

网络出版时间:2017-03-07 11:16 DOI:10.13207/j.cnki.jnwafu.2017.04.012
网络出版地址:<http://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20170307.1116.024.html>

SSR 和 SCoT 标记在美洲黑杨×青杨派杂种无性系遗传差异性分析上的比较

藕丹,樊军锋,高建社,周永学

(西北农林科技大学 林学院,陕西 杨凌 712100)

[摘要] 【目的】比较 SSR 和 SCoT 分子标记在美洲黑杨×青杨派杂种无性系遗传差异性分析上的应用性。【方法】利用 SSR 和 SCoT 标记,对 9 个美洲黑杨×青杨派杂种无性系及 3 个亲本的遗传差异性进行分析。【结果】筛选出的 12 对 SSR 引物对供试杨树材料共扩增出 94 条清晰条带,其中多态性条带 85 条,多态性比率达到 90%,标记指数为 3.19;筛选出的 14 条 SCoT 引物对供试杨树材料共扩增出清晰条带 127 条,其中多态性条带 95 条,多态性比率达到 75%,标记指数为 2.72。聚类分析表明,SSR 和 SCoT 分子标记得出 12 个无性系的遗传相似系数分别为 0.44~0.80 和 0.40~0.87,平均遗传相似系数分别为 0.62 和 0.64;在相似系数平均值处,SSR 和 SCoT 分子标记将 12 个杨树材料分别分为 3 大类和 5 大类。Mantel 检测显示,2 种分子标记在 12 个无性系间的遗传相似性显著相关($r=0.5013, P=0.003$)。【结论】这 2 种分子标记均适合美洲黑杨×青杨派杂种无性系鉴定和遗传多样性研究,但 SSR 标记的多态性比率和标记效率均高于 SCoT 标记。

[关键词] 杨树;分子标记;SSR;SCoT;遗传差异性

[中图分类号] S792.119.04

[文献标志码] A

[文章编号] 1671-9387(2017)04-0079-07

Comparison of genetic diversity of *Populus deltoides* × *Section tacamahaca* hybrids based on SSR and SCoT markers

OU Dan, FAN Junfeng, GAO Jianshe, ZHOU Yongxue

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

Abstract: 【Objective】This study aimed to compare the applicability of genetic diversity of SSR and SCoT markers in *Populus deltoides* × *Section tacamahaca* hybrids. 【Method】SSR and SCoT markers were used to analyzed genetic difference of 9 *P. deltoides* × *S. tacamahaca* hybrids and 3 parents. 【Result】A total of 94 bands were produced by selected 12 SSR primer pairs, in which polymorphic bands were 85 (accounting for 90%) and the marker index was 3.19. The selected 14 SCoT primers produced 127 bands, in which polymorphic bands were 95 (accounting for 75%) and the marker index was 2.72. Cluster analysis showed that the genetic similarity coefficients of 12 clones by SSR and SCoT markers were 0.44—0.80 with average of 0.62 and 0.40—0.87 with average of 0.64, respectively. The 12 poplar materials were divided into three and five categories by SSR and SCoT markers based on the averages of genetic similarity coefficients. Mantel test revealed that the relation of genetic similarity matrix between the two markers was significant ($r=0.5013, P=0.003$) for the 12 clones. 【Conclusion】Both markers were suitable for

[收稿日期] 2016-07-08

[基金项目] 国家林业局林业公益性行业科研专项(201404113)

[作者简介] 藕丹(1991—),女,安徽桐城人,在读硕士,主要从事林业生物技术研究。E-mail: 18829784191@163.com

[通信作者] 樊军锋(1963—),男,陕西扶风人,教授,博士,主要从事杨树新品种选育及油松遗传改良研究。

E-mail: fanjf28@163.com

identification and genetic diversity of *P. deltoides* × *S. tacamahaca* hybrids, and SSR markers had higher polymorphic bands ratio and marker index than SCoT markers.

Key words: *Populus*; molecular markers; SSR; SCoT; genetic diversity

美洲黑杨(*Populus deltoides*)属黑杨派树种,具有生长快、抗病虫害等特点,青杨派树种(*P. cathayana*)是中国乡土杨树种,具有抗寒、抗旱、易生根等特点^[1]。杂交育种是杨树育种最常用的方法,大量研究表明,美洲黑杨与青杨派树种是一对优良的杂交组合^[2],可以培育出具有杂种优势的新品种。在美洲黑杨×青杨派育种过程中,由于杂种无性系亲缘关系较近,因此苗期形态差异很小,这给杨树新品种的鉴定和生产推广带来了困难,如何早期鉴别杂交后代以及确定它们与亲本之间的关系,是提高育种效率的关键^[3]。分子标记较传统的形态学、同工酶等方法具有无法比拟的优势,不仅能排除外部环境的影响因素,也能在子代幼苗期客观反映供试材料在DNA分子水平上的真实差异以及遗传关系,是加快育种进程的重要方法^[3-5]。近年来,分子标记已成为品种鉴定和遗传多样性分析的有力手段^[5]。

