

西南地区乡土杨树遗传变异的 SRAP 分析

员 涛¹, 颜璐茜¹, 李佳蔓¹, 周安佩¹, 纵 丹¹, 李 旦², 于 雷¹, 何承忠¹

(¹ 云南省高校林木遗传改良与繁育重点实验室/西南地区生物多样性保育国家林业局重点实验室/西南山地森林资源保育与利用省部共建教育部重点实验室/西南林业大学, 昆明 650224; ² 西南林业大学云南生物多样性研究院, 昆明 650224)

摘要: 采用 SRAP 分子标记技术对西南地区 11 种乡土杨树共 333 份样本的遗传变异进行分析, 7 对引物组合共扩增出 215 条带, 其中多态性条带 158 条, 多态性条带百分率为 73.49%, 表明 11 种乡土杨树间存在广泛变异。AMOVA 分析结果显示, 种间遗传变异分量为 10.84, 占总变异的 48.70%, 遗传差异达极显著水平 ($P < 0.001$)。种间的遗传相似系数变幅在 0.8199~0.9607 之间, 平均遗传相似系数为 0.8983。聚类结果表明, 昌都杨和藏川杨之间的遗传差异最小, 大叶杨和三脉青杨之间的遗传差异最大。本研究结果为西南地区乡土杨树基因资源的保护、开发和利用提供了一定的科学理论依据。

关键词: 乡土杨树; 遗传多样性; SRAP 标记; 西南地区

SRAP Analysis of Genetic Variation among Native Poplars in Southwest China

YUN Tao¹, YAN Lu-xi¹, LI Jia-man¹, ZHOU An-pei¹, ZONG Dan¹, LI Dan², YU Lei¹, HE Cheng-zhong¹

(¹ Key Laboratory for Forest Genetic and Tree Improvement & Propagation in Universities of Yunnan Province/Key Laboratory of Biodiversity Conservation in Southwest China, State Forestry Administration/Key Laboratory for Forest Resources Conservation and Use in the Southwest Mountains of China, Ministry of Education/Southwest Forestry University, Kunming 650224; ² Yunnan Academy of Biodiversity, Southwest Forestry University, Kunming 650224)

Abstract: 333 samples of native poplars among 11 species collected from southwest China were examined by SRAP markers to determine the genetic variation. The results showed that 7 selected primer combinations of SRAP generated 215 bands, of which 158 bands were polymorphic. The percentage of polymorphic bands was 73.49%. All these index indicated that there were considerable genetic variation existed among 11 native poplar species. The variance components among species was 10.84 and it accounted for 48.70% of the total genetic variation by molecular variance analysis (AMOVA) indicating the genetic difference among 11 native poplar species was significant ($P < 0.001$). The genetic similarity coefficients among the tested poplars ranged from 0.8199 to 0.9607, with an average of 0.8983. The cluster analysis showed that there was the smallest genetic difference between *Populus qamdoensis* and *P. szechuanica* var. *tibetica*, whereas the largest genetic difference between *P. lasiocarpa* and *P. trinervis*. The results of this research would provide a scientific basis for conservation, development and utilization of the native poplar gene resources in southwest China.

Key words: native poplars; genetic variation; SRAP markers; southwest China

收稿日期: 2015-01-27 修回日期: 2015-03-27 网络出版日期: 2015-06-11

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20150611.0845.002.html>

基金项目: 国家林业公益性行业专项 (201104076); 国家自然科学基金项目 (31360184, 31460205); 云南省教育厅基金项目 (2014J99); 云南省中青年学术与技术带头人后备人才培养基金项目 (2012HB021)

第一作者研究方向为林木生物技术。E-mail: 979445416@qq.com

通信作者: 何承忠, 研究方向为林木遗传育种与分子生物学。E-mail: hcz70@163.com

杨树是杨柳科(Salicaceae)杨属(*Populus* L.)树种的统称,具有生长快、轮伐期短、适应性强、易于种间杂交、容易无性繁殖等优点,已成为我国和世界有关国家重要的造林树种,也是工业用材林和生态防护林建设的主要树种^[1]。此外,杨树基因组相对较小^[2-3],是林业生物技术和基因工程等分子生物学研究的模式树种^[4-5]。我国西南地区地形地貌复杂,气候环境多样,孕育了丰富多样的植物资源^[6-7],分布有杨树约 28 种,其中特有种 25 个,22 个变种,10 个天然杂交种^[6-9],被认为是我国杨树自然分布和变异的中心之一^[9-11]。这些丰富而独特的杨树基因资源在当地生态环境建设和社会经济发展中发挥着重要作用,同时也具有十分重要的科学研究价值。但长期以来,对该区域杨树的基础研究还很少,特别是在遗传变异及分子进化和亲缘关系等方面的研究非常缺乏,限制了该地区杨树资源的科学开发与利用。

