

美洲黑杨×青杨派杂种无性系 SSR 指纹图谱的构建与遗传差异性分析

藕 丹,樊军锋*,周永学,高建社

(西北农林科技大学 林学院,陕西 杨陵 712100)

摘 要:用 SSR 分子标记构建 9 个美洲黑杨×青杨派杂种无性系和 3 个父母本的指纹图谱并进行遗传差异性分析。研究表明,所筛选出的 12 对引物共扩增出 94 条清晰条带,每对引物平均扩增条带为 7.8 条,其中,多态性条带 85 条,多态性比率达到 90.4%;各杨树无性系间遗传相似系数在 0.44~0.80 之间,平均相似系数为 0.62,并利用多态性条带构建出 12 个杨树无性系的分子指纹图谱。通过系统聚类分析发现,杂种无性系与母本美洲黑杨遗传差异性小,且在该指纹图谱中,每个无性系的谱带都不同,说明不同供试无性系在 DNA 分子水平上表现出一定的遗传差异,据此可将它们区别开来。

关键词:杨树;无性系;分子标记;SSR;指纹图谱

中图分类号:S792.110 **文献标志码:**A **文章编号:**1001-7461(2017)02-0112-05

Construction of Fingerprint and Analysis of Genetic Difference for Hybrid Clones of *Populus deltoides*×*Section tacamahaca* Using SSR Marker

OU Dan,FAN Jun-feng*,ZHOU Yong-xue,GAO Jian-she

(College of Forestry,Northwest A&F University,Yangling,Shaanxi 712100,China)

Abstract: DNA fingerprints of 9 hybrid clones of *Populus deltoides*×*Section tacamahaca* and 3 parents were established by using SSR (simple sequence repeats) marker, and differences in genetic relationships were analyzed. The results showed that 94 clear bands were generated from 12 pairs of primers selected and each primer amplified 7.8 bands, in which the polymorphic bands were 88 and the polymorphic rate was 90.4%. The similarity coefficients of the *Populus* clones ranged from 0.44 to 0.80 with an average of 0.62. Those polymorphic bands were used for establishing fingerprint of 12 clones. The clustering analysis showed that the genetic differences between those hybrid clones and female parent (*P. deltoides*) were low. Each clone had its own unique bands, which showed that different experimental materials had certain genetic differences in DNA level, which could differentiate them.

Key words: *Populus*; clone; molecular marker; SSR; fingerprint

美洲黑杨(*Populus deltoides*)属黑杨派树种,其生长快,材质优,经济价值和遗传价值都极高^[1]。在杨属(*Populus*) 5 个派中,我国拥有的青杨派树种最多。大量研究证明,青杨派和黑杨派的亲缘关系较近,以黑杨派树种作母本,以青杨派树种作父本,杂交可配性高,是非常优良的杂交组合^[2-3]。西

北农林科技大学杨树课题组花费近 10 a 时间,开展美洲黑杨×青杨派杂种无性系选育工作,旨在选育出生长迅速且具有抗逆境的杨树新品种。但是这些杂种无性系苗期形态特征差异很小,特别是在冬季落叶后,更加难以准确鉴别,严重影响品种推广以及育种进程^[4-5],因此,建立准确可靠的检测方法,对这

收稿日期:2016-06-21 修回日期:2016-11-21

基金项目:国家林业局林业公益性行业科研专项(201404113)。

作者简介:藕 丹,女,在读硕士,研究方向:林木遗传育种林业生物技术。E-mail:18829784191@163.com

* 通信作者:樊军锋,男,博士,教授,研究方向:杨树新品种选育及油松遗传改良。E-mail:fanjf28@163.com

些优良无性系生产和推广具有重大意义。

指纹图谱技术是目前生物科学技术研究中对遗传物质资源进行分析的一种应用广泛的方法,此技术一方面可以直接反映植物遗传物质在 DNA 分子水平上的不同,具有较高的经济性、准确性、高效性;另一方面此技术具有不受季节、环境影响等优点^[6],能有效解决品种鉴定中的多种困难。其中,SSR 标记是目前发展成熟的 DNA 指纹图谱技术,它是以 PCR 为基础的共显性遗传的分子标记,具有数量多,信息含量高,简单便捷,稳定性和重复性较高等特点^[7-10],目前主要应用于物种分类、品种鉴定以及遗传连锁谱图的绘制等^[11]。

