

基于 CE-AFLP 的 5 个美洲黑杨新品种 指纹图谱分析

贾会霞, 胡建军*, 卢孟柱

(林木遗传育种国家重点实验室, 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)

摘要:以 5 个美洲黑杨新品种(丹红杨、南杨、中林 2025 杨、中红杨和全红杨)为实验材料,利用 CE-AFLP(毛细管电泳-AFLP)技术,采用 *EcoR* I+3/*Mse* I+3 和 *Pst* I+2/*Mse* I+3 引物组合构建指纹图谱,并进行遗传多样性分析。结果表明:从 36 对引物组合中筛选出 12 对扩增条带数目多、稳定且清晰的引物进行扩增,共获得条带数 877 条,多态性条带数 315 条,平均多态率为 35.92%。采用 UPGMA 法进行聚类分析,相似系数为 0.74~1.00;丹红杨与南杨之间的差异较大;在相似系数 0.98 时,中林 2025 杨与中红杨和全红杨分为两类,11 条稳定特异的条带可以作为鉴别它们的依据;全红杨和中红杨之间未监测到稳定清晰的特异条带,初步认为 2 个品种在基因组水平上没有明显差异。

关键词:CE-AFLP;美洲黑杨;遗传多样性;指纹图谱

中图分类号:S718.46

文献标识码:A

Fingerprint Analysis of Five New Cultivars of *Populus deltoides* Based on CE-AFLP

JIA Hui-xia, HU Jian-jun, LU Meng-zhu

(State Key Laboratory of Tree Genetics and Breeding, Research Institute of Forestry, Chinese Academy of Forestry,
Key Laboratory of Tree Breeding and Cultivation of State Forestry Administration, Beijing 100091, China)

Abstract: CE-AFLP (Capillary electrophoresis-amplified fragment length polymorphism) was used to construct the fingerprint and analyze the genetic diversity of five new cultivars of *Populus deltoides*, including *Populus deltoides* CL. 'Danhong', *P. deltoides* CL. 'Nan', *P. deltoides* CL. 'Zhonglin2025', *P. deltoides* CL. 'Zhonghong', and *P. deltoides* CL. 'Quanhong'. The primer combinations of *EcoR* I+3/*Mse* I+3 and *Pst* I+2/*Mse* I+3 were used in this study. The result indicated that 12 pairs of primers could be detected with many stable and clear amplified bands in all the 36 primer pairs. 877 bands were obtained, including 315 polymorphic bands, and the polymorphism frequency was 35.92%. UPGMA cluster analysis showed that the similarity coefficient ranged from 0.74 to 1.00. The difference between 'Danhong' and 'Nan' was large. The similarity coefficient of 'Zhonghong' and 'Quanhong' with 'Zhonglin2025' was 0.98. 11 stable and clear specific bands could be used to identify these cultivars. There were not detected stable and clear specific bands between 'Zhonghong' and 'Quanhong'. It suggested that the variability of genomic between the two cultivars was not dramatic.

Key words: CE-AFLP; *Populus deltoides*; fingerprint; genetic diversity

收稿日期:2012-01-16

基金项目:林业行业公益类重大专项(201304103);“863”计划(2011AA100201);林木遗传育种国家重点实验室专项课题(CAFYBB2012041)

