

北方地区黑杨派栽培品种的 AFLP 指纹分析

李金花¹, 宋红竹², 周春江³, 牛正田¹, 张绮纹¹, 王斌³

(1 中国林业科学研究院林业研究所, 国家林业局林木培育重点实验室, 北京 100091;

2 国家林业局科技发展中心, 北京 100714 3 中国科学院遗传与发育生物学研究所, 北京 100101)

摘要: 以我国北方地区杨树人工林广泛种植的 10 个黑杨派品种 (36 杨、50 杨、107 杨、108 杨、111 杨、加杨、沙兰杨、F214 杨、109 杨和 110 杨) 为实验材料, 先进行了苗期形态特征分析, 并利用 AFLP 标记技术, 选用 E-TA M-CAG 和 E-TC M-CAG 两对选择性扩增引物组合, 获得了 12 条特异性条带, 建立了这 10 个杨树品种的 DNA 指纹图谱, 每个品种的扩增带型互不相同, 可为杨树品种或无性系鉴定提供独特的特征。结果表明: 利用 AFLP DNA 指纹图谱可以灵敏地鉴别相近无性系并与形态学鉴别分类结论相吻合, 表明 DNA 指纹鉴定配合形态学鉴定方法具有较高的准确性和有效性。

关键词: 杨属; 黑杨派; 形态分类; AFLP; DNA 指纹; 品种鉴定

中图分类号: S722.3 文献标识码: A

AFLP Fingerprinting for 10 Cultivars of Section *Aigeiros* Widely Planted in North China

LI Jin-hua¹, SONG Hong-zhu², ZHOU Chun-jiang³, NIU Zheng-tian¹, ZHANG Qi-wen¹, WANG Bin³

(1 Research Institute of Forestry, CAF, Key Laboratory of Tree Breeding and Cultivation, State Forestry Administration, Beijing 100091, China

2 Centre of Science and Technology, State Forestry Administration, Beijing 100714, China 3 State Key Laboratory of Plant Genomics

Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

Abstract Ten cultivars of the section *Aigeiros* widely planted in North China for poplar culture and intensive forest plantations were selected for AFLP fingerprinting including *P. deltoides* Bart. cl '2KEN8', *P. deltoides* Marsh cl 'Drava' (55/65), *P. × euramericana* Moench cl 'Neva' (74/76), *P. × euramericana* Moench cl 'Guariento', *P. × euramericana* Moench cl 'Bellotto', *P. × euramericana* Moench cl 'Jiayang', *P. × euramericana* Moench cl 'Sacraur-79', *P. × euramericana* Moench cl 'F214', *P. deltoides* × *P. alba* cl 'Mincib', *P. deltoides* Marsh × *P. maximowiczii* Henry cl 'Eridano'. One-year-old plantlets of these ten cultivars were used for morphological analysis in nursery. As the results of AFLP fingerprinting for these ten cultivars, 12 polymorphic bands were amplified with two primer combinations E-TA M-CAG and E-TC M-CAG respectively. Based on the 12 reliable AFLP polymorphic bands, the DNA fingerprint was constructed to identify these 10 cultivars. In this DNA fingerprint, each genotype had its unique finger pattern and could be easily distinguished from the others. DNA fingerprinting analysis provides a good method for cultivars identification and can overcome the limitations associated with morphological and origin data.

Key words *Populus*, section *Aigeiros*, morphology, AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism); DNA fingerprinting, cultivar identification

收稿日期: 2008-12-19

基金项目: 国家林业局标准制定项目“杨树新品种分子指纹图谱”([2001]林科标 002号)

作者简介: 李金花 (1970—), 女, 新疆石河子人, 副研究员, 林木遗传育种学博士。

杨树是我国重要造林树种之一,我国杨树种质资源十分丰富,世界上天然杨树约 100 多种,而我国就有 53 种之多,由于杨树多数种类亲和力很强,种间杂交和无性繁殖容易,种间、组(派)间极易反复杂交,使一些分类稳定的性状常常被打破,有些形态特征在种间交互存在,往往同一种的叶片形态在长、短枝和萌枝上有显著差异,而不同种或品种间的形态特征却极为相似^[1]。传统的品种描述依赖于宏观生物学特性和形态指标,难以区分形态极为相似或亲缘关系极为相近的种或品种,生产中易造成混种、混系、混株,出现了以次充好、以假乱真的现象,影响了良种的增产效益,有时造成重大损失。因此,杨树品种和无性系的准确鉴别对于杨树育种、种质资源收集和保存、新品种注册登记等具有重要意义^[2]。