本试验利用 SSR 分子标记对 9 个美洲黑杨×青杨派杂种无性系和 3 个亲本构建分子指纹图谱,并进行聚类分析,为新品种分子鉴定、生产推广及育种材料科学利用提供技术依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

3 个亲本:卜氏杨、69 杨、陕西青杨,9 个美洲黑杨×青杨派杂种无性系:08-69×青 1、08-69×青 2、08-69×青 3、08-69×青 4、07-69×青 1、07-西大寨×卜 1、06-69×卜 1、06-57×川 1、陕林 4 号。12 个样本均源于西北农林科技大学渭河试验站。各无性系遗传背景见表 1。

1.2 DNA 提取

2016 年 11 月在渭河试验站采集 12 个杨树无

性系枝条,做好标记,温室水培催芽。待全部发芽长叶后,用 CTAB^[12]法提取幼嫩叶片的基因组 DNA。用 0.8%琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计分别检测其纯度和浓度后,将其稀释至 30 ng/μL,取适量放在 4℃待用,其余放置-20℃冰箱备用。

表 1 试验材料及其遗传背景

Table 1 Experiment materials and their background	
无性系	遗传背景
卜氏杨	卜氏杨(<i>P. purdomii</i>)
69 杨	美洲黑杨(<i>P. deltoides</i>)
陕西青杨	青杨(<i>P. cathayanna</i>)
08-69×青 1	美洲黑杨×青杨(<i>P. deltoides</i> × <i>P. cathayana</i>)
08-69×青 2	美洲黑杨×青杨(<i>P. deltoides</i> × <i>P. cathayana</i>)
08-69×青 3	美洲黑杨×青杨(<i>P. deltoides</i> × <i>P. cathayana</i>)
08-69×青 4	美洲黑杨×青杨(<i>P. deltoides</i> × <i>P. cathayana</i>)
07-69×青 1	美洲黑杨×青杨(<i>P. deltoides</i> × <i>P. cathayana</i>)
07-西大寨×卜 1	美洲黑杨×卜氏杨(<i>P. deltoides</i> × <i>P. purdomii</i>)
06-69×卜 1	美洲黑杨×卜氏杨(<i>P. deltoides</i> × <i>P. purdomii</i>)
06-57×川 1	美洲黑杨×川杨(<i>P. deltoides</i> × <i>P. szechuanica</i>)
陕林 4 号	美洲黑杨×青杨(<i>P. deltoides</i> × <i>P. cathayana</i>)

注:06、07、08 分别为 2006 年、2007 年、2008 年,其中 2008 年与 69 杨杂交的青杨为秦岭东、中、西部 3 个青杨混合花粉。

1.3 SSR-PCR 反应

1.3.1 引物筛选及合成 参考相关文献^[7,13],挑选出 20 对引物,选取 8 个样品的 DNA 将其混匀,通过预试验筛选后挑选出其中 12 对扩增效果较好的引物(表 2)用于本试验 SSR 分析。引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

