

# 分子标记技术在樱属植物研究中的应用进展\*

朱弘 伊贤贵 朱淑霞 王华辰 王贤荣

(南京林业大学生物与环境学院,南方现代林业协同创新中心,  
亚热带森林生物多样性保护国家林业局重点实验室,南京 210037)

**摘要:**蔷薇科樱属植物地理分布广泛,种类繁多,具有重要的生态、观赏、经济和文化价值。文中介绍了近年来国内外有关樱属分子标记技术的报道,着重综述分子遗传多样性、分子系统学和亲缘地理学3个方面的研究进展,总结研究现状并提出未来研究展望,以期今后开展我国樱属种质资源分类鉴定、遗传育种、开发利用等研究提供思路与借鉴。

**关键词:**樱属,种质资源,分类界定,分子标记,系统进化,开发利用

中图分类号:S718.46,S718.49

文献标识码:A

文章编号:1001-4241(2018)06-0016-09

DOI:10.13348/j.cnki.sjlyyj.2018.0045.y

## Application of the Molecular Marker Technology to *Cerasus* Mill. (Rosaceae)

Zhu Hong Yi Xiangui Zhu Shuxia Wang Huachen Wang Xianrong

(College of Biology and Environment, Co-Innovation Center for Sustainable Forestry in Southern China,

Key Laboratory of State Forestry Administration on Subtropical Forest Biodiversity Conservation,

Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China)

**Abstract:** *Cerasus* Mill. is of important ecological, ornamental, economic and cultural values with a wide range of geographic distribution and a great variety of species. In this paper, we reviewed the research on the application of molecular marker technology to *Cerasus* in recent years, and described the progress in the research on molecular genetic diversity, molecular systematics and phylogeography. Then it summarized the current research status and prospected the future research fields. This study was expected to provide ideas and references for the future research on classification, genetic breeding, development and utilization of germplasm resources of *Cerasus* in China.

**Key words:** *Cerasus* Mill, germplasm resources, classification, molecular marker, phylogenetic evolution, development and utilization

樱属(*Cerasus* Mill.)为多年生落叶乔木或者灌木,是世界著名的观赏花木<sup>[1]</sup>。该属广泛分布于北半球的温带与亚热带地区,其中我国是樱属植物的原产地之一,拥有最丰富的樱属野生种质资源,是樱属的现代分布与保存中心,最新统计共计48种及10变种,33个种为特有分布<sup>[2]</sup>。由于樱属植物地理分布范围广,垂直跨度大,各生长区域的气候、地貌和土壤

等环境因子较为复杂<sup>[3-4]</sup>,加上野生樱属杂交现象频繁,导致自然分化变异程度较高,存在中间过渡类型,此外花、叶期分离,导致野生樱属植物分类一直是个棘手的问题。目前,以表型特征为主要依据的传统分类存在很多争议,加上近几年陆续发表的新种,使得樱属在资源分类、亲缘关系及系统演化上需要更加深入地探讨和研究。樱属分类研究已从传统形态学、细

\* 收稿日期:2018-01-11;修回日期:2018-09-06。

基金项目:江苏省林业三新工程项目(LYSX[2015]17);江苏省研究生科研创新计划项目(KYCX17\_0815);2017年南京林业大学优秀博士创新基金项目。

作者简介:朱弘(1990-),男,博士研究生,研究方向为国产樱属分类与生物地理学研究,E-mail:1107401987@qq.com。

通信作者:王贤荣(1966-),女,植物学教授,研究方向为国产樱属分类与资源利用,E-mail:wangxianrong66@njfu.edu.cn。

胞学和生化标记及孢粉学、化石与地理分布等各个角度进行了比较系统的研究,取得了有一定价值的成果,但在这些研究中存在较多分歧,至今仍未能统一,需要进一步研究<sup>[5-6]</sup>。现代分子生物学的蓬勃发展有力地推动了樱属植物研究的进程,研究的部分结论与以往基于经典手段的观点存在出入,另外在樱属的系统位置、亲缘关系、分类界定、谱系结构、起源与演化路径假说等方面均存在争议或缺乏系统归纳,需要加强对该属优良种质资源的科学认识与合理利用。基于此,在查阅与整理国内外文献的基础上,本文综述近年来有关以酶切(RFLPs、AFLPs)和以聚合酶链式反应(PCR)为基础(RAPD、SSR、ISSR等)的DNA分子标记、第2代测序技术的DNA条码技术(nrDNA、cpDNA)以及亲缘地理学在樱属植物上的最新应用和研究进展,以期对樱属深入研究提供最新参考。

## 1 分子标记技术在樱属植物研究中的应用

自分子生物学方法建立以来,各种DNA分子标记已被广泛应用于樱属植物各分类单元的研究中,主要是对cpDNA与nrDNA基因组信息进行分析,与传统鉴定方法相比,具有许多突出的优点。例如,表现稳定:不受生长发育阶段、环境与基因互作的限制,不受环境及人为因素影响;数量丰富:理论上遍及整个基因组;多态性高:自然界存在许多等位变异,为重要性状的标记筛选创造了条件;部分遗传标记为共显性:可以鉴别纯合体与杂合体;成本大幅度降低:在普通实验室均可进行,对于特定引物可根据已发表的特定序列自行合成<sup>[7]</sup>。

### 1.1 樱属遗传多样性、指纹图谱构建及种质资源鉴定

陈晓流等<sup>[8]</sup>对14个欧洲甜樱桃和1个中国樱桃品种的指纹图谱分析表明,RAPD能基本反映品种间的遗传多样性,但发现特异性扩增的效果不理想,使得指纹鉴定品种较为困难;Zamani等<sup>[9]</sup>结合形态学及RAPD首次对来自伊朗的野生樱属及栽培品种进行了分析研究,但聚类分析结果与形态学结果没有明显的相关性;Tsuda等<sup>[10]</sup>利用SSR分析了日本广布的山樱(*C. jamasakura*)12个自然居群,结果显示各居群间的遗传分化很低,综合分析表明日本山樱居群可划分为生长于南部九州岛和北部本州岛2支,

