

利用 DNA 扩增片段序列对樱桃种质资源的遗传分析

蔡宇良^{1,2} 李珊³ 曹东伟¹ 钱增强¹ 赵桂仿^{1*} 韩明玉²

(¹西北大学生命科学学院, 西安 710069; ²西北农林科技大学园艺学院, 杨凌 712100; ³同济大学生命科学与技术学院, 上海 200092)

摘要: 从 130 个任意寡核苷酸引物中筛选出 48 个引物, 对 8 个樱桃种及 2 个种间杂交种的总 DNA 进行 PCR 扩增, 产生的多态性用于遗传分析。利用两种距离法进行系统发育分析, 并构建出种间及品种间亲缘关系的聚类图。结果表明, 扩增位点总数为 840 个; 23 个甜樱桃品种及 4 个酸樱桃品种各自聚为一类, 多态位点数分别为 569 和 247 个, 多态位点百分率分别为 67.74% 和 29.40%。毛樱桃、草原樱桃 (变种) 与欧李聚为单一组群; 中国樱桃与寇尔特亲缘关系较近, 聚为另一单一组; 甜樱桃、酸樱桃等其他种在亲缘关系上分歧较大; 樱桃种群间的遗传距离在 0.0623 ~ 0.2719 之间, 并且从分子水平上可以鉴别。聚类图聚类分析结果总体上与李属分类标准相一致。除甜樱桃 '红灯' 品种外, 均扩增出了 1 个以上的特有 RAPD 标记, 据此可以进行品种鉴定或杂种优良性状预选。

关键词: 樱桃; RAPD; 种; 品种鉴定; 亲缘关系

中图分类号: S 662.5 文献标识码: A 文章编号: 0513-353X (2006) 02-0249-06

Use of Amplified DNA Sequences for the Genetic Analysis of the Cherry Germplasm

Cai Yuliang^{1,2}, Li Shan³, Cao Dongwei¹, Qian Zengqiang¹, Zhao Guifang^{1*}, and Han Mingyu²

(¹School of Life Science, Northwest University, Xi'an 710069, China; ²College of Horticulture, Northwest A & F University, Yangling 712100, China; ³College of Life Science and Technology, Tongji University, Shanghai 200092, China)

Abstract: A PCR method using arbitrary oligonucleotide primers and total DNA was employed to analyze cherry germplasm polymorphisms. Out of 130 primers, 48 10-mer primers were selected and 8 cherry species and 2 interspecific progenies were analyzed. The phylogenetic analysis was carried out using two distance-matrix methods and a dendrogram was generated to show the relationships among species and cultivars. The results showed that there were 840 amplified loci in total; 23 sweet cherry and 4 sour cherry cultivars were clustered together with 569 and 247 polymorphic loci respectively which accounted for 67.74% and 29.40% of the total variation. *Prunus tomentosa* T., *P. fruticosa* var. *aucta* P. and *P. humilis* B. formed a monophyletic group. A close relationship between *P. pseudocerasus* L. and Colt, which formed another closely related group, was observed while *P. avium* L., *P. cerasus* L. and other cherry species were more divergent. The range of genetic distances was from 0.0623 to 0.2719 among *Prunus* species, which were genetically distinct. The topology of the tree was generally in agreement with taxonomical classification of *Prunus*. The results indicated that except sweet cherry 'Hongdeng' variety there were one or more cultivar-specific RAPD markers in cherry species and cultivars. Using these specific markers, cherry species and varieties could be identified and good characteristics of hybrids could be selected early.