作者简介:贾会霞(1987—),女,硕士研究生.主要研究方向:林木遗传育种. Email:huixia_jia@126.com

* 通讯作者:胡建军(1969—),男,博士,副研究员.主要研究方向:林木遗传育种. Email:hujj@caf.ac.cn

杨树是营造速生丰产林、防护林、水土保持林和四旁绿化林极为重要的树种。近百年来,世界各国的杨树改良育种工作发展迅速,通过杂交育种已培育出许多优良品种,如: I-69 杨 (*Populus deltoides* cv. 'Lux')、I-72 杨 (*P. euramericana* cv. 'San Martino')、I-63 杨 (*P. deltoides* cv. 'Harvard')、50 号杨 (*P. deltoides* CL. '55/56')、36 号杨 (*P. deltoides* CL. '2KEN8')、107 杨 (*P. × euramericana* cv. '74/76') 和 108 杨 (*P. × euramericana* cv. 'Guariento') 等。从 20 世纪 60、70 年代开始,我国先后引入了这些优良品种,主要用于速生丰产林,种植广泛,产生了巨大的经济效益^[1-3]。在国内,杨树的育种工作也在迅速进行,通过常规杂交育种技术,培育出许多速生杨树新品种,如:南抗杨 (*P. deltoides* CL. 'Nankang')、创新杨 (*P. deltoides* CL. 'Xinshiji')、丹红杨 (*P. deltoides* CL. 'Danhong')、南杨 (*P. deltoides* CL. 'Nan')、中林 46 杨 (*P. deltoides* CL. 'Zhonglin46')、中林 2025 杨 (*P. deltoides* CL. 'Zhonglin2025') 等^[4];通过基因工程育种培育出的世纪杨 (*P. nigra* C L. '12'),大田抗食叶害虫效果显著,在我国已得到了商业化种植^[5]。近几年,丹红杨和南杨因其速生、抗病虫害、易成活和干形通直等优良性状,在黄河中下游、长江流域等广大地区推广种植取得了成功^[6-7];而中红杨 (*P. deltoides* CL. 'Zhonghong') 和全红杨 (*P. deltoides* CL. 'Quanhong') 因其叶子为红叶,雄株,无飞絮,用于道路、城市郊区、四旁绿化中,具有立地成林、立地成景的效果^[8]。目前,这几个美洲黑杨种内杂交种在生产上多采用形态特征进行区别,但它们的遗传差异如何,在基因组水平上的鉴定未见相关报道。

目前,对植物基因组水平上的鉴定常采用分子标记的方法,其中,AFLP(扩增片段长度多态性)^[9]是一种检测 DNA 多态性效应最高的分子标记方法,由于该技术多态性高、重复性好,能分辨出很小的种质遗传差异,是一种非常理想的 DNA 分子标记技术,已被广泛用于种质遗传多样性和品种鉴定等研究中^[10-13]。尹佟明等^[14]利用 AFLP 对 42 个美洲黑杨无性系进行了指纹图谱分析,宋红竹等^[15]利用 AFLP 对杨属 5 个派中 20 个种及杂种的 44 份材料进行遗传多样性分析,李金花等^[16]利用 AFLP 技术建立了 10 个北方黑杨派栽培品种的指纹图谱,李淑娴等^[17]对松属树种的种苗进行了 AFLP 指纹鉴定的研究,王利等^[18]利用 AFLP 对 49 个银杏雌株种质进

行了遗传关系研究,闵会等^[19]对香榧天然群体的遗传多样性进行了 AFLP 分析。CE-AFLP(毛细管电泳-AFLP)是在 AFLP 的基础上,采用 CE 技术检测荧光扩增产物的一种新型的高通量检测方法^[20-23],具有操作简便、分辨率高、效率高、自动统计数据等优点。季鹏章^[24]等利用 CE-AFLP 对西双版纳地区的 4 个古茶园和 2 个台地茶园进行了遗传多样性分析,李凤霞等^[25]采用此方法对 28 份烟草野生种和 5 份栽培种进行了荧光 AFLP 分析。本研究采用 CE-AFLP 对丹红杨、南杨、中林 2025 杨、中红杨和全红杨 5 个美洲黑杨新品种进行遗传多样性分析,并构建其指纹图谱,从分子水平上为新品种鉴定与保护提供科学的理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

丹红杨和南杨是中国林业科学研究院培育出来的速生杨树新品种,是以我国从意大利引进的 2 个美洲黑杨无性系 50 号杨为母本、36 号杨为父本,通过杂交育种选育的 2 个优良无性系,适合速生丰产林、农田防护和四旁绿化。中荷 1 号杨 (*P. deltoides* Bartr C L. 'Zhonghe-1'),又名中林 2025 杨,是中国林业科学研究院林业研究所黄东森以 I-69 杨为母本,以意大利罗马农林研究中心提供的美洲黑杨为父本,经过杂交选育得到的优良无性系。中红杨来源于中林 2025 杨的芽变,是河南省林科院朱延林等培育得到的杨树新品种。全红杨是在中红杨的基础上进一步选育而来,与中红杨相比,红叶期更长,且叶柄、叶脉和树干为紫红色。