以此分别确定为独立的保护单元;Kato<sup>[11]</sup>等利用AFLPs和SSR标记分析局限分布于伊豆半岛及其群岛的大岛樱(*C. speciosa*)野生居群遗传结构,结果表明半岛与群岛间在海岛地理—遗传分化关系方面保持一致,并受到杂交和基因渐渗的影响;随后他们又对日本常见樱属的215个无性系栽培品种进行分析,表明SSR标记相比形态学标记能有效地进行樱属种间及品种间的鉴定<sup>[12]</sup>;Cantini等<sup>[13]</sup>利用10对SSR引物检测了代表美国农业部和农业研究局收集的59种4倍体樱属种质资源,表明SSR指纹图谱具有高度的多样性可以有效区分欧洲甜樱桃、草原樱桃及其杂交后代,鉴于该技术可以丰富樱属鉴定和个体评价手段,作者据此呼吁其他园艺研究机构加入到全球樱属DNA指纹图谱库的建设中;Pedersen<sup>[14]</sup>响应了他们的号召,以相同10对引物对丹麦农业研究所收集的51份欧洲酸樱桃、欧洲甜樱桃及中国樱桃(*C. pseudocerasus*)砧木开展了不同无性系个体间的基因型差异研究;Antonius等<sup>[15]</sup>对芬兰全国广泛引种栽培多年的欧洲甜樱桃种质资源进行了评价,基于SSR标记的基因型的聚类分析结果将其划分为欧洲酸樱桃和欧洲甜樱桃组2大组,同时得到了表型数据聚类结果支持;Barac等<sup>[16]</sup>为评估塞尔维亚樱属遗传多样性和分类关系,利用从李属开发的26对SSR标记构建该国主要樱属资源的指纹图谱,证明了SSR引物在蔷薇科内具有较高的通用性,其中圆叶樱桃和山樱花(*C. serrulata*)具有较高的遗传变异因而适宜选为砧木培育的理想材料;针对土耳其安达托利亚半岛传统栽培的樱属植物及其近缘种的多样性评估表明,基于李属开发的SSR标记用于系统聚类不仅成功地揭示了该地区具有较高的遗传多样性,为丰富樱属尤其是耐寒性种质资源遗传数据库提供了来源<sup>[17-19]</sup>;随后,Khadivi-khub等<sup>[20]</sup>又基于SSR标记调查比较了伊朗境内的樱属8种野生种和3个主要商业栽培种的遗传多样性,结果表明该国樱属种质资源具有丰富的遗传变异,进而可为育种事业提供宝贵原料;吕月良<sup>[21]</sup>和苏倩<sup>[22]</sup>先后对钟花樱桃(*C. campanulata*)主产区的多个居群进行了SSR分析,发现钟花樱桃居群内杂合体较多,全部偏离Hardy-Weinberg平衡,遗传多样性较高;商韬等<sup>[23]</sup>在南程慧<sup>[24]</sup>PCR体系优化的基础上对迎春樱桃(*C. discoidea*)112个单株进行了基于SSR标记对的遗传多样性研究,聚类

结果表明迎春樱居群4个居群可分安徽黄山—江西庐山与浙江天目山—白云山2支,居群间的遗传分化水平较高,基因交流受阻;陈娇等<sup>[25]</sup>对四川野生中国樱桃5个居群共133株的遗传多样性水平及居群的遗传结构进行了研究,综合分析表明,野生中国樱桃居群间的遗传分化水平较低,居群内存在显著近交现象,推测河流和鸟兽远距离传播是其基因交流的主要方式;宛甜等<sup>[26]</sup>对秦岭山脉野生毛樱桃的5个居群11个亚居群进行了SSR多态性分析,结果揭示并再次证明了毛樱桃具有较高水平的遗传多样性,为樱桃分子育种以及改良樱桃砧木提供了理论依据;陈洁等<sup>[27]</sup>利用17对SSR引物评估了山樱花8个居群(中国7个、韩国1个)的遗传多样性,表明各居群间基因流缺乏,产生了高度分化,推测生境破坏和特异化可能为其原因;Zhang等<sup>[28]</sup>基于樱桃基因组数据设计重新开发出20条多态性较好的SSR引物,以此评估了地质活动频繁且多样性较高的四川龙门山断层区的15个代表居群的遗传多样性和群体结构,结果表明该地区维持了适度的遗传分化和频繁的基因流,且野生居群和地方品种居群产生了明显的遗传分化;宗宇等<sup>[29]</sup>利用基于转录组序列筛选出的8个多态性EST-SSR引物,对浙江省24份中国樱桃种质进行聚类,结果与经典的形态学分类不完全一致,但清晰地划分出5个不同组别,龙泉2个地方品种与其余遗传关系截然不同,可以作为樱桃种质选育的优良材料;李春侨等<sup>[30]</sup>应用SSR技术对新疆地区4个野生居群的天山樱桃(*C. tianschanica*)遗传多样性研究表明,该种遗传分化水平较低,各居群间基因交流频繁,遗传变异主要存在于居群内。由于居群的大小及其对有效居群的代表性选择,会影响对居群遗传结构的评价,在上述的研究中取样的总体居群的数量较少,可能无法准确代表物种真实的遗传多样性水平。

