

基于荧光 SSR 标记的 10 个白杨派种质资源遗传多样性分析

程玮哲,樊军锋\*,周永学,高建社,俞永玮,王烟霞

(西北农林科技大学 林学院,陕西 杨陵 712100)

**摘 要:**为分析白杨派优良无性系之间的遗传关系,采用毛细管电泳荧光 SSR 分子标记技术,构建 10 个白杨派优良无性系 DNA 指纹图谱,并进行遗传分析。结果表明,从 20 对引物中筛选出 7 对位点多态性高且重复性好的引物,共扩增出 41 个多态性位点,平均每对引物扩增 5.9 个,每个引物扩增多态位点在 4~8 之间。无性系间遗传相似系数区间为 0.415~0.902,平均遗传相似系数为 0.657,遗传变异性丰富。Shannon 指数和基因多样性指数分别为 1.433 4 和 0.694 3,表明无性系间具有较高的遗传多样性。聚类分析表明,10 个白杨派无性系中,秦白杨 1 号、秦白杨 3 号、秦白杨 5 号与 84K 聚为一类,07-17-18、07-23-23 与 07-30-11 与 I-101 聚为一类,与实际亲缘关系相符。利用 2 对多态性 SSR 引物 PMGC-2020 和 PMGC2607 构建了白杨派无性系指纹图谱,该图谱可将无性系全部区分开。

**关键词:**白杨派;SSR;毛细管电泳;指纹图谱;遗传分析

**中图分类号:**S792.11      **文献标志码:**A      **文章编号:**1001-7461(2021)03-0088-06

Genetic Diversity Analysis of the 10 Poplar Accessions Based on SSR Molecular Makers

CHENG Wei-zhe,FAN Jun-feng\*,ZHOU Yong-xue,GAO Jian-she,YU Yong-wei,WANG Yan-xia

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

**Abstract:**To analyze the genetic relationships of poplar clones (Sect. *Leuce*), we constructed DNA fingerprint maps of 10 excellent poplar clones and analyzed genetic diversity based on fluorescent SSR molecular markers of capillary electrophoresis. A total of 41 polymorphic loci were detected in the 7 pairs of polymorphic primers with high polymorphism and high repeatability, 20 pairs of primers were screened out. The polymorphic loci of each primer ranged from 4 to 8 with an average of 5.9. The genetic similarity coefficient ranged from 0.415 to 0.902, with the average of 0.657. The Shannon index and gene diversity index were 1.433 4 and 0.694 3, respectively, indicating that there was a high genetic diversity. Cluster analysis showed that “Qinbaiyang No. 1”, “Qinbaiyang No. 3”, “Qinbaiyang No. 5” and “84K” were clustered in one group, and “07-17-18”, “07-23-23”, “07-30-11” and “I-101” were clustered another group, which was consistent with the actual genetic relationship. All clones could be distinguished by the fingerprints built by the primers of PMGC-2020 and PMGC2607.

**Key words:** Sect. *Leuce*; SSR; capillary electrophoresis; fingerprinting; genetic analysis

杨树指杨柳科(Salicaceae)杨属(*Populus*)的所有树种的统称,是以无性繁殖为主、雌雄异株的落叶乔木<sup>[1]</sup>。其分布范围广泛,有较强的适应性和抗逆性,是良好的用材造林树种<sup>[2]</sup>。20 世纪 80 年代以

来,随着分子生物学的发展,分子标记早已运用到杨树等多种植物的遗传育种研究中,使品种鉴定、选育良种更为方便,摆脱传统育种周期长、子代易受环境影响导致的良种生产推广及应用的难题。

