

滇杨优树遗传多样性的 AFLP 分析

纵 丹, 员 涛, 周安佩, 刘东玉, 郑 元, 段安安, 何承忠*

(西南林业大学 西南山地森林资源保育与利用省部共建教育部重点实验室, 云南 昆明 650224)

摘 要:以收集于云南和四川的 52 株滇杨优树为试验材料,并以 1 株大叶杨、1 株北京杨和 2 株黑杨做类外对照,采用 AFLP 分子标记技术进行基因组 DNA 水平检测。结果表明,筛选出的 8 对 *EcoR* I + 3/*Mse* I + 3 引物组合对 52 株滇杨优树共扩增出 264 条带,其中多态性条带 174 条,多态带百分率为 64.52%,检测到有效等位基因数(*Ne*)为 1.184,基因多样性(*H*)为 0.121,Shannon 信息指数为 0.201,平均遗传相似系数为 0.877;对 56 份杨树样本共扩增出 325 条带,其中多态性条带共 247 条,多态带百分率为 75.21%,检测出有效等位基因数(*Ne*)为 1.185,基因多样性(*H*)为 0.122,Shannon 信息指数为 0.209,平均遗传相似系数为 0.876。UPGMA 聚类分析结果显示,除滇杨优树 QXB007 与 QXJ030 外,其余杨树分析样本均能够被鉴别。基于采集地和遗传相似系数的模糊聚类分析表明,52 株滇杨优树除开远采集地外,丽江采集地样本与其他采集地样本之间均有交集,说明丽江可能是滇杨的分布中心和起源中心。该研究结果为滇杨人工选择育种、遗传改良、种质资源收集与保存等提供了理论依据。

关键词:滇杨优树;AFLP;遗传多态性;遗传相似系数;UPGMA 聚类分析

中图分类号:S792.118 **文献标志码:**A **文章编号:**1001-7461(2014)04-0103-06

Analysis of Genetic Background of 52 *Populus yunnanensis* Superior Trees by AFLP Markers

ZONG Dan, YUN Tao, ZHOU An-pei, LIU Dong-yu, ZHENG Yuan, DUAN An-an, HE Cheng-zhong*

(Key Laboratory for Forest Resources Conservation and Use in the Southwest Mountains of China, Ministry of Education, Southwest Forestry University, Kunming, Yunnan 650224, China)

Abstract:In order to deeply understand the genetic background of *Populus yunnanensis* superior trees, AFLP was employed to analyze 52 *P. yunnanensis* superior trees and their outgroup control, *P. lasiocarpa*, *P. beijingensis* and *P. nigra* from Sichuan and Yunnan provinces at genomic DNA level. From 52 *P. yunnanensis* superior trees, totally 247 AFLP fragments were obtained by 8 pairs of selected *EcoR* I + 3/*Mse* I + 3 primer combinations, in which 174 were polymorphic and the average percentage of polymorphic bands was 64.52%, and the values of effective number of alleles (*Ne*), Nei's gene diversity (*H*) and Shannon's information index (*I*) were 1.184, 0.121 and 0.201, respectively. Totally 325 AFLP fragments were obtained by the 8 prime combinations from 56 poplar samples, in which 247 bands were polymorphic and the average percentage of polymorphic bands was 75.21%, and the values of effective number of alleles (*Ne*), Nei's gene diversity (*H*) and Shannon's information index (*I*) were 1.185, 0.122 and 0.209, respectively. UPGMA cluster results showed that 54 poplar samples were distinguished from each other except QXB007 and QXJ030. Based on collection site and genetic similarity coefficient, fuzzy cluster results showed that the samples collected from Lijiang had intersections with samples collected from other

收稿日期:2014-02-18 修回日期:2014-04-06

基金项目:林业公益性行业科研专项(201104076);国家自然科学基金项目(31360184);云南省中青年学术与技术带头人后备人才培养基金项目(2012HB021)。

作者简介:纵丹,女,硕士研究生,研究方向:林木遗传育种。E-mail: 734918957@qq.com

*通信作者:何承忠,男,教授,研究方向:林木遗传育种。E-mail: hcz70@163.com

sites except Kaiyuan. It revealed that Lijiang may be the distribution and origin center of *P. yunnanensis*. The results were very helpful to the artificial selection breeding, genetic improvement and collection and preservation of germplasm resources of *P. yunnanensis*.

