

引种粗皮桉种源遗传多样性的 RAPD 与 SSR 分析

邓紫宇¹,项东云¹,熊 涛²,李昌荣¹,陈升侃³,梁 机³,蓝必布⁴,兰 俊^{2*}

(1. 广西优良用材林资源培育重点实验室/广西林科院,广西 南宁 530002; 2. 广西国有东门林场,广西 扶绥 532108;
3. 广西大学 林学院,广西 南宁 530004; 4. 广西国有大桂山林场,广西 贺州 532108)

摘要:利用 RAPD 和 SSR 分子标记对粗皮桉 7 个种源遗传多样性进行分析,10 条 RAPD 引物共扩增出 157 个位点,其中多态位点 145 个,多态性百分率 92.34%,遗传一致度范围 0.906 1~0.971 4;21 对 SSR 引物共检测到 252 个等位变异,平均等位基因数为 12 个,平均有效等位基因数为 4.6 个,遗传一致度范围 0.727 1~0.908 0。2 种标记遗传一致度相关分析表明呈显著相关,说明 2 种标记分析粗皮桉遗传多样性具有较高一致性。聚类分析显示,RAPD 标记将粗皮桉 7 个种源被划分为 4 个类群,SSR 标记将粗皮桉 7 个种源被划分为 3 个类群,SSR 标记聚类结果与粗皮桉种源地理分布密切相关。RAPD 和 SSR 分子标记均适合粗皮桉遗传多样性分析,SSR 标记更具可靠性。

关键词:粗皮桉;遗传多样性;RAPD;SSR

中图分类号:S792.39 **文献标志码:**A **文章编号:**1001-7461(2017)01-0131-06

Genetic Diversity Analysis with RAPD and SSR Markers for Introduced *Eucalyptus pellita*

DENG Zi-yu¹, XIANG Dong-yun¹, XIONG Tao², LI Chang-rong¹, CHEN Sheng-kan³,
LIANG Ji³, LAN Bi-bu⁴, LAN Jun^{2*}

(1. *Guangxi Key Laboratory of Superior Timber Trees Resource Cultivation, Guangxi Forestry Research Institute, Nanning, Guangxi 530002*; 2. *Guangxi Dongmen Forestry Farm, Fusui, Guangxi 532108, China*; 3. *Forestry College of Guangxi University, Nanning, Guangxi 530004, China*; 4. *Guangxi Daguishan Forestry Farm, Hezhou, Guangxi 532108, China*)

Abstract: RAPD and SSR markers were used to assess the genetic diversity of introduced *Eucalyptus pellita* that were from 7 provenances. Ten RAPD primers were selected, 157 bands were amplified, of which 145 bands (92.34%) were polymorphic, and the Nei's unbiased measures of genetic identity ranged from 0.906 1 to 0.971 4. Two hundred and fifty two alleles were detected by 21 pairs of SSR primers and 12 alleles on average. The average effective number of alleles was 4.6, and the Nei's unbiased measures of genetic identity ranged from 0.727 1 to 0.908 0. The correlation of the Nei's unbiased measures of genetic identity between RAPD and SSR were significant, indicating that the two methods had high consistency. According to the UPGMA method, 7 *E. pellita* populations could be divided into four groups by RAPD, three groups by SSR, and the geographical distribution of *E. pellita* was closely related to the cluster result by SSR. Two molecular markers were feasible in the genetic diversity analysis of *E. pellita*. Further more, the SSR technique was more reliable.

Key words: *Eucalyptus pellita*; genetic diversity; RAPD; SSR

林木遗传多样性是林木遗传改良的物质基础, 对遗传多样性的研究,能够更好地保护和利用遗传

收稿日期:2016-04-19 修回日期:2016-06-01

基金项目:广西林业科技项目(桂林科学 2012-11);广西优良用材林资源培育重点实验室开放课题(12A0101);广西林业科技项目(桂林科学[2013]第 1 号)。

