资源可分为两大类: 第一类包括新宾软籽、开原软籽、垂枝山里红、大山里红和粉山里红等 5 个野生资源; 第二类包括供试的 30 个大果山楂栽培品种。以距离系数 0.22 为标准, 30 个栽培品种又可以分为 6 个亚类, 第一亚类包括秋金星、大金星、秋红、秋丰等 4 个品种; 第二亚类包括 22 个品种, 分别是: 徐州大货、马刚红、溪红、涧沟 2 号、通辽红、集安紫肉、滦红、古红、叶赫山楂、土谷 1 号、黄宝峪 1 号、豫北红、菏泽大山楂、磨盘、聂家峪 1 号、聂家峪 2 号、辽红、甜水、西丰红、隆化粉肉、益都敞口、吉林大旺; 在第三亚类至第六亚类中, 每个亚类只包含 1 个品种, 依次是: 山东红面山楂、紫珍珠、雾灵红、子母红。以辽宁山楂 (*C. sanguinea* Pall.) 作为外群, 验证 RAPD 结果可靠性, 聚类图中辽宁山楂位于系统树末端, 明显与山楂 (*C. pinnatifida* Bge.) 各类型不同, 亲缘关系远。聚类结果表明, 新宾软籽、开原软籽、垂枝山里红、大山里红和粉山里红这 5 个野生类型与栽培品种间的亲缘关系较远。

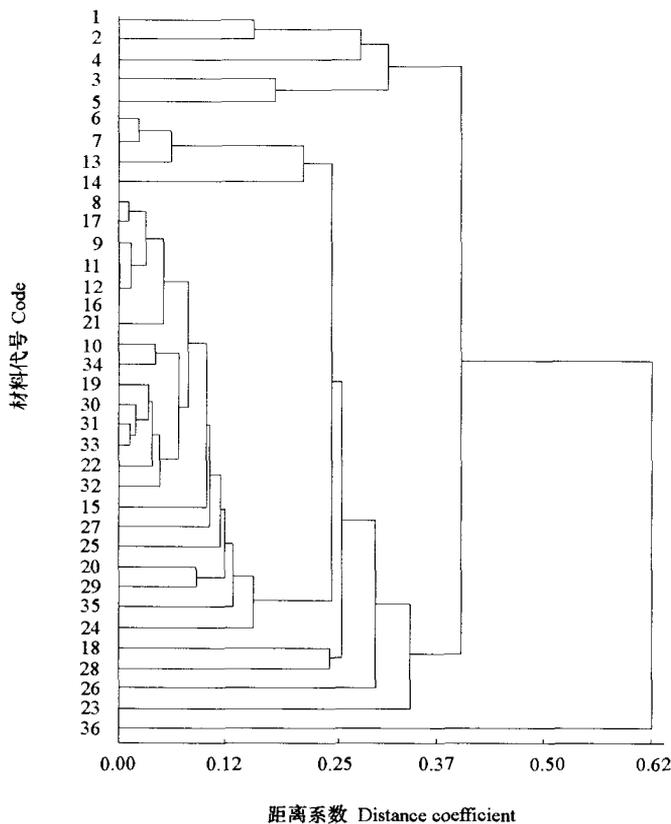


图 2 基于 RAPD 标记构建的山楂聚类树状图

材料代号同表 2。

Fig. 2 UPGMA dendrograms of the species *C. pinnatifida* using RAPD markers

Materials used are listed in Table 2.

2.2 山楂遗传多样性的 ISSR 分析

2.2.1 ISSR 多态性在山楂上的表现

通过研究退火温度、循环次数、反应体系中 Mg^{2+} 浓度、DNA 模板质量、*Taq* 酶的来源和浓度等对山楂属植物 ISSR 效果的影响, 建立并优化了山楂属植物 RAPD 分析体系 (代红艳 等, 2007), 部分引物的扩增结果见图 1。

根据谱带的多少、多态性、清晰性, 从 36 个 ISSR 引物中筛选出 13 个适宜于山楂 (*C. pinnatifida* Bge.) 遗传分析的引物 (表 3)。

