

基于 ISSR 标记的航天香蕉新材料的遗传特异性

王金英¹, 李华盛^{2*}, 鹿金颖^{2**}, 蔡长福¹, 蔡邦平^{1**}

1. 厦门市园林植物园, 福建厦门 361003; 2. 航天神舟生物科技集团有限公司, 北京 100190

摘要: 随着航天事业的发展, 将传统的育种技术与航天诱变技术相结合实现育种目标的方法已经得到育种专家的广泛认可。福建香蕉产业受到病害、寒害和风害的威胁, 以及外来或进口香蕉的冲击, 种植规模正面临着萎缩的处境, 使香蕉新品种的选育成为香蕉产业研究亟需解决的重要课题。本研究前期以巴西蕉为母本, 在航天空间诱变的基础上, 经过连续栽培、筛选和观察, 选育出生物学和形态学特征差异明显的 2 份材料。为鉴定自主选育的以上 2 份航天香蕉材料的遗传特异性, 本研究采用 ISSR 分子标记技术, 从 30 条引物中筛选出 2 条多态性好的引物, 对 2 份航天香蕉种质和 18 份现有香蕉种质进行分析。结果表明: 筛选的 2 条引物共扩增出 17 条清晰的 DNA 条带, 其中多态性条带 13 条, 占总条带数的 76.47%, 在 DNA 分子水平上显示出较高的多态位点和丰富的遗传多样性。凝胶电泳结果显示, 结合 ISSR 引物 UBC881 和 UBC847, 2 份航天香蕉材料均存在特异性扩增条带, 可区别于其他 18 份香蕉种质。聚类分析结果显示, 20 份香蕉种质材料间的遗传相似性系数介于 0.545~1.000 之间, 平均值为 0.905; 在遗传相似性系数为 0.960 时, 所选育的 2 份航天香蕉材料之间, 2 份航天香蕉材料与母本之间, 以及 2 份航天香蕉材料与其他 17 份香蕉种质之间均有明显的遗传差异。本研究结果为航天香蕉新品种的选育和鉴定提供依据。

关键词: 航天育种; 香蕉; ISSR; 遗传特异性

中图分类号: S668.1 文献标识码: A

Genetic Specificity of New Material of Erospace Banana Based on ISSR Marker

WANG Jinying¹, LI Huasheng^{2*}, LU Jinying^{2**}, CAI Changfu¹, CAI Bangping^{1**}

1. Xiamen Botanical Garden, Xiamen, Fujian 361003, China; 2. Shenzhou Space Biotechnology Group Co., Ltd., Beijing 100190, China

Abstract: With the development of the aerospace industry, the method of combining traditional breeding technology with aerospace mutagenesis technology to achieve breeding goals has been widely recognized by breeding experts. The problems faced by the scale of the banana industry in Fujian make the breeding of new banana varieties an important issue. In the early stage of this study, Brazil banana was used as the female parent. On the basis of space mutation, through continuous cultivation, screening and observation, two materials with obvious differences in biological and morphological characteristics were selected. In order to identify the genetic specificity of the two independently bred aerospace banana materials, the ISSR molecular marker technology was used in this study to screen out two primers with good polymorphism from 30 primers to analyze the two aerospace banana materials and 18 existing banana varieties. A total of 17 clear DNA bands were amplified by the two primers screened, of which 13 were polymorphic bands, accounting for 76.47% of the total bands, showing a high polymorphism at the DNA molecular level of banana materials. Electrophoresis showed that, combined with ISSR primers UBC881 and UBC847, the two aerospace banana materials had specific amplification bands, which could be distinguished from the other 18 banana varieties. Cluster analysis results showed that the genetic similarity coefficients between the 20 banana germplasm materials ranged from 0.545 to

收稿日期 2022-09-21; 修回日期 2022-10-28

基金项目 厦门市社会科技指导项目 (No. 3502Z20199001)。

作者简介 王金英 (1988—), 女, 硕士, 农艺师, 研究方向: 植物栽培育种、园林应用; *同等贡献作者: 李华盛 (1981—), 女, 博士, 高级工程师, 研究方向: 空间生物学。 **通信作者 (Corresponding author): 蔡邦平 (CAI Bangping), E-mail: cbangping@163.com; 鹿金颖 (LU Jinying), E-mail: lujinying2001@sina.com。

1.000, with an average of 0.905; when the genetic similarity coefficient was 0.960, there were obvious genetic differences between the two bred aerospace banana materials, and the two bred aerospace banana materials with the female parent, and with other 17 banana germplasms. The results of this study would provide a strong basis for the breeding and identification of new varieties of aerospace bananas.