作者简介:邓紫宇,男,工程师,研究方向:林木遗传育种。E-mail:365204914@qq.com

* 通信作者:兰 俊,男,高级工程师,研究方向:林木栽培育种。E-mail:57714915@qq.com

多样性。基因组上的差异能够通过 DNA 分子标记的研究加以揭示,从而揭示生物的遗传多样性^[1]。RAPD 是随机扩增多态性分子标记,在国内外的桉树遗传育种研究中运用得最早,也比较广泛。甘四明^[2]等利用 RAPD 分子标记技术对尾叶桉(*Eucalyptus urophylla*)和巨尾桉(*E. grandis* × *E. urophylla*)无性系研究认为 RAPD 标记能够稳定遗传,在研究遗传多样性上稳定可靠。李志辉^[3]等利用 RAPD 标记对巨桉(*E. grandis*)种源的遗传多样性进行了分析,结果表明巨桉种源的遗传变异较少。潘天玲^[4]等利用 RAPD 标记研究韦塔桉(*E. wettensis*)种源证明具有丰富的遗传多样性。国外学者在尾叶桉^[5]、赤桉(*E. camaldulensis*)^[6]、蓝桉(*E. globulus*)^[7-8]、棒萼桉(*E. cladocalyx*)^[9]以及莫里斯比桉(*E. morrisbyi*)^[10]等桉树树种中进行过类似的研究。SSR 是简单序列重复分子标记,SSR 标记包含大量的遗传信息,广泛分布于所有染色体上,在遗传多样性的研究上能够很好的重复,可靠性较高,而且 SSR 技术具有很强的操作性,简便易行,已被广泛应用,成为第二代 DNA 分子标记。何旭东^[11]利用 SSR 标记对杂种优势进行了预测。李发根^[12]利用 SSR 标记对尾叶桉和细叶桉的遗传图谱进行了构建。邓紫宇^[13]利用 SSR 标记对大花序桉(*E. cloeziana*)种源遗传多样性进行了分析。国内学者在疣粒野生稻(*Oryza granulata*)^[14]、甘蓝型油菜(*Brassica napus*)^[15]、玉米(*Zea mays*)^[16-17]、蘡薁葡萄(*Vitis bryoniaefolia*)^[18]等植物中应用上述 2 种分子标记开展遗传多样性研究,2 种分子标记均具可行性。

粗皮桉(*E. pellita*)主要分布在澳大利亚北部和巴布亚新几内亚,是重要的涵养水源树种,其木材性质较好,密度较大,非常坚固,不易腐烂,其性质堪比红木,色泽呈红色至深红色,在建筑、枕木、造船等方面被广泛使用^[19]。粗皮桉作为生产锯材的潜力树种之一,在我国南方桉树栽培区作为大径材锯材培育极具发展潜力。我国系统引种研究粗皮桉始于 1986 年,主要集中在引种试验^[20]、木材材性^[21-22]、抗逆性^[23]等方面,从分子水平揭示粗皮桉遗传多样性方面的研究尚未见报道。本研究利用 RAPD 与 SSR 分子标记研究现保存的 26 年生粗皮桉优良种源育种群体的遗传结构,探讨该育种群体的遗传多样性,为其遗传选育和遗传改良提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

粗皮桉 7 个种源(表 1)均采自广西国有东门林

场种源/家系试验林,试验林于 1989 年通过中澳科技合作东门桉树示范林项目在国内首次建立,种子由昆士兰林业厅和澳大利亚林木种子中心提供。每个种源选取现保存的生长良好的 8~18 个家系、每个家系 1 株平均木,共计 75 份材料,采集新鲜嫩叶置于冰盒,带回实验室 -80℃ 保存备用。

表 1 粗皮桉种源基本信息

Table 1 Basic information of *Eucalyptus pellita* provenances

产地	种源编号	经度(E)	纬度(S)	海拔/m
澳大利亚	1	145°33'	16°14'	450
	2	145°15'	15°45'	500
	3	143°17'	13°53'	580
	7	145°57'	18°25'	50
巴布亚新几内亚	4	141°45'	8°36'	30
	5	141°25'	8°30'	45
	6	141°32'	8°32'	50

1.2 DNA 提取与 PCR 扩增

采用天根生化科技(北京)有限公司生产的植物基因组 DNA 提取试剂盒提取粗皮桉 DNA,利用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测其浓度与纯度。100 条 RAPD 引物购自上海生工生物技术有限公司,利用笔者前期优化的 PCR 扩增体系与反应程序进行扩增^[24],扩增产物用 1% 琼脂糖凝胶电泳进行检测;21 对 SSR 引物采用周长品^[25]和 R. P. V. Brondani^[26]的研究结果,PCR 扩增体系与反应程序参考李发根^[12]荧光 dUTP 法,标记分型在 ABI 3130xl 测序仪上进行。