Key words: *Populus yunnanensis* superior tree; AFLP markers; genetic diversity; genetic similarity coefficient; UPGMA cluster analysis

滇杨 (*Populus yunnanensis*) 属杨柳科 (Salicaceae) 杨属 (*Populus*) 青杨派树种, 又称云南白杨、东川杨柳等, 是我国西南地区重要的乡土杨属树种之一, 具有速生、耐寒、适应性强、易无性繁殖、抗叶斑病和叶锈病等特性, 也是低纬度高海拔地区应用前景较高的用材林木和造林树种^[1-2]。滇杨与杨属其他树种相比具有更强的光合作用能力和组织生活能力, 使其生长更加迅速, 在土壤深厚、肥沃、湿润的冲积土土地条件下, 年均树高生长量可达 2~3 m, 粗生长达到 3~5 cm^[2-3]。滇杨还具有较多的 3 核花粉 (1 个营养核和 2 个生殖核), 对该树种的育种具有重要意义^[4]。因此, 对滇杨开展系统的研究和利用, 不仅能够为我国杨树育种工作补充新的基因资源, 而且可以为我国低纬度高海拔地区的造林绿化、短周期工业用材林培育提供备用树种^[1]。然而, 相关基础研究比较薄弱, 缺乏系统的遗传改良研究, 现存优良林分稀少, 限制了滇杨的进一步开发与利用。

杨树属于易于无性繁殖的树种, 在杨树的栽培和育种过程中较多采用扦插、嫁接等营养繁殖方式, 一个品种即为一个无性系^[5]。由于受长期人工选择等因素的影响, 当前滇杨林分基本由雄株构成, 雌株极其罕见^[6-7], 滇杨群体的扩展与繁衍主要是通过根萌与扦插繁殖方式实现, 甚至采用大枝扦插方式进行滇杨人工林的营造。同时, 滇杨具有较为明显的基因型与环境互作效应, 分布于不同海拔高度的滇杨在生长、分枝特性、干形、病虫害等方面表现出较大差异^[1]。因此, 从形态上的差异很难鉴定和区分相同或不同遗传基础的滇杨个体。而基于基因组 DNA 水平的分子标记技术, 由于不受年龄、取样部位以及生长环境条件等因素影响, 已广泛应用于优良种质资源的评价与鉴定研究^[5, 8-12]。其中, AFLP 是由 RFLP 和 RAPD 相结合的分 子 标 记 技 术, 它 不 仅 具 有 RFLP 的 专 一 性 和 可 靠 性, 而 且 具 有 RAPD 的 随 机 性 和 方 便 性^[13], 是 目 前 应 用 比 较 普 遍 的 研 究 植 物 种 质 资 源 遗 传 多 样 性 的 有 力 手 段^[14]。本 研 究 采 用 AFLP 分 子 标 记 技 术, 以 大 叶 杨、北 京 杨 和 黑 杨 为 类 外 对 照, 分 析 52 株 滇 杨 优 树 的 遗 传 基 础, 旨 在 为 更 好 地 了 解 和 掌 握 滇 杨 优 良 种 质 资 源 分 布、优 良 种 质 资 源 的 收 集 与 保 存、人 工 选 择 育 种 及 对 其 进

行遗传改良等提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

以前期收集于四川省凉山州和云南省 4 个州 (市) 并扦插繁殖保存于西南林业大学树木园的 52 株滇杨优树、大叶杨、北京杨和黑杨为对象, 在春季萌芽后, 采集嫩叶用于 DNA 的提取。各优树编号及 3 个类外对照杨树树种、采集地见表 1。

1.2 方法

1.2.1 基因组 DNA 提取 采集 56 株供试材料的嫩叶, 在液氮冷冻条件下研磨为粉末状, 然后采用改良的 SDS 法依照标准酚/氯仿流程提取总 DNA^[15], 提取后的总 DNA 在 0.8% 的琼脂糖上进行电泳检测, 并于 -20℃ 保存, 备用。

1.2.2 AFLP 分析 AFLP 分子标记过程参照 P. Vos^[16] 等介绍的方法进行。采用 *EcoR* I + *Mes* I 限制性内切酶组合进行基因组 DNA 的双酶切, 预扩增反应采用 *EcoR* I + 00/*Mes* I + 00 的引物组合, 选择性扩增反应采用引物组合 *EcoR* I + 3/*Mes* I + 3, 用于扩增反应的 PCR 仪为 PTC-100™ Thermal PCR。

1.2.3 电泳分离 将选择性扩增 PCR 产物加入 1/3 体积的双指示剂短暂离心后 95℃ 变性 5 min, 取出后立即放入冰盒。取 6 μL 上样于已经预电泳 30 min 的 6% 变性聚丙烯酰胺凝胶, 采用 70 W 恒功率进行电泳分离约 2 h, 电泳后应用银染法显带^[17]。