丹红杨和南杨采自中国林业科学研究院苗圃,中林 2025 杨、中红杨、全红杨(包括全红杨原株、返祖苗、夏季嫁接苗和 2 根 1 杆平茬苗)由北京万林园生态科技有限公司提供。2011 年 9 月收集 5 个美洲黑杨品种,在温室扦插育苗,10 月下旬萌发出嫩叶,采集嫩叶放入自封袋中,用冰盒带回实验室置于 -80 ℃ 冰箱中备用,室内试验在中国林科院林木遗传育种国家重点实验室进行,分别做了 2 次生物学重复和 3 次技术重复。

1.2 DNA 的提取

采用 CTAB 法。取 2~3 片冷冻保藏的嫩叶放入研钵中,液氮研磨,研磨后放入 2 mL 离心管中,加入 800 μL 65 ℃ 预热的 2 × CTAB 缓冲液,水浴 30 min,室温冷却后加入 800 μL 饱和酚/氯仿/异戊醇

混合液(V/V/V = 25: 24: 1), 轻柔混匀后, 12 000 r · min⁻¹离心 10 min。取 700 μL 的上清液转入新离心管中, 加入等体积的饱和酚/氯仿/异戊醇混合液混匀, 12 000 r · min⁻¹离心 10 min。取 600 μL 的上清液加入 2 倍体积预冷的无水乙醇, -20 °C 静置 30 min 后, 12 000 r · min⁻¹离心 10 min。用 70% 乙醇洗涤 2 次, 自然条件下风干, 加入 400 μL 灭菌 ddH₂O 溶解 DNA, 溶解完全后, 加入 0.5 μL RNase (10 mg · mL⁻¹), 37 °C 水浴 30 min。加入等体积的饱和酚/氯仿/异戊醇混合液混匀, 12 000 r · min⁻¹离心 10 min。取上清, 用 2 倍体积的无水乙醇沉淀 DNA, 12 000 r · min⁻¹离心 20 min。洗涤风干后, 加入 50 μL 的灭菌 ddH₂O 溶解 DNA。1.0% Agrose 凝胶电泳检测 DNA 质量。用紫外分光光度计测定样品 DNA 的浓度和纯度, 将浓度稀释至 200 ng · L⁻¹, 置于 -20 °C 冰箱中备用。

1.3 AFLP 分析

AFLP 分析方法按照吕金辉等^[26]在柳树上建立的体系, 仅对酶切部分进行改进。采用 *EcoR* I / *Mse* I 和 *Pst* I / *Mse* I 两组限制性内切酶进行双酶切, 酶切体系: 10 × buffer 2 μL, 内切酶各 0.5 μL, DNA 2 μL, 100 × BSA 0.2 μL, 灭菌 ddH₂O 14.8 μL, 总体积 20 μL; 37 °C 过夜酶切。选择性扩增采用 *EcoR* I + 3/*Mse* I + 3 和 *Pst* I + 2/*Mse* I + 3 引物组合, 其中, *Mse* I + 3 引物的 5' 端加 Cy5 荧光, 选择性扩增的产物上均带有荧光。

采用 CE 技术检测选择性扩增产物, 选择性扩增后的荧光产物于 GenomeLab GeXP 遗传分析系统中进行毛细管电泳。将甲酰胺与 400 bp 内标按 100:1 的体积比混匀后, 吸取 20 μL 加入上样板中, 再加入 0.3 ~ 0.5 μL 选择性扩增产物, 离心后加一滴矿物油防止样品蒸发, 然后用 CEQ 8000 遗传分析仪进行毛细管电泳。CE 检测程序: 变性 90 °C, 120 s; 吸样 2.0 kv, 120 s; 分离 6.0 kv, 40 min。

1.4 数据分析

GeXP 系统中的 Fragments 片段分析软件可对数据库收集的原始数据进行分析, 将各泳道内分子量内标的位置与各样品峰值的位置做比较, 得到片段大小范围为 60 ~ 400 bp。根据荧光信号识别的片段数据结合 CE 图, 将有峰值的位置记为 1, 无峰值记为 0, 转换为 0、1 矩阵; 然后对各种重复间的差异进行比较, 将重复性好且条带清晰的条带记为 1, 将重复性差的带型剔除, 调整仪器自动输出的矩阵值。

