

11 个杨树品种 SSR 指纹图谱构建及遗传关系研究

贯春雨¹, 陈 肃², 邢政华³, 李树森³, 王福森^{3*}

(1. 齐齐哈尔大学, 黑龙江 齐齐哈尔 161001; 2. 东北林业大学 林木遗传育种与生物技术教育部重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150040;
3. 黑龙江省林业科学院齐齐哈尔分院, 黑龙江 齐齐哈尔 161005)

摘 要:利用杨树基因组序列设计的 SSR 引物对 11 份杨树品种材料进行遗传多样性分析, 并构建指纹图谱。结果表明, 共 27 对引物具有多态性, 引物多态性比率占 69.23%; 获得多态性谱带 38 个, 多态性比率为 84.44%。SSR 遗传多样性分析结果为, 有效等位基因数平均值 1.578 9, 基因多样性指数平均值为 0.321 7, Shannon 多样性指数平均值为 0.471 4。11 份杨树品种的遗传距离 0.53~0.93, 平均值为 0.73。聚类分析表明, 在遗传距离 0.76 处可将所有供试材料分为 5 个类群, 分别包含 2、4、2、1、2 份供试材料。研究表明, 供试材料遗传多样性较高; 利用 SSR 标记构建了不同杨树利用的指纹图谱, 可用于杨树品种间的鉴定。研究结果可为杨树品种知识产权保护和杂交育种提供理论依据。

关键词:杨树; 分子标记; SSR; 遗传多样性; 聚类分析

中图分类号: S722.3

文献标志码: A

文章编号: 1001-7461(2023)02-0107-06

Fingerprint and Genetic Analysis of 11 Varieties of *Populus* Using SSR Markers

GUAN Chun-yu¹, CHEN Su², XING Zheng-hua³, LI Shu-sen³, WANG Fu-sen^{3*}

(1. Qiqihar University, Qiqihar 161006, Heilongjiang, China; 2. Northeast Forestry University, State Key Laboratory of Tree Genetic Breeding, Harbin 150040, Heilongjiang, China; 3. Qiqihar Branch of the Heilongjiang Academy of Forestry Sciences, Qiqihar 161005, Heilongjiang, China)

Abstract: Primers were designed according to poplar genome sequence. The fingerprints and genetic diversity of 11 *Populus* varieties were analyzed by SSR molecular markers. By 38 pairs of primers, 27 pairs of primers were polymorphic, the ratio of polymorphic primers accounted for 69.23%. And 38 alleles were amplified. The polymorphism ratio was 84.44%. Genetic diversity analysis showed that the mean effective number of alleles (NE) was 1.578 9, the mean Nei's gene diversity (H) was 0.321 7, and the mean Shannon's information index (I) was 0.471 4. The genetic distance of the 11 *Populus* varieties ranged from 0.53 to 0.93 with an average of 0.73. Cluster analysis showed that all the test materials could be divided into five groups, with the genetic distance 0.76, and the included numbers of variety were 2, 4, 2, 1 and 2, respectively. The results indicated that the test materials had a broad genetic basis, and the genetic diversity of them was high. The fingerprints of each *Populus* variety were constructed according to SSR markers, which could be used for the identification among *Populus* varieties, and to provide theoretical basis for intellectual property protection and cross breeding of *Populus* varieties.

Key words: *Populus*; molecular marker; SSR; genetic diversity; cluster analysis

杨树 (*Populus*) 为杨柳科 (Salicaceae) 杨属 (*Populus*) 树种, 是世界上分布最广、适应性最强的

收稿日期: 2022-03-23 修回日期: 2022-05-15

基金项目: 黑龙江省省属高等学校基本科研业务费青年创新人才项目 (135409218)。

第一作者: 贯春雨, 博士, 副教授。研究方向: 林木遗传育种。E-mail: gcy19810201@163.com

* 通信作者: 王福森, 硕士, 研究员。研究方向: 林木遗传育种。E-mail: wangfs66@163.com

树种。杨树在中国分布于 $25^{\circ}-53^{\circ}\text{N}$, $80^{\circ}-134^{\circ}\text{E}$, 包含很多变种、杂种及境外引种, 是中国北方用材林、防护林主要树种。由于杨树品种多来源于种间杂交, 新品种间形态特征较为相似, 且在生产中多采用种穗进行无性繁殖, 极易造成品种混杂、难以鉴别的问题, 不利于品种的保护和推广应用。利用分子标记手段, 建立指纹图谱, 鉴别区分杨树品种, 可为品种知识产权保护和杂交育种提供理论依据。SSR (simple sequence repeats) 标记方法具有经济、快捷、分辨率高的优点, 2005 年起就被国际植物新品种保护联盟 (UP-OV) 推荐作为建库优选的标记, 目前是鉴定植物品种的最佳分析方法之一^[1-3]。

