

网络出版时间:2016-03-14 08:45

DOI:10.13207/j.cnki.jnwfufu.2016.04.011

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20160314.0845.022.html>

4个白杨新品种和父母本及近缘种的 SRAP遗传分析与指纹图谱构建

樊 蓉,樊军锋,李周岐

(西北农林科技大学 林学院,陕西 杨凌 712100)

【摘要】【目的】对外观相近、较难区分的4个白杨新品种及其父母本和3个近缘种进行遗传分析并构建指纹图谱,为这些品种在生产应用中的分子鉴定提供技术依据。【方法】采用SRAP分子标记技术,对03-4-9、03-4-22、03-5-17和03-6-11 4个白杨新品种及I-101杨、截叶毛白杨、84K、毛白杨30号、银毛杨共9个白杨品种开展遗传分析及指纹图谱构建。【结果】14对多态性高的SRAP引物对9个白杨品种共扩增出167条条带,平均每对引物扩增条带为11.93条。其中多态性条带143条,多态性比率为85.63%,多态性高。聚类分析表明,9个白杨品种之间的遗传相似系数为0.40~0.76,其中4个白杨新品种与父本截叶毛白杨和毛白杨30号亲缘关系较近,遗传相似系数平均值分别为0.65和0.63,与母本I-101亲缘关系稍远,遗传相似系数平均值为0.49。利用重复性好的3对引物(me5/em10、me7/em2和me7/em3)扩增图谱构建了9个白杨品种的指纹图谱,每对引物均可将9个白杨品种单独区分开。【结论】9个白杨品种在SRAP位点有较高的多态性,SRAP分子标记能很好地用于杨树品种的鉴定及指纹图谱构建。

【关键词】 杨树;杂种;SRAP;分子标记;指纹图谱

【中图分类号】 S792.11

【文献标志码】 A

【文章编号】 1671-9387(2016)04-0081-06

SRAP markers based identification and fingerprinting of 4 new hybrids, male and female parents and 3 related varieties of *Populus* L. Sect. *Leuce* Duby

FAN Rong, FAN Jun-feng, LI Zhou-qi

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

Abstract: 【Objective】 Genetic relationship and DNA-fingerprinting of 9 *Populus* L. in Sect. *Leuce* Duby varieties (4 new hybrids, male and female parents, and 3 related varieties) that were difficult to be distinguished by appearance were investigated using molecular markers technique to improve molecular identification during production. 【Method】 SRAP molecular markers were used to conduct genetic analysis and build fingerprints for 03-4-9, 03-4-22, 03-5-17, 03-6-11, *P. alba* (Italy), *P. tomentosa* var. *truncata*, *P. alba* × *P. glandoulsa*, *P. tomentosa* No. 30, and *P. alba* (China) × *P. tomentosa*. 【Result】 A total of 167 bands were amplified with 14 pairs of primers, with the mean of 11.93 per primer. There were 143 polymorphic bands with a ratio of 85.63%. Cluster analysis showed that the genetic similarity coefficients among the 9 varieties were 0.40—0.76, and 4 new hybrids had close genetic relationship with *P. tomentosa* var. *truncata* (male parent) and *P. tomentosa* No. 30 with the mean coefficients of 0.65 and 0.63, respectively. The genetic relationship between 4 new hybrids and *P. alba* (Italy, female parent) was less close with the mean

〔收稿日期〕 2014-07-10

〔基金项目〕 国家“十二五”科技支撑计划项目(2012BAD01B0302)

〔作者简介〕 樊 蓉(1988—),女,陕西杨凌人,硕士,主要从事林木遗传育种、林业生物技术研究。E-mail:64112914@qq.com

〔通信作者〕 樊军锋(1962—),男,陕西扶风人,博士,教授,主要从事林木遗传育种研究。E-mail:fanjf28@163.com

coefficient of 0.49. The fingerprints of 9 varieties were established by amplification map of 3 repeatable primers (me5/em10, me7/em2, and me7/em3), and the 9 varieties could be identified separately. 【Conclusion】 The 9 poplar varieties had high polymorphism in SRAP sites, and SRAP molecular markers technique could be used for identification and fingerprint establishment of *Poplar* varieties.