Keywords: aerospace breeding; banana; ISSR; genetic specificity

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2024.01.007

根据 APG III 分类系统, 香蕉 (*Musa nana* Lour.) 是单子叶植物分支下的姜目 (Zingiberales) 植物, 属于芭蕉科 (Musaceae) 芭蕉属 (*Musa*)。香蕉主要产于热带及亚热带地区, 是世界上非常重要的一种热带水果和粮食作物, 也是我国南部地区的重要经济作物之一。福建省香蕉栽培历史悠久, 但是福建地处我国香蕉栽培适区的北缘, 具有一定的局限性^[1]。现今福建的香蕉产业受到病害、寒害或风害的严重威胁, 以及外来或进口香蕉的冲击, 正面临着规模萎缩的处境。因此, 选育抗病、耐寒、优质、高产的香蕉新品种, 已成为福建香蕉研究亟需解决的重要课题。

航天育种是利用太空环境中的极端条件 (微重力、强辐射、高真空等因素), 诱发植物的遗传物质发生改变, 从中选择优良变异, 培育优质、高产、多抗的植物新品种的育种方法^[2]。将传统的育种技术与航天诱变技术相结合实现育种目标的方法, 已经得到国内外育种专家的广泛认可。我国自 1987 年首次开展返回式卫星航天搭载水稻等农作物种子, 距今已有 30 多年^[3]。随着我国航天事业的发展, 通过航天育种方式已选育出一大批优质、高产、多抗的新品种, 正服务并助推着相关产业的发展。航天育种为植物新品种的选育打开了新世界的大门, 也为香蕉新品种的选育开拓了新的途径。

简单重复序列区间 (inter-simple sequence repeat, ISSR) 是由 ZIEDEWIEZ 等^[4]提出的、基于 SSR 的基础上发展起来的一种 DNA 扩增多态性检测技术。因其具有 DNA 模板用量少、引物设计简单、操作快速高效、多态性好、稳定性好、可重复性高等优势, 常在植物遗传多样性、种质资源鉴定、分类及亲缘关系分析等方面有广泛的应用^[5-8]。本研究以 2 份航天香蕉种质和 18 份其他香蕉种质为材料, 通过 ISSR 标记技术, 旨在构建航天香蕉新材料的分子指纹图谱, 以期为航天香蕉新品种的鉴定和分类提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

供试香蕉种质共 20 份, 包括 3 个基因型 (AAA、ABB、AA), 其中 18 份来自厦门市园林植物园热带作物品种资源库香蕉种质圃, 2 份航天诱变香蕉材料 (即航蕉 1 号和航蕉 2 号) 由航天神舟生物科技集团有限公司提供 (表 1)。2 份航天诱变香蕉材料是以巴西蕉为亲本, 通过航天诱变、筛选而得。

以新鲜卷筒嫩叶作为提取香蕉 DNA 的材料。采集叶片组织时, 按不同品种分别做好标识, 迅速清洗擦净, 并尽快用液氮速冻处理, 再转至 -80 ℃ 超低温冰箱保存, 备用。

表 1 供试香蕉种质信息
Tab. 1 Information of tested banana germplasms

编号 No.	种质名称 Germplasm name	基因型 Genotype	编号 No.	种质名称 Germplasm name	基因型 Genotype
1	那龙高把	AAA	11	天宝矮蕉	AAA
2	柴蕉	ABB	12	龙州中把	AAA
3	那坡高把	AAA	13	广东 2 号	AAA
4	华农甜蕉	AAA	14	齐尾	AAA
5	高脚遁地雷	AAA	15	北大矮	AAA
6	漳州选	AAA	16	巴西蕉	AAA
7	贡蕉	AA	17	安定高芽	AAA
8	威廉斯 8188	AAA	18	菲律宾	AAA
9	河口高把	AAA	19	航蕉 2 号	AAA
10	索马里强	AAA	20	航蕉 1 号	AAA

1.2 方法

1.2.1 DNA 的提取 采用 CTAB 法提取 DNA, 主要步骤如下: (1) 在液氮中将叶片组织迅速研磨至粉末状, 再迅速转入 2 mL 离心管中; 加入 1 mL 3%CTAB 裂解液和 20 μ L β -巯基乙醇, 摇匀, 65 $^{\circ}$ C 水浴 20~30 min; (2) 10 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 加入 500 μ L 氯仿: 异戊醇 (24:1) 溶液, 混匀; (3) 重复上一步骤; (4) 10 000 r/min 离心 10 min, 吸取上清液, 加入 2/3 体积的异丙醇, 混匀; (5) 10 000 r/min 离心 5 min, 弃上清液, 留下絮状沉淀, 加入 200~300 μ L 70% 乙醇清洗, 再离心 5 min; (6) 待乙醇挥发后, 将沉淀用 200 μ L ddH₂O 保存于 4 $^{\circ}$ C 下, 备用 (长期保存于 -20 $^{\circ}$ C 冰箱)。

