

# 16 个蝴蝶兰品种 EST-SSR 遗传多样性分析

张水明, 陈程, 陈芳芳, 汪天

(安徽农业大学园艺学院, 合肥 230036)

**摘要:** 利用 NCBI 上提供的 8188 条蝴蝶兰 EST 序列开发 EST-SSR 引物, 用来分析市场上较常见的 16 个蝴蝶兰栽培品种的遗传多样性。成功开发出 9 对多态性引物, 这 9 对引物在 16 个蝴蝶兰品种上共检测出 45 个等位基因, 每对引物可检测等位基因 2~12 个, 平均为 5 个; SSR 引物多态性信息量 (*PIC*) 变化范围为 0.527~0.981, 平均为 0.755; 16 个蝴蝶兰品种间的遗传相似系数在 0.550~0.875 之间, 平均为 0.728, 表明供试品种间的亲缘关系较近。UPGMA 聚类分析结果表明, 在遗传相似系数为 0.70 处可将 16 个蝴蝶兰品种分为 4 大类, 第 I 类包括满天红、巨宝红玫瑰等 10 个品种, 第 II 类包括夕阳红、富乐夕阳、昌新皇后和新原美人 4 个品种, 第 III 类包括萨拉黄金 1 个品种, 第 IV 类包括台湾阿妈 1 个品种, 聚类结果与花色特征比较一致。该研究结果对蝴蝶兰品种选育有一定参考价值。

**关键词:** 蝴蝶兰; EST-SSR; 遗传多样性; 聚类分析

## Analysis of Genetic Diversity of 16 *Phalaenopsis* Cultivars Using EST-SSR Markers

ZHANG Shui-ming, CHEN Cheng, CHEN Fang-fang, WANG Tian

(College of Horticultural, Anhui Agricultural University, Hefei 230036)

**Abstract:** Nine polymorphic primer pairs were developed from 8,188 ESTs of *Phalaenopsis* from NCBI and were used to analysis genetic diversity of 16 common *Phalaenopsis* cultivars from the market. The results indicated that 45 alleles loci were detected across 9 EST-SSR loci. The average number of alleles per EST-SSR locus was 5 with a range from 2 to 12. Each value of allelic polymorphism information content (*PIC*) ranged from 0.527 to 0.981 based on an average of 0.755 per EST-SSR marker. The genetic similarity of paired cultivars varied from 0.550 to 0.875, with an average of 0.728. The results showed that the common *Phalaenopsis* cultivars from the market had closer genetic relationship among most cultivars. Clustering analysis based on the UPGMA method revealed that these 16 *Phalaenopsis* cultivars could be divided into four groups at similarities coefficient of 0.70, which was generally consistent with color. The group I included ten cultivars, such as *Dtps.* Queen Beer 'Red Sky', *Dtps.* Jiuhbao Red Rose, et al. The group II included four cultivars, such as *P.* Taida Salu, *P.* Fuller's Sunset, *Dtps.* Chain Xen Queen, *Dtps.* Shin-yaun Golden Beauty. The group III included one cultivar *P.* Brother Sara Gold. The group IV included one cultivar *P. amabilis* cv. *Formosum*. The results of the study will provide reference for *Phalaenopsis* cultivar breeding.

**Key words:** *Phalaenopsis*; EST-SSR; genetic diversity; cluster analysis

蝴蝶兰, 为兰科 (Orchidaceae) 蝴蝶兰属 (*Phalaenopsis* Blume) 多年生常绿草本植物, 其花大色艳, 形似蝴蝶, 花姿优雅, 开花期长, 具有极高的观赏价值, 被誉为“兰花皇后”, 广泛分布于赤道南北纬各 23° 范围内的东南亚及北澳地区<sup>[1]</sup>。目前, 蝴蝶兰栽

培品种都是由杂交育种培育而来, 不但培育出种间杂交种, 还由于蝴蝶兰属与多个近缘属, 如五唇兰属 (*Doritis*) 和万代兰属 (*Vanda*) 之间都有较好的杂交亲和性, 而育成了许多属间杂交种, 截至 2012 年 4 月, 在国际兰花品种登录机构 (<http://www.rhs.org>).