物种的遗传变异是长期进化的结果,遗传变异的研究对于了解种源的适应性、物种起源、基因资源分布及基因资源保护等具有重要的理论和实际意义^[12]。分子标记技术从遗传物质的本质入手,基本不受环境和发育状态影响,能够较好地揭示物种的遗传变异^[13]。其中 SRAP 标记是一种新型分子标记技术,针对基因外显子 GC 含量丰富,而启动子、内含子 AT 含量丰富的特点来设计引物进行 PCR 扩增,PCR 扩增区域为基因组的开放阅读框,其扩增出的多样性条带直接体现 ORFs 的多态性,进而体现出物种的性状差异^[14-16],已成为进行遗传多样性分析^[17-18]、遗传图谱构建^[19-20]、重要性状标记^[21-22]以及基因定位研究^[23]的有效手段。

为了了解和掌握西南地区乡土杨树遗传多样性水平,本研究采用 SRAP 分子标记,对采集于西南地区 11 个种共计 333 份乡土杨树样本进行遗传变异分析,并初步探讨种间遗传关系,从而为该区域杨树资源的遗传研究奠定基础,同时也为该区域乡土杨树资源的保护和合理开发利用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试杨树样本于 2013 年 9 月分别采集于云南省(德钦、维西、中甸、宣威、昆明、大理、楚雄)、四川省(稻城、乡城、理塘、泸定、康定、凉山)和西藏昌都(芒康、昌都、贡觉),包括乡城杨、西南杨、川杨、德钦杨、三脉青杨、小叶杨、藏川杨、昌都杨、康定杨、滇

杨和大叶杨,共计 11 个种 333 个个体(表 1)。采用随机取样方法确定样株,样株间隔 50 m,采集嫩叶用硅胶干燥保存。

表 1 供试材料及来源

Table 1 Collection site of the poplar samples

杨树种 Species	采集地 Collection place	样本数 Sample size
乡城杨 <i>Populus xiangchen-</i> <i>gensis</i>	稻城,乡城	27
西南杨 <i>Populus schneideri</i>	理塘,稻城	30
川杨 <i>Populus szechuanica</i>	泸定,德钦,维西	35
德钦杨 <i>Populus haoana</i>	德钦,中甸	24
三脉青杨 <i>Populus trinervis</i>	康定	14
小叶杨 <i>Populus simonii</i>	乡城,康定,中甸	33
藏川杨 <i>Populus szechuani-</i> <i>ca</i> var. <i>tibetica</i>	中甸,德钦,芒康	35
昌都杨 <i>Populus qamdoensis</i>	昌都,芒康,贡觉	49
康定杨 <i>Populus kangdin-</i> <i>gensis</i>	康定	24
滇杨 <i>Populus yunnanensis</i>	凉山,宣威,昆明,大理,楚雄	50
大叶杨 <i>Populus lasiocarpa</i>	泸定	12

1.2 试验方法

1.2.1 基因组 DNA 提取 采用改良 SDS 法依据标准酚/氯仿流程提取基因组 DNA^[24],利用 0.8% 的琼脂糖凝胶电泳和 Thermo 2000 超微量核酸蛋白测定仪共同对所提取的总 DNA 质量进行检测, - 20 ℃ 保存,备用。

1.2.2 SRAP 分析 根据 SRAP 引物设计的原理^[14,16],在已有标准引物序列的基础上自行设计正反引物,共计正反引物各 15 条,总计 225 对引物组合,从中筛选出重复性好、多态性高、分辨率高的 7 对引物组合用于后续的 SRAP 分析。