1.3 数据处理

RAPD 数据结果采取人工读数,有带记“1”,无带记“0”;SSR 基因分型数据读取采用软件 Peak Scanner1.0,根据引物目标片段大小找到相应峰值并读取数据,根据读数用 A、B、C…按照条带长度大小由大到小进行编号。利用软件 POPGEN32 与 NTSYSpc2.1 计算 Shannon 信息指数(I)和 Nei 基因多样性(h),按 Nei&Li 方法计算相似性系数(SM)和遗传距离(GD),采用类平均聚类方法(UPGMA)构建粗皮桉聚类树状图。

2 结果与分析

2.1 PCR 扩增产物多态性分析

利用 4 份不同种源粗皮桉 DNA 对 100 条 RAPD 引物和 21 对 SSR 引物进行初选与复选,其中 10 条 RAPD 引物和全部 21 对 SSR 引物均适合粗皮桉多样性分析(表 2)。

挑选出 10 条多态性丰富、谱带清晰的 RAPD 引物进行多样性分析,共扩增出 157 条谱带,其中多态

表 2 引物序列

Table 2 Sequence of primers

RAPD 引物	引物序列(5'-3')	SSR 引物	引物序列(5'-3')	SSR 引物	引物序列(5'-3')
S1008	TTCCCGTGCC	EMBRA148	F:GATTACAAGCCACACCGT R:AGCCAAGTTGTATCAGAAC	EUCeSSR162	F:CGAATGCCAGAATAAAAGC R:TTAACCCACCTCTATCTGTA
S1109	TGCCGGTTCA	EMBRA219	F:GATTCCACTGCGGCCAGACA R:CGAACGTAAGACTAGGTCCGAAGA	EUCeSSR174	F:GAGTCCTTGTGAGACCCATC R:CCTCCTAACCTCACTTGATG
S1112	TCTCACCGTC	EMBRA227	F:CGAATGCCATAGATTGTCAG R:CAGGCATCTCGTACGTGGA	EUCeSSR272	F:CGGCCAGCATAGCGGGA R:TTGAGTTGTCGGAGGCCA
S1152	TCCC GGTC	EMBRA269	F:TCAACTGCAATCCTTACC R:CCTGCAGTGTCACTGTGT	EUCeSSR299	F:GCACCTGGGTTATGTCCTG R:CTTGCAGTAAATGTCGTA
S1209	GGGGTGTCT	EMBRA303	F:GCGACTGCGTAGCATGTATCT R:AGCTGCAAATGCCATCAA	EUCeSSR345	F:GGAGCTACAGCACCAATG R:TTTCACCCCTCTCACTGC
S1211	GGGAAGACGG	EMBRA321	F:GGACAAGTCCAGCAGATATG R:CGATCAGAGAACGATAGGCGA	EUCeSSR349	F:GTGAGGAACGACGAGGAG R:AAACAATCTAAGAACATGGACCAC
S1212	GGATCGTCGG	EMBRA350	F:CAGATATGCTCTCAAATGGG R:CGATCAGAGAACGATAGGCGA	EUCeSSR427	F:ACACTCCATATCCAGCTCATCG R:ACTTGATAACCGTCCACCG
S1217	CCACCACGAC	EST-SSR013n	F:TCTGACACTCGGAGACCTT R:CTATGCCAATCAAGAGG	EUCeSSR436	F:CTCCTCCACTCGTCTCTGAC R:ATGGCGCAGGGCGAAGTAC
S1234	TCGCAGCGTT	EST-SSR056	F:CGAGCAAGGAACAGAGCCA R:AACTGCCGAGCCCCATCA	EUCeSSR571	F:ACCATCAAATCATCCTCCAT R:TCGACAAGCACAAAGCTC
S1248	TCCTCGTGGG	EST-SSR270	F:TTAATCGGTTTAGCTC R:CAAATACCCAAAAGGAAG	EUCeSSR583	F:CGCTTCCTACTACAACCTGC R:ACAAGAACTCGGACCTCA
		EST-SSR546	F:ATGCCCATCTAGTGTCTC R:CTACCGCTGCTTGAAAA		