Key words: Cherry; RAPD; Species; Cultivar identification; Genetic relationship

樱桃属蔷薇科, Webster^[1]等将其划归为李属 (*Prunus*), 俞德浚^[2]将其归于樱属 (*Cerasus*), 本文采用前者的分类方法。目前, 大樱桃主要包括甜樱桃和酸樱桃, 具有较大的生产发展前景。但是,

收稿日期: 2005-08-11; 修回日期: 2005-12-16

基金项目: 科技部国际科技合作项目 (CHN3319); 陕西省教育厅专项科研项目 (04JK162); 西安市科技攻关项目 (NG200303)

*通讯作者 Author for correspondence (E-mail: cyk1cx0673@sina.com)

由于栽培的不同,无性系和突变种在形态上很相似,生产上存在同物异名和同名异物现象。另外,我国野生樱桃种质资源丰富,但对野生樱桃种间遗传变异研究较少,已有研究主要从形态学、孢粉学、同工酶等方面进行分类鉴定,具有一定局限性^[1~4]。

RAPD技术^[5]已被应用于对葡萄、枣、核桃、梅、桃、李、杏等物种亲缘关系的遗传分析^[6~9],对野生樱桃的研究未见报道;关于利用RAPD技术鉴定樱桃品种的研究,本文涉及品种中除‘先锋’、‘那翁’、‘红灯’、‘红丰’、‘拉宾斯’和‘大紫’6个甜樱桃品种曾有研究报道^[10]外,其余品种的研究尚未见报道。本研究在广泛收集樱桃种质资源的基础上,利用RAPD分子标记,尝试利用系统发育分析方法揭示樱桃种质的种间遗传变异,探讨进行樱桃品种鉴定和分类的可行性,为进一步开展樱桃育种研究及生产利用奠定基础。

1 材料与方 法

供试的8个樱桃种及2个种间杂交种材料于2003年采自西北农林科技大学樱桃种质资源圃(表1),其中中国樱桃、黑樱桃、欧李、毛樱桃原产于中国,均为野生种。对于樱桃不同种,选择其典型的生态型,采用嫁接繁殖技术进行繁殖。对于亲本不详者,来源以引种地标出。

随机选取生长状况一致的品种及生态型的无性繁殖系个体5株,每株采集20片新鲜幼叶,迅速用硅胶干燥后带回实验室置于-80℃超低温冰箱中储存备用。采用改良2×CTAB法提取总DNA。筛选出48个任意寡核苷酸序列,每个引物长度为10 bp,由美国Operon公司合成。PCR扩增的反应体系总反应体积为20 μL,其中10×反应缓冲液[100 mmol·L⁻¹ KCl, 80 mmol·L⁻¹ (NH₄)₂SO₄, 100 mmol·L⁻¹ Tris-HCl, pH 9.0, 0.8% Nonidet P40] 2 μL, MgCl₂ (25 mmol·L⁻¹) 1.5 μL, dNTP (dATP、dTTP、dGTP、dCTP, 均为10 mmol·L⁻¹) 0.4 μL, 模板DNA (30 ng·μL⁻¹) 2 μL, 随机引物 (0.7 μmol·L⁻¹) 8 μL, Taq酶 (5 U·μL⁻¹, 上海Sangon) 0.4 μL, 超纯水 5.7 μL, 最后在反应混合液上覆盖20 μL矿物油。在T-Gradient Thermoblock (Biometra) PCR扩增仪上进行DNA扩增。反应程序为:96℃预变性5 min 30 s, 接着94℃变性1 min 30 s, 40℃复性1 min和72℃延伸2 min, 进行40个循环;最后72℃后延伸10 min。扩增产物用1.6%琼脂糖(含0.5 μg·mL⁻¹ EB)凝胶电泳分离。在UV光下检测扩增结果并通过Kodak Scientific Imaging Systems凝胶成像系统照相。

每个反应重复2次。利用“1”和“0”记录RAPD片段的“有”(显性)和“无”(隐性),获得0、1二元数据列。利用POPGEN32软件包分析樱桃的多态位点百分率,并估算种、品种间的遗传距离及遗传一致度。基于Nei遗传距离,采用UPGMA法及NJ法构建聚类图。因为Felsenstein自展检验程序被收录于PAUP软件,本文利用PAUP 4.0统计软件对系统进化树进行可靠性检验^[11]。