收稿日期:2020-09-11 修回日期:2020-10-20

基金项目:“十三五”国家重点研发项目(SQ2016YFNC030041)。

作者简介:程玮哲。研究方向:林木遗传育种与林业生物技术。E-mail:412022317@qq.com

\* 通信作者:樊军锋,博士,教授。研究方向:杨树新品种选育与遗传改良。E-mail:fanjf282163.com

简单重复序列 (simple sequence repeats, SSR) 又名微卫星 DNA, 该分子标记利用真核基因组中普遍存在的微卫星 DNA 两端保守的单拷贝序列设计引物, 并通过 PCR 技术电泳检测揭示标记多态性<sup>[3]</sup>。SSR 分子标记具有共显性、重复性高、多态性丰富的优点, 近年来, 已广泛应用于枣树 (*Ziziphus jujuba*)<sup>[4]</sup>、松树<sup>[5]</sup>、高粱 (*Sorghum bicolor*)<sup>[6]</sup>、枸杞 (*Lycium*)<sup>[7]</sup> 等多种植物作物群体遗传和进化研究。相较于传统聚丙烯酰胺凝胶电泳, 毛细管自动电泳荧光检测法 TP-M13 (Tailed primer-M13)<sup>[8]</sup> 是最新检测技术。该技术通过标记荧光引物, 检测结果可细化到 1 bp, 能够实现低成本、高效率的检测 SSR 多个位点信息。

种质鉴定在林木良种生产推广中有至关重要的意义。最早应用的是 RAPD 分子标记构建指纹图谱, 研究表明 RAPD 分子标记能很好的区分开杨属, 且每一种杨属品种都具有其独特的指纹图谱<sup>[9]</sup>。藕丹等<sup>[10]</sup> 分别采用 SSR 与 SCoT 分子标记对美洲黑青杨杂种无性系的亲缘关系进行分析, 并比较了 2 分子标记在良种鉴定方面的适用性。樊蓉等<sup>[11]</sup> 针对白杨派杂交新品种及近缘种研究其遗传关系, 通过遗传图谱在分子水平上揭示了品种的独特性。

本研究基于核基因组的 SSR 分子标记技术, 综合评价 10 个白杨派种质资源的遗传多样性水平, 构建 DNA 指纹图谱, 为选育白杨派新品种以及选育品种之间亲缘关系的鉴定提供依据; 有利于加快白杨无性系选育的步伐, 并且促进白杨派优异种质资源的挖掘, 推动白杨派树种的遗传改良进程, 加快优异杨树种质资源的推广栽植。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

研究所用白杨派无性系共 10 个, 包括秦白杨 1、3、5 号及其父母本 84K、I-101, 新疆杨和 4 个白杨派无性系毛白杨 30 号、07-17-18、07-23-23、07-30-11。供试白杨派无性系材料均采自西北农林科技大学渭河试验站 (表 1)。

### 1.2 方法

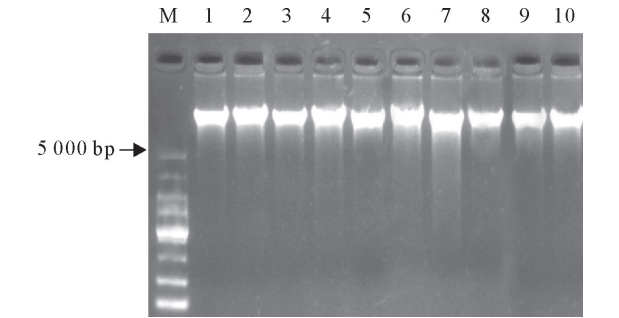
1.2.1 DNA 提取 2020 年 5 月采集 1 年生杨树无病虫害新生嫩叶, 采用改进 CTAB 法<sup>[12]</sup> 提取新生嫩芽基因组 DNA, 采用 Nanodrop2000 检测 DNA 的浓度及纯度, 用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 质量 (图 1), 检测后的 DNA 稀释成  $20\text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$  并在  $-20^{\circ}\text{C}$  下保存备用, 使用时取出保存于  $4^{\circ}\text{C}$ 。

1.2.2 引物合成与筛选 从国际杨树基因组委员会官方网站 ([http://web.ornl.gov/sci/ipgc/ssr\\_](http://web.ornl.gov/sci/ipgc/ssr_)

[resources.htm](#)) 选取 20 对合适的 SSR 引物。筛选出 7 对扩增条件好、多态性丰富的引物 (表 2), 引物合成与标记均由上海生物工程有限公司完成。