SSR 标记具有多态性高、稳定性好以及共显性等优点,已广泛应用于品种鉴定、物种分类、遗传多样性研究等方面^[6-7]。起始密码子多态性(start

condon targeted polymorphism, SCoT) 是 Collard 等^[8]在水稻上提出的基于单引物扩增目的基因的分子标记方法,具有操作简单、引物通用、成本低廉、多态性高、遗传信息丰富等诸多优点,该标记已经成功应用于多种作物与园艺植物上^[9-10],但目前尚未在杨树中见到相关报道。

本研究以 9 个美洲黑杨×青杨派杂种无性系和 3 个亲本为试验材料,分析 SSR 和 SCoT 分子标记在美洲黑杨×青杨派杂种无性系的分子鉴别和亲缘关系研究中的适用性,并对标记效率、多样性检测能力等进行比较,旨在为杨树新品种鉴定、生产推广、杨树资源的保存和遗传改良提供更加准确、高效的分子标记及科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料及其遗传背景见表 1,其中卜氏杨、69 杨、陕西青杨为亲本,其余为美洲黑杨×青杨派杂种子代无性系,所有材料均采自西北农林科技大学渭河试验站。

表 1 9 个美洲黑杨×青杨派杂种无性系及 3 个亲本材料的遗传背景

Table 1 Genetic background of 9 *Populus deltoides* × *Section tacamahaca* hybrids and 3 parents

编号 Code	无性系 Clone	遗传背景 Genetic background
1	卜氏杨 <i>P. purdomii</i>	卜氏杨 <i>P. purdomii</i>
2	08-69×青 2 08-69× <i>P. cathayanna</i> -2	美洲黑杨×青杨 <i>P. deltoides</i> × <i>P. cathayanna</i>
3	07-西大寨×卜 1 07-“Xidazhai”× <i>P. purdomii</i> -1	美洲黑杨×卜氏杨 <i>P. deltoides</i> × <i>P. purdomii</i>
4	08-69×青 4 08-69× <i>P. cathayanna</i> -4	美洲黑杨×青杨 <i>P. deltoides</i> × <i>P. cathayanna</i>
5	06-69×卜 1 06-69× <i>P. purdomii</i> -1	美洲黑杨×卜氏杨 <i>P. deltoides</i> × <i>P. purdomii</i>
6	06-57×川 1 06-57× <i>P. szechuanica</i> -1	美洲黑杨×川杨 <i>P. deltoides</i> × <i>P. szechuanica</i>
7	69 杨 <i>P. deltoides</i> cv. ‘Lux’	美洲黑杨 <i>P. deltoides</i>
8	陕西青杨 <i>P. cathayanna</i> cv. Shaanxi	青杨 <i>P. cathayanna</i>
9	08-69×青 3 08-69× <i>P. cathayanna</i> -3	美洲黑杨×青杨 <i>P. deltoides</i> × <i>P. cathayanna</i>
10	08-69×青 1 08-69× <i>P. cathayanna</i> -1	美洲黑杨×青杨 <i>P. deltoides</i> × <i>P. cathayanna</i>
11	07-69×青 1 07-69× <i>P. cathayanna</i> -1	美洲黑杨×青杨 <i>P. deltoides</i> × <i>P. cathayanna</i>
12	陕林 4 号 <i>P. deltoides</i> cl. ‘SL-4’	美洲黑杨×青杨 <i>P. deltoides</i> × <i>P. cathayanna</i>

注:表中 06、07、08 分别代表 2006 年、2007 年、2008 年,其中 2008 年与 69 杨杂交的青杨为秦岭东、中、西部青杨的混合花粉。

Note: 06, 07 and 08 in table mean the year of 2006, 2007 and 2008, respectively; the pollen of the *P. cathayanna* crossed with *P. deltoides* in 2008 are mixed pollen from the eastern, middle and western of Qinling Mountains.

1.2 DNA 提取

2016 年 11 月在渭河试验站采集 12 个杨树的枝条,做好标记,温室水培催芽,CTAB^[11]法提取幼嫩叶片的基因组 DNA。用 8 g/L 琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计分别检测其纯度和质量浓度后,

将其稀释至 30 ng/μL,保存于 -20 °C 冰箱中备用。

1.3 PCR 反应

1.3.1 引物筛选及合成 参照相关研究^[8,12],通过预试验筛选出扩增效果好的引物,其中 SSR 引物 12 对,SCoT 引物 14 条(表 2)。引物由生工生物工程