表 2 SSR 引物及其序列

Table 2 List of SSR primers and their sequences		
引物名称	正向引物(5'-3')	反向引物(5'-3')
PMGC63	AACATCCTGCATTCAAAAAC	TGCTAGAATACTCGAGTCCC
PMGC422	AACCTCGAATTAAGAATAACCC	GTCTCGGTAAAGGTATTGTCTCG
PMGC2217	ATTAGCTTCTTCTAAAGCAGC	TGACTGACTGTCTGTCTTCG
PMGC2385	ATTCTTCACCTGGGCAATATG	CTTGGCTGTAAATGACGAGTC
PMGC2392	AAGAGAGATAGCATCACCAAG	TATGTCGAGGAAATCCTTAGC
PMGC2408	TAGGTCACTAGAGTGGCGTG	CGAAAATGGTAGCTCTAATGCC
PMGC2500	AATGTCGACCACTCCACGC	AGAGGG TTTTCAATAACATACC
PMGC2675	CACACCGACAAATTATGAGTG	TTTTAGAGTGAATTTTCCTGCG
PMGC2679	GGAATCCGTTTAGGGATCTG	CGTCTGGAGAACGTGATTAG
PMGC2866	ATTGTTCAAAATCCTCAGGTTT	TAGCATAGTAGCTAGCTAGTG
PMGC3151	ACCATCATTAACCCACATA	AAAGAAACCAGACCACACAC
PMGC124	TTTGAGCACTTCAACTACCA	TGTCTTCCCTTAGTCACCAC

1.3.2 PCR 扩增体系及程序 PCR 扩增总体系为 20 μL:正、反引物 10 μmol/μL 各 1 μL、2Taq MasterMix (康为世纪) 10 μL,模板 DNA 1 μL,Rnase-Free Water 7 μL。本试验的反应程序具体为:95℃预变性 8 min;94℃变性 30 s,55℃ 复性 30 s,72℃

延伸 50 s,(本过程进行 30 个循环);72℃延伸 7 min,最终以 4℃保存。

1.3.3 PCR 产物检测 PCR 扩增产物采用 8%非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳检测条带,1×TBE。上样量为 3.5 μL,稳压 250 V,电泳 150 min 后,使用改

良的银染法染色^[14],照相观察分析。

1.4 数据分析

SSR-PCR 扩增产物是 100~300 bp 间的条带^[15-16]。电泳图谱中,在 100~300 bp 之间选取清晰可辨的条带记为 1,其余记为 0,在 Excel 中统计 0,1,建立 0,1 矩阵,再利用 NTSYSp2.10 软件计算品系间的遗传距离,并进行 UPGMA(unweighted pair-group method with arithmetic means)聚类分析。

2 结果与分析

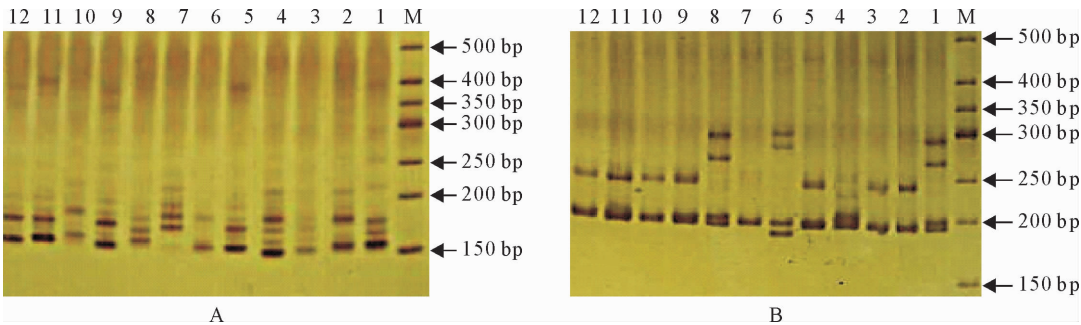
2.1 SSR 扩增结果及多态性分析

通过预试验从 20 对初选引物选出扩增较好的 12 对引物,对 12 个供试无性系进行扩增,扩增结果(表 3)如下:12 对引物共扩增出 94 条清晰的条带,平均每对引物扩增条带为 7.8 条,其中,多态性条带 85 条,多态性比率为 90.4%,多态性高;12 对引物中,PMGC2675 和 PMGC2866 引物扩增条带最多(11 条),PMGC2217 引物扩增条带最少(5 条)。在 12 对引物中,有 6 对引物多态性最高为 100%(PMGC422、PMGC2217、PMGC2675、