表 1 供试材料及遗传背景

Table 1 Materials and their genetic background	
无性系	遗传背景
秦白杨 1 号	I-101 ( <i>P. alba</i> ) × 84K ( <i>P. alba</i> × <i>P. glandulosa</i> )
秦白杨 3 号	I-101 ( <i>P. alba</i> ) × 84K ( <i>P. alba</i> × <i>P. glandulosa</i> )
秦白杨 5 号	I-101 ( <i>P. alba</i> ) × 84K ( <i>P. alba</i> × <i>P. glandulosa</i> )
84K	银白杨 ( <i>P. alba</i> ) × 腺毛杨 ( <i>P. glandulosa</i> )
I-101	意大利银白杨 ( <i>P. alba</i> )
新疆杨	银白杨变种 ( <i>P. alba</i> var. <i>pyramidalis</i> Bge.)
毛白杨 30 号	毛白杨无性系 ( <i>P. tomentosa</i> No. 30)
07-17-18	I-101 ( <i>P. alba</i> ) × 毛白杨 ( <i>P. tomentosa</i> )
07-23-23	I-101 ( <i>P. alba</i> ) × 毛白杨 ( <i>P. tomentosa</i> )
07-30-11	I-101 ( <i>P. alba</i> ) × 毛白杨 ( <i>P. tomentosa</i> )



注: 1. 秦白杨 1 号; 2. 秦白杨 3 号; 3. 秦白杨 5 号; 4. 84K; 5. I-101; 6. 新疆杨; 7. 毛白杨 30 号; 8. 07-17-18; 9. 07-23-23; 10. 07-30-11; M. DL5000DNA Maker。

图 1 DNA 质量电泳图

Fig. 1 Electrophoresis of the genomic DNA

1.2.3 PCR 扩增及检测 PCR 反应总体积为  $25\text{ }\mu\text{L}$ :  $10\times\text{Taq Buffer (MgCl}_2\text{)}$   $2.5\text{ }\mu\text{L}$ , Taq 酶  $0.5\text{ }\mu\text{L}$  ( $5\text{ U}/\mu\text{L}$ ), dNTP (mix)  $1\text{ }\mu\text{L}$  ( $10\text{ }\mu\text{M}$ ), 正反引物各  $1\text{ }\mu\text{L}$  ( $10\text{ }\mu\text{M}$ ), 模板 DNA  $1\text{ }\mu\text{L}$  ( $20\text{ ng}/\mu\text{L}$ )。反应程序:  $94^{\circ}\text{C}$  3 min;  $94^{\circ}\text{C}$  30 s,  $60^{\circ}\text{C}$  30 s,  $72^{\circ}\text{C}$  30 s, 10 个循环;  $94^{\circ}\text{C}$  30 s,  $55^{\circ}\text{C}$  30 s,  $72^{\circ}\text{C}$  30 s, 35 个循环;  $72^{\circ}\text{C}$  5 min。在 96 板孔中分别加入 PCR 产物  $1\text{ }\mu\text{L}$ 、LIZ500 分子量内标  $0.1\text{ }\mu\text{L}$  和去离子甲酰胺  $9.9\text{ }\mu\text{L}$ 。  $98^{\circ}\text{C}$  变性 5 min, 置于碎冰上急速冷却, 离心后用 ABI3730XL 型 DNA 分析仪检测。

1.2.4 数据分析 运用 Genemapper 软件分析数据, DataFormater、POPGENE32 软件进行数据转换并分析电泳结果, 计算遗传多样性相关指标 (观测等位基因数  $N_a$ 、有效等位基因数  $N_e$ 、Shannon 信息指数  $I$ 、Nei's<sup>[14]</sup> 基因多样性指数  $H$  等)。利用 NT-SYS-pc2.10eUPGMA 法中的 SHAN 进行聚类分析, 并利用遗传相似系数构建树状聚类图。

## 2 结果与分析

### 2.1 SSR 结果多态性分析

利用 7 对筛选出来多态性引物在 10 个供试无性系中共扩增出 41 个多态性位点,每个引物扩增位点在 4~8 之间,平均扩增 5.9 个位点,多态性比率为 100%。其中引物 ORPM-23 和 PMGC-2885 扩增的多态等位基因数最少,引物 PMGC-2385 扩增多态等位基因数最多,为 8 个。特异等位基因数在