本研究以黑龙江省杨树多年主栽品种‘青山杨’

‘山新杨’‘银中杨’‘黑青杨’‘小青黑’‘小黑杨’, 以及新品种‘中雄 4 号’‘龙丰 1 号’‘龙丰 2 号’为材料, 对各无性系进行 SSR 标记分析, 构建指纹图谱并分析遗传关系, 可为黑龙江杨树品种鉴定及品种保护提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料的选择

供试材料为黑龙江省杨树主栽品种‘青山杨’‘山新杨’和‘银中杨’等, 共 11 个杨树品种和 2 个对照树种(对照树种仅仅用于 SSR-PCR 反应中, 不做遗传多样性分析与聚类分析), 各品种的代号及遗传背景详见表 1。

表 1 试验材料

Table 1 List of experiment materials

代号	杨树品种	学名	遗传背景
1	青山杨	<i>P. pseudo cathayana</i> \times <i>deltoides</i> Bartr ‘Shan Hai Guan’	青杨 \times 山海关杨
2	山新杨	<i>P. davidiana</i> \times <i>P. alba</i> var. <i>pyramidalis</i>	山杨 \times 新疆杨
3	银中杨	<i>P. alba</i> \times <i>P. berolinensis</i>	银白杨 \times 中东杨
4	黑青杨	<i>P. euramericana</i> “N3016” \times <i>P. ussuriensis</i>	中荷 64 \times 大青杨
5	小青黑	<i>P. pseudo-simonii</i> \times <i>P. nigra</i> L.	小青杨 \times 欧洲黑杨
6	中黑防 2 号	<i>P. deltoides</i> \times <i>P. cathayana</i>	美洲黑杨 \times 青杨
7	中雄 4 号	<i>P. deltoides</i> \times <i>P. suaveolens</i>	美洲黑杨山海关杨 \times 甜杨
8	龙丰 1 号	<i>P. deltoides</i> \times <i>P. simonii</i> ‘Lf-1’	美洲黑杨 \times 小叶杨
9	龙丰 2 号	<i>P. deltoides</i> \times <i>P. simonii</i> ‘Lf-2’	美洲黑杨 \times 小叶杨
CK1	对照 1	<i>P. simonii</i> \times <i>P. nigra</i> \times <i>P. euramericana</i> cv. 15A	
10	黑林 2 号	(<i>P. simonii</i> \times <i>P. nigra</i>) \times (<i>P. nigra</i> \times <i>simonii</i>) CLHeilin	小黑杨 \times 波兰 15A
CK2	对照 2	(<i>Populus pseudo-simonii</i> \times <i>P. nigra</i>) \times <i>P. nigra</i>	
11	小黑杨	<i>P. simonii</i> \times <i>P. nigra</i>	小叶杨 \times 欧洲黑杨

1.2 DNA 提取

采用植物 DNA 提取试剂盒(天根生化科技(北京)有限公司)提取参试杨树总 DNA。取参试树种的活叶片材料, 每样本采集叶片 1~2 片, 用液氮冷冻后备用。冷冻的叶片经快速研磨成粉末后, 立即采用植物 DNA 提取试剂盒提取总 DNA, 提取步骤按照试剂盒产品说明的步骤。提取的 DNA 经过 0.8% 琼脂糖凝胶电泳检测, 无蛋白质、酚及其他核酸污染。DNA 浓度的检测采用紫外分光光度法。

1.3 引物设计与合成

利用 MISA (MicroSatellite identification tool) 软件分析小黑杨全基因组的 SSR 位点, 搜索 2 核苷酸重复 6 次以上、3~6 核苷酸重复 5 次以上的 SSR 位点, 共获得 77 183 个。根据 SSR 位点信息及小黑杨基因组信息, 利用 primer3 软件设计引物, 分别在每个 SSR 位点上、下游 200 bp 内设计正向及反向引物, 引物长度范围设置在 20~25 bp, 退火温度设置为 58~65 $^{\circ}\text{C}$ 。共设计引物 39 对, 部分引物名称及序列见表 2。