PMGC2679、PMGC2866、PMGC3151),PMGC2385 引物多态性最低,为 71.4%。其中,引物 PMGC2217 和 PMGC2385 的扩增结果如图 1 所示。从图 1 可以看出,同一引物下,每个无性系的条带都不一样,说明它们在 DNA 水平上存在一定的遗传差异,通过这些特征条带可以将它们区别开来。

表 3 12 对 SSR 引物扩增结果

Table 3 The amplification results of the 12 SSR primers			
引物组合	扩增 总条带数	多态性 条带数	多态性 比率/%
PMGC63	7	6	85.7
PMGC422	7	7	100
PMGC2217	5	5	100
PMGC2385	7	5	71.4
PMGC2392	9	7	77.8
PMGC2408	7	6	85.7
PMGC2500	9	7	77.8
PMGC2675	11	11	100
PMGC2679	6	6	100
PMGC2866	11	11	100
PMGC3151	7	7	100
PMGC124	8	7	87.5
总计	94	85	90.4



注:1:卜氏杨;2:08-69×青 2;3:07-西大寨×卜 1;4:08-69×青 4;5:06-69×卜 1;6:06-57×川 1;7:69 杨;8:陕西青杨;9:08-69×青 3;10:08-69×青 1;11:07-69×青 1;12:陕林 4 号;M:500 bp marker。

图 1 SSR 引物 PMGC2217(左)和 PMGC124(右)扩增产物的电泳结果

Fig.1 Amplification products generated from SSR primers PMGC2217(left)and PMGC124(right)

2.2 各无性系间的聚类分析

将 SSR 扩增的 100 条带建立 0,1 矩阵,利用 NTSYSp2.10 软件计算品系间的遗传相似系数(表 4)。12 个无性系之间的遗传相似系数在 0.44~0.80 之间,其中,卜氏杨和 69 杨、陕西青杨和 69 杨、陕西青杨和 06-57×川 1 的相似系数最小,都为 0.42,说明它们之间的遗传差异大。因为卜氏杨和陕西青杨都属于青杨派树种,69 杨属于黑杨派树种,它们之间派别不同,所以遗传差异大。虽然川杨也属于青杨派树种,但是 06-57×川 1 是美洲黑杨和川杨的杂交子代,因而和陕西青杨之间遗传差异也大。08-69×青 1 和 08-69×青 3、08-69×青 2 和 08-69×青 3 它们之间的相似系数最大为 0.80,说明它们之间的遗传差异最小,这 3 个无性系和 08-69×青

4 的母本都是美洲黑杨 69 杨,父本都是取自秦岭东、中、西的青杨的混合花粉,为半同胞家系。虽然

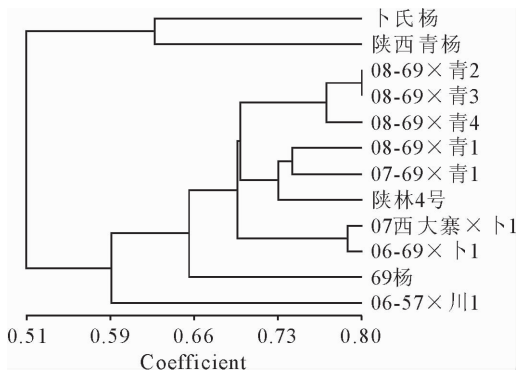


图 2 12 个杨树无性系聚类分析树状图

Fig.2 Dendrograms of 12 Populus clones

它们为半同胞家系,但是它们相互之间的遗传相似系数并不都一样,这是因为父本为混合花粉所致。将 12 个杨树无性系聚类分析,绘制它们的树状聚类图(图 2)。当遗传相似系数为 0.51 时,分为 2 大类群,卜氏杨和陕西青杨为类群Ⅰ,其余为类群Ⅱ;当遗传系数为 0.63 时,类群Ⅱ又分为 2 大亚类,06-57×川 1 为一类,其余为一类。当遗传相似系数为