1.2.2 PCR 反应和电泳检测 采用反应体系: 10 μ L 2 $\times$ Taq PCR mixture, 2 μ L Primer (10 μ mol/L), 30 ng DNA template, 加重蒸水补足至 20 μ L。

PCR 仪扩增循环体系: 反应条件为 94 $^{\circ}$ C 预变性 4 min; 94 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 54 $^{\circ}$ C 退火 40 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 90 s, 45 个循环; 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 6 min, 于 4 $^{\circ}$ C 保存。

PCR 扩增产物在 2% 琼脂糖上进行电泳检测, 拍照记录检测结果。

1.3 数据处理

根据电泳检测结果, 采用人工计数的方法读取条带并统计, 同一条引物扩增出的相同条带记为数值 1, 无相同条带则记为 0, 由此构建出 0-1 数据矩阵。根据所得到的数据矩阵, 利用 NTSYSpc version 2.10e 统计软件计算各香蕉种质间的遗传相似系数 (coefficient), 并采用该软件中的非加权组平均法 (unweighted pair-group method with arithmetic means, UPGMA) 进行聚类分析^[9]。

2 结果与分析

2.1 ISSR 标记多态性分析

从 30 条 ISSR 引物中, 筛选出清晰、稳定性高、重复性好的 2 条扩增条带, 并呈多态性的引物 (表 2、图 1)。2 条 ISSR 引物在 20 份香蕉种质资源中, 共扩增获得 17 条清晰的条带, 条带的片段长度范围为 300~2500 bp, 其中多态性条带共有 13 条, 平均多态性比率为 76.47%。

在 17 条总条带的 17 个位点中, 航蕉 1 号 (20 号泳道) 相比亲本巴西蕉 (16 号泳道) 有 4 个特异性位点, 另有 13 个相似位点, 特异性位点占

表 2 ISSR 引物序列及扩增结果

Tab. 2 ISSR primer sequence and amplification results

引物 Primer	引物序列 (5'-3') Primer se- quence (5'-3')	条带 总数 No. of bands	多态性条带数 No. of poly- morphic bands	多态性比率 Percentage of poly- morphic/%
UBC881	(GGGTG) ₃	10	8	80.00
UBC847	(CA) ₈ RC	7	5	71.43

23.53%; 航蕉 2 号 (19 号泳道) 相比亲本巴西蕉有 3 个特异性位点, 另有 14 个相似位点, 特异性位点占 17.65%。

由此可见, 参试的 20 份香蕉种质资源具有较高的 ISSR 多态位点, 在 DNA 分子水平上的遗传多样性比较丰富。同时, 供试的航天香蕉材料 (即航蕉 1 号和航蕉 2 号) 与亲本巴西蕉之间存在明显的差异性。