2 结果与分析

2.1 樱桃不同种和品种的DNA扩增结果

选用3个差异比较大的材料,对130个10 bp随机引物进行筛选,选出48个扩增带清晰、多态性明显的引物,对8个樱桃种以及两个种间杂交种进行PCR扩增。不同引物得到不同的RAPD产物图谱(图1,图2)。对于每个供试的品种及生态型的5个重复个体而言,扩增产物的DNA指纹图谱相一致,没有出现多态性,从分子水平上说明,无性繁殖(嫁接繁殖)不影响供试嫁接繁殖植株的遗传结构。对于不同樱桃种而言,扩增的DNA指纹总数为840个,DNA片段序列长度范围在100~2 977 bp之间,扩增产物表现出丰富的多态性。

2.2 樱桃种及种内品种特有RAPD标记

用48个引物分别对23个甜樱桃及4个酸樱桃品种的基因组DNA进行PCR扩增。扩增片段长度在100~2 977 bp之间,甜樱桃品种共扩增出DNA多态性位点569个,多态性位点百分率为67.74%。酸樱桃品种共扩增出DNA多态性位点247个,多态性位点百分率为29.40%。扩增片段长度在100~

2 533 bp 之间。

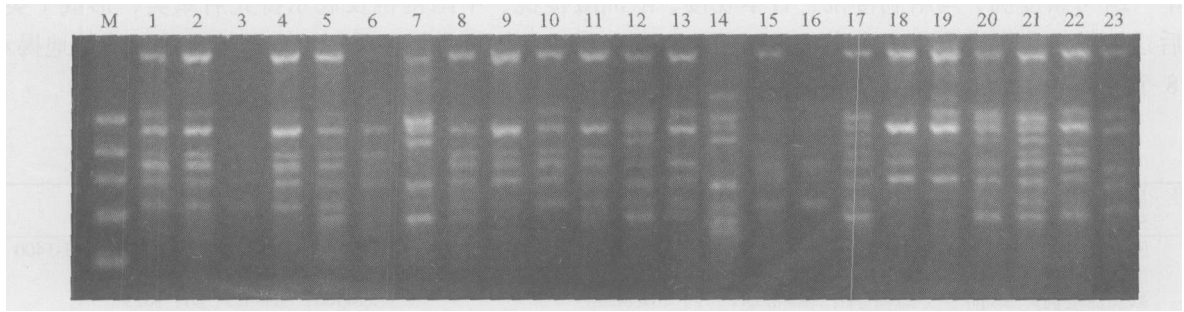


图 1 引物 OPY20 扩增的 RAPD 图谱

M: DNA 分子量标准, 100 bp DNA ladder ; 数字对应的品种见表 1。

Fig. 1 RAPD pattern amplified by primer OPY20

M: DNA marker, 100 bp DNA ladder , numbers refer to the cultivars listed in Table 1.

从表 1 可以看出, 35 个供试材料中, 有 34 个产生了特有带, 只 ‘红灯’ 品种没有扩增出特征带。不同品种所产生的特征带的数目有所不同。

甜樱桃 (品种) 共扩增出 83 个特征带, 酸樱桃 (品种) 共扩增出 13 个特征带, 其余种 (生态型) 共扩增出 24 个特征带。根据所检测到的每个品种及生态型的特征带, 利用两个以上的引物可以把供试的品种及生态型区分开。

2.3 樱桃种的遗传距离和遗传一致度分析

欧洲甜樱桃、欧洲酸樱桃、中国樱桃、马哈利樱桃、日本晚樱、黑樱桃、欧李、毛樱桃、草原樱桃 (变种) 和寇尔特种群间的遗传距离在 0.0623 ~ 0.2719 之间, 平均遗传距离为 0.1758, 其中马哈利樱桃与寇尔特之间的遗传距离最大 ($GD_{max} = 0.2719$), 甜樱桃与酸樱桃之间的遗传距离最小 ($GD_{min} = 0.0623$)。另外, 樱桃种间遗传一致度以马哈利樱桃与寇尔特之间最小 ($GI_{min} = 0.7619$), 甜樱桃与酸樱桃之间最大 ($GI_{max} = 0.9396$), 平均遗传一致度为 0.8400, 研究结果与遗传距离分析基本一致。