## 1.2 樱属亲缘关系、系统进化与分类研究

Suzanne等<sup>[31]</sup>用来源于桃(*Prunus ersica*)、欧洲酸樱桃和欧洲甜樱桃的8对SSR引物对来自厄瓜多尔、密歇根和墨西哥的黑樱桃(*C. maximowiczii*)进行亲缘关系研究,发现来自厄瓜多尔的黑樱桃与来自墨西哥的亲缘关系比来自密歇根的更近;Brettin等<sup>[32]</sup>通过2个叶绿体片段的RFLPs标记,研究了主产法国的欧洲酸樱桃(*C. vulgaris*)、草原樱桃(*C. ruticosa*)、欧洲甜樱桃(*C. avium*)三者间的亲缘关

系,结果表明草原樱桃相比欧洲甜樱桃更有可能是欧洲酸樱桃的母系起源;随后,Tavaud等<sup>[33-34]</sup>在该基础上利用AFLPS标记技术研究欧洲甜樱桃4倍体、2倍体及其杂交种后代品系间的遗传关系,结果可以很好地相互区分,克服了因形态学性状连续的地理变异带来的分类困扰;近年来不少学者利用测序技术对广义李属下的樱亚属及近缘属构建分子系统树,探讨各亚属间的亲缘关系。在实际应用中,由于拥有较快的进化速率和变异水平,具有双亲遗传的核基因组核糖体内转录间隔区(*ITS*)首先受到较多学者的关注。Lee等<sup>[35]</sup>利用核基因*ITS*构建了系统发育树,结果显示广义李属中在排除了矮李组(*Sect. Microcerasus*)之后的典型樱亚属(*Subg. Cerasus*)与稠李亚属(*Subg. Padus*)和桂樱亚属(*Subg. Laurocerasus*)构成姐妹群;刘艳玲等<sup>[36]</sup>基于*ITS*序列探讨了核果类果树的亲缘关系,显示樱属构成一单系分支,且位于系统发育树的基部,但自展支持度较低;王华坤等<sup>[37]</sup>比较了*ITS*<sub>1</sub>和*ITS*<sub>2</sub>在樱桃等主要核果类果树中不同的变异特征,鉴于*ITS*<sub>1</sub>变异位点2倍于*ITS*<sub>2</sub>,因此单个区间更宜选择*ITS*<sub>1</sub>进行系统发育分析。相比于核基因组(*nrDNA*),叶绿体基因组(*cpDNA*)因其具有单拷贝、重组少和母系遗传等优点而被用于植物进化起源等研究<sup>[38]</sup>。依据叶绿体非编码区片段*rpL16*和*trnG*重建的结果,樱亚属又与李亚属和桃亚属构成姐妹群<sup>[39]</sup>;这2种系统之间的差异可以用杂交事件来解释,但需要有更多的数据来论证。随着测序技术的快速发展,核基因片段联合叶绿体片段也逐渐成为樱属系统学研究的趋势。Bortiri等<sup>[40]</sup>利用核基因*ITS*联合叶绿体*trnL-trnF*构建的系统发育关系表明,樱亚属与稠李亚属、桂樱亚属在李属内构成一大支,矮生樱亚属并非单系,亚属内大部分种的亲缘关系与李亚属和桃亚属更接近,该结果与前人同工酶实验与RAPD标记技术<sup>[41]</sup>的结果一致;由于主要分支节点缺乏较高的支持度,随后Bortiri等又在其2001年研究的基础上先后于2002年<sup>[42]</sup>和2006年<sup>[43]</sup>增加了单拷贝核基因*s6pdh*片段和叶绿体间隔区*trnS-trnG*的片段,分别重建了广义李属的系统发育树,与形态学特征进行了联合分析,结果显示广义李属早期分化为由樱亚属、桂樱稠亚属、李亚属组成的一支和由桃亚属、扁桃亚属(*Subg. Emplectocladus*)、李亚属组成的另一支,矮李组与李亚属相互嵌套,然而支持度仍然

较低;为了解决分辨率不够的问题,石硕<sup>[44-45]</sup>使用新设计的核基因片段 *Sbel-a* 及 3 个 *cpDNA* 片段,采用 3 种算法重建了樱亚属的系统发育关系,认为矮生樱亚属(矮李组)不属于樱亚属而应该归入李亚属,但发育树并未得到先前基于形态建立的分类系统支持;Cho 等<sup>[46]</sup>利用 2 个核基因片段与 7 个 *cpDNA* 非编码区片段结合形态学证据首次报道了韩国济州岛野生东京樱花(*C. yedoensis*)与主要近缘种的亲缘关系,检测出其母本来自彼岸樱,而父本则来自山樱花和大山樱(*C. sargentii*)构成的复合体,由此推测双向与多重杂交事件导致了野生东京樱花的起源,同时广泛的基因流暗示了网状进化在樱亚属系统发育中的作用。利用 DNA 条码还可以提供新种的分子证据。例如,通过对 *atpB-rbcL* 与 *trnL-F* 序列的测定,报道了磐安樱(*C. pananensis*)一新种<sup>[47]</sup>;基于 *ITS*、*trnL-F* 和 *atpB-rbcL* 3 个片段系列结合花粉形态,报道了浙江樱属新种——凤阳山樱桃(*C. fengyangshanica*)<sup>[48]</sup>。

### 1.3 樱属亲缘地理学研究

近年来,国内学者将亲缘地理学应用于樱属的保护遗传学研究也有相关报道。曹东伟<sup>[49]</sup>在广泛收集国产樱亚属植物材料的基础上,首次采用 PCR-RFLPs 技术对樱亚属 *cpDNA* 地理遗传变异进行了系统分析:毛樱桃、多毛樱桃(*C. polytricha*)和山樱花的遗传分化系数最高,表明上述种的地理单元间遗传变异和分化水平最为显著;而较低的基因流水平也表明,该属植物分布受到果实及种子的近距离传播、地理单元间长期的山川阻隔影响;结合古老单倍型分布模式推测,云南、四川、贵州这一带是樱亚属植物的起源演化中心,秦岭南坡和大巴山东段是樱亚属植物的次生分化中心,当第四纪冰川来临时,在向低纬度地带迁移的过程中,该属植物可能在云南、黄山、秦岭南坡、梵净山等多个避难所寻求庇护,在冰期结束后,向周边地区迁移逐渐形成今天的地理分布格局。李苗苗<sup>[50]</sup>在曹东伟的基础上,进一步采用 13 对 spSSR 分子标记引物,对国产樱亚属 47 个居群的 228 株个体进行了分子亲缘地理的研究:将得到的 30 个单倍型的地理分布划分为西南部、中部、东部和北部 4 个地理单元,由于主要单倍型在多个地理单元均有分布,据此推测在第 4 纪冰川来临之前樱亚属的分布中心已经形成;当冰期来临时,云南、四川盆地、武陵山地区、秦巴山区和江淮地区曾是樱亚属植物的避难所。在冰期结束后,樱亚属植物以冰期的避难所为中心向