收稿日期: 2012-04-29 修回日期: 2012-06-20 网络出版日期: 2013-04-02

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20130402.1736.014.html>

基金项目: 安徽省自然科学基金项目 (11040606M95)

作者简介: 张水明, 博士, 副教授, 研究方向为园艺植物种质资源及遗传育种。E-mail: zhangshuiming@ahau.edu.cn

uk/)英国皇家园艺学会(RHS, royal horticultural society)上登录的蝴蝶兰属杂交种 30765 个,其中品种间和种间杂种达 22853 个,占 74.3%,属间杂种 7912 种。

蝴蝶兰属植物变异很大,中间类型多,种的界限不清楚,这导致蝴蝶兰品种间的遗传多样性和亲缘关系不十分清楚。分子标记技术从基因水平上了解不同品种之间的区别,可为品种鉴别、遗传多样性及亲缘关系研究提供有效途径。SSR(简单重复序列, *simple sequence repeats*), 又称微卫星 (*microsatellites*), 具有数量丰富、共显性、技术简单、多态性高、重复性好、特异性强等特点,已被广泛应用于种质鉴定、遗传多样性分析等研究领域<sup>[2-5]</sup>。根据 SSR 的来源不同,可将其分为基因组 SSR (*gSSR*, genomic

SSR)和表达序列标签 SSR (*EST-SSR*, expressed sequence tag SSR), 目前 EST-SSR 标记已经在很多重要园艺作物上得到了应用<sup>[6-8]</sup>。

本研究利用 NCBI 上登录的 8188 条 EST 序列开发新的蝴蝶兰 EST-SSR 标记,用于分析市场上较常见的 16 个蝴蝶兰栽培品种的亲缘关系和遗传多样性,旨在为蝴蝶兰品种鉴定及分子标记辅助育种提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

安徽农业大学农萃园提供蝴蝶兰品种 16 个(表 1),分别取 1~2 片幼嫩叶片,每份材料洗净、晾干,置于 -80 °C 冰箱保存。

表 1 供试品种

Table 1 *Phalaenopsis* cultivars used in this study

编号 Code	材料名称 Material name	编号 Code	材料名称 Material name
1	满天红 <i>Dtps.</i> Queen Beer 'Red Sky'	9	V31 <i>Dtps.</i> Tailin 'Red Angel'
2	夕阳红 <i>P.</i> Taida Salu	10	红钻石 <i>Dtps.</i> Red Diamond
3	萨拉黄金 <i>P.</i> Brother Sara Gold	11	V3P. Sogo Yukidian 'V3'
4	富乐夕阳 <i>P.</i> Fuller's Sunset	12	白花红心 <i>Dtps.</i> (Taisuco New Beauty × Grand City)
5	巨宝红玫瑰 <i>Dtps.</i> Jiuhbao Red Rose	13	婚宴 <i>P.</i> Wedding Promenade
6	火鸟 <i>Dtps.</i> Sogo Beach	14	小男孩 <i>P.</i> Little Steve
7	昌新皇后 <i>Dtps.</i> Chain Xen Queen	15	新原美人 <i>Dtps.</i> Shin-yaun Golden Beauty
8	红龙 <i>Dtps.</i> Ben Yu Star 'Red Dragon'	16	台湾阿妈 <i>P.</i> <i>amabilis</i> cv. <i>formosum</i>

