

# 贵州苹果砧木资源亲缘关系的 ISSR 分析

宋 莎<sup>1,2</sup> 吴亚维<sup>1</sup> 季祥彪<sup>3</sup> 宋来庆<sup>4</sup> 文晓鹏<sup>2</sup>

1. 贵州省农业科学院果树科学研究所, 贵阳 550006; 2. 贵州大学贵州省农业生物工程重点实验室, 贵阳 550025;  
3. 贵州大学生命科学学院, 贵阳 550025; 4. 山东省烟台市农业科学院果树科学研究所, 烟台 264000

**摘要** 利用 ISSR 标记, 对原产于贵州的 10 份苹果砧木种质及 5 份外来资源进行亲缘关系分析。结果表明: 采用筛选出的 10 条引物, 共扩增出 75 条重复性好的谱带, 其中 67 条 (占 89.3%) 具有多态性; 应用引物 827、M05、M08 可以有效区分出 15 份种质资源, 构建其 DNA 的 ISSR 指纹图谱; 聚类分析表明, 供试种质间的遗传相似系数在 0.49~0.93 之间, 贵州威宁苹果砧木资源遗传多样性较为丰富, ISSR 分析结果与已知苹果砧木间的谱系较为一致。

**关键词** 贵州; 苹果砧木; ISSR; 指纹图谱; 亲缘关系

**中图分类号** S 661.102.4 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2013)01-0019-06

砧木资源及其亲缘关系是砧木育种的重要基础。贵州省拥有丰富的苹果野生砧木种质资源<sup>[1-2]</sup>, 近年来也从省外引入部分砧木资源, 丰富了贵州省苹果砧木资源的遗传多样性。但迄今为止, 贵州省苹果砧木种质鉴定、亲缘关系分析及分子评价等研究工作非常薄弱, 致使砧木资源未能得到充分开发利用。前人采用分子标记对 M 系、SH 系等多种苹果砧木进行鉴定及亲缘关系分析<sup>[3-6]</sup>, 并对富士、红星等苹果品种进行了种质鉴定<sup>[7-9]</sup>, 但几乎没有涉及到贵州苹果砧木。

ISSR(inter-simple sequence repeat, ISSR) 技术是在 SSR 基础上发展起来的一种新型技术, 其基本原理是在 SSR 引物的 5' 或 3' 端加上 1~4 个随机碱基为扩增引物, 对两侧具有反向排列 SSR 的基因组 DNA 序列进行 PCR 扩增<sup>[10]</sup>。ISSR 分子标记技术同时具有 RFLP、RAPD、AFLP、SSR 等技术的优点<sup>[11]</sup>, 目前已在多种领域特别是在种质资源遗传多样性评价的研究上被广泛采用。

本研究采用 ISSR 分子标记, 对 10 份原产贵州的野生苹果砧木及 5 份外来资源进行亲缘关系分析及种质鉴定, 旨在为贵州野生苹果砧木的进一步开发利用提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材 料

供试材料包括 10 份原产贵州的野生苹果砧木, 以及 5 份外来砧木资源 (表 1)。其中八棱海棠、平邑甜茶、青砧 1 号和青砧 2 号来自山东省烟台市农业科学院果树科学研究所, M26 引自河北农业大学。

### 1.2 DNA 提取及检测

对每份材料采集幼嫩叶片, 各称取 0.1 g, 以北京天根公司 Plant Genomic DNA Kit (DP305-03) 试剂盒提取基因组 DNA。利用 1% 琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测其质量和浓度后, 加 TE 缓冲液稀释至 20 ng/ $\mu$ L, 放入 -20 °C 冰箱储存备用。