PCR 反应体系为 10 μL: 10 × PCR buffer (含 25 mM Mg²⁺) 1 μL, 上下游引物(浓度为 10 μmol/L) 各 1.5 μL, dNTPs (2.5 mmol/L) 0.7 μL, Taq DNA polymerase (2.5 U/μL) 0.20 μL, DNA 模板 2.5 μL, dd H₂O 补齐。PCR 反应条件为: 94 ℃ 预变性 5 min; 94 ℃ 变性 50 s, 36 ℃ 退火 30 s, 72 ℃ 延伸 90 s, 5 个循环; 94 ℃ 变性 50 s, 50 ℃ 退火 30 s, 72 ℃ 延伸 90 s, 30 个循环; 72 ℃ 延伸 10 min。PCR 扩增产物采用 6% 变性聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,分离后的条带利用银染法进行显色^[25]。

1.2.3 数据统计与分析 根据电泳图谱上相同位点条带的有无进行统计,有带记为 1,无带记为 0,形

成 0/1 矩阵。应用 POPGENE version 1.32 软件^[26] 计算多态性位点百分率 (PPL)、观测等位基因数 (N_a)、有效等位基因数 (N_e)、Nei's 基因多样性指数 (H)、Shannon's 信息指数 (I), 其输入文件由 DC-FA1.1 软件^[27] 制作; 应用 GenAlEx v6.41 软件^[28] 对杨树种间和种内个体间的遗传差异进行 AMOVA 分析, 对种间关系进行主坐标分析 (PCoA); 利用 NTSYSpc version 2.10e 软件^[29] 对树种进行 UPGMA 聚类分析, 构建聚类图。

2 结果与分析

2.1 种间和种内遗传变异分析

采用筛选出的 7 对 SRAP 引物组合对 11 个种 333 份杨树样本进行 PCR-SRAP 扩增, 共扩增得到 215 条带, 其中多态性条带 158 条, 多态性条带百分

率为 73.49%。POPGENE 软件分析表明 (表 2), 在杨属水平上, 观测等位基因数 (N_a) 为 1.7349, 有效等位基因数 (N_e) 为 1.2493, Nei's 基因多样性指数 (H) 和 Shannon's 信息指数 (I) 分别为 0.1619 和 0.2617; 在种水平上, 多态性条带百分率变化范围为 5.58% ~ 46.05%, 平均为 28.92%, 其中昌都杨各项遗传参数均最高 ($PPL = 46.05\%$, $N_a = 1.4605$, $N_e = 1.2041$, $H = 0.1274$, $I = 0.1991$), 康定杨次之 ($PPL = 37.67\%$, $N_a = 1.3767$, $N_e = 1.1634$, $H = 0.1030$, $I = 0.1618$), 大叶杨的各项遗传参数均最低 ($PPL = 5.58\%$, $N_a = 1.0558$, $N_e = 1.0343$, $H = 0.0201$, $I = 0.0301$)。这些杨树等位基因变异频率的广泛分布, 揭示出杨属不同种内存在一定水平的遗传多样性, 同时也表明杨属不同种之间的遗传多样性水平存在着较为明显的差异。

表 2 西南地区 11 种乡土杨树的遗传多样性参数
Table 2 The parameters of genetic diversity of 11 native poplars insouthwest China

杨树种 Species	多态性位点百分率 PPL	观测等位基因数 N_a	有效等位基因数 N_e	Nei's 基因多样 性指数 H	Shannon's 信息指数 I
乡城杨 <i>P. xiangchengensis</i>	29.30	1.2930	1.1220	0.0767	0.1208
西南杨 <i>P. schneideri</i>	24.19	1.2419	1.0997	0.0620	0.0972
川杨 <i>P. szechuanica</i>	33.49	1.3349	1.1412	0.0852	0.1325
德钦杨 <i>P. haoana</i>	28.84	1.2884	1.1197	0.0749	0.1178
三脉青杨 <i>P. trinervis</i>	17.67	1.1767	1.0708	0.0445	0.0704
小叶杨 <i>P. simonii</i>	25.12	1.2512	1.1160	0.0691	0.1058
藏川杨 <i>P. szechuanica</i> var. <i>tibetica</i>	36.74	1.3674	1.1402	0.0897	0.1436
昌都杨 <i>P. qamdoensis</i>	46.05	1.4605	1.2041	0.1274	0.1991
康定杨 <i>P. kangdingensis</i>	37.67	1.3767	1.1634	0.1030	0.1618
滇杨 <i>P. yunnanensis</i>	33.49	1.3349	1.1468	0.0902	0.1402
大叶杨 <i>P. lasiocarpa</i>	5.58	1.0558	1.0343	0.0201	0.0301
平均 Mean	28.92	1.2892	1.1235	0.0766	0.1199
杨属水平 Genus level	73.49	1.7349	1.2493	0.1619	0.2617