### 1.2 方法

**1.2.1 DNA 的提取** 采用常规 CTAB 法<sup>[9]</sup>提取基因组 DNA 并稀释至所需浓度(50 ng/μL), -20 °C 贮存备用。

**1.2.2 EST-SSR 引物设计与筛选** 从 EST 数据库 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/dbEST>) 中下载获得蝴蝶兰 *P. equestris* 和 *P. amboinensis* 的 EST 序列 8188 条。经过前处理后,使用 SSRIT 软件 (<http://www.gramene.org/db/markers/ssrtool>) 搜索含有 SSR 的 EST 序列。搜索的标准为:2 核苷酸和 3 核苷酸重复类型的重复次数大于或等于 8,4 核苷酸及 4 核苷酸以上的重复类型的重复次数大于或等于 4。最后根据含有 SSR 位点的 EST 序列信息,利用软件 Primer 5.0 设计引物,引物设计的主要参数为:引物长度为 17~23 bp;引物对退火温度在 50~57 °C,正向和反向引物退火温度之差在 3 °C 以内;GC 含量 40%~60%;扩增产物预期片段为 100~

200 bp,引物由上海生工生物工程技术有限公司合成。挑选满天红、夕阳红、V31、萨拉黄金这 4 个不同花色的蝴蝶兰品种对所合成的引物进行初步筛选,将筛选出的具有多态性的 EST-SSR 引物应用于 16 个蝴蝶兰品种的多态性分析。

**1.2.3 PCR 扩增** PCR 体系总反应体积为 20 μL,含 50 ng/μL,相同的模板 DNA 2 μL;10 × Buffer(含 Mg<sup>2+</sup>) 2 μL;10 mmol/L 的 dNTPs 0.5 μL;10 μmol/L 的上下游引物各 1 μL;5 U/μL 的 *Taq* DNA 聚合酶 0.2 μL;ddH<sub>2</sub>O 13.3 μL。所用的试剂均购自上海生工生物工程技术有限公司。PCR 程序为 94 °C 预变性 2.5 min;94 °C 变性 30 s,合适温度(各引物对的最适退火温度通过梯度 PCR 试验确定,范围在 50~58 °C)退火 30 s,72 °C 延伸 30 s,35 个循环;最后 72 °C 延伸 10 min,4 °C 保存。整个反应在 PCR Si1000™ Thermal Cycler 仪器上进行。

**1.2.4 扩增产物检测** 取 5 μL PCR 扩增产物用

1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测,若与预期片段大小相近且条带清晰,再通过 6.0% 的变性聚丙烯酰胺凝胶 (PAGE) 分离,75 W 恒功率电泳 1.5 h。在 BIO-RAD PowerPac™ HV 垂直板电泳仪和 Sequi-Gen<sup>R</sup>GT Sequencing Cell 电泳槽中进行。银染检测,染色参考 B. J. Bassam 等<sup>[10]</sup>的方法,所得凝胶自然干燥后,观察电泳结果,进行数据统计和拍照。

**1.2.5 数据统计与分析** 对扩增后清晰且易于辨认的谱带采用 0,1 系统记录其位置,在相同迁移率位置上,有带标记为 1,无带标记为 0,做成 Excel 表格文件,用于扩增条带的多态性比较和聚类分析。利用 POPGENE 1.32 软件计算各引物对的遗传多样性参数:总等位基因数 ( $N_a$ );有效等位基因数 ( $N_e$ );观察的杂合度 ( $H_o$ )。利用 NTSYSpc 2.1 分析软件对数据进行分析,以 Dice 相似系数计算品种间的遗传相似系数 ( $GS$ , genetic similarity),再根

据  $GS$  值利用 SAHN 程序中的非加权算术平均法 (UPGMA, unweighed pair group method with arithmetic mean) 对供试材料进行聚类分析,并生成聚类图。

计算每个位点的多态性信息含量 ( $PIC$ , polymorphic information content)<sup>[11]</sup>:  $PIC = 1 - \sum P_{ij}^2$ ,  $P_{ij}$  表示第  $i$  个位点上第  $j$  个等位基因的频率。

## 2 结果与分析

### 2.1 EST-SSR 引物筛选及多态性分析

利用 SSRIT 软件按设定的标准对 NCBI 上登录的 8188 条蝴蝶兰 EST 序列进行 SSR 搜索,共得到含有 EST 位点的序列 239 条,发现 SSR 位点 261 个,再根据含有 SSR 位点的 EST 序列信息,利用软件 Primer 5.0 共设计了蝴蝶兰 EST-SSR 引物 32 对,对 4 个不同花色的蝴蝶兰栽培品种进行多态性分析,筛选出有预期产物且多态性好的引物有 9 对(表 2)。