### 1.3 引物筛选及 PCR 扩增

随机选取 5 份材料的 DNA, 利用 BIO-RAD PCR 扩增仪筛选出引物及其退火温度 (表 2), UBC 引物由上海生工生物工程技术有限公司合成。经过优化和比较, 确定反应体系 (10  $\mu$ L) 为: ddH<sub>2</sub>O 3.2  $\mu$ L、ISSR 引物 0.8  $\mu$ L、DNA 模板 1.0  $\mu$ L、Mix 5  $\mu$ L。Mix 由北京天根生化科技有限公司合成, 含 0.1 U *Taq* polymerase/ $\mu$ L、500  $\mu$ mol/L dNTP、20 mmol/L Tris-HCl (pH 8.3)、100 mmol/L KCl、3 mmol/L MgCl<sub>2</sub> 及其他稳定剂和增强剂。

收稿日期: 2012-05-28

基金项目: 贵州省农业科技攻关项目 (黔科合字 NY(2006)3003)、贵州省科研机构创新能力建设项目 (黔科合院所创能 [2010]4009) 和贵州省农科院专项 (黔农科院院专项 [2010]044)

宋 莎, 硕士, 研究方向: 植物生物技术。E-mail: ssshijia@163.com

通讯作者: 文晓鹏, 博士, 教授, 研究方向: 果树生物技术及遗传育种。E-mail: xpwen0121@yahoo.com.cn

表 1 供试苹果砧木种质资源

Table 1 The accession names of tested apple rootstock germplasm resources

材料编号 Materials No.	名称 Name	来源 Origin
1	花红 <i>Malus asiatica</i> Nakai.	贵州威宁 Weining, Guizhou
2	八棱海棠 <i>Malus robusta</i> (Carr.) Rehd.	河北怀来 Huailai, Hebei
3	平邑甜茶 <i>Malus hupehensis</i> (Pamp.) Rehd. var. <i>pingyiensis</i> Jiang	山东平邑 Pingyi, Shandong
4	青砧 1 号 <i>Malus hupehensis</i> (Pamp.) Rehd. var. <i>qingzhen</i>	山东青岛 Qingdao, Shandong
5	青砧 2 号 <i>Malus hupehensis</i> (Pamp.) Rehd. var. <i>qingzhen</i>	山东青岛 Qingdao, Shandong
6	毛山荆子 109 <i>Malus manshurica</i> (Maxim.) Kom.	贵州威宁 Weining, Guizhou
7	毛山荆子 1012 <i>Malus manshurica</i> (Maxim.) Kom.	贵州威宁 Weining, Guizhou
8	黄果三叶海棠 <i>Malus sieboldii</i> (Regel) Rehd.	贵州威宁 Weining, Guizhou
9	红果三叶海棠 <i>Malus sieboldii</i> (Regel) Rehd.	贵州威宁 Weining, Guizhou
10	湖北海棠 <i>Malus hupehensis</i> (Pamp.) Rehd.	贵州威宁 Weining, Guizhou
11	西府海棠 <i>Malus micromalus</i> Makino	贵州威宁 Weining, Guizhou
12	冠萼花楸 <i>Sorbus coronata</i> (Card.) Yü & Tsai	贵州威宁 Weining, Guizhou
13	木梨 <i>Pyrus xerophila</i> Yü	贵州威宁 Weining, Guizhou
14	丽江山荆子 <i>Malus rockii</i> Rehd.	贵州威宁 Weining, Guizhou
15	M26 <i>Malus domestica</i> Borkh.	英国 United Kingdom

PCR 反应程序:94 ℃ 预变性 7 min;94 ℃ 变性 45 s,退火温度随引物而定,复性 1 min,72 ℃ 延伸 1 min,30 个循环;72 ℃ 延伸 7 min,4 ℃ 保存。

#### 1.4 电泳检测

取 10  $\mu$ L 反应产物在含有 EB 的 2% 琼脂糖凝胶中以 5 V/cm 的电压进行电泳检测,将电泳好的凝胶置于凝胶分析仪中紫外观察并照相保存。

#### 1.5 数据统计分析

每个 ISSR 引物重复扩增 3 次,大部分带型可重复,不可重复的条带统计时忽略不计。将成像带按“引物编号-片段长度”进行记录,有无条带分别记为 1 和 0,建立指纹图谱数据库,转换为数据值矩阵后在 NTSYSpc 2.10 e 分析软件中的 Qualitative data 进行矩阵分析和 SAHN Clustering 进行相似性系数计算,并按 UPMGA 法构建亲缘关系树状图,聚类结果等级划分参照陈守良等<sup>[12]</sup>的方法,多态位点百分率(PP)以各样品多态性位点数占总位点的百分比计算。