2.2 种间和种内遗传差异的 AMOVA 分析

应用 GenAlEx v6.41 软件对杨树种间和种内个体间遗传差异的分子方差分析 (AMOVA) 结果显示, 11 个杨树种间的遗传变异分量为 10.84, 占总变异的 48.70%, 而种内个体间的遗传变异分量为 11.42, 占总变异的 51.30%。种间和种内个体间的遗传差异均达到极显著水平 ($P < 0.001$), 表明西南地区乡土杨树在种间和种内均存在较为丰富的遗传变异。

2.3 聚类分析与主坐标分析

西南地区 11 种乡土杨树之间的遗传相似系数介于 0.8199 ~ 0.9607 之间, 平均遗传相似系数为 0.8983 (表 3)。其中, 昌都杨和藏川杨之间的遗传相似系数最大 (0.9607), 表明二者之间具有较小的

遗传差异; 大叶杨和三脉青杨之间的遗传相似系数最小 (0.8199), 说明二者之间存在较大的遗传差异。依据树种间遗传相似系数, 采用 NTSYSpc version2.10e 软件^[29] 对 11 个杨树种进行聚类分析, 由聚类图可看出 (图 1), 乡城杨、康定杨和西南杨聚为一组, 川杨和德钦杨聚为一组, 藏川杨和昌都杨聚为一组, 其余的滇杨、大叶杨、小叶杨和三脉青杨各自聚为一个分支。对种间关系进行主坐标分析 (图 2), 前两个特征向量的累计贡献率为 46.39%, 杨树各种在 PCoA 分析中也得到了比较清晰的划分, 其中乡城杨、西南杨、川杨、康定杨、德钦杨、昌都杨和藏川杨具有紧密的聚类关系, 而三脉青杨与其他树种具有明显的分离。

表 3 西南地区 11 种乡土杨树间的遗传相似系数

Table 3 Genetic similarity coefficient between 11 native poplars in southwest China

	乡城杨	西南杨	川杨	德钦杨	三脉青杨	小叶杨	藏川杨	昌都杨	康定杨	滇杨	大叶杨
乡城杨	1.0000										
西南杨	0.9450	1.0000									
川杨	0.9300	0.9431	1.0000								
德钦杨	0.9213	0.9185	0.9525	1.0000							
三脉青杨	0.8548	0.8561	0.8577	0.8619	1.0000						
小叶杨	0.8625	0.8758	0.8735	0.8741	0.8332	1.0000					
藏川杨	0.9329	0.9147	0.9335	0.9393	0.8760	0.8863	1.0000				
昌都杨	0.9299	0.9355	0.9332	0.9363	0.8714	0.8924	0.9607	1.0000			
康定杨	0.9602	0.9560	0.9388	0.9356	0.8697	0.8968	0.9415	0.9570	1.0000		
滇杨	0.8816	0.8811	0.9093	0.9018	0.8362	0.8442	0.8999	0.9113	0.9138	1.0000	
大叶杨	0.8555	0.8632	0.8771	0.8789	0.8199	0.8443	0.8873	0.8899	0.8998	0.8852	1.0000