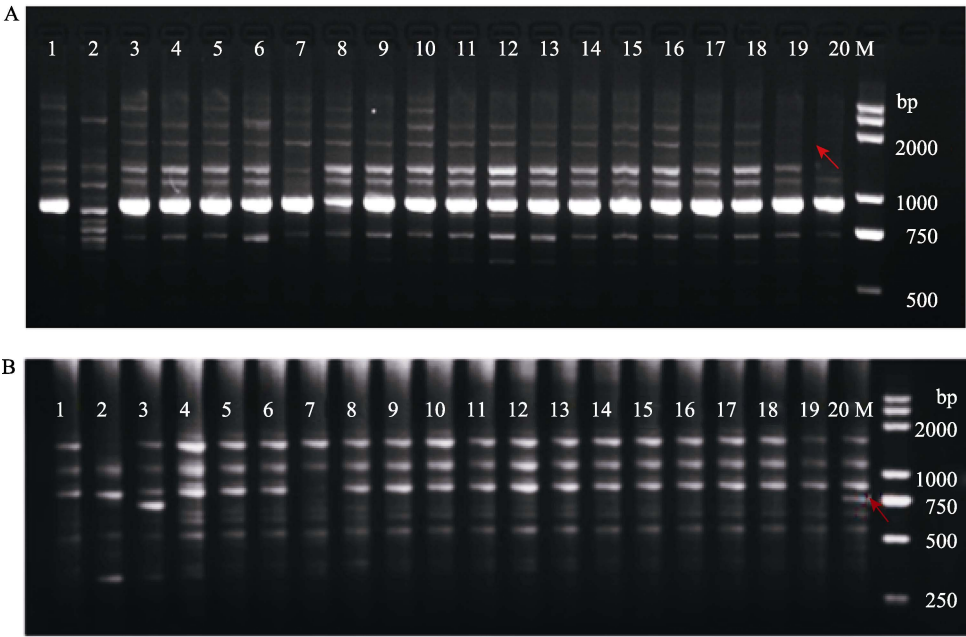
2.2 航天香蕉材料的遗传特异性分析

ISSR 引物 UBC881 的扩增结果显示: 在分子量为 1000 bp 的位置, 1、3~20 号泳道均有 1 条明亮的特异性条带, 仅 2 号柴蕉的条带较弱; 7 号贡蕉在分子量约为 1300 bp 的位置无特异性条带, 其他材料均有条带扩增; 在分子量分别约为 2000 bp 和 2500 bp 的位置, 19 号泳道上的航蕉 2 号和 20 号泳道上的航蕉 1 号均无条带扩增 (图 1A, 箭头所示位置), 而其他香蕉种质, 包括亲本巴西蕉 (16 号泳道) 在此位置均有扩增产物。因此, ISSR 引物 UBC881 可以将 2 个航天香蕉材料与亲本巴西蕉, 以及柴蕉、贡蕉等其他 18 个香蕉种质区分开。

ISSR 引物 UBC847 电泳结果显示: 在分子量约为 1800 bp 位置, 2 号泳道存在特异性条带缺失的现象; 约 800 bp 位置, 7 号泳道存在特异性条带缺失的现象; 在分子量约为 750 bp 的位置, 航蕉 1 号 (泳道 20) 和 3 号有 1 条较明显的亮色条带 (图 1B, 箭头所示位置), 而其他香蕉种质, 包括亲本巴西蕉 (16 号泳道) 在该位置无扩增条带。由此可见, ISSR 引物 UBC847 可以将航天香蕉材料航蕉 1 号与航蕉 2 号, 以及其他 18 种香蕉种质进行区分。

2.3 香蕉种质资源的遗传相似系数

根据 0-1 数据矩阵, 利用 NTSYSpc version 2.10e 统计软件计算各香蕉种质间的遗传相似系数 (表 3)。20 个供试香蕉种质间的遗传相似性系数介于 0.545~1.000 之间, 平均遗传相似性系数为 0.905。



1~20 为香蕉种质编号；M：DL 5000 DNA marker。
1~20 are the numbers of banana germplasms; M: DL 5000 DNA marker .
图 1 引物 UBC881 (A) 和 UBC847 (B) 的扩增效果
Fig. 1 Amplification results by primer UBC881 (A) and UBC847(B)

表 3 20 个香蕉种质的遗传相似性系数
Tab. 3 Genetic similarity coefficient of twenty banana germplasms

编号 No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1	1																			
2	0.636	1																		
3	0.917	0.667	1																	
4	0.870	0.696	0.880	1																
5	0.917	0.667	0.923	0.960	1															
6	0.870	0.696	0.880	1.000	0.960	1														
7	0.917	0.545	0.833	0.870	0.917	0.870	1													
8	0.870	0.667	0.923	0.960	1.000	0.960	0.917	1												
9	0.917	0.696	0.880	1.000	0.960	1.000	0.870	0.960	1											
10	0.870	0.667	0.923	0.960	1.000	0.960	0.917	1.000	0.960	1										
11	0.870	0.696	0.880	1.000	0.960	1.000	0.870	0.960	1.000	0.960	1									
12	0.870	0.696	0.880	1.000	0.960	1.000	0.870	0.960	1.000	0.960	1.000	1								
13	0.870	0.696	0.880	1.000	0.960	1.000	0.870	0.960	1.000	0.960	1.000	1.000	1							
14	0.870	0.696	0.880	1.000	0.960	1.000	0.870	0.960	1.000	0.960	1.000	1.000	1.000	1						
15	0.917	0.667	0.923	0.960	1.000	0.960	0.917	1.000	0.960	1.000	0.960	0.960	0.960	0.960	1					
16	0.917	0.667	0.923	0.960	1.000	0.960	0.917	1.000	0.960	1.000	0.960	0.960	0.960	0.960	1.000	1				
17	0.870	0.696	0.880	1.000	0.960	1.000	0.870	0.960	1.000	0.960	1.000	1.000	1.000	1.000	0.960	0.960	1			
18	0.870	0.696	0.880	1.000	0.960	1.000	0.870	0.960	1.000	0.960	1.000	1.000	1.000	1.000	0.960	0.960	1.000	1		
19	0.762	0.667	0.783	0.909	0.870	0.909	0.762	0.870	0.909	0.870	0.909	0.909	0.909	0.909	0.870	0.870	0.909	0.909	1	
20	0.727	0.636	0.833	0.870	0.833	0.870	0.727	0.833	0.870	0.833	0.870	0.870	0.870	0.870	0.833	0.833	0.870	0.870	0.952	1

注：1~20 为香蕉种质编号。
Note: 1~20 are the numbers of banana germplasms.