分子标记技术不受组织、发育时期、季节环境限制,且信息数量极多、多态性高,适合分析杨树这样具有大量种的群体,在无完整苗木和大树的情况下,利用一片嫩叶从 DNA 水平上检测基因组的遗传变异,获得高质量的 DNA 指纹图谱,从而在较短时间内精确、有效地对大量品种进行鉴定,是杨树品种和无性系(包括杂交亲本和自交系)鉴别的有力工具,为保护育种者的权益、新品种权申报、鉴定品种、仲裁苗木纠纷和规范苗木市场提供客观、科学和准确的技术保障^[2-5]。目前,在现有十多种分子标记技术中,SSR 具有多态性好、共显性和重复性好的优点,被认为是非常理想的一种分子标记并已被用于杨树品种鉴定^[2-3,6-8],但其缺点是开发引物需要较长时间且费用高,目前为止,在杨树中已开发成功的 SSR 引物还不到 30 对,并且这些引物是否通用于各种杨树还未见报道^[9]。AFLP 在植物中具有高水平的多态性^[9-11],还具有很好的重复性和准确性,国内已将 AFLP 成功用于主要作物和果树品种的指纹图谱及品种鉴定,如大白菜 (*Brassica campestris* L.)^[12]、萝卜

(*Raphanus sativus* L.)^[13]、苹果 (*Malus domestica* Borkh.)^[14]、桑树 (*Morus alba* L.)^[15]、罗汉果 (*Siraitia grosvenorii* (Swingle) C. Jeffrey ex Lu et Z. Y. Zhang)^[16]、梅花 (*Prunus mume* L.)^[17-18]、甘蔗 (*Saccharum officinarum* L.)^[19]等。目前,尹俊明等^[20]利用 AFLP 进行了美洲黑杨 (*Populus deltoides* Bartr.) 无性系的遗传多样性和指纹分析, Zhou 等^[21]利用 AFLP 对杨属 (*Populus* L.) 5 大派 44 个种进行了遗传多样性和指纹分析,高建明等^[10]对我国青杨派 (Section *Tacamahaca*) 和黑杨派 (Section *Aigeiros*) 的一些栽培品种进行了 AFLP 指纹分析,胡晓丽等^[22]开展了三倍体毛白杨 (*P. tomentosa* Carr.) 无性系的 AFLP 分子标记鉴定研究,但北方地区杨树人工林大面积栽培的黑杨派品种包括欧美杨 107 杨、108 杨等品种的形态特征和 AFLP 指纹图谱分析的研究,尚未见报道。

本文收集了经国家科技攻关项目成果鉴定或国家(省)林木良种审认定的北方地区适宜种植的 10 个黑杨派杨树新品种,并对其进行苗期叶片、叶芽、1 年生枝条等表型形态特征的观测,利用 AFLP 对其进行 DNA 指纹图谱分析和品种鉴定研究,为杨树优良品种的鉴定和选择提供可靠保障。

1 材料和方法

1.1 材料

收集我国北方地区杨树人工林中广泛种植的 10 个品种,在中国林业科学研究院苗圃进行扦插育苗,春季采集新萌发的幼叶,用于植物基因组 DNA 提取;依照国际杨树委员会执行委员会文件《关于杨树品种登记的报告》中形态特征及观测方法^[23-24],秋季 8 月时观察叶片、叶芽、1 年生枝条等表型形态特征,并在北京地区调查这些品种的大树树皮特征,一起归档。这 10 个杨树品种均经过国家科技成果鉴定或国家(省)林木良种审认定,详见表 1^[25]。