0~4 之间,扩增最多的为引物 GCPM-163,而引物 ORPM-23 没有扩增出特异等位基因,7 对引物共扩增出 15 个特异等位基因,平均每个引物扩增 2.1 个,平均特异性比率为 35.11%。有效等位基因数小于观测等位基因数共 25.2 个,平均 3.6 个,说明等位基因在群体中分布不均,遗传差异丰富。Shannon 指数和基因多样性指数平均值分别为 1.433 4 和 0.694 3,表明供试无性系具有较高的遗传多样性(表 3)。

表 2 筛选的 SSR 引物信息  
Table 2 Selected SSR primer information

引物	正向序列(5'-3')	反向序列(5'-3')	荧光染料	退火温度/℃ <i>T<sub>m</sub></i>
PMGC2020	TAAGGCTCTGTTTGTTAGTCAG	GAGATCTAATAAAGAAGGTCTTC	5'6-FAM	49.30
PMGC2385	ATTCTTCACCTGGGCAATATG	CTTGGCTGTAAATGACGAGTC	5'6-FAM	52.85
PMGC2607	TTAAAGGGTGCTCTGCAAGC	CTTCTTGACCTCGTTTGTGAG	5'6-FAM	54.80
PMGC2675	CACACGACAAATTATGAGTG	TTTTAGAGTGAATTTTCCTGCG	5'6-FAM	50.80
PMGC2885	CATTGATCAAATTGGATTTGAATG	AAAGATGAACATGGCTAGCTC	5'HEX	49.80
GCPM162	GCCCAAACCTCTTATTTGATG	TGGTGGAGGCTAGGATAGTA	5'HEX	51.20
ORPM23	ATTCCATTTGGCAATCAAGG	CCCTGAAAGTCACGTCTTCG	5'HEX	53.25

表 3 SSR 多态引物相关指标  
Table 3 The amplification results of the SSR polymorphic primers

引物	观测等位 基因数/个	多态等位 基因数/个	多态性 比率/%	特异等位 基因数/个	特异性 比率/%	有效等位 基因数/个	Shannon 信息指数	Nei's 基因 多样性指数
GCPM162	6	6	100.00	4	66.67	3.3	1.413 6	0.700 0
ORPM23	4	4	100.00	0	00.00	3.6	1.335 1	0.725 0
PMGC2020	7	7	100.00	2	28.57	3.3	1.541 0	0.700 0
PMGC2385	8	8	100.00	3	37.50	5.1	1.846 5	0.805 0
PMGC2607	5	5	100.00	1	20.00	2.9	1.277 3	0.660 0
PMGC2675	7	7	100.00	3	42.86	5.1	1.749 0	0.805 0
PMGC2885	4	4	100.00	2	50.00	1.9	1.871 1	0.465 0
总计	41	41		15		25.2		
平均	5.9	5.9	100.00	2.1	35.11	3.6	1.433 4	0.694 3

图 2 为引物 PMGC-2607 对部分无性系的扩增图谱。引物 PMGC-2607 在无性系 07-17-18、07-30-11、秦白杨 1 号和毛白杨 30 号中均检测到 2 个位点,在无性系 07-17-18 中 145 bp 和 164 bp 处扩增产物荧光强度达到峰值,在无性系 07-30-11 中 127 bp 和 164 bp 处达到峰值。秦白杨 1 号和毛白杨 30 号分别在 127、145 bp 和 145、147 bp 处检测到荧光峰值位点。

### 2.2 DNA 指纹图谱构建

依据 7 对引物在供试无性系间的扩增结果,仅选取其中 2 个多态性引物 PMGC-2020 和 PMGC-2607 即可构建白杨派 10 个无性系的指纹图谱(表 4)。引物 PMGC-2020 可区分秦白杨 5 号、毛白杨 30 号、新疆杨、07-17-18,引物 PMGC-2607 可区分 I-101、毛白杨 30 号、新疆杨、07-30-11,将引物

PMGC-2020 与 PMGC-2607 结合即可将其余的无性系秦白杨 1 号、秦白杨 3 号、84K、07-23-23 全部有效区分。

表 4 基于 2 个多态性引物的 10 个白杨派无性系指纹图谱  
Table 4 Fingerprinting of 10 poplar clones based on 2 polymorphic primers