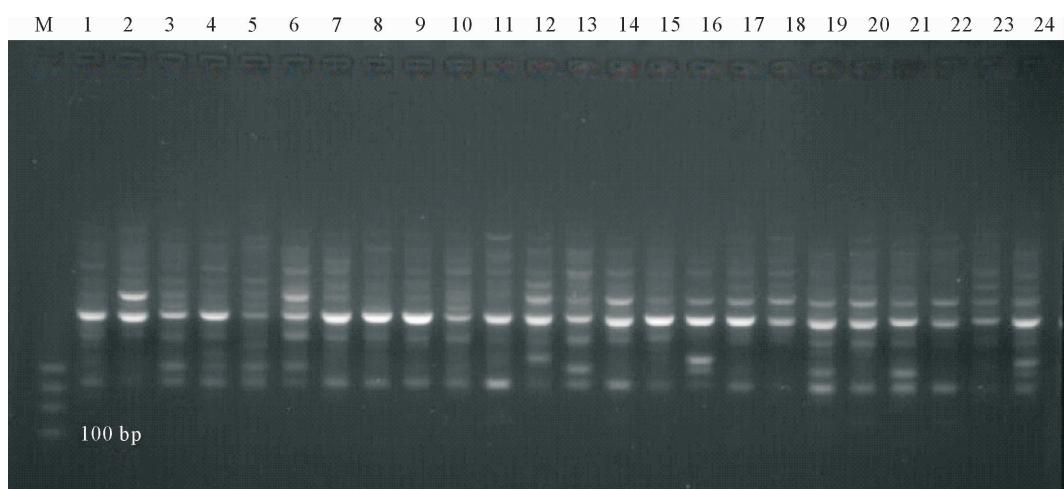


图 1 引物 1106 部分扩增产物电泳

Fig. 1 Partial product electrophoretograms with primer 1106

性谱带 145 条,多态性百分率 92.34% (部分引物电泳扩增结果见图 1)。21 对 SSR 引物共检测到 252 个等位变异,平均等位基因数为 12 个,平均有效等位基因数为 4.6 个(部分引物基因分型结果见图 2)。

2 种标记均能检测到各自有效的多态位点,检测效率及多态性水平不同(表 3)。

2.2 遗传变异分析

用 Shannon 信息指数和 Nei 基因多样性估算粗皮桉 7 个种源遗传变异(表 4)。RAPD 标记分析显示:粗皮桉 7 个种源 Shannon 信息指数变化范围为 0.331 9~0.443 8,平均值为 0.383 3,Nei 基因多

样性变化范围为 0.222 9~0.299 2,平均值为 0.257 6。SSR 标记分析显示:粗皮桉 7 个种源 Shannon 信息指数变化范围为 1.239 5~1.598 4,平均值为 1.332 3,Nei 基因多样性变化范围为 0.603 8~0.719 9,平均值为 0.601 0。2 种标记均揭示种源 3 变异水平最高,其次为种源 2,这 2 个种源处于澳大利亚粗皮桉 2 个自然分布区的中心地带,基因交流频繁,遗传变异丰富。

Nei 基因多样性反映的是粗皮桉等位基因的丰富度以及均匀程度,其大小与等位变异成正比,Shannon 信息指数是以粗皮桉某一扩增产物的存在

频率为基础计算其遗传多样性,它克服了该位点的存在不能代表其是纯合的问题。SSR 标记的 2 个

多样性指标均高于 RAPD 标记,说明 SSR 标记分析粗皮桉遗传多样性能够揭示更高的多态性。

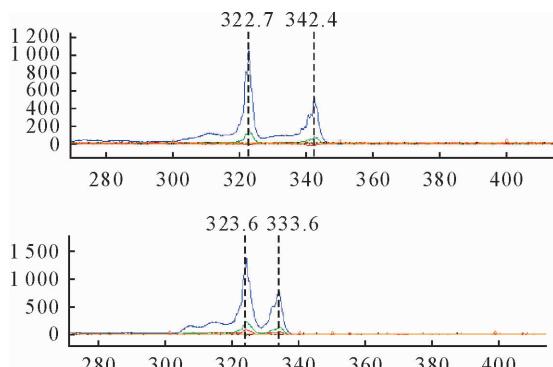


图 2 引物 SSR349 部分分型结果

Fig. 2 Partial result of primer SSR349 by capillary electrophoresis

表 3 2 种分子标记结果比较

Table 3 Comparison of two molecular markers

参数	分子标记	
	RAPD	SSR
分析单位数目	10 条引物	21 对引物
多态性条带数目(等位变异)	145	252
分析位点数目	145	21
每位点平均等位基因数	2	12(平均有效等位基因数 4.6)

表 4 粗皮桉种源遗传多样性

Table 4 Genetic diversity of *E. pellita* provenance

种源	RAPD		SSR	
	<i>h</i>	<i>I</i>	<i>h</i>	<i>I</i>
1	0.264 6	0.393 4	0.627 2	1.287 0
2	0.279 6	0.415 5	0.658 3	1.387 0
3	0.299 2	0.443 8	0.719 9	1.598 4
4	0.222 9	0.331 9	0.625 0	1.258 0
5	0.252 3	0.376 1	0.639 8	1.285 8
6	0.247 5	0.368 1	0.633 1	1.270 5
7	0.237 1	0.354 2	0.603 8	1.239 5