0.73 时,后者又分为 5 类。随着遗传相似系数的增加,聚在一起的杨树各无性系遗传差异性越小。

2.3 无性系间的分子指纹图谱的构建

利用 85 条多态性条带,构建分子指纹图谱。根据部分引物扩增结果构建指纹图谱(表 5)。根据相同位置下条带的有无,将不同杨树无性系鉴定出来。

表 4 12 个无性系的遗传相似系数

Table 4 Genetic similarity coefficient f 12 <i>Populus</i> clones												
无性系	卜氏杨	08-69×青 2	07 西大寨×卜 1	08-69×青 4	06-69×卜 1	06-57×川 1	69 杨	陕西青杨	08-69×青 3	08-69×青 1	07-69×青 1	陕林 4 号
卜氏杨	1.00											
08-69×青 2	0.54	1.00										
07 西大寨×卜 1	0.58	0.71	1.00									
08-69×青 4	0.53	0.78	0.76	1.00								
06-69×卜 1	0.60	0.66	0.79	0.67	1.00							
06-57×川 1	0.51	0.59	0.60	0.51	0.67	1.00						
69 杨	0.44	0.66	0.62	0.69	0.69	0.60	1.00					
陕西青杨	0.62	0.47	0.48	0.51	0.48	0.44	0.44	1.00				
08-69×青 3	0.53	0.80	0.69	0.76	0.67	0.58	0.62	0.60	1.00			
08-69×青 1	0.56	0.72	0.68	0.71	0.64	0.56	0.68	0.54	0.80	1.00		
07-69×青 1	0.54	0.67	0.71	0.68	0.73	0.59	0.61	0.52	0.73	0.74	1.00	
陕林 4 号	0.47	0.65	0.71	0.61	0.71	0.59	0.64	0.52	0.71	0.72	0.74	1.00

表 5 12 个杨树无性系的部分分子指纹图谱

Table 5 Part of fingerprint map of 12 <i>Populus</i> clones													
引物	条带大小/bp	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
PMGC2217	155	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0	1	1
	160	1	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0
	170	0	0	0	1	1	0	1	1	1	0	1	1
	175	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0
	220	1	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0
PMGC2385	120	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	125	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1
	140	0	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0
	150	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	160	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0
PMGC2866	175	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1
	295	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0	1	1
	285	1	1	0	1	0	0	0	1	1	1	1	1
	260	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	1	0
	250	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	240	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	230	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1
	200	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0
	190	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	180	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	170	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0
	155	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	PMGC124	140	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	145	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	150	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	185	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	190	0	1	1	1	1	0	0	0	1	1	1	1
	270	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	280	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	290	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0

注:编号 1~12 标注如图 1。

3 结论与讨论

大量研究表明,SSR 标记在杨树各个派别中均可扩增出清晰、具有多态性的条带^[4,13,17]。本试验首次将 SSR 标记应用在美洲黑杨×青杨派杂种无性系的鉴别中,利用 12 对 SSR 引物对 12 个杨树无性系进行遗传变异分析,共得到 94 条清晰条带,其中 85 条具有多态性,多态性比率为 90.4%,多态性高,说明杨树各供试材料间存在较大的遗传变异。并根据扩增的清晰的多态性条带构建分子指纹图谱,可以将这 12 种杨树无性系区分开来,为这些优良无性系分子鉴定和推广提供理论依据,同时也说明了 SSR 标记可在杂种无性系鉴别方面应用的广泛性。

07-西大寨×卜 1 和 06-69×卜 1 的相似系数为 0.79,仅次于 08-69×青 1 和 08-69×青 3、08-69×青 2 和 08-69×青 3(0.80),说明它们之间的遗传差异也很小。因为它们的母本西大寨和 69 杨都是美洲黑杨,父本都是卜氏杨,所以遗传相似系数大。