Key words: *Populus* L.; hybrids; SRAP; molecular markers; fingerprinting

杨树(*Populus*)生长快、抗逆性(抗旱、抗寒、抗病虫等)强,适应范围广,是我国用材林、防护林及园林绿化的主要造林树种,经济、生态、园林价值大^[1-3]。

杨树品种多起源于杂交育种,由于长期杂交,各品种之间遗传关系复杂,不少品种之间亲缘关系较近,形态特征差异很小,仅通过外观形态特征很难区分,严重影响其品种鉴定、知识产权保护及良种推广,因此利用分子标记技术准确鉴定杨树品种具有重要意义^[4-6]。

序列扩增多态性(Sequence related amplified polymorphism, SRAP)是一种基于 PCR 的新型分子标记,是由美国加州大学蔬菜学作物系的 Li 和 Quiros^[7]于 2001 年提出的一种使用双引物的分子标记技术,与其他分子标记技术相比,其突破点在于设计特殊引物对基因的阅读框区域(ORFs)进行扩增,多态性由各物种间差异大的内含子、启动子和间隔序列产生^[8-10],提高了扩增结果和表型相关性,且并不需要预知被测物种的序列信息,大大降低了引物开

发成本。SRAP 现已在农业作物遗传多样性分析、基因定位、比较基因组学以及杂种优势预测等方面有不少应用^[11-13],但在林木中应用较少^[6,14]。

03-4-9、03-4-22、03-5-17、03-6-11 系西北农林科技大学新选育出来的 4 个白杨新品种,其母本 I-101 杨,是从意大利引进的银白杨,父本截叶毛白杨,为毛白杨变种^[1]。这 6 个品种与 84K、毛白杨 30 号和银毛杨 3 个近缘品种的外观形态特征,特别是苗期形态特征非常接近,较难区别,在生产中易造成混乱。本试验利用 SRAP 分子标记对 4 个杨树新品种、其父母本及 3 个近缘种开展遗传分析,构建品种指纹图谱,以期为杨树新品种的分子鉴定、生产推广提供技术依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

2014 年 5 月在西北农林科技大学渭河试验站采集 9 个供试白杨品种(表 1)苗木的幼嫩叶片,锡纸包裹,分别编号后,置于液氮罐中带回。

表 1 供试白杨品种及其遗传背景

Table 1 Experimental poplar varieties and their genetic background

品种(无性系) Variety	遗传背景 Genetic background	品种(无性系) Variety	遗传背景 Genetic background
03-4-9	I-101 × 截叶毛白杨 <i>Populus alba</i> × <i>P. tomentosa</i> var. <i>truncata</i>	截叶毛白杨 <i>P. tomentosa</i> var. <i>truncata</i>	毛白杨变种 Varietas of <i>P. tomentosa</i>
03-4-22	I-101 × 截叶毛白杨 <i>P. alba</i> × <i>P. tomentosa</i> var. <i>truncata</i>	毛白杨 30 号 <i>P. tomentosa</i> No. 30	毛白杨无性系 Clone of <i>P. tomentosa</i>
03-5-17	I-101 × 截叶毛白杨 <i>P. alba</i> × <i>P. tomentosa</i> var. <i>truncata</i>	84K	银白杨 × 腺毛杨 <i>P. alba</i> × <i>P. glandoulsa</i>
03-6-11	I-101 × 截叶毛白杨 <i>P. alba</i> × <i>P. tomentosa</i> var. <i>truncata</i>	银毛杨 <i>P. alba</i> (China) × <i>P. tomentosa</i>	银白杨(中国) × 毛白杨 <i>P. alba</i> (China) × <i>P. tomentosa</i>
I-101	银白杨(意大利) <i>P. alba</i> (Italy)		

1.2 DNA 提取

用 TIANGEN 植物基因组提取试剂盒提取杨树叶片基因组 DNA, 8 g/L 琼脂糖凝胶电泳后,在紫外灯下观测电泳条带(制胶时加入 1~2 μL EB 衍生物 Golden view,以便在紫外灯下快速准确地观察条带)。最后,比照亮度和 DNA 质量浓度对照表,将 DNA 质量浓度调至 30 ng/μL, -20 °C 保存备用^[15]。

