

观赏海棠‘王族’自然杂交后代的遗传多样性分析

沈红香^{1,2}, 赵天田², 宋婷婷², 姚允聪^{2,*}, 高俊平¹

(¹中国农业大学观赏园艺与园林系, 北京 100193; ²北京农学院植物科学技术学院, 北京 102206)

摘要: 利用叶、花形态性状分析及 AFLP 标记技术, 对 50 份‘王族’ (*Malus ‘Royalty’*) 观赏海棠的自然杂交后代进行遗传多样性分析。结果表明: 自然杂交后代叶和花 18 个形态指标的变异系数在 3.44% ~ 42.68% 之间, 其中托叶长、托叶宽、叶面积、叶片鲜样质量、花瓣宽、花梗长的变异系数在 20% 以上, 多样性特征显著。9 对 AFLP 分子标记引物共扩增得到 349 条带, 其中多态性条带 303 条, 占总数的 86.8%。Nei’s 遗传多样性指数在 0.24 ~ 0.36 之间, Shannon 信息指数在 0.36 ~ 0.53 之间。分析认为, ‘王族’自然杂交后代不论是在形态水平上还是在分子遗传水平上都具有丰富的多样性, 尤其是形态上的差异更为显著。这些变异为观赏海棠选择育种提供了良好材料。

关键词: 观赏海棠; 自然杂交后代; 遗传多样性; AFLP 分析

中图分类号: S 685.99

文献标识码: A

文章编号: 0513-353X (2011) 11-2157-12

Genetic Diversity Analysis in Natural Hybrid Progeny of Ornamental Crabapple, *Malus ‘Royalty’*

SHEN Hong-xiang^{1,2}, ZHAO Tian-tian², SONG Ting-ting², YAO Yun-cong^{2,*}, and GAO Jun-ping¹

(¹Department of Ornamental Horticulture and Landscape Architecture, China Agricultural University, Beijing 100193, China; ²College of Plant Science and Technology, Beijing University of Agriculture, Beijing 102206, China)

Abstract: Based on morphological characters and AFLP molecular markers, genetic variations were investigated in 50 natural hybrid progenies of ornamental crabapple, *Malus ‘Royalty’*. The results showed that there were significant plentiful morphological traits within the seedlings. The coefficient of variation ranged from 3.44% to 42.68% in the 18 morphological parameters of leaf and flower. Among them the parameter including stipule length and width, leaf area, leaf fresh weight, petal width or flower stalk length had a coefficient of variation above 20%, showing a significant morphological diversity. Based on AFLP markers, 9 primers were amplified into 349 bands and 86.8% (303 bands) of them were polymorphic. The Nei’s genetic diversity indices and the Shannon information indices were observed at the range of 0.24 - 0.36 and 0.36 - 0.53 respectively. The analysis indicated that there are large genetic variations in molecular level and, especially, in morphology characters of the natural hybrid progenies. These variations may provide advisable materials for the selection breeding of ornamental crabapple.

收稿日期: 2011-04-28; 修回日期: 2011-10-09

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31071785); 北京市人才强教—高层次人才计划项目 (PXM2007_014207_044560); 北京市科技新星人才培养项目 (2006B25)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: yaoyc_20@126.com)

Key words: ornamental crabapple; natural hybrid progeny; genetic diversity; AFLP

观赏海棠 (Ornamental crabapple) 是苹果属植物中最具观赏价值的种质资源 (张宁 等, 2007)。叶片颜色可分为 3 种类型: 常色红叶类、新叶红色类和绿叶类。观赏海棠品种 ‘王族’ (*Malus* ‘Royalty’) 是常色红叶类的代表 (郑杨 等, 2008), 叶色紫红, 花色艳红, 果实胎红 (俗称胎里红), 无融合生殖率低 (曲晓玲, 2006), 结实能力强, 抗寒抗旱, 观赏价值较高。这种类型的观赏海棠品种多数通过自然杂交选育而成, 以其为亲本的自然杂交后代遗传背景异常复杂, 变异类型丰富多样, 准确地把握这些变异, 对于观赏海棠杂交亲本的选择, 杂交后代的鉴定, 芽变形状的分析以及遗传多样性研究具有重要意义。

利用形态学或表型性状结合分子标记检测植物遗传变异, 在小麦 (Maccaferri et al., 2007)、玉米 (Dillmann et al., 1997)、水稻 (Zhang et al., 2010)、豆科植物 (Tantasawat et al., 2010) 等一年生植物上得到了应用。在木本植物上也有一些报道, 如张冬林等 (2008) 探讨了美国长木植物园黄杨种质之间的关系, 结合形态特征和分子标记将 20 个黄杨优良品种很清楚地分为 12 个栽培变种。Ben 等 (2009) 分别利用 RAPD 和表型方法研究了 27 份李子栽培品种的遗传多样性, 结果显示多样性非常显著。然而, 对于像 ‘王族’ 这样特殊类型的苹果属种质资源的遗传多样性, 以及以其为亲本的自然杂交后代的变异特征, 叶、花等观赏性状的变异特点, 还不十分清楚。为此, 作者曾以 ‘王族’ 为母本, 宝石 (*Malus* ‘Jewelberry’)、火焰 (*Malus* ‘Flame’)、凯尔斯 (*Malus* ‘Kelsey’)、草莓果冻 (*Malus* ‘Strawberry Parfait’)、海棠花 (*Malus spectabilis* Borkh) 等具有优良观赏性状的品种为父本, 自然杂交获得实生后代群体, 经过 6 年筛选, 确定了 112 个优株。本试验中把一些形态表现一致的植株去掉, 选择较为健壮、无病虫害、具有代表性的 50 个单株, 对其叶和花等形态性状及其变异进行测试, 利用 AFLP 技术进行遗传多样性分析, 以期阐明其形态多样性水平及遗传变异特征, 并为观赏海棠杂交新品种的早期筛选提供依据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

试材来自北京农学院观赏海棠资源圃, 是以 ‘王族’ (S51) 为母本, ‘宝石’ (S52)、‘火焰’ (S53)、‘凯尔斯’ (S54)、‘草莓果冻’ (S55) 和 ‘海棠花’ (S56) 等为父本, 自然授粉获得的 50 株 (S1 ~ S50) 实生后代, 株龄为 6 年生。于 2008 年从每份选定的单株上采集生长正常, 无病虫害的幼嫩叶片、功能叶和花朵盛开的花序, 迅速置于保鲜袋中, 用样品储藏箱带回实验室, 将功能叶片与花序用作形态指标测定, 幼嫩叶片置 -80 °C 低温冰箱保存, 用于基因组 DNA 的提取。

1.2 形态性状指标及其测试方法

对采集的杂交后代和母本 ‘王族’ 的样品, 用游标卡尺 (0.02 cm) 测量并计算叶长、叶最宽处宽、叶柄长、托叶长、托叶宽、叶面积、花瓣长、花瓣宽、花盛开直径、花梗长、花梗粗、花丝长、雌蕊长; 调查记录花朵数/花序、花瓣数/花朵、花丝数/花朵、雌蕊数/花朵; 用电子天平测量叶片鲜样质量; 以上指标均为 10 个重复。变异系数 = 性状标准差/性状平均值。在此基础上, 参考刘金等 (2008) 的方法, 对数量性状进行 10 级分类并赋值 (s 为标准差), 1 级 $< X - 2s$, 10 级 $\geq X + 2s$, 中间每级相差 $0.5s$, 每个性状视作一个位点, 将每个位点的不同变异转换为 1、2、3 等数字, 再将