13 个 ISSR 引物在 35 份山楂资源中共扩增出 110 条 340~2 100 bp 的清晰谱带, 其中 94 条显示多态性。平均每个引物扩增出 7.2 条多态性谱带, 多态性谱带的平均比例为 86.4% (表 3)。不同的引物在山楂资源中扩增出的多态性谱带数和多态性谱带的比例均不相同, 其中引物 UBC835 扩增出的总谱带数和多态性谱带均为最高, 总谱带数达 14, 多态性谱带数为 13。不同的山楂资源具有的谱带数差异较大, 但多态性谱带的比例差异不大 (表 2)。

表 3 ISSR 引物在 35 份山楂资源上的扩增结果
Table 3 Amplifications with ISSR primers in the 35 accessions of *C. pinnatifida*

引物 Primer	序列* Sequence	温度/℃ Temperature	优化的退火温度/℃ Optimum annealing temperature	总谱带数 Number of scored bands	多态性谱带数 Number of polymorphic bands	多态性/% Polymorphism
UBC810	(GA)8T	50	51	9	8	88.9
UBC811	(GA)8C	52	53	7	7	100
UBC824	(TC)8G	52	52	5	5	100
UBC834	(AG)8YT	53	53	5	5	100
UBC835	(AG)8YC	55	58	14	13	92.9
UBC840	(GA)8YT	53	58	9	8	88.9
UBC841	(GA)8YC	55	58	8	4	50.0
UBC853	(TC)8RT	53	50	11	11	100
UBC868	(GAA)6	48	52	3	3	100
SAU02	(AG)8YG	55	58	12	11	91.7
st-06	HVH(TGT)5	49	51	10	8	80.0
st-07	BDB(CAC)5	59	60	8	6	75.0
st-08	BDV(CAG)5	59	55	9	5	55.6
总计 Total				110	94	
平均 Average				8.5	7.2	86.4

* R = (A, G); Y = (C, T); B = (C, G, T); D = (A, G, T); H = (A, C, T); V = (A, C, G).

2.2.2 山楂种质资源遗传多样性的 ISSR 分析

35 份山楂资源的 Nei & Li 相异系数介于 0~0.62 之间。大果山楂栽培品种之间的相异系数相对较小, 而野生资源与栽培品种的相异系数均较大, 这与 RAPD 分析的结果一致。聂家峪 1 号与辽红在所有谱带上完全一致, 它们之间的相异系数为 0。

基于 ISSR 分析结果, 利用 UPGMA 对 35 份山楂资源进行了聚类分析, 结果 (图 3) 表明, 35 份山楂资源的距离系数在 0~0.64 之间, 以距离系数 0.36 为标准, 供试的 35 份山楂野生资源和栽培品种可分为 3 大类: 第一类包括新宾软籽、开原软籽; 第二类包括所有供试的 30 个栽培品种和野生资源大山里红; 第三类包括垂枝山里红和粉山里红。以辽宁山楂 (*C. sanguinea* Pall.) 作为外群, 验证 ISSR 结果可靠性, 从聚类结果 (图 3) 可以看出, 辽宁山楂位于系统树末端, 明显与山楂各类型不同, 亲缘关系较远。两个软籽山楂之间的亲缘关系很近; 秋金星、大金星和秋红之间的亲缘关系较近。