## 2 结果与分析

### 2.1 扩增的 ISSR 标记及其多态性

采用筛选出的 10 条多态性好、稳定性高、谱带清晰的 ISSR 引物对 15 份苹果砧木资源进行 PCR 扩增。结果(表 2)表明:供试引物共扩增出 75 条谱带,其中 67 条具有多态性,多态性比率为 89.3%。不同引物 PCR 扩增产物的谱带数为 4~10,平均

表 2 10 条 ISSR 引物扩增结果

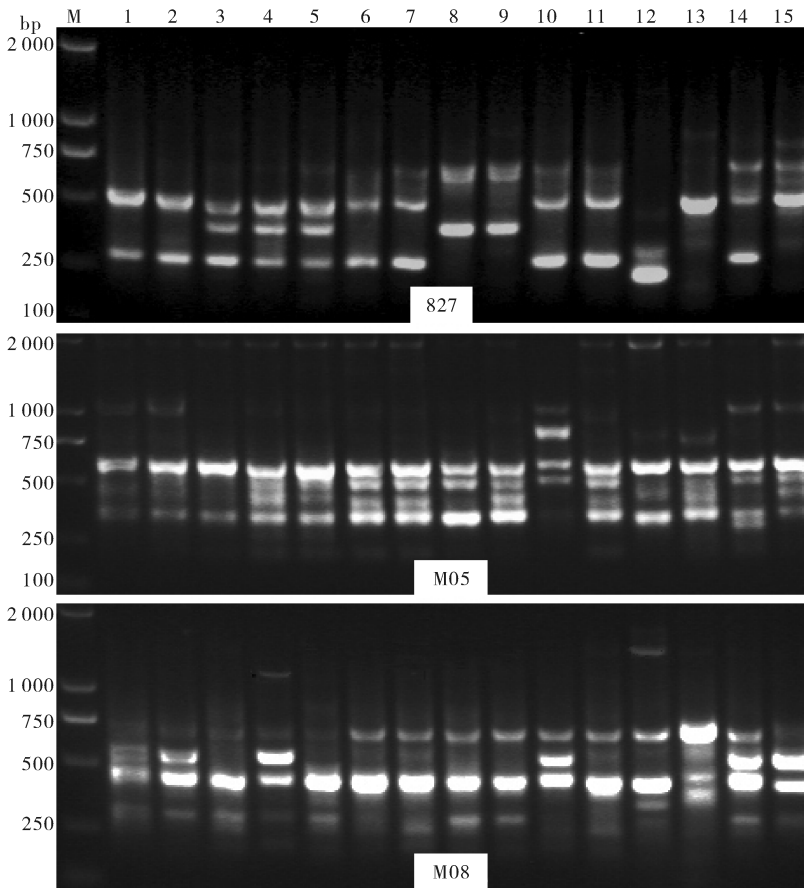
Table 2 The ISSR amplification results of apple rootstock using 10 primers

引物 Primers	退火温度/℃ Annealing temperature	扩增谱带数 Marker number	多态性条带数 Polymorphic markers	多态性比例/% Polymorphic rate
895	49.0	10	10	100.0
811	51.1	6	5	83.3
M01	52.8	9	8	88.9
836	52.8	4	3	75.0
M05	54.5	9	8	88.9
834	56.3	7	6	85.7
M08	59.0	9	7	77.8
827	59.0	8	8	100.0
841	60.1	7	6	85.7
859	60.1	6	6	100.0
总数 Total		75	67	
平均值 Mean		7.5	6.7	89.3

7.5 条,谱带多态性比率在 75%~100% 之间。

### 2.2 砧木资源的 ISSR 指纹图谱

由 15 份苹果砧木资源的 ISSR 指纹图谱可发现,不同引物产生的谱带数和多态性存在很大差异。其中引物 827、M05 和 M083 的扩增谱带(图 1)表现较好,只有 M05-600、M08-650 和 M08-400 等 3 条谱带为共性谱带,在所有的材料中均存在,其余 21 条谱带在不同材料中都表现出多态性。因此,采用这 3 条引物所建立的指纹图谱(表 3),可以有效地将所有供试材料鉴别出来。



1~15 同表 1 The names of 1~15 in the figure are the same as Table 1. 下同 The same as bellow.