变异类型格式化为 AA、BB 等基因型的字母格式, 用 PopgenV1.31 分析 Shannon-weaver 多样性指数 I 。参考彭焱松等 (2007) 的方法对 50 份杂交后代的 18 个形态性状作主成分分析。

1.3 AFLP 分析

采用改良 CTAB 法 (Murray & Themposon, 1999) 提取幼嫩叶片总基因组 DNA。AFLP 分析参考 Vos 等 (1995) 的方法稍作修改, 采用 *EcoR* I 和 *Mse* I 两种限制性内切酶, 银染技术参考 Promega 公司的方法。将图谱上清晰的条带记为“1”, 同一位置没有条带记为“0”, 生成“1”和“0”组成的原始矩阵。采用生物学统计软件 NTSYS-pc 2.10e 对分子标记数据进行处理; 参考李媛媛 (2003) 的方法对获得的分子标记数据进行遗传分析, 计算观察等位基因数、有效等位基因数、Nei's 遗传多样性指数、Shannon 信息指数等。

1.4 形态性状与分子标记的聚类分析

运用唐启义和冯明光 (2002) 的 DPS 数据处理系统 (v3.01 专业版) 对试材的 18 个形态性状作聚类分析。参考 Maccaferri 等 (2007) 的方法将形态数据标准化, 通过 NTSYS-pc 2.10e 软件计算相似系数。将 AFLP 数据录入 NTedit1.1b 后获得每对引物标记数据, 利用 NTSYS-pc 2.10e 计算相似系数, 以遗传相似系数为基础用 UPGMA 方法进行聚类分析。

2 结果与分析

2.1 自然杂交后代形态性状的变异分析

形态性状变异频率是性状遗传多样性的数量化体现, 变异系数越大, 在优异资源的选择方面的余地就越大 (王力荣 等, 2005)。

从表 1 和表 2 可以看出, ‘王族’自然杂交后代各形态性状存在不同程度的变异, 其中托叶宽变异最大, 变异系数为 42.68%, 变幅为 0.12 ~ 0.56 cm; 其次为叶片鲜样质量, 变异系数为 36.36%, 变幅为 0.37 ~ 2.43 g; 再次是托叶长和叶面积, 变异系数分别为 30.44%、23.89%。变异系数在 10.44% ~ 20.69% 之间的性状包括叶长、叶最宽处宽、叶柄长、花朵数/花序、花瓣长、花瓣宽、花朵盛开直径、花梗长、花梗粗、花丝长、花丝数/花朵、雌蕊长等。变异系数小于 10% 的性状包括雌蕊数/花朵 (9.37%) 和花瓣数/花朵 (3.44%)。

同样, F 检验结果表明, 7 个叶形态指标 (表 1) 与 11 个花形态指标 (表 2) 在自然杂交后代中的差异均达到了极显著的水平。从 Shannon-weaver 多样性指数 I 分析, ‘王族’自然杂交后代的 18 个形态性状的多样性指数均较高, 多样性指数最大的是托叶长为 2.07, 最小的是花瓣数/花朵为 1.22, 平均为 1.89。上述结果表明以观赏海棠‘王族’为母本的自然杂交后代在形态水平上具有丰富的变异。

表 1 观赏海棠‘王族’自然杂交后代叶形态性状变异分析

Table 1 Variations in leaf morphological characters of *Malus* ‘Royalty’ natural hybrid progenies

编号 No.	叶长/cm Leaf length	叶最宽处/cm Leaf width	叶柄长/cm Petiole length	托叶长/cm Stipule length	托叶宽/cm Stipule width	叶面积/cm ² Leaf area	叶片鲜样质量/g Fresh leaf weight
S1	9.62	4.40	1.84	1.05	0.53	28.98	1.97
S2	9.60	3.94	1.67	1.13	0.27	24.32	1.37
S3	7.24	2.84	1.38	0.53	0.11	12.89	1.01
S4	8.64	4.07	1.40	0.60	0.13	23.75	1.53
S5	7.71	3.96	1.57	0.46	0.11	20.02	1.15
S6	7.81	3.46	1.60	0.96	0.15	18.16	1.03
S7	8.17	4.15	1.36	1.13	0.53	22.19	1.41

续表 1

编号 No.	叶长/cm Leaf length	叶最宽处/cm Leaf width	叶柄长/cm Petiole length	托叶长/cm Stipule length	托叶宽/cm Stipule width	叶面积/cm ² Leaf area	叶片鲜样质量/g Fresh leaf weight
S8	7.71	3.88	1.58	0.87	0.16	19.86	1.18
S9	8.38	3.64	1.79	0.69	0.28	19.56	1.44
S10	7.31	2.67	1.68	0.80	0.14	12.50	1.00
S11	9.97	5.11	1.41	1.70	0.44	33.07	2.37
S12	6.90	3.82	1.64	1.11	0.26	17.52	1.21
S13	10.55	4.29	1.99	0.77	0.18	29.78	1.84
S14	8.44	4.05	1.45	0.94	0.34	22.31	1.56
S15	6.97	3.00	1.37	1.35	0.23	14.09	1.05
S16	8.32	3.76	1.49	1.03	0.24	19.95	1.32
S17	8.67	3.94	1.85	0.60	0.13	21.89	1.60
S18	8.59	4.21	1.56	1.08	0.27	24.33	1.99
S19	6.73	3.12	1.52	0.99	0.25	14.21	1.03
S20	8.58	3.78	1.41	1.36	0.34	20.62	1.51
S21	8.16	3.87	2.13	0.90	0.22	20.94	1.13
S22	8.27	3.83	1.70	1.08	0.32	21.48	1.65
S23	7.11	2.98	1.49	1.03	0.25	13.37	0.68
S24	7.07	3.21	1.54	0.52	0.23	14.85	1.15
S25	11.39	4.54	2.18	0.99	0.25	36.16	2.43
S26	7.75	3.30	1.83	0.55	0.15	18.06	1.33
S27	9.46	3.64	1.86	0.93	0.32	23.85	1.60
S28	8.89	4.39	1.95	1.11	0.38	23.03	1.69
S29	8.40	4.22	1.48	1.38	0.38	22.86	1.92
S30	8.32	3.96	1.77	0.76	0.30	20.66	0.48
S31	9.04	5.53	1.72	1.15	0.28	28.06	0.86
S32	9.32	4.42	1.44	1.28	0.29	29.56	1.10
S33	8.73	3.57	1.66	1.34	0.13	20.90	0.75
S34	9.71	4.82	1.63	1.31	0.50	29.96	1.18
S35	9.15	5.76	1.26	1.38	0.48	33.44	1.29
S36	8.65	4.21	1.83	1.33	0.29	22.80	0.92
S37	8.70	4.47	1.58	0.71	0.26	25.24	0.99
S38	7.31	3.85	1.50	0.83	0.19	18.54	0.53
S39	9.24	4.57	1.97	0.60	0.18	29.85	1.26
S40	7.86	3.96	1.85	1.51	0.43	20.92	0.63
S41	7.54	4.62	1.61	1.61	0.41	20.16	0.85
S42	8.78	3.79	1.50	1.04	0.37	21.99	0.86
S43	7.28	3.72	1.49	0.80	0.18	16.61	0.65
S44	8.56	4.69	1.83	1.40	0.56	26.21	1.02
S45	8.23	4.52	1.70	1.41	0.50	23.74	0.98
S46	8.13	4.28	1.49	0.94	0.41	23.36	0.81
S47	9.07	3.57	1.66	1.52	0.37	20.78	0.81
S48	7.80	4.00	1.38	1.41	0.46	19.59	0.88
S49	9.07	3.84	1.93	0.81	0.19	22.27	1.23
S50	8.57	4.02	1.67	0.78	0.19	22.78	1.99
S51	10.79	6.01	1.88	1.36	0.24	40.62	0.98
S52	7.23	4.74	1.90	1.07	0.38	16.87	0.37
S53	9.47	5.33	2.50	0.86	0.12	32.56	0.85
S54	7.22	4.85	1.96	1.07	0.23	21.46	0.54
S55	11.59	7.77	1.75	2.56	0.92	59.90	2.06
S56	10.34	7.20	2.04	0.74	0.20	49.94	1.43
平均值 Mean	8.43	4.00	1.64	1.03	0.29	22.24	1.24
标准差 <i>s</i>	0.96	0.61	0.21	0.31	0.12	5.31	0.45
CV/%	11.36	15.33	12.76	30.44	42.68	23.89	36.36
<i>I</i>	2.01	1.97	2.00	2.07	1.91	1.85	1.98
<i>F</i>	17.25**	17.75**	7.60**	16.69**	10.68**	18.13**	21.46**