四周扩散,江淮地区居群向北扩散至山东省,四川的居群向东扩散经秦岭、太行山到达华北和辽宁,形成当代国产樱亚属植物分布格局。陈涛等<sup>[51-52]</sup>利用叶绿体 *trnQ-rps16* 序列初步分析了以四川为主体的中国樱桃 9 个居群的遗传多样性和群体遗传结构模式,四川 7 个群体表现出较低的遗传多样性水平,群体间的遗传多样性水平存在较大差异,其中北川桃龙群体最高,而峨眉群体最低,总体表现出较低的遗传多样性和群体遗传分化水平;基于单倍型网络分析推测四川北部的青川、桃龙和桂溪的 3 个群体可能是较为古老的群体。随后,Chen 等<sup>[53]</sup>又扩大了取样范围,在原居群的基础上,在中国西南向北部的 6 个地理区域内增加了 17 个地方品种居群的 139 个个体,共获得 26 个居群的 305 个个体以代表中国樱桃的分布样式;同时还增加了 *trnL-rpl32*、*rps16* 内含子叶绿体与 *ITS* 核基因片段,同样得到各居群间尤其是地方品种居群间存在较低水平单倍型和核苷酸多样性的结论,这与前人报道的基于 RAPD、ISSR 等核基因分子标记技术的研究具有较高遗传多样性结果不相一致,作者推测这种现象可能与 *cpDNA* 的属性有关,即近期群体收缩、引种驯化和随机遗传漂变造成的瓶颈效应导致群体内遗传多样性丢失,也可能是受到由取样群体的边缘性所产生的奠基者效应带来的影响。此外,四川龙门山和云贵高原居群检测出相对较高的遗传多样性,可以视为遗传多样性的 2 个潜在分布中心,为推测中国樱属起源中心提供了进一步的分子证据。

## 2 小结与讨论

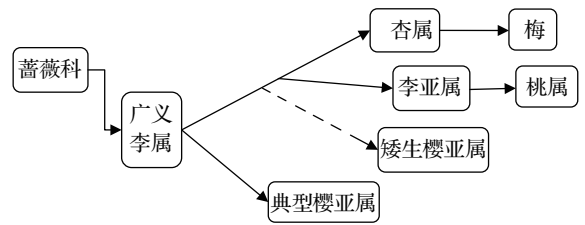
### 2.1 分子标记技术的应用比较

RFLPs 标记存在着多态性变异程度偏低、信息量较少、需要酶切、周期长等缺点; AFLPs 标记的多态性虽然较高,但获得标记的程序复杂,对操作技术和成本要求较高; RAPD 标记的稳定性和可重复性也较低<sup>[54]</sup>,因而在樱属分子生物学的应用已经越来越少,逐渐被新一代分子标记取代;而基于 PCR 反应的微卫星或简单重复序列(SSR)标记法具有开发成本低、通用性强、多态性高、重复性好、共显性遗传和特异性强等优点,应用最为广泛和成熟,通过构建 SSR 指纹图谱可以快速准确进行野生种或品种鉴定,聚类结果还可以反映研究对象的地理分布样式,因此该标记被广泛地应用于樱属品种鉴定、野生遗传多样性和遗传

结构的分析比较<sup>[55]</sup>。在这个方面,许多欧洲国家相继对属内的欧洲甜樱桃、欧洲酸樱桃等进行系列报道,尤其是有关本属模式种欧洲酸樱桃的起源假说,已经获得了一系列具有说服力的分子证据;DNA条形码是利用标准的基因片段对物种进行快速鉴定的一种新技术,它是利用1个或几个标准的DNA片段实现对物种快速、准确的鉴定<sup>[56]</sup>,为现代生物学研究提供了丰富的分子信息、标准的数据平台和通用的技术规程<sup>[57]</sup>,已经成为现代植物分类领域的主流分子手段。目前,对于樱属植物DNA条形码的选择还没有一个明确的标准,叶绿体序列和核序列构建的发育树结果存在不一致,使得研究趋势从过去的单一片段逐渐发展为综合多套遗传背景的 *nrDNA* (*ITS* 等)与 *cpDNA* 多片段组合及共显性的遗传标记的多序列联合分析。此外,DNA条形码还能够在新种或隐存种的发现、分类学修订以及资源利用等生物多样性研究方面提供了新的思路和研究工具,可以说是对传统形态分类学的一个强有力的补充。

## 2.2 樱属亲缘关系、分类地位的探讨

以往国内学者多采用中国植物志<sup>[1]</sup>的观点,即樱属包含典型樱亚属和矮生樱亚属。而随着分子序列的累积,当前越来越多国内外学者基于分子证据认为,传统樱属下的2个亚属划分已经不成立,系统发育拓扑结构支持典型樱亚属(樱花类)在广义李属内成立一个单系类群(伞形花序或伞房花序);而矮生樱亚属(冬芽为三芽腋生)并非单系,在形态和亲缘关系与桃属或李亚属的关系更近(图1)。较低的系统分辨率可能与属间分化有关,即现代蔷薇科近期经历了由多重杂交事件引起的快速辐射分化<sup>[66-67]</sup>。解决典型樱属下的种间亲缘关系还需要更深入的研究。