(上海)股份有限公司合成。

表 2 本试验用到的 SSR 和 SCoT 引物及其序列

Table 2 SSR and SCoT primers and their sequences used in this experiment

引物类别 Primer type	名称 Name	序列(5'→3') Primer	引物类别 Primer type	名称 Name	序列(5'→3') Primer
SSR	PMGC63	F: AACATCCTGCATTCAAAAAC R: TGCTAGAATACTCGAGTC CC	SCoT	SCoT1	CAACAATGGCTACCACCA
	PMGC422	F: AACCTCGAATTAAGAATAACCC R: GTCTCGGTTAACGGTATTGTC CG		SCoT3	CAACAATGGCTACCACCG
	PMGC2217	F: ATTAGCTTCTCTAAAGCAGC R: TGACTGACTGTCTGCTTC G		SCoT13	ACGACATGGCGACCATCG
	PMGC2385	F: ATTCTTCACCTGGGCAATATG R: CTTGGCTGTAAATGACGAGTC		SCoT14	ACGACATGGCGACCACGC
	PMGC2392	F: AAGAGAGATAGCATACCAAG R: TATGTCGAGGAAATCCTTAGC		SCoT15	ACGACATGGCGACCGCGA
	PMGC2408	F: TAGGTCACTAGAGTGGCGTG R: CGAAAATGGTAGCTCTAATGCC		SCoT16	ACCATGGCTACCACCGAC
	PMGC2500	F: AATGTCGACCACTCCACGC R: AGAGGG TTTTCAATAACATACC		SCoT18	ACCATGGCTACCACCGCC
	PMGC2675	F: CACACCGACAAATTATGAGTG R: TTTTAGAGTGAATTTCCTGCG		SCoT23	CACCATGGCTACCACCAAG
	PMGC2679	F: GGAATCCGTTTAGGGATCTG R: CGTCTGGAGAACGTGATTAG		SCoT24	CACCATGGCTACCACCAT
	PMGC2866	F: ATTGTTCAAATCCTCAGGTT R: TAGCATAGTAGCTAGCTAGTG		SCoT28	CCATGGCTACCACCGCCA
	PMGC3151	F: ACCATCATTAACCCCCACATA R: AAAGAAACCAGACCACACAC		SCoT31	CCATGGCTACCACCGCCT
	PMGC124	F: TTTGAGCACCTCAACTACCA R: TGTCTTCCCTTAGTCACCAC		SCoT32	CCATGGCTACCACCGCAC
				SCoT34	ACCATGGCTACCACCGCA
				SCoT35	CATGGCTACCACCGGCC

1.3.2 PCR 扩增体系及程序 SSR-PCR 扩增总体系为 20 μL, 内含 10 μmol/μL 正、反向引物各 1 μL, 2 Taq MasterMix(康为世纪)10 μL, 模板 DNA 1 μL, Rnase-Free Water 7 μL。扩增程序为: 95 °C 预变性 8 min; 94 °C 变性 30 s, 54 °C 复性 30 s, 72 °C 延伸 50 s, 30 个循环; 72 °C 延伸 7 min, 最终以 4 °C 保存。整个反应程序在刘春英等^[13]和樊蓉等^[14]建立的 SSR 体系基础上提高了退火温度。

SCoT-PCR 扩增体系在陈红等^[15]的基础上进行了优化。扩增体系 20 μL, 内含引物 1 μL, 2 Taq MasterMix 8 μL, DNA 1 μL, Rnase-Free Water 10 μL。扩增程序为: 94 °C 预变性 3 min; 95 °C 变性 1 min, 52.1 °C 复性 30 s, 72 °C 延伸 2 min, 35 个循环; 最后 72 °C 延伸 5 min, 最终以 4 °C 保存。

以上 2 种分子标记中的每对(条)引物均进行 3 次扩增, 以确保扩增条带的稳定性。

1.3.3 PCR 产物检测 SSR-PCR 扩增产物检测采用 8% 非变性聚丙烯酰胺凝胶, 1×TBE, 上样量为 3.5 μL, 稳压 250 V, 电泳 150 min。SCoT-PCR 扩增产物检测也采用 8% 非变性聚丙烯酰胺凝胶, 1×TBE, 上样量为 6.5 μL, 稳压 250 V, 电泳 120 min。

以上均采用改良的银染法染色^[16], 最后拍照观察分析。

1.4 数据分析

SSR-PCR 扩增产物是 100~300 bp 的条带^[17], SCoT-PCR 扩增产物是 200~1 500 bp 的条带^[18]。电泳图谱中, 根据扩增产物的条带大小, 选取清晰可辨的条带记为 1, 其余记为 0, 在 Excel 中统计 0 和 1 的数量, 建立“0,1”矩阵。根据相关公式计算以下指标: 多态性条带比率 (percentage of polymorphic bands, PPB)= a/b , 其中 a 为多态性条带数, b 为条带总数; 条带平均信息量 (average band informativeness, I_{av})= $1/n \sum [1 - 2 | 0.5 - P_i |]$, 其中 P_i 代表样品第 i 个扩增位点所占比例, n 代表扩增位点总数; 有效多元比率 (effective multiplex ratio, EMR) 表示每种分子标记系统的扩增谱带多态性比率, 其值以平均多态性条带数量表示; 分子标记指数 (marker index, MI)= $EMR \times I_{av}$ ^[19]。

利用 NTSYS-pc2.10 计算供试材料间的遗传相似系数, 按 SAHN 邻接法对供试材料进行 UPGMA(unweighted pair group method using arithmetic averages) 聚类分析。利用 IBD(isolation by dis-