2.3 亲缘关系分析

遗传一致度与遗传距离是衡量群体亲缘关系的重要指标。RAPD 标记分析显示:粗皮桉 7 个种源遗传一致度变化范围为 0.906 1~0.971 4,平均值为 0.944 1,种源 2 与种源 3 遗传相似水平最高,种源 1 与种源 6 遗传相似水平最低,遗传距离变化范围为 0.029 0~0.098 6,平均值为 0.057 7,种源 1 与种源 6 遗传距离最远,种源 2 与种源 3 遗传距离最近。SSR 标记分析显示:粗皮桉 7 个种源遗传一致度变化范围为 0.727 1~0.908 0,平均值为 0.815 0,种源 5 与种源 6 遗传相似水平最高,种源 1 与种源 6 遗传相似水平最低,遗传距离变化范围为 0.096 5~0.318 8,平均值为 0.206 1,种源 1 与种

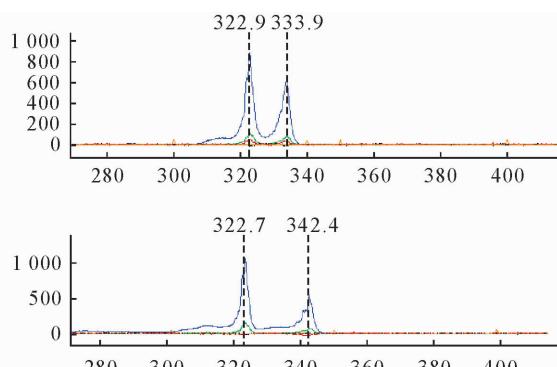


图 2 引物 SSR349 部分分型结果

Fig. 2 Partial result of primer SSR349 by capillary electrophoresis

源 6 遗传距离最远,种源 5 与种源 6 遗传距离最近。2 种标记均揭示遗传距离最远的是种源 1 与种源 6,这 2 个种源分属于澳大利亚与巴布亚新几内亚,其中种源 1 为高纬度、高海拔群体,种源 6 为低纬度、低海拔群体,两者地理距离较远。

SSR 标记遗传距离范围>RAPD 标记,平均遗传距离也>RAPD 标记,说明 SSR 标记分析粗皮桉遗传多样性能够提供更多的信息。

基于遗传一致度数值,利用 UPGMA 法对粗皮桉 7 个种源进行 UPGMA 聚类分析。RAPD 标记分析显示(图 3):粗皮桉 7 个种源被划分为 4 大类,第 1 大类为种源 1,第 2 大类包括种源 2、种源 3、种源 5 和种源 6,第 3 大类为种源 4,第 4 大类为种源 7。SSR 标记分析显示(图 4):粗皮桉 7 个种源被划分为 3 大类,第 1 大类为种源 1 和种源 7,第 2 大类为种源 2 和种源 3,第 3 大类包括种源 4、种源 5 和种源 6。

SSR 标记聚类分析结果与粗皮桉种源地理分布密切相关,遗传一致度为 0.82 时,澳大利亚 4 个种源与巴布亚新几内亚 3 个种源被划分开成为 2 大类,在进一步分类中,澳大利亚 4 个种源中,纬度较高的种源 1 与种源 7 被划分为一类,纬度较低的种源 2 和种源 3 被划分为一类。说明 SSR 标记揭示粗皮桉种源亲缘关系更具可信度。

2.4 RAPD 与 SSR 标记相关性分析

利用软件 TFPGA 检测 RAPD 标记和 SSR 标记分析结果的相关性,对 2 种标记获得的遗传距离矩阵利用 Mantel Test 模块进行相关性分析,结果显示:RAPD 标记和 SSR 标记对粗皮桉遗传多样性的分析结果呈显著相关,相关系数为 0.668 6($n=21, p=0.001$),说明利用这 2 种分子标记对粗皮桉的遗传多样性分析具有较高的一致性。

