

利用 SRAP 标记鉴别美洲黑杨及指纹图谱构建

郭娟¹, 樊军锋^{1*}, 梁军², 李薇¹

(1. 西北农林科技大学 林学院, 陕西 杨陵 712100; 2. 中国林业科学研究院 森林生态环境与保护研究所, 北京 100091)

摘要:利用 SRAP 分子标记对美洲黑杨 I-69 及与其有亲缘关系的 4 个美洲黑杨品种进行了分子鉴别与指纹图谱分析。结果表明:从 72 对 SRAP 引物组合中筛选出 21 对引物组合可以将 5 个品种完全区分开, 21 对引物共扩增出 287 条带, 条带清晰, 平均每对引物扩增条带为 13.7 条, 多态性条带 209 条, 多态性比率为 72.8%, 多态性高; 各杨树品种之间的遗传相似系数在 0.548 1~0.769 2 之间, 平均相似系数为 0.658 7。并选用扩增出的 61 条特异性条带构建 5 个杨树品种的分子指纹图谱。聚类分析结果表明, 5 个美洲黑杨品种间遗传差异较小, 其中陕林 3 号与北抗 1 号的遗传差异最大。

关键词:美洲黑杨; SRAP; 品种鉴别; 指纹图谱

中图分类号: S792.110.4

文献标志码: A

文章编号: 1001-7461(2014)-02-0098-05

Identification and Fingerprinting of *Populus deltoides* Using SRAP Markers

GUO Juan¹, FAN Jun-feng^{1*}, LIANG Jun², LI Wei¹

(1. College of Forestry, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2. The Research Institute of Forest Ecology, Environment and Protection, The Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091, China)

Abstract: Identification and molecular fingerprinting analysis of *Populus deltoides* including *P. deltoides*, cv. 'Lux'(I-69/55) and its 4 affinity varieties were conducted using SRAP makers. Twenty one pairs of primers were screened from 72 primer combinations that could produce polymorphic and high quality bands, and identify 5 varieties completely. Two hundreds and eighty seven bands were amplified and 209 bands were polymorphic from these 21 pairs of primers. Each pair of primers amplified 13.7 bands on average, and the percentage of polymorphic bands was 72.8%. 61 specific bands amplified were used for analysis of fingerprinting in the 5 varieties. The similarity coefficients of the five *Populus* varieties ranged from 0.548 1 to 0.769 2 with an average of 0.658 7. Cluster analysis showed that the genetic differentiation among these 5 *P. deltoides* varieties was low and *P. deltoides*, cv. 'SL-3' and *P. deltoides*, cv. Beikang-1(16-27/92)' showed the highest genetic differentiation among five varieties.

Key words: *Populus deltoides*; SRAP; variety identification; fingerprinting analysis

美洲黑杨(*Populus deltoides*)具有生长快、材质好、抗性强以及适应性广等优点, 日益成为重要的速生工业用材树种, 又是当今世界中纬度地区最合适的短轮伐期工业用材树种之一^[1]。自 20 世纪 70 年代引进以来, 我国杨树育种研究得到了迅速的发展, 但由于引进的无性系数量少, 遗传基础较窄^[2], 不同品种或无性系间形态特征差异很小, 因此很难

通过形态特征进行品系鉴定, 这样不仅影响到品种的进一步遗传改良, 也影响到良种繁殖、推广应用^[3]。因此, 为了保存和充分利用杨树资源, 有必要运用分子标记技术对杨树品种进行鉴定研究, 以便在世界范围内交流^[4-5]。

SRAP 又叫相关序列扩增多态性(Sequence-related amplified polymorphism), 是由 Li 和 Quiros^[6]开

收稿日期: 2013-05-14 修回日期: 2013-10-08

基金项目: 国家“十二五”科技支撑专题(2012BAD19B0801)。

作者简介: 郭娟, 女, 硕士研究生, 研究方向: 林木遗传育种、林业生物技术。E-mail: guojuan1323344@163.com

* 通信作者: 樊军锋, 男, 研究员, 研究方向: 林木遗传育种。E-mail: fanjf28@163.com

发的以全基因组为靶标,检测开放阅读框与其上游的启动子或内含子之间序列多态性的一种新的分子标记技术。具有多态性高,重复性好,结果可靠,成本低廉,产物检测方法简单等优点。近年来在作物和蔬菜上已成功应用于图谱构建、基因标注、基因克隆和遗传多样性等方面研究^[6-8],但在林木中应用较少。