2.4 樱桃种及种内品种间的遗传距离聚类分析

基于 Nei 遗传距离, 并通过 PHYLIP 软件 (NEIGHBOR procedure of PHYLIP version 3.5) 校正, 计算枝长, 对 8 个樱桃种及 2 个种间杂交种的亲缘关系进行聚类分析。自展重复抽样次数为 1 000 次, 按照 50% 多数规则建立自展一致树^[11], 示出各分支的自展值大于 50% 的值。利用 UPGMA 法和 NJ 法所产生的聚类图在描述种间及品种间亲缘关系方面结果相似, 如图 3 所示, 樱桃种间聚类关系普遍支持率较高, 除毛樱桃、

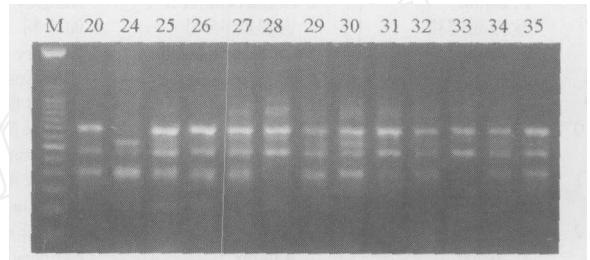


图 2 引物 OPB07 扩增的 RAPD 图谱

M: DNA 分子量标准, 100 bp DNA ladder ; 数字对应的生态型或品种参照表 1。

Fig. 2 RAPD pattern amplified by primer OPB07

M: DNA marker, 100 bp DNA ladder , numbers refer to the accessions or cultivars listed in Table 1.

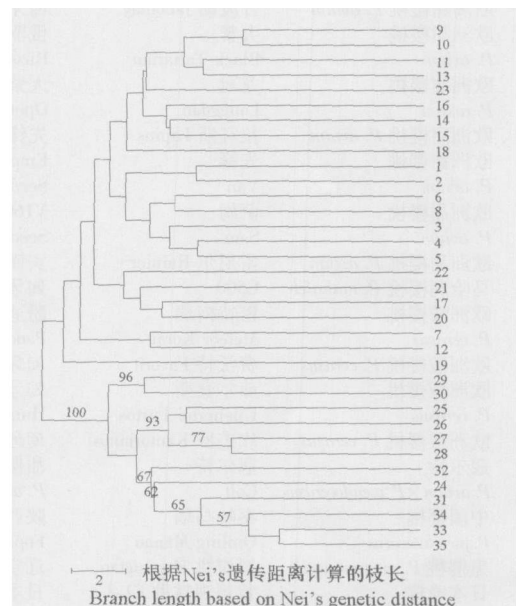


图 3 8 个樱桃种及两个种间杂交种群系统发育关系的聚类分析
代号见表 1; 图中数值为自展值百分率。

Fig. 3 Clustering ananlysis on phylogenetic relationships among 8 cherry species and 2 interspecific progenies

Cultivars code listed in Table 1. The numbers are the percentage of times the monophyletic group occurred in 100 bootstrap samples

Prob和欧李外, 自展值均高于 50%。毛樱桃、杂交种 Prob及欧李之间亲缘关系较近, 形成单一组群; 该单一组与黑樱桃、马哈利樱桃、日本晚樱、欧洲酸樱桃、中国樱桃及寇尔特先后聚类, 形成 1 类, 然后这 1 类与甜樱桃聚为 1 大类; 中国樱桃与杂交种寇尔特聚为另一单一组。系统进化树清楚地揭示了 8 个樱桃种和 2 个种间杂交种在系统演化中的相互关系。