表示 0.01 水平差异极显著。: 0.01 level extremely significant differences.

表 2 观赏海棠‘王族’自然杂交后代花形态性状变异分析

Table 2 Variations in flower morphological characters of *Malus* ‘Royalty’ natural hybrid progenies

编号 No.	花朵数/ 花序 FNI	花瓣数/ 花朵 PNF	花瓣长/ cm PETL	花瓣宽/ cm PETW	花朵盛 开直径/ cm DBF	花梗长/ cm PEDL	花梗粗/ cm PEDC	花丝长/ cm FL	花丝数/ 花朵 FN	雌蕊长/ cm PIL	雌蕊数/ 花朵 PIN
S1	5.80	5.00	2.26	1.73	3.32	4.31	0.10	1.34	19.20	1.34	4.60
S2	7.10	5.00	2.44	1.39	4.44	4.35	0.07	0.84	16.60	0.89	4.70
S3	6.40	5.10	2.03	1.40	3.72	3.48	0.08	1.20	19.40	0.96	4.30
S4	5.60	5.00	2.40	1.51	4.66	3.90	0.06	0.89	18.00	0.76	5.10
S5	4.70	5.00	1.49	0.88	2.72	3.71	0.06	0.77	18.90	0.69	3.20
S6	5.90	5.10	2.52	1.56	4.62	3.05	0.07	1.07	19.50	0.82	3.70
S7	5.60	5.00	2.08	1.73	3.02	3.45	0.09	1.09	17.90	0.90	4.50
S8	6.30	5.00	2.16	1.44	4.46	5.74	0.05	0.88	15.80	0.80	4.40
S9	4.30	5.00	2.24	1.51	4.37	4.03	0.09	1.15	17.40	1.35	4.90
S10	4.00	5.20	2.14	1.68	3.77	3.32	0.09	0.97	20.40	1.35	4.70
S11	5.30	5.40	2.08	1.56	3.70	4.30	0.08	1.17	18.70	1.02	4.80
S12	4.80	5.00	1.89	1.24	3.82	3.02	0.07	0.87	19.20	0.93	4.30
S13	4.60	5.10	1.48	1.06	3.25	2.90	0.07	0.83	22.30	0.88	4.10
S14	4.90	5.00	2.43	1.42	4.59	5.01	0.07	1.06	19.50	0.97	4.80
S15	4.70	5.90	1.69	1.23	3.57	2.74	0.07	0.95	19.30	0.93	4.70
S16	5.20	5.00	1.78	1.39	3.72	3.70	0.07	0.93	18.90	0.87	4.40
S17	4.00	5.00	2.22	1.69	4.07	3.84	0.09	0.95	18.90	0.99	5.00
S18	4.00	5.20	2.16	1.66	3.82	3.30	0.09	0.96	20.50	1.36	4.70
S19	5.30	5.20	2.77	2.04	4.93	3.93	0.09	1.43	20.60	1.47	4.30
S20	4.10	5.10	1.71	1.08	3.69	2.54	0.06	0.97	18.00	0.83	4.40
S21	5.10	5.10	2.04	1.60	3.49	4.14	0.11	0.99	20.90	1.14	4.60
S22	5.00	5.40	1.79	1.37	3.43	3.44	0.08	0.84	20.40	0.99	4.70
S23	4.10	5.20	2.23	1.37	3.00	2.55	0.07	1.12	18.60	0.95	4.60
S24	5.60	5.00	1.97	1.56	2.95	3.60	0.08	0.91	19.90	1.07	4.40
S25	5.10	5.10	2.02	1.23	3.99	2.58	0.07	0.84	19.60	0.98	4.70
S26	6.10	5.10	2.27	1.50	4.24	3.65	0.07	1.02	18.60	1.29	4.80
S27	5.70	5.00	2.02	1.19	4.23	3.58	0.07	0.96	18.80	0.82	4.50
S28	6.30	5.00	1.71	1.02	3.50	3.22	0.06	0.94	20.20	1.05	4.80
S29	5.00	5.00	1.67	1.20	3.45	2.87	0.07	0.32	14.30	1.04	4.80
S30	5.00	5.00	2.31	1.42	4.21	4.62	0.07	0.97	13.90	1.09	4.90
S31	3.70	5.00	1.70	1.20	3.47	2.98	0.06	0.93	19.90	0.92	4.10
S32	5.40	5.20	2.39	1.69	4.23	3.64	0.08	1.00	18.50	0.89	4.50
S33	5.10	5.20	3.35	2.46	4.01	3.23	0.09	0.92	10.20	1.29	4.50
S34	4.40	5.10	1.99	1.26	3.99	2.81	0.06	0.91	19.80	0.96	4.50
S35	5.50	5.10	1.91	1.36	3.39	3.45	0.07	0.89	18.90	0.95	4.30
S36	5.20	5.10	2.19	1.43	3.25	3.29	0.07	1.15	19.00	1.09	4.70
S37	7.10	5.00	1.63	1.13	1.72	1.85	0.09	0.89	20.00	0.81	3.10
S38	6.80	5.00	1.87	0.98	3.38	3.27	0.09	1.17	19.90	1.05	4.80
S39	5.60	5.00	2.05	1.53	3.61	4.12	0.07	0.85	18.50	0.75	3.70
S40	5.70	5.10	2.14	1.37	3.08	4.14	0.08	1.12	19.90	1.24	4.20
S41	5.30	5.00	1.23	0.79	3.19	3.59	0.11	0.89	18.00	1.27	4.20
S42	5.80	5.00	2.35	1.79	3.70	3.30	0.09	1.03	20.30	0.94	4.50
S43	7.30	5.10	2.13	1.31	4.20	4.55	0.08	1.23	19.80	0.94	4.40
S44	5.90	5.70	1.76	1.57	3.13	2.54	0.06	0.78	17.80	0.85	4.70
S45	5.50	5.00	1.82	1.24	3.89	3.86	0.08	0.83	20.40	0.92	5.30
S46	6.40	5.00	2.14	1.40	4.38	4.49	0.07	1.15	18.80	0.97	4.30