图 1 引物 827(上)、M05(中)和 M08(下)扩增产物的电泳谱带

Fig. 1 The electrophoresis profiles of tested germplasm amplified from primer 827 (upper), M05 (middle) and M08 (bottom)

表 3 15 个苹果砧木资源的特异性指纹

Table 3 Specific fingerprints of 15 apple rootstock germplasm

材料编号 Materials No.	特异性分子指纹 Specific molecular fingerprint <sup>1)</sup>																					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
1	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	1
2	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	1
3	0	0	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
4	0	0	0	0	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	0	0	1	1	0	1
5	0	0	1	0	1	1	1	0	1	0	0	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1
6	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1	0	1	1	1	0	1	0	1	0	0	0	0
7	0	0	1	0	1	0	1	0	1	1	0	1	1	1	0	1	0	1	0	0	0	0
8	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1
9	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0	1
10	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
11	0	0	1	0	1	0	1	0	1	1	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	1	0	1	1	0	0	1	1	0	0	1	0
13	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	1	0
14	0	0	1	0	1	0	1	0	1	1	0	1	0	1	1	1	0	0	0	1	0	1
15	0	1	1	1	1	0	0	0	1	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0

1) 特异性分子指纹 1~22 分别表示 827-950, 827-850, 827-650, 827-550, 827-500, 827-400, 827-300, 827-250, M05-1950, M05-1050, M05-850, M05-500, M05-400, M05-350, M05-250, M05-200, M08-1700, M08-1500, M08-1150, M08-850, M08-350, M08-300 Specific molecular fingerprint 1-22 stands for 827-950, 827-850, 827-650, 827-550, 827-500, 827-400, 827-300, 827-250, M05-1950, M05-1050, M05-850, M05-500, M05-400, M05-350, M05-250, M05-200, M08-1700, M08-1500, M08-1150, M08-850, M08-350, M08-300.

### 2.3 亲缘关系分析

采用 NTSYSpc 2.10 e 软件,由 10 条 ISSR 引物的标记信息计算不同资源间的相似系数。结果(表 4)表明,15 份苹果砧木资源的相似性系数在 0.49~0.93 之间,其中青砧 1 号与冠萼花楸相似性系数最低,为 0.49;毛山荆子 109 与毛山荆子 1012 相似性系数最高,达到 0.93;花红与八棱海棠,青砧

1 号与青砧 2 号,红果三叶海棠与黄果三叶海棠,毛山荆子 109、毛山荆子 1012 与湖北海棠、西府海棠等的相似系数都大于 0.80,说明其亲缘关系较近;而花红、八棱海棠、青砧 2 号、湖北海棠等与冠萼花楸,青砧 1 号、毛山荆子 1012 与木梨,木梨和丽江山荆子,木梨和 M26 等相似系数都小于 0.60,说明其亲缘关系较远。