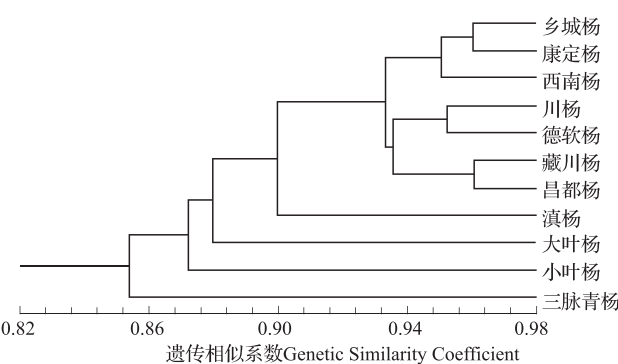


图 1 西南地区 11 种乡土杨树间 UPGMA 聚类分析图

Fig. 1 Cluster analysis of 11 native poplars in southwest China by UPGMA method

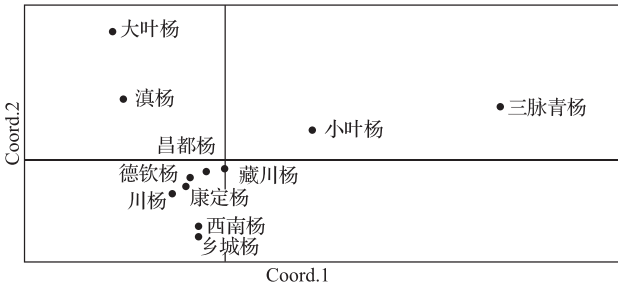


图 2 西南地区 11 种乡土杨树的主坐标分析

Fig. 2 Principal coordinates analysis of 11 native poplars in southwest China

3 讨论

揭示物种遗传多样性及遗传分化特点,有助于了解物种的进化历史及其适应性,从而为物种资源的保护和有效利用提供基础^[12]。杨属在传统分类

中被划分为 5 派^[30-31],本研究供试材料中仅大叶杨属于大叶杨派,其余树种均属青杨派^[32]。李善文等^[33]利用 13 对 AFLP 引物对杨属 4 个派 19 个种及杂种的 47 个无性系进行分析,共检测到 858 条带,其中多态性带 771 条,多态性位点百分率为 89.9%。宋红竹等^[34]利用 10 对 AFLP 引物对杨属 5 个派 20 个种及杂种的 44 份杨树材料进行分析,不同引物组合得到的多态性位点百分率均为 100%。在对西南地区杨树遗传变异的研究中,X. Q. Wan 等^[35]对 17 种杨树 38 份样本进行 AFLP 分析,共得到 585 条带,其中多态性带 505 条,多态性位点百分率为 86.32%。王明福^[36]对 17 个种及 5 个杂交种共 30 份样本进行 ISSR 分析,结果显示多态性位点百分率达到了 93.19%。本研究利用 7 对引物对西南地区 11 种乡土杨树进行 SRAP 分析,多态性位点百分率为 73.49%,表明 11 种杨树种间水平的遗传变异丰富。但这一结果低于前人^[33-36]对杨属的遗传多样性研究结果,可能与试验材料主要以青杨派树种为主有关。此外,不同的分子标记技术也可能是造成多态性差异的原因^[33]。

在种水平上,一般认为多态性位点百分率超过 50%,则认为该物种具有较高的遗传多样性^[37]。J. L. Hamrick 等^[38]认为:多数多年生木本树种平均多态性位点百分率为 65%,平均每个位点的观测等位基因数(N_a)为 2.22,每个位点的有效等位基因数(N_e)为 1.24。薄文浩^[39]利用 SSR 标记对主要分布区的藏川杨遗传多样性进行分析,28 对 SSR 引物扩增得到藏川杨的观测等位基因数(N_a)、有效等位基因数(N_e)、Nei's 基因多样性指数(H)和 Shannon's