无性系	引物 PMGC-2020 扩增产物大小/bp	引物 PMGC-2607 扩增产物大小/bp
秦白杨 1 号	142/155	127/145
秦白杨 3 号	142	145
秦白杨 5 号	141/142	127/145
84K	142/157	145
I-101	142/155	164
毛白杨 30 号	156	145/147
新疆杨	140/152	140/145
07-17-18	142/156	145/164
07-23-23	142	145/164
07-30-11	142/157	127/164

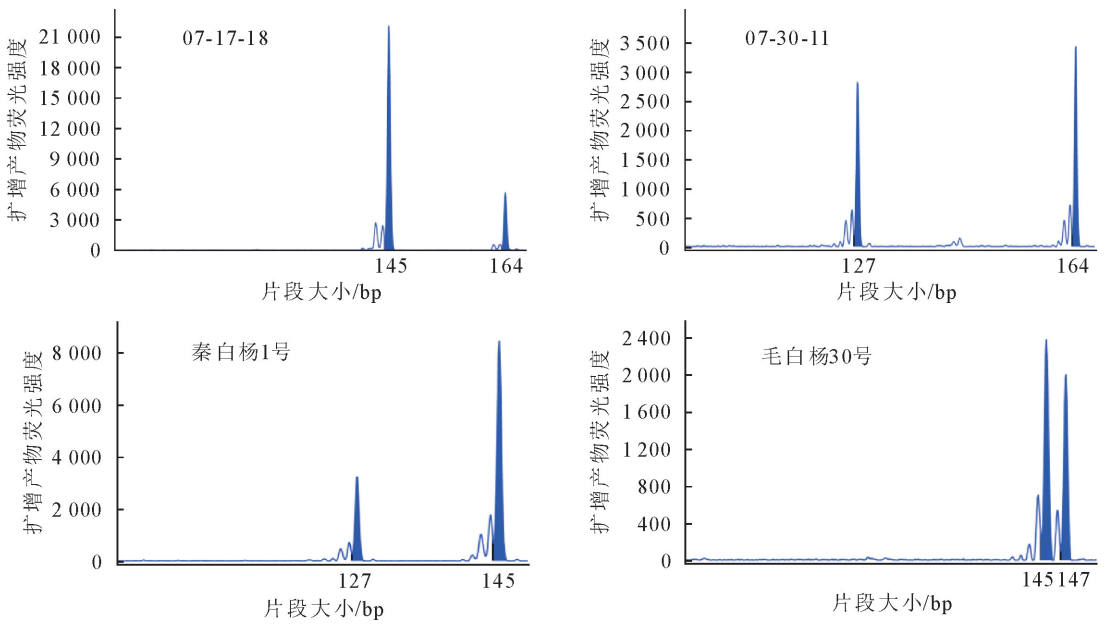


图 2 引物 PMGC-2607 扩增产物在 4 个无性系中的毛细管电泳检测

Fig. 2 Detection of amplified products of primer PMGC-2607 in four clones by capillary electrophoresis

2.3 遗传相似系数与聚类分析

遗传相似系数表明有机体间的相似性,遗传相似系数越大,有机体间越相似,遗传关系越近。10 个白杨派无性系的遗传相似系数在 0.415~0.902 之间,平均遗传相似系数为 0.657,秦白杨 1 号、秦白杨 3 号、秦白杨 5 号与 84K、I-101 间的遗传相似

系数为 0.707~0.805,秦白杨 1 号、秦白杨 3 号、秦白杨 5 号两两之间遗传相似系数为 0.780~0.829,遗传差异较小。07-17-18、07-23-23、07-30-11 与 I-101 间的遗传相似系数为 0.683~0.780,遗传关系相近。毛白杨 30 号与新疆杨分别与其他无性系遗传差异较大,平均遗传相似系数为 0.538(表 5)。