以美洲黑杨 I-69 及与其有亲缘关系的 4 个美洲黑杨品种为材料,因各品种间亲缘关系较近,在形态特征上难以区分。本研究利用 SRAP 分子标记,找出品系特有的分子标记,并进行分子指纹图谱分析,拟在为杨树的亲缘关系分析和品种鉴定识别提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

5 个美洲黑杨(*Populus deltoides*)品种均采自西北农林科技大学渭河试验站(表 1)。

1.2 DNA 提取

2013 年 2 月剪取 1 年生杨树枝条,室内水培。

采集新生幼嫩叶子用改良的 CTAB 法^[9-10]提取基因组 DNA。基因组 DNA 用 0.8%琼脂糖凝胶电泳(1×TBE)和紫外分光光度计检测,最终将 DNA 浓度调至 20 ng/μL,−20℃保存备用。

1.3 SRAP 反应

1.3.1 引物筛选 引物序列参考王源秀^[11]等,采用 9 条正向引物和 8 条反向引物(表 2),由上海生物工程股份有限公司合成。选用 I-69 杨和北抗 1 号筛选 72 对引物组合。

1.3.2 PCR 扩增体系及程序 PCR 扩增总体系为 20 μL,包括引物 0.35 μmol/L,TaqDNA 聚合酶 1 U,dNTP 0.2 mmol/L,Mg²⁺ 2.0 mmol/L,10×PCR buffer 1μL,模板 DNA 1 μL(20 ng/μL)。反应程序参照谭碧玥^[12]方法,采用复性变温法,程序如下:94℃预变性 5 min,94℃变性 1 min,37℃复性 30 s,72℃延伸 1 min,5 个循环;94℃变性 1 min,54℃复性 1 min,72℃延伸 1 min,35 个循环;72℃延伸 7 min,4℃保存。

表 1 试验材料
Table 1 List of experiment materials

| 编号 | 品种 | 遗传背景 |
|----|--|---|
| 1 | I-69 杨[<i>P. deltoides</i> , cv. 'Lux'(I-69/55)] | 美洲黑杨 <i>P. deltoides</i> |
| 2 | 陕林 3 号[<i>P. deltoides</i> , cv. 'SL-3'] | I—69 杨×美洲黑杨 <i>P. deltoides</i> , cv. 'Lux'(I-69/55)× <i>P. deltoides</i> |
| 3 | 南抗 1 号[<i>P. deltoides</i> , cv. 'Nankang-1'] | I-69 杨×I-63 杨 <i>P. deltoides</i> , cv. 'Lux'(I-69/55)× <i>P. deltoides</i> , cv. 'Harvard'(I-63/51) |
| 4 | 北抗 1 号[<i>P. deltoides</i> , cv. 'Beikang-1(16-27/92)'] | 南抗 1 号×D175 杨 <i>P. deltoides</i> , cv. 'Nankang-1'× <i>P. deltoides</i> , cv. 175 |
| 5 | 创新杨 1 号[<i>P. deltoides</i> , cv. 'Xinshiji-1'] | 南抗 1 号×帝国杨 <i>P. deltoides</i> , cv. 'Nankang-1'× <i>P. deltoides</i> , cv. 'Imperia-1' |

表 2 鉴别美洲黑杨的 SRAP 引物
Table 2 SRAP primers for *P. deltoides* identification

| 引物名称 | 正向引物(5'-3') | 引物名称 | 反向引物(5'-3') |
|------------------|-----------------------|------------------|-----------------------|
| ME ₁ | TGAGTCCAA ACCGGATA | EM ₂ | GACTGCGTACGAATTTGC |
| ME ₂ | TGAGTCCAA ACCGGAGC | EM ₃ | GACTGCGTACGAATTGAC |
| ME ₃ | TGAGTCCAA ACCGGAAT | EM ₄ | GACTGCGTACGAATTTGA |
| ME ₄ | TGAGTCCAA ACCGGACC | EM ₆ | GACTGCGTACGAATTGCA |
| ME ₈ | TGAGTCCAAACCGGTGC | EM ₇ | GACTGCGTACGAATTCAA |
| ME ₉ | TGAGTCCAAACCGGTAG | EM ₁₄ | GACTGCGTACGAATTCTAG |
| ME ₁₀ | TGAGTCCAAACCGGCAT | OD ₃ | CCAAAACCTAAAACCAGGA |
| ME ₁₁ | TGAGTCCAAACCGGTCT | SA ₄ | TTCTTCTTCTCTGGACACAAA |
| DC ₁ | TAAACA ATG GCTACTCAAG | | |