表 1 用于构建 AFLP 指纹图谱的 10 个杨树品种

编号	品种名称	种名	雌雄	来源/原产地
1	36 杨	美洲黑杨 (<i>P. deltoides</i> Bartr. cl '2KEN8')	♂	北京/意大利
2	50 杨	美洲黑杨 (<i>P. deltoides</i> Marsh. cl 'Dnava' (55/65))	♀	北京/南斯拉夫
3	107 杨	欧美杨 (<i>P. × euram. eriana</i> Moench cl 'Neva' (74/76))	♀	北京/意大利
4	108 杨	欧美杨 (<i>P. × euram. eriana</i> Moench cl 'Guariento')	♀	北京/意大利
5	111 杨	欧美杨 (<i>P. × euram. eriana</i> Moench cl 'Bellotto')	♀	北京/意大利
6	加杨	欧美杨 (<i>P. × euram. eriana</i> Moench cl 'Jiayang')	♂	北京/法国
7	沙兰杨	欧美杨 (<i>P. × euram. eriana</i> Moench cl 'Sacrar79')	♀	北京/德国
8	1-214 杨	欧美杨 (<i>P. × euram. eriana</i> Moench cl 'F214')	♀	北京/意大利
9	109 杨	美洲黑杨 × 银白杨 (<i>P. deltoides</i> × <i>P. alba</i> cl 'Mincb')	♂	北京/意大利
10	110 杨	美洲黑杨 × 马氏杨 (<i>P. deltoides</i> Marsh. × <i>P. maximiliana</i> Henry cl 'Erlano')	♂	北京/意大利

1.2 DNA 提取

采用 CTAB 法^[26] 从幼叶中提取 DNA, 经纯化后, 以标准 λ -DNA 为对照, 在 0.8% 琼脂糖凝胶电泳上测定样品 DNA 的浓度, 根据测定结果, 将所有样品 DNA 浓度稀释至 $200 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ 。

1.3 AFLP 分析

按照 Vos 等^[9] 的方法, 采用 Invitrogen 公司试剂盒 AFLP Analysis System Kit 进行 AFLP 分析, 并稍加改进^[27]。300 ng 的基因组 DNA 用于 *EcoR* I 和 *Mse* I 酶切和连接反应, 反应产物被稀释 10 倍后用作预扩增反应的模板, 预扩增选用 *EcoR* I+ A 和 *Mse* I+ C (*EcoR* I+ 0 *Mse* I+ C) 引物组合, PCR 反应程序为: 90°C 变性 30 s, 56°C 复性 60 s, 72°C 延伸 60 s, 共 20 个循环。预扩增反应产物稀释 40 倍后用作选择性扩增反应的模板, 选择性扩增选用 *EcoR* I+ 2/ *Mse* I+ 3 引物组合 M-CAG/E-TA 和 M-CAG/E-TC, PCR 反应程序为: 90°C 30 s, 65°C 30 s, 72°C 60 s, 1 个循环; 再进行递降温度梯度的 12 个循环, 每个循环中, 复性温度逐级降低 0.7°C , 变性和延伸条件同上; 90°C 30 s, 56°C 30 s, 72°C 60 s, 23 个循环。选择性扩增反应产物加入等体积 (10 μL) 甲酰胺染料 (98% 去离子甲酰胺, 10 mmol EDTA pH 8.0, 0.15% 溴酚蓝, 0.15% 二甲苯氰), 混匀后于 94°C 变性 3 min, 然后迅速置于冰上冷却。6% 聚丙烯酰胺凝胶预电泳 30 min, 取 4 μL 变性后的样品上样, 100W 横功率电泳 2.5 h, 采用许绍斌等^[28] 的方法进行银染, 并适当优化。

接头和引物序列如下:

(1) *EcoR* I 接头:

Adapter I (E ad1): 5'-CTCGTAGACTGCGTACC-3'

Adapter II (E ad2): 5'-AATTGGTACGCAGTC-3'

(2) *Mse* I 接头:

Adapter I (M ad1): 5'-GACGATGAGTCCTGAG-3'

Adapter II (M ad2): 5'-TACTCAGGACTCAT-3'

预扩增引物 (*EcoR* I+ 0 *Mse* I+ C):

(3) *EcoR* I+ 0 (E-000):

5'-GACTGCGTACCAATTC-3'

(4) *Mse* I+ C (M-C00):

5'-GATGAGTCCTGAGTAAC-3'

选择性扩增引物 (*EcoR* I+ 2 *Mse* I+ 3):

(5) E-TA: 5'-GACTGCGTACCAATTCTA-3'

(6) E-TC: 5'-GACTGCGTACCAATTCTC-3'

(7) M-CAG: 5'-GATGAGTCCTGAGTAA CAG-3'

