

文章编号:1001-1498(2012)06-0691-06

# 51个木麻黄无性系遗传多样性的ISSR分析

许秀玉, 王明怀, 魏龙, 徐斌

(广东省林业科学研究院, 广东 广州 510520)

**摘要:**采用ISSR分子标记对51个木麻黄无性系进行遗传多样性和亲缘关系分析。结果表明:ISSR适用于木麻黄无性系遗传分析,22个ISSR引物在供试无性系中共扩增出199个位点,多态性位点154个,多态位点百分率为77.4%;平均有效等位基因数为1.5,Nei's基因多样性指数为0.1741~0.3891,Shannon信息指数为0.2732~0.5560,相似系数为0.4673~0.9950,平均为0.7430,表明供试无性系的遗传基础已相对比较狭窄。ISSR聚类分析表明:参试无性系并不能按来源地各自单独聚为1类,无性系亲缘关系的远近与来源相关不大;在相似系数为0.678时,可将所有供试材料分为2大类的群;亲缘关系树状图在分子水平上显示了供试无性系间的亲缘关系,为今后木麻黄无性系的推广应用及育种亲本的选配提供了理论依据。

**关键词:**木麻黄;无性系;ISSR;遗传多样性

中图分类号:S792.93

文献标识码:A

## Analysis of Genetic Diversity and Relationship Among 51 Casuarina Superior Clones by Using ISSR Markers

XU Xiu-yu, WANG Ming-huai, WEI Long, XU Bin

(Guangdong Academy of Forestry, Guangzhou 510520, Guangdong, China)

**Abstract:** Casuarinas are important for coastal protection purpose in China. In recent years, many Casuarinas clones have been developed. The knowledge on genetic diversity and relationship of these clones is critical to guide Casuarinas breeding, but still limited. In this study, twenty-two selected ISSR primers were used to amplify the tested clones. A total of 199 bands were obtained in which 154 bands (77.4%) were polymorphic. The average effective number of alleles was 1.5. The Nei's gene diversity indices ( $H$ ) ranged from 0.1741 to 0.3891 and the Shannon's information index ( $I$ ) ranged from 0.2732 to 0.5560. The genetic similarity coefficients among the tested clones ranged from 0.4673 to 0.9950, with an average of 0.7430. The results showed that the genetic differences among the 51 clones were relatively little. The cluster analysis based on ISSR markers revealed that the 51 clones could not be cluster according to their origin and there were no correlation between genetic relationship and geographical origin. The 51 clones of Casuarinas could be divided into 2 groups when the similarity coefficient was 0.678. The genetic relationship of all the 51 clones revealed by the ISSR dendrogram would be of great help for genotype screening in afforestation project and parental selection in Casuarinas breeding.

**Key words:** Casuarina; clone; ISSR; genetic diversity

木麻黄(Casuarinaceae)植物原产于大洋州、太平洋群岛及东南亚地区,包括4个属96个种,该科

植物常统称为“木麻黄”。木麻黄为常绿乔木或灌木,具有耐干旱、耐瘠薄、耐盐碱、固氮改土、防风、固

收稿日期:2011-10-17

基金项目:国家“十一五”林业科技支撑计划专题“沿海抗台风植物材料选育技术研究”(2009BADB2B0101);广东省财政专项“粤东、粤西沿海地区木麻黄优良品系推广中试”;广东省乡土树种良种选育与繁育项目“木麻黄抗青枯病选育研究”