1.3 SRAP 反应

1.3.1 引物的筛选与合成 引物序列选用 Li 等^[7]于 2001 年发表的引物序列,其中 9 条正向引物和

10 条反向引物的序列信息见表 2。引物由上海生工生物工程股份有限公司合成。

1.3.2 PCR 扩增体系及程序 参照陈罡等^[9]优化后的杨树 SRAP 反应体系,PCR 的扩增反应体系为:总体积 20 μL,其中 2 × *Tap* MasterMix(康为世纪)10 μL, 10 μmol/L 正向、反向引物各 1 μL,模板 1 μL(50 ng), RNase-Free Water 7 μL。

PCR 扩增采用复性变温法,程序如下(两步反应):(1)94 °C 预变性 5 min; 94 °C 变性 1 min, 37 °C 复性 30 s, 72 °C 延伸 1 min, 5 个循环;(2)94 °C 变性

1 min,54 ℃ 复性 1 min,72 ℃ 延伸 1 min,35 个循环;最后 72 ℃ 延伸 7 min,4 ℃ 保存。

丙烯酰胺凝胶电泳检测条带(1×TBE),上样 5 μL,稳压 260 V。电泳 130 min 后,用谭碧玥等^[10]的改良银染法染色,并拍照分析。

1.3.3 PCR 扩增产物的检测 用 8%的非变性聚

表 2 鉴别白杨及其近缘种的 SRAP 引物

Table 2 SRAP primers for *Populus* L. in Sect. *Leuce* Duby

引物名称 Name of primer	正向引物(5'→3')序列 Forward primer(5'→3')	引物名称 Name of primer	反向引物(5'→3')序列 Reverse primer(5'→3')
em2	TGAGTTCCAAACCGGAAT	me1	GACTGCGTACGAATTTGC
em3	TGAGTTCCAA ACCGGACC	me2	GACTGCGTACGAATTGAC
em4	TGAGTTCCAA ACCGGAATG	me3	GACTGCGTACGAATTTGA
em5	TGAGTTCCAA ACCGGTAG	me4	GACTGCGTACGAATTAAC
em6	TGAGTTCCAAACCGGTTG	me5	GACTGCGTACGAATTGCA
em7	TGAGTTCCAAACCGGTCC	me6	GACTGCGTACGAATTCGA
em8	TGAGTTCCAAACCGGTCA	me7	GACTGCGTACGAATTCAG
em9	TGAGTTCCAAACCGGTGC	me8	GACTGCGTACGAATTCCA
em10	TGAGTTCCAAACCGGTGT	me9	GACTGCGTACGAATTATG
		me10	GACTGCGTACGAATTGTC

1.4 数据处理与分析

采用分子标记条带统计分析常用的 NTSYSpc version2.10 聚类分析软件处理数据。首先人工统计胶上条带的有无和迁移距离,建立(0,1)数据阵(将胶上同一迁移位置处有带记为 1,无带记为 0)。然后将数据阵建立 Excel 数据表格,导入该软件,利用公式 $GS=m/(m+n)$ 和 $GD=1-GS$ (m 为基因型间共有带数目, n 为差异带数目)计算遗传相似系数(GS)和遗传距离(GD),最后采用 UPG-MA 数据聚类算法进行品种聚类分析,构建树状聚

类图。

2 结果与分析

2.1 SRAP 引物对 9 个白杨品种的扩增结果及多态性分析

9 个正向引物和 10 个反向引物共可组成 90 对引物组合,经预试验,最终从 90 对引物中筛选出 14 对多态性高的引物对 9 个试供白杨品种进行正式扩增,扩增结果见表 3。