采取 NTSYS2.10 分析软件中的 SM (简单系数匹配) 法计算样品种间的相似系数, 并用 SAHN Clustering 进行 UPGMA (非加权成对算术平均法) 进行聚类分析, 最后通过 Tree plot 模块生成聚类图。

2 结果与分析

2.1 DNA 质量检测

高质量的基因组 DNA 是进行 AFLP 实验和数据分析的前提条件。本实验采用 CTAB 法提取的基因组 DNA, 电泳图条带清晰, 没有弥散带 (图 1), A260/A280 介于 1.8 ~ 2.0 之间, A260/A230 大于 2.0, 说明所提取的基因组 DNA 完整且质量较高, 符合 AFLP 实验要求 (图 1)。

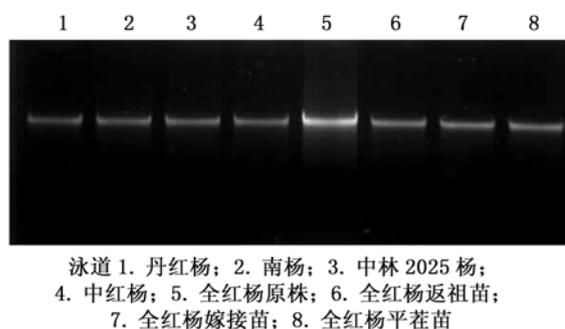
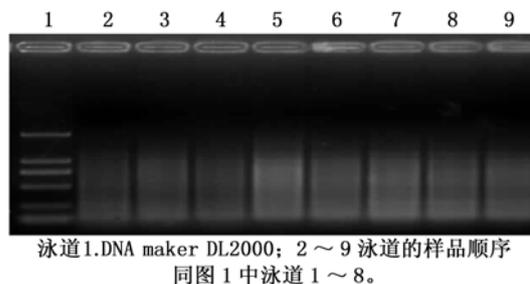


图 1 5 个美洲黑杨新品种基因组 DNA 提取后电泳检测结果

2.2 酶切连接结果检验

酶切和连接是否完全直接影响到 AFLP 结果的准确性, 通过预扩增电泳结果检测。预扩增后取 8 μL 于 1% 琼脂糖胶上电泳, 结果显示: DNA 酶切完全, 连接、预扩增后能够扩增出大量的产物 (图 2)。



泳道 1. DNA maker DL2000; 2 ~ 9 泳道的样品顺序同图 1 中泳道 1 ~ 8。

图 2 引物 *EcoR* I + A / *Mse* I + C 对 5 个美洲黑杨新品种样品 DNA 预扩增的电泳结果

2.3 AFLP 多态性分析

从 36 对引物组合中筛选出 12 对扩增条带较多且较稳定的引物组合, 对 8 个样品进行扩增, 扩增条带多分布在 60 ~ 400 bp 之间, 获得总条带 877 条, 多态性条带共 315 条, 平均多态率为 35.92%, 12 对引物的多态率为 26.87% ~ 50.77% (表 1)。

表1 12对不同引物组合的扩增结果

引物组合	总条带/条	多态性条带/条	多态率/%
EAAG/MCTT	62	29	46.77
EACA/MCAT	53	23	43.40
EAAG/MCAA	62	20	32.26
PCA/MAAG	116	35	30.17
PCC/MACC	50	21	42.00
PCA/MCAG	78	30	38.46
PCC/MCAG	56	21	37.50
PCC/MCAT	67	18	26.87
PAA/MCTG	100	27	27.00
PCC/MCTT	55	25	45.45
PAA/MGGC	65	33	50.77
PCA/MTTG	113	33	29.20
总数	877	315	35.92
平均	73.08	26.25	35.92

12对引物均能检测到丹红杨和南杨之间的特异条带,5对引物(PCC/MACC、PCA/MCAG、PCC/MCAT、PAA/MCTG和PCA/MTTG)能检测到2025杨和中红杨之间有11条特异条带,PCC/MACC和PCC/MCAT各能检测到1条特异条带,PCA/MCAG检测到2条特异条带,PCA/MTTG检测到3条特异条带,PAA/MCTG检测到4条特异条带;但是全红杨(原株、返祖苗、嫁接苗和平茬苗)和中红杨的带型之间没有明显清晰的带型差异。图3为PAA/MCTG对5个品种在150~250bp范围内的扩增图谱,全红杨为平茬苗的图谱。