1.3.3 PCR 扩增产物检测 用 8%的非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳检查 PCR 产物,缓冲液为 1×TBE^[13]。上样 4 μL,稳压 260 V,电泳 130 min,采用银染法染色^[14],照相分析。

1.4 数据分析

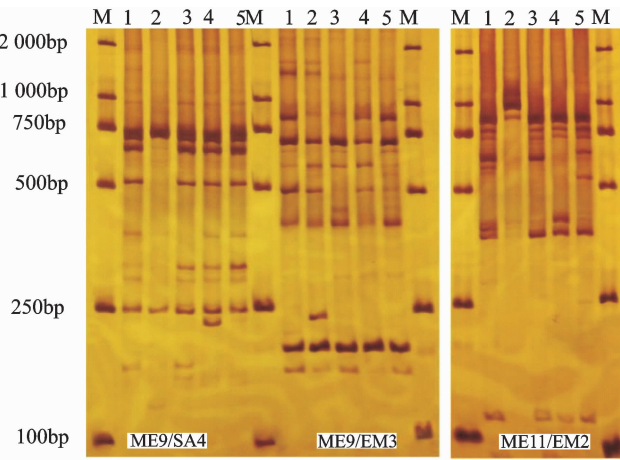
SRAP 扩增产物的条带在 100~1 000 bp 之间,在相同迁移位置上有带记为“1”,无带记为“0”,缺失记为“9”,建立原始数据矩阵。用简单配对参数(simple matching coefficient)估计基因频率,依照

$GS=m/(m+n)$ 计算遗传相似系数,其中 m 为基因型间共有带数目, n 为差异带数目^[15]。然后采用 UPGMA(unweighed pair group method arithmetic average)进行聚类分析^[15],并构建树状聚类图。

2 结果与分析

2.1 SRAP 多态性分析

利用 I-69 杨和北抗 1 号对 72 对引物组合进行引物筛选,初筛出 32 个条带清晰,多态性高的引物组合;再用 5 个品种进行 32 个引物组合筛选,最终筛选出 21 个引物组合,它们可以完全将 5 个美洲黑杨品种鉴别开。21 对引物组合共扩增出 287 条条带,其中多态性条带 209 条,多态性比率 72.8%,其中 18 对引物组合可以扩增出品种特异性条带,共 61 条,特异性比率 21.3%。每对引物平均条带为 13.7 条,其中 ME3/EM4 扩增的条带最多(21 条),ME3/EM4 扩增的最少(6 条)(表 3)。扩增产物集中在 100~1 000 bp 之间,电泳后得到各品种指纹图谱(图 1)。



注:1:I-69 杨;2:陕林 3 号;3:创新杨 1 号;4:南抗 1 号;5:北抗 1 号 M:DNA ladder(DL2 000)。

图 1 5 个美洲黑杨品种的指纹图谱

Fig. 1 The fingerprinting of 5 *P. deltoides* varieties

2.2 品种聚类分析

将 SRAP 扩增结果统计的 287 条带建立 0,1 矩阵,利用 NTSYSpc2.10 计算出各品种间的遗传相似系数(表 4)。有亲缘关系的 5 个品种之间的遗传相似系数在 0.548 1~0.769 2 之间,平均相似系数为 0.658 7,表明 5 个美洲黑杨品种间的遗传差异较小,其中北抗 1 号与陕林 3 号的相似系数最小(0.548 1),说明它们之间的遗传差异较大。从结果可以看出,具有半同胞关系的南抗 1 号与陕林 3 号两者之间的遗传差异大于南抗 1 号与其 2 个子代(创新杨 1 号与北抗 1 号)间的遗传差异;同为半同