1.4 AFLP 分析和数据的转化

选取电泳图上清晰、易于辨认的 AFLP 分析多态性条带进行统计, 根据 DNA 分子量标准计算出各扩增条带相应的片段大小 (近似值), 以选择性引物组合和分子量大小对条带进行命名, 并分别用 "1" 和 "0" 代表条带的 "有" 和 "无", 将 10 个品种的每个多态性条带转换为计算机语言, 利用计算机软件 STATISTICA /w5.0 (StaSoft software Inc., USA) 模拟出 AFLP 分析图谱。

2 结果与分析

2.1 品种苗期表型形态的鉴别

杨树无性繁殖主要是采用大树枝条、苗木根茎或整株苗进行繁殖, 我国杨树人工林栽培目前多数使用 1 年生带根苗或 2 年生 1 年干苗为造林苗, 而不同种或品种间的苗木形态特征却极为相似, 在林业生产上容易造成混种、混系、混株, 影响了良种的增产效益, 有时造成重大损失。因此, 利用苗木表型形态进行初步的形态识别和品种鉴定, 对于苗木利用和人工林栽培具有重要意义^[1, 25]。

对参试的 10 个杨树品种苗扦插繁殖生长 5 个月时, 根据国际杨树委员会品种登记相关文件中的方法^[23-24], 对其叶片、叶芽、1 年生枝条等表型形态特征进行了观测, 结果见表 2。在 10 个参试品种中, 36 杨和 50 杨为美洲黑杨无性系, 叶基为心形; 107 杨、108 杨、111 杨、加杨、沙兰杨和 F214 杨为 5 个欧美杨无性系, 加杨和沙兰杨的叶片尖端窄而渐尖, 109 杨和 110 杨分别为美洲黑杨与银白杨和马氏杨的派间杂种, 110 杨的典型特征为叶片长三角形。在苗木的形态特征上, 107 杨、108 杨、111 杨和 F214 杨相似性高, 加杨和沙兰杨相似, 采用二歧分类法不易将其一一区分开。例如, 108 杨的苗期特征与 107 杨和其它欧美杨无性系非常相似, 在表型上进行品种鉴别非常困难。

2.2 AFLP 分析结果与指纹图谱的构建

利用 M-CAG/E-TA 和 M-CAG/E-TC 两对选择性引物组合, 对 10 个杨树品种进行选择性的扩增反应, 根据 AFLP 分析的电泳图谱结果, 选取了清晰、易于辨认的 12 条多态性条带进行统计, 以 DNA 分子量标准为对应, 找出各条带相应的分子量大小, 从而得到了 10 个品种指纹图谱 (表 3)。

表 2 供试 10 个杨树品种 1 年生幼苗的形态特征^[22-23]

形态特征及其代码	品种									
	36 杨	50 杨	107 杨	108 杨	111 杨	加 杨	沙兰杨	1-214 杨	109 杨	110 杨
叶片基部形状:1 窄楔形;2 宽楔形;3 微楔形;4 圆楔形;5 耳形;6 截形;7 波状心形;8 微心形;9 心形;10 深心形	9	9	7	7	6	3	6	6	8	8
叶片主脉与第 2 个侧脉之间夹角(°):1 30~39;2 40~49;3 50~59;4 60~69;5 70~79;6 80~89;7 90 以上	3	4	5	5	3	5	1	1	5	3
叶先端之形状:1 尖;2 微渐尖;3 圆而渐尖;4 宽尖;5 凹的宽尖头;6 宽渐尖;7 细窄渐尖;8 长渐尖;9 很长的渐尖	3	3	2	2	2	7	7	3	7	8
中叶脉颜色:1 绿色;2 肉色;3 红色;4 绿色的中脉基部具有红色斑纹;5 部分是红色	1	2	1	1	1	1	5	1	1	5
叶柄的颜色:1 全绿;2 上边淡粉红色或微红;3 上边全部或几乎全部是红色;4 全是淡粉红色;5 全红;6 绿色,但叶柄上边是红色	1	1	2	2	2	1	1	2	1	4
1 年生枝条成熟前一茎表面的特征:1 圆柱状;2 有棱角但无槽沟;3 有棱角细小槽沟;4 有棱角具中等沟槽;5 有棱角具深槽沟	2	有棱但无沟槽	2	2	2	1	3	3	3	3
1 年生枝条中部皮孔的形状:1 圆形;2 卵形;3 短线形;4 长线形	2	2	2	2	3	2	3	2	2	3
1 年生枝条成熟前-皮孔的分布:1 均匀分布;2 团状分布;3 集中在叶着生点的下部,呈团状分布	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1
芽的长度/mm:1 ≤5;2 6~7;3 8~9;4 10~11;5 12~13;6 14~16;7 17~19;8 ≥19	3	2	2	2	2	4	3	2	6	2
芽的形状:1 尖端窄;2 窄而有点钝;3 尖端宽;4 宽而有点钝	1	1	3	尖端宽而渐尖	4	细而渐尖	尖端窄而渐尖	宽而渐尖	尖端窄而渐尖	宽而钝
叶芽颜色:1 绿色;2 红色;3 紫色;4 棕色;5 淡红褐色	4	棕色	5	淡红褐色	5	棕色	淡红褐色	红色	棕色	红色
芽在枝条上的排列:1 芽贴近枝条;2 芽贴近枝条,但芽先端与枝条分离;3 芽不贴近枝条	2	1	1	1	2	2	2	1	2	1