表 1 樱桃品种或生态型特有 RAPD 标记

Table 1 Specific RAPD markers of cherry cultivars or accessions

编号 No	属种 Species belonged	品种或生态型 Variety or accession	来源 Origin	标记 Marker
1	欧洲甜樱桃 <i>P. avium</i>	韦勒弗 Valerif	匈牙利 Hungary	B01-1226, H20-1231, K01-326, K01-1400
2	欧洲甜樱桃 <i>P. avium</i>	斯墨来 Solymari	匈牙利 Hungary	C13-2631, C13-2977, K01-1333
3	欧洲甜樱桃 <i>P. avium</i>	海德芬根 Hedelfinger	德国 Germany	A08-500, D11-325, D11-1023
4	欧洲甜樱桃 <i>P. avium</i>	犹他巨红 Utah Giant	美国 USA	AD13-889, A01-978, A01-1925, C07-1113, G02-825
5	欧洲甜樱桃 <i>P. avium</i>	赛斯特 Celeste	先锋 × 新星 Van × New Star	AD11-1000, A01-1461, B12-2298, B13-341, G18-2700
6	欧洲甜樱桃 <i>P. avium</i>	吉墨斯 3 号 Germersdorfer 3	匈牙利 Hungary	AD11-934, B12-1390, C13-519, D02-252, D08-297
7	欧洲甜樱桃 <i>P. avium</i>	吉墨斯 45 号 Germersdorfer 45	匈牙利 Hungary	AD11-1971, A01-1700, D08-1095, G06-368, H20-1108
8	欧洲甜樱桃 <i>P. avium</i>	那翁 Napoleon	德国 Germany	C07-357
9	欧洲甜樱桃 <i>P. avium</i>	艳阳 Sunburst	先锋 × 斯坦勒 Van × Stella	A10-830, A01-2222
10	欧洲甜樱桃 <i>P. avium</i>	红灯 Hongdeng	那翁 × 黄玉 Napoleon × Governor Wood	-
11	欧洲甜樱桃 <i>P. avium</i>	佐藤锦 Sato Nishiki	黄玉 × 那翁 Governor Wood × Napoleon	D04-673
12	欧洲甜樱桃 <i>P. avium</i>	卡特林 Katalin	吉墨斯 × 波杰若 Germersdorfer × Podjebrad	AO15-291, C07-1113, D04-456, D04-800, H20-1800
13	欧洲甜樱桃 <i>P. avium</i>	黄玉 Governor Wood	美国, 克里夫兰 Cleveland, USA	A10-592, B07-1725
14	欧洲甜樱桃 <i>P. avium</i>	丽特 Linda	海德芬根 × 吉墨斯 Hedelfinger × Germersdorfer	C13-2377, K01-592
15	欧洲甜樱桃 <i>P. avium</i>	红丰 Hongfeng	山东烟台 Yantai, Shandong	A20-860, A07-663, B17-800, D20-472, G16-265, H20-1277, Y20-300
16	欧洲甜樱桃 <i>P. avium</i>	马吉特 Marjit	吉墨斯 3 号 × 贝克斯 Germersdorfer 3 × Bekescsaba	AD11-667, A01-675, A01-781, G02-1746, Y20-426
17	欧洲甜樱桃 <i>P. avium</i>	吉波勒 Jaboulay	匈牙利 Hungary	B01-715, B01-1040, B08-600, G02-925