信息指数 (I) 分别为 2.1786、1.6796、0.3448 和 0.5038。冯夏莲^[40]采用 AFLP 技术分析了云南境内 4 个滇杨群体的遗传多样性, 11 对引物得到的多态性位点百分率为 68.79%, 观测等位基因数 (N_a)、有效等位基因数 (N_e)、Nei's 基因多样性指数 (H) 和 Shannon's 信息指数 (I) 分别为 1.999、1.196、0.1410 和 0.2440。本研究结果表明, 西南地区乡土杨树树种的平均多态性位点百分率 (28.92%) 低于 50%, 平均观测等位基因数 (1.2829) 和有效等位基因数 (1.1235) 均低于多年生木本植物平均值, 藏川杨和滇杨的种内遗传多样性各指标也均低于前人^[39-40]的研究结果。导致各供试杨树种遗传多样性水平较低的原因主要存在于 (1) SRAP 标记主要针对 ORFs 进行扩增, 其多态性条带直接体现了 ORFs 的差异, 进而表现为个体表型性状的差异, 而西南地区乡土杨树的表型极其相似, 差异细微, 例如昌都杨和藏川杨形态特征近似, 其区别为昌都杨小枝黄褐色, 近光滑, 仅嫩时有柔毛; 叶较小, 基部圆形; 叶柄较短^[41]; (2) 供试材料中的乡城杨、西南杨、德钦杨、康定杨和昌都杨均属于西南地区特有杨属树种 (或称为地方小种), 一般也认为特有种和窄布种的遗传多样性水平较低^[42-43]; (3) 遗传多样性偏低也可能与杨树长期依赖扦插繁殖及人为造成的生境破坏和片段化有关^[44]。在野外样本采集过程中发现, 有少部分杨树种分布于山谷箐沟、溪流两岸区域, 大多数杨树种主要分布于高原平面, 且采集群体中自然更新的幼苗少见。

余树全等^[6]依据生境条件将青杨派树种分为三类, 本研究的供试材料中滇杨、小叶杨和三脉青杨属于热河谷类型, 川杨属于温湿类型, 康定杨、乡城杨和西南杨属于寒湿类型。赵能等^[8,10]根据表型性状将西南杨划分为康定杨的变种。在 DNA 层面的相关研究中, 陈珂^[45]综合多种分子标记研究结果表明, 康定杨和西南杨有较近的亲缘关系; 三脉青杨和小叶杨有很近的亲缘关系, 可能拥有相同的祖先类群。王明福^[36]和 X. Q. Wan 等^[35]认为, 西南杨是以青杨为父本, 康定杨为母本的杂交种, 非康定杨变种。本研究结果支持西南杨与康定杨确有较近的亲缘关系, 但前者是后者的变种还是杂交种尚不能确定。此外, 本研究结果中乡城杨、西南杨和康定杨之间也具有密切的亲缘关系, 这与 X. Q. Wan 等^[35]的 AFLP 结果中乡城杨的位置不同 (乡城杨与长序杨、川杨和冬瓜杨聚类)。K. Chen 等^[46]、X. Q. Wan 等^[35]和王明福^[36]均认为小叶杨、三脉青杨和滇杨

具有较近的亲缘关系, 且在其母性祖先的起源上有着一定的同源性。宋红竹等^[34]、李善文等^[33]和 M. T. Cervera 等^[47]研究结果表明, 小叶杨和滇杨具有亲缘关系较近, 但滇杨的分化时间早于小叶杨, 属于青杨派中较为古老的树种。本研究结果中, 滇杨、小叶杨和三脉青杨虽然亲缘关系相对较近, 但各自聚分为一个分支。史全良等^[48]对杨树 ITS 序列的研究表明, 大叶杨与黑杨派、青杨派和胡杨派构成单系群。X. Q. Wan 等^[35]的研究结果表明大叶杨虽然属于大叶杨派, 但却与青杨派树种具有较高的同源性。本研究结果表明大叶杨与青杨派树种关系密切, 与 X. Q. Wan 等^[35]的结果相一致, 但与宋红竹等^[34]的结果不同 (大叶杨与青杨派树种关系较远)。由此可见, 各种分子标记方法均存在局限性, 很难将亲缘关系较近的种/变种鉴别清楚, 致使西南地区乡土杨树的遗传关系及分类地位尚存在争议, 有待于进一步深入研究。此外, 本研究结果中, 川杨和德钦杨关系较近, 藏川杨和昌都杨关系较近, 这很可能与这些树种具有较大面积的分布重叠区有关。

西南地区是中国杨树分布富集区之一, 具有十分丰富的杨树基因资源, 但长期以来, 由于历史、地理、社会等多种因素, 这些乡土杨树资源的价值一直未受到相应的认知和重视, 导致其基因资源在杨树遗传改良上应用较少, 还处于起步阶段^[44]。虽然赵能等^[8-9]基于传统形态学分类对西南地区的乡土杨树进行了大量的系统分类研究, 但从分子系统学角度的研究相对较少。因此, 多层次深入开展西南地区乡土杨树资源的研究, 保护、开发和利用该区域杨树的优良基因资源, 对促进我国杨树遗传改良进程具有重要意义。