2.4 聚类分析

将12对引物组合扩增出的条带作为原始矩阵,用NTSYS2.10软件计算并分析这5个杨树品种之

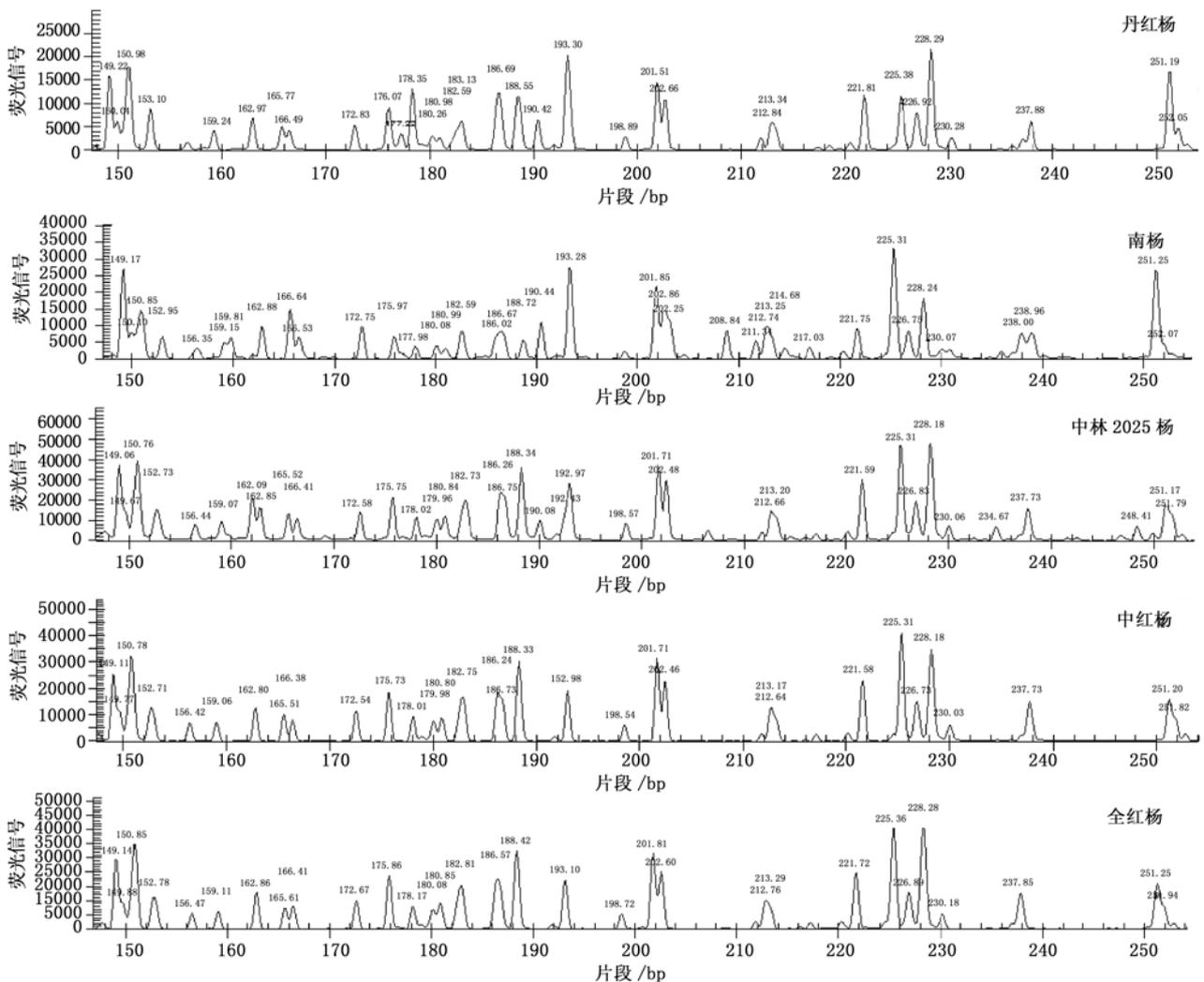


图3 引物组合 PAA/MCTG 对5个杨树品种的扩增图谱(150~250 bp)