引物由上海生工技术公司合成, 2OD/管分装, 编号为“S”+顺序号。引物为附在管壁上的粉末或膜状物, 稀释前先 12 000 r/min 离心到底部, 小心打开管盖, 加入高压灭菌的超纯水溶解, 涡旋。每条引物根据其 nmol 浓度加入相应体积的无菌水, 引物最终浓度均稀释至 5 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

1.4 SSR-PCR 反应

PCR 扩增反应使用 BIO-RAD T100 PCR 仪。25 μl 扩增体系中包含 1.1 \times T3 Super PCR Mix 22.0 μl , 上游引物、下游引物各 1.0 μl , 模板 DNA 1.0 μl 。扩增条件: 98 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 2 min, 循环反应包括 98 $^{\circ}\text{C}$ 变性 10 s, 57 $^{\circ}\text{C}$ 复性 10 s, 68 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 15 s, 35 个循环后, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 2 min (表 3)。扩增产物以 4% 琼脂糖凝胶检测。

1.5 数据统计与分析

采用人工读带法, 根据条带的迁移率和有记录二元数据, 有带记 1, 无带记 0, 排除模糊不清的带和无法准确标识的带。采用 Francis 编制的 POP-GENE 32 软件进行数据处理, 分析种群内有效等位

基因数(N_e)、基因多样性指数(H)和 Shannon 指数(I)。聚类分析 NTSYSpc version2.10 利用 0、1 数据阵计算遗传相似系数(GS)和遗传距离(GD),采用 UPGMA 算法(Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean)进行聚类分析,通过 Tree plot 模块生成聚类图。

2 结果与分析

2.1 多态性分析

根据 SSR 位点信息及‘小黑杨’基因组信息,共设计 SSR 引物 39 对。对供试材料及照树种基因组进行扩增,经过筛选,共 27 对引物具有多态性(表 2、表 3),引物多态性比率占 69.23%;共扩增出谱带 45 条,其中,多态性谱带 38 条,多态性条带率为

84.44%。图 1 为多态性引物 S26、引物 S35、引物 S68 的扩增结果,电泳图片中的品种代号同表 1。

2.2 指纹图谱构建

按照引物识别的先后顺序,对多态性引物所扩增的条带进行统计,建立指纹图谱,得到了每个品种的 DNA 指纹图谱数据库(表 4)。

2.3 遗传关系分析

SSR 标记 POPGENE32 分析结果为,有效等位基因数平均值 1.578 9,基因多样性指数平均值为 0.321 7,Shannon 多样性指数平均值为 0.471 4。其中引物 S27、S37、S38、S45、S47、S54、S84,多样性指数为 0.000 0,不具有多态性,其余引物 Shannon 多样性指数变幅为 0.188 2~0.692 2(表 5)。

表 2 SSR 引物序列

Table 2 List of SSR primers and their sequences

序号	引物名称	上游引物序列(5'-3')	下游引物序列(5'-3')
1	S8	TGTTCAATCTATATTTACGTGGCT	CCGAGACTTAGGTCAACCGT
2	S9	TTTCGAAAACAGGCTTATTTTATATC	TTGGTTCAAAAACCTGCCACA
3	S25	CACGATTTGAGGACCGTTT	TTGAAGAGTGTTGTGCGCTG
4	S26	CCTCCTTTATGTGTGGTTTCC	TCGAGGTTGAACCATAGGGA
5	S27	TTCTTGATATCGCTTGGCATT	GGGTTACTCGCGAAGATCAA
6	S28	CGAGAACTCACTTTGATGGTTG	TCAGGTATACCCGTACAAGTGG
7	S35	CCTTGGCTGCATACCACTTT	CCTCGACCGACCTCTTTCTA
8	S68	CTCAACCCAACAAGCAAGGT	GAGAGATAGAATGGTCATGGCA
9	S85	GGATTGGGGCCATTACTTTT	CACGTTCACTAGCCCAACCT
10	S86	CCCTCAATCTGGAAGTAAATGTT	TCTTAACATGCATCGTCTCTTTT