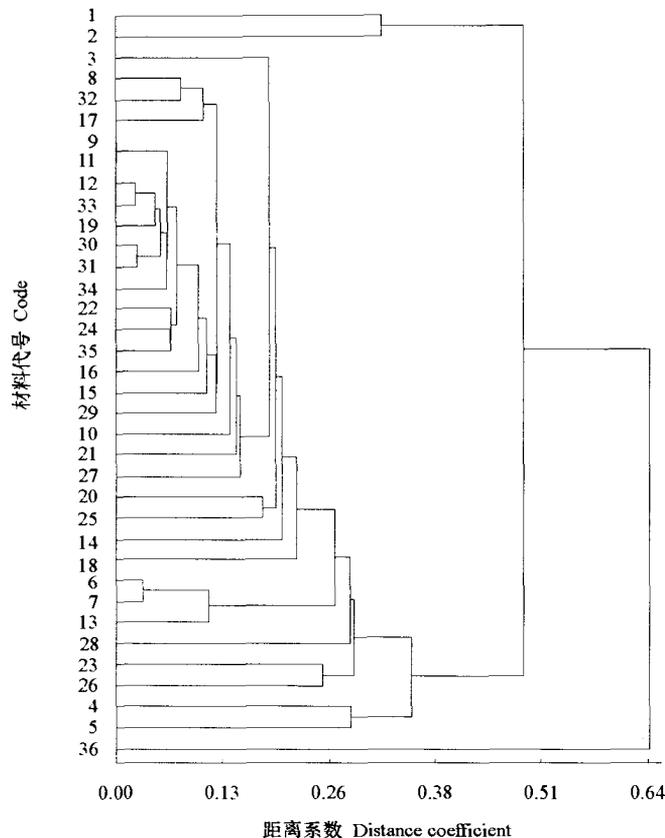


图 3 基于 ISSR 标记构建的山楂聚类树状图

材料代号同表 2。

Fig. 3 UPGMA dendrograms of the species *C. pinnatifida* using ISSR markers

Materials used are listed in Table 2.

3 讨论

3.1 山楂的遗传多样性

遗传多样性是珍贵的自然资源,是人类赖以生存的基础。一个物种的进化潜力和抵御逆境的能力取决于遗传变异的大小。遗传多样性越丰富,对环境变化的适应能力越强,其自然分布范围越广。全世界的山楂属植物包括 140~200 个种,其中起源于中国的山楂属植物有 18 个种和 6 个变种。山楂 (*C. pinnatifida* Bge.) 是中国最重要的山楂属植物,包含 3 个变种,分别是:大果山楂 (*C. pinnatifida* Bge. var. *major* N. E. Br.)、无毛山楂 (*C. pinnatifida* Bge. var. *psilosa* Schneid.) 和热河山楂 (*C. pinnatifida* Bge. var. *geholsensis* Schneid.) (赵焕淳和丰宝田, 1996)。山楂有着丰富的变异类型,其中大果山楂经过长期培育和选择,形成了丰富的品种资源。本研究利用 RAPD 和 ISSR 标记对国家果树种质沈阳山楂圃保存的 35 份山楂资源进行遗传多样性的研究,用 12 个 RAPD 引物和 13 个 ISSR 引物分别检测到 89 个和 94 个多态性位点,表明不同山楂种质资源之间的距离系数在 0~0.64 (ISSR) 或 0~0.62 (RAPD) 之间,这说明山楂存在较高的遗传多样性。

3.2 RAPD 标记与 ISSR 标记在山楂上的应用比较

不同的分子标记在同一种植物上得出的分类结果往往不同 (Ellis et al., 1998; Degani et al., 2001; Fernández et al., 2002; Kuras et al., 2004; Queen et al., 2004)。本研究结果表明,基于 RAPD 标记构建的山楂聚类树状图 (图 2) 与基于 ISSR 标记构建的山楂聚类树状图 (图 3) 有一定的差异。

在 RAPD 分析结果中, 山楂的几个野生资源首先聚为一类, 然后与大果山楂栽培品种等再聚在一起; 而在 ISSR 分析结果中, 山楂的几个野生资源分散在系统树中。因此, 与 ISSR 标记相比, RAPD 标记可能更适合于山楂的遗传变异分析。