作者简介:许秀玉(1977—),女,高级工程师,主要从事林木遗传育种及森林生态研究。

沙、速生等特性<sup>[1]</sup>,被广泛用于防风固沙、盐碱地改良和干旱区造林,是我国南方贫瘠的沿海沙地、严重退化的丘陵地区的造林先锋树种。

我国引种木麻黄有 100 多年历史,20 世纪 80 年代以来,我国科研工作者借助国际合作项目,在木麻黄良种选育等方面做了大量工作<sup>[2-6]</sup>,并取得了重大进展。广东、福建、海南各省从群体或自然杂交后代中系统选育出了抗风、耐盐碱、抗旱、抗病虫害无性系 51 个,但仅靠形态难以准确评估这些无性系的变异水平。近几年,广东省林科院通过在广东沿海基于干林带造林对比试验,发现这 51 个无性系在生长量、适应性、保存率、抗逆性等方面具极显著差异,在生产及研究上都具有巨大的利用价值;但由于这些优良材料是从群体或自然杂交后代中选育出来的,前期试验资料的缺失、后期种子园及试验林遭受破坏,目前,这 51 个无性系的谱系不明、亲缘关系不清,仅靠形态或表型难以准确评估这些无性系的变异水平,这对今后优良无性系的选择利用、推广应用、杂交亲本的选配等工作造成困难。目前,国内外关于木麻黄遗传多样性的研究有少量报道,主要采用等位酶<sup>[7]</sup>、ISSR 和 FISSR<sup>[8]</sup>、RAPD<sup>[9-11]</sup>、AFLP<sup>[12]</sup>等技术,对木麻黄不同树种、群体、种源间遗传多样性及遗传结构进行了研究,但利用 ISSR 分子标记技术对木麻黄无性系遗传多样性分析国内尚未见报道。本文利用 ISSR 分子标记技术分析目前已有的 51 个无性系的遗传背景与遗传差异,为木麻黄育种策略的科学制定和遗传资源的有效保护、利用提供理论依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

参试 51 个木麻黄无性系保存于广东省林业科学研究院中心苗圃,分别由广东、福建、海南等地选育而来。无性系具体编号、名称、来源见表 1。试验中选取木麻黄苗上端枝叶用于 DNA 提取。

### 1.2 DNA 提取

参考改良的 CTAB 法<sup>[13]</sup>,并稍加改动,在提取缓冲液中加入  $2.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaCl 和 5% PVP,提取木麻黄鲜嫩枝叶的总 DNA。用 0.8% 琼脂糖凝胶电泳及分光光度计检测其浓度和纯度,DNA 样品稀释至  $50 \sim 100 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ ,保存于  $-20 \text{ }^{\circ}\text{C}$  冰箱内备用。

### 1.3 ISSR 引物

所用的 100 条 ISSR 引物序列由 UBC(加拿大哥

表 1 参试无性系

编号	无性系	来源	编号	无性系	来源
1	13	福建	27	58	福建
2	701	广东	28	杂交	福建
3	宝 9	海南	29	抗 2	福建
4	91	福建	30	78	福建
5	K18	广东	31	G1	广东
6	平 5	福建	32	A1	广东
7	12	福建	33	501	广东
8	何 2	福建	34	X19	广东
9	41	福建	35	76	福建
10	2	福建	36	龙 4	福建
11	65	福建	37	莆 20	福建
12	701-3	广东	38	82	福建
13	81	福建	39	59	福建
14	A8	广东	40	X2	广东
15	W6	广东	41	77	福建
16	G88	广东	42	湛江 3	广东
17	9201	福建	43	A14	广东
18	A8-2	广东	44	83	福建
19	湛江 2	广东	45	A13	广东
20	95	福建	46	W8	广东
21	98	福建	47	C8	广东
22	平 2	福建	48	1	福建
23	A1-3	广东	49	37	福建
24	K13	广东	50	W2	广东
25	503	广东	51	千头	福建
26	601	广东			

伦比亚大学)提供,上海生物工程有限公司合成。

### 1.4 PCR 扩增

ISSR-PCR 扩增总体积为  $25 \mu\text{L}$ ,包括 DNA ( $20 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ )  $1 \mu\text{L}$ 、UBC 引物 ( $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )  $1 \mu\text{L}$ 、 $10 \times \text{buffer}$   $2.5 \mu\text{L}$ 、dNTP ( $2.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )  $2.5 \mu\text{L}$ 、TaqDNA 聚合酶 ( $5 \text{ U} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ )  $0.2 \mu\text{L}$ 、ddH<sub>2</sub>O  $17.8 \mu\text{L}$ 。