其中华南甜蕉、漳州选、河口高把、天宝矮蕉、龙州中把、广东 2 号、齐尾、安定高芽、菲律宾宾之间，以及高脚遁地雷、威廉斯 8188、索马

里强、北大矮、巴西蕉之间的遗传相似性系数最大，为 1.000，显示各个种质间具有较近的亲缘关系。柴蕉与贡蕉之间的遗传相似性系数最小，为

0.545, 说明它们彼此之间存在一定的遗传差异。

航天香蕉材料航蕉 1 号与航蕉 2 号之间的遗传相似性系数为 0.952, 航蕉 2 号与其他 18 个香蕉品种间的遗传相似性系数为 0.667~0.909, 航蕉 1 号与其他 18 个香蕉种质间的遗传相似性系数为 0.636~0.870。其中航蕉 1 号 (20 号材料) 与亲本巴西蕉 (16 号材料) 的遗传相似性系数为 0.833; 航蕉 2 号 (19 号材料) 与亲本巴西蕉的遗传相似性系数为 0.870。

综上, 2 种航天香蕉材料之间、2 种航天香蕉材料与亲本巴西蕉之间、以及 2 种航天香蕉材料与其他 17 个香蕉种质间均具有一定的遗传差异, 从数值上来看, 在 DNA 分子水平上, 航蕉 1 号与其他 18 个香蕉种质的遗传差异大于航蕉 2 号。

2.4 香蕉种质资源聚类分析

基于 ISSR 扩增结果, 根据 20 份香蕉种质的遗传相似性系数, 按照 UPGMA 法进行聚类分析得到亲缘关系树状图 (图 2)。从图 2 可以看出, 设定遗传相似性系数为 0.850 时, 供试的 20 份香蕉种质群体可简单地分为 2 个类群 (I、II), 其中类群 I 仅有柴蕉 1 种, 其他 19 种香蕉种质均归为类群 II, 说明柴蕉与其他 19 种香蕉之间的亲缘关系较远。在类群 II 中, 当设定遗传相似性系数为 0.880 时, 即可判断供试的目标材料航蕉 1

号、航蕉 2 号与亲本巴西蕉, 以及其他 16 种香蕉材料的亲缘关系有较大差异。当设定遗传相似性系数为 0.900 时, 类群 II 又分为 4 个亚类, 即航蕉 1 号和航蕉 2 号为 1 个亚类 (II a), 贡蕉为 1 个亚类 (II b), 那龙高把和那坡高把为 1 个亚类 (II d), 其他 14 种香蕉品种为 1 个亚类 (II c), 4 个亚类之间聚类差异明显。当遗传相似性系数为 0.960 时, 可分为 8 类, 可看出航天香蕉材料航蕉 1 号和航蕉 2 号之间有明显的聚类差异, 存在遗传多样性。而华南甜蕉、漳州选、河口高把、天宝矮蕉、龙州中把、广东 2 号、齐尾、安定高芽、菲律宾之间, 以及高脚遁地雷、威廉斯 8188、索马里强、北大矮、巴西蕉之间无明显的聚类差异, 说明这些种质间亲缘关系相对较近。

3 讨论

目前, ISSR 分子标记技术在植物遗传育种以及种质资源研究中已得到广泛应用, 范围涉及粮、油、果、蔬作物以及观赏、药用植物等。张超等^[10]应用 ISSR 标记技术对 103 份裸大麦进行分析, 得出裸大麦的地理分布与遗传多样性的关系。丁灿等^[11]通过 ISSR 标记对油棕新品种进行了遗传多样性分析。赵依杰等^[12]利用 ISSR 标记技术, 鉴定了枇杷的新品种东湖早。周成城等^[13]采用 ISSR