表 3 SSR-PCR 扩增条件

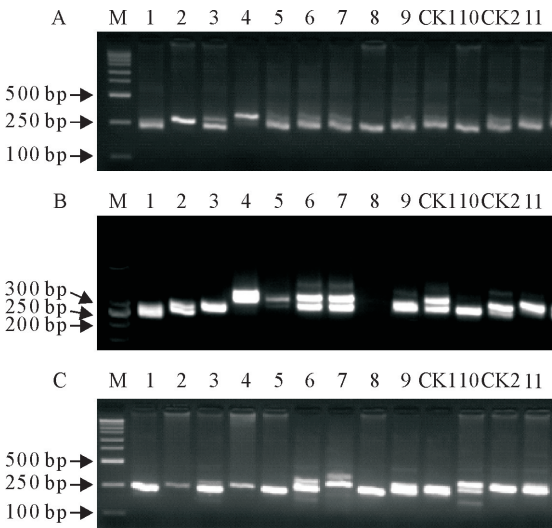
Table 3 SSR-PCR amplification reaction conditions

循环次数	温度条件	时间
35 次	98 ℃ 预变性	2 min
	98 ℃ 变性	10 s
	57 ℃ 复性	10 s
	68 ℃ 延伸	15 s
	72 ℃ 延伸	2 min
	12 ℃	存放

表 4 11 个杨树品种 DNA 指纹图谱

Table 4 Fingerprint map of 11 *Populus* varieties

品种代号	指纹图谱
1	10011110001110101001011001110011011100
2	10000101001001010001010011110001010100
3	11111111001110100011111001110101001101
4	10000101001001011011010110110101000110
5	00011011001101100010000011100100000100
6	111111110111011001111110111011001111101
7	011111111101011001111110111011001111101
8	10011110001100101000011000010101010010
9	11011110001101101001111001110101010010
10	00011110111101101010111001110101011010
11	01001110001101101011011010010101010110



注:A 为引物 S26;B 为引物 S35;C 为引物 S68;M 为 mark。

图 1 引物 PCR 扩增凝胶电泳图谱

Fig.1 Amplification results of *Populus* varieties depending on primers

2.4 聚类分析

利用聚类分析软件 NTSYS 对 27 对引物所检测到的 38 个位点进行聚类分析,遗传相似系数见表

6,聚类结果见图 2。从表 6 可以看出,供试材料的遗传相似系数在 0.53~0.93,平均值为 0.73。当遗传相似系数在 0.76 时,11 个品种被分为 5 大类:I 类包括‘青山杨’和‘银中杨’,共 2 个品种;II 类包括‘龙丰 1 号’‘龙丰 2 号’‘小黑杨’和‘黑林 2 号’,共 4 个品种;III 类只包括‘山新杨’和‘黑青杨’,共 2 个品种;IV 类包含‘小青黑’,仅 1 个品种;V 类包含‘中黑防 2 号’和‘中雄 4 号’。

表 5 不同杨树品种 SSR 标记遗传多样性分析
Table 5 Genetic diversity of poplar varieties by SSR markers