References

- Dai Hong-yan, Zhang Zhi-hong, Zhou Chuan-sheng, Li He, Guo Xiu-wu. 2007. Establishment and optimization of the ISSR system in *Crataegus* spp. *Journal of Fruit Science*, 24 (3): 313–318. (in Chinese)
- 代红艳, 张志宏, 周传生, 李贺, 郭修武. 2007. 山楂 ISSR 分析体系的建立和优化. *果树学报*, 24 (3): 313–318.
- Degani C, Rowland L J, Saunders J A, Hokanson S C, Ogden E L, Golan-Goldhirsh A, Galletta G J. 2001. A comparison of genetic relationship measures in strawberry (*Fragaria × annanassa* Duch.) based on AFLPs, RAPDs, and pedigree data. *Euphytica*, 117: 1–12.
- Ellis T H N, Poyser S J, Knox M R, Vershinin A V, Ambrose M J. 1998. Ty1-copia class retrotransposon insertion site polymorphism for linkage and diversity analysis in pea. *Molecular and General Genetics MGG*, 260: 9–19.
- Fernández M E, Figueiras A M, Benito C. 2002. The use of ISSR and RAPD markers for detecting DNA polymorphism, genotype identification and genetic diversity among barley cultivars with known origin. *Theoretical and Applied Genetics*, 104: 845–851.
- Fowler E V, Houlden B A, Sherwin W B, Hoeben P, Timms P. 1998. Genetic variation in captive koalas (*Phascolarctos cinereus*): Pparentage determination and individual identification. *Biochemical Genetics*, 36: 193–206.
- Kuras A, Korbin M, Zurawicz E. 2004. Comparison of suitability of RAPD and ISSR techniques for determination of strawberry (*Fragaria × annanassa* Duch.) relationship. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 79: 189–193.
- Mattioni C, Casasoli M, Gonzalez M, Ipinza R, Villani F. 2002. Comparison of ISSR and RAPD markers to characterize three Chilean *Nothofagus* species. *Theoretical and Applied Genetics*, 104: 1064–1070.
- Meloni M, Perini D, Filigheddu R, Binelli G. 2006. Genetic variation in five Mediterranean populations of *Juniperus phoenicea* as revealed by inter-simple sequence repeat (ISSR) markers. *Annals of Botany*, 97: 299–304.
- Phipps J B, O'Kennon R J, Lance R W. 2003. Hawthorns and medlars. Cambridge: Timber Press.
- Qian W, Ge S, Hong D. 2001. Genetic variation within and among populations of a wild rice *Oryza granulata* from China detected by RAPD and ISSR markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 102: 440–449.
- Queen R A, Gibbon B M, James C, Jack P, Flavell A J. 2004. Retrotransposon-based molecular markers for linkage and genetic diversity analysis in wheat. *Molecular Genetics and Genomics*, 271: 91–97.
- Souframani J, Gopalakrishna T. 2004. A comparative analysis of genetic diversity in blackgram genotypes using RAPD and ISSR markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 109: 1687–1693.
- Tikunov Y M, Khrustaleva L I, Karlov G I. 2003. Application of ISSR markers in the genus *Lycopersicon*. *Euphytica*, 131: 71–80.
- Xiao Min, Zhang Zhi-hong, Dai Hong-yan, Yang Hong-yi, Li He. 2005. Enhancing the stability of detection of *Strawberry vein banding virus* by PCR. *Journal of Fruit Science*, 22 (5): 483–487. (in Chinese)
- 肖敏, 张志宏, 代红艳, 杨洪一, 李贺. 2005. PCR 检测草莓镶脉病毒的稳定性研究. *果树学报*, 22 (5): 483–487.
- Wang Zhi-gang, Zhang Zhi-hong, Li He, Gao Xiu-yan, Du Guo-dong, Tan Chang-hua. 2007. Identification of strawberry cultivars by RAPD and SCAR markers. *Acta Horticulturae Sinica*, 34 (3): 591–596. (in Chinese)
- 王志刚, 张志宏, 李贺, 高秀岩, 杜国栋, 谭昌华. 2007. 利用 RAPD 和 SCAR 标记鉴定草莓品种. *园艺学报*, 34 (3): 591–596.
- Zhao Huan-chun, Feng Bao-tian. 1996. China fruit-plant monograph · Hawthorn (*Crataegus*) flora. Beijing: China Forest Press. (in Chinese)
- 赵焕淳, 丰宝田. 1996. 中国果树志 · 山楂卷. 北京: 中国林业出版社.

欢迎订阅《河北果树》

《河北果树》是河北省果树学会主办的果树专业技术期刊, 主要刊登落叶果树的品种资源、栽培管理、病虫害防治、贮藏加工等方面的新成果、新技术、新知识和新信息。读者对象为果树科研和推广人员、农林院校师生、各级涉农领导和广大果农。国内外公开发行, 双月刊, 单月 15 日出版, 国际标准大 16 开, 64 页, 每期定价 5.00 元, 全年 6 期, 共 30.00 元。邮发代号 18–247。未能从邮局订上本刊的读者, 全年都可随时直接汇款至编辑部订阅, 免费邮寄。编辑部尚有 2002、2003、2004、2005、2006、2007 年合订本可邮购。欢迎投稿和发布广告。地址: 河北省昌黎果树研究所《河北果树》编辑部, 邮编: 066600, 联系电话: (0335) 2987632 (兼传真)