中国黑杨派基因资源较少,尽管育种学家利用从国外引进的优良无性系作亲本,培育出了国产欧美杨、美洲黑杨杂种优良无性系,但是种间杂交选育出的无性系多以美洲黑杨 I-69 杨为母本,遗传基础相对较窄^[18];青杨派树种在我国种类多,分布广,且易产生天然杂种,种内变异很大,是我国杨树育种极好的遗传资源,但是由于某些种易遭受病虫害危害,限制了其推广与应用。因此利用美洲黑杨抗病虫害、速生等优势 and 青杨派抗寒、抗旱和易生根的特点,选育出具有父母本优良特性的无性系是育种工作者的目标。在本研究所用的部分材料已经被证明在有些方面表现出优于母本或父本的特性,如 07-69×青 1 在试验中已经被证明有优越的抗寒性和抗旱性^[19-20]。根据李善文^[21]的研究:不同组合的杂种优良无性系,有的与母本亲缘关系相对较近,有的与父本亲缘关系相对较近,有的属于亲本的中间类型,从本研究的聚类树状图可以看出 9 个美洲黑杨×青杨派杂种无性系,它们全部与母本美洲黑杨聚到一起,说明它们与美洲黑杨的遗传差异小,亲缘关系相对较近,它们可能更多地具有母本的优势,如速生、抗锈病和抗黑斑病。这为后续美洲黑杨×青杨派杂种无性系的研究提供方向,也为杨树新品种的培育和改良提供借鉴。

参考文献:

[1] 牛春山. 陕西杨树[M]. 西安:陕西科学技术出版社,1980.
[2] 宋红竹. 杨属 AFLP 遗传多样性研究和杨树品种分子指纹图

谱研究[D]. 北京:中国林业科学研究院,2005.
[3] 胡斌,樊军锋,高建设,等. 美洲黑杨与青杨、川杨和卜氏杨人工杂交及杂种苗生长和抗病性状测定[J]. 浙江林学院学报, 2009,26 (6):778-783.
HU B,FAN J F,GAO J S,*et al.* One-year-old seedling traits of *Populus deltoides* hybrids with *P. Cathayana*, *P. szechuanica* and *P. Purdomii* [J]. Journal of Zhejiang Forestry College, 2009,26 (6):778-783. (in Chinese)
[4] 李树春,夏辉,严冬,等. 不同派别杨树无性系 SSR 遗传距离及聚类分析[J]. 植物研究,2015,35(1):68-76.
LI S C,XIA H,YAN D,*et al.* SSR of genetic distance and clustering analysis on different *Populus* section clones [J]. Bulletin of Botanical Research,2015,35 (1):68-76. (in Chinese)
[5] 梁海永,刘彩霞,刘兴菊. 杨树品种的 SSR 分析及鉴定[J]. 河北农业大学学报,2005,28 (4):27-31.
LIANG H Y,LIU C X,LIU X J. Simple sequence repeat (SSR) analysis and identify of different cultivars in *Populus* [J]. Journal Agriculture University of Hebei,2005,28 (4):27-31. (in Chinese)
[6] 王忠华. DNA 指纹图谱技术及其在作物品种资源中的应用[J]. 分子植物育种,2006,4 (3):425-430.
WANG Z H. DNA fingerprinting technology and its application in crop germplasm resources [J]. Molecular Plant Breeding, 2006,4(3):425-430. (in Chinese)
[7] 李世峰,张博,陈英,等. 美洲黑杨种质资源遗传多样性的 SSR 分析[J]. 南京林业大学学报:自然科学版,2006,30 (4):10-13.
LI S F,ZHANG B,CHEN Y,*et al.* Analysis of genetic diversity of *Populus deltoides* germplasm by SSR [J]. Journal of Nanjing Forestry University: Natural Sciences Edition, 2006, 30 (4):10-13. (in Chinese)
[8] 张亚东,胡兴宜,宋丛文. 利用新型分子标记 EST-SSR 鉴定湖北省内的主栽黑杨品种[J]. 分子植物育种,2009,7 (1):105-109.
ZHANG Y D,HU X Y,SONG C W. Identification of *Populus* varieties from Hubei province by EST-SSR marker [J]. Molecular Plant Breeding,2009,7 (1):105-109. (in Chinese)
[9] MORGANTE M,OLIVIERI A M. PCR-amplified microsatellites as markers in plant genetics [J]. The Plant Journal,1993, 3(1):175-182.
[10] POWELL W,MORGANTE M,ANDRE C,*et al.* Hypervariable microsatellites provide a general source of polymorphic DNA markers for the chloroplast genome [J]. Current Biology,1995,5 (9):1023-1029.
[11] 王辉,杨敏生,朱建峰. 利用 SSR 对杨属部分种及杂种的分析鉴定[J]. 东北林业大学学报,2008,36 (12):4-6.
WANG H,YANG M S,ZHU J F. SSR analysis of some species and hybrids in *Populus*[J]. Journal of Northwest Forestry University,2008,36 (12):4-6. (in Chinese)
[12] 马明,杨克强,郭起荣. 改良 CTAB 法提取林木树种基因组 DNA 的研究[J]. 生物技术,2007,17 (3):36-38.
MA M,YANG K Q,GUO Q R. Studies on genomic DNA extraction of forest species with improved CTAB method [J]. Biotechnology,2007,17 (3):36-38. (in Chinese)