利用美国 BIO-RAD 公司生产的 PTC-200 型基因扩增仪进行 PCR 扩增反应。ISSR-PCR 扩增程序为:  $94 \text{ }^{\circ}\text{C}$  5 min,  $94 \text{ }^{\circ}\text{C}$  30 s,退火 45 s,  $72 \text{ }^{\circ}\text{C}$  1.5 min, 35 个循环;然后  $72 \text{ }^{\circ}\text{C}$  延伸 10 min,扩增产物  $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$  保存。用 1.5% 的琼脂糖凝胶电泳检测扩增产物。溴化乙锭染色后,用凝胶成像系统拍照记录。

### 1.5 数据统计分析

每个样品按扩增条带的有无,分别记作“1”与“0”,形成 0/1 二元数据矩阵。利用 NTSYSpc 2.10e 软件进行 Dice 相似系数分析,用 UPGMA 方法聚类<sup>[14]</sup>。利用 POPGENE version 1.32 计算 Shannon 信息指数 ( $I$ )、有效等位基因数 ( $N_e$ ) 与 Nei's 基因多样性指数 ( $H$ )<sup>[15]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 扩增结果与多态性

从100条ISSR引物中筛选出了22条清晰、重复性好、多态性高的引物用作51个木麻黄无性系样本的PCR扩增,22条引物序列见表2。图1为引物UBC857对51份木麻黄植物材料的扩增结果,扩增出的条带介于200~3500bp,以400~2000bp条带居多。

22条引物共扩增出199条DNA条带,154条具有多态性,占77.4%。平均每个引物扩增出9.0条带,其中UBC807和UBC857扩增条带最多,有15条扩增带;UBC822、UBC842、UBC847、UBC854、UBC860、UBC890扩增带最少,只有6条。22条引物中UBC891扩增的多态性百分率最高,达100%,而UBC890扩增的多态性百分率最低,为50.0%(表2)。

此外,经谱带分析,最少使用8个引物(UBC807、UBC811、UBC857、UBC891、UBC890、UBC813、UBC868和UBC826)即可产生51个无性系的独特谱带组合,即能经济、快速、有效地鉴定51个无性系。

表2 ISSR分析中优选的22条引物的扩增结果

引物	序列(5'-3')	$N_b$ /条	$N_{pb}$ /条	$P_{pb}/\%$
UBC807	AGA GAG AGA GAG AGA GT	15	13	86.7
UBC808	AGA GAG AGA GAG AGA GC	8	7	87.5
UBC810	GAG AGA GAG AGA GAG AT	13	8	61.5
UBC811	GAG AGA GAG AGA GAG AC	9	7	77.8
UBC813	CTC TCT CTC TCT CTC TT	7	5	71.4
UBC820	GTG TGT GTG TGT GTG TC	9	8	88.9
UBC822	TCT CTC TCT CTC TCT CA	6	5	83.3
UBC823	TCT CTC TCT CTC TCT CC	8	7	87.5
UBC826	ACA CAC ACA CAC ACA CC	9	7	77.8
UBC836	AGA GAG AGA GAG AGA GYA	12	7	58.3
UBC842	GAG AGA GAG AGA GAG AYG	6	4	66.7
UBC844	CTC TCT CTC TCT CTC TRC	8	5	62.5
UBC845	CTC TCT CTC TCT CTC TRG	8	7	87.5
UBC846	CAC ACA CAC ACA CAC ART	9	7	77.8
UBC847	CAC ACA CAC ACA CAC ARC	6	4	66.7
UBC854	TCT CTC TCT CTC TCT CRG	6	4	66.7
UBC855	ACA CAC ACA CAC ACA CYT	7	4	57.1
UBC857	ACA CAC ACA CAC ACA CYG	15	13	86.7
UBC860	TGT GTG TGT GTG TGT GRA	6	5	83.3
UBC868	GAA GAA GAA GAA GAA GAA	13	11	84.6
UBC890	VHV GTG TGT GTG TGT GT	6	3	50.0
UBC891	HVH TGT GTG TGT GTG TG	13	13	100.0
总计		199	154	77.4