表 4 15 份苹果砧木种质资源相似系数

Table 4 The coefficients of 15 apple rootstock germplasm

No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	1.00														
2	0.84	1.00													
3	0.72	0.69	1.00												
4	0.75	0.75	0.79	1.00											
5	0.65	0.71	0.77	0.83	1.00										
6	0.73	0.73	0.75	0.77	0.73	1.00									
7	0.67	0.69	0.73	0.76	0.72	0.93	1.00								
8	0.60	0.65	0.72	0.69	0.68	0.71	0.72	1.00							
9	0.64	0.69	0.73	0.73	0.77	0.75	0.76	0.91	1.00						
10	0.68	0.71	0.77	0.72	0.68	0.81	0.85	0.68	0.69	1.00					
11	0.73	0.73	0.77	0.77	0.73	0.92	0.91	0.68	0.72	0.87	1.00				
12	0.56	0.56	0.60	0.49	0.59	0.67	0.63	0.61	0.65	0.56	0.61	1.00			
13	0.68	0.73	0.64	0.59	0.60	0.63	0.59	0.60	0.61	0.65	0.62	0.64	1.00		
14	0.73	0.73	0.72	0.75	0.71	0.73	0.72	0.63	0.61	0.73	0.79	0.53	0.63	1.00	
15	0.73	0.76	0.61	0.69	0.63	0.68	0.64	0.65	0.64	0.65	0.71	0.53	0.68	0.76	1.00

以相似系数为基础,基于 UPGMA 法构建的树状聚类图(图 2)显示,15 份材料在相似性系数为 0.66 时可以划分为三大类,其中类群 1 包括花红、八棱海棠、丽江山荆子、M26、平邑甜茶、青砧 1 号、青砧 2 号、毛山荆子 109、毛山荆子 1012、西府海棠、湖北海棠、黄果三叶海棠、红果三叶海棠等 13 份苹果砧木资源,均为苹果属植物;类群 2 只有冠萼花楸,为花楸属植物;类群 3 只有木梨,为梨属植物;在相

似系数为 0.75 时,类群 1 又划分为 5 个亚群:亚群 1 包括花红和八棱海棠;亚群 2 包括丽江山荆子和 M26;亚群 3 包括平邑甜茶、青砧 1 号和青砧 2 号 3 个源自山东的种质;亚群 4 包括毛山荆子 109、毛山荆子 1012、西府海棠和湖北海棠;亚群 5 包括黄果三叶海棠和红果三叶海棠。在相似系数为 0.71 时,类群 1 又可分为两类,毛山荆子与西府海棠、湖北海棠等聚到一起,丽江山荆子在另一类中。

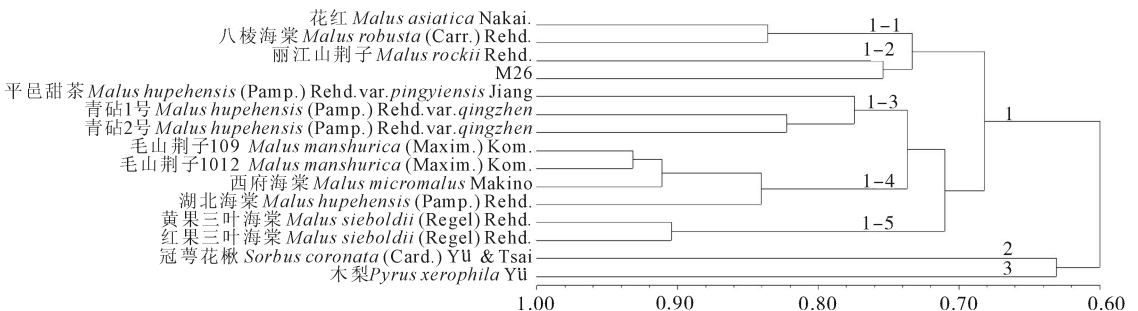


图 2 15 份苹果砧木资源的 ISSR 聚类图

Fig. 2 The dendrogram of 15 apple rootstock resources constructed based on ISSR analysis