注:虚线表示矮生樱亚属的系统位置尚未明确。

图1 广义李属下樱属及部分核果类系统发育关系推测示意

## 3 研究展望

### 3.1 继续开展樱属种质资源的搜集

深入开展樱属研究,种质无疑是关键。国外各类樱属植物已有不少报道,所涉及的国家或地区数量不超过15个,种或分类单位相对集中(表1),主要为欧洲各国学者对于欧洲甜樱桃、欧洲酸樱桃、圆叶樱桃、草原樱桃等主要经济栽培品种的集中报道,或者亚洲日、韩学者对东京樱花、日本晚樱等为代表的园林观赏品种的记载。我国虽然有着丰富的樱属资源,除中国樱桃等主要栽培品种外,目前仅对迎春樱桃、钟花樱桃、山樱花等少数野生种开展了部分研究或在研究植物群落结构和多样性时对部分种有所涉猎<sup>[68-70]</sup>。因此,首先应继续加强包括野生资源在内的中国樱属资源的调查、收集和整理,进一步扩大取样范围,着重西部地区的采集,并尽可能地覆盖所有的类群,进一步开展野生樱属繁殖生物学和保护遗传学等研究;在建立樱属种质资源圃的基础上,系统开展樱属栽培品种的分子鉴定,开发核心种质的指纹图谱,对其经济利用价值进行综合评价,为资源的保存和合理利用提供依据。

表1 分子标记应用于樱属植物研究的国内外报道汇总

序号	国家或地区	涉及种类	主要参考文献
1	中国	<i>C. pseudocerasus</i> , <i>C. discoidea</i> , <i>C. serrulata</i> , <i>C. serrulata</i> var. <i>pubescens</i> , <i>C. campanulata</i> , <i>C. cerasoides</i> , <i>C. avium</i> , <i>C. fruticosa</i> , <i>C. tomentosa</i> , <i>C. tianschanica</i>	[21,27,50,58-61]
2	日本	<i>C. yedoensis</i> 'Somei - yoshino', 'Amagi - yoshino', 'Izu - yoshino', 'Mikado - yoshino', 'Mishima - zakura', 'Shouwa - zakura', 'Perpendens' <i>C. lannesiana</i> , <i>C. pendula</i> , <i>C. jamasakura</i> , <i>C. speciosa</i> , <i>C. besseyi</i>	[10-12,41,62-63]
3	韩国(济州岛)	<i>C. yedoensis</i> 'Somei - yoshino', <i>C. serrulata</i> , <i>C. sargentii</i>	[46,64]

续表 1

序号	国家或地区	涉及种类	主要参考文献
4	伊朗	<i>C. vulgaris</i> , <i>C. avium</i> , <i>C. mahaleb</i> , <i>C. microcarpa</i> , <i>C. microcarpa</i> subsp. <i>diffusa</i> , <i>C. incana</i> , <i>C. brachypetala</i> , <i>C. incana</i> , <i>C. yazdiana</i> , <i>C. pseudoprostrata</i> , <i>C. × gondouinii</i>	[9,20]
5	美国	<i>C. avium</i> , <i>C. fruticosa</i>	[13]
6	厄瓜多尔、墨西哥	<i>C. maximowiczii</i>	[65]
7	芬兰	<i>C. vulgaris</i> , <i>C. avium</i>	[15]
8	丹麦	<i>C. vulgaris</i> , <i>C. avium</i> , <i>C. pseudocerasus</i>	[14]
9	法国	<i>C. vulgaris</i> , <i>C. avium</i> , <i>C. fruticosa</i> , <i>C. × gondouinii</i>	[32-34]
10	塞尔维亚	<i>C. vulgaris</i> , <i>C. avium</i> , <i>C. fruticosa</i> , <i>C. mahaleb</i> , <i>C. serrulata</i>	[16]
11	西班牙(南部)	<i>C. mahaleb</i>	[65]

### 3.2 开展樱属起源与演化假说的综合论证研究

开展樱属亲缘地理学的研究,不仅能了解现有的分布格局,有助于阐明遗传变异的来源和环境对遗传变异的影响,还能有效地确定其地理起源和发展,重建其进化历史。樱属植物亲缘地理学在我国起步较晚,一方面受限于大规模居群采样带来的时间、成本因素,另一方面也受限于分子标记技术,例如最初学者多采用 AFLPs、SSR 等分子标记或以 1~2 套单亲遗传的 *cpDNA* 片段对植物系统发育与生物地理学进行了研究;为了获得更多的序列变异(单倍型),当前采用多套叶绿体与核基因片段发挥各自的优势进行综合分析已经成为趋势,以此分析不同类型基因流的信息(花粉流和种子流)。由于影响樱属分子鉴定准确性的因素包括物种的类型和数量、系统树构建方法、基因渐渗、物种起源时间的差异、分子进化速率差异等;此外,也与群体遗传学理论(溯祖理论、冰期避难所、基因流等)的发展应用密切相关,还需在今后樱属研究和论证过程中不断完善。我国西南部山区为蔷薇科植物的现代分布与分化中心,随着测序技术的进步和学科交叉的发展,如以单分子测序为特点的第 3 代遗传标记技术单核苷酸多态性(SNP)也开始应用于群体遗传学研究中,不仅可以用来重建居群间植物系统发育关系,也可以用来估算各大类群的起源时间;而近年来基于生态位模型(GARP、MaxEnt、BIOCLIM 等)的生态地理学应用发展,为进一步深入开展亲缘地理学研究、推测更为具体的起源地提供了技术