注: $N_b$ :扩增带数; $N_{pb}$ :多态性带数; $P_{pb}$ :多态性百分率; $N=(A,G,C,T)$ , $R=(A,G)$ , $Y=(C,T)$ , $B=(C,G,T)$ (i.e. not A), $D=(A,G,T)$ (i.e. not C), $H=(A,C,T)$ (i.e. not G), $V=(A,C,G)$ (i.e. not T)。

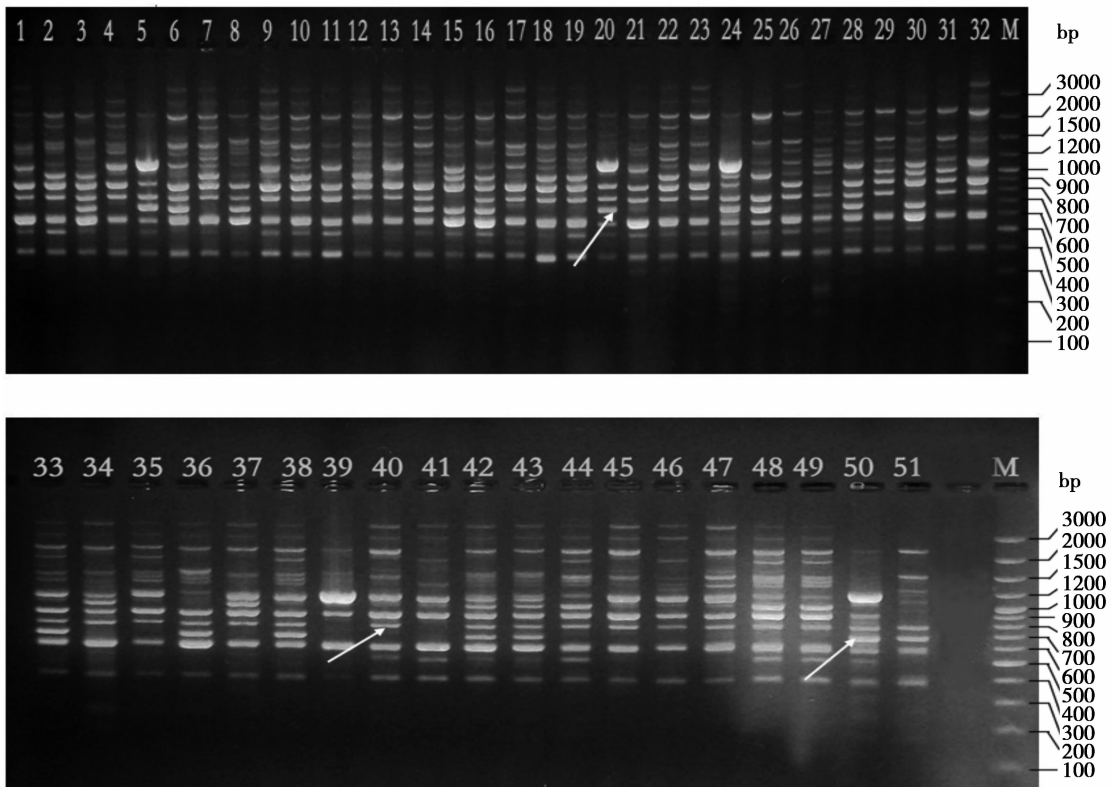


图1 引物UBC857对51份木麻黄植物材料基因组DNA扩增带型(材料编号同表1,箭头所指为特异性标记)

## 2.2 遗传多样性分析

从表 3 可看出:51 个木麻黄材料的有效等位基因数为 1.3~1.7,平均有效等位基因数为 1.5;Nei's 基因多样性指数( $H$ )最大值为 0.389 1,最小值为 0.174 1,平均为 0.288 2;Shannon 信息指数( $I$ )最大值为 0.556 0,最小值为 0.273 2,平均为 0.425 1。结果表明:参试无性系显示出相对狭窄的遗传基础。