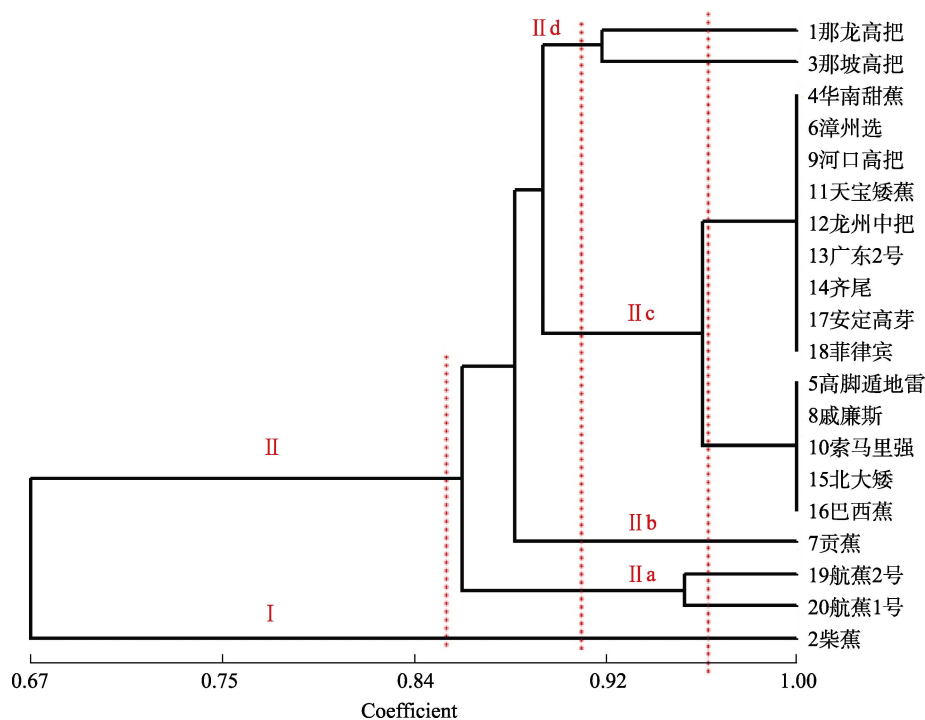


图 2 20 个香蕉种质的 UPGMA 聚类图

Fig. 2 UPGMA dendrogram for 20 cultivars of banana

标记对 18 份樱属材料进行了有效区分和鉴定,并进一步分析了材料之间的亲缘关系。ISSR 标记技术在香蕉方面的研究也有报道,包括香蕉种质资源^[14-15]、遗传多样性^[16-18]、亲缘关系^[19-20]、品种选育^[21-22]、抗病性研究^[23-24]等。这些研究充分说明了 ISSR 分子标记技术在香蕉研究应用上的可行性。

浩瀚无际的太空已然成为人类探索研究农业生产、植物育种的新基地。本课题组所选育的 2 份航天香蕉材料(航蕉 1 号和航蕉 2 号)是以巴西蕉为母本,在航天空间诱变的基础上,经过连续栽培选育出来的。本研究在 ISSR 分子标记的层面上,从 30 条引物中,筛选出 2 条引物构建 DNA 数字化指纹图谱进行遗传特异性分析,得出供试的目标材料航蕉 1 号与航蕉 2 号存在特异性位点可区别于其他 18 份香蕉种质,航蕉 1 号相比亲本巴西蕉特异性位点占 23.53%,航蕉 2 号相比亲本巴西蕉特异性位点占 17.65%。航蕉 1 号与巴西蕉的遗传相似性系数为 0.833,航蕉 2 号与巴西蕉的遗传相似性系数为 0.870,2 种航天材料与其他 18 份香蕉种质存在明显的聚类差异。结合田间观察,航蕉 1 号、航蕉 2 号与亲本巴西蕉在表型性状上也存在一定的差异,如植株大小、果穗果实形态、果实产量等性状。根据试验结果分析得出,航蕉 1 号、航蕉 2 号与母本巴西蕉(基因型均为 AAA)三者之间,以及与其他 17 份香蕉种质之间存在明显的遗传特异性,研究结果为新品种的分类鉴定和保护提供了科学依据,也为香蕉种质资源的创新和新品种选育提供参考。

根据聚类分析结果,结合各香蕉种质的基因型特点,可以得出:柴蕉(基因型为 ABB)和贡蕉(基因型为 AA)之间存在差异,同时与其他香蕉种质(基因型为 AAA)之间也有明显不同的表现,可以初步说明基因型不同的香蕉种质之间亲缘关系相对较远,表现出明显的遗传差异,这与前人的研究结果^[16-17]基本一致。虽然巴西蕉是 2 种航天香蕉材料的亲本,但是从聚类图可以看出,航蕉 1 号、航蕉 2 号与巴西蕉之间的遗传距离相对较远,说明航天搭载可使巴西蕉的遗传物质在某些特定的位点发生较大的改变,充分证明了航天搭载是一种非常行之有效的诱变育种技术,故而可从变异后代中选育出新品种^[24]。但是,航蕉 1 号、航蕉 2 号与巴西蕉之间的遗传距离相对较远,以及基因型 AA 的贡蕉与基因型为 AAA