1.2.4 数据统计与分析 在电泳图谱上选择清晰稳定的条带进行统计, 根据同一位置上条带的有无, 有带记作“1”, 无带记为“0”, 形成 0/1 矩阵。应用 POPGENE version 1.32 软件对 52 株滇杨优树和 56 份杨树分析样本分别进行多态性位点数、多态性扩增条带比率的计算, 并在假定群体处于哈迪温伯格平衡的状态下计算观测等位基因数 (*No*)、有效等位基因数 (*Ne*)、基因多样性 (*H*) 和 Shannon 信息指数 (*I*)。利用 NTSYSpc 2.10e 软件中 SimQual 程序求 DICE 相似系数, 获得遗传相似系数矩阵, 采用 SHAN 程序中的非加权算术平均法 (UPGMA) 进行聚类分析, 通过 Tree Plot 模块生成聚类图, 用 Eigen 程序进行基于遗传相似系数的主坐标分析

表 1 56 个杨树分析样本编号及采集位点

Table 1 Code and collection site of 56 tested samples of poplar

序号	优树编号	采集地	序号	优树编号	采集地
1	HKB001	云南省红河州开远市	29	QXH025	云南省曲靖地区宣威市
2	LBB001	四川省凉山州布拖县	30	QXJ011	云南省曲靖地区宣威市
3	LBB002	四川省凉山州布拖县	31	QXJ012	云南省曲靖地区宣威市
4	LMB005	四川省凉山州美姑县	32	QXJ013	云南省曲靖地区宣威市
5	LMB006	四川省凉山州美姑县	33	QXJ014	云南省曲靖地区宣威市
6	LMB007	四川省凉山州美姑县	34	QXJ016	云南省曲靖地区宣威市
7	LMB008	四川省凉山州美姑县	35	QXJ018	云南省曲靖地区宣威市
8	LMB009	四川省凉山州美姑县	36	QXJ019	云南省曲靖地区宣威市
9	LMB011	四川省凉山州美姑县	37	QXJ020	云南省曲靖地区宣威市
10	LMB013	四川省凉山州美姑县	38	QXJ021	云南省曲靖地区宣威市
11	LMB014	四川省凉山州美姑县	39	QXJ022	云南省曲靖地区宣威市
12	LMB015	四川省凉山州美姑县	40	QXJ030	云南省曲靖地区宣威市
13	LMB016	四川省凉山州美姑县	41	QXJ031	云南省曲靖地区宣威市
14	LMB017	四川省凉山州美姑县	42	QXB005	云南省曲靖地区宣威市
15	LMB018	四川省凉山州美姑县	43	QXB006	云南省曲靖地区宣威市
16	LMB019	四川省凉山州美姑县	44	QXB007	云南省曲靖地区宣威市
17	LMB020	四川省凉山州美姑县	45	QXB010	云南省曲靖地区宣威市
18	LMM001	四川省凉山州美姑县	46	QXB026	云南省曲靖地区宣威市
19	LML001	四川省凉山州美姑县	47	QXB028	云南省曲靖地区宣威市
20	LML002	四川省凉山州美姑县	48	QZD032	云南省曲靖地区沾益县
21	LMY003	四川省凉山州美姑县	49	QZY001	云南省曲靖地区沾益县
22	LMY004	四川省凉山州美姑县	50	QZY002	云南省曲靖地区沾益县
23	LYL001	云南省丽江市玉龙县	51	QZY003	云南省曲靖地区沾益县
24	LYL002	云南省丽江市玉龙县	52	QZY004	云南省曲靖地区沾益县
25	LYL003	云南省丽江市玉龙县	53	黑杨 001	四川省凉山州美姑县
26	LYL004	云南省丽江市玉龙县	54	黑杨 002	四川省凉山州美姑县
27	ZZP001	云南省昭通市镇雄县	55	大叶杨	四川省凉山州布拖县
28	ZZP002	云南省昭通市镇雄县	56	北京杨	云南省曲靖地区宣威市

(PCA)。应用 SPSS 19.0 软件进行基于产地与遗传相似系数的模糊聚类分析。

2 结果与分析

2.1 AFLP 扩增结果

从 36 对选择性扩增引物组合中,筛选出 8 对电泳条带清晰、重复性好的引物组合用于 52 株滇杨优树和 4 个外类群个体的 AFLP 分析。对于 52 株滇杨优树,每对引物组合扩增出总带数为 26~49 条,多态性条带 11~38 条,8 对引物组合共扩增得到了 264 条带,其中多态性条带 174 条,平均多态带百分率为 64.52%;在 56 份杨树分析样本中,每对引物组合产生的总带数为 35~56 条,多态性条带 22~48 条,8 对引物组合共扩增出了 325 条带,其中多态性条带 247 条,平均多态带百分率达到 75.21 % (表 2)。由此可知,56 份杨树分析样本之间存在着一定水平的遗传差异。