表 2 9 对 EST-SSR 引物多态性分析结果

Table 2 The polymorphism analysis of 9 EST-SSR primer pairs in 16 *Phalaenopsis* cultivars

引物编号 Primer No.	引物序列(5'-3') Primer sequence	重复单元 Repeat motif	退火温度 (°C) T <sub>m</sub>	多态性条带数 No. of polymorphic bands	观察杂合度 <i>H<sub>o</sub></i>	多态性信息 含量 <i>PIC</i>	登录号 Accession No.
ZSM104	F-CCATCTCATCTCTCTCTCG R-GCAGAACAGCAGAGTGGT	(TTC) <sub>15</sub>	55.1	6	0.8750	0.8264	CB033847.1
ZSM107	F-GAAGTTCCAAACCCAAGA R-GACCAACACATAGACAAAC	(TA) <sub>12</sub>	50.0	2	0.3750	0.5237	CB034395.1
ZSM108	F-TCGGAAAGAAGTATGGTTC R-CCTACCATTATGTGTTTCATC	(TGA) <sub>12</sub>	55.1	5	0.6875	0.9811	CB034920.1
ZSM110	F-GCTTCTCATTTCTCTTCTTC R-TCTCCATCTCTCTCCAC	(TC) <sub>11</sub>	50.0	6	1.0000	0.8433	CK858704.1
ZSM111	F-TTATTTCCCTCTCGGCA R-TTAGCCCAAGTTCAGTCG	(TC) <sub>10</sub>	56.7	2	0.6250	0.5273	CB033577.1
ZSM122	F-CTCTTCTTGCTGGTGG R-TAGAAAGGACGGTCCGG	(CT) <sub>8</sub>	53.2	4	0.8750	0.7654	CB033385.1
ZSM123	F-AACTTCTGTTCCCGCTT R-TGGCACACAATGGAGAT	(AAG) <sub>8</sub>	56.7	3	0.7500	0.7704	CB033608.1
ZSM125	F-TGAAATAGCACAGAGCC R-GCTCCAGAAGAAGATTCA	(AAG) <sub>8</sub>	50.0	5	0.9375	0.5775	CB034342.1
ZSM128	F-CCCGCTTCCAACCTTT R-CACCGTATGAGTCCCGA	(GA) <sub>8</sub>	55.1	12	0.9375	0.9802	CB035168.1
平均值 Mean				5	0.7847	0.7554	

9 对多态性 EST-SSR 引物在 16 个蝴蝶兰栽培品种中共检测出 45 个等位基因,每对引物可检测到的等位基因数为 2~12 个,平均为 5 个,其中引物 ZSM128 的等位基因数最多,为 12 个;ZSM107 和 ZSM111 的等位基因数最少,为 2 个,多态性最差。

每对 EST-SSR 引物的  $PIC$  值变化范围为 0.5237~0.9811,平均为 0.7554,表明 16 个蝴蝶兰品种具有较为丰富的遗传多样性。 $PIC$  值反映了某一对 SSR 引物对品种的区分能力,不仅与等位基因的数目有关,而且与等位基因的频率有关,因此具有较高的

PIC 值的 EST-SSR 标记就具有较高的检测效率。其中引物 ZSM108 的 PIC 值最高(0.9811),检测效率较高;ZSM107 的 PIC 值最低(0.5237),检测效率最低。观察杂合度( $H_o$ )变化范围为 0.3750 ~ 1.0000,平均值为 0.7847(表 2)。