51 份木麻黄植物材料间的相似系数为 0.472 4~0.995 0,平均为 0.735 9。‘2’和‘A8-2’、‘2’和‘湛江 2’、‘W6’和‘78’、‘A8-2’和‘湛江 2’、‘A8-2’和‘平 2’、‘湛江 2’和‘平 2’、‘抗 2’和‘G1’、‘湛江 3’和‘A14’、‘1’和‘37’之间的相似系数大于 0.95,显示它们具有较近的遗传距离;其中‘抗 2’和‘G1’之间的相似系数最大(0.995 0)。“77”与“95”、“503”、“K13”、“K18”、“千头”之间的相似系数小于 0.55,表明它们彼此存在较大的遗传差异。

表 3 51 份木麻黄植物材料的遗传多样性

引物	$N_a$	$N_e$	$H$	$I$
UBC807	1.9	1.6	0.353 8	0.513 9
UBC808	1.9	1.5	0.294 2	0.435 9
UBC810	1.6	1.3	0.174 1	0.273 2
UBC811	1.8	1.5	0.299 5	0.439 5
UBC813	1.7	1.5	0.272 7	0.405 2
UBC820	1.9	1.6	0.345 3	0.507 4
UBC822	1.8	1.4	0.266 8	0.406 1
UBC823	1.9	1.7	0.389 1	0.556 0
UBC826	1.8	1.4	0.225 0	0.348 9
UBC836	1.6	1.3	0.195 8	0.295 5
UBC842	1.7	1.5	0.281 5	0.407 1
UBC844	1.6	1.4	0.239 9	0.354 6
UBC845	1.9	1.4	0.287 2	0.443 0
UBC846	1.8	1.6	0.326 9	0.474 2
UBC847	1.7	1.4	0.246 0	0.368 6
UBC854	1.7	1.5	0.288 8	0.416 2
UBC855	1.6	1.5	0.249 0	0.357 5
UBC857	1.9	1.6	0.366 6	0.531 5
UBC860	1.8	1.5	0.293 2	0.434 7
UBC868	1.8	1.7	0.365 5	0.523 7
UBC890	1.5	1.4	0.218 8	0.314 4
UBC891	2.0	1.6	0.361 3	0.545 0
平均	1.8	1.5	0.288 2	0.425 1

注: $N_a$ :观察等位基因数; $N_e$ :有效等位基因数; $I$ :Shannon 信息指数; $H$ :Nei's 基因多样性指数。

## 2.3 聚类分析结果

为了明确 51 份木麻黄无性系之间的遗传关系,利用 ISSR 遗传相似系数矩阵构建聚类图(图 2)。所有供试材料在相似系数为 0.678 时,可被分为 2 大族群:第 I 类群是由‘K18’、‘W2’、‘95’、‘K13’、‘503’、‘千头’6 个无性系组成,其余无性系构成第 II

类群;当相似系数取 0.75 时,又可将第 II 类群分为 6 个组:第 1 组仅‘13’1 个无性系;第 2 组包括‘76’、‘77’和‘W8’3 个无性系;第 3 组包括‘58’、‘杂交’和‘501’3 个无性系;第 4 组仅‘59’1 个无性系;第 5 组包括‘W6’、‘78’和‘G88’3 个无性系;第 6 组为‘701’、‘83’、‘1’、‘37’‘宝 9’等 34 个无性系。

## 3 结论与讨论

### 3.1 ISSR 在木麻黄遗传多样性分析中的应用

ISSR(Inter-Simple Sequence Repeat)由于具有多态性高、稳定性好、DNA 用量少、产物特异性强等优点<sup>[16]</sup>,已被广泛应用于物种形成和种质鉴定<sup>[17]</sup>、遗传多样性研究等领域<sup>[18-20]</sup>。本文对木麻黄 ISSR-PCR 扩增的反应体系进行了摸索与改进,建立了适合于木麻黄 ISSR-PCR 分析的反应体系,并利用优化体系进行了多态性引物的筛选,保证了扩增结果的清晰、可靠和准确。研究结果表明:ISSR 标记在木麻黄上表现出较高的多态性,可有效地反映无性系间的亲缘关系状况,也适用于分析木麻黄无性系间的遗传多样性。