表 5 10 个白杨派无性系遗传相似系数

Table 5 Genetic similarity coefficient of 10poplar clones

无性系	秦白杨 1 号	秦白杨 3 号	秦白杨 5 号	84K	I-101	毛白杨 30 号	新疆杨	07-17-18	07-23-23	07-30-11
秦白杨 1 号	1.000									
秦白杨 3 号	0.829	1.000								
秦白杨 5 号	0.780	0.805	1.000							
84K	0.732	0.805	0.707	1.000						
I-101	0.707	0.732	0.732	0.634	1.000					
毛白杨 30 号	0.463	0.488	0.488	0.488	0.512	1.000				
新疆杨	0.561	0.585	0.537	0.537	0.610	0.512	1.000			
07-17-18	0.683	0.756	0.610	0.707	0.683	0.488	0.634	1.000		
07-23-23	0.683	0.756	0.707	0.659	0.780	0.537	0.732	0.902	1.000	
07-30-11	0.707	0.634	0.683	0.683	0.756	0.415	0.561	0.780	0.829	1.000

基于 UPGMA 聚类分析白杨派无性系结果见图 3。秦白杨系列与 07 系列分别聚为一类,秦白杨 1 号、秦白杨 3 号、秦白杨 5 号与 84K 聚为一小类,07-17-18、07-23-23、07-30-11 与 I-101 聚为一小类,两小类聚成一起与新疆杨、毛白杨 30 号汇合,进一步说明秦白杨系列和 07 系列分别具有相同的遗传基础,新疆杨和毛白杨 30 号与其余无性系亲缘关系较远。

3 结论与讨论

分子生物学发展至今,以 SSR 为标记的遗传研究已成主体,代替传统分型方法的毛细管自动电泳荧光检测法使良种鉴定、遗传学研究更为便利。姚俊修等<sup>[14]</sup>首次利用荧光 SSR 标记开展白杨派种质资源遗传多样性研究,272 个白杨派无性系共检测到 106 个等位基因,平均观测杂合度为 0.561,平均期望杂合度为 0.432,具有丰富的遗传多样性,同时



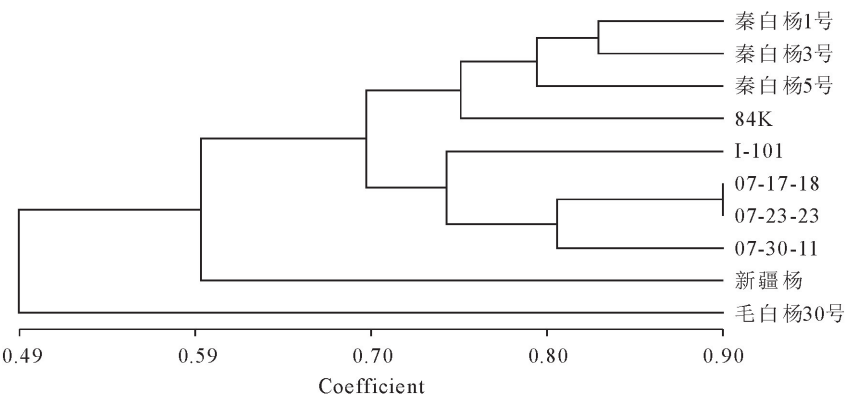


图3 10个白杨派无性系树状聚类图

Fig. 3 Dendrogram of 10 poplar clones

对6个种源地区(北京、河北等)进行了遗传分析,并建议杂交育种可以选择不同种源进行,增加遗传多样性。冯锦霞等<sup>[15]</sup>利用毛细电泳检测法鉴定14个杨树品种,仅用4对引物的3个位点将美洲黑杨的4个品种区分,4个位点将欧洲黑杨5个品种区分,遗传分析表明杨树不同派间遗传差异大。张亚东等<sup>[16]</sup>通过比较2分子标记SSR和EST-SSR的PCR扩增结果、不同位点的遗传参数及聚类结果,表明EST-SSR的有效扩增率高于SSR,EST-SSR的整体遗传多样性大于SSR,但单个位点相比SSR比EST-SSR优秀,聚类结果差异不大,两标记均可用于遗传多样性分析。