表 3 14 对 SRAP 引物对 9 个白杨品种的扩增结果

Table 3 Amplification of the 14 SRAP primer pairs to 9 poplar varieties

引物组合 Primer pair	扩增总条带数 Total number of bands	多态性条带数 Number of polymorphic bands	特异性条带数 Number of special bands	多态性比率/% Rate of polymorphic bands	特异性比率/% Rate of special bands
me2/em9	3	3	0	100.0	0.0
me3/em3	11	9	2	81.8	18.2
me3/em10	18	14	4	77.8	22.2
me4/em5	14	11	3	78.6	21.4
me5/em3	11	9	2	81.8	18.2
me5/em4	14	13	1	92.8	7.2
me5/em7	26	21	5	80.8	19.2
me5/em10	10	9	1	90.0	10.0
me7/em2	14	13	1	92.8	7.2
me7/em3	13	12	1	92.3	7.7
me7/em6	12	10	2	83.3	16.7
me7/em8	12	10	2	83.3	16.7
me8/em4	2	2	0	100.0	0.0
me8/em9	7	7	0	100.0	0.0
总计 Total	167	143	24	85.63	14.37

从表 3 可知,14 对引物共扩增出 167 条条带(只计清晰条带),平均每对引物 11.93 条,多态性条带 143 条,多态性比率为 85.63%,多态性高;14 对引物中,me5/em7 扩增的条带数最多,为 26 条,

me8/em4 扩增的条带数最少,仅有 2 条。me5/em10、me7/em2 和 me7/em3 3 对引物扩增结果见图 1。

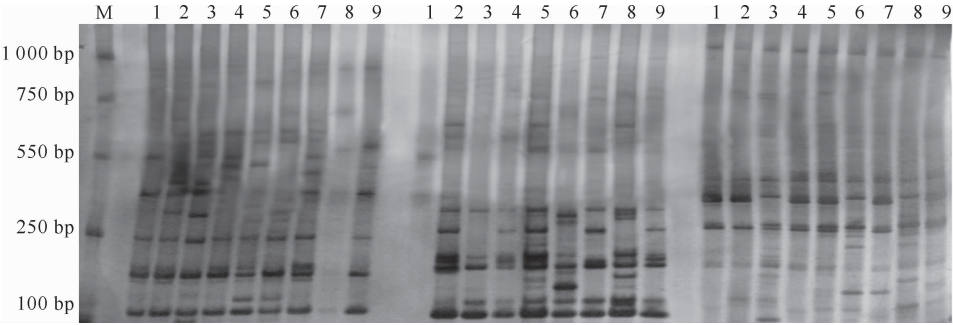


图 1 me5/em10、me7/em2 和 me7/em3 3 对引物对 9 个白杨品种的扩增图谱
M. DNA Marker(DL2000);1. 03-5-17;2. I-101;3. 毛白杨 30 号;4. 84K;5. 03-4-22;6. 03-4-9;
7. 银毛杨;8. 03-6-11;9. 截叶毛白杨。从左到右 3 组所用引物分别为 me5/em10、me7/em2 和 me7/em3
Fig. 1 Fingerprinting of 9 poplar varieties based on me5/em10,me7/em2 and me7/em3 primers
M. DNA Marker(DL2000);1. 03-5-17;2. I-101;3. *P. tomentosa* No. 30;4. 84K;
5. 03-4-22;6. 03-4-9;7. *P. alba*(China)×*P. tomentosa*;8. 03-6-11;9. *P. tomentosa* var. *truncata*.
The primer pairs used from left to right in the figure are me5/em10,me7/em2,and me7/em3, respectively

2.2 9 个白杨品种间的遗传相似系数及聚类分析

统计各引物在 9 个白杨品种上的 SRAP 扩增条带,建立(0,1)矩阵,利用 NTSYSpc version2. 10 聚类分析软件计算各品种间的遗传相似系数,结果见表 4。从表 4 可知,9 个白杨品种间的遗传相似系数

变化于 0. 40~0. 76。03-6-11 与 03-5-17,03-4-9 与 03-5-17 来自相同的杂交组合,遗传背景相同,遗传相似系数最大,均为 0. 76;03-6-11 和 84K 遗传相似程度相对最小,遗传相似系数为 0. 40。其余各品种遗传相似系数介于以上两类之间。