间的遗传相似度,获得聚类图(图 4)。在相似系数为 0.743 时可以分为 2 大类群,丹红杨与 2025 杨、中红杨和全红杨聚为 1 类,南杨独自为 1 类;在相似系数为 0.833 时,2025 杨、中红杨和全红杨与丹红杨分开;在相似系数为 0.980 时,中红杨和全红杨聚为 1 类,与 2025 杨分开;最后,全红杨原株、返祖苗、嫁接苗和平茬苗聚在一起。由此可见,丹红杨和南杨虽然都来自同一亲本,但在基因组上存在较大的差异;2025 杨、中红杨和全红杨属于同一无性系,但由于长期扩繁、选育或环境影响,基因组之间存在细微的差异。

2.5 指纹图谱构建

根据 12 对引物扩增的多态性条带构建 5 个杨树品种的 DNA 指纹图谱,在所构建的指纹图谱中(表 2),丹红杨、南杨、中林 2025 杨、中红杨都有自

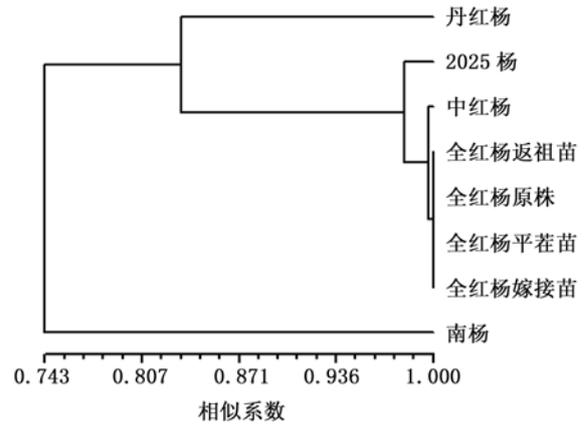


图 4 基于 AFLP 结果的 8 份材料的聚类图

身独特的带型,可以作为品种鉴定的理论依据,然而中红杨和全红杨之间的带型几乎没有差异。

表 2 引物组合 PAA-MCTG 对 5 个美洲黑杨新品种构建的指纹图谱

品种	片段/bp																								
	67	87	92	93	98	109	120	177	190	203	209	215	217	235	239	248	259	277	290	292	294	295	299	398	399
丹红杨	0	0	1	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0
南杨	1	1	1	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	0	1	1	0	1
中林 2025 杨	1	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	1
中红杨	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1
全红杨	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1

3 结论与讨论

本研究利用 CE-AFLP 成功构建了丹红杨、南杨、中林 2025 杨、中红杨和全红杨的指纹图谱,并进行了遗传多样性分析,可以作为鉴别这些品种的理论依据。实验结果显示:丹红杨与南杨之间的差异较大;中林 2025 杨与中红杨之间存在较小差异,11 条稳定特异的带型可以作为鉴别它们的依据;全红杨和中红杨之间未监测到稳定清晰的特异条带。

丹红杨和南杨虽然具有同样的母本(50 号杨)和父本(36 号杨),但相似系数为 0.74,说明这 2 个品种基因组之间存在许多差异。丹红杨为雌株,南杨为雄株,这可能是其造成差异的原因之一。丹红杨与 2025 杨、中红杨和全红杨来自不同的父母本,却聚为一类,这是由于 2025 杨确切的父本未知,该父本可能与 36 号杨的亲缘关系较近;杂交时花粉可能受到污染;由于长期扩繁的原因造成材料发生混乱。冯锦霞等^[27]在利用荧光 SSR 技术对丹红杨和巨霸杨(南杨)与亲本进行亲子鉴定时,也发现丹红杨有 2 个 SSR 位点在亲本中没有出现,不符合孟德