的香蕉材料未被简单地分成 2 类,这并不排除由于本研究为了区分 2 份航天香蕉目标材料与其他材料之间的遗传差异,而筛选所用的引物数量较少的原因。

参考文献

- [1] 周红玲,郑云云,洪佳敏,郑加协,何炎森. 福建省香蕉产业发展现状及对策[J]. 现代农业科技, 2017(5): 100-101. ZHOU H L, ZHENG Y Y, HONG J M, ZHENG J X, HE Y S. Current situation and countermeasures of banana industry development in Fujian province[J]. Modern Agricultural Science and Technology, 2017(5): 100-101. (in Chinese)
- [2] 王乃彦. 开展航天育种的科学研究工作,为我国农业科学技术的发展做贡献[J]. 核农学报, 2002(5): 257-260. WANG N Y. Some proposals on the research of plant breeding by plant breeding spaceflight in China[J]. Journal of Nuclear Agricultural Science, 2002(5): 257-260. (in Chinese)
- [3] 陈志强,周丹华,郭涛,王慧. 植物航天育种的发展及其展望[J]. 卫星应用, 2021(12): 19-24. CHEN Z Q, ZHOU D H, GUO T, WANG H. Development and prospect of plant space breeding[J]. Satellite Application, 2021(12): 19-24. (in Chinese)
- [4] ZIEDEWIEZ E, RAFALAKI A, LABUDA D. Genome fingerprinting by simple sequence repeats (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification[J]. Genomics, 1994, 20(2): 176-183.
- [5] FERNANEZ M, FIGUEIRAS A, BENITO C. The use of ISSR and RAPD markers for detecting DNA polymorphism, genotype identification and genetic diversity among barley cultivars with known origin[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2002, 104(5): 845-851.
- [6] PRADEEP M R, SARLA N, SIDDIQ E A. Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding[J]. Euphytica, 2002, 128: 9-17.
- [7] 邓禄军,吴巧玉,何天久,邓仁菊,王启富,罗密. 基于形态学和 ISSR 分子标记的迷你甘薯遗传多样性分析[J]. 种子, 2021, 40(10): 56-61. DENG L J, WU Q Y, HE T J, DENG R J, WANG Q F, LUO M. Genetic diversity analysis of mini sweet potato based on morphology and ISSR molecular markers[J]. Seed, 2021, 40(10): 56-61. (in Chinese)
- [8] 郭计华,李新国,李丽,李绍鹏,罗轩,魏守兴,谢子四. 基于 ISSR 分析 28 份香蕉种质的基因组 DNA 多样性[J]. 基因组学与应用生物学, 2012, 31(5): 492-497. GUO J H, LI X G, LI L, LI S P, LUO X, WEI S X, XIE Z S. Based on the ISSR analysis of genomic DNA diversity of 28 banana germplasms[J]. Genomics and Applied Biology,

