

文章编号:1001-7380(2015)05-0001-05

黑莓杂交优株的 SSR 指纹图谱鉴定

张春红¹, 卫云丽¹, 吴文龙¹, 马 兵², 李维林^{1*}

(1. 中国科学院植物研究所, 江苏 南京 210014; 2. 南京中植农业科技开发有限公司, 江苏 南京 211225)

摘要:运用 SSR 分子标记技术,对来自相同或不同亲本的 6 个黑莓潜力杂交组合优株进行了分子鉴定,确定指纹图谱。结果表明,78 对 SSR 引物中共有 25 对在 4 个亲本品种中具有多态性。将各自在不同杂交组合亲本中具有多态的引物用于优株鉴别,发现 Kiowa × Arapaho 组合中的 3 个优株有 12 对亲本间呈多态的引物可以鉴别,优株 10-2n-1 有 6 对扩增为杂合带型,10-2n-2 和 10-2n-5 均有 5 对,其余则偏父本或母本一方,且有 5 对引物可以区分 3 个优株;来自 Chester × Kiowa 组合的优株 10-5n-2 在 18 对多态引物中多扩增为双亲重组类型,推测其性状可能多介于双亲之间;来自 Hull × Kiowa 组合的优株 10-6n-1-1 和 10-6n-1 在 6 对多态引物扩增结果中,10-6n-1-1 多继承了父本的带型,而 10-6n-1 扩增多显示为双亲杂合带型。鉴定结果为育种中相同亲本杂交组合黑莓优株区分提供了依据,也一定程度上揭示了黑莓杂交重组中的复杂性和不确定性。

关键词:黑莓;杂交优株;SSR 标记;DNA 指纹图谱

中图分类号:S663.2 文献标志码:A doi:10.3969/j.issn.1001-7380.2015.05.001

DNA fingerprinting identification of blackberry hybrid strains with SSR molecular markers

ZHANG Chun-hong¹, WEI Yun-li¹, WU Wen-long¹, MA Bing², LI Wei-lin^{1*}

(1. Institute of Botany, Jiangsu Province and Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210014, China;

2. Nanjing Zhongzhi Agricultural Science and Technology Development Co. Ltd., Nanjing 211225, China)

Abstract: Using SSR molecular markers, DNA fingerprints of six potential hybrid strains from the same or different hybrid parents were identified. The results showed that 25 of the 78 pairs of SSR primers had polymorphism in the four parent varieties. After the polymorphic primers for parents of different hybrid combinations were further used for superior strain identification, for the hybrid combination of Kiowa × Arapaho, three superior strains could be identified by 12 SSR pairs which performed polymorphic between parents. The superior plant 10-2n-1 showed heterozygous bands by six pairs' amplification while 10-2n-2 and 10-2n-5 both had five pairs. The bands for the rest primers were all same to the father or mother and five pairs of primers could discriminate three superior strains. There was one superior plant 10-5n-2 selected from the hybrid combination of Chester × Kiowa, which could be identified from the parents by combination of 18 pairs of polymorphic primers. Thus it was speculated that the traits of 10-5n-2 might be between the parents. Superior plants 10-6n-1-1 and 10-6n-1 were from the same hybrid combination Hull × Kiowa. By amplification of six pairs of SSR polymorphic primers, 10-6n-1-1 mainly inherited the male parent and 10-6n-1 tended to display parents' heterozygous bands. The identification of different strains of the same hybrid combination not only provided the basis for distinguishment between superior plants in future's blackberry breeding but also partly revealed the complexity and uncertainty in blackberry hybrid breeding.