2.2 遗传多样性指标

依据 AFLP 检测统计得到的 0/1 矩阵,采用 popgene 软件统计各位点的等位基因频率,从而计算观测等位基因数(N_o)、有效等位基因数(N_e)、基因多样性(H)和 Shannon 信息指数(I)等分析样本

的遗传多样性指标(表 3)。由表 3 可见,8 对引物组合从 52 株滇杨优树中检测出观测等位基因数为 1.659,有效等位基因数为 1.184,基因多样性为 0.121,Shannon 信息指数为 0.201;56 份杨树分析样本的有效等位基因数和基因多样性与 52 株滇杨优树基本相同,分别为 1.185 和 0.122,而观测等位基因数和 Shannon 信息指数略高于 52 株滇杨优树,分别为 1.760 和 0.209。说明收集保存的滇杨优树具有较为丰富的遗传变异。

2.3 遗传相似系数

依据 AFLP 分析结果,用 NTSYSpc version 2.10e 软件分别计算 52 株滇杨优树和 56 份杨树分析样本之间的遗传相似系数,表明 52 株滇杨优树之间的遗传相似系数变化范围为 0.994~0.739,平均遗传相似系数为 0.877,优树 QXB007 与 QXJ030 之间遗传相似系数最大,而优树 LMB019 与 LYL003 之间遗传相似系数最小;56 份杨树分析样本之间的遗传相似系数变化幅度在 0.994~0.677 之间,平均为 0.876,其中滇杨优树 QXB007 与 QXJ030 之间遗传相似系数最大,而遗传相似系数的最小值出现在滇杨优树 QXJ014 与类外对照的黑杨 002 之间。

表 2 8 对 AFLP 选择性引物组合的扩增结果

Table 2 Amplified results of AFLP markers by 8 selective primer combinations

序号	引物组合	供试样本	总条带数/条	多态性条带数/条	多态性条带百分率/%
1	E-ACG/ M-AGC	52 株滇杨优树	26	22	84.62
		56 份杨树样本	41	37	90.24
2	E-AGA/ M-AGC	52 株滇杨优树	26	11	42.31
		56 份杨树样本	36	25	69.44
3	E-GAT/ M-AGC	52 株滇杨优树	38	27	71.05
		56 份杨树样本	43	33	76.74
4	E-AGT/ M-ACA	52 株滇杨优树	49	38	77.55
		56 份杨树样本	56	48	85.71
5	E-ACA/ M-GAA	52 株滇杨优树	28	17	60.71
		56 份杨树样本	35	24	68.57
6	E-GAT/ M-GCC	52 株滇杨优树	27	11	40.74
		56 份杨树样本	37	22	59.46
7	E-AGT/ M-ATG	52 株滇杨优树	32	26	81.25
		56 份杨树样本	37	32	86.49
8	E-AGA/ M-GAG	52 株滇杨优树	38	22	57.89
		56 份杨树样本	40	26	65.00
	合计	52 株滇杨优树	264	174	/
		56 份杨树样本	325	247	/
	平均	52 株滇杨优树	33.00	21.75	64.52
		56 份杨树样本	40.63	30.88	75.21

表 3 供试杨树样本遗传多样性指标

Table 3 Estimates of genetic diversity among tested poplar samples

供试样本	观测等位基因数(<i>No</i>)	有效等位基因数(<i>Ne</i>)	基因多样性(<i>H</i>)	Shannon 信息指数(<i>I</i>)
52 株滇杨优树	1.659±0.475	1.184±0.275	0.121±0.152	0.201±0.220
56 份杨树样本	1.760±0.423	1.185±0.257	0.122±0.142	0.209±0.204

2.4 聚类分析

基于 56 份杨树分析样本之间的遗传相似系数,采用非加权算术平均法(UPGMA)进行聚类分析,构建了聚类分析树状图(图 1)。从树状聚类图的结果可以看出,若以遗传相似系数 0.832 为阈值,56 份杨树分析样本被分为 4 个大组。第 1 组由 52 株滇杨优树构成,第 2 和第 3 组分别仅由大叶杨和北京杨构成,第 4 组包含了 2 株黑杨。当以遗传相似系数 0.860 为阈值时,52 株滇杨优树划分为 4 个亚组,第 1 组由来自于不同产地的 42 株滇杨优树组成,第 2 组仅由收集于开远县的滇杨优树 HKB001 构成,第 3 组和第 4 组分别包含了 4 株和 5 株滇杨优树,均来自于不同产地。此外,滇杨优树 QXB007 与 QXJ030 未能区别开。