表 4 9 个白杨品种间的遗传相似系数

品种 Variety	03-5-17	I-101	毛白杨 30 号 <i>P. tomentosa</i> No. 30	84K	03-4-22	03-4-9	银毛杨 <i>P. alba</i> (China)× <i>P. tomentosa</i>	03-6-11	截叶毛白杨 <i>P. tomentosa</i> var. <i>truncata</i>
03-5-17	1. 00								
I-101	0. 50	1. 00							
毛白杨 30 号 <i>P. tomentosa</i> No. 30	0. 73	0. 46	1. 00						
84K	0. 46	0. 64	0. 42	1. 00					
03-4-22	0. 69	0. 58	0. 58	0. 56	1. 00				
03-4-9	0. 76	0. 50	0. 64	0. 47	0. 67	1. 00			
银毛杨 <i>P. alba</i> (China)× <i>P. tomentosa</i>	0. 46	0. 55	0. 50	0. 63	0. 56	0. 56	1. 00		
03-6-11	0. 76	0. 44	0. 60	0. 40	0. 67	0. 71	0. 44	1. 00	
截叶毛白杨 <i>P. tomentosa</i> var. <i>truncata</i>	0. 68	0. 43	0. 65	0. 43	0. 59	0. 75	0. 50	0. 73	1. 00

用 9 个白杨品种间的遗传相似系数,绘制出 9 个品种的树状聚类图,结果见图 2。

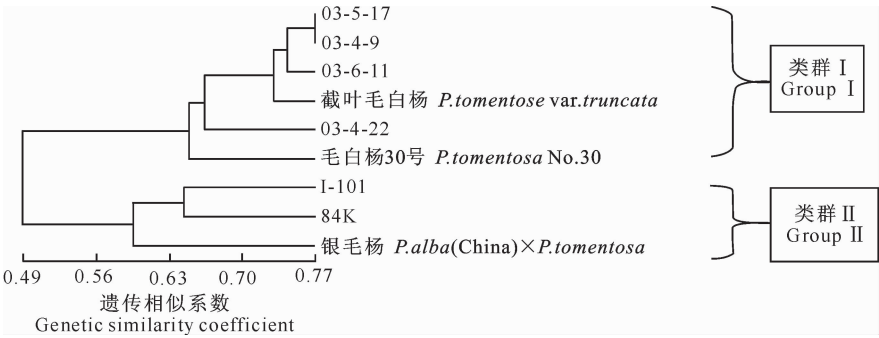


图 2 9 个白杨品种的聚类分析结果

Fig. 2 Dendrogram of 9 *Populus* L. Sect. *Leuce* Duby varieties

由图 2 可知,9 个白杨品种在遗传相似系数 0. 49 水平以下分为 2 个类群。在类群 I 中,03-5-

17、03-4-9、03-6-11、截叶毛白杨、03-4-22 在遗传相似系数为 0.65 水平上先聚在一起,再在遗传相似系数为 0.63 时与毛白杨 30 号聚为一类,说明 4 个白杨杂交新品种之间及其与父本截叶毛白杨和毛白杨 30 号之间的遗传相似程度最高。在类群Ⅱ中,4 个白杨新品种的母本 I-101 与 84K 先在遗传相似系数为 0.64 时聚为一类,然后在遗传相似系数为 0.58 时与银毛杨聚为一类,说明此 3 个品种间有较高的遗传相似度,且与银毛杨相比,I-101 与 84K 遗传相

似程度较高。所有 9 个白杨品种最终在遗传相似系数大约为 0.49 水平上聚为一类,说明这 9 个品种之间总体上仍有较高的遗传相似性。

2.3 9 个白杨品种的分子指纹图谱

参照 14 对 SRAP 引物的扩增结果,最终选取 me5/em10、me7/em2 和 me7/em3 3 对扩增条带清晰、重复性好的引物扩增结果,构建 9 个白杨品种的指纹图谱(表 5),发现每个引物均可将 9 个品种单独区分开。