Key words: Blackberry (*Rubus* sp.); Superior hybrid strain; SSR marker; DNA fingerprint

收稿日期:2015-09-18;修回日期:2015-09-21

基金项目:江苏省农业科技自主创新资金项目“早熟、无刺、小籽黑莓优良品种选育”(CX[14]2021);中植农业科技创新基金“优质无刺早熟黑莓新品系筛选与展示”(201401)

作者简介:张春红(1979-),女,山东菏泽人,副研究员,博士,从事黑莓生物技术育种工作。E-mail:chzhang0714@163.com。

* 通信作者:李维林(1966-),男,陕西汉中,研究员,主要从事悬钩子属植物利用研究。

黑莓 (Blackberry) 是蔷薇科悬钩子属 (*Rubus*) 的一种特色浆果类果树,因其果实富含花青素和维生素 E 而成为极具发展潜力的特种经济林树种^[1]。黑莓自 1986 年由江苏省·中国科学院植物研究所引进以来,为江苏低山丘陵地区的开发和农民增收做出了贡献^[2],但由于适生品种单一、企业配套滞后及工业污染等,使其产业发展也面临困境^[3]。目前国外对适于生产的优良新品种的保护尤为重视,国内很难引进理想的品种类型,培育具有自主知识产权的黑莓新品种迫在眉睫。

国内自开展黑莓引种以来,不仅进行了适应性栽培和鲜果的开发利用^[4],也开展了一系列杂交组合配制^[5]和品种选育^[6]研究,但由于悬钩子植物遗传背景较为复杂及不同倍性种质的亲和性较低致使常规育种工作进展较慢。SSR (Simple Sequence Repeats) 又称简单序列重复,是 20 世纪 80 年代发展起来的一种新型 DNA 标记,具有可靠性强、重复性好、多态性丰富、呈共显性等优点,在不同树种上被广泛用于优株辅助选择^[7]、亲本确认^[8]及资源比较鉴定^[9]。在品种鉴定方面,本课题组利用已报道的部分 SSR 标记对黑莓杂交品种宁植 2 号进行了亲本确认^[10]。

在江苏现有表现较好的黑莓引进品种中, Kiowa 具有生长量最大、单果最重和产量最高的特性,但枝蔓有刺^[11-12], Arapaho 最早熟但产量很低, Chester 高产、果实硬度大但因晚熟而易遭遇高温梅雨天气, Hull 高产但果实较小^[12]。为适应当前黑莓发展需要,理想的育种目标应集无刺、早熟和优质高产为一体。在通过多种杂交组合配制、初步选出表现性状较好的优株基础上,本研究利用悬钩子 SSR 标记引物进一步检验各优株在遗传特性上的表现,以及对来自相似或相同亲本的不同早熟无刺优株加以区别,以期确定优株亲本来源及为育成品种指纹图谱鉴定提供依据。

1 材料与方法

1.1 研究材料

黑莓试验材料取自江苏南京溧水白马农业科技园区,为 4 个亲本品种 (Hull, Chester, Arapaho 和 Kiowa, 来源如图 1) 及 6 个杂交优株 (10-2n-1, 10-2n-2, 10-2n-5, 10-5n-2, 10-6n-1 和 10-6n-1-1)。取黑莓幼嫩叶片,置于 -70℃ 保存备用。

1.2 DNA 提取

各材料基因组 DNA 提取采用 CTAB 法,具体过程参照文献^[13]。

1.3 SSR 引物合成

所用的 78 对 SSR 引物,4 对来自红树莓品种 ‘Meeker’ (*Rubus idaeus*), 8 对来自黑莓杂交品种 ‘Marion’^[14], 其余 66 对来自红树莓品种 ‘Glen Moy’ (*Rubus idaeus* L. subsp *idaeus*)^[15]。引物合成由上海英骏生物技术有限公司完成。

1.4 SSR-PCR 反应及电泳分析

SSR-PCR 反应体系和反应程序参照文献^[10]。所用 Taq 酶和 Marker 产品分别购自百泰克生物 (北京) 和东盛生物 (广州)。扩增反应在 Labnet TC9600-G-230V PCR 仪上进行,结束后产物经由 8% 聚丙烯酰胺凝胶 (丙烯酰胺:甲叉双丙烯酰胺 = 19:1) 120 v/cm 电泳 1.5 h,置于 0.2% AgNO₃ 中染色 10 min,加入含 0.5% 甲醛 (V:V) 的 1.5% NaOH 溶液显色 15 s,条带清晰后终止反应,记录与分析。