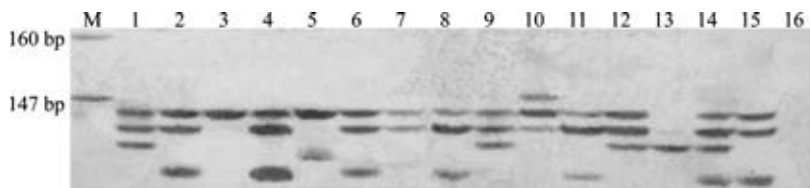


图 1 引物 ZSM104 对 16 个蝴蝶兰品种的扩增结果

Fig. 1 Amplification result of 16 *Phalaenopsis* cultivars by primer ZSM104

## 2.2 遗传相似性分析

根据 EST-SSR 标记数据计算出 16 个蝴蝶兰品种间的遗传相似系数,所有供试品种间的遗传相似系数变化范围为 0.550 ~ 0.875,平均值为 0.728,说明市场上常见的蝴蝶兰品种间的相似系数较大,遗传多样性不够丰富。其中,红钻石和巨宝红玫瑰、昌新皇后和新原美人的遗传相似性最大,相似系数为 0.875,这可能与共有共同的原始亲本(分别为 *P. schilleriana*、*P. mannii*)有关;萨拉黄金与白花红心之间的遗传相似性最小,相似系数为 0.550。

图 1 为引物 ZSM104 对 16 个蝴蝶兰品种的多态性扩增结果,图中供试品种大多具有不同的 EST-SSR 带型,多态性检出率较高,可见 EST-SSR 标记可以有效地揭示供试品种间的遗传差异。

## 2.3 聚类分析

由聚类树状图(图 2)可见,在遗传相似系数 0.70 处,16 个蝴蝶兰品种被划分为 4 大类,其中第 I 类包括 10 个品种,包括满天红、巨宝红玫瑰、红钻石、火鸟、小男孩、红龙、V31、婚宴、V3 和白花红心,其中 V3 和白花红心为白花系,其余皆为红花系;第 II 类包括 4 个品种,包括夕阳红、富乐夕阳、昌新皇后和新原美人,皆为黄花系;第 III 类包括 1 个品种萨拉黄金;第 IV 类包括 1 个品种台湾阿妈。

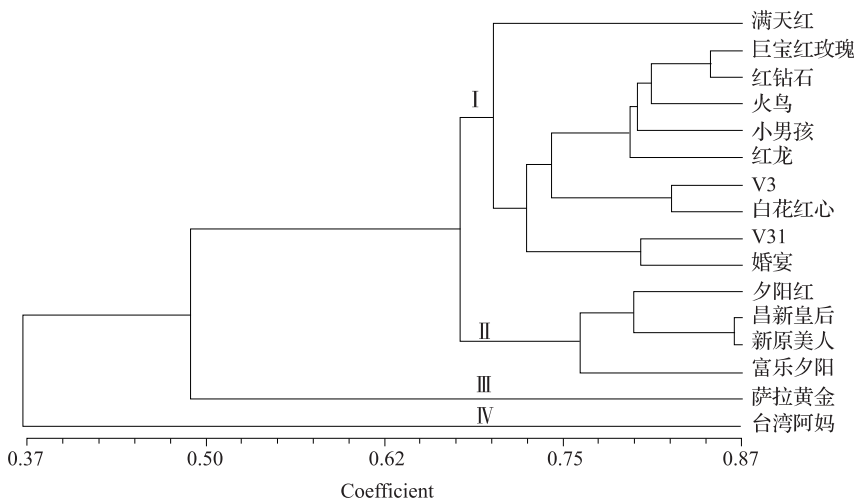


图 2 基于 EST-SSR 分析的 16 个蝴蝶兰品种的聚类图

Fig. 2 Dendrogram of 16 different *Phalaenopsis* cultivars based on EST-SSR analysis

聚类结果表明,16 个蝴蝶兰品种的分类结果与花色较为一致,但是也出现了少数形态特性相近的品种没有聚到一起,或形态特性有差别却亲缘关系较近的现象,如萨拉黄金为黄底深红网纹,却没有与同为黄底深红网纹的夕阳红聚为一类;花色为深红花色的巨宝红玫瑰与红色线条花的红钻石亲缘关系却很近(0.8750),该结果说明由于蝴蝶兰品种间、种间及属间杂交育种,其遗传背景复杂,导致了聚类