参考文献

- [1] 李善文, 张志毅, 何承忠, 等. 中国杨树杂交育种研究进展 [J]. 世界林业研究, 2004, 17(2): 37-41
- [2] Bradshaw H D, Villar M, Watson B D, et al. Molecular genetics of growth and development in *Populus*. III. A genetic linkage map of a hybrid poplar composed of RFLP, STS, and RAPD markers [J]. Theor Appl Genet, 1994, 89(2-3): 167-178
- [3] Bradshaw H D, Stettler R F. Molecular genetics of growth and development in *Populus*. I. Triploidy in hybrid poplars [J]. Theor Appl Genet, 1993, 86(2-3): 301-307
- [4] Gail T. *Populus: Arabidopsis* for forestry. Do We Need a Model Tree? [J]. Ann Bot, 2002, 90(6): 681-689
- [5] Hamzeh M, Dayanandan S. Phylogeny of *Populus* (Salicaceae) based on nucleotide sequences of chloroplast TRNT-TRNF region and nuclear rDNA [J]. Am J Bot, 2004, 91(9): 1398-1408
- [6] 余树全, 刘军, 付达荣, 等. 川西高原青杨派基因资源特点 [J]. 浙江林学院学报, 2003, 20(1): 27-31
- [7] 刘友全, 付达荣. 川西高原青杨组基因资源及开发利用 [J]. 中南林学院学报, 2004, 24(5): 129-131