续表 2

编号 No.	花朵数/ 花序 FNI	花瓣数/ 花朵 PNF	花瓣长/ cm PETL	花瓣宽/ cm PETW	花朵盛 开直径/ cm DBF	花梗长/ cm PEDL	花梗粗/ cm PEDC	花丝长/ cm FL	花丝数/ 花朵 FN	雌蕊长/ cm PIL	雌蕊数/ 花朵 PIN
S47	5.00	5.00	2.57	1.64	4.79	4.19	0.08	1.25	19.80	1.33	4.60
S48	5.10	5.20	2.59	1.88	4.09	4.26	0.09	1.34	17.30	1.32	4.30
S49	5.90	5.10	2.29	1.52	4.50	4.88	0.08	1.19	19.30	1.35	4.70
S50	5.20	5.00	1.89	1.15	3.70	4.16	0.08	0.92	17.70	1.19	5.20
S51	3.60	6.00	2.06	1.38	4.07	3.51	0.08	1.15	20.00	1.11	4.00
S52	5.50	5.00	1.26	0.65	2.49	2.70	0.05	0.74	20.10	0.92	3.60
S53	4.10	5.00	1.59	1.06	2.82	2.29	0.07	0.84	17.90	0.85	4.20
S54	4.50	17.60	1.72	1.18	3.55	2.27	0.08	0.68	24.10	0.77	6.80
S55	6.50	5.00	1.70	1.23	3.59	3.22	0.08	0.98	19.40	0.92	3.30
S56	4.30	13.10	1.68	1.15	3.72	3.84	0.09	0.92	28.20	1.22	4.50
平均值 Mean	5.35	5.10	2.08	1.43	3.77	3.63	0.08	0.99	18.76	1.03	4.50
标准差 <i>s</i>	0.84	0.18	0.36	0.30	0.61	0.74	0.01	0.18	1.96	0.20	0.42
CV/%	15.69	3.44	17.47	20.69	16.13	20.31	16.85	18.36	10.44	19.03	9.37
<i>I</i>	2.00	1.22	2.01	1.99	1.99	1.94	1.92	1.85	1.69	1.96	1.70
<i>F</i>	22.21**	3.10**	88.61**	61.09**	47.79**	117.16**	25.09**	42.31**	15.48**	64.08**	6.37**

注: **表示 0.01 水平差异极显著。

Note: FNI: Flower number/inflorescence; PNF: Petal number/flower; PETL: Petal length; PETW: Petal width; DBF: Diameter of full blooming flower; PEDL: Pedicel length; PEDC: Pedicel coarseness; FL: Filament length; FN: Filament number; PIL: Pistil length; PIN: Pistil number. **: 0.01 level extremely significant differences.

2.2 自然杂交后代形态性状的主成分分析

从表 3 可以看出, ‘王族’ 自然杂交后代的 18 个形态性状的主成分分析中, 前 7 个主成分的累积贡献率达 80.04%。

第 1 主成分贡献率最大, 为 22.25%, 对应的特征向量中, 作用最大的性状依次是叶最宽处宽和叶面积。

第 2、3 主成分的贡献率分别为 16.31%、11.09%, 对应的特征向量中, 作用最大的性状依次是叶长和托叶长。

第 4 主成分的贡献率为 9.24%, 对应的特征向量中, 作用最大的性状依次是花丝数/花朵和叶柄长。

第 5、6、7 主成分的贡献率分别为 7.94%、7.20%、6.01%, 对应的特征向量中, 作用最大的性状依次是花朵数/花序、雌蕊数/花朵、花丝数/花朵。

第 1、2、3 主成分主要反映的是叶片形态特征, 第 5、6、7 主成分主要反映的是花形态特征, 第 4 主成分既反映了叶片形态特征也反映花形态特征。把各形态特征和供试材料展现在由第 1、第 2 主成分形成的坐标 (图 1) 中。

由图 1 可以看出, 母本 ‘王族’ (S51) 位于坐标原点的右上位置; 自然杂交后代可能的父本中 ‘宝石’ (S52)、‘火焰’ (S53)、‘凯尔斯’ (S54) 等位于坐标原点的右下侧, ‘草莓果冻’ (S55) 和 ‘海棠花’ (S56) 位于坐标原点的右上侧; 自然杂交后代则主要分布在横、纵坐标 -2.00 ~ 2.00 的范围内, 自然杂交后代与其可能的父本及 ‘王族’ 之间均存在不同程度的距离, 说明自然杂交后代在形态性状上发生了不同于亲本的变异, 并且变异丰富。

表 3 观赏海棠‘王族’自然杂交后代叶、花形态性状的主成分分析

Table 3 The principal component analysis in morphological characters of *Malus* ‘Royalty’ natural hybrid progenies

形态性状 Character	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7
叶长 Leaf length	-0.31	0.35	-0.24	0.10	0.06	-0.14	-0.09
叶最宽处 Leaf width	-0.37	0.26	0.04	-0.08	0.24	-0.10	-0.03
叶柄长 Petiole length	-0.11	0.13	-0.25	0.47	-0.05	-0.04	-0.17
托叶长 Stipule length	-0.13	0.30	0.41	-0.29	-0.04	0.11	0.06
托叶宽 Stipule width	-0.16	0.25	0.35	-0.21	0.24	0.34	0.00
叶面积 Leaf area	-0.36	0.34	-0.12	0.02	0.16	-0.18	-0.05
叶片鲜样质量 Fresh leaf weight	-0.20	0.16	-0.29	0.15	-0.19	0.32	0
花朵数/花序 Flower number/inflorescence	0.09	-0.14	-0.10	-0.14	0.58	0.08	-0.14
花瓣数/花朵 Petal number/flower	-0.08	0.16	0.28	-0.01	-0.33	-0.36	0.33
花瓣长 Petal length	0.35	0.29	-0.13	-0.13	0	-0.27	-0.13
花瓣宽 Petal width	0.30	0.30	0.03	-0.06	-0.10	-0.25	-0.26
花朵盛开直径 Diameter of full blooming flower	0.24	0.26	-0.33	-0.14	-0.02	-0.04	0.40
花梗长度 Pedicel length	0.23	0.17	-0.27	-0.06	0.36	0.15	0.18
花梗粗度 Pedicel coarseness	0.18	0.13	0.31	0.40	0.10	0.15	-0.37
花丝长度 Filament length	0.28	0.18	0.19	0.21	0.32	-0.17	0.31
花丝数量/花朵 Filament number	-0.11	-0.10	0.13	0.49	0.19	0	0.52
雌蕊长度 Pistil length	0.26	0.28	0.20	0.31	-0.10	0.21	-0.11
雌蕊数量/花朵 Pistil number	0.12	0.23	-0.13	-0.08	-0.27	0.56	0.19
特征值 Total	4.00	2.94	2.00	1.66	1.43	1.30	1.08
贡献率/% Contributive percentage	22.25	16.31	11.09	9.24	7.94	7.20	6.01
累计贡献率/% Cumulative contributive percentage	22.25	38.56	49.65	58.89	66.82	74.03	80.04