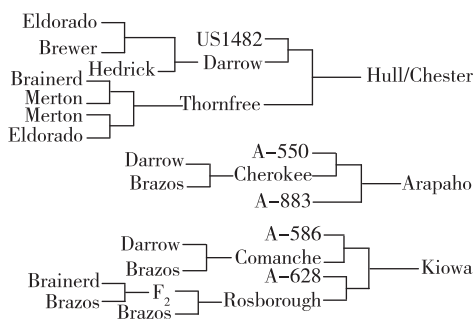


图 1 黑莓杂交组合亲本品种系谱

2 结果与分析

2.1 亲本的 SSR 引物扩增产物多态性

首先利用 78 对引物对 4 个亲本品种进行了扩增,筛选出了多态性引物。各引物产生的 DNA 片段中仅考虑扩增量最多、染色最深的主带,结果显示 78 对引物在 4 个亲本中有 5 对没有扩增到清晰条带,其余 73 对可扩出清晰条带,其中 25 对在 4 个亲本中具有多态性 (占比 32.05%) (见表 1),主带扩增片段大小为 70~500 bp。

2.2 杂交优株的 SSR 引物扩增产物多态性

利用表 1 中所列的 25 个多态性引物对 4 个亲本品种和 6 个杂交优株进行同时扩增,对各杂交组合及其杂交优株的扩增产物分别统计,进一步筛选多态引物,结果见表 2。3 个杂交组合中以 Chester

表 1 黑莓亲本品种的多态性 SSR 引物及其序列

编号	名称	重复基序	引物序列 5' - 3' (正向/ 反向)
P2	Rubus2a	(gt)12 - g - (gt)8	TGAGGGAAGAAGAGGCAAGA/ CACGTGTGACCCCAATGATA
P4	Rubus6a	(ct)16(ca)32	TGCATGTGACTTTGCATCTCT/ GCACTGAAAAATCATGCATCTG
P6	Rubus16a	(at)8(gt)11	TGTTGTACGTGTTGGGCTTT/ GGGTGTTTGCCAGTTTCAGT
P7	Rubusr19a	(ta)5	GCAGATCAATGAAAGCCCATT/ CGGATCCTCCAACCTTCAT
P13	Rubusr35a	(ct)8	TTGGAAGCACAAAAGCGATA/ GCGACAGCCAAAACAAAAGT
P14	Rubusr43a	(ct)5	TGCCTAAAGTTTGCTGCTGA/ TCGAATGTAACTGCGAGTGC
P15	Rubus45c	(t)10 - (a)11 - (ga)15	GAGGGGCAATTAAGGGTTT/TGTTGTAATTTGGTTTATCCTTGG
P16	Rubusr47a	(ct)7 - (ta)7	AAGCAGGACACCTCAGATGC/ CAGCCAACCATCATCAGCTA
P17	Rubus49a	(ta)7 - (ga)7	CAGCCAACCATCATCAGCTA/ TTGTTTTCAGGAGGCAGGAC
P21	Rubusr76b	(ct)5 - (ct)4	CTCACCCGAAATGTTCAACC/ GGCTAGGCCGAATGACTACA
P24	Rubus105b	(ag)8	GAAAATGCAAGGCGAATTGT/ TCCATCACCAACACCACCTA
P25	Rubus107a	(ag)8	GCCAGCACCAAAAACCTACA/ TTTCACCGTCAAGAAGAAAGC
P28	Rubus117b	(cata)6 - (ga)8	CCAACTGAAACCTCATGCAC/ ACTTGCTCTGTTGCTCTGG
P31	Rubus123a	(ag)8	CAGCAGCTAGCATTTTACTGGA/ GCACTCTCCACCCATTTCAT
P39	Rubus166b	(tc)15	CCGCAAGGGTTGTATCCTAA/ GCATGAGGGCGATATAAAGG
P40	Rubus167a	(tc)9	AACCCTAAGCCAAGGACCAT/ CACCACCCATGACAGTCAGA
P46	Rubus237b	(tttct)3	CATGCTTGCATGATCACCAC/ TGAGCCATAAATTTAGAGGGATT
P50	Rubus253a	(ct)34(at)11	ACCTCCAAATGCCATAGTGC/ CAAGAATCTGATCTCGTCTTAGCA
P51	Rubus256e	(ctt)7(ct)8(at)10(ac)5	CAACCTGAAAACCAAACCTCG/ CTGAGAGCCTGAGAGTGGT
P55	Rubus262b	(ag)15	TGCATGAAGGCGATATAAAGG/ TCCGCAAGGGTTGTATCCTA
P59	Rubus270a	(ga)10	GCATCAGCCATTGAATTTCC/ CCCACCTCCATTACCAACTC
P60	Rubus275a	(ag)27	CACAACCAGTCCCGAGAAAT/ CATTTCACTCCAAATGCAACC
P61	Rubus277a	(a)11(ag)8	GCCCCATCCTGTACAAAGAA/ TTGCAACAAAGGTACGTAATGG
P73	RhM011		AAAGACAAGGCGTCCACAAC/ GGTATGCTTTGATTAGGCTGG
P75	RhM021		CAGTCCCTTATAGGATCCAACG/ GAACTCCACCATCTCCTCGTAG