引物	样本	N_a	N_e	H	I	引物	样本	N_a	N_e	H	I
S8	11	2.000 0	1.918 5	0.478 8	0.671 8	S57	11	2.000 0	1.208 8	0.172 7	0.315 0
S9	11	2.000 0	1.629 2	0.386 2	0.574 6	S58	11	2.000 0	1.918 5	0.478 8	0.671 8
S13	11	2.000 0	1.335 2	0.251 1	0.417 8	S67	11	2.000 0	1.996 1	0.499 0	0.692 2
S17	11	2.000 0	1.996 1	0.499 0	0.692 2	S60	11	2.000 0	1.629 2	0.386 2	0.574 6
S24	11	2.000 0	1.957 6	0.489 2	0.682 3	S62	11	2.000 0	1.727 7	0.421 2	0.612 1
S25	11	2.000 0	1.727 7	0.421 2	0.612 1	S64	11	2.000 0	1.996 1	0.499 0	0.692 2
S26-1	11	2.000 0	1.957 6	0.489 2	0.682 3	S68-1	11	2.000 0	1.097 4	0.088 7	0.188 2
S26-2	11	2.000 0	1.783 5	0.439 3	0.631 2	S68-2	11	2.000 0	1.783 5	0.439 3	0.631 2
S27	11	1.000 0	1.000 0	0.000 0	0.000 0	S68-3	11	2.000 0	1.996 1	0.499 0	0.692 2
S35-3	11	2.000 0	1.208 8	0.172 7	0.315 0	S66	11	2.000 0	1.957 6	0.489 2	0.682 3
S35-2	11	2.000 0	1.335 2	0.251 1	0.417 8	S70-1	11	2.000 0	1.996 1	0.499 0	0.692 2
S35-1	11	2.000 0	1.727 7	0.421 2	0.612 1	S70-2	11	2.000 0	1.208 8	0.172 7	0.315 0
S36	11	2.000 0	1.957 6	0.489 2	0.682 3	S73-1	11	2.000 0	1.957 6	0.489 2	0.682 3
S37	11	1.000 0	1.000 0	0.000 0	0.000 0	S73-2	11	2.000 0	1.097 4	0.088 7	0.188 2
S38	11	1.000 0	1.000 0	0.000 0	0.000 0	S74-1	11	2.000 0	1.996 1	0.499 0	0.692 2
S39-1	11	2.000 0	1.208 8	0.172 7	0.315 0	S74-2	11	2.000 0	1.208 8	0.172 7	0.315 0
S39-2	11	2.000 0	1.996 1	0.499 0	0.692 2	S78	11	2.000 0	1.996 1	0.499 0	0.692 2
S40-1	11	2.000 0	1.957 6	0.489 2	0.682 3	S81	11	2.000 0	1.629 2	0.386 2	0.574 6
S40-2	11	2.000 0	1.208 8	0.172 7	0.315 0	S84	11	1.000 0	1.000 0	0.000 0	0.000 0
S43	11	2.000 0	1.783 5	0.439 3	0.631 2	S85-1	11	2.000 0	1.996 1	0.499 0	0.692 2
S45	11	1.000 0	1.000 0	0.000 0	0.000 0	S85-2	11	2.000 0	1.629 2	0.386 2	0.574 6
S47	11	1.000 0	1.000 0	0.000 0	0.000 0	S86	11	2.000 0	1.335 2	0.251 1	0.417 8
S54	11	1.000 0	1.000 0	0.000 0	0.000 0						
均值	11	1.844 4	1.578 9	0.321 7	0.471 4						
标准差		0.366 5	0.389 3	0.188 9	0.253 9						

表 6 11 个杨树品种的遗传相似系数
Table 6 Genetic similarity coefficient of 11 *Populus* varieties

品种代号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	1.000 0										
2	0.688 9	1.000 0									
3	0.777 8	0.600 0	1.000 0								
4	0.577 8	0.844 4	0.577 8	1.000 0							
5	0.622 2	0.666 7	0.666 7	0.644 4	1.000 0						
6	0.600 0	0.555 6	0.777 8	0.488 9	0.666 7	1.000 0					
7	0.533 3	0.488 9	0.711 1	0.422 2	0.644 4	0.933 3	1.000 0				
8	0.800 0	0.622 2	0.666 7	0.644 4	0.644 4	0.533 3	0.466 7	1.000 0			
9	0.800 0	0.666 7	0.755 6	0.644 4	0.644 4	0.666 7	0.600 0	0.866 7	1.000 0		
10	0.733 3	0.555 6	0.688 9	0.577 8	0.666 7	0.644 4	0.666 7	0.800 0	0.844 4	1.000 0	
11	0.711 1	0.666 7	0.666 7	0.733 3	0.688 9	0.622 2	0.600 0	0.822 2	0.822 2	0.755 6	1.000 0

3 讨论

3.1 SSR 标记及多态性

本研究所采用分子标记方法是 SSR,根据‘小黑杨’的基因组测序结果检索重复序列设计引物,这

些引物在扩增结果中表现出较高多态性。其中,多态性引物占总设计引物的 69.23%。这也体现出在构建杨树指纹图谱和分析遗传多样性中应用过的众多分子标记方法中,如 AFLP^[4-6]、ISSR^[7]、SSCP^[8]、SRAP^[9] 和 PAPD^[10-11] 等,SSR 分子标记特有的优