表 3 利用计算机语言统计出的杨属 10 个品种指纹图谱

品种	M-CAG /E-TA 245 bp	M-CAG /E-TA 235 bp	M-CAG /E-TA 230 bp	M-CAG /E-TA 210 bp	M-CAG /E-TA 120 bp	M-CAG /E-TA 110 bp	M-CAG /E-TC 500 bp	M-CAG /E-TC 400 bp	M-CAG /E-TC 350 bp	M-CAG /E-TC 270 bp	M-CAG /E-TC 190 bp	M-CAG /E-TC 180 bp
36杨	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	1	1
50杨	1	0	1	0	1	1	1	1	1	0	0	0
107杨	1	0	0	1	1	1	1	0	1	0	1	1
108杨	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1
111杨	0	1	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0
加杨	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
F214杨	0	0	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0
沙兰杨	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0
109杨	1	0	1	1	0	1	1	0	1	0	0	1
110杨	1	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0	1

注: “1”为有特征带, “0”为缺失特征带。

根据 M-CAG /E-TA 和 M-CAG /E-TC 两对引物组合的 AFLP 分析结果的统计数据, 根据 12 条特异性条带的“有”或“无”, 建立了 10 个参试品种的计算机模拟 AFLP 分析图谱, 直观地表现了每个品种的特征条带 (图 1)。

10 个供试杨树品种的 AFLP 分析结果表现出了丰富的多态性, 每个品种都有自身独特的特异带, 可以把 10 个品种全部分开, 而且每对引物组合在不同的品种间也出现了共同的带, 这表明 10 个品种遗传背景的复杂性, 另一方面也表现出 10 个品种的共同性。

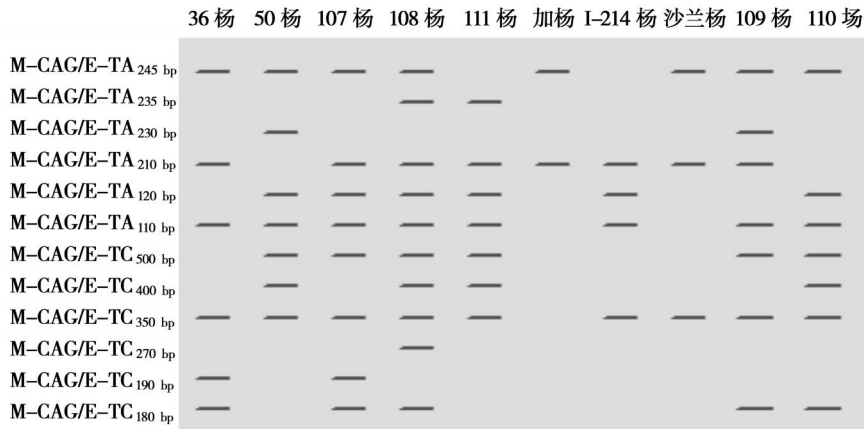


图 1 利用计算机语言统计模拟出的 10 个品种 AFLP 分析的特异条带

2.3 品种特征带与分子鉴定

传统的植物分类学其理论基础是建立在表型性状分析上, 而这些性状是来自形态学等与环境紧密相关的表现型。从分子遗传学角度看, 表型的差异归根到底还是基因型的差异, 即在 DNA 序列上的差异。对这些基因组序列差异的比较研究为植物系统与植物进化提供了最直接的依据^[11-21]。