表 2 黑莓亲本品种及其杂交优株的 SSR 引物多态性

亲本组合 ♀ × ♂	优株	多态引物对数	多态引物比例/%
Kiowa × Arapaho	10 - 2n - 1		
	10 - 2n - 2	12	15.38
	10 - 2n - 5		
Chester × Kiowa	10 - 5n - 2	18	23.08
Hull × Kiowa	10 - 6n - 1	6	7.69
	10 - 6n - 1 - 1		

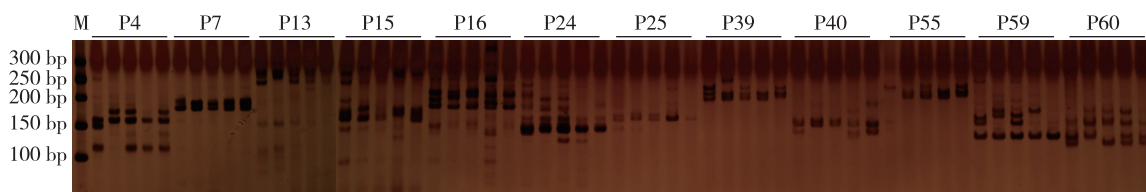
× Kiowa 的多态性引物最多,有 18 对引物的扩增条带在双亲及其杂交优株 10 - 5n - 2 间显示差异。杂交组合 Hull × Kiowa 的多态性引物最少,仅有 6 对引物的扩增条带在双亲及其杂交优株 10 - 6n - 1 和 10 - 6n - 1 - 1 间有差异。

2.2.1 Kiowa × Arapaho 组合中亲本及其杂交优株

的 SSR 扩增结果 12 对多态引物对杂交优株 10 - 2n - 1,10 - 2n - 2 和 10 - 2n - 5 及其母本 Kiowa 和父本 Arapaho 的扩增结果如图 2。P4 引物的扩增结果显示 3 个优株为母本和父本杂交而来,其中 10 - 2n - 1 和 10 - 2n - 5 扩增带型相同,10 - 2n - 2 则相对 2 者有带缺失;P7 引物表明 10 - 2n - 1 与父本带型相同,10 - 2n - 2 和 10 - 2n - 5 带型相同且与母本相同;P13 引物对 3 个优株的扩增带型均与母本相同;P15 引物显示为 10 - 2n - 5 与母本相同,10 - 2n - 1 和 10 - 2n - 2 分别遗传了父本和母本的部分条带;P16 引物显示为 3 个优株虽为双亲杂合类型但均有不同条带缺失;P24 引物显示 3 个优株均与父本相同;P25 引物显示为 10 - 2n - 1 与母本带型相同,其余 2 者与父本相同且均有条带缺失;P39 引