支持。

### 3.3 推广基因组测序技术应用研究

从对单一基因的研究转入对整个基因组的研究已成为新的趋势,全基因组测序技术的发展有望从基因组层面上突破传统分子生物学的研究瓶颈。例如,自 2000 年以后,超过 100 个作物物种的全基因组序列相继被公布<sup>[71]</sup>,其中 2012 年公布的梅(*P. mume*)<sup>[72]</sup>是蔷薇科李亚科下报道的第 1 个物种,与樱属关系较近。而近年来对东京樱花<sup>[64]</sup>、中国樱桃<sup>[61]</sup>、高盆樱桃(*C. cerasoides*)<sup>[59]</sup>的叶绿体全基因组与欧洲甜樱桃的全基因组测序<sup>[73]</sup>结果也已相继公布,为今后进行樱属其他物种的研究提供了丰富的参考信息。例如,为进一步开发具有广泛可用性的 SSR、SNP、SRAP、低拷贝核基因等遗传标记提供了便捷,可为低分类阶元的樱属系统学研究提供更为有效的信息;还可以利用生物信息学及生物工程技术手段,进一步挖掘海量的全基因组序列信息研究基因的功能,如利用基因组中的特异性引物特征的 SCAR<sup>[54]</sup>新型标记构建高精度遗传图谱及物理图谱已成为全基因组测序后续研究的重要内容,为进一步解析樱属重要农艺性状、加速保育遗传学研究、系统分类和育种事业提供了良好的基因组数据平台,有助于推动樱属深入研究。

### 参 考 文 献

- [1] 俞德浚,李朝奎. 中国植物志:第 38 卷[M]. 北京:科学出版社,1986.
- [2] 王贤荣. 中国樱花品种图志[M]. 北京:科学出版社,2014:1

- 181.
- [3]李蒙,伊贤贵,王华辰,等. 山樱花地理分布与水热环境因子的关系[J]. 南京林业大学学报(自然科学版),2014,38(增刊1):74-80.
- [4]朱弘,尤禄祥,李涵福,等. 浙闽樱桃地理分布模拟及气候限制因子分析[J]. 热带亚热带植物学报,2017,25(4):315-322.
- [5]王贤荣. 国产樱属分类学研究[D]. 南京:南京林业大学,1997.
- [6]黄晓姣,王小蓉,陈涛,等. 中国樱桃遗传资源多样性研究进展[J]. 果树学报,2013,30(3):470-479.
- [7]方炎明,丁雨龙. 植物生物学专题[M]. 北京:中国林业出版社,2016.
- [8]陈晓流,陈学森,束怀瑞,等. 15个樱桃品种的 RAPD 分析[J]. 果树学报,2004,21(6):556-559.
- [9]ZAMANI Z, SHAHIGHARAHILAR A, FATAHI R, et al. Genetic relatedness among some wild cherry (*Prunus* subgenus *Cerasus*) genotypes native to Iran assayed by morphological traits and random amplified polymorphic DNA analysis [J]. *Plant Systematics and Evolution*, 2012, 298(2): 499-509.
- [10]TSUDA Y, KIMURA M, KATO S, et al. Genetic structure of *Cerasus jamasakura*, a Japanese flowering cherry, revealed by nuclear SSRs: implications for conservation [J]. *Journal of Plant Research*, 2009, 122(4): 367-375.
- [11]KATO S, IWATA H, TSUMURA Y, et al. Genetic structure of island populations of *Prunus lannesiana* var. *speciosa* revealed by chloroplast DNA, AFLP and nuclear SSR loci analyses [J]. *Journal of Plant Research*, 2011, 124(1): 11-23.
- [12]KATO S, MATSUMOTO A, YOSHIMURA K, et al. Clone identification in Japanese flowering cherry (*Prunus* subgenus *Cerasus*) cultivars using nuclear SSR markers[J]. *Breeding Science*, 2012, 62(3): 248-255.
- [13]CANTINI C, IEZZONI A F, LAMBOY W F, et al. DNA fingerprinting of tetraploid cherry germplasm using simple sequence repeats[J]. *Journal of the American Society for Horticulture*, 2001, 126(2): 205-209.
- [14]PEDERSEN B H. DNA fingerprints of 51 sweet and sour *Prunus* accessions using simple sequence repeats[J]. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 2006, 81(1): 118-124.
- [15]ANTONIUS K, AALTONEN M, UOSUKAINEN M, et al. Genotypic and phenotypic diversity in Finnish cultivated sour cherry (*Prunus cerasus* L.) [J]. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 2012, 59(3): 375-388.
- [16]BARAC G, OGNJANOV V, OBREHT D, et al. Genotypic and phenotypic diversity of cherry species collected in Serbia [J]. *Plant Molecular Biology Reporter*, 2013, 32(1): 92-108.
- [17]TURKOGLU Z, BILGENER S, ERCISLI S, et al. Simple sequence repeat - based assessment of genetic relationships among *Prunus rootstocks*[J]. *Genetics and Molecular Research*, 2010, 9(4): 2156-2165.
- [18]ÖZ M H, VURGUN H, BAKIR M, et al. Molecular analysis of East Anatolian traditional plum and cherry accessions using SSR markers [J]. *Genetics and Molecular Research*, 2013, 12(4): 5310-5320.
- [19]TURKOGLU Z, BILGENER S, ERCISLI S, et al. Simple sequence repeat (SSR) analysis for assessment of genetic variability in wild cherry germplasm[J]. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 2012, 85(2): 229-233.
- [20]KHADIVI - KHUB A, ZAMANI Z, FATAHI R, et al. Genetic variation in wild *Prunus* L. subgen. *Cerasus* germplasm from Iran characterized by nuclear and chloroplast SSR markers [J]. *Trees*, 2014, 28(2): 471-485.
- [21]吕月良. 福建山樱花群体遗传多样性、繁育技术体系和育种策略研究[D]. 南京:南京林业大学,2006.
- [22]苏倩. 福建山樱花种源遗传多样性研究[D]. 南京:南京林业大学,2007.
- [23]商韬,王贤荣,南程慧,等. 基于 SSR 标记的迎春樱自然居群遗传多样性分析[J]. 甘肃农业大学学报,2013,48(6):104-109.
- [24]南程慧. 迎春樱居群变异与繁殖生物学研究[D]. 南京:南京林业大学,2012.
- [25]陈娇,王小蓉,汤浩茹,等. 基于 SSR 标记的四川野生中国樱桃遗传多样性和居群遗传结构分析[J]. 园艺学报,2013,40(2): 333-340.
- [26]宛甜,蔡宇良,冯瑛,等. 野生毛樱桃 SSR 遗传多样性和遗传结构分析[J]. 西北植物学报,2013,33(8):1544-1550.
- [27]陈洁. 山樱花居群遗传多样性的 SSR 分析[D]. 南京:南京林业大学,2016.
- [28]ZHANG J, CHEN T, WANG J, et al. Genetic diversity and population structure in cherry [*Cerasus pseudocerasus* (Lindl). G. Don] along Longmenshan Fault Zones in China with newly developed SSR markers [J]. *Scientia Horticulturae*, 2016, 212: 11-19.
- [29]宗宇,王月,朱友银,等. 基于中国樱桃转录组的 SSR 分子标记开发与鉴定[J]. 园艺学报,2016,43(8):1566-1576.
- [30]李春侨,周龙,陆彪,等. 天山樱桃野生居群遗传多样性 SSR 分析[J]. 经济林研究,2017,35(3):44-49.
- [31]DOWNEY S L, LEZZONI A F. Polymorphic DNA markers in black cherry (*Prunus serotina*) are identified using sequences from sweet cherry, peach, and sour cherry [J]. *Journal of the American Society for Horticulture*, 2000, 125(1): 76-80.
- [32]BRETTIN T S, KARLE R, CROWE E L, et al. Chloroplast inheritance and DNA variation in sweet, sour, and ground cherry [J]. *Journal of Heredity*, 2000, 91(1): 75-79.
- [33]TAVAUD M, ZANETTO A, SANTI F, et al. Structuration of genetic diversity in cultivated and wild cherry trees using AFLP markers [J]. *ACTA Horticulturae*, 2001, 546: 263-269.
- [34]TAVAUD M, ZANETTO A, DAVID J L, et al. Genetic relationships