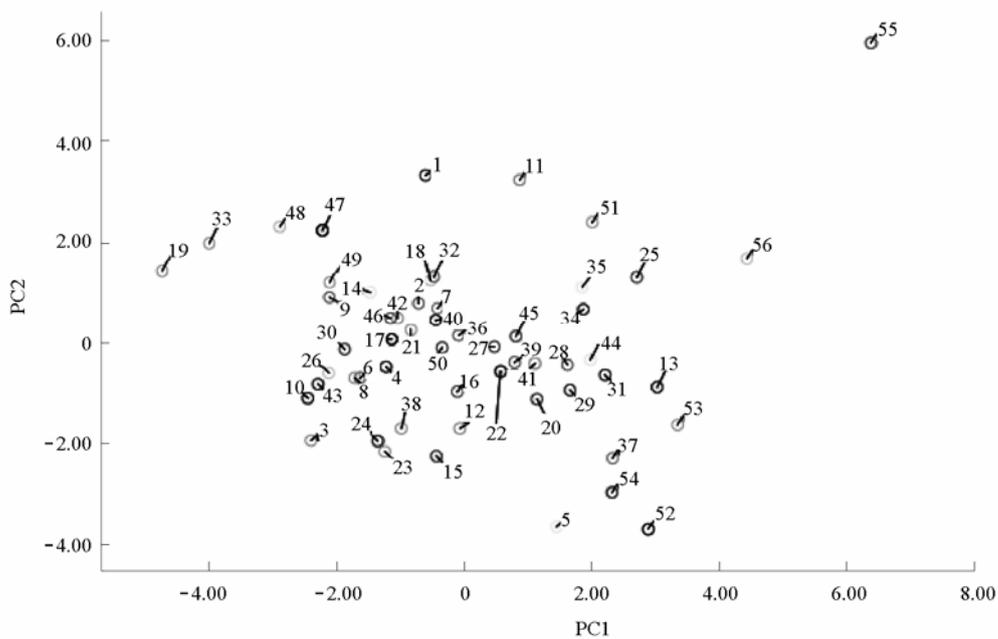


图 1 观赏海棠自然杂交后代及其亲本在前 2 个主成分空间上的散点图

Fig. 1 The scatterplots of the first two principal components of *Malus* ‘Royalty’ natural hybrid progenies

2.3 自然杂交后代 AFLP 遗传多样性分析

用筛选出的 9 对 AFLP 引物组合, 对供试材料基因组 DNA 进行扩增, NTSYS 软件计算得到自然杂交后代之间的遗传相似系数在 0.74 ~ 0.90 之间, 遗传距离在 0.07 ~ 0.24 之间。如表 4 所示, 50 株自然杂交后代共扩增出 349 条带, 其中多态性带 303 条, 占总带数的 86.8%, 平均每对引物组合产生 39 个位点和 34 个多态性位点, 多态性丰富。9 对不同引物检测证明‘王族’自然杂交后代的遗传多样性存在差异: 观察等位基因数在 1.67 ~ 2.00 之间, 有效等位基因数在 1.42 ~ 1.61 之间, Nei's 遗传多样性指数在 0.24 ~ 0.36 之间, Shannon 信息指数在 0.36 ~ 0.53 之间。其中, 引物组合 E-ACA/M-CAG 产生的多态性位点百分率最高, 为 95.65%, 同时该引物组合得到的观察等位基因数 (2.00)、有效等位基因数 (1.61)、Nei's 遗传多样性指数 (0.36)、Shannon 信息指数 (0.53) 都最高。产生位点数最多的引物组合是 E-ACC/M-CAC, 扩增出 46 个位点和 40 个多态性位点。多态性位点比率最低的引物组合是 E-AAG/M-CAG, 为 72.50%。上述结果说明‘王族’的自然杂交后代在基因组 DNA 水平上具有较高的多态性。

表 4 观赏海棠‘王族’自然杂交后代遗传多样性
Table 4 The genetic diversity of *Malus* ‘Royalty’ natural hybrid progenies

引物组合 Primer combinations	总带数 Total number of AFLP bands	多态性带数 Polymorphic bands	观察等位基 因数 N_o	有效等位基 因数 N_e	Nei's 遗传多 样性指数 H	Shannon 信息指数 I	多态性位点百 分率/% PPB
E-AAG/M-CTA	32	25	1.69	1.44	0.25	0.37	78.13
E-AAG/M-CAG	40	29	1.68	1.45	0.26	0.37	72.50
E-AAC/M-CTA	39	33	1.77	1.52	0.29	0.43	84.62
E-ACA/M-CTG	45	43	1.93	1.55	0.32	0.48	95.56
E-ACG/M-CAA	40	37	1.85	1.56	0.32	0.47	92.50
E-ACC/M-CAC	46	40	1.67	1.42	0.24	0.36	86.96
E-ACA/M-CAG	23	22	2.00	1.61	0.36	0.53	95.65
E-ACA/M-CTA	43	40	1.81	1.44	0.26	0.40	93.02
E-AAC/M-CAG	41	34	1.78	1.48	0.28	0.42	82.93
平均 Average	39	34	1.80	1.50	0.29	0.43	86.87

2.4 形态性状与分子标记的聚类分析

为了考察‘王族’自然杂交后代形态性状的分类情况, 利用 UPGMA 法对‘王族’及其自然杂交后代的 18 个形态性状进行聚类分析, 在欧氏距离 6.0 处可分为 6 组 (图 2, a)。第 I 组中包括 S1、S13、S31、S32、S34、S37、S39、S44, 它们在叶长、叶最宽处宽、叶柄长、叶面积等指标上大于大部分其它后代。第 II 组中包括 S11、S25 和 S35, 它们在叶长、叶宽、叶面积等指标上也较大, 尤其是 S25 叶长为 11.39 cm, 叶面积 36.16 cm², 在后代中最大。第 I、II 组的后代, 在多个叶片形态指标上都高于其它后代。第 III 组包括 29 株后代, 无论是在叶片形态性状上、还是在花形态性状上基本处于中间状态。第 IV 组包括 S8、S29、S30、S33, 其在花丝数量/花朵上明显低于其它后代, 但 S8 在花朵数/花序、花朵盛开直径上较高; S30 在花瓣长、花朵盛开直径等指标、S33 在花瓣长、花瓣宽等指标上较其它后代要高。第 V 组包括 S3、S10、S15、S19、S23、S24, 其叶片长、叶最宽处宽、叶面积等小于其它后代, 但花瓣数/花朵、花梗粗度较大。母本 S51 (王族) 单独聚为一组 (VI), 说明后代与其母本在叶、花形态性状上关系较远, 存在着显著差异。