- [8] 赵能,刘军. 中国西南地区杨属的分类学研究[J]. 武汉植物学研究,1991,9(3):229-238
- [9] 赵能. 四川及其邻近地区杨柳科植物分类的研究(三)[J]. 四川林业科技,1994,15(2):1-11
- [10] 赵能,龚国堂. 中国青藏高原杨树的研究[J]. 四川林业科技,1991,12(2):6-14
- [11] 龚国堂. 杨属地理分布与起源初探[J]. 四川林业科技,2004,25(2):25-30
- [12] 葛颂,洪德元. 生物多样性研究的原理与方法[M]. 北京:中国科学技术出版社,1994
- [13] 高翔,庞红喜,裴阿卫. 分子标记技术在植物遗传多样性研究中的应用[J]. 河南农业大学学报,2002,36(4):356-359
- [14] Li G, Quiros C F. Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in Brassica[J]. Theor Appl Genet,2001,103(2-3):455-461
- [15] 马红勃,赖鋈英,许旭明,等. 基于 SRAP 标记的大花蕙兰种质资源遗传多样性分析[J]. 植物遗传资源学报,2011,12(4):551-556
- [16] Aneja B, Yadav N R, Chawla V, et al. Sequence-related amplified polymorphism (SRAP) molecular marker system and its applications in crop improvement [J]. Mol Breed, 2012, 30 (4): 1635-1648
- [17] Chen L, Chen F, He S, et al. High genetic diversity and small genetic variation among populations of *Magnolia wufengensis* (Magnoliaceae), revealed by ISSR and SRAP markers[J]. Electronic J Biotechnol, 2014, 17(6):268-274
- [18] Ahmad R, Farhatullah, Quiros C F, et al. Genetic diversity analyses of *Brassica napus* accessions using SRAP molecular markers [J]. Plant Genet Res, 2013, 12(01):14-21
- [19] Venkat S K, Bommisetty P, Patil M S, et al. The genetic linkage maps of *Anthurium* species based on RAPD, ISSR and SRAP markers[J]. Sci Hortic, 2014, 178:132-137
- [20] Ren Y, McGregor C, Zhang Y, et al. An integrated genetic map based on four mapping populations and quantitative trait loci associated with economically important traits in watermelon (*Citrullus lanatus*) [J]. BMC Plant Biol, 2014, 14(1):33
- [21] Moustafa K A, Saleh M, Al-Doss A, et al. Identification of TRAP and SRAP markers linked with yield components under drought stress in wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. Plant Omics, 2014, 7(4):253-259
- [22] McCord P, Gordon V, Saha G, et al. Detection of QTL for forage yield, lodging resistance and spring vigor traits in alfalfa (*Medicago sativa* L.) [J]. Euphytica, 2014, 200(2):269-279
- [23] Liu C, Yuan D, Zhang X, et al. Isolation, characterization and mapping of genes differentially expressed during fibre development between *Gossypium hirsutum* and *G. barbadense* by cDNA-SRAP[J]. J Genet, 2013, 92(2):175-181
- [24] Murray M, Thompson W F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA [J]. Nucleic Acids Res, 1980, 8 (19):4321-4326
- [25] Tixier M, Sourdille P, Röder M, et al. Detection of wheat microsatellites using a non radioactive silver-nitrate staining method[J]. J Genet Breed, 1997, 51:175-178
- [26] Yeh F, Yang R, Boyle T, et al. PopGene32, Microsoft Windows-based freeware for population genetic analysis, version 1.32 [D]. Edmonton: University of Alberta, 2000
- [27] 张富民, 葛颂. 群体遗传学研究中的数据处理方法 I. RAPD 数据的 AMOVA 分析[J]. 生物多样性, 2002, 10(4):438-444
- [28] Peakall R, Smouse P E. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research [J]. Mol Ecol Notes, 2006, 6(1):288-295
- [29] Rohlf F J. NTSYS-pc Numerical taxonomy and multivariate analysis system version 2.1 [M]. Setauket: Exetersoftware, 2000
- [30] 于兆英, 张明理, 徐炳声, 等. 杨属的分支分析[J]. 植物研究, 1990, 10(1):69-76
- [31] 徐伟英. 杨树[M]. 哈尔滨: 黑龙江人民出版社, 1988
- [32] 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
- [33] 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
- [34] 宋红竹, 张绮纹, 周春江. 杨树部分种的分 AFLP 遗传多样性分析[J]. 林业科学, 2007, 43(12):64-69
- [35] Wan X Q, Zhang F, Zhong Y, et al. Study of genetic relationships and phylogeny of the native *Populus* in Southwest China based on nucleotide sequences of chloroplast trnT - trnF and nuclear DNA [J]. Plant Syst Evol, 2012, 299(1):57-65
- [36] 王明福. 基于 ISSR 与 ITS 序列分析四川乡土杨属植物的亲缘关系[D]. 成都: 四川农业大学, 2012
- [37] 陈良华, 胡庭兴, 张帆. 四川干旱干热河谷核桃资源遗传多样性分析[J]. 果树学报, 2009, 26(1):48-54
- [38] Hamrick J L, Godt M J W, Sherman-Broyles S L. Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species [J]. New Forests, 1992, 6:95-124
- [39] 薄文浩. 藏川杨遗传多样性及杂交子代遗传变异研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2012
- [40] 冯夏莲. 滇杨遗传多样性与杨属派间遗传分化研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2006
- [41] 王战, 方振富. 中国植物志(第20卷, 第2分册)[M]. 北京: 科学出版社, 1984:51
- [42] Hamrick J L, Godt M J W. Allozyme diversity in plant species [M]//Brown A H D, Clegg M T, Kahler A L, et al. Plant Population Genetics, Breeding and Genetic Resources. Sunderland: Sinauer, 1990:43-63
- [43] 李昂, 葛颂. 植物保护遗传学研究进展[J]. 生物多样性, 2002, 10(1):61-71
- [44] 万雪琴, 张帆, 钟宇, 等. 中国西南地区乡土杨树基因资源的保护与利用[J]. 林业科学, 2009, 45(4):139-144
- [45] 陈珂. 川西青杨组 (Section *Tacamahaca* Spach) 不同种的亲缘关系分析[D]. 北京: 中国科学院, 2007
- [46] Chen K, Jia X, Ren P, et al. Genetic relationships of poplar species in section *Tacamahaca* based on cpDNA and ISSR [J]. Sci Res Essays, 2011, 6(19):4048-4054
- [47] Cervera M T, Storme V, Soto A, et al. Intraspecific and interspecific genetic and phylogenetic relationships in the genus *Populus* based on AFLP markers [J]. Theor Appl Genet, 2005, 111(7):1440-1456
- [48] 史全良, 诸葛强, 黄敏仁, 等. 用 ITS 序列研究杨属各组之间的系统发育关系[J]. 植物学报, 2001, 43(3):323-325