表 5 基于 me5/em10、me7/em2 和 me7/em3 引物对扩增结果构建的 9 个白杨品种的指纹图谱

Table 5 Fingerprint of 9 <i>Populus</i> L. Sect. <i>Leuce</i> Duby varieties based on me5/em10,me7/em2,and me7/em3 primers										
引物组合 Primer combination	条带大小/bp Bands size	9 个白杨品种 9 varieties of <i>Populus</i> L. Sect. <i>Leuce</i> Duby								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
me5/em10	750	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	700	0	1	0	0	1	0	1	0	0
	600	0	1	1	1	1	1	1	0	1
	550	1	1	1	1	0	0	1	0	0
	400	1	1	1	0	0	0	1	1	1
	300	0	1	1	0	0	1	0	0	0
	120	0	0	0	0	1	1	0	0	0
me7/em2	750	0	0	0	0	1	0	0	1	0
	740	0	0	0	0	0	0	1	0	1
	600	0	1	0	0	1	0	0	1	0
	500	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	300	0	0	0	0	1	1	0	1	0
	280	0	0	0	0	1	1	1	1	0
	250	0	1	0	1	1	0	1	0	1
me7/em3	400	0	0	0	1	1	0	0	0	0
	300	1	1	0	1	1	0	1	0	1
	290	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	240	0	0	1	1	1	0	1	0	0
	200	0	0	1	0	0	1	0	1	0
	140	0	0	0	0	0	0	1	0	1
	100	0	1	1	0	1	0	0	0	0

注:1. 03-5-17;2. I-101;3. 毛白杨 30 号;4. 84K;5. 03-4-22;6. 03-4-9;7. 银毛杨;8. 03-6-11;9. 截叶毛白杨。
Note:1. 03-5-17;2. I-101;3. *P. tomentosa* No. 30;4. 84K;5. 03-4-22;6. 03-4-9;7. *P. alba* (China)×*P. tomentosa*;8. 03-6-11;9. *P. tomentosa* var. *truncata*.

3 结论与讨论

用从 90 对 SRAP 引物组合中选出的 14 对多态性引物,对 9 个白杨品种的 DNA 进行 PCR 扩增,共扩增出 167 条清晰条带,平均每对引物扩增条带为 11.93 条,其中多态性条带 143 条,多态性比率为 85.63%,多态性高。

各杨树品种之间的遗传相似系数为 0.40~0.76,即品种间遗传相似程度变幅较大,各品种之间亲缘关系远近有一定差异,但 4 个新品种之间遗传相似系数较大(0.67~0.76),亲缘关系较近。

选取扩增效果较好、条带清晰、重复性较高的 3 对引物的扩增图谱,构建了 4 个白杨新品种、父母本

及 3 个近缘种的分子指纹图谱,为新品种的分子鉴定、知识产权保护、生产推广提供了技术依据。

聚类分析中,4 个白杨新品种在遗传相似系数较高水平上与父本截叶毛白杨^[2]较早聚为一类(类群Ⅰ),而后与母本 I-101 在遗传相似系数较低水平上聚为同类,可能是由于这 4 个新品种在人工选育时更多地选择了父本的优良性状而较少选择母本性状造成。经大田观察,这 4 个新品种在叶、芽、物候等多个性状上与父本截叶毛白杨非常接近,这一事实也很好地解释了上述推测。

母本 I-101(银白杨)与 84K(银白杨×腺毛杨)首先聚为一类,随后与银毛杨(银白杨(中国)×毛白杨)聚为同类(类群Ⅱ),主要是由于这 3 个品种均含

有银白杨遗传成分。

银毛杨为银白杨(中国)×毛白杨杂交组合中
选育出的一个白杨杂种^[1],与 4 个白杨新品种(均来源
于银白杨(意大利)×毛白杨杂交组合,但杂交所用
银白杨产地为意大利,毛白杨为截叶毛白杨)遗传背
景最为接近,理论而言应与 4 个新品种最先聚在一
起。但本试验中银毛杨在较低相似系数(0.49)水平
上才与 4 个新品种聚成同类,与理论推测有一定差
距。其原因可能是由于母本意大利银白杨与中国银
白杨、父本毛白杨与截叶毛白杨(毛白杨系杂种起
源,种内不同类型及单株之间遗传变异很大)之间基
因差异较大造成的。

SRAP 是一种相对理想的构建指纹图谱的新型
分子标记,在农作物中已有较多应用^[11-13]。本试验
首次采用 SRAP 分子标记技术对 4 个白杨新品种与
其父母本及 3 个近缘种进行了 SRAP 遗传分析与指
纹图谱构建,结果证明 SRAP 同样适用于杨树的遗
传分析与指纹图谱构建,扩增条带清晰、多态性高,
效果好。