胞关系的创新杨 1 号与北抗 1 号却具有最大的遗传相似系数(0.769 2),表明它们之间的遗传差异较小。将 5 个美洲黑杨品种进行聚类分析,绘制出它们的树状聚类图(图 2)

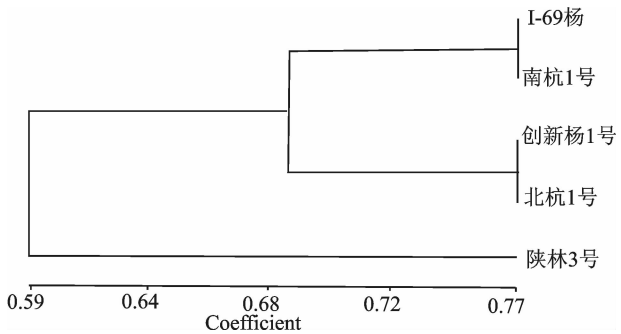


图 2 5 个美洲黑杨品种的聚类分析树状图

Fig. 2 Dendrograms of 5 *P. deltoides* varieties

表 3 21 对 SRAP 引物组合的扩增结果

Table 3 Amplification results of the 21 SRAP primers

| 引物组合 | 扩增总条带数/条 | 多态性条带数/条 | 特异性条带数/条 | 多态性比率/% | 特异性比率/% |
|----------|----------|----------|----------|---------|---------|
| ME1/OD3 | 6 | 4 | 0 | 66.6 | 0.0 |
| ME1/EM4 | 9 | 7 | 1 | 77.8 | 11.1 |
| DC1/OD3 | 10 | 7 | 1 | 70.0 | 10.0 |
| ME2/EM4 | 13 | 9 | 1 | 69.2 | 7.7 |
| ME3/EM3 | 14 | 14 | 4 | 100.0 | 28.6 |
| ME3/EM4 | 21 | 17 | 0 | 81.0 | 0.0 |
| ME3/EM6 | 13 | 8 | 0 | 61.5 | 0.0 |
| ME3/EM7 | 16 | 12 | 7 | 75.0 | 43.8 |
| ME3/EM14 | 18 | 11 | 4 | 61.1 | 22.2 |
| ME4/OD3 | 16 | 13 | 8 | 81.3 | 50.0 |
| ME4/SA4 | 17 | 11 | 3 | 64.7 | 17.6 |
| ME4/EM4 | 16 | 7 | 2 | 43.8 | 12.5 |
| ME8/EM2 | 11 | 7 | 3 | 63.6 | 27.3 |
| ME8/EM3 | 11 | 10 | 6 | 90.9 | 54.5 |
| ME8/EM4 | 13 | 8 | 3 | 61.5 | 23.1 |
| ME8/EM7 | 17 | 9 | 1 | 52.9 | 5.9 |
| ME8/EM6 | 13 | 10 | 4 | 76.9 | 30.8 |
| ME9/SA4 | 12 | 10 | 2 | 83.3 | 16.7 |
| ME9/EM3 | 13 | 10 | 2 | 76.9 | 15.4 |
| ME9/EM7 | 14 | 12 | 2 | 85.7 | 14.3 |
| ME11/EM2 | 14 | 13 | 7 | 92.9 | 50.0 |
| 总计 | 287 | 209 | 61 | 72.8 | 21.3 |

表 4 5 个美洲黑杨品种间的遗传相似系数

Table 4 Genetic similarity coefficient of 5 *P. deltoides* varieties

| | I-69 杨 | 陕林 3 号 | 创新杨 1 号 | 南抗 1 号 | 北抗 1 号 |
|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| I-69 杨 | 1.000 0 | | | | |
| 陕林 3 号 | 0.615 6 | 1.000 0 | | | |
| 创新杨 1 号 | 0.670 8 | 0.567 3 | 1.000 0 | | |
| 南抗 1 号 | 0.769 2 | 0.634 6 | 0.750 0 | 1.000 0 | |
| 北抗 1 号 | 0.634 6 | 0.548 1 | 0.769 2 | 0.692 3 | 1.000 0 |