物显示 3 个优株带型均不同,虽证明为双亲杂交但有条带缺失;P40 引物扩增 10-2n-1 与父本相同,10-2n-5 与母本相同,10-2n-2 为双亲杂合带型;P55 引物扩增 10-2n-2 与父本相同,10-2n-1 和 10-2n-5 均为双亲杂合带型;P59 引物显示为 10-2n-1 为双亲杂合带型但有缺失,10-2n-2 中有父本部分带型,10-2n-5 条带缺失严重;P60 引物扩增 10-2n-2 为双亲杂合带型,10-2n-1 和

10-2n-5 虽为双亲杂合带型但均有条带缺失。总体来看,12 对引物中,10-2n-1 在 6 对中显示为杂合类型,10-2n-2 有 5 对,10-2n-5 有 5 对,其余则偏父本或母本一方。另一方面,黑莓遗传背景具杂合性和复杂性,杂交过程中染色体重组和变异明显,导致 3 个优株部分杂合条带在重组中丢失。实验结果也显示,可以区分 3 个优株的 SSR 引物有 P15, P39, P40, P55, P59 和 P60。

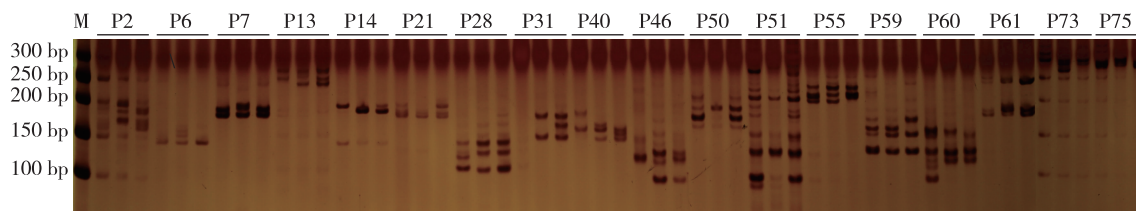


P4 ~ P60 为 12 对多态引物;5 个泳道 1 组,从左至右分别为母本 Kiowa,父本 Arapaho,10-2n-1,10-2n-2 和 10-2n-5;M, DNA ladder

图 2 12 对 SSR 引物对优株 10-2n-1,10-2n-2 和 10-2n-5 及其双亲的扩增图谱

2.2.2 Chester × Kiowa 组合优株扩增结果 18 对多态引物对杂交优株 10-5n-2 及其母本 Chester 和父本 Kiowa 的扩增结果如图 3。P6, P7, P21, P51, P75 等引物的扩增结果显示 10-5n-2 带型与母本 Chester 相同, P28 的扩增结果显示 10-5n-2 带型与父本 Kiowa 相同, P2, P13, P14, P46, P50, P60, P61 等引物的扩增结果显示 10-5n-2 为双亲杂合类

型,可将父母本及优株加以区分。而 P55, P59, P73 等引物的扩增结果也显示优株为双亲杂合带型但有不同程度条带缺失,引物 P31 和 P40 呈现与父本部分相同但又有新条带出现。总体来看,10-5n-2 总体多扩增为双亲重组类型,推测其性状可能介于双亲之间。