情况不一定完全按照花色来区分。

## 3 讨论

本研究利用 EST-SSR 标记方法分析 16 个蝴蝶兰品种间遗传多样性,其优势在于 EST-SSR 标记具有 gSSR 标记的共显性、多态性高、重复性好等特点,用该标记来分析供试品种间的遗传多样性,其聚类结果能更真实地反映供试品种在总 DNA 水平上

的遗传差异,从而为蝴蝶兰育种中的亲本选配提供重要的参考依据。更重要的是来源于基因组编码区域的 EST-SSR,其侧翼序列在物种之间高度保守,因此 EST-SSR 引物在不同物种间有良好的通用性,也为比较基因组学和发掘同源基因提供新的途径<sup>[12]</sup>。Y. Huang 等<sup>[6]</sup>利用 13 对蝴蝶兰 EST-SSR 标记对国兰属植物进行了遗传多样性和亲缘关系分析;张君毅等<sup>[13]</sup>利用从蝴蝶兰属开发的 5 对多态性 EST-SSR 标记对兰科其他属植物进行了多态性检测,结果表明蝴蝶兰 EST-SSR 标记在兰科其他属植物上具有一定的通用性。本研究从蝴蝶兰原生种 *P. equestris* 和 *P. amboinensis* 的 EST 序列中开发了 9 对蝴蝶兰 EST-SSR 多态性标记,用于包括属间杂交品种在内的 16 个蝴蝶兰品种的遗传多样性分析。由此可见不同物种间 EST-SSR 引物的通用性可以显著提高标记的利用价值,从而有效地弥补物种分子标记的不足,丰富标记数量。

9 对多态性 EST-SSR 引物对 16 个蝴蝶兰品种进行了遗传多样性分析,共得到 45 个具有多态性的等位基因,每对引物检测数在 2~12 个之间,平均为 5 个,平均多态性信息量为 0.7554。证实了 EST-SSR 标记在蝴蝶兰种质资源遗传多样性研究中的有效性。表明 EST-SSR 标记在蝴蝶兰的遗传关系鉴定分析上具有很高的效率。

从聚类结果来看,9 对引物可将 16 个蝴蝶兰品种分成 4 大类,聚类分析结果在一定程度上与品种花色较为一致。赵谦等<sup>[14-15]</sup>、张淑红等<sup>[16]</sup>和 F. B. Lu 等<sup>[17]</sup>分别采用 ISSR 和 SRAP 技术对蝴蝶兰品种的遗传多样性进行分析,聚类分析结果都与花色特征较为一致,与本研究结果相同。谢启鑫等<sup>[18]</sup>采用 ISSR 技术对 24 个蝴蝶兰栽培品种进行了遗传多样性分析,聚类分析结果与材料来源及花器官表型具有密切的关系,其中 V31 与巨宝红玫瑰的亲缘关系比与满天红的近,与本研究结果相同。王磊等<sup>[19]</sup>采用 RAPD 技术对 7 个红花色的蝴蝶兰品种的遗传多样性进行分析,从结果中的遗传相似系数上看巨宝红玫瑰与红龙的亲缘关系比较近(0.7692),与火鸟的亲缘关系较远(0.5641),这与本研究所得巨宝红玫瑰与火鸟的亲缘关系更近些的结果有些出入。Y. K. Chang 等<sup>[20]</sup>采用 AFLP 标记对 16 个蝴蝶兰品种的遗传多样性进行分析,聚类分析结果与亲本的来源地有关。

本研究利用 NCBI 上登录的 8188 条蝴蝶兰 EST 序列成功的开发了 9 对多态性 EST-SSR 引物,并用

于分析市场上常见的 16 个蝴蝶兰品种的遗传多样性,发现其品种间亲缘关系较近,聚类分析在一定程度上与品种花色较为一致。研究结果对蝴蝶兰品种鉴别、杂交育种亲本选配和分子标记辅助育种具有一定参考价值。