同样的对‘王族’及其自然杂交后代的 AFLP 结果进行聚类分析 (图 2, b), 在相似系数 0.76 处可以分为 7 组。通过对比分析发现, 分子标记的聚类结果与形态性状的聚类结果具有一致性, 如

S31、S32、S39 在形态性状聚类中分为一组, 在分子标记聚类中也聚到了一起; 同样, S17、S21、S22 与 S41、S43、S48 等的形态性状和分子标记的聚类结果也较一致。但是 S1、S2; S22、S30; S6、S23; S4、S5、S19 等的形态性状与分子标记聚类结果存在着差异, 没有聚为一组。另外, 通过形态数据标准化后计算得到‘王族’及其后代叶形态性状相似系数为 0.04 ~ 0.57, 花形态性状的相似系数为 0.10 ~ 0.73, 而分子标记的相似系数为 0.74 ~ 0.90 (如图 2, b), 可以看出, 自然杂交后代之间以及后代与‘王族’之间在表型上的差异大于 DNA 水平上的差异。

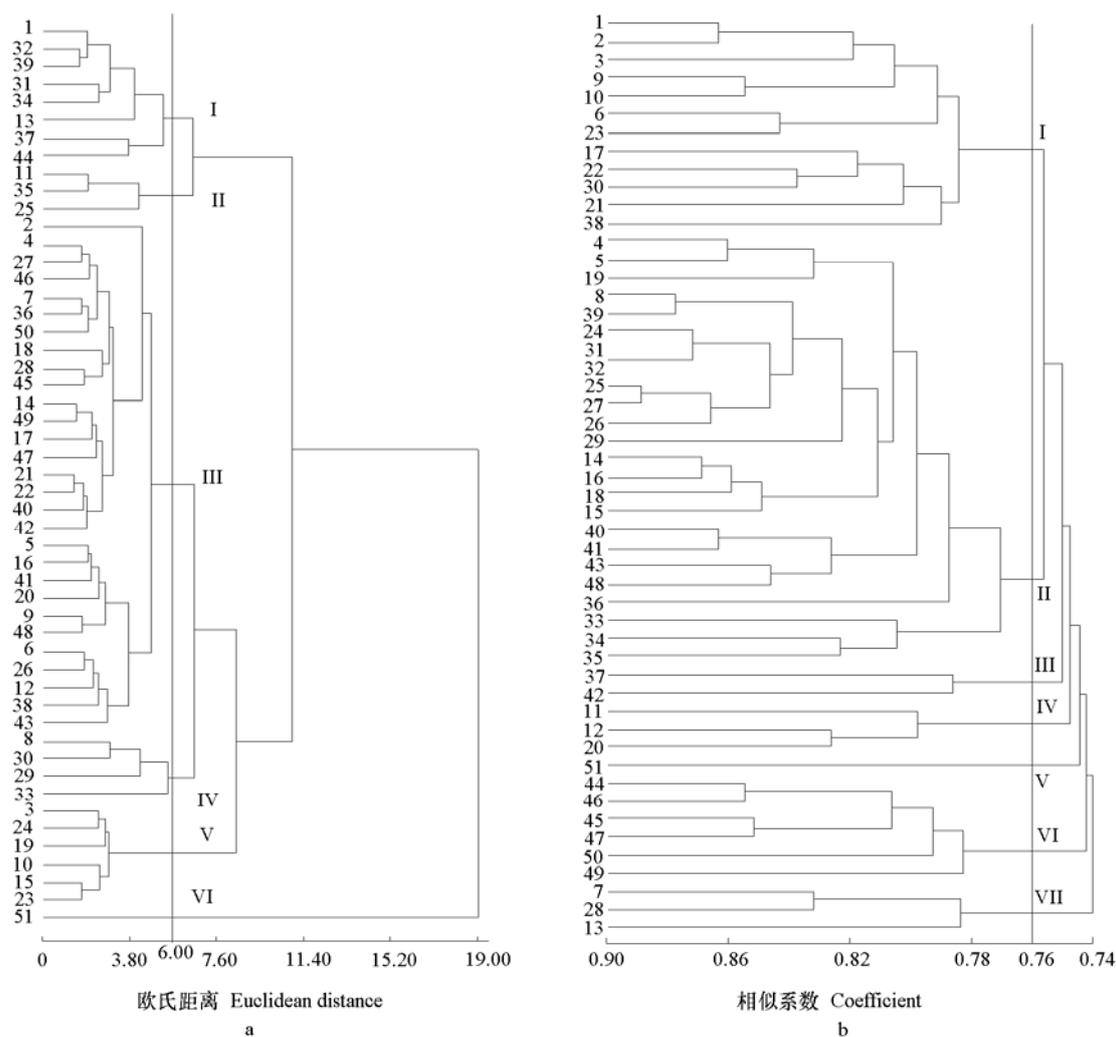


图 2 观赏海棠‘王族’自然杂交后代形态指标 (a) 及分子标记 (b) 聚类分析
Fig. 2 Dendrogram of cluster analysis based on morphological traits (a) and AFLP makers (b)

3 讨论

利用形态性状来评估植物的遗传变异是最常用的方法, 尤其是在短期内了解种质资源变异性时, 它不失为一种有价值的选择 (Schaal et al., 1991)。果树性状的遗传变异不同于 1、2 年生禾本科作物, 由于高度杂合, 其杂种实生苗性状的分离往往表现出丰富的多样性和复杂性, 尤其是一些数量性状的变异常常表现出连续性, 同时对环境条件比较敏感, 加大了后代的变异幅度。研究这

些性状的分离变异规律是杂交实生苗早期鉴定和预先选择的重要理论依据(李鹏丽等, 2003)。张小猜等(2009)对苹果杂交实生苗7个叶片性状指标进行了调查测定和统计分析, 邓继光等(1995)对1年生杂种李苗性状分离进行了研究, 结果均表明实生后代不同单株间植株性状、叶片性状均出现明显的分离, 性状变异幅度较大。本研究中‘王族’自然杂交后代的叶、花形态性状的分离也是如此, 除花瓣数/花朵、雌蕊数/花朵的变异系数小于10%外, 其它如托叶长、托叶宽、叶面积、叶片鲜样质量、花瓣宽、花梗长等性状的变异系数在20%以上, 叶最宽处宽、花朵数/花序、花瓣长、花朵盛开直径、花梗粗、花丝长、雌蕊长等的变异系数也超过15%, 一般认为变异系数大于10%就说明样本间的差异较大(白史且, 2002), 这说明‘王族’自然杂交后代叶、花形态性状总体水平上变异较大。自然杂交后代18个形态性状的Shannon-weaver多样性指数最大的是托叶长, 为2.07, 最小的是花瓣数/花朵, 为1.22, 平均达到1.89, 也说明‘王族’自然杂交后代的形态性状变异程度较高。另外, 通过自然杂交后代形态性状的主成分分析, 可以发现前7个主成分中居于第1、2、3主成分对应的特征向量中主要为叶片形态指标, 第5、6、7主成分对应的特征向量中主要为花形态指标, 说明叶形态指标比花形态指标变异相对较大。这些变异特征对于观赏海棠新品种的选育是十分重要的。