P2 ~ P75 为 18 对多态引物;3 个泳道 1 组,从左至右分别为母本 Chester,父本 Kiowa 和 10-5n-2;M, DNA ladder

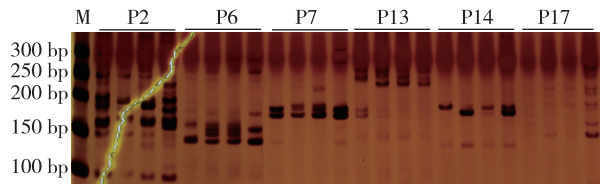
图 3 18 对多态引物对优株 10-5n-2 及其双亲的扩增图谱

2.2.3 Hull × Kiowa 组合优株扩增结果 6 对多态引物对杂交优株 10-6n-1-1 和 10-6n-1 及其母本 Hull 和父本 Kiowa 的扩增结果如图 4。P2 引物对 10-6n-1-1 的扩增结果显示了母本的部分条带,10-6n-1 显示为双亲杂合带型;P6 引物的扩增结果显示为 10-6n-1-1 与父本相同,10-6n-1 为父母本杂合类型但有条带缺失;P7 引物的扩增结果显示为 10-6n-1-1 和 10-6n-1 分别与父本和母本带型相同;P13 和 P14 引物的扩增结果显示 2 个优株带型相同且均为双亲杂合类型;P17

引物扩增结果显示 10-6n-1-1 与父本带型相同,10-6n-1 为双亲杂合类型。从 6 对引物扩增结果总体来看,2 个杂交优株中,10-6n-1-1 继承了较多的父本的特征,10-6n-1 显示为双亲杂合类型,与植株表型观察的结果基本一致。

3 讨论与结论

SSR 标记因具有共显性和多态性高的特点,作为第 2 代分子标记已被广泛用于农作物和林木品种的鉴定以及苗木真实性和纯度的检测^[16-17]。由于



P2~P17 为 6 对多态引物;4 个泳道 1 组,从左至右分别为母本 Hull,父本 Kiowa,10-6n-1-1 和 10-6n-1;M,DNA ladder

图 4 6 对多态引物对优株 10-6n-1-1 和 10-6n-1 及其双亲的扩增图谱

黑莓遗传背景相对复杂,分子生物学研究相对滞后,国外近年来关于黑莓 SSR 分子标记的研究也仅见于少量报道^[14,18],且主要用于遗传图谱构建^[19]和遗传多样性分析^[20]。本课题组之前利用 78 对已报道的 SSR 引物对黑莓杂交品种宁植 2 号进行了分析,仅发现 7 对引物在亲本间具有多态性,且其中 6 对引物的带型与母本相同,证明黑莓具有高度杂合的遗传背景^[10]。本研究从 78 对引物中共检测到 25 对在 6 个杂交优株及其亲本中显示多态,利用这些多态性 SSR 引物分别检测了各杂交优株及其亲本的遗传特点,结果显示 10-2n-1,10-2n-2 的 10-2n-5 的多个位点为双亲杂交类型但条带丢失明显;10-5n-2 为双亲重组类型,其性状可能多介于双亲之间;10-6n-1-1 继承了较多的父本带型,而 10-6n-1 显示为双亲杂合带型,这些结果不仅在一定程度上反映了杂交优株的遗传背景,也为进一步评价这些优株及杂交选育提供了借鉴。

在配制的 3 个杂交组合所用的 4 个亲本品种中,Hull 和 Chester 均由美国马里兰州 Beltsville 试验中心选育,查询其系谱完全相同(见图 1),2 品种母本和父本基本均由黑莓品种配制而来。尽管如此,但 Hull × Kiowa 和 Chester × Kiowa 组合在相同的 SSR 引物下扩增结果差异明显,且相同引物扩增的优株扩增条带也有不同之处,一定程度上反映了黑莓杂交重组中的复杂性。Kiowa 和 Arapaho 品种均由美国阿肯色州 Fayetteville 黑莓育种试验站选育,其亲本也由多个黑莓品种配制,且含有相同的 Darrow 和 Brazos 黑莓品种成分(见图 1)。2 品种配制的组合 Kiowa × Arapaho 获得的杂交优株扩增结果既显示杂合带型又显示条带缺失或异常,表明黑莓不仅具有高度杂合的遗传背景,在杂交配制和基因重组中性状会严重分离,杂交后代的表现存在不确定性,育种中要优选到理想个体需尽可能增大杂交