tance) 中的 Mantel 对这 2 个分子标记得到的遗传相似系数矩阵进行相关性分析。

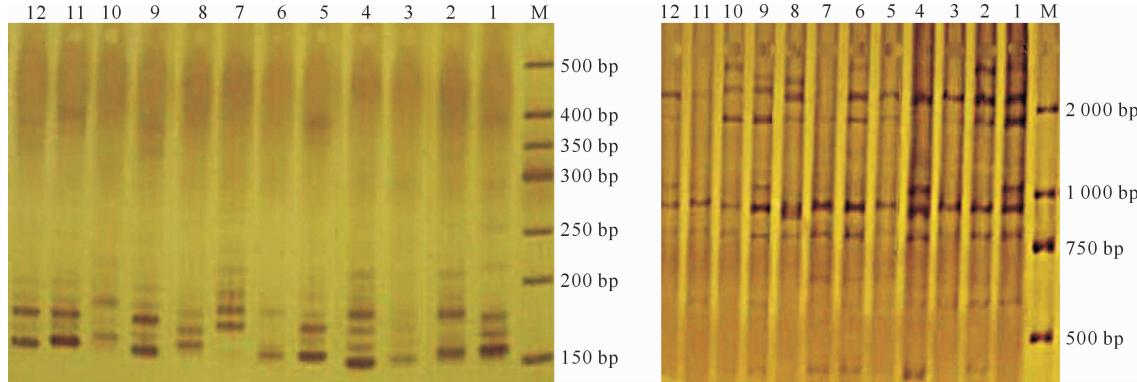
2 结果与分析

2.1 2 种分子标记的多态性比较

利用 2 种分子标记筛选出的引物对供试杨树材料进行 3 次重复扩增, 对比得到的条带, 发现同一种引物在每次扩增下得到的条带基本一致, 可认为扩增的条带具有稳定性。根据电泳跑出的条带可知, 不同引物扩增的条带长度不一样, 同一引物在不同

无性系中扩增的条带也不一样。根据这些多态性条带, SSR 和 SCoT 标记都可将供试杨树无性系区分开来(图 1)。

利用 SSR 和 SCoT 2 种分子标记对 12 个供试杨树材料进行扩增, 12 对 SSR 引物共扩增出 94 条清晰的条带, 平均每对引物扩增条带为 7.8 条, 其中多态性条带 85 条, 多态性比率为 90%, 多态性高; 14 对 SCoT 引物共扩增出 127 条清晰的条带, 平均每对引物扩增条带为 9.1 条, 其中多态性条带 95 条, 多态性比率为 75%, 多态性比 SSR 低。



1~12 无性系编号同表 1, 图 2、图 3 同; M. 500 bp Marker(左), 2 000 bp Marker(右)

The numbers of clones 1~12 are the same as Table 1, the same in Fig. 2 and Fig. 3; M. 500 bp marker(left), 2 000 bp marker(right)

图 1 12 个供试杨树材料基于 SSR 引物 PMGC2217(左)和 SCoT 引物 SCoT34(右)扩增产物的电泳结果

Fig. 1 Amplification bands of 12 *Populus* materials based on SSR primers

PMGC2217(left) and SCoT primer SCoT34(right)

2.2 2 种分子标记标记效率的比较

MI 是衡量引物对品种的辨别能力和引物效率的重要指标^[20]。由表 3 可知, SSR 引物的 I_{Bav} 、EMR 和 MI 分别为 0.45, 7.08, 3.19; 而 SCoT 引物

的 I_{Bav} 、EMR 和 MI 分别为 0.40, 6.79, 2.72, 均小于 SSR 引物, 说明 SSR 引物在品种辨别能力和效率上比 SCoT 引物强。

表 3 12 个供试杨树材料 SSR 和 SCoT 标记效率的比较

Table 3 Comparison of marker efficiency between SSR and SCoT markers for 12 *Populus* materials

标记名称 Marker name	引物数 No. of primers	总条带数 No. of total bands	多态性条带数 No. of polymorphic bands	平均条带数 No. of average bands per primer	多态性条带比率(PPB) Percentage of polymorphic bands	条带平均信息量(I_{Bav}) Average band information	有效多元比率(EMR) Effective multiplex ratio	标记指数(MI) Marker index
SSR	12	94	85	7.83	0.90	0.45	7.08	3.19
SCoT	14	127	95	9.07	0.75	0.40	6.79	2.72

2.3 供试杨树材料基于 2 种标记的遗传关系聚类分析

根据 2 种分子标记体系所得到的遗传相似系数矩阵不完全相同, 遗传相似系数越大, 说明遗传差异性越小, 亲缘关系越近。由表 4 可知, 在 SSR 标记中, 12 个杨树材料之间的遗传相似系数在 0.44~0.80, 平均相似系数为 0.62; 其中卜氏杨与 69 杨、陕西青杨与 69 杨、陕西青杨与 06-57×川 1 的相似

系数较小, 均为 0.44; 08-69×青 1 与 08-69×青 3、08-69×青 2 与 08-69×青 3 之间的相似系数最大, 为 0.80。由表 5 可知, 在 SCoT 标记中, 12 个无性系之间的遗传相似系数在 0.40~0.87, 平均相似系数为 0.64; 其中陕西青杨与 06-57×川 1 的相似系数最小, 为 0.40; 07-西大寨×卜 1 与 06-69×卜 1 相似系数最大, 为 0.87。

表 4 基于 SSR 标记的 12 个杨树材料间的遗传相似系数

Table 4 Genetic similarity coefficient of 12 *Populus* materials based on SSR markers

编号	Code	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1		1.00											
2		0.54	1.00										
3		0.58	0.71	1.00									
4		0.53	0.78	0.76	1.00								
5		0.60	0.66	0.79	0.67	1.00							
6		0.51	0.59	0.60	0.51	0.67	1.00						
7		0.44	0.66	0.62	0.69	0.69	0.60	1.00					
8		0.62	0.47	0.48	0.51	0.48	0.44	0.44	1.00				
9		0.53	0.80	0.69	0.76	0.67	0.58	0.62	0.60	1.00			
10		0.56	0.72	0.68	0.71	0.64	0.56	0.68	0.54	0.80	1.00		
11		0.54	0.67	0.71	0.68	0.73	0.59	0.61	0.52	0.73	0.74	1.00	
12		0.47	0.65	0.71	0.61	0.71	0.59	0.64	0.52	0.71	0.72	0.75	1.00

注:材料编号同表 1,表 5 同。

Note: The numbers of materials are the same as Table 1. The same in Table 5.