本试验利用高通量、高效率、低成本TP-M13(Tailed primer-M13)分型技术,将从表型上难以区分的10个白杨无性系有效鉴别开来,具有100%的引物多态率,Shannon指数1.4334和基因多样性指数0.6943,遗传变异性 and 生物多样性丰富。由聚类结果可知,本试验中无性系秦白杨1号、秦白杨3号、秦白杨5号聚为一类,07-17-18、07-23-23、07-30-11聚为一类,秦白杨系列与84K亲缘关系较近,07系列与I-101遗传相似系数为0.683~0.780,同样具有亲缘关系,新疆杨与无性系毛白杨30号单独与两大分支聚合在一起,试验结果符合传统植物学分类。试验所知秦白杨系列与84K汇聚较母本I-101优先,这与张海燕等<sup>[17]</sup>研究存在矛盾,因此,父母本基因影响子代导致遗传相关性方面还有待进一步研究。

指纹图谱多位点性、高特异性、简单而稳定的遗传性的优点使其在鉴定种质资源中应用广泛。杨树雌雄异株且可以无性繁殖,种间极易杂交形成新品种或新的无性系,这推动了杨树育种研究发展,但在选育和生产良种方面,杂交新无性系形态特征相似,难从表型上加以区分,造成了良种生产推广缓慢。

运用分子标记构建指纹图谱极大地加快了良种的生产推广流程,有利于形成稳定的杨树育种-生产-推广体系,为后续其他研究打好了基奠。本试验采用荧光SSR分子标记,对10个白杨派无性系进行遗传分析并构建指纹图谱,从试验方面为杨树杂交育种与新品种选育等育种工作提供支持。

参考文献:

[1] 张勇,张守攻,齐力旺,等. 杨树——林木基因组学研究模式物种[J]. 植物学通报,2006,23(3):286-293.  
ZHANG Y,ZHANG S G,QI L W,*et al.* Poplar as a model for forest tree in genome research[J]. Chinese Bulletin of Botany, 2006,23(3):286-293. (in Chinese)

[2] 苏晓华,丁昌俊,马常耕. 我国杨树育种的研究进展及对策[J]. 林业科学研究,2010,23(1):31-37.  
SU X H,DING C J,MA C G. Research progress and strategies of poplar breeding in China[J]. Forest Research,2010,23(1): 31-37. (in Chinese)

[3] 黄秦军,苏晓华,张香华. SSR分子标记与林木遗传育种[J]. 世界林业研究,2002,15(3):14-21.

[4] 王斯琪,唐诗哲,孔德仓,等. 利用SSR标记进行枣树子代苗木鉴定[J]. 园艺学报,2012,39(11):2133-2141.  
WANG S Q,TANG S Z,KONG D C,*et al.* Application of SSR markers for the identification of paternal parent for the seedlings of Chinese *Jujube*[J]. Acta Horticulturae Sinica,2012,39 (11):2133-2141. (in Chinese)

[5] 范英明,张登荣,于大德,等. 河北省华北落叶松天然群体遗传多样性分析[J]. 植物遗传资源学报,2014,15(3):465-471.  
FAN Y M,ZHANG D R,YU D D,*et al.* Genetic diversity and population structure of *Larix principis rupprechtii* mayr in Hebei Province[J]. Journal of Plant Genetic Resources,2014, 15(3):465-471. (in Chinese)

[6] 王瑞,张福耀,程庆军,等. 利用SSR荧光标记构建20个高粱品种指纹图谱[J]. 作物学报,2015,41(4):658-665.  
WANG R,ZHANG F Y,CHENG Q J,*et al.* Establishment of 20 sorghum hybrids fingerprints using SSR fluorescent marker [J]. Acta Agronomica Sinica,2015,41(4):658-665. (in Chinese)

[7] 尹跃, 安巍, 赵建华, 等. 枸杞品种 SSR 荧光指纹图谱构建及遗传关系分析[J]. 西北林学院学报, 2017, 32(1): 137-141.  
YI Y, AN W, ZHAO J H, *et al.* Fingerprinting and genetic diversity analysis of wolfberry cultivars using fluorescence-labeled SSR markers[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2017, 32(1): 137-141. (in Chinese)

[8] MARKUS SCHUELKE. An economic method for the fluorescent labeling of PCR fragments [J]. Nature Biotechnology, 2000, 18(2): 233-234.