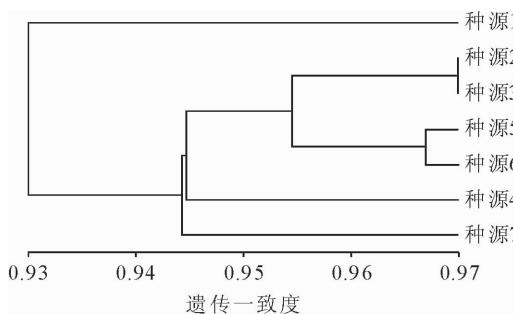


图3 粗皮桉7个种源 RAPD 聚类分析

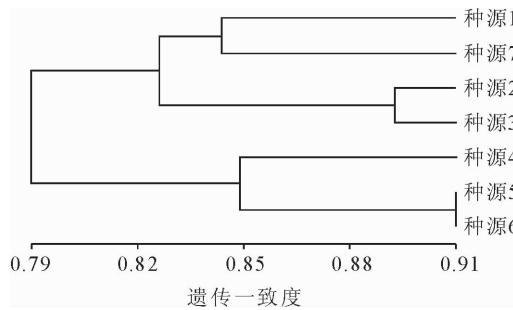
Fig. 3 Dendrogram for 7 populations of *E. pellita* by RAPD

图4 粗皮桉7个种源 SSR 聚类分析

Fig. 4 Dendrogram for 7 populations of *E. pellita* by SSR

3 结论与讨论

RAPD 和 SSR 分子标记技术均适合于粗皮桉种源遗传多样性的分析, 广西东门林场粗皮桉育种群体具有较丰富的遗传多样性, 但 SSR 标记所揭示的遗传信息更完整, 检测到的多态性更高, 且体系更稳定, SSR 标记结果更可靠。

之前有学者运用这 2 种分子标记技术探讨过不同地理来源的不同种植物的遗传结构, 部分学者认为 SSR 标记是更有效地研究群体遗传多样性的分子标记^[14-17], 部分学者认为 RAPD 标记是更有效地评价小区域(亲缘关系较近)群体遗传多样性的分子标记^[18]。本研究利用 RAPD 和 SSR 分子标记技术分析粗皮桉 7 个种源遗传多样性, 2 种标记均能扩增出较丰富的多态性条带, 对粗皮桉种源的遗传多样性检测效率较高, 可以揭示粗皮桉种源较丰富的遗传多样性。RAPD 标记操作简单、成本低、DNA 质量要求不高, 但由于引物短, 易受试验条件影响而重复性差, 且 RAPD 标记为显性遗传。SSR 标记操作方便、重复性好, 为共显性遗传, 相比 RAPD 标记, SSR 标记能够提供更完整的信息, 揭示更高的多态性, 在分析粗皮桉不同地理种源遗传多样性方面更有效。

21 对 SSR 引物均成功检测到等位变异, 说明 SSR 引物在桉树中的通用性较好, 与 F. B. Cuperti-

no^[27]等的桉树杂交种 EST-SSR 与基因组 SSR 标记无显著差异结论一致, 与刘果^[28]等的桉树 Genomic-SSR 和 EST-SSR 引物通用性研究结果相似, 与李红英^[29]等的北美鹅掌楸 (*Liriodendron tulipifera*) EST-SSR 跨属间通用性研究结论相同, 同一 SSR 标记可在亲缘关系近的种之间共享。

种源 2 与种源 3 自然分布于澳大利亚粗皮桉中心分布区, 基因交流较频繁, 且海拔较高, 遗传变异较丰富, 2 种标记均揭示这 2 个种源变异水平较高。

种源 1 与种源 6 分别来自 2 个不同的产地, 且纬度海拔差异明显, 2 种标记均揭示其亲缘关系较远; 种源 2 与种源 3 均来自澳大利亚且纬度海拔相似, 种源 5 与种源 6 均来自巴布亚新几内亚且纬度海拔相似, 2 种标记均揭示其亲缘关系较近, 说明 RAPD 和 SSR 在揭示粗皮桉亲缘关系时具有一定的一致性。聚类分析显示, RAPD 标记将粗皮桉分为 4 大类, SSR 标记将粗皮桉分为 3 大类, SSR 标记聚类结果与粗皮桉种源地理分布更吻合, 与刘立科^[30]等的二球悬铃木 (*Platanus acerifolia*) 大部分相同或相邻地区材料聚在一起的结果一致, 与王艳梅^[31]等的中国榛属 (*Corylus*) 植物地理较近的种源遗传相似性较大的结论相似, SSR 标记将不同产地种源归为一类, 同一产地不同纬度、海拔种源又归为一类。

利用 RAPD 和 SSR 2 种分子标记得到的粗皮桉 7 个种源的遗传一致度变化范围较小, 表明这些种源间的亲缘关系较近, 也说明了引种的粗皮桉种源的遗传基础比较狭窄。但从两者聚类结果的分析来看, 粗皮桉种源又表现出遗传背景比较复杂, 具有较丰富的遗传多样性。