表 5 基于 SCoT 标记的 12 个杨树材料间的遗传相似系数

Table 5 Genetic similarity coefficient of 12 *Populus* materials based on SCoT markers

编号	Code	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1		1.00											
2		0.69	1.00										
3		0.66	0.65	1.00									
4		0.64	0.73	0.64	1.00								
5		0.66	0.69	0.87	0.70	1.00							
6		0.44	0.63	0.56	0.46	0.52	1.00						
7		0.59	0.62	0.59	0.63	0.56	0.47	1.00					
8		0.71	0.64	0.54	0.59	0.63	0.40	0.60	1.00				
9		0.54	0.64	0.54	0.61	0.59	0.51	0.60	0.64	1.00			
10		0.57	0.65	0.60	0.64	0.64	0.59	0.61	0.65	0.76	1.00		
11		0.56	0.68	0.69	0.69	0.67	0.51	0.64	0.60	0.62	0.71	1.00	
12		0.60	0.62	0.59	0.61	0.63	0.43	0.64	0.62	0.64	0.65	0.60	1.00

根据相似系数进行 UPGMA 聚类,在相似系数平均值处,SSR 标记将 12 个杨树材料分为 3 大类(图 2),卜氏杨和陕西青杨为一类,06-57×川 1 为一类,其余为一类;而 SCoT 标记将 12 个杨树材料分

为 5 大类(图 3),69 杨为一类,06-57×川 1 为一类,卜氏杨和陕西青杨为一类,08-69×青 3、08-69×青 1 和陕林 4 号为一类,其余为一类。