2.3 品种的分子指纹图谱构建

根据统计的 SRAP 标记位点的 0,1 矩阵,可以用来构建美洲黑杨的指纹图谱。21 对引物扩增的结果均可构建,现选用扩增出的 61 条特异性条带来

构建 5 个美洲黑杨品种的指纹图谱(表 5)。

3 结论与讨论

3.1 SRAP 标记在杨树鉴别和指纹图谱构建中的应用价值

SRAP 标记是以 ORFs(open reading frames, 开放阅读框)相对保守的编码区进行引物设计,由于扩增子含变异较大的内含子和间隔序列,可以产生分子多态性。研究表明,SRAP 标记比 AFLP、

RAPD 等标记更能反应表型的多样性及生物进化史特性^[16]。陈罡^[15]等利用 SRAP 分子标记技术对辽宁地区的 17 个杨树材料进行了遗传多样性分析,结果表明 SRAP 标记在杨树中表现出丰富的多态性和较高的稳定性。SRAP 分子标记可以有效的反映品种间的遗传差异性,以鉴定遗传差异较小的品种,构建的指纹图谱具有丰富的多态性、高度的个体特异性和稳定性^[17]。

表 5 5 个美洲黑杨品种的分子指纹图谱
Table 5 Fingerprint map of 5 *P. deltoides* varieties

| 引物组合 | 条带大小 | No. 1 | No. 2 | No. 3 | No. 4 | No. 5 | 引物组合 | 条带大小 | No. 1 | No. 2 | No. 3 | No. 4 | No. 5 |
|----------|------|-------|-------|-------|-------|-------|----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| ME1/EM4 | 830 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | ME8/EM2 | 500 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| DC1/OD3 | 810 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | | 330 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| ME2/EM4 | 750 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | | 200 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| ME3/EM3 | 850 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | ME8/EM3 | 450 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | 700 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | | 430 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | 675 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | | 400 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | 550 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | | 280 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| ME3/EM7 | 700 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | | 270 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | 460 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | | 100 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | 320 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | ME8/EM4 | 630 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | 270 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | | 520 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | 250 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | | 120 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | 230 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | ME8/EM7 | 375 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | 180 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | ME8/EM6 | 830 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| ME3/EM14 | 280 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | | 780 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| | 270 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | | 480 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| | 160 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | | 445 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 150 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | ME9/SA4 | 230 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| ME4/OD3 | 950 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | | 150 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | 780 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | ME9/EM3 | 580 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | 740 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | | 230 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | 730 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | ME9/EM7 | 620 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 650 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | | 520 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | 500 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | ME11/EM2 | 1 000 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | 450 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | | 850 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | 275 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | | 700 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| ME4/SA4 | 850 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | | 630 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | 400 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | | 580 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 210 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | | 560 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| ME4/EM4 | 480 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | | 540 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | 200 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | | | | | | | |

注:1~5 编号同表 1。

3.2 品种的遗传多样性

5 个品种中,陕林 3 号与母本 I-69 杨的遗传相似系数最小,而南抗 1 号与母本 I-69 杨的遗传相似系数最大(图 2),这与高建明^[10]的研究结果是一致的。陕林 3 号与南抗 1 号、I-69 杨差异较大的原因可能是陕林 3 号的父本(I-63 杨、密苏里杨、卡罗林杨混合花粉)^[18]与南抗 1 号的父本 I-63 杨具有较大的遗传差异。I-69 杨和 I-63 杨属于南方型美洲黑杨,密苏里杨

与卡罗林杨属于北方型美洲黑杨,不同的地理区域,气候条件不同,导致品种的适应性不同,因此不同品种间可能存在一定的遗传差异。又因陕林 3 号较 I-69 杨有较强的耐寒耐旱及抗病性,杂种优势明显,因此,在一定范围内,杂种优势的大小可能取决于双亲的遗传差异与性状的互补,差异越大,后代的杂种优势越大^[2],这可能是导致陕林 3 号同 I-69 杨和南抗 1 号的遗传相似系数较小的原因。