RAPD 与 SSR 2 种分子标记遗传距离矩阵显著相关, 但相关系数较小, 两者获得的聚类分析图也存在一定的差异, 出现这种差异的原因可能是与这 2 种标记所检测的区域不同, 以及选取的引物不同, 遗传距离随着引物数量的增加而变化。

参考文献:

- [1] 周延清. 遗传标记的发展[J]. 生物学通报, 2000, 35(5): 17-18.
- [2] 甘四明, 施季森, 白嘉雨, 等. 尾叶桉和细叶桉无性系的 RAPD 指纹图谱构建[J]. 南京林业大学学报, 1999, 23(1): 11-14.
- [3] GAN S M, SHI J S, BAI J Y, et al. RAPD fingerprints of clones *Eucalyptus urophylla* S. T. Blake and *E. tereticornis* Smith [J]. Journal of Nanjing Forestry University, 1999, 23(1): 11-14. (in Chinese)
- [4] 李志辉, 杨模华. 巨桉种源遗传多样性的 RAPD 分析[J]. 中南林学院学报, 2003, 23(4): 5-9.
- [5] LI Z H, YANG M H. Genetic diversity in *Eucalyptus grandis* populations based on RAPD analysis [J]. Journal of Central

- South Forestry University, 2003, 23(4): 5-9. (in Chinese)
- [4] 潘天玲, 刘友全, 李坤平. RAPD 标记在韦塔桉种源遗传结构上的应用[J]. 生命科学研究, 2003, 7(1): 89-94.
- PAN T L, LIU Y Q, LI K P. Application of RAPD marker to genetic structure of *Eucalyptus wetarensis*[J]. Life Science Research, 2003, 7(1): 89-94. (in Chinese)
- [5] GAIOTO F A, BRAMUCCI M, GRATTAPAGLIA D. Estimation of out crossing rate in a breeding population of *Eucalyptus urophylla* using dominant RAPD and AFLP markers [J]. Theor. Appl. Genet., 1997, 95: 842-849.
- [6] BUTCHER P A, WILLIARNS E R. Variation in out crossing rate and growth in *Eucalyptus camaldulensis* from the Petford region, Queensland; evidence of out breeding depression[J]. Silvae Genetica, 2002, 51: 6-12.
- [7] JONES R C, STEANE D A, POTTS B M, et al. Microsatellite and morphological analysis of *Eucalyptus globules* population [J]. Canadian Journal of Forest Research, 2002, 32: 59-66.
- [8] MCKINNON G E, POTTS B M, STEANE D A, et al. Population and phylogenetic analysis on cinnamoyl CoA reductase gene in *Eucalyptus globules* (Myrtaceae)[J]. Aust. J. Bot., 2005, 53: 827-838.
- [9] MCDONALD M W, RAWLINGS W, BUTCHER P A, et al. Regional divergence and inbreeding in *Eucalyptus cladocalyx* (Myrtaceae)[J]. Aust. J. Bot., 2003, 51: 393-403.
- [10] JONES R C, MCKINNON G E, POTTS B M, et al. Genetic diversity and mating system of an endangered tree *Eucalyptus morrisbyi*[J]. Aust. J. Bot., 2005, 53: 367-377.
- [11] 何旭东. 桉树杂种优势及其分子标记辅助选择研究[D]. 南京: 南京林业大学, 2010.
- [12] 李发根. 尾叶桉和细叶桉 STS 标记连锁图谱构建及生长形状 QTL 定位研究[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2010.
- [13] 邓紫宇. 利用 SSR 分子标记研究大花序桉遗传结构[D]. 南宁: 广西大学, 2012.
- [14] 钱伟, 葛颂, 洪德元. 采用 SSR 和 RAPD 标记探讨中国疣粒野生稻的遗传多样性[J]. 植物学报, 2000, 42(7): 741-750.
QIAN W, GE S, HONG D Y. Assessment of genetic variation of *Oryza granulata* detected by RAPDs and ISSRs[J]. Acta Botanica Sinica, 2000, 42(7): 741-750. (in Chinese)
- [15] 张书芬, 傅廷栋, 马朝芝, 等. 3 种分子标记分析油菜品种间 的多态性效率比较[J]. 中国油料作物学报, 2005, 27(2): 19-23.
ZHANG S F, FU T D, MA C Z, et al. Polymorphism analysis for maintainers and restorers of cytoplasmic male sterility in *Brassica napus* L[J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2005, 27(2): 19-23. (in Chinese)