### 3.2 木麻黄无性系来源与分类

参试无性系由广东、福建及海南各省选育而来,ISSR 聚类结果表明:51 个木麻黄无性系并不能按来源地各自单独聚为 1 类。如本研究中,来自广东的‘K18’、‘W2’、‘K13’、‘503’首先与来自福建的‘95’‘千头’聚在一起,形成一大类群;其余广东 19 个无性系、福建 25 个无性系与海南 1 个无性系聚在一起,形成第 2 类群。海南无性系‘宝 9’与广东无性系‘X19’相似系数达 0.819 1,与福建无性系‘何 2’相似系数达 0.829 1。这是由于我国木麻黄遗传资源范围较窄,选育出的优良无性系因其性状优良被各地区频繁引用,各地区种质交流频繁,种质资源相互渗透,使得地域阻隔减弱。因此,参试无性系亲缘关系的远近与其来源相关不大。

### 3.3 51 个木麻黄无性系的遗传多样性

木麻黄科植物分布范围广,有 4 个属 96 个种,在分子标记上呈现遗传多样性。Yasodha 等<sup>[8]</sup>用 ISSR 和 FISSR 技术分析了异木麻黄属的 6 个种、木麻黄属的 5 个种和 12 个选优的短枝木麻黄样品,ISSR 分析表明 11 个种的遗传相似系数为 0.251 0。本研究中,51 个木麻黄无性系相似系数为 0.467 3~0.995 0,平均多态性百分率为 77.4%,有效等位基因数( $N_e$ )为 1.5,Nei's 基因多样性指数( $H$ )为 0.288 2,Shannon