[9] CASTIGLIONE S, WANG G, DAMIANI G, *et al.* RAPD fingerprints for identification and for taxonomic studies of elite poplar (*Populus* spp.) clones[J]. Theoretical & Applied Genetics, 1993, 87(1/2): 54-59.

[10] 藕丹, 樊军锋, 高建社, 等. SSR 和 SCoT 标记在美洲黑杨×青杨派杂种无性系遗传差异性分析上的比较[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2017, 45(4): 79-85, 93.  
OU D, FAN J F, GAO J S, *et al.* Comparison of genetic diversity of *Populus deltoides* × Section *tacamahaca* hybrids based on SSR and SCoT markers[J]. Journal of Northwest A&F University: Natural Science Edition, 2017, 45(4): 79-85, 93. (in Chinese)

[11] 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)

[12] HUANG J, GE X, SUN M. Modified CTAB protocol using a silica matrix for isolation of plant genomic DNA[J]. Biotechniques, 2000, 28(3): 432, 434.

[13] NEI M, LI W H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1979, 76(10): 5269-5273.

[14] 姚俊修, 毛秀红, 李善文, 等. 基于荧光 SSR 标记的白杨派种质资源遗传多样性研究[J]. 北京林业大学学报, 2018, 40(6): 92-100.  
YAO J X, MAO X H, LI X W, *et al.* Genetic diversity of germplasm resources of *Leuce* based on SSR fluorescent marker[J]. Journal of Beijing Forestry University, 2018, 40(6): 92-100. (in Chinese)

[15] 冯锦霞, 张川红, 郑勇奇, 等. 利用荧光 SSR 标记鉴别杨树品种[J]. 林业科学, 2011, 47(6): 167-174.  
FENG J X, ZHANG C H, ZHENG Y Q, *et al.* Identification of poplar varieties by SSR markers using capillary electrophoresis with fluorescence detection[J]. Scientia Silvae Sinicae, 2011, 47(6): 167-174. (in Chinese)

[16] 张亚东, 彭婵, 李振芳, 等. 基因组 SSR 与 EST-SSR 标记在杨树不同种间的遗传差异[J]. 东北林业大学学报, 2011, 39(12): 8-11, 117.  
ZHANG Y D, PENG C, LI Z F, *et al.* Genetic diversity of genomic-SSR and EST-SSR markers in interspecies of poplar[J]. Journal of Northeast Forestry University, 2011, 39(12): 8-11, 117. (in Chinese)

[17] 张海燕, 樊军锋, 郑涛. 18 份杨树资源的遗传多样性分析[J/OL]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2020, 48(12): 1-9.  
ZHANG H Y, FAN J F, ZHENG T. Genetic diversity analysis of 18 poplar resources[J/OL]. Journal of Northwest A&F University: Natural Science Edition, 2020, 48(12): 1-9. (in Chinese)

(上接第 79 页)

[26] CIHACEK L J, SWAN J B. Effects of erosion on soil chemical properties in the north central region of the United States[J]. Journal of Soil and Water Conservation, 1994, 49(3): 259-265.

[27] 陈刚才, 甘露, 王仕禄, 等. 土壤氮素及其环境效应[J]. 地质地球化学, 2001, 29(1): 63-67.

[28] 潘鹏, 甘文峰, 欧阳勋志, 等. 马尾松天然林土壤碳氮磷含量与碳密度的关系[J]. 西北林学院学报, 2014, 29(6): 1-5, 19.  
PAN P, GAN W F, OUYANG C Z, *et al.* Relationship between the contents of soil organic Carbon, total nitrogen, total phosphorus and soil organic carbon density of *Pinus massoniana* nature forest[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2014, 29(6): 1-5, 19. (in Chinese)

[29] 康冰, 刘世荣, 蔡道雄, 等. 马尾松人工林林分密度对林下植被及土壤性质的影响[J]. 应用生态学报, 2009, 20(10): 2323-2331.  
KANG B, LIU S R, CAI D X, *et al.* Effects of *Pinus massoniana* plantation stand density on understory vegetation and soil properties[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2009, 20(10): 2323-2331. (in Chinese)