- between diploid and allotetraploid cherry species (*Prunus avium*, *Prunus xgondouinii* and *Prunus cerasus*) [J]. *Heredity*, 2004, 93(6): 631–638.
- [35] LEE S, WEN J. A phylogenetic analysis of *Prunus* and the Amygdaloideae (Rosaceae) using ITS sequences of nuclear ribosomal DNA [J]. *American Journal of Botany*, 2001, 88(1): 150–160.
- [36] 刘艳玲, 徐立铭, 程中平. 基于 ITS 序列探讨核果类果树桃、李、杏、梅、樱的系统发育关系 [J]. *园艺学报*, 2007, 34(1): 23–28.
- [37] 王化坤, 陶建敏, 渠慎春, 等. 核果类果树 ITS 序列分子进化及系统发育关系研究 [J]. *园艺学报*, 2010, 37(3): 363–374.
- [38] ZHENG X Y, CAI D Y, POTTER D, et al. Phylogeny and evolutionary histories of *Pyrus* L. revealed by phylogenetic trees and networks based on data from multiple DNA sequences [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2017, 80: 54–65.
- [39] SHAW J, SMALL R L. Addressing the “hardest puzzle in American pomology”: phylogeny of *Prunus* sect. *Prunocerasus* (Rosaceae) based on seven noncoding chloroplast DNA regions [J]. *American Journal of Botany*, 2004, 91(6): 985–996.
- [40] BORTIRI E, OH S H, JIANG J - G, et al. Phylogeny and systematics of *Prunus* (Rosaceae) as determined by sequence analysis of ITS and the chloroplast *trnL* - *trnF* spacer DNA [J]. *Systematic Botany*, 2001, 26(4): 797–807.
- [41] SHIMADA T, HAYAMA H, NISHIMURA K, et al. The genetic diversities of 4 species of subg. *Lithocerasus* (*Prunus*, Rosaceae) revealed by RAPD analysis [J]. *Euphytica*, 2001, 117(1): 85–90.
- [42] BORTIRI E, OH S H, GAO F Y, et al. The phylogenetic utility of nucleotide sequences of sorbitol 6 - phosphate dehydrogenase in *Prunus* (Rosaceae) [J]. *American Journal of Botany*, 2002, 89(11): 1697–1708.
- [43] BORTIRI E, HEUVEL B V, POTTER D. Phylogenetic analysis of morphology in *Prunus* reveals extensive homoplasy [J]. *Plant Systematics and Evolution*, 2006, 259(1): 53–71.
- [44] 石硕. 蔷薇科李属樱亚属的系统学研究 [D]. 北京: 中国科学院研究生院, 2013.
- [45] SHI S, LI J L, SUN J H, et al. Phylogeny and classification of *Prunus sensu lato* (Rosaceae) [J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2013, 55(11): 1069–1079.
- [46] CHO M S, KIM C S, KIM S H, et al. Molecular and morphological data reveal hybrid origin of wild *Prunus yedoensis* (Rosaceae) from Jeju Island, Korea: implications for the origin of the flowering cherry [J]. *American Journal of Botany*, 2014, 101(11): 1976–1986.
- [47] CHEN Z L, CHEN W J, CHEN H, et al. *Prunus pananensis* (Rosaceae), a new species from Pan'an of central Zhejiang, China [J]. *Plos One*, 2013, 8(1): 1–6.
- [48] 叶立新, 鲁益飞, 王桦, 等. 凤阳山樱桃: 浙江樱属 (蔷薇科) 一新种 [J]. *杭州师范大学学报 (自然科学版)*, 2017, 16(1): 19–24.
- [49] 曹东伟. 李属樱亚属植物分子亲缘地理学研究 [D]. 西安: 西北大学, 2006.
- [50] 李苗苗. 樱亚属植物分子亲缘地理及中国樱桃自然居群遗传多样性研究 [D]. 西安: 西北大学, 2009.
- [51] 陈涛, 王小蓉, 罗华, 等. 9 个野生中国樱桃群体叶绿体 DNA *trnQ* - *rps16* 序列变异及其遗传结构分析 [J]. *遗传*, 2012, 34(11): 1475–1483.
- [52] CHEN T, WANG X R, TANG H R, et al. Genetic diversity and population structure of Chinese cherry revealed by chloroplast DNA *trnQ* - *rps16* intergenic spacers variation [J]. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 2013, 60(6): 1859–1871.
- [53] CHEN T, CHEN Q, LUO Y, et al. Phylogeography of Chinese cherry (*Prunus pseudocerasus* Lindl.) inferred from chloroplast and nuclear DNA: insights into evolutionary patterns and demographic history [J]. *Plant Biology*, 2015, 17(4): 787–797.
- [54] 赵庆杰, 李海波, 屈燕, 等. 基于 SCAR 标记的 20 个樱花品种的分子鉴别 [J]. *南京林业大学学报 (自然科学版)*, 2016, 40(5): 34–40.
- [55] ARANZANA M J, PINEDA A, COSSON P, et al. A set of simple - sequence repeat (SSR) markers covering the *Prunus* genome [J]. *Theoretical & Applied Genetics*, 2003, 106(5): 819–825.
- [56] 葛学军. DNA 条形码在植物系统发育区系学研究中的应用 [J]. *生物多样性*, 2015, 23(3): 295–296.
- [57] 裴英才, 陈步峰. 生物 DNA 条形码: 十年发展历程、研究尺度和功能 [J]. *生物多样性*, 2013, 21(5): 616–627.
- [58] 刘志雄, 王莹, 吕小蒙, 等. 日本晚樱花器官特征基因 *CIAP1* 的克隆与表达分析 [J]. *园艺学报*, 2010, 37(4): 649–654.
- [59] XU X D, WEN J, WANG W, et al. The complete chloroplast genome of the threatened *Prunus cerasoides*, a rare winter blooming cherry in the Himalayan region [J]. *Conservation Genetics Resources*, 2017. DOI: 10.1007/s12686-017-0859-1.
- [60] 张琪静. 毛樱桃资源遗传多样性及与李属近缘种亲缘关系的研究 [D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2007.
- [61] FENG Y, LIU T, WANG X Y, et al. Characterization of the complete chloroplast genome of the Chinese cherry *Prunus pseudocerasus* (Rosaceae) [J]. *Conservation Genetics Resources*, 2017, 10(1): 1–4.
- [62] INNAN H, TERAUCHI R, MIYASHITA N T, et al. DNA fingerprinting study on the intraspecific variation and the origin of *Prunus yedoensis* (Someiyoshino) [J]. *Japanese Journal of Genetics*, 1995, 70(2): 185–196.
- [63] IKETANI H, OHTA S, KAWAHARA T, et al. Analyses of clonal status in ‘Somei - yoshino’ and confirmation of genealogical record in other cultivars of *Prunus* × *yedoensis* by microsatellite markers [J]. *Breeding Science*, 2007, 57(1): 1–6.
- [64] CHO M S, CHO C H, SU Y K, et al. Complete chloroplast genome of *Prunus yedoensis* Matsum. (Rosaceae), wild and endemic flowering cherry on Jeju Island, Korea [J]. *Mitochondrial DNA Part a DNA Mapping Sequencing and Analysis*, 2015, 25(7): 11–12.