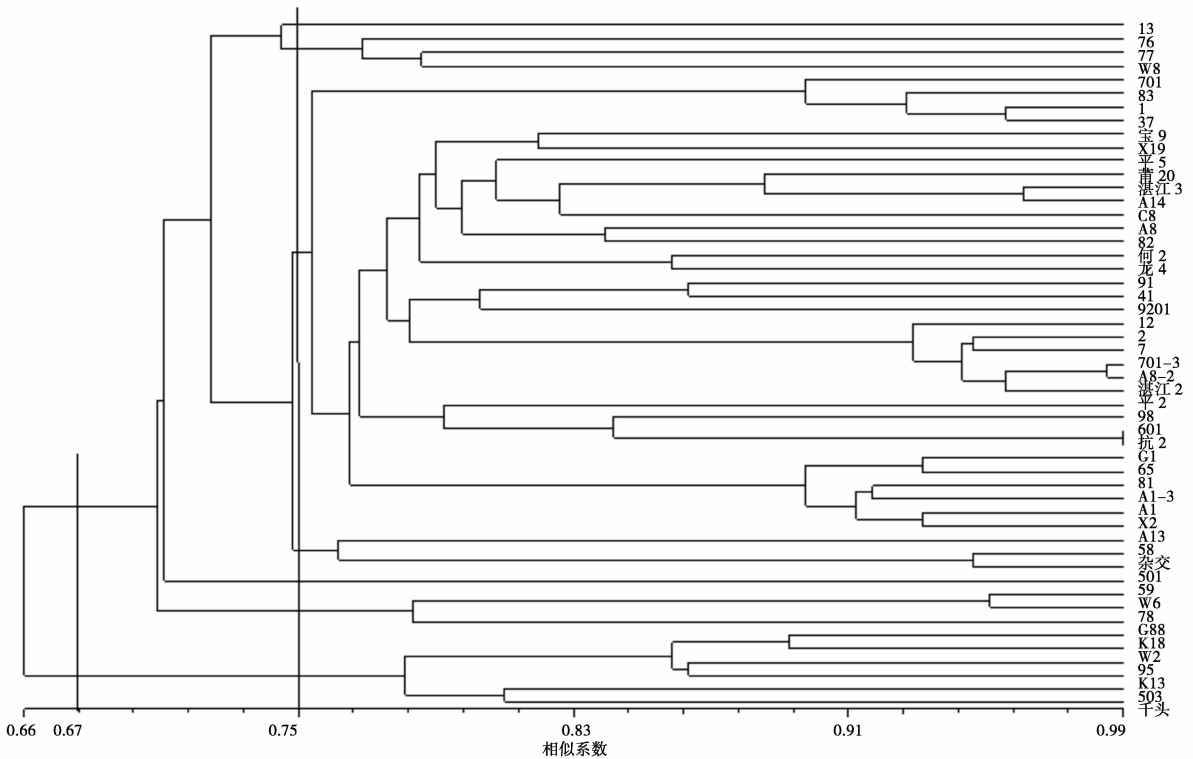


图2 建立在 ISSR 数据基础上的 51 份木麻黄无性系的聚类图

信息指数 ( $I$ ) 为 0.425 1, 显示出比较狭窄的遗传基础。究其原因, 一是由于 20 世纪 50—60 年代我国沿海热带、亚热带地区主要种植普通木麻黄、细枝木麻黄和粗枝木麻黄 3 个树种, 其中普通木麻黄占 60% 以上, 80—90 年代沿海各省选育出的优良无性系都来自于亲缘关系比较接近的亲本或是遗传背景比较相似的选种群体, 遗传多样性不高; 二是选育出的优良无性系因其综合性状优良而被频繁用作木麻黄育种的亲本材料, 遗传多样性降低; 三是各省选育出的优良种质资源相互渗透、相互引用, 造成遗传基础相对单一。因此, 今后为了防止木麻黄遗传多样性的进一步丢失, 必须注重木麻黄资源的收集、保存和保护; 为了扩大木麻黄育种材料的遗传基础, 还必须加强种质引进工作, 有目的地扩大亲本的遗传基础, 重视育种亲本的选择。

### 3.4 木麻黄优良无性系的选择与利用

木麻黄作为我国东南沿海防护林不可替代的当家树种, 主要种植于广东、福建、海南。随着木麻黄无性系良种的选育和推广, 各地区在生产活动中通常只推广应用某一种或几种特定的、优质高产的优良无性系。在广东, A13 无性系占 95% 以上, 在海南, 宝 9 无性系占 95% 以上, 相对单一的无性系大面积造林使防护林带出现退化、林木生长衰退、局部病

虫害蔓延、整个沿海防护林体系处于极大的风险之中, 因此, 需要增加新的优良无性系用于沿海防护林体系建设, 或是通过杂交亲本的选配进行制种, 以期拓宽沿海防护林的遗传基础, 增强沿海防护林的生态安全。广东省林科院的前期研究表明: 51 个参试无性系中 ‘W2’、‘W6’、‘K18’、‘G1’、‘K13’、‘X19’ 在广东生长速度最快<sup>[21]</sup>; ‘G1’、‘W8’、‘C8’、‘701’、‘A8-2’、‘501’ 抗旱、抗风能力最强; ‘G1’、‘X19’、‘X2’、‘G88’ 抗青枯病能力较强; ‘莆 20’、‘701’、‘W2’、‘59’、‘A13’、‘K13’、‘X2’、‘W6’ 对盐具有较强的抵抗能力。在生产或研究上利用这些优良材料时, 要充分考虑到它们之间遗传变异水平和亲缘关系, 如 ‘K18’、‘W2’ 和 ‘K13’ 生长迅速, 但亲缘关系较近, 为了增加沿海防护林遗传多样性, 不宜同时大面积推广这 3 个无性系; ‘G1’ 与 ‘G88’ 抗青枯病能力都较强, 由于它们亲缘关系较远, 同时推广应用既能增加防护林带的遗传多样性, 又能抵抗青枯病的发生与蔓延。因此, 基于 ISSR 分子标记建立的亲缘关系树状图在分子水平上显示了供试无性系品种间的亲缘关系, 为今后木麻黄优良无性系的推广应用及育种亲本的选配提供了理论依据, 有效避免选育出的优良材料遗传基础逐步单一化。