通过 NTSYSpc 2.10e 软件 Eigen 程序基于遗传相似系数的主坐标分析(PCA)结果显示,56 份杨树分析样本分为 5 组(图 2)。其中,来自于不同产地的 41 株滇杨优树聚为一组;收集于开远县的滇杨优树 HKB001 与宣威 3 株和四川美姑县 1 株滇杨优树聚为一组,但聚类关系较为分散;6 株收集于云南省内的滇杨优树聚为一组;大叶杨单独聚为一组;

2 株黑杨和北京杨聚为一组。前 2 个主坐标 PCA1 和 PCA2 所能解释的相关性为 90.36%。主坐标分析(PCA)的结果与 UPGMA 聚类分析结果基本一致。

采用 SPSS 软件将滇杨优树收集地与优树间遗传相似系数进行模糊归类(图 3)。由图 3 可见,除了红河州开远县收集地点(E 点)外,丽江市玉龙县收集地(A 点)与其余 5 个收集地点均有交集,揭示出丽江可能是滇杨的分布中心和起源中心,而收集于红河州开远县的滇杨优树具有更为独特的种质特性。

3 结论与讨论

AFLP 技术由于具有许多分子生物学方法无法比拟的特点,因而成为获取物种分子水平资料,探索生物种群的遗传结构以及研究生物多样性和系统进化的重要手段^[18]。研究证明,应用 AFLP 分子标记对杨属派间、派内种间以及种内不同个体间的亲缘关系进行定量评价是可行的^[19-20]。滇杨虽然是我国乃至世界稀有的分布于低纬度高海拔地区的杨属树种之一,具有速生、抗叶锈病等突出优良特性^[7],但

由于我国西南地区植物种类丰富,云南省更有“植物王国”之美誉,使滇杨被关注的程度较低^[1]。因此,采用 AFLP 分子标记技术,从 DNA 水平探讨滇杨优树遗传多样性水平,对其初选的优树进行基因型鉴别,有助于加深对滇杨优良种质资源的认识,提高优良种质资源的保存效率,也对开展杨树杂交育种提供优良亲本具有重要意义。

作为分子生物学研究的乔木类模式树种,有关杨树分子生物学研究比较广泛且深入。其中,采用分子标记技术从 DNA 水平对杨属派间、派内种间及种内不同个体间的遗传多样性进行了大量研究,结果表明杨属具有较高的遗传多样性水平,且杨属派间、派内种间及种内不同无性系间也蕴藏着丰富的遗传变异^[21-24]。Z. X. LU^[24]等采用 ISSR 分子标记,对分布于我国西南地区的 161 份青杨样本进行了遗传多样性分析,检测出多态带为 98.7%,基因多样性为 0.331。李宽钰^[25]等应用 RAPD 方法从 169 株青杨中也检测出较高的 DNA 多态性,多态带为 88.29%。冯夏莲^[26]采用 AFLP 标记技术,对采集于云南省内的 4 个滇杨群体遗传多样性进行了分析,得到多态带为 68.79%,基因多样性为 0.141,Shannon 信息指数为 0.244。本研究采用 AFLP 分子标记技术,筛选出的 8 对引物组合对 52 株滇杨优树进行 DNA 水平的遗传变异分析,在扩增出的 264 条带中,多态性条带共有 174 条,平均多态带为 64.52%,遗传多样性指标中,有效等位基因数为 1.184,基因多样性为 0.121,Shannon 信息指数为 0.201。与均为青杨派的青杨相比较,滇杨的遗传多样性处于中等水平,而收集于云南和四川的 52 株滇杨优树的遗传多样性略低于云南省境内滇杨 4 个居群的遗传多样性。现存群体主要由雄株构成、长期以扦插等无性繁殖可能是造成滇杨遗传差异水平不