18	欧洲甜樱桃 <i>P. avium</i>	大紫 Black Tartarian	俄罗斯 Russia	A10-675, A10-1517, AO15-351, D15-2744
19	欧洲甜樱桃 <i>P. avium</i>	龙冠 Longguan	大紫自然杂交种 Open-pollinated Black Tartarian	A10-1718, B13-554, B01-1278, C07-975, D08-465, Y20-254
20	欧洲甜樱桃 <i>P. avium</i>	拉宾斯 Lapins	先锋 × 斯坦勒 Van × Stella	D04-300, G16-347, H20-1462
21	欧洲甜樱桃 <i>P. avium</i>	先锋 Van	Empress Eugenie 自然实生苗 Seedling of Empress Eugenie	A09-829, D04-413, G06-472, G16-659
22	欧洲甜樱桃 <i>P. avium</i>	萨姆 Sam	V160140 自然实生苗 Seedling of V160140	B01-2111, D15-925, G02-250, Y20-249
23	欧洲甜樱桃 <i>P. avium</i>	雷尼尔 Rainier	宾库 × 先锋 Bing × Van	A19-1200, AH20-1132, G02-397
24	马哈利樱桃 <i>P. mahaleb</i>	C500	匈牙利 Hungary	A09-987
25	欧洲酸樱桃 <i>P. cerasus</i>	密特柯瑞 Meteor Korai	盼迪 × 拉戈安 Pandy × Nagy Angol	A20-425, AD11-731, A D1-1145, A D1-2000, AQ03-441, D02-1500, D02-1200, G02-635
26	欧洲酸樱桃 <i>P. cerasus</i>	费沃特 Favorit	匈牙利 Hungary	A20-2533
27	欧洲酸樱桃 <i>P. cerasus</i>	弗尔套斯 Ujfehertoi Furtos	匈牙利 Hungary	A07-1048, K01-1033
28	欧洲酸樱桃 <i>P. cerasus</i>	坎杰罗 Kantorjanosi	匈牙利 Hungary	A08-285, H13-1503
29	寇尔特 <i>P. avium</i> × <i>P. pseudocerasus</i>	寇尔特 Colt	甜樱桃 × 中国樱桃 <i>P. avium</i> × <i>P. pseudocerasus</i>	A19-294, AD16-300, D15-550, D15-675, D15-1173, D20-850
30	中国樱桃 <i>P. pseudocerasus</i>	秦岭马瑙 Qinling Manao	陕西佛坪 Foping, Shaanxi	A07-1754, B13-1411, D15-190, D20-790, Y20-1400
31	黑樱桃 <i>P. maximowiczii</i>	黑樱桃 Heiyingtao	辽宁本溪 Benxi, Liaoning	B12-805
32	日本晚樱 <i>P. semulata</i> var. <i>lannesiana</i>	栽培观赏种 E1-3	日本 Japan	A D1-552, A09-1627, B07-553, B07-758, C13-300, G16-261
33	草原樱桃 (变种) <i>P. fruticosa</i> var. <i>aucta</i>	Prob	马哈利樱桃 × 草原樱桃 <i>P. mahaleb</i> × <i>P. fruticosa</i>	G19-227
34	欧李 <i>P. humilis</i>	丽江欧李 Lijiang Ouli	云南丽江 Lijiang, Yunnan	A D1-750, C15-550, D11-934
35	毛樱桃 <i>P. tomentosa</i>	佛坪毛樱桃 Foping Maoyingtao	陕西佛坪 Foping, Shaanxi	D11-538