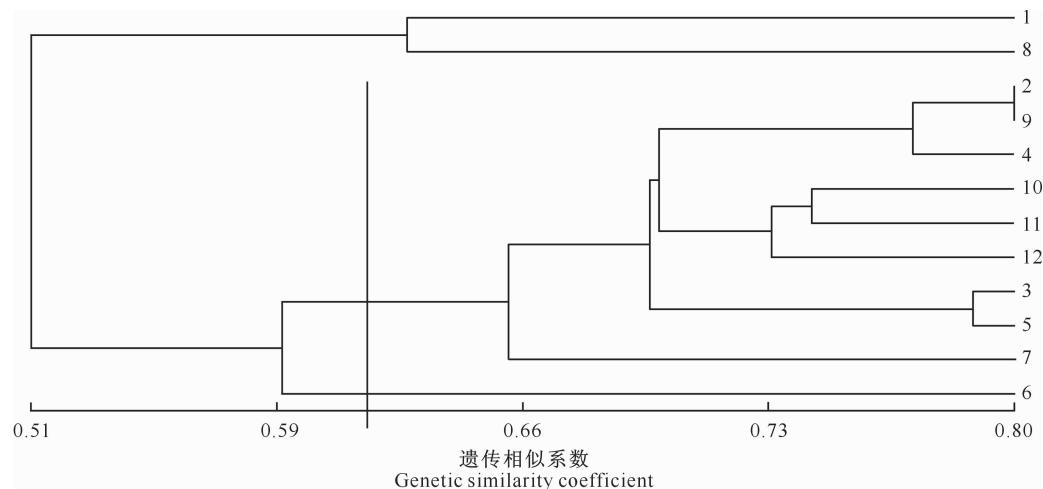


图 2 12 份杨树材料的 SSR 聚类分析结果

Fig. 2 Cluster analysis of 12 *Populus* materials using SSR markers

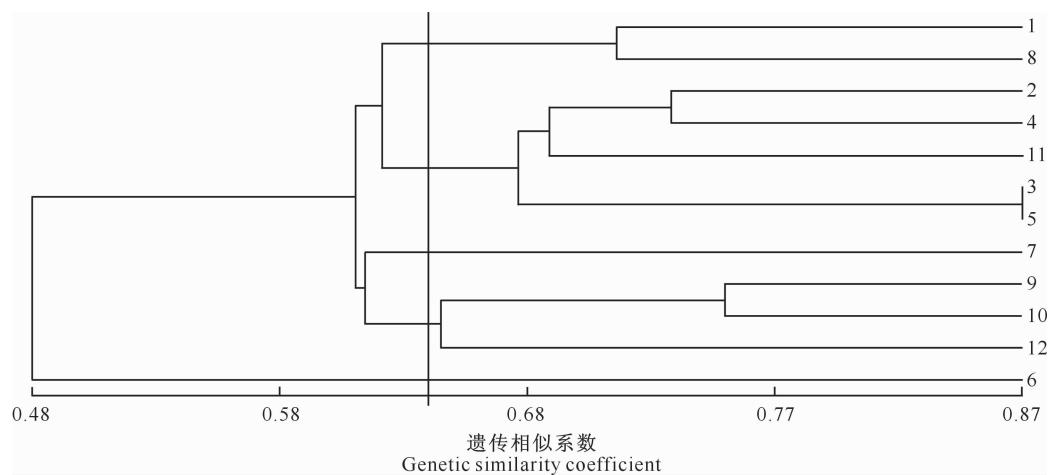


图 3 12 份杨树材料的 SCoT 聚类分析结果

Fig. 3 Cluster analysis of 12 *Populus* materials using SCoT markers

2.4 2 种标记的相关性分析

为了分析 SSR 和 SCoT 这 2 种分子标记的相关性, 利用 IBD(isolation by distance) 中的 Mantel 检验对 2 种分子标记分析所产生的遗传相似系数矩阵进行相关性分析, 结果表明 2 种分子标记所得到的遗传相似系数矩阵之间呈显著相关($r=0.5013$, $P=0.003$)。

3 讨论与结论

本研究以美洲黑杨×青杨派杂种无性系为试验材料, 对 SSR 和 SCoT 2 种分子标记的应用效果进行了比较和分析, 结果表明这 2 种分子标记均扩增得到了一定数量的多态性条带, 根据这些多态性条带可将供试杨树无性系区分开来, 这为美洲黑杨×青杨派杂种无性系品种的鉴定提供了分子依据。本研究首次将 SCoT 分子标记应用在杨树中, 14 条 SCoT 引物扩增出的清晰条带多态性比率达到 75%, 说明 SCoT 标记可以用来检测供试材料间的遗传变异, 可作为杨树分子标记的重要补充。

在多态性和标记效率的检测中, SSR 标记的 PPB 和 MI 均高于 SCoT 标记, 其中 SSR 标记的 MI 值高于 SCoT 标记, 是因为其 Ib_{av} 和 EMR 均比 SCoT 标记略高。 Ib_{av} 是扩增位点多态性程度的直接体现, 表明 SSR 标记在杂种无性系间具有更高的多态性, 更适合分析亲缘关系较近的种群间的遗传多样性^[21-23]。

在聚类分析中, SCoT 标记揭示的遗传相似性系数范围比 SSR 标记广, 表明前者可以反映更多的遗传信息, 检测到更多的遗传差异。在 2 个聚类图中, 2 种分子标记都将卜氏杨和陕西青杨聚在一起;

除 06-57×川 1 外, 在 SSR 标记中, 所有的杂种无性系与母本美洲黑杨聚在一起, 而在 SCoT 标记中, 有部分与母本聚在一起, 也有部分与父本聚在一起, 说明 SCoT 标记可能更适合鉴别母本与杂交子代; 08-69×青 1、08-69×青 2、08-69×青 3 和 08-69×青 4 这 4 个杂交子代母本相同, 父本为混合花粉, 遗传差异性很小, SCoT 标记更容易将它们区别开来; 但 07-西大寨×卜 1 和 06-69×卜 1 应该用 SSR 标记区分。这 2 种标记方法得到的聚类结果不同, 是由于 SSR 和 SCoT 的标记原理不同, 扩增的是基因组中的不同区域, 因此得出了不同的遗传相似系数, 由此得到的聚类图也存在一定差异。

2 种标记方法间存在显著相关性($r=0.5013$, $P=0.003$), 与其他应用不同分子标记方法分析植物亲缘关系的研究结果类似^[24-25]。不同的分子标记在不同的物种中检测效率不同, 因此选择合适的分子标记对每个物种的相关遗传研究极为重要^[26]。这 2 种分子标记都能产生各自有效的多态性条带, 可以揭示杨树杂种无性系在 DNA 水平上的显著遗传变异, 说明应用 SSR 和 SCoT 标记鉴定美洲黑杨×青杨派杂种无性系品种和亲缘关系是可行的。

[参考文献]

- [1] 徐纬英. 杨树 [M]. 哈尔滨: 黑龙江人民出版社, 1988.
Xu W Y. Polar [M]. Harbin: Heilongjiang People Press, 1988.
- [2] 赵丽, 樊军锋, 高建社, 等. 美洲黑杨与青杨人工杂交及杂种苗苗期性状研究 [J]. 西北农业学报, 2010, 19(5): 108-112.
Zhao L, Fan J F, Gao J S, et al. Artificial hybridization and seedling traits test of *Populus deltoides* and *P. cathayana* [J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2010, 19(5): 108-112.