尔遗传定律。本实验没有对父母本进行鉴定,且与冯锦霞取样地一样,所以确切原因还需进一步的研究。

中林 2025 杨、中红杨和全红杨属于同一无性系,前 2 个品种之间存在明显的带型差异,但是全红杨和中红杨之间没有监测到非常稳定清晰的特异条带。在利用 AFLP 对植物进行指纹图谱构建和遗传多样性分析的研究中,通常筛选出 4~16 对条带数目多且分辨率高的引物组合进行鉴定^[28-31]。在本研究中,采用 12 对引物组合未能将全红杨和中红杨区分开,初步说明两个品种在基因组水平上差异不明显。

由于传统的 AFLP 标记是通过聚丙烯酰胺凝胶电泳检测扩增片段,程序繁琐、可读性低且容易判读错误。CE 技术一次可进行 96 孔板的检测,片段大小可以精确到 1 bp,并且可以将扩增条带自动转化成 0、1 矩阵,克服了传统 AFLP 的缺点,具有效率高、灵敏度高等优点,应用前景广阔。近年来,有研究将 AFLP 的扩增产物通过回收、克隆、测序、设计引物和再扩增,转化 SCAR(序列特异扩增区域)共

显性标记,可迅速、简便、高效地检测大量样本^[32-36],因此,在今后杨树指纹图谱的构建中可以大力开展 SCAR 标记的研究。

参考文献:

- [1] 方升佐. 中国杨树人工林培育技术研究进展[J]. 应用生态学报, 2008, 19(10): 2308-2316
- [2] 刘喜荣, 安丽, 刘长敏, 等. 廊坊地区黑杨派新无性系引种试验结果初报[J]. 林业实用技术, 2009(7): 23-24
- [3] 王会刚, 马鸿鹏, 田新辉, 等. 10个速生杨品种对比试验研究[J]. 河北林果研究, 2009, 24(4): 357-361
- [4] 陈章水. 杨树栽培实用技术[M]. 北京: 中国林业出版社, 2005: 115-128
- [5] 胡建军, 李淑梅, 卢孟柱, 等. 转 *Bt* 基因欧洲黑杨抗虫稳定性及其对天敌昆虫的影响[J]. 林业科学研究, 2007, 20(5): 656-659
- [6] 张春玲, 李淑梅, 赵自成, 等. 杨树新品种‘丹红杨’[J]. 林业科学, 2008, 44(1): 169
- [7] 韩文超. 速生抗虫杨树新品种-巨霸[J]. 农村实用技术与信息, 2005(12): 37
- [8] 朱延林, 程相军. 杨树新品种-中红杨[J]. 林业科学, 2008, 44(10): 173-174
- [9] Vos P, Hogers R, Bleeker M, et al. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting[J]. Nucleic acids research, 1995, 23(21): 4407-4414
- [10] Muluvi G, Sprent J, Soranzo N, et al. Amplified fragment length polymorphism (AFLP) analysis of genetic variation in *Moringa oleifera* Lam[J]. Molecular Ecology, 1999, 8(3): 463-470
- [11] Sharma S K, Knox M R, Ellis T H N. AFLP analysis of the diversity and phylogeny of *Lens* and its comparison with RAPD analysis[J]. TAG Theoretical and Applied Genetics, 1996, 93(5): 751-758
- [12] 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
- [13] Vuylsteke M, Peleman J D, Van Eijk M J T. AFLP technology for DNA fingerprinting[J]. Nature protocols, 2007, 2(6): 1387-1398
- [14] 尹俊明, 孙晔. 美洲黑杨无性系 AFLP 指纹分析[J]. 植物学报: 英文版, 1998, 40(8): 778-780
- [15] 宋红竹, 张绮纹, 周春江. 杨树部分种的 AFLP 遗传多样性分析[J]. 林业科学, 2007, 43(12): 64-69
- [16] 李金花, 宋红竹, 周春江, 等. 北方地区黑杨派栽培品种的 AFLP 指纹分析[J]. 林业科学研究, 2009, 22(2): 207-212
- [17] 李淑娴, 陈志银, 沈元宝, 等. 松属树种种苗鉴定中 AFLP 指纹技术的研究[J]. 南京林业大学学报: 自然科学版, 2003, 27(3): 1-6
- [18] 王利, 邢世岩, 王芳, 等. 银杏雌株种质遗传关系的 AFLP 分析[J]. 林业科学, 2008, 44(4): 48-53
- [19] 闵会, 程诗明, 康志雄, 等. 香榧天然群体遗传多样性的 AFLP 分析[J]. 林业科学研究, 2009, 22(3): 367-372
- [20] Wong K, Chuan Y, Aggarwal A, et al. Identifying patterns of DNA for tumor diagnosis using capillary electrophoresis-amplified fragment length polymorphism (CE-AFLP) screening[J]. Journal of Bioinformatics and Computational Biology, 2004, 2(3): 569-588
- [21] Luo M C, Thomas C, You F M, et al. High-throughput fingerprinting of bacterial artificial chromosomes using the snapshot labeling kit and sizing of restriction fragments by capillary electrophoresis[J]. Genomics, 2003, 82(3): 378-389
- [22] Maguire T, Peakall R, Saenger P. Comparative analysis of genetic diversity in the mangrove species *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. (Avicenniaceae) detected by AFLPs and SSRs[J]. TAG Theoretical and Applied Genetics, 2002, 104(2): 388-398
- [23] Karaca M, Saha S, Zipf A. Genetic diversity among forage bermudagrass (*Cynodon* spp.): evidence from chloroplast and nuclear DNA fingerprinting[J]. Crop science, 2002, 42(6): 2118-2127
- [24] 季鹏章, 蒋会兵, 黄兴奇, 等. 古茶园, 台地茶园遗传多样性的 AFLP 分析[J]. 遗传, 2009, 31(1): 101-108
- [25] 李凤霞, 王卫锋, 王鲁, 等. 烟草属植物遗传多样性和亲缘进化关系的荧光 AFLP 分析[J]. 中国农业科学, 2010, 43(12): 2418-2427
- [26] 吕金辉, 胡建军, 卢孟柱. 基于毛细管电泳的柳树 AFLP 分子标记研究[J]. 北京林业大学学报, 2012, 34(1): 51-57
- [27] 冯锦霞, 张川红, 郑勇奇, 等. 利用荧光 SSR 标记鉴别杨树品种[J]. 林业科学, 2011, 47(6): 167-174
- [28] Ma Q, Zhang J, Pei D. Genetic analysis of *Walnut cultivars* in China using fluorescent amplified fragment length polymorphism[J]. Journal of the American Society for Horticultural Science, 2011, 136(6): 422-428
- [29] Braglia L, Bruna S, Lanteri S, et al. An AFLP-based assessment of the genetic diversity within *Hibiscus rosa-sinensis* and its place within the *Hibiscus* genus complex[J]. Scientia Horticulturae, 2010, 123(3): 372-378
- [30] 程小毛, 岳琳, 黄晓霞. 基于 AFLP 标记技术的三翅槭与三角枫亲缘关系分析[J]. 中国农学通报, 2011, 27(16): 79-83
- [31] 黄仁志, 颜新培, 李健, 等. 湖南省 10 个现行栽培茶树品种的 AFLP 指纹图谱分析[J]. 蚕业科学, 2009, 35(4): 837-841
- [32] Julio E, Verrier J, Dorlhac de Borne F. Development of SCAR markers linked to three disease resistances based on AFLP within *Nicotiana tabacum* L[J]. TAG Theoretical and Applied Genetics, 2006, 112(2): 335-346
- [33] Negi M, Devic M, Delseny M, et al. Identification of AFLP fragments linked to seed coat colour in *Brassica juncea* and conversion to a SCAR marker for rapid selection[J]. TAG Theoretical and Applied Genetics, 2000, 101(1): 146-152
- [34] Shen A, Li H, Wang K, et al. Sequence characterized amplified region (SCAR) markers-based rapid molecular typing and identification of *Cunninghamia lanceolata*[J]. African Journal of Biotechnology, 2011, 10(82): 19066-19074
- [35] Sarwat M, Nabi G, Das S, et al. Molecular markers in medicinal plant biotechnology: past and present[J]. Critical Reviews in Biotechnology, 2012, 32(1): 74-92
- [36] Miao L, Shou S, Cai J, et al. Identification of two AFLP markers linked to bacterial wilt resistance in tomato and conversion to SCAR markers[J]. Molecular biology reports, 2009, 36(3): 479-486