本研究中观赏海棠‘王族’自然杂交后代的AFLP遗传多样性分析表明, 其观察等位基因数(N_a)为1.80, 有效等位基因数(N_e)为1.50, Shannon信息指数(I)为0.43, Nei's遗传多样性指数(H)为0.29, 多态位点百分率(PPB)为86.87%, 与苹果属其它种质, 如山荆子8个天然居群[*Malus baccata* (Linn.) Borkh. $N_e = 1.3134 \sim 1.5585$] (陈曦等, 2008)、新疆野苹果[*Malus sieversii* (Ledeb.) Roem. $N_e = 1.4252$ 、 $I = 0.4082$ 、 $H = 0.2619$] (Zhang et al., 2007)、湖北海棠[*Malus hupehensis* (Pamp.) Rehd. $PPB = 74.927\%$] (康明和黄宏文, 2002)、变叶海棠[*Malus toringoides* (Rehd.) Hughes. $PPB = 86.59\%$] (石胜友等, 2006)等的遗传多样性相比较, ‘王族’自然杂交后代在多态性位点上等位基因具有较高的多样性, 遗传多样性水平较高。这可能与母本‘王族’自身的生物学特性有关。‘王族’自交率和无融合生殖率较低(曲晓玲, 2006), 通过杂交可以获得较高水平的遗传变异。赵天田等(2010)对‘王族’及其实生后代的AFLP特征条带分析也发现, 实生后代与母本‘王族’既具有一定的亲缘关系, 又产生了不同于母本的变异。

形态性状标记容易获得, 具有快速、直观的优点; 分子标记能够检测DNA水平上的变异, 理论上检测位点数无限, 具有多态性水平高和不受环境条件的影响等特点。但两种方法都有其局限性, 在进行植物种质资源的变异研究时将传统的形态学方法与分子标记方法相结合, 相互印证, 可提出更为科学的结论。本研究发现, ‘王族’自然杂交后代形态性状的聚类结果与分子标记的聚类结果既具有一定的一致性, 也存在差异。部分叶、花形态性状相近的后代同时具有较近的遗传关系, 而部分后代虽然形态性状相近但存在较远的遗传关系。

史红丽等(2009)利用分子标记对47份桃品种的遗传多样性进行了分析, 发现所得聚类分析结果与生物学特征虽有一定的相符性, 但也不完全一致。

张亚利(2010)对上海植物园杂交选育的木瓜海棠20个优良单株进行形态学和AFLP分类鉴别, 同样发现两者既具有一致性, 但也存在差异。原因可能是: AFLP聚类结果所体现的是种质间基因型的差异, 而形态性状表现的是某些功能基因在内部和外部环境的共同作用下表达的结果。另外, 叶、花形态性状相似系数均比分子标记相似系数要小, 说明自然杂交后代之间以及后代与母本之间在表型上的差异大于DNA水平上的差异。然而, 这些分析还是非常肤浅的。随着两方法结合对不同种质资源遗传多样性及后代分离规律研究的不断深入, 形态性状变异及分离规律将会不断地在DNA水平上得到回答。

References

- Bai Shi-qie. 2002. Study on the genetic diversity of centipede grass in China [Ph. D. Dissertation]. Chengdu: Sichuan University. (in Chinese)
- 白史且. 2002. 中国假俭草遗传多样性研究 [博士学位论文]. 成都: 四川大学.
- Ben T H, Baraket G, Ben M S, Marrakchi M, Trifi M, Salhi H A. 2009. Genetic relatedness among Tunisian plum cultivars by random amplified polymorphic DNA analysis and evaluation of phenotypic characters. *Scientia Horticulturae*, 121: 440 - 446.
- Chen Xi, Tang Geng-guo, Zheng Yu-hong, Wang Lei-hong. 2008. RAPD analysis of genetic diversity of *Malus baccata* (L.) Borkh. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 28 (10): 1954 - 1959. (in Chinese)
- 陈曦, 汤庚国, 郑玉红, 王雷宏. 2008. 苹果属山荆子遗传多样性的 RAPD 分析. *西北植物学报*, 28 (10): 1954 - 1959.
- Deng Ji-guang, Huang Qing-wen, Liu Feng-jun, Dai Han-ping, Gao Xiu-yan. 1995. A preliminary study on the triat segregation of one-year plum hybrid seedlings. *Journal of Shenyang Agricultural University*, 26 (4): 363 - 368. (in Chinese)
- 邓继光, 黄庆文, 刘凤君, 代汉萍, 高秀岩. 1995. 一年生杂种李苗性状分离研究初报. *沈阳农业大学学报*, 26 (4): 363 - 368.
- Dillmann C, BarHen A, Guerin D, Charcosset A, Murigneux A. 1997. Comparison of RFLP and morphological distances between maize *Zea mays* L. inbred lines consequences for germplasm protection purposes. *Theoretical and Applied Genetics*, 95: 92 - 102.
- Kang Ming, Huang Hong-wen. 2002. Allozymic variation and genetic diversity in *Malus hupehensis* (Rosaceae). *Biodiversity Science*, 10 (4): 376 - 385. (in Chinese)
- 康明, 黄宏文. 2002. 湖北海棠的等位酶变异和遗传多样性研究. *生物多样性*, 10 (4): 376 - 385.
- Li Peng-li, Shen Feng-lian, Mao Yong-min, Shen Lian-ying, Lu Jin-ying. 2003. The review of studies on genetic development of fruit tree traits. *Journal of Agricultural University of Hebei*, 26 (5): 53 - 56. (in Chinese)
- 李鹏丽, 申凤莲, 毛永民, 申连英, 鹿金颖. 2003. 果树性状遗传规律研究进展. *河北农业大学学报*, 26 (5): 53 - 56.
- Li Yuan-yuan. 2003. Studies on demographic and genetic structures of *Metasequoia glyptostroboides* populations [M. D. Dissertation]. Shanghai: East China Normal University. (in Chinese)
- 李媛媛. 2003. 水杉种群数量和遗传结构分析 [硕士学位论文]. 上海: 华东师范大学.
- Liu Jin, Guan Jian-ping, Xu Dong-xu, Zhang Xiao-yan, Gu Jing, Zong Xu-xiao. 2008. Phenotypic diversity of lentil (*Lens culinaris* Medik.) germplasm resources. *Journal of Plant Genetic Resource*, 9 (2): 173 - 179. (in Chinese)
- 刘金, 关建平, 徐东旭, 张晓艳, 顾竟, 宗绪晓. 2008. 小扁豆种质资源形态标记遗传多样性分析. *植物遗传资源学报*, 9 (2): 173 - 179.
- Maccaferri M, Stefanelli S, Rotondo F, Tuberosa R, Sanguineti M C. 2007. Relationships among durum wheat accessions. I. Comparative analysis of SSR, AFLP, and phenotypic data. *ProQuest Biology Journals*, 50 (4): 373 - 384.
- Murray M G, Themposon W F. 1999. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Research*, 7 (2): 117 - 122.
- Peng Yan-song, Chen Li, Li Jian-qiang. 2007. Study on numerical taxonomy of *Quercus* L. (Fagaceae) in China. *Journal of Wuhan Botanical Research*, 25 (2): 149 - 157. (in Chinese)
- 彭焱松, 陈丽, 李建强. 2007. 中国栎属植物的数量分类研究. *武汉植物学研究*, 25 (2): 149 - 157.
- Qu Xiao-ling. 2006. Studies on the biological characteristics of ornamental crabapples cultivars [M. D. Dissertation]. Tai'an: Shandong Agricultural University. (in Chinese)
- 曲晓玲. 2006. 观赏海棠基础生物学研究 [硕士学位论文]. 泰安: 山东农业大学.
- Schaal B A, Leverich W J, Bendich A J. 1991. Comparison of methods for assessing genetic variation in plant conservation biology // Falk D A, Holsinger K E. *Genetics and conservation of rare plants*. New York: Oxford University Press: 123 - 134.
- Shi Hong-li, Han Ming-yu, Zhao Cai-ping. 2009. Genetic diversity analysis of *Prunus persica* using SRAP and SSR markers. *Acta Agriculturae Boreali Sinica*, 24 (6): 187 - 192. (in Chinese)
- 史红丽, 韩明玉, 赵彩平. 2009. 桃遗传多样性的 SRAP 和 SSR 标记分析. *华北农学报*, 24 (6): 187 - 192.
- Shi Sheng-you, Cheng Ming-hao, Liang Guo-lu, Guo Qi-gao, Li Xiao-lin, Zhou Zhi-qin. 2006. Genetic diversity of *Malus toringoides* (Rehd.) Hughes based on AFLP. *Acta Horticulturae Sinica*, 33 (2): 381 - 384. (in Chinese)
- 石胜友, 成明昊, 梁国鲁, 郭启高, 李晓林, 周志钦. 2006. 变叶海棠遗传多样性的 AFLP 分析. *园艺学报*, 33 (2): 381 - 384.
- Tang Qi-yi, Feng Ming-guang. 2002. Dps data processing system for practical statistics. Beijing: Science Press: 332 - 355. (in Chinese)