从 AFLP 分析的指纹图谱 (图 1) 上可以看出, 10 个供试杨树品种的扩增带型互不相同, 并且每个品种都拥有自己的特征带, 这些条带组合对于特定的品种和引物组合是稳定的, 实验具有重演性。通过这些多态性位点的不同条带组合 (表 2), 可以采用二歧分类法将供试的 10 个杨树品种一一区分开, 并以此作为杨树品种分子鉴定的重要依据。此外, 可

以通过这些供试杨树品种的特征条带加以快速鉴定, 例如, 欧美杨 107 杨拥有 1 条特征带 M-CAG /E-TC_{190 bp}, 而欧美杨 108 杨拥有 3 条特征带 M-CAG /E-TA_{235 bp}, M-CAG /E-TC_{270 bp}, M-CAG /E-TC_{400 bp}, 从而可以将其从供试品种中识别, 提高了品种鉴别效率。

3 结论与讨论

利用 AFLP 分析建立的品种指纹图谱, 具有丰富的多态性、较好的稳定性和较高的个体特异性^[9], 非常适合于品种鉴定等方面的应用^[10-11]。特别是对于无性繁殖的杨树来说, 同物异名、同名异物现象很严重, 利用 AFLP 得到的指纹图谱能够高效、准确地建立指纹图谱、鉴别品种, 也能鉴定杨树品种的真实性和纯度, 确定品种的亲缘关系, 以及用于新品种

登记和品种知识产权保护等。因此,杨树品种指纹图谱的构建具有重要应用价值^[21]。

本研究根据收集了我国北方地区杨树人工林和城市绿化中广泛种植的杨树品种,包括 36 杨、50 杨、107 杨、108 杨、111 杨、加杨、F214 杨、沙兰杨、109 杨和 110 杨等 10 个品种,其中,107 杨和 108 杨的推广总面积超过了 10 万 hm^2 (截至 2006 年底),但这些品种在苗木形态特征上如叶片、叶芽和 1 年生枝条非常相似,很难一一区分开,给林业生产也带来了一些不便^[25]。

本研究利用 AFLP 建立了上述 10 个杨树品种的 DNA 指纹图谱,采用 M-CAG/E-TA 和 M-CAG/E-TC 两对选择性引物组合,对上述 10 个杨树品种进行了 AFLP 分析,证实了该方法能够产生较为丰富的多态性以及稳定的 AFLP 标记,建立了 10 个杨树品种的 DNA 指纹图谱,10 个品种的扩增带型互不相同,并且每个品种都拥有自己的特征带,采用二岐分类法可以将供试的 10 个品种一一区分开,可以作为 10 个杨树品种鉴定的依据,为杨树品种和无性系的鉴定提供了新的手段。

参考文献:

- [1] 徐伟英. 杨树 [M]. 哈尔滨:黑龙江人民出版社, 1988
- [2] Rahman M H, Rajra O P. M icrosatellite DNA fingerprinting differentiation and genetic relationships of clones cultivars and varieties of six poplar species from three sections of the genus *Populus* [J]. *Genome* 2002, 45: 1083-1094
- [3] Rajra O P, Rahman M H. M icrosatellite DNA and RAPD fingerprinting identification and genetic relationship of hybrid poplar (*Populus × euramericana*) cultivars [J]. *Theor Appl Genet* 2003, 106: 470-477
- [4] Sigurdsson V, Ananthawat JK, Sigurgeirsson A. DNA fingerprinting of *Populus trichocarpa* clones using RAPD markers [J]. *New For* 1995, 10: 197-206
- [5] Castiglione S, Wand G, Damiani G, et al. RAPD fingerprints for identification and for taxonomic studies of elite poplar (*Populus spp*) clones [J]. *Theor Appl Genet* 1993, 87: 54-59
- [6] Rahman M H, Dayanandan S, Rajra O P. M icrosatellite DNA markers in *Populus tremuloides* [J]. *Genome* 2000, 43: 293-297
- [7] Dayanandan S, Rajra O P, Bawa K S. Isolation and characterization of microsatellites in trembling aspen (*Populus tremuloides*) [J]. *Theor Appl Genet* 1998, 96: 950-956
- [8] 梁海永, 刘彩霞, 刘兴菊, 等. 杨树品种的 SSR 分析及鉴定 [J]. 河北农业大学学报, 2005, 28(4): 27-31
- [9] Vos P, Hogers R, Bleeker M, et al. AFLP: a new technique for