- [65] JORDANO P, GODOY J A. RAPD variation and population genetic structure in *Prunus mahaleb* (Rosaceae), an animal – dispersed tree [J]. *Molecular Ecology*, 2000, 9(9): 1293 – 1305.
- [66] ZHAO L, JIANG X W, ZUO Y J, et al. Multiple events of allopolyploidy in the evolution of the racemose lineages in *Prunus* (Rosaceae) based on integrated evidence from nuclear and plastid data[J]. *Plos One*, 2016, 11(6): 1 – 21.
- [67] CHIN S W, SHAW J, HABERLE R, et al. Diversification of almonds, peaches, plums and cherries – molecular systematics and biogeographic history of *Prunus* (Rosaceae) [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2014, 76(1): 34 – 48.
- [68] 尤禄祥, 陈志伟, 王华辰, 等. 安徽黄山风景区微毛樱桃萌枝种群动态研究[J]. *植物资源与环境学报*, 2017, 26(2): 83 – 89.
- [69] 李蒙, 严邦祥, 赵昌高, 等. 大仰山高山湿地山樱花种群数量结构特征[J]. *南京林业大学学报(自然科学版)*, 2013, 37(5): 40 – 44.
- [70] 王志高, 张中信, 汪文革, 等. 安徽岳西县鹞落坪国家级自然保护区森林群落结构的初步分析[J]. *植物生态学报*, 2016, 40(6): 615 – 619.
- [71] MICHAEL T P, VANBUREM R. Progress, challenges and the future of crop genomes[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2015(24): 71 – 81.
- [72] ZHANG Q X, CHEN W B, SUN L D, et al. The genome of *Prunus mume*[J]. *Nature Communication*, 2012, 3(4): 1 – 8.
- [73] SHIRASAWA K, ISUZUGAWA K, IKENAGA M, et al. The genome sequence of sweet cherry (*Prunus avium*) for use in genomics – assisted breeding[J]. *DNA Research*, 2017, 24(5): 1 – 10.