[参考文献]

[1] 牛春山. 陕西杨树 [M]. 西安:陕西科学技术出版社,1980.
Niu C S. Shaanxi, *Populus* [M]. Xi'an: Shaanxi Science & Technology Press,1980. (in Chinese)

[2] 徐伟英. 杨树 [M]. 哈尔滨:黑龙江人民出版社,1988.
Xu W Y. *Populus* [M]. Harbin: Heilongjiang People's Publishing House,1988. (in Chinese)

[3] 樊军锋,周永学,高建社,等. 陕西杨树育种历史及展望 [J]. 西北林学院学报,2004,19(2):77-81.
Fan J F,Zhou Y X,Gao J S,et al. Historical review of *Populus* breeding achievements of Shaanxi province and it's future breeding strategy [J]. Journal of Northwest Forestry University,2004,19(2):77-81. (in Chinese)

[4] 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)

[5] 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 analysis and identify of new *Populus* hybrid [J]. Journal of Northwest Forestry University,2013,28(2):70-73. (in Chinese)

[6] 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(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]. Journal of Northeast Agriculture University,2010(10):19-22. (in Chinese)

[7] 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,2001,103:455-461.

[8] 李巧燕,林瑞庆,朱兴全. SRAP 分子标记及其应用概述 [J]. 热带医学杂志,2006(4):468-469.
Li Q Y,Lin R Q,Zhu X Q. SRAP molecular marker and its application [J]. Journal of Tropical Medicine,2006(4):468-469. (in Chinese)

[9] 陈罡,关明东,叶景丰,等. 杨树 SRAP-PCR 反应体系的建立与优化 [J]. 北方园艺,2010(16):132-134.
Chen G,Guan M D,Ye J F,et al. Establishment and optimization of SRAP-PCR reaction system in *Populus* [J]. Northern Horticulture,2010(16):132-134. (in Chinese)

[10] 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(2):25-29.
Tan B Y,Wang Y X,Xu L A. Establishment and optimization of SRAP-PCR reaction system of *Populus* [J]. China Forestry Science and Technology,2009(2):25-29. (in Chinese)

[11] 邱文武,孙伟生,窦美安. 基于 PCR 的新型分子标记 SRAP 研究进展 [J]. 江西农业学报,2007,19(8):26-28.
Qiu W W,Sun W S,Dou M A. Studying progress in SRAP new molecular markers based on PCR reaction [J]. Acta Agriculturae Jiangxi,2007,19(8):26-28. (in Chinese)

[12] 张安世,邢智峰,刘永英,等. SRAP 分子标记及其应用 [J]. 安徽农业科学,2007,35(9):2562-2563.
Zhang A S,Xing Z F,Liu Y Y,et al. SRAP molecular marker and its application [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences,2007,35(9):2562-2563. (in Chinese)

[13] 关强,张月学,徐香玲,等. DNA 分子标记的研究进展及几种新型分子标记技术 [J]. 黑龙江农业科学,2008(1):102-104.
Guan Q,Zhang Y X,Xu X L,et al. Development of DNA molecular marker and several new types of molecular markers [J]. Heilongjiang Agricultural Sciences,2008(1):102-104. (in Chinese)

[14] 刘艳萍,郭志富,刘玉东,等. 应用 SRAP 标记分析新疆地区主要杨属树种的遗传多样性 [J]. 植物生理学通讯,2008(2):225-228.
Liu Y P,Guo Z F,Liu Y D,et al. Genetic diversities of *Populus* in Xinjiang based on SRAPs markers [J]. Plant Physiology Communications,2008(2):225-228. (in Chinese)

[15] 马明,杨克强,郭起荣. 改良 CTAB 法提取林木树种基因组 DNA 的研究 [J]. 生物技术,2007,17(3):36-38.
Ma M,Yang K Q,Guo Q R. Studies on genomic DNA extraction of forest species with improved CTAB method [J]. Biotechnology,2007,17(3):36-38. (in Chinese)