[7] 王丽. 物种多样性变化对筴竹无性系种群生长的影响研究[D]. 昆明: 西南林业大学, 2009.

[8] 王林昊, 董文渊, 唐海龙, 等. 筴竹光合日变化特征研究[J]. 世界竹藤通讯, 2016, 14(2): 6-10.

[9] 杨茹, 孙志娟, 项艳. 刚竹属 14 个品种遗传多样性的 ISSR 分析[J]. 竹子研究汇刊, 2010, 29(4): 11-14.
YANG R, SUN Z J, XIANG Y. ISSR analysis of genetic diversity among 14 bamboo species in phyllostachys[J]. Journal of Bamboo Research, 2010, 29(4): 11-14. (in Chinese)

[10] 陈其兵, 蒋瑶, 卢学琴, 等. 四川不同地区慈竹的遗传多样性研究[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2009, 37(6): 187-193.
CHEN Q B, JIANG Y, LU X Q, et al. Assessment of genetic diversity in *Neosinocalamus affinis* from different regions of Sichuan province[J]. Journal of Northwest A&F University: Nat. Sci. Edi., 2009, 37(6): 187-193. (in Chinese)

[11] 张朵. 珍稀保护竹种筴竹遗传多样性分析[D]. 郑州: 河南农业大学, 2010.

[12] 黄树军, 陈礼光, 肖永太, 等. 大明竹属遗传多样性 ISSR 分析及 DNA 指纹图谱研究[J]. 生态学报, 2013, 33(24): 7863-7871.
HUANG S J, CHEN L G, XIAO Y T, et al. Genetic diversity and DNA fingerprint of *Pleioblastus* by ISSR[J]. Acta Eco-

logica Sinica, 2013, 33(24): 7863-7871. (in Chinese)

[13] ROHLF F J. NTSYS-pc numerical taxonomy and multivariate analysis system version 2. 1 user guide[M]. New York: Elsevier Publications, 2000.

[14] 向成华, 朱秀志, 张华, 等. 濒危植物峨眉含笑遗传多样性研究[J]. 西北林学院学报, 2009, 24(5): 66-69.
XIANG C H, ZHU X Z, ZHANG H, et al. Genetic diversity of endangered plant *Michelia wilsonii* [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2009, 24(5): 66-69. (in Chinese)

[15] 解庆, 刘志红, 李周岐, 等. 柴松遗传多样性的 RAPD 分析[J]. 西北林学院学报, 2011, 26(4): 112-116.
XIE Q, LIU Z H, LI Z Q, et al. Analysis of diversity of *Pinus tabulae foemis* f. *Shekannesis* by RAPD[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2011, 26(4): 112-116. (in Chinese)

[16] WRIGHT S. Evolution in mendelian populations[J]. Bulletin of Mathematical Biology, 1990, 52(1): 241-249.