- 2012, 31(5): 492-497. (in Chinese)
- [9] WILLIAMS J G, KUBELIK A R, LIVAK K J, RAFALSKI J A, TINGEY S V. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers[J]. *Nucleic Acids Research*, 1990, 18(22): 6531-6535.
- [10] 张超, 才让卓玛, 卡毛先, 段瑞君. 应用 ISSR 分子标记分析裸大麦的遗传多样性[J]. *分子植物育种*, 2020, 18(4): 1193-1201.
ZHANG C, CAIRANG Z M, KA M X, DUAN R J. Genetic diversity of naked barley analyzed by ISSR molecular markers[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2020, 18(4): 1193-1201. (in Chinese)
- [11] 丁灿, 林位夫. 油棕新品种遗传多样性的 ISSR 分析[J]. *安徽农业科学*, 2010, 38(4): 2202-2203, 2205.
DING C, LIN W F. ISSR analysis on genetic diversity of new oil palm germplasm[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2010, 38(4): 2202-2203, 2205. (in Chinese)
- [12] 赵依杰, 王江波, 张小红, 施维属, 林航. 枇杷新品种‘东湖早’的 ISSR 分子鉴定[J]. *热带作物学报*, 2010, 31(1): 72-76.
ZHAO Y J, WANG J B, ZHANG X H, SHI W S, LIN H. ISSR molecular identification of *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl. ‘Dong Huzao’[J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2010, 31(1): 72-76. (in Chinese)
- [13] 周成城, 杨德明, 李士坤, 万佳艺, 荣俊冬, 郑郁善. 18 份樱属材料亲缘关系的 ISSR 分析[J]. *森林与环境学报*, 2020, 40(1): 46-53.
ZHOU C C, YANG D M, LI S K, WAN J Y, RONG J D, ZHENG Y S. Genetic relationship analysis of 18 *Cerasus* materials based on inter-simple sequence repeat molecular marker[J]. *Journal of Forest and Environment*, 2020, 40(1): 46-53. (in Chinese)
- [14] 蔺维成, 郭计华. ISSR 技术应用于香蕉种质资源的研究进展[J]. *兴义民族师范学院学报*, 2021(3): 116-119.
LIN W C, GUO J H. Research progress of ISSR technology applied to banana germplasm resources[J]. *Journal of Xingyi Normal University for Nationalities*, 2021(3): 116-119. (in Chinese)
- [15] 赖恭梯. 福建香蕉种质资源试管保存及野生蕉 ISSR 与抗寒性分析[D]. 福州: 福建农林大学, 2014.
LAI G T. *In vitro* conservation of *Musa* spp. germplasm resources and ISSR and cold-resistant analyses of the wild banana in Fujian province[D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2014. (in Chinese)
- [16] 张如莲, 付小霞, 洪彩香, 漆智平, 谢振宇, 谢子四. 30 个香蕉品种遗传多样性的 ISSR 分析[J]. *中国农学通报*, 2006(3): 366-370.
ZHANG R L, FU X X, HONG C X, QI Z P, XIE Z Y, XIE Z S. Genetic diversity analysis of 30 banana cultivars by ISSR markers[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2006(3): 366-370. (in Chinese)
- [17] 牟海飞, 林贵美, 邹瑜, 李清泉, 李朝生, 韦华芳, 吴代东, 张进忠, 王趣有, 潘永杰, 陈忠良. 利用 ISSR 分子标记分析香蕉品种的遗传多样性[J]. *西南农业学报*, 2010, 23(4): 1206-1210.
MOU H F, LIN G M, ZOU Y, LI X Q, LI C S, WEI H F, WU D D, ZHANG J Z, WANG Q Y, PAN Y J, CHEN Z L. Genetic diversity analysis of banana (*Musa* spp.) based on ISSR molecular marker[J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2010, 23(4): 1206-1210. (in Chinese)
- [18] 刘绍钦, 黄上志, 梁张慧, 陈芸芸. ISSR 分子标记技术在香蕉分类上的应用[J]. *西南大学学报(自然科学版)*, 2007(2): 70-74.
LIU S Q, HUANG S Z, LIANG Z H, CHEN Y Y. Application of inter-simple sequence repeat markers in the classification of banana[J]. *Journal of Southwest University (Natural Science Edition)*, 2007(2): 70-74. (in Chinese)
- [19] 姚锦爱, 蔡鸿娇, 石姐姐, 甘林, 杨秀娟, 陈福如. 香蕉种质资源亲缘关系的 ISSR 分析[J]. *福建农业学报*, 2012, 27(1): 37-42.
YAO J A, CAI H J, SHI N N, GAN L, YANG X J, CHEN F R. Genetic relationship among banana (*Musa* spp.) germplasms revealed by ISSR analysis[J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2012, 27(1): 37-42. (in Chinese)
- [20] 王贵花, 张欣, 谢艺贤, 漆艳香, 喻群芳, 兀旭辉. 几份新选育香蕉种质资源的 ISSR 分析[J]. *中国南方果树*, 2015(1): 8-11.
WANG G H, ZHANG X, XIE Y X, QI Y X, YU Q F, WU X H. ISSR analysis of new banana germplasm resources[J]. *South China Fruits*, 2015(1): 8-11. (in Chinese)
- [21] 邹瑜, 赵明, 何海旺, 龙芳, 武鹏, 林茜, 林贵美, 庾韦花, 江文. 香蕉突变株系“青干”的分离与鉴定[J]. *南方农业学报*, 2015, 46(8): 1356-1360.
ZOU Y, ZHAO M, HE H W, LONG F, WU P, LIN Q, LIN G M, YU W H, JIANG W. Screening and primarily identification of banana mutant ‘Qinggan’ characterized by green pseudostem[J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2015, 46(8): 1356-1360. (in Chinese)
- [22] 李雪霞, 彭铁成, 徐芳, 谢俊, 陈银华, 汤华. 不同抗性香蕉品种遗传多样性的 ISSR 分析[J]. *广东农业科学*, 2012, 39(9): 6-8.
LI X X, PENG T C, XU F, XIE J, CHEN Y H, TANG H. Genetic diversity analysis for different wilt disease resistant bananas by ISSR[J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2012, 39(9): 6-8. (in Chinese)
- [23] 张贺, 张欣, 蒲金基, 漆艳香, 陆英, 喻群芳, 张辉强, 谢

艺贤. 利用 ISSR-PCR 技术分析香蕉枯萎病菌的遗传多样性[J]. 微生物学报, 2015, 55(6): 691-699.

ZHANG H, ZHANG X, PU J J, QI Y X, LU Y, YU Q F, ZHANG H Q, XIE Y X. Genetic diversity analysis of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* populations from China using inter-simple sequence repeats-PCR (ISSR-PCR) technique[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2015, 55(6): 691-699. (in Chinese)

[24] 张宏纪, 刁艳玲, 孙连发, 孙岩, 刘东军, 郭强, 兰静, 黄景华, 杨淑萍, 孙光祖. 航天诱变新品种龙辐麦 18 的选育及其主要特征特性分析[J]. 核农学报, 2008, 22(3): 243-247. ZHANG H J, DIAO Y L, SUN L F, SUN Y, LIU D J, GUO Q, LAN J, HUANG J H, YANG S P, SUN G Z. The breeding of Longfumai 18 by space mutation and variation analysis of its main characters[J]. Journal of Nuclear Agricultural Science, 2008, 22(3): 243-247. (in Chinese)