越性。国内外的相关研究报道也都验证了这一点^[12-23]。因此,本研究所采用的分子标记方法及研究结果是准确和可靠的。

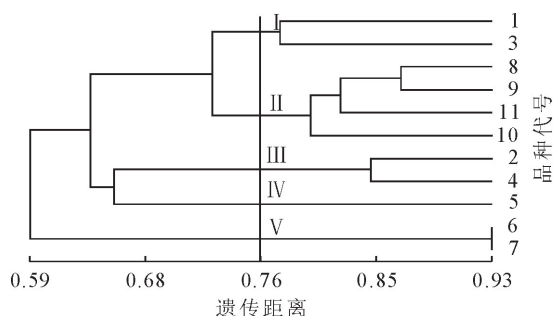


图2 11个杨树品种的聚类分析

Fig. 2 Dendrograms of 11 *Populus* varieties

3.2 品种遗传多样性

Shannon 多样性指数变幅为 0.188 2 ~ 0.692 2,各个品种之间遗传相似系数在 0.53 ~ 0.93,这表明了样本群体的遗传多样性较好。根据种间遗传距离进行的聚类分析结果也进一步证实了这一点。所获得的 5 个类群中,龙丰 1 号和龙丰 2 号来自同一亲本组合,即‘美洲黑杨’×‘小叶杨’,所以聚类分析为同一类群;‘龙丰 1 号’和‘龙丰 2 号’的父本为‘小叶杨’,‘小黑杨’的母本也为‘小叶杨’,故‘龙丰 1 号’‘龙丰 2 号’与‘小黑杨’聚到同一类群;‘黑林 2 号’的母本为‘小黑杨’,故‘黑林 2 号’同‘小黑杨’聚为一类群;‘黑防 2 号’和‘中雄 4 号’有共同的母本美洲黑杨,因此聚为同一类群。

3.3 研究对象

本研究所选择的研究对象是 8 个黑龙江省杨树主栽品种,有多年栽培历史,分布面积较广泛,以及 3 个根据生产需求选育的杨树新品种。构建这 11 个品种的指纹图谱、分析遗传多样性具有必要性和迫切性。同年份的同类研究中,王妍等^[24]报道了东北地区主栽杨树品种的 SSR 分析及鉴定研究,研究对象为 40 个杨树品种,其中仅包含了本研究的 1 个树种为‘黑林 2 号’,其余 10 个树种并未涉及。而‘黑林 2 号’对本研究的其他树种遗传多样性分析仍有帮助。因此,尽管有相近的报道,就研究对象的选择及研究内容而言,本研究对黑龙江省杨树品种鉴定及知识产权保护仍有重要意义。

3.4 PCR 产物检测方法的改良

本研究将不同杨树品种 SSR 扩增产物检测手段改良为 4% 琼脂糖凝胶,检测结果清晰,没有过多的杂质谱带,特征谱带突出,并且避免了传统丙烯酰胺凝胶检测过程中试剂产生人体毒性伤害和造成环境污染,为今后指纹图谱构建提供了优质高效的方案。

4 结论

本研究以黑龙江省广泛栽培的杨树品种为研究对象,通过 SSR 分子标记技术对 11 个杨树品种建立指纹图谱,利用筛选出 27 对引物,对其进行 SSR 扩增分析,从 DNA 分子的角度上对 11 种试验材料进行了鉴定,能够对这些杨树品种区分和鉴定。同时,利用试验结果进行了遗传相似性分析与聚类分析,有助于杨树遗传育种及品种改良工作。

参考文献:

- [1] GUNJACA J, BUHINICEK I, JUKIC M, *et al.* Discriminating maize inbred lines using molecular and DUS data[J]. *Euphytica*, 2008, 161(1/2): 165-172.
- [2] REID A, HOF L, FELIX G, *et al.* Construction of an integrated microsatellite and key morphological characteristic database of potato varieties on the EU common catalogue[J]. *Euphytica*, 2011, 182(2): 239-249.
- [3] RAHMAN M, RAJORA O. 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(6): 1083-94.
- [4] GAO J M, ZHANG S G, QI L W, *et al.* AFLP fingerprinting of elite varieties (clones) from the genus *Populus*[J]. *Frontiers of Forestry in China*, 2007, 2(2): 204-209.
- [5] GAO J M, ZHANG Y, WANG C G, *et al.* AFLP fingerprinting of *Populus deltoides* and *Populus × canadensis* elite accessions[J]. *New Forests volume*, 2009, 37: 333-344.
- [6] RACCHI M, TURCHI A, CAPARRINI S, *et al.* SSCP intron marker system is a convenient tool for clonal fingerprinting of poplar (*Populus*) cultivars of different species and interspecific hybrids[J]. *Genetic Resources and Crop Evolution volume*, 2011, 58: 507-518.
- [7] SIGURDSSON V, KESARA Anamthawat-Jónsson, SIGURGEIRSSON A. DNA fingerprinting of *Populus trichocarpa* clones using RAPD markers[J]. *New Forests volume*, 1995, 10: 197-206.
- [8] CASTIGLIONE S, WANG G, DAMIANI G, *et al.* RAPD fingerprints for identification and for taxonomic studies of elite poplar (*Populus* spp.) clones[J]. *Theoretical and Applied Genetics volume*, 1993, 87: 54-59.
- [9] 郭娟, 樊军锋, 梁军, 等. 利用 SRAP 标记鉴别美洲黑杨及指纹图谱构建[J]. *西北林学院学报*, 2014, 29(2): 98-102.
GUO J, FAN J F, LIANG J, *et al.* Identification and fingerprinting of *Populus deltoides* using SRAP Markers[J]. *Journal of Northwest Forestry University*, 2014, 29(2): 98-102. (in Chinese)
- [10] 刘春英, 樊军锋, 高建社, 等. 杨树新杂种(无性系)ISSR 指纹图谱的构建[J]. *西北农林科技大学学报: 自然科学版*, 2013, 41(6): 56-61.
LIU C Y, FAN J F, GAO J S, *et al.* Establishment of ISSR fingerprint for new *Populus* hybrid varieties (clones)[J].

- Journal of Northwest A&F University: Nat. Sci. Ed., 2013, 41(6):56-61. (in Chinese)
- [11] 贾会霞,胡建军,卢孟柱. 基于 CE-AFLP 的 5 个美洲黑杨新品种指纹图谱分析[J]. 林业科学研究 2013,26(3):281-286. JIA H X, HU J J, LU M Z. Fingerprint analysis of five new cultivars of *Populus deltoides* based on CE-AFLP[J]. Forest Research, 2013, 26(3): 281-286. (in Chinese)
- [12] 樊荣,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(2): 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(2): 76-80. (in Chinese)
- [13] 张妍,冯连荣,矫丽曼,等. 杨树指纹图谱建立研究进展[J]. 安徽农业科学, 2015, 43(19): 32-33. ZHANG Y, FENG L R, JIAO L M, et al. The research progress of poplar fingerprint establishment[J]. Journal of Anhui Agri. Sci., 2015, 43(19): 32-33. (in Chinese)
- [14] 梁海永,刘彩霞,刘兴菊,等. 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, et al. Simple sequence repeat (SSR) analysis and identify of different cultivars in *Populus* L. [J]. Journal of Agricultural University of Hebei, 2005, 28(4): 27-31. (in Chinese)
- [15] 张德强,张志毅,杨凯. 杨树分子标记研究进展[J]. 北京林业大学学报, 2000, 22(6): 79-84. ZHANG D Q, ZHANG Z Y, YANG K. Advances of molecular marker researches in poplar[J]. Journal of Beijing Forestry University, 2000, 22(6): 79-84. (in Chinese)
- [16] 王兴胜,林琪,曹龙,等. 不同杨树品种 DNA 指纹图谱特征研究[J]. 种子科技, 2020, 38(10): 6-9. WANG X S, LIN Q, CAO L, et al. Study on DNA fingerprint characteristics of different poplar varieties[J]. Seed Science and Technology, 2020, 38(10): 6-9. (in Chinese)
- [17] 贾会霞,姬慧娟,胡建军,等. 杨树新品种的 SSR 指纹图谱构建和倍性检测[J]. 林业科学, 2015, 51(2): 69-79. JIA H X, JI H J, Uu J J, et al. Fingerprints of SSR markers and ploidy detection for new *Populus* varieties[J]. Scientia Silvae Sinicae, 2015, 51(2): 69-79. (in Chinese)
- [18] 刘春英,樊军锋,高建社,等. 杨树新杂种的 SSR 分析及鉴定[J]. 西北林学院学报, 2013, 28(2): 70-73. LIU C Y, FAN J F, GAO J S, et al. Simple sequence repeat analysis and identification of new *Populus* hybrid[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2013, 28(2): 70-73. (in Chinese)
- [19] RAHMAN M, DAYANANDAN S, RAJORA O. Microsatellite DNA markers in *Populus tremuloides*[J]. Genome, 2000, 43(2): 293-297.
- [20] RAJORA P, RAHMAN H. Microsatellite DNA and RAPD fingerprinting, identification and genetic relationships of hybrid poplar (*Populus × canadensis*) cultivars[J]. Theor Appl Genet, 2003, 106(3): 470-477.
- [21] LATUTRIE M, BERGERON Y, TREMBLAY F. Fine-scale assessment of genetic diversity of trembling aspen in North-western America[J]. BMC Evol. Biol., 2016, 26, 16(1): 231.
- [22] LEBEDEVA M, LEVKOEV E, VOLKOV V, et al. The recovering of breeding achievements of *Populus × leningradensis bogd.* and *Populus × newensis bogd.* based on microsatellite analysis[J]. Russian Journal of Genetics Volume, 2016, 52: 1046-1055.
- [23] LIESEBACH H, SCHNECK V, EWALD E. Clonal fingerprinting in the genus *Populus* L. by nuclear microsatellite loci regarding differences between sections, species and hybrids[J]. Tree Genetics & Genomes Volume, 2010, 6: 259-269.
- [24] 王妍,李立华,徐宗艺,等. 东北地区主栽杨树品种的 SSR 分析及鉴定[J]. 东北林业大学学报, 2021, 49(4): 24-33. WANG Y, LI L H, XU Z Y, et al. SSR analysis and identification of main poplar varieties in Northeast China[J]. Journal of Northeast Forestry University, 2021, 49(4): 24-33. (in Chinese)