[17] 郑海星, 李周岐, 薛惠丹, 等. 花椒种质资源的 RAPD 分析[J]. 西北林学院学报, 2011, 26(2): 96-100.
ZHENG H X, LI Z Q, XUE H D, et al. RAPD Analysis of the germplasm resource of *Zanthosylum bungeanum* [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2011, 26(2): 96-100. (in Chinese)

(上接第 116 页)

[13] 李薇, 刘春英, 樊军锋, 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.
LI W, LIU C Y, FEN J F, et al. Analysis and identification of three new clones of *Populus deltoides* based on SSR molecular markers [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2014, 29(1): 73-77. (in Chinese)

[14] 王源秀. 响叶杨×银白杨遗传图谱构建及杨属图谱比较研究[D]. 南京: 南京林业大学, 2008.

[15] 黄秦军, 苏晓华, 张香华. SSR 分子标记与林遗传育种[J]. 世界林业研究, 2002, 15(3): 14-21.
HUANG Q J, SU X H, ZHANG X H. Microsatellite marker and its application in tree genetics and breeding [J]. World Forestry Research, 2002, 15(3): 14-21. (in Chinese)

[16] 李新军, 黄敏仁, 潘惠新, 等. 林木基因组中的微卫星 (SSR) 及其应用[J]. 南京林业大学学报, 1999, 23(5): 64-69.
LI X J, HUANG M R, PAN H X, et al. Microsatellite markers and application in the forestry genome [J]. Journal of Nanjing Forestry University, 1999, 23(5): 64-69. (in Chinese)

[17] 樊蓉, 樊军锋, 李周岐. 9 个白杨品种 SSR 指纹图谱构建及遗传关系的研究[J]. 西北林学院学报, 2015, 30(3): 76-80.
FAN R, FAN J F, LI Z Q. Fingerprinting and genetic relatedness of 9 varieties in *Populus* L. sect. *Populus* using SSR markers [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2015, 30(3): 76-80. (in Chinese)

[18] 何承忠, 张有慧, 冯夏莲, 等. 我国青杨派杨树基因资源及其遗传育种研究进展[J]. 西北林学院学报, 2005, 20(2): 124-129.
HE C Z, ZHANG Y H, FENG X L, et al. Introduction to gene resources and progress in research on poplars genetic breeding of section *Tacamahaca* in China [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2005, 20(2): 124-129. (in Chinese)

[19] 李晓东, 樊军锋, 邱兴, 等. 美洲黑杨×青杨派杂种无性系苗期抗寒性的鉴定与筛选[J]. 西北林学院学报, 2015, 30(2): 100-104.
LI X D, FAN J F, QIU X, et al. Identification and selection on the cold tolerance in the hybrids of *Populus deltoids* × section *Tacamahaca* [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2015, 30(2): 100-104. (in Chinese)

[20] 邱兴, 吕小锋, 李晓东, 等. 4 个杨树新无性系的抗旱性研究[J]. 西北林学院学报[J]. 2015, 30(4): 99-108.
QIU X, LV X F, LI X D, et al. Research on drought resistance of four new poplar clones [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2015, 30(4): 99-108. (in Chinese)

[21] 李善文, 张有慧, 张志毅, 等. 杨属部分种及杂种的 AFLP 分析[J]. 林业科学, 2007, 43(1): 35-41.
LI S W, ZHANG Y H, ZHANG Z Y, et al. AFLP analysis of some species and hybrids in *Populus* [J]. Scientia Silvae Sinicse, 2007, 43(1): 35-41. (in Chinese)