- [3] 何慧怡,劳方业,刘睿,等. 斑茅蔗后代杂种的分子标记分析[J]. 华中农业大学学报,2008,27(5):573-577.
He H Y, Lao F Y, Liu R, et al. Molecular marker analysis of the progenies derived from *Intergeneric* [J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2008, 27(5): 573-577.
- [4] 邓海华,符成,李奇伟,等. 斑茅F₁杂交可育亲本选择及其回交后代鉴定和主要经济性状[J]. 热带作物学报,2004,25(4):97-101.
Deng H H, Fu C, Li Q W, et al. Studies on fertile *S. officinatum* × *E. arundinaceus* hybrids and their BC₁ performance [J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2004, 25(4): 97-101.
- [5] 周文才,侯静,郭炜,等. 基于 SSR 标记的美洲黑杨杂交子代的鉴定[J]. 南京林业大学学报(自然科学版),2015,39(3):45-49.
Zhou W C, Hou J, Guo W, et al. Identification of the true hybrids for *Populus deltoides* by using SSR markers [J]. Journal of Nanjing Forestry University (Natural Sciences Edition), 2015, 39(3): 45-49.
- [6] 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 Z 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.
- [7] 王辉,杨敏生,朱建峰. 利用 SSR 对杨属部分种及杂种的分析鉴定[J]. 东北林业大学学报,2008,36(12):4-6.
Wang H, Yang M S, Zhu J F. SSR analysis of some species and hybrids in *Populus* [J]. Journal of Northeast Forestry University, 2008, 36(12): 4-6.
- [8] Collard B C Y, Mackill D J. Start codon targeted(SCoT) polymorphism:a simple, novel DNA marker technique for generating gene-targeted markers in plants [J]. Plant Mol Biol Rep, 2009, 27(1): 86-93.
- [9] 韩国辉,龙治坚,范理璋,等. 蓝莓 SCoT 标记分析体系的建立与优化[J]. 中国农学通报,2014,30(25):136-141.
Han G H, Long Z J, Fan L Z, et al. Establishment and optimization of SCoT system in blueberry [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2014, 30(25): 136-141.
- [10] 杨祥燕,蔡元保,黄秋伟. 番木瓜主栽品种 SCoT 指纹图谱构建及遗传变异分析[J]. 西北植物学报,2013,33(9): 1756-1761.
Yang X Y, Cai Y B, Huang Q W. SCoT fingerprints and genetic variations of the *Papaya*(*Carica papaya* L.) major cultivars [J]. Acta Bot Boreal-Occident Sin, 2013, 33(9): 1756-1761.
- [11] 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.
- [12] 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 diversity of *Populus deltoides* germplasm by SSR [J]. Journal of Nanjing Forestry University (Natural Sciences Edition), 2006, 30(4): 10-13.
- [13] 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.
- [14] 樊蓉,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(3):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(3): 76-80.
- [15] 陈红,杨鑫,安华明. 贵州桃种质资源遗传多样性的 SCoT 分析[J]. 西北植物学报,2014,34(8):1559-1564.
Chen H, Yang X, An H M. Genetic diversity of peach accessions in Guizhou analysed by SCoT markers [J]. Acta Bot Boreal-Occident Sin, 2014, 34(8): 1559-1564.
- [16] 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.
Wang Y X. A molecular genetic linkage map for hybrid population of *Populus adenopoda* × *P. alba* and a comparative map in *Populus* [D]. Nanjing: Nanjing Forestry University, 2008.
- [17] 黄秦军,苏晓华,张香华. SSR 分子标记与林木遗传育种[J]. 世界林业研究,2002,15(3):14-21.
Huang Q J, Su X H, Zhang X H. Microsatellite marker and its application in tree genetics and breeding [J]. World Forestry Research, 2002, 15(3): 14-21.
- [18] 熊发前,唐荣华,陈忠良,等. 目标起始密码子多态性(SCoT):一种基于翻译起始位点的目的基因标记新技术[J]. 分子植物育种,2009,7(3):635-638.
Xiong F Q, Tang R H, Chen Z L, et al. SCOT: A novel gene targeted marker technique based on the translation start codon [J]. Molecular Plant Breeding, 2009, 7(3): 635-638.
- [19] 陈大霞,彭锐,李隆云,等. 利用 SRAP 和 ISSR 标记分析川党参的遗传多样性[J]. 中国中药杂志,2009,34(3):255-259.
Chen D X, Peng R, Li L Y, et al. Study on genetic diversity of *Codonopsis tangshen* by SRAP and ISSR markers [J]. China Journal of Chinese Materia, 2009, 34(3): 255-259.
- [20] 蒋林峰,张新全,黄琳凯,等. 中国鸭茅主栽品种 DNA 指纹图谱构建[J]. 植物遗传资源学报,2014,15(3):604-614.
Jiang L F, Zhang X Q, Huang L K, et al. Construction of DNA fingerprinting of dominant *Orchardgrass* (*Dactylis glomerata*) varieties of China [J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2014, 15(3): 604-614.
- [21] Sun G L, Salomon B, von Bothmer R. Analysis of *Tetraploid elymus* species using wheat microsatellite markers and RAPD markers [J]. Genome, 1997, 40:806-814.

78.