高的主要原因。

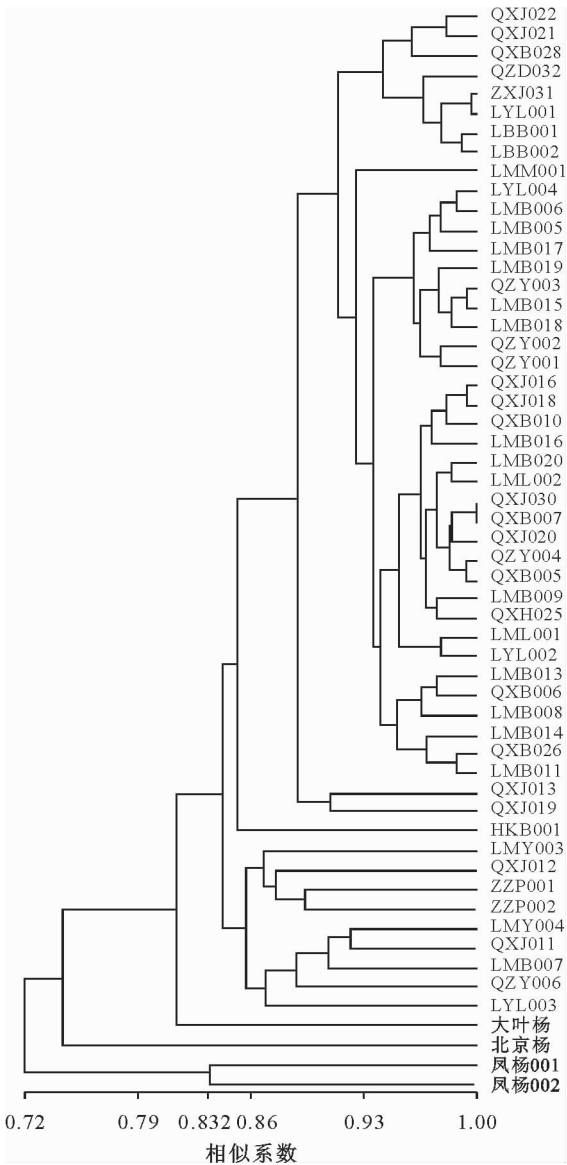


图 1 56 份杨树分析样本的 UPGMA 聚类图

Fig. 1 Dendrogram of 56 tested samples of poplar by UPGMA

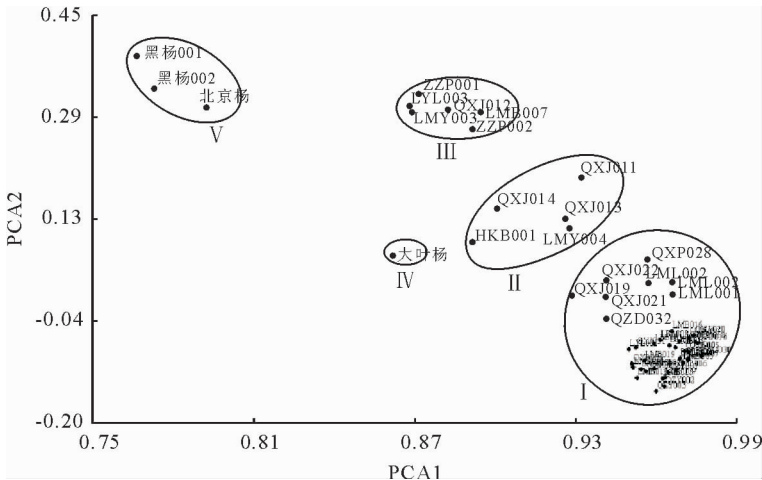


图 2 基于遗传相似系数的 56 份杨树分析样本主坐标分析

Fig. 2 Principal component analysis (PCA) of 56 tested poplar samples based on genetic similarity coefficient



图 3 不同产地滇杨优树遗传关系的模糊聚类分析

Fig. 3 Genetic relationships of *P. yunnanensis* superior trees among different sites by fuzzy cluster analysis

聚类分析中, 一个重要的分类依据是分析材料基因型间的遗传基础^[5]。基于遗传相似系数, 采用 UPGMA 聚类分析结果表明, 除了滇杨优树 QXB007 与 QXJ030 未能区别开外, 其余滇杨 50 株优树均被鉴别开来, 说明这些优树之间的遗传基础存在差异, 收集的滇杨优树代表了 51 个不同基因型的个体, 为后期进一步开展复选、决选等工作贮备了基础性育种资源。

滇杨优树 QXB007 和 QXJ030 均采集于云南省曲靖地区宣威市, 对优树无性系苗期叶片性状的研究结果表明, 二者在叶片性状方面存在较大差异, 基于欧氏距离的聚类关系中, 优树 QXB007 和 QXJ030 分别处于不同亚组^[27]。而在物候期方面, 优树 QXB007 和 QXJ030 也存在一定的差异^[28]。在本研究中, 采用 AFLP 分子标记技术未能将优树 QXB007 和 QXJ030 完全分开, 可能是因为 AFLP 技术作为一种基于酶切的分子标记, 要从亲缘关系很近的不同个体间检测到单核苷酸的突变会受到限制^[16]。因此, 滇杨优树 QXB007 和 QXJ030 是否属于同一基因型, 还需要采用 SNP 标记、功能基因序列等进一步深入研究。

前人在种质资源调查的基础上, 提出丽江是滇杨的起源中心和分布中心^[3]。冯夏莲^[26]基于昆明、大理、宣威和丽江 4 个滇杨群体间遗传距离, 采用 UPGMA 法聚类分析, 将滇杨 4 个群体划分为 2 组, 其中昆明、大理、宣威 3 个群体相聚为一组, 丽江群体独自构成一组, 且丽江群体的遗传多样性水平最高。依据多样性中心与起源中心的关系^[25], 丽江可能是滇杨的起源中心。经收集地与滇杨优树间遗传