- [16] 邱红波, 戴保威, 彭中华. RAPD 和 SSR 标记在玉米遗传多样性分析中的应用[J]. 山地农业生物学报, 2005, 24(2): 99-104.
- [17] 邱红波, 彭中华, 张文龙. 利用 RAPD 和 SSR 分析 36 个贵州 主要玉米种质的比较研究[J]. 种子, 2009, 28(12): 39-43.
QIU H B, PENG Z H, ZHANG W L. Comparative study on genetic diversity of 36 major maize germplasm in Guizhou by RAPDs and SSRs technology[J]. Seed, 2009, 28(12): 39-43. (in Chinese)
- [18] 陈姝, 钱正强, 宫霞, 等. SSR 和 RAPD2 种分子标记对昆明西 山野生葡萄资源遗传多样性分析比较[J]. 西南农业学报, 2010, 23(6): 2008-2013.
- [19] 郜述雄. 中国桉树[M]. 北京: 中国林业出版社, 2002.
- [20] 廖柏勇, 刘丽婷, 莫晓勇, 等. 10 年生粗皮桉种源/家系选择分 析[J]. 华南农业大学学报, 2011, 32(4): 72-77.
- [21] 赵荣军, 霍小梅, 邢新婷, 等. 粗皮桉木材气干密度测定方法比 较研究[J]. 西北林学院学报, 2012, 27(2): 242-244.
ZHAO R J, HUO X M, XING X T, et al. Comparison of measurement methods of *Eucalyptus pellita* air-dry density [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2012, 27(2): 242-244. (in Chinese)
- [22] 赵荣军, 邢新婷, 吕建雄, 等. 粗皮桉木材力学性质的近红外光 谱方法预测[J]. 林业科学, 2012, 48(6): 106-111.
- [23] LUO J, ARNOLD R J, AKEN K. Genetic variation in growth and typhoon resistance in *Eucalyptus pellita* in southwestern China[J]. Australian Forestry, 2006, 69: 38-47.
- [24] 张照远, 项东云, 邓紫宇, 等. 24 种桉树无性系指纹图谱构建 [J]. 西北林学院学报, 2013, 28(2): 74-78.
ZHANG Z Y, XIANG D Y, DENG Z Y, et al. Establishment of Fingerprinting for 24 clones in *Eucalyptus*[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2013, 28(2): 74-78. (in Chi nese)
- [25] 周长品. 一组新的桉树 EST-SSR 标记开发及遗传图谱的整合 [D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2011.
- [26] BONDANI R P V, WILLIAMS E R, BRONDANI C, et al. A microsatellite-based consensus linkage map for *Eucalyptus* species and a novel set of 230 microsatellite markers for the genus[J]. BMC Plant Biol., 2006, 6: 20.
- [27] CUPERTINO F B, LEAL J B, CORREA R X, et al. Genetic diversity of *Eucalyptus* hybrids estimated by genomic and EST microsatellite markers[J]. Biologia Plantarum, 2011, 55 (2): 379-382.
- [28] 刘果, 张党权, 谢耀坚, 等. 桉树 Genomic-SSR 和 EST-SSR 引 物的快速筛选与通用性研究[J]. 林业科学, 2013, 49(2): 127-133.
LIU G, ZHANG D Q, XIE Y J, et al. Rapid screening and transferability analysis of Genomic-SSR and EST-SSR primers in *Eucalyptus*[J]. Scientia Silvae Sinicae, 2013, 49 (2): 127-133. (in Chinese)
- [29] 李红英, 李康琴, 胥猛, 等. 北美鹅掌楸 EST-SSR 跨属间通用 性[J]. 东北林业大学学报, 2011, 39(2): 28-42.
- [30] 刘立科, 王建革, 张文会, 等. 山东省二球悬铃木遗传多样性初 步研究[J]. 西北林学院学报, 2010, 25(6): 79-83.
LIU L K, WANG J G, ZHANG W H, et al. Primary analysis on genetic diversity of *Platanus acerifolia* in Shandong Province[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2010, 25 (6): 79-83. (in Chinese)
- [31] 王艳梅, 苏淑钗, 翟明普, 等. 中国榛属植物遗传关系的 SSR 分析[J]. 东北林业大学学报, 2008, 36(11): 48-51.
WANG Y M, SUN S C, ZHAI M P, et al. Genetic analysis of genus *Corylus* in China by SSR[J]. Journal of Northeast For estry University, 2008, 36(11): 48-51. (in Chinese)