- 唐启义, 冯明光. 2002. 实用统计分析及其 DPS 数据处理系统. 北京: 科学出版社: 332 - 355.
- Tantasawat P, Trongchuen J, Prajongjai T, Seehalac W, Jittayasothorn Y. 2010. Variety identification and comparative analysis of genetic diversity in yardlong bean (*Vigna unguiculata* spp. *sesquipedalis*) using morphological characters, SSR and ISSR analysis. *Scientia Horticulturae*, 124: 204 - 216.
- Vos P, Hogers R, Bleeker M, Reijans M, Lee T, Hornes M, Frijters A, Pot J, Peleman J, Kuiper M, Zabeau M. 1995. AFLP: A new technique for DNA finger printing. *Nucleic Acids Research*, 23 (21): 4407 - 4414.
- Wang Li-rong, Zhu Geng-rui, Fang Wei-chao. 2005. The evaluating criteria of some fruit quantitative characters of peach (*Prunus persica* L.) genetic resources. *Acta Horticulturae Sinica*, 32 (1): 1 - 5. (in Chinese)
- 王力荣, 朱更瑞, 方伟超. 2005. 桃种质资源果实数量性状评价指标探讨. *园艺学报*, 32 (1): 1 - 5.
- Zhang Chun-hong, Li Jin-zhou, Zhu Zhen, Zhang Ya-dong, Zhao Ling, Wang Cai-lin. 2010. Cluster analysis on *Japonica* rice (*Oryza sativa* L.) with good eating quality based on SSR markers and phenotypic traits. *Rice Science*, 17 (2): 111 - 121.
- Zhang Chun-yu, Chen Xue-sen, He Tian-ming, Liu Xiao-li, Feng Tao, Yuan Zhao-he. 2007. Genetic structure of *Malus sieversii* population from Xinjiang, China, revealed by SSR markers. *Journal of Genetics and Genomics*, 34 (10): 947 - 955.
- Zhang Dong-lin, Hu Dong-yan, Li Jian-hua, Tomasz Anisko. 2008. Relationship of *Buxus* L. accessions from Longwood Gardens based on morphological. *Journal of Central South University of Forestry and Technology*, 28 (4): 1 - 7. (in Chinese)
- 张冬林, 胡东燕, 李建华, 托马兹·安勒斯考. 2008. 从形态和分子特性来探讨美国长木植物园黄杨种质之间的关系. *中南林业科技大学学报*, 28 (4): 1 - 7.
- Zhang Ning, Shen Hong-xiang, Gao Xia-hong, Yao Yun-cong, Wang Yang, Feng Yong-qing. 2007. Phylogenetic relationship between ornamental and wild species of *Malus* in China. *Acta Horticulturae Sinica*, 34 (5): 1227 - 1234. (in Chinese)
- 张宁, 沈红香, 高遐红, 姚允聪, 王洋, 冯永庆. 2007. 苹果属部分观赏品种与中国野生种间亲缘关系的研究. *园艺学报*, 34 (5): 1227 - 1234.
- Zhang Xiao-cai, Zhao Zheng-yang, Fan Hong-ke, Dang Zhi-guo, Zhang Zhi-min. 2009. Study on the leaf trait segregation of apple hybrid seedlings and application in pre-selection. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 18 (5): 228 - 231. (in Chinese)
- 张小猜, 赵政阳, 樊红科, 党志国, 张志敏. 2009. 苹果杂种 F₁ 代叶片性状分离及早期选择研究. *西北农业学报*, 18 (5): 228 - 231.
- Zhang Ya-li. 2010. Identification and classification new germplasm of papaya crabapple based on morphological traits and AFLP markers. *Jiangsu Agricultural Sciences*, (4): 145 - 147. (in Chinese)
- 张亚利. 2010. 形态学性状及 AFLP 标记在木瓜海棠新种质鉴别和分类中的应用. *江苏农业科学*, (4): 145 - 147.
- Zhao Tian-tian, Shen Hong-xiang, Yao Yun-cong, Cao Qing-qin, Song Ting-ting. 2010. Identification of parentage of ornamental crabapple seedlings using AFLP markers. *Acta Horticulturae Sinica*, 37 (1): 121 - 128. (in Chinese)
- 赵天田, 沈红香, 姚允聪, 曹庆芹, 宋婷婷. 2010. 苹果属观赏海棠实生单株亲本 AFLP 鉴定. *园艺学报*, 37 (1): 121 - 128.
- Zheng Yang, Qu Xiao-ling, Guo Ling, Sun Fan-ya, Mao Zhi-quan, Shen Xiang. 2008. Advances on ornamental crabapple resources. *Journal of Shandong Agricultural University: Natural Science*, 39 (1): 152 - 160. (in Chinese)
- 郑杨, 曲晓玲, 郭翎, 孙凡雅, 毛志泉, 沈向. 2008. 观赏海棠资源谱系分析及育种研究进展. *山东农业大学学报: 自然科学版*, 39 (1): 152 - 160.