### 3 讨论

种质鉴定的方法主要有形态学、同工酶和分子

标记等,其中分子标记不受环境变化的限制,是最快、最准确的方法。ISSR 分子标记是在 SSR 标记基础上发展起来的一种快速、可靠、可以提供有关基

基因组丰富信息的 DNA 指纹技术<sup>[13]</sup>。本试验中仅用 827、M05 及 M08 的 ISSR-PCR 扩增产物所得的 DNA 指纹图谱,就能将 15 份苹果砧木种质资源区分开来,简单可靠,在多次的重复试验中均有一致表现,证实了 ISSR 标记在苹果砧木亲缘关系分析及种质鉴定上,是一种重复性好、效率高的分子标记技术。在相似系数为 0.66 时可将供试材料分为三大类,与已知材料蔷薇科苹果属、梨属、花楸属的结果一致;在相似系数为 0.75 时源自山东的平邑甜茶、青砧 1 号和青砧 2 号聚到一起,采自威宁不同地方的 2 个毛山荆子和湖北海棠、西府海棠聚到一起,果实颜色不同的 2 个三叶海棠聚到一起;八棱海棠原产于河北怀来,花红在中国北部及西南部都有分布,相对其它种来说,花红与八棱海棠聚到了一起;同样,原产于威宁的丽江山荆子和英国育成的 M26 聚到一起,表明它们间的亲缘关系较近。

贵州省因其特殊的地理环境而野生资源较丰富,通过对贵州省苹果砧木资源的亲缘关系分析,有助于揭示其遗传多样性水平,对种质的鉴定和遗传改良有重要参考价值。本研究中 15 份苹果砧木种质资源的遗传相似系数在 0.49~0.93 之间,反映了种质间的遗传差异;贵州省的 10 份苹果砧木的相似系数在 0.56~0.93 之间,说明贵州野生苹果砧木在分子水平上具有较大分化,蕴藏着丰富的基因资源,其中很可能有珍稀种质值得挖掘。本研究中原产于贵州的苹果砧木并非全为苹果属资源,如冠萼花楸为花楸属植物,木梨为梨属植物,但在贵州省威宁地区冠萼花楸和木梨均可用作苹果砧木,表现出良好的适应性。经鉴定,编号为 109 和 1012 的种质都为毛山荆子,但其实生苗幼苗叶片稍有差异,ISSR 分析表明,二者的亲缘关系很接近,令人倍感兴趣的是它们在抗旱能力上,表现出较大的性状分化,1012 的抗旱能力明显较强(未发表资料),在苹果抗旱砧木选育上具有重要的开发价值。

在分子水平上,遗传相似系数越小,种质间的遗传分化越大,遗传多样性越高。种质资源之间的亲缘关系和地理距离有一定的相关性<sup>[14-15]</sup>,并呈现一定的地域趋势,但也有一些相反的报道<sup>[16-17]</sup>。本研究在进行聚类分析时,在相似系数为 0.75 时,山东省的 3 种砧木聚到一起,和贵州省的苹果砧木大多聚到一起,说明种质资源之间的亲缘关系和地理距离具有相关性,呈现一定的地域趋势。尽管贵州省内野生苹果砧木资源比较丰富,但是在威宁的苹果

砧木采集地分布零散,有的地方甚至只有 1 株,很难看到成片的资源,可能是遭受了很严重的破坏,人为及生态原因导致,因此加强贵州省野生资源的保护显得非常重要。

贵州省的丽江山荆子分布较广,在威宁县用作苹果砧木<sup>[1]</sup>。本研究发现威宁毛山荆子的分布更广,聚类分析表明毛山荆子与丽江山荆子的亲缘关系较远,而与西府海棠、湖北海棠较近(图 2)。历史上在贵州威宁和云南昭通广泛用作苹果砧木的所谓“山定子”,经 ISSR 分析和形态学鉴定结合,表明其主要类型是毛山定子,并夹杂丽江山定子、西府海棠和湖北海棠等,而不是人们通常认为的“丽江山定子”。令人倍感兴趣的是,我们的初步研究表明,原产于威宁的毛山荆子比丽江山荆子具有更强的抗旱能力(未发表资料),更适合在威宁干旱山区作苹果砧木,具有很大的开发价值,但该种质对苹果的综合影响尚待深入探讨。