## 参考文献:

- [1] Midgley S J, Turnbull L, Johnston R D. *Casuarina Ecology* [M]. Canberra:CSIRO, Management and Utilization, 1983
- [2] 仲崇禄, 白嘉雨. 山地木麻黄家系遗传参数估算与家系选择[J]. 林业科学研究, 1998, 11(4): 361-369
- [3] 林什全, 仲崇禄, 白嘉雨. 广东省电白县 5 年生山地木麻黄种源试验及评选[J]. 林业科学研究, 2003, 16(4): 506-510
- [4] 王明怀, 陈建新, 殷祚云, 等. 五种木麻黄的种源引种初报[J]. 林业科学研究, 2002, 15(6): 751-755
- [5] 仲崇禄, 施纯淦, 王维辉, 等. 华南地区短枝木麻黄种源试验[J]. 林业科学研究, 2001, 14(4): 408-415
- [6] 叶功富, 玛泽幸, 潘惠忠, 等. 木麻黄国际种源苗期生长及抗盐性试验[J]. 福建林学院学报, 1995, 15(4): 301-306
- [7] Moran G F, Bell J C, Turnbull J W. A cline in genetic diversity in river She-oak *Casuarina cunninghamiana* [J]. *Aust Bot*, 1989, 37(2):169-180
- [8] Yasodha R, Kathirvel M, Sumathi R, *et al.* Genetic analyses of *Casuarinas* Using ISSR and FISSR markers [J]. *Genetica*, 2004, 122(2):161-172
- [9] 郭启荣, 林益明, 周涵滔, 等. 4 种木麻黄亲缘关系的 RAPD 分析[J]. 厦门大学学报:自然科学版, 2003, 42(3): 378-383
- [10] 叶功富, 罗美娟, 林益明, 等. 短枝木麻黄地理种源遗传多样性的 RAPD 分析[J]. 厦门大学学报:自然科学版, 2005, 44(6):856-860
- [11] 罗美娟, 叶功富, 卢昌义. 短枝木麻黄群体的遗传分化和遗传结构[J]. 福建林学院学报, 2007, 27(4): 343-348
- [12] 黄桂华. 短枝木麻黄种质资源遗传多样性的 AFLP 分析[D]. 北京: 中国林业科学研究院林业研究所, 2006
- [13] SU Y J, WANG T, YANG W D, *et al.* DNA extraction and RAPD analysis of *Podocarpus* [J]. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni*, 1998, 37(4): 13-18
- [14] 姜 静, 杨传平, 刘桂丰, 等. 利用 RAPD 标记技术对桦树种间亲缘关系的分析[J]. 林业科学, 2002, 38(1): 154-156
- [15] Nei M. Analysis of gene diversity in subdivided populations [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1973 (70): 3321-3323
- [16] 段昌群. 生态科学进展: 第一卷 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2004
- [17] Andrea D W, Xiang Q Y, Kephart S R. Assessing hybridization in natural population of *Penstemon* (Scrophulariaceae) Using hyper-variable Inter-simple sequence repeat (ISSR) bands [J]. *Molecular Ecology*, 1998, 7(9): 1107-1125
- [18] 王永清, 付 燕, 杨 琴, 等. 枇杷属植物遗传多样性的 ISSR 分析[J]. 林业科学, 2010, 46(4):49-57
- [19] 倪 穗, 李纪元, 王 强. 20 个茶花品种遗传关系的 ISSR 分析[J]. 林业科学研究, 2009, 22(5):623-629
- [20] 姚明哲, 陈 亮, 王新超, 等. 我国茶树无性系品种遗传多样性和亲缘关系的 ISSR 分析[J]. 作物学报, 2007, 33(4): 598-604
- [21] 谢金链, 许秀玉, 王明怀, 等. 木麻黄无性系造林对比试验[J]. 广东林业科技, 2010, 26(2): 30-35