在聚类图中, 欧洲甜樱桃种的 23 个品种聚在一大类, 说明在品种间具有较近的亲缘关系。遗传距离在 11.60 阈值下可将其划分为 5 类。第 1 类包括 9 个品种, 进一步可分为 3 个亚类, 第 1 亚类包括 9、10、11、13、23 号品种; 第 2 亚类包括 14、15、16 号品种; 第 3 亚类为 18 号品种。第 2 类包括 7 个品种, 进一步可分为 2 个亚类, 第 1 亚类包括 1、2 号品种; 第 2 亚类包括 3、4、5、6、8 号品种。第 3 类包括 4 个品种, 进一步可分为 2 个亚类, 第 1 亚类为 22 号品种; 第 2 亚类包括 17、20、21 号品种。第 4 类包括 7、12 号品种。第 5 类为 19 号品种。欧洲酸樱桃种的 4 个品种聚在另一大类, 具有较近的亲缘关系。

3 讨论

3.1 樱桃品种鉴定及品种间亲缘关系

本研究中 PCR 扩增共产生了 816 条扩增带, 即共对樱桃品种的 816 个位点进行了检测, 表现出丰富的多态性, 其检测效率远高于同工酶、RFLP 等方法^[4,12]。Gerlach 等^[13]利用 56 个特异性 RAPD 标记鉴定了 14 个甜樱桃品种, 结果说明, 利用 RAPD 技术能够鉴定樱桃品种; Granger 等^[4]利用同工酶技术鉴定了甜樱桃品种及辐射突变种; Struss 等^[14]利用 AFLP 技术可以清楚地鉴别甜樱桃品种及筛选材料。而陈晓流等^[10]利用 RAPD 技术分析甜樱桃品种, 认为鉴定品种较为困难, 且在甜樱桃品种分析结论上与其它学者存在较大分歧。笔者认为这可以从其文中所说的“由于特异性扩增带的数量少甚至无, 使得根据 RAPD 指纹鉴定品种较为困难”去分析, 因为其采用的引物过少(只有 14 个), 结果产生的特异性条带少甚至无, 这可以用以下 6 个品种的扩增结果得到佐证, 当引物为 14 个时, 对‘先锋’、‘大紫’、‘红灯’、‘那翁’、‘红丰’以及‘拉宾斯’品种扩增出的特征带条数依次为 0、0、0、1、2、1; 而当引物为 48 个时, 上述品种扩增出的特征带条数依次为 4、4、0、1、7、3。王西平等^[6]的研究表明, 对于供试材料, 如果增大引物的数量, 最终都可以找到其特征带。从理论上讲, 如选用更多的引物进行扩增亦可寻找到‘红灯’品种的特异性标记。本研究结果说明, RAPD 技术可用于对樱桃品种鉴定和早期性状预选, 为解决樱桃栽培中存在的同名异物和同物异名问题提供理论依据, 结论与葡萄、桃等果树上的研究结果^[7-9]相一致。

从聚类图可以看出, 23 个甜樱桃品种聚为一大类, 4 个酸樱桃品种也聚为一类, 表现出与分类标准的一致性^[1]。在家谱中关系较近, 果树学性状相似的樱桃品种多聚为一类, 有较近的亲缘关系, 但由于品种多为人工杂交种或自然杂交种, 遗传背景较复杂^[1]。

3.2 野生樱桃种间亲缘关系

在李属分类上, 毛樱桃和欧李被划归李属樱亚属 *Microcerasus* 组^[1]。在本研究中毛樱桃和欧李与矮生灌木状生长的 *Prun* 聚为单一组群, 种间 Nei 遗传距离大小在 0.1040~0.1349 之间, 遗传差异小, 该结果与李属分类标准^[1]相一致。在聚类图中, 3 个中国野生樱桃种——毛樱桃、欧李和黑樱桃先聚为一支, 说明地理起源地相近的野生樱桃种间具有较近的亲缘关系, 结论与罗素兰等^[9]对野生葡萄的研究结果相一致。

寇尔特为甜樱桃和中国樱桃的种间杂交种, 可用于解释在聚类图上其与中国樱桃聚为单一组, 然后与甜樱桃聚为一类的聚类关系, 说明寇尔特的遗传基因分别来自双亲, 与 Granger 等^[4]对樱桃的分析结果相一致。

酸樱桃与中国樱桃先聚为一类, 然后与甜樱桃聚类, 这表明酸樱桃与甜樱桃在亲缘关系上联系较紧密, 该结论与传统分类认为酸樱桃起源于甜樱桃的观点^[1,2,15]相一致。在地理起源方面, 甜樱桃与中国樱桃起源地不同^[1,2], 但聚类分析结果发现, 中国樱桃与甜樱桃在系统进化树上最后聚在一起, 具有较密切的亲缘关系。另外, 从染色体倍性来分析, 毛樱桃、马哈利樱桃、日本晚樱均为二倍体, 酸樱桃为四倍体, 中国樱桃也为四倍体, 甜樱桃种包含二倍体、三倍体和四倍体^[1,2], 种的倍性水平与系统进化树结构协调一致, 进一步说明中国樱桃与甜樱桃在遗传上比其他种联系更紧密, 该结果与

Malusa等^[15]研究结果相一致。以上分析结果说明,通过系统进化树所揭示的樱桃种间亲缘关系与现有樱桃的基本分类框架相一致^[1],利用DNA扩增片段序列可以有效地进行樱桃种质资源亲缘关系的遗传分析,从分子水平揭示种间系统发育的关系。

参考文献:

- 1 Webster A D, Looney N E. Cherries: crop physiology, production and users. Wallingford: CAB international, 1996. 513p
- 2 俞德浚. 中国植物志 第38卷. 北京: 科学出版社, 1986. 46~87
Yu D J. China flora Vol 38. Beijing: Science Press, 1986. 46~87 (in Chinese)
- 3 Szabo Z, Vaczi E F, Csoma E, Kun Z, Nyeki J. Morphological characteristics of the flowers of some sour and sweet cherry varieties. Acta Hort ISHS, 1996, 410: 127~131
- 4 Granger A R, Clarke G R, Jackson J F. Sweet cherry cultivar identification by leaf isozyme polymorphism. Theor Appl Genet, 1993, 86: 458~464
- 5 Williams J G K, Kubelik A R, Livak K J, Rafalski J A, Tingey V. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nuc Acid Res, 1990, 18 (22): 6531~6535
- 6 王西平, 王跃进, 周 鹏, 郑学勤. 葡萄种间杂交 F₁代的 RAPD 分析. 西北农林科技大学学报 (自然科学版), 2002, 30 (6): 81~84
Wang X P, Wang Y J, Zhou P, Zheng X Q. RAPD analysis in F₁ progeny from a grape interspecific crossing. J. of Northwest Sci-Tech Univ of Agri and For (Nat Sci Ed), 2002, 30 (6): 81~84 (in Chinese)
- 7 彭建营, 束怀瑞, 孙仲序, 彭士琪. 中国枣种质资源的 RAPD 分析. 园艺学报, 2000, 27 (3): 171~176
Peng J Y, Shu H R, Sun Z X, Peng S Q. RAPD analysis of germplasm resources on Chinese date. Acta Horticulturae Sinica, 2000, 27 (3): 171~176 (in Chinese)
- 8 程中平. 利用分子标记对桃、李、梅、樱类植物系统发育的分析. 中国南方果树, 2003, 32 (3): 45~50
Cheng Z P. Phylogenetic analysis of *Amygdalus*, *Prunus*, *Amelanchier*, *Malus* and *Cerasus* plants based on RAPD markers. South China Fruit, 2003, 32 (3): 45~50 (in Chinese)
- 9 罗素兰, 贺普超, 郑学勤, 周 鹏. 中国野生葡萄遗传多样性的 RAPD 分析. 植物学报, 2001, 43 (2): 158~163
Luo S L, He P C, Zheng X Q, Zhou P. Genetic diversity in wild grapes native to China based on RAPD analysis. Acta Botanica Sinica, 2001, 43 (2): 158~163 (in Chinese)
- 10 陈晓流, 陈学森, 束怀瑞, 许 衡. 15个樱桃品种的 RAPD 分析. 果树学报, 2004, 21 (6): 556~559
Chen X L, Chen X S, Shu H R, Xu H. RAPD Analysis of 15 cherry cultivars. Journal of Fruit Science, 2004, 21 (6): 556~559 (in Chinese)
- 11 根井正利, 库马 S. 分子进化与系统发育. 吕宝忠, 钟 扬, 高莉萍译. 北京: 高等教育出版社, 2002. 299页
Nei M, Kumar S. Molecular evolution and phylogenetics. Translated by L ÜB Z, Zhong Y, Gao L P. Beijing: Higher Education Press, 2002. 299p (in Chinese)
- 12 Eldredge L, Ballard R, Baird W V, Abbott A. Application of RFLP analysis to genetic linkage mapping in peaches. HortScience, 1992, 27 (2): 160~163
- 13 Gerlach H K, Stösser R. Sweet cherry cultivar identification using RAPD derived DNA fingerprints. Acta Hort ISHS, 1998, 468: 63~69
- 14 Struss D, Boritzki M, Glözer K, Southwick S M. Detection of genetic diversity among populations of sweet cherry (*Prunus avium* L.) by AFLP. J. Hort Sci Bio, 2001, 76 (3): 362~367
- 15 Malusa E, Marchesini A. Use of DNA amplified sequences for the genetic analysis of *Prunus*. Atti della Società Italiana di Scienze Naturali e del Museo Civico di Storia Naturale di Milano, 1996, 135 (2): 430~436