## 参 考 文 献

- [1] 樊卫国,康杏媛,范恩普,等. 贵州苹果属植物资源调查报告[J]. 贵州农学院学报,1990,9(1):93-98.
- [2] 班小重. 威宁、赫章两县苹果砧木资源类型调查报告[J]. 贵州农业科学,1991(5):53-56.
- [3] DUNEMANN F, KAHNAM R, SCHMIDT H. Genetic relationships in *Malus* evaluated by RAPD “fingerprinting” of cultivars and wild species[J]. Plant Breeding,1994,113:150-159.
- [4] 王涛,祝军,李光晨,等. 苹果砧木亲缘关系 AFLP 分析[J]. 中国农业科学,2001,34(3):256-259.
- [5] 蒲娜娜,杜国强,李明媛,等. 7 种 SH 系苹果砧木的 AFLP 分析[J]. 中国农学通报,2007,23(6):141-144.
- [6] 韩蕾,徐继忠,李振侠,等. 利用 AFLP 分子标记鉴定苹果砧木[J]. 华北农学报,2008,23(6):171-175.
- [7] 宣继萍,章镇,房经贵,等. 苹果品种 ISSR 指纹图谱构建[J]. 果树学报,2002,19(6):421-423.
- [8] 郭长奎,李疆,李文胜,等. 新疆主栽苹果品种 ISSR 分析及富士芽变优系分子鉴定[J]. 新疆农业大学学报,2010,33(2):105-108.
- [9] SMOLIK M, KRZYSZTOSZEK O. Evaluation of genetic variability in choosen apple cultivars by ISSR-PCR analysis[J]. Russian Journal of Genetics,2010(7):819-827.
- [10] 张维铭. 现代分子生物学实验手册[M]. 北京:科学出版社,2003.
- [11] 朴红梅,李万良,穆楠. ISSR 标记的研究与应用[J]. 吉林农业科学,2007,32(5):28-30.
- [12] 陈守良,徐克学,盛国英. 中国散生竹类的数量分类和确定分类等级的探讨[J]. 植物及分类学报,1983,21(2):113-120.

- [13] 王建波. ISSR 分子标记及其在植物遗传学研究中的应用[J]. 遗传, 2002, 24(5): 613-616.
- [14] 张春平, 何平, 胡世俊, 等. 黄连遗传多样性的 ISSR 分析[J]. 中草药, 2009, 40(10): 1630-1634.
- [15] 张瑾, 谈献和, 王康才, 等. 江苏不同产地半夏遗传多样性的 ISSR 分析[J]. 南京中医药大学学报, 2010, 26(2): 130-132.
- [16] FISCHER P. Time dependent flow in equimolar micellar solutions; transient behaviour of the shear stress and first normal stress difference in shear induced structures coupled with flow instabilities[J]. Rheol Acta, 2000, 39: 234-240.
- [17] 邱显钦, 唐开学, 蹇洪英, 等. 云南大花香水月季居群遗传多样性的 SSR 分析[J]. 华中农业大学学报, 2011, 30(3): 300-304.

## Genetic analysis of apple rootstock germplasms from Guizhou Province using ISSR markers

SONG Sha<sup>1,2</sup> WU Ya-wei<sup>1</sup> JI Xiang-biao<sup>3</sup> SONG Lai-qing<sup>4</sup> WEN Xiao-peng<sup>2</sup>

1. *Institute of Fruit Tree of Guizhou Academy of Agricultural Sciences, Guizhou Province, Guiyang 550006, China;*

2. *Key Laboratory of Agricultural Bioengineering at Guizhou Province, Guizhou University, Guiyang 550025, China;*

3. *College of Life Science, Guizhou University, Guiyang 550025, China;*

4. *Institute of Fruit Tree in Yantai City Academy of Agricultural Sciences, Yantai 264000, China*

**Abstract** The genetic relationship of 15 apple rootstock germplasms were studied using ISSR markers. Ten pairs of primers were used and a total of 75 bands were yielded, among which 67 were polymorphic. Primers 827, M05 and M08 could be used for effectively genotyping the 15 germplasms. The systematical cluster analysis showed that 15 apple rootstock germplasms could be divided into three groups: *Malus*, *Pyrus* and *Sorbus* with a genetic similarity coefficient of 0.66, which fitted well with the morphological genealogy.

**Key words** Guizhou; apple rootstock; ISSR; fingerprint; genetic relationship

(责任编辑: 张志钰)