- DNA fingerprinting [J]. *Nucleic Acids Research*, 1995, 23: 4407-4414
- [10] 高建明, 张守攻, 齐力旺, 等. 杨树重要品种 (无性系) 的 AFLP 指纹分析 [J]. 云南植物研究, 2006, 28(1): 85-90
- [11] 贾继增. 分子标记种质资源鉴定和分子标记育种 [J]. 中国农业科学, 1996, 29(4): 1-10
- [12] 李 丽, 郑晓鹰. AFLP 分子标记应用于白菜品种鉴定 [J]. 分子植物育种, 2006, 4(5): 685-689
- [13] 赵丽萍, 柳李旺, 龚义勤, 等. 萝卜品种指纹图谱 SRAP 与 AFLP 分析 [J]. 植物研究, 2007, 27(6): 687-714
- [14] 祝 军, 王 涛, 赵玉军, 等. 应用 AFLP 分子标记鉴定苹果品种 [J]. 园艺学报, 2000, 27(2): 102-106
- [15] 丁 农, 钟伯雄, 张金卫, 等. 利用 AFLP 指纹技术鉴定桑树品种 [J]. 农业生物技术学报, 2005, 13(1): 119-120
- [16] 陶 莉, 王跃进, 尤 敏, 等. AFLP 用于构建罗汉果 DNA 指纹图谱及其幼苗雌雄鉴别 [J]. 武汉植物学研究, 2005, 23(1): 77-80
- [17] 明 军, 张启翔. 亲缘关系相近的梅花品种 AFLP DNA 指纹分析 [J]. 北京林业大学学报, 2004, 32(2): 118-124
- [18] 杨朝东, 张俊卫, 熊彩凤, 等. AFLP 技术对梅花杂交种的快速鉴定 [J]. 北京林业大学学报, 2004, 26(增刊): 45-47
- [19] 李 鸣, 谭裕模, 李祥瑞, 等. 用 AFLP 分子标记技术鉴别甘蔗 (*Saccharum officinarum* L.) 品种 [J]. 分子植物育种, 2003, 1(5/6): 821
- [20] 尹佟明, 孙 晔, 易能君, 等. 美洲黑杨无性系 AFLP 指纹分析 [J]. 植物学报, 1998, 40(8): 778-780
- [21] Zhou C J, Song H Z, Li J H, et al. Evaluation of genetic diversity and germplasm identification of 44 species clones and cultivars from 5 sections of the genus *Populus* based on amplified fragment length polymorphism analysis [J]. *Plant Molecular Biology Report* 2005, 23: 39-51
- [22] 胡晓丽, 周春江, 岳良松. 三倍体毛白杨无性系 AFLP 分子标记鉴定 [J]. 北京林业大学学报, 2006, 28(2): 9-14
- [23] Pouttet J, Mayer W, Egelin H, Van der Meulen H, et al. 国际杨树委员会执行委员会文件 关于杨树名称注册的报告 [C]. 陈炳浩, 译. 意大利全国林业无性系登记册中的杨树无性系. 中国林业科学研究院林业所, 1981: 3-12
- [24] 中国杨树委员会, 中国林业科学研究所. 中国杨树品种登记性状鉴定表 [J]. 杨树, 1987, 4(1): 29-67
- [25] 张绮纹, 李金花. 杨树工业用材林新品种 (ISDN 7-5038-3543-5) [M]. 北京: 中国林业出版社, 2003
- [26] M urry M G, Thompson W F. The isolation of high molecular weight plant DNA [J]. *Nucleic Acids Res* 1980, 8: 4321-4325
- [27] Wang B, Li C Y, Zhang H G, et al. Primary study of rice AFLP analysis optimization of reaction condition and analysis of the more sensitive genic male sterile rice allelic mutant lines [J]. *Acta Botanica Sinica* 1999, 41: 502-507
- [28] 许绍斌, 陶玉芬, 杨昭庆, 等. 简单快速的 DNA 银染和胶保存方法 [J]. 遗传, 2002, 24(3): 335-336