## 参考文献

- [1] Christenson E A. *Phalaenopsis* [M]. Portland: Timber Press, 2001:330-331
- [2] Varshney R K, Graner A, Sorrells M E. Genomic microsatellite markers in plants: Features and applications [J]. Trends Biotechnol, 2005, 23 (1):48-55
- [3] Prattana P, Pradit P, Surin P. Development of microsatellite markers for *Vanda* orchid [J]. Kasetsart J: Nat Sci, 2009, 43 (3): 497-506
- [4] Hsu C C, Chung Y L, Chen T C, et al. An overview of the *Phalaenopsis* orchid genome through BAC end sequence analysis [J]. BMC Plant Biol tech, 2011, 11:3
- [5] 康红梅,李保云,孙毅. 花生表型及 SSR 遗传多样性的研究 [J]. 植物遗传资源学报, 2012, 13 (1):66-71, 76
- [6] Huang Y, Li F, Chen K S. Analysis of diversity and relationships among Chinese orchid cultivars using EST-SSR markers [J]. Biochem Syst Ecol, 2010, 38 (1):93-102
- [7] 徐照龙,易金鑫,余桂红,等. 藜科 6 种耐盐植物遗传多样性的 EST-SSR 分析 [J]. 植物遗传资源学报, 2011, 12 (1):113-120
- [8] 张金渝,杨维泽,崔秀明,等. 三七栽培居群遗传多样性的 EST-SSR 分析 [J]. 植物遗传资源学报, 2011, 12 (2): 249-254
- [9] Dellaporta S L, Wood J, Hicks J B. A rapid method for DNA extraction from plant tissue [J]. Plant Mol Biol Rep, 1983, 114 (1):19-21
- [10] Bassam B J, Caetano-Anolles G, Gresshoff P M. Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels [J]. Anal Biochem, 1991, 196 (1):80-83
- [11] 陈静,胡晓辉,苗华荣,等. SSR 标记分析国家北方花生区试品种的遗传多样性 [J]. 植物遗传资源学报, 2009, 10 (3): 360-366
- [12] Jia X P, Shi Y S, Song Y C, et al. Development of EST-SSR in foxtail millet (*Setaria italica*) [J]. Genet Resour Crop EV, 2007, 54(2):233-236
- [13] 张君毅,陈瑞凤. 蝴蝶兰 EST-SSRs 分析 [J]. 植物生理学通讯, 2010, 46 (6):559-563
- [14] 赵谦,庄东红,杜虹,等. ISSR 在蝴蝶兰亲缘关系分析中的初步应用 [J]. 汕头大学学报:自然科学版, 2007, 22 (4):66-70
- [15] 赵谦,杜虹,庄东红,等. 14 个蝴蝶兰品种遗传关系的 ISSR 分析 [J]. 植物研究, 2008, 28 (2):227-231
- [16] 张淑红,范永山,翟风顺. 蝴蝶兰不同花色遗传多样性的 ISSR 分析 [J]. 江苏农业科学, 2009 (2):77-78
- [17] Lu F B, Yu N, Zhao X L, et al. Genetic diversity analysis of *Phalaenopsis* 'Frigdaas Oxford' using SRAP markers with reference to those genes responsible for variations in the pigmentation of petals and sepals [J]. Hort Sci Biotech, 2011, 86 (5):486-492
- [18] 谢启鑫,缪南生,宋小民,等. 蝴蝶兰种质资源遗传多样性的 ISSR 分析 [J]. 西北植物学报, 2010, 30 (7):1331-1336
- [19] 王磊,宿红艳,顾亮,等. 7 种蝴蝶兰红花品种的遗传多样性分析 [J]. 鲁东大学学报:自然科学版, 2010, 26 (3):250-254
- [20] Chang Y K, Richard E V, Muhammad J I. Analysis of genetic variability among *Phalaenopsis* species and hybrids using amplified fragment length polymorphism [J]. J Amer Soc Hort Sci, 2009, 134 (1):58-66