关系的模糊分析, 除开远县外, 其余滇杨优树收集点均与丽江收集点有交集, 说明不同产地之间的滇杨存在着较高频率的基因交流, 也揭示出丽江市可能是滇杨的分布中心和起源中心。该结果进一步为丽江属于滇杨起源中心和分布中心的推论提供了分子水平的证据。

对 52 株滇杨优树无性系苗期的叶片性状观测发现, 开远县滇杨优树 HKB001 无性系的叶柄长度仅为 2~3 cm, 显著地小于其他滇杨优树^[27], 在 UPGMA 聚类中, HKB001 优树也单独构成一个分支。而对物候期的观测表明, HKB001 优树与收集于云南和四川的 12 株优树同属于中间型物候类型^[28], PCA 分析结果中, HKB001 优树与另外 4 株滇杨优树划分为一组, 但聚类关系较分散。由此可见, HKB001 优树属于滇杨优树中的 1 份独特种质资源。此外, 由于开远县滇杨优树仅有 1 株, 依据研究结果不能够确定开远滇杨与其他分布区域的滇杨之间不存在基因交流, 需要增加分析样本数量进一步研究。

李善文^[19]等对杨树杂种子代的 AFLP 分析结果表明, 杂种子代与亲本之间的遗传关系中, 存在 3 种类型, 即有些与母本相似, 有些与父本相似, 有些属于父母本的中间类型。本试验采用的类外对照材料中, 大叶杨属于大叶杨派, 黑杨属于黑杨派, 北京杨是钻天杨(黑杨的变种)×青杨(青杨派)的优良杂交子代。本研究采用 AFLP 分子标记准确地鉴别了不同派别和派间杂交子代, 结果还间接揭示出北京杨与其父母本的遗传关系更接近于母本, 在 PCA 分析结果中与黑杨划分为同一组。与上述研究结果一致。

参考文献:

[1] 何承忠, 车鹏燕, 周修涛, 等. 滇杨基因资源及其研究概况[J]. 西南林学院学报, 2010, 30(1): 83-88.
[2] 王战, 方振富. 中国植物志(第 20 卷, 第 2 分册)[M]. 北京: 科学出版社, 1984.
[3] 徐伟英. 杨树[M]. 哈尔滨: 黑龙江人民出版社, 1988.
[4] HAMILTON D, LANGRIDE P. Trinucleate pollen in the genus *Populus*[J]. *Experientia*, 1976, 32(4): 467-468.
[5] 李薇, 刘春英, 郭娟, 等. 3 个美洲黑杨新无性系的 SSR 分析及鉴定[J]. 西北林学院学报, 2014, 29(1): 73-77.
[6] 罗建勋, 索铁阿罗, 辜云杰, 等. 滇杨与美洲黑杨派间杂交育种试验初报[J]. 四川林业科技, 2010, 31(2): 57-59.
[7] 何承忠, 张志毅, 陈宝昆, 等. 滇杨遗传改良策略初论[J]. 西部林业科学, 2004, 33(1): 44-48.
[8] FOSSATI T, ZAPPELLI I, BISOFFI S, et al. Genetic relationships and clonal identity in a collection of commercially relevant poplar cultivars assessed by AFLP and SSR[J]. *Tree Genetics & Genomes*, 2005, 1: 11-20.

lumber [J]. Eur. J. Wood Prod., 2011, 69: 121-126.

[6] 陈康乐,冯德军,张英杰,等. 高温热处理对木材力学性能的影响[J]. 西北林学院学报,2013,28(5):164-166.

CHEN K L, FENG D J, ZHANG Y J, *et al.* Effects of high temperature treatment on mechanical properties of wood[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2013, 28 (5): 164-166. (in Chinese)

[7] 周永东,姜笑梅,刘君良. 木材超高温热处理技术的研究及应用进展[J]. 木材工业,2006,20(5):1-3.

[8] SHI J L, KOCAEFE D, ZHANG J. Mechanical behaviour of Québec wood species heat-treated using Thermo Wood process [J]. Holz. Roh. Werkst., 2007, 65:255-259.

[9] BRUNO E, IDALINA D, HELENA P. Improvement of technological quality of eucalypt wood by heat treatment in air at 170-200°C [J]. Forest Products Journal, 2007, 57: 47-52.

[10] BRUNO E, IDALINA D, HELENA P. Pine wood modification by heat treatment in air [J]. Bio. Res., 2008, 3(1): 142-154.

[11] YAN L, CAO J Z, GAO W, *et al.* Interaction between glycerin and wood at various temperatures from stress relaxation approach [J]. Wood Science and Technology, 2011, 45:215-222.