- [15] 郭屹立,卢训令,丁圣彦.伊洛河河岸带生态系统草本植物功能群划分[J].生态学报,2012,32(14):4434-4442.
- Guo Y L,Lu X L,Ding S Y. The classification of plant functional types based on the dominant herbaceous species in the riparian zone ecosystems in the Yiluo River [J]. Acta Ecologica Sinica,2012,32(14):4434-4442.
- [16] 郭忠玲,马元丹,郑金萍,等.长白山落叶阔叶混交林的物种多样性、种群空间分布格局及种间关联性研究[J].应用生态学报,2004,15(11):2013-2018.
- Guo Z L,Ma Y D,Zheng J P,et al. Biodiversity of tree species, their populations spatial distribution pattern and interspecific association in mixed deciduous broadleaved forest in Changbai Mountains [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2004,15(11):2013-2018.
- [17] 李建民,谢芳,陈存及,等.光皮桦天然林群落优势种群的种间联结性研究[J].应用生态学报,2001,12(2):168-170.
- Li J M, Xie F, Chen C J, et al. Interspecific association of dominant species in *Betula luminifera* natural forest communities of Shaowu,Fujian [J]. Chinese Journal of Applied Ecology,2001,12(2):168-170.
- [18] 胡楠,范玉龙,丁圣彦.伏牛山森林生态系统灌木植物功能群分类[J].生态学报,2009,29(8):4017-4025.
- Hu L,Fan Y L,Ding S Y. Functional group classification of shrub species in the Funiu mountain forest ecosystem [J]. Acta Ecologica Sinica,2009,29(8):4017-4025.
- [19] 姜俊,赵秀海.吉林蛟河针阔混交林群落优势种群间联结性[J].林业科学,2011,47(12):149-152.
- Jiang J,Zhao X H. Interspecific correlations among dominant tree species in the coniferous and broad-leaved mixed forest communities in Jiahe,Jilin province [J]. Scientia Silvae Sinicae,2011,47(12):149-152.
- [20] 王乃江,习世红,周秦生,等.子午岭桥山林区柴松群落主要种

- 群种间联结性研究[J].西北植物学报,2010,30(4):645-651.
- Wang N J,Xi S H,Zhou Q S,et al. Interspecific association of dominant populations of *Pinus tabulaeformis* f. *shekanensis* communities in Qiaoshan forest area [J]. Acta Bot Boreal-Ocident Sin,2010,30(4):645-651.
- [21] 贺士元,邢其华.北京植物志[M].北京:北京出版社,1984.
- He S Y,Xing Q H. Flora of Beijing [M]. Beijing:Beijing Publishing Press,1984.
- [22] 郭垚鑫,胡有宁,孔令通,等.紫柏山亚高山草甸群落的种间关联和相关分析[J].生态学杂志,2011,30(8):1775-1780.
- Guo Y X,Hu Y N,Kong L T,et al. Interspecific association and correlation of main plant species in subalpine meadow of Zibai Mountain [J]. Chinese Journal of Ecology,2011,30(8):1775-1780.
- [23] 娄彦景,赵魁义.三江平原毛苔草群落近30年演替过程中的种间联结性分析[J].生态学杂志,2008,27(4):509-513.
- Lou Y J,Zhao K Y. Analysis of interspecific associations of *Carex lasiocarpa* community in recent 30-year succession in Sanjiang plain [J]. Chinese Journal of Ecology,2008,27(4):509-513.
- [24] 邢福,郭继勋.糙隐子草草原3个放牧演替阶段种间联结对比分析[J].植物生态学报,2001,25(6):693-698.
- Xing F,Guo J X. Comparative analysis of interspecific association for three grazing successional stages of *Cleistogenes squarrosa* steppe [J]. Acta Phytoecologica Sinica, 2001, 25 (6):693-698.
- [25] 董建文,翟明普,徐程杨,等.京郊风景游憩林侧柏-刺槐群落林下植被种间联结研究[J].江西农业大学学报,2007,29(1):66-71.
- Dong J W,Zhai M P,Xu C Y,et al. A study on the interspecific association of main undergrowth in the community of *Platycladus orientalis* and *Robinia pseudoacacia* [J]. Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis,2007,29(1):66-71.

(上接第85页)

- [22] MacRitchie D,Sun G L. Evaluating the potential of barley and wheat microsatellite markers or genetic analysis of *Elymus trachycaulus* complex species [J]. Theoretical and Applied Genetics,2004,108:720-724.
- [23] Sun G L,Salomon B,von Bothmer R. Microsatellite polymorphism and genetic differentiation in three Norwegian population of *Elymus alaskanus* (Poaceae) [J]. Plant Systematics and Evolution,2002,234:101-110.
- [24] 李永祥,李斯深,李立会,等.披碱草属12个物种遗传多样性的ISSR和SSR比较分析[J].中国农业科学,2005,38(8):1522-1527.
- Li Y X,Li S S,Li L H,et al. Comparison of genetic diversity of twelve *Elymus* species using ISSR and SSR markers [J]. Scientia Agricultura Sinica,2005,38(8):1522-1527.
- Li Y X,Li S S,Li L H,et al. Comparison of genetic diversity of twelve *Elymus* species using ISSR and SSR markers [J]. Scientia Agricultura Sinica,2005,38(8):1522-1527.

- [25] 马丹炜,王胜华,罗通,等.岩生植物金发草遗传多样性的ISSR和AFLP比较研究[J].应用与环境生物学报,2006,12(5):605-608.
- Ma D W,Wang S H,Luo T,et al. Comparative study on genetic diversity of rock plant *Polygonum perfoliatum* using ISSR and AFLP markers [J]. Chin J Appl Environ Biol, 2006,12(5):605-608.
- [26] 刘振,赵洋,杨培迪,等. SSR、SRAP、ISSR分子标记在茶树品种亲本鉴定上的比较分析[J].茶叶科学,2014,34(6):617-624.
- Liu Z,Zhao Y,Yang P D,et al. Comparison of parents identification for tea variety based on SSR,SRAP and ISSR markers [J]. Journal of Tea Science,2014,34(6):617-624.