参考文献

- [1] 李文文,黄秦军,昌俊,等.南方型和北方型美洲黑杨幼苗光合作用的日季节变化[J].林业科学研究,2010,23(2):227-233.
LI W W, HUANG Q J, CHANG J, *et al.* Studies on photo-synthetic characteristics of South and North-typed *Populus deltoides* Younglings[J]. Forest Research, 2010, 23(2):227-233.
- [2] 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 di-versity of *Populus deltoides* germplasm by SSR[J]. Journal of Nanjing Forestry University;Nat. Sci. Edi.,2006, 30(4):10-13. (in Chinese)
- [3] 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.* SSR(simple sequence re-pea)t analysis and identifiy of new *Populus* hybrid[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2013, 28(2): 70-73. (in Chinese)
- [4] 肖哲丽.杨树 ISSR 指纹图谱构建及应用研究[D].银川:宁夏大学,2011.
- [5] 朱坚,高巍,林伯德,等.金针菇种质资源的 SRAP 分析[J].福建农林大学学报:自然科学版,2007,36(2):154-158.
ZHU J, GAO W, LIN B D,*et al.* SRAP analysis of *Flammulina velutipes* germplasm resources[J]. Journal of Fujian Agri-culture and Forestry University;Nat. Sci. Edi.,2007, 36(2): 154-158. (in Chinese)
- [6] LI G, OUIROS C F. Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reac-tion;its application to mapping and gene tagging in Bmssica [J]. Theor. Appl. Genet., 2001, 103:455-46.
- [7] RIAZ A, LI G, QURESH Z, *et. al.* Genetic diversity of oil-seed Brassica napus inbred lines based on sequence-related am-plified polymorphism and its relation to hybrid performance [J]. Plant Breeding, 2001, 120(5):411-415.
- [8] FERRIOL M, PICO B, NUEZ F. Genetic diversity of a germ-plasm collection of cucurbita pepo using SRAP and AFL Pmarkers[J]. Theor. Appl. Genet., 2003, 107(2):271-282.
- [9] 陈艺,郭军站,李辉,等.15个果桑无性系指纹图谱的构建[J].西北林学院学报,2011,26(6):62-65.
CHEN Y, GUO J Z, LI H, *et al.* Fingerprints construction of 15 fruit mulberry (*Morus* spp.) clone[J]. Journal of North-west Forestry University, 2011, 26(6):62-65. (in Chinese)
- [10] 高建明.杨属植物的 ISSR 与 AFLP 指纹分析及应用研究 [D].天津:南开大学,2006.
- [11] 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.
- [12] 谭碧玥,王源秀,徐立安.杨树基因组 SRAP 扩增体系的建立与优化[J].林业科技开发,2009,23(2):25-29.
TAN B Y, WANG Y X, XU L A. Establishment and optimi-zation of SRAP-PCR reaction system of *Populus* [J]. China Forestry Science and Technology, 2009, 23(2):25-29.
- [13] 刘成平.瓠瓜 EST-SSR、SRAP、ISSR 和 RAPD 反应体系的建立及其纯度鉴定应用的研究[D].武汉:华中农业大学,2008.
- [14] PANAUD O, CHEN X, MCCONCH S D. Development of microsatellite markers and characterization of simple saquence length polymorphism (SSLP)in rice(*Oryza sativa*) [J]. Mol. Gen. Genet., 1996, 252(5):597-607.
- [15] 陈罡,邢兆凯,潘文利,等.辽宁地区主栽杨树品种的 SRAP 标记遗传多样性分析[J].东北林业大学学报,2010,38(10): 19-22.
CHEN G, XING Z K, PAN W L, *et al.* Genetic diversities of *Populus* in Liaoning area by using SRAP markers[J]. Jour-nal of Northeast Forestry University, 2010, 38(10):19-22. (in Chinese)
- [16] FERRIOL M, PICO B, NUEZ F. Genetic diversity of some accession of Cucubita maxima from Spain using RAPD and SRAP markers[J]. Genetic Resources and Crop Evolution, 2003, 50(3):227-238.
- [17] 赵鑫闻,彭儒胜,赵继梅,等.分子标记及其在杨树研究中的应用[J].辽宁林业科技,2011(1):48-51.
- [18] 符毓秦,刘玉媛,李均安,等.美洲黑杨杂种无性系—陕林 3、4 号杨的选育[J].陕西林业科技,1990, 3(13):1-9.
FU Y Q, LIU Y Y, LI J A, *et al.* Cottonwood hybridized clone-selection of Shaanlin No. 3 and No. 4[J]. Shaanxi For-est Science and Technology, 1990, 3(13):1-9.