(上接第 83 页)

- [66] 谭向平,申卫军. 降水变化和氮沉降影响森林叶根凋落物分解研究进展[J]. 生态学报, 2021, 41(2): 444-455. TAN X P, SHEN X J. Advances in the effects of precipitation regime alteration and elevated atmospheric nitrogen deposition on above and below-ground litter decomposition in forest ecosystems [J]. Acta Ecologica Sinica, 2021, 41(2): 444-455. (in Chinese)
- [67] LENMANN A, ZHENG W S, Rillig MC. Soil biota contributions to soil aggregation[J]. Nature Ecology & Evolution, 2017, 21(1): 1828-1835. J
- [68] 王晓娇,蔡立群,齐鹏,等. 培肥措施对旱地农田土壤 CO₂ 排放和碳库管理指数的影响[J]. 草业学报, 2021, 30(2): 32-45. WANG X J, CAI L Q, QI P, et al. Effects of alternative fertilizer options on soil CO₂ emission and carbon pool management index in a dryland soil[J]. Acta Prataculturae Sinica, 2021, 30(2): 32-45. (in Chinese)
- [69] 孙殿超,李玉霖,赵学勇,等. 放牧及围封对科尔沁沙质草地土壤呼吸的影响[J]. 中国沙漠, 2015, 35(6): 1620-1627. SUN D C, LI Y L, ZHAO X Y, et al. Effects of grazing and enclosure on soil respiration rate in the horqin sandy grassland[J]. Journal of Desert Research, 2015, 35(6): 1620-1627. (in Chinese)
- [70] 向元彬,周世兴,肖永翔,等. 降雨量改变对常绿阔叶林干旱和湿润季节土壤呼吸的影响[J]. 生态学报, 2017, 37(14): 4734-4742. XIANG Y B, ZHOU S X, XIAO Y X, et al. Effects of precipitation variations on soil respiration in an evergreen broad-leaved forest during dry and wet seasons[J]. Journal of Ecology, 2017, 37(14): 4734-4742. (in Chinese)
- [71] 中国气象局气候变化中心. 中国气候变化蓝皮书[M]. 北京: 科学出版社, 2022.
- [72] 魏书精,罗碧珍,魏书威,等. 森林生态系统土壤呼吸测定方法研究进展[J]. 生态环境学报, 2014, 23(3): 504-514. WEI S J, LUO B Z, WEI S W, et al. Methods of measuring of soil respiration forest ecosystems: a review[J]. Journal of Ecological Environment, 2014, 23(3): 504-514. (in Chinese)