[12] 冯德君,赵泾峰. 热处理木材吸湿性及尺寸稳定性研究[J]. 西北林学院学报,2011,26(2):200-202

FENG D J, ZHAO J F. Heat treatment of wood hygroscopicity and dimensional stability[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2011, 26(2):200-202. (in Chinese)

[13] 秦韶山,李民,李晓文,等. 处理温度对高温热处理改性橡木物理力学性能的影响[J]. 热带作物学报,2011,32(3):533-539.

[14] SÜLEYMAN K, SALIM H. Effect of heat treatment on mechanical properties of heazelnut wood (*Corylus colurna* L.) [J]. Materials and Design, 2009, 30:1853-1858.

[15] SIBEL Y, ENGIN D G, UMIT C Y. Mechanical and chemical behavior of spruce wood modified by heat [J]. Building and Environment, 2006, 41:1762-1766.

(上接第 108 页)

[9] RAHMAN M H, RAJORA O P. Microsatellite DNA fingerprinting, differentiation, and genetic relationships of clones, cultivars, and varieties of six poplar species from three sections of the genus *Populus*[J]. Genome, 2002, 45: 1083-1094.

[10] 马庆华,申连英,王贵禧,等. 应用 AFLP 技术分析冬枣优良单株选择的遗传基础[J]. 植物遗传资源学报, 2009, 10 (4): 504-510.

[11] 马庆国,王滑,潘刚,等. 西藏核桃优良单株的 FISH-AFLP 分析[J]. 北京林业大学学报, 2011, 33(6): 86-89.

[12] 杨恩让,王宏,李煜. 杜仲优良品种及无性系 DNA 指纹图谱的构建[J]. 西北林学院学报, 2013, 28(5): 100-102.

[13] 李珊,赵桂仿. AFLP 分子标记及其应用[J]. 西北植物学报, 2003, 23(5): 830-836.

[14] 马庆国,齐静,裴东. 16 个早实核桃良种遗传多样性的 FISH-AFLP 分析[J]. 林业科学研究, 2010, 23(5): 631-636.

[15] MURRAY M, THOMPSON W F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA [J]. Nucleic Acids Research, 1980, 8(19): 4321-4326.

[16] VOS P, HOGERS R, BLEEKER M, *et al.* AFLP: a new technique for DNA fingerprinting [J]. Nucleic Acids Research, 1995, 23(21): 4407-4414.

[17] TIXIER M H, SOURDILLE P, RODER M, *et al.* Detection of wheat microsatellites using a non radioactive silver-nitrate staining method[J]. Journal of Genetics and Breeding,1997, 51: 175-177.

[18] 黄文坤,郭建英,万方浩,等. AFLP 标记在植物遗传多样性研究中的应用[J]. 中国农学通报, 2006, 22(8): 50-54.

[19] 李善文,张有慧,张志毅,等. 杨属部分种及杂种的全 AFLP 分析[J]. 林业科学, 2007, 43(1): 35-41.

[20] CERVERA M T, STORME V, SOTO A, *et al.* Intraspecific and interspecific genetic and phylogenetic relationships in the genus *Populus* based on AFLP markers[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2005, 111: 1440-1456.

[21] DU Q, WANG B, WEI Z, *et al.* Genetic diversity and population structure of Chinese white poplar (*Populus tomentosa*) revealed by SSR markers[J]. Heredity, 2012, 103(6): 853-862.

[22] OLSON M S, ROBERTSON A L, TAKEBAYASHI N, *et al.* Nucleotide diversity and linkage disequilibrium in balsam poplar (*Populus balsamifera*) [J]. New Phytologist, 2010, 186(2): 526-536.

[23] WEI J Z, DU D Q, ZHANG J F, *et al.* Genetic diversity and population structure in Chinese indigenous poplar (*Populus simonii*) populations using microsatellite markers[J]. Plant Molecular Biological Reporter, 2013, 31: 620-632.

[24] LU Z X, WANG Y H, PENG Y H, *et al.* Genetic diversity of *Populus cathayana* Rehd populations in southwestern China revealed by ISSR markers[J]. Plant Science, 2006, 170: 407-412.

[25] 李宽钰,黄明仁,杨自湘,等. 青杨的遗传分化[J]. 植物学报, 1997, 39(8): 753-758.

[26] 冯夏莲. 滇杨遗传多样性与杨属派间遗传分化研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2006.

[27] 何承忠,张晏,段安安,等. 滇杨优树无性系苗期叶片性状变异分析[J]. 西北林学院学报, 2009, 24(6): 28-32.

[28] 王德新,张晏,段安安,等. 滇杨优树无性系物候期观测[J]. 西南林学院学报, 2009, 29(6): 20-23.