组合基数。此外,本研究采用的 SSR 引物开发自不同悬钩子中的红树莓和黑莓品种^[14-15]。3 个杂交组合中 F₁ 优株的扩增带型有的呈显性而有的呈共显性特征,也表明不同遗传背景下的悬钩子开发的 SSR 引物的适用性值得深入评价,要通过指纹图谱准确鉴定育成品种也需开发其自身的 SSR 引物。

参考文献:

- [1] Bernadine C, Tohn R C, Chad E F, et al. Worldwild blackberry production[J]. HortTechnology, 2007, 17(2): 205-213.
- [2] 吴文龙,陈 岳,闫连飞,等. 黑莓、树莓在南京地区的引种研究[J]. 江苏林业科技, 2006, 33(2): 13-15, 20.
- [3] 李 玮,王小敏,张有才,等. 南京溧水黑莓产业发展现状与应对策略[J]. 山东林业科技, 2012 (1): 100-106.
- [4] 孙醉君,顾 娟,蔡剑华. 黑莓引种十年的回顾与展望[J]. 江苏林业科技, 1998, 25(3): 46-48, 54.
- [5] 吴文龙,闫连飞,李维林,等. 黑莓品种间杂交及与野生悬钩子种间杂交初步研究[J]. 东北农业大学学报, 2013, 44(7): 123-127.
- [6] 王小敏,吴文龙,张春红,等. 黑莓杂交 F₁ 代初选优株的调查与分析[J]. 经济林研究, 2012, 30(3): 91-95.
- [7] Ruiz C, Paz Breto M, Asfins M J. A quick methodology to identify sexual seedlings in citrus breeding programs using SSR markers[J]. Euphytica, 2000, 112(1): 89-94.
- [8] Moriya S, Iwanami H, Okada K, et al. A practical method for apple cultivar identification and parent-offspring analysis using simple sequence repeat markers[J]. Euphytica, 2011, 177:135-150.
- [9] Gross-German E, Viruel M A. Molecular characterization of avocado germplasm with a new set of SSR and EST-SSR markers: genetic diversity, population structure, and identification of race-specific markers in a group of cultivated genotypes[J]. Tree Genetics & Genomes, 2013, 9(2): 539-555.
- [10] 张春红,胡淑英,闫连飞,等. 黑莓优良品种宁植 2 号及其亲本的 SSR 鉴定[J]. 江苏农业科学, 2012, 40(12): 44-46.
- [11] 闫连飞,黄 钢,吴文龙,等. 不同品种黑莓在南京地区的生长表现[J]. 经济林研究, 2008, 26(3): 74-79.
- [12] 吴文龙,闫连飞,李维林,等. 不同品种黑莓在南京地区的结实表现[J]. 林业科技开发, 2008, 22(4): 24-29.
- [13] 贾静波,李维林,吴文龙,等. 悬钩子属植物的 RAPD 分析[J]. 植物资源与环境学报, 2008, 17(3): 18-22.
- [14] Castillo N R F, Reed B M, Graham J, et al. Microsatellite markers for raspberry and blackberry[J]. Journal of The American Society For Horticultural Science, 2010, 135(3): 271-278.
- [15] Graham J, Smith K, MacKenzie K, et al. The construction of a genetic linkage map of red raspberry (*Rubus idaeus* subsp. *idaeus*) based on AFLPs, genomic-SSR and EST-SSR Markers[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2004, 109(4): 740-749.

(下转第 19 页)

易成活;接穗大小与砧木大小一致,嫁接后砧木和接穗更加容易愈合;培养30 d带2叶的金焰彩栎试管芽苗接穗带叶,嫁接后能进行光合作用制造营养,提高了成活率^[7-8]。砧木的选择,同样也是影响试管嫁接成活率的关键因素之一^[9-10],砧木宜选择培养30 d带2叶的黄山栎树试管芽苗做砧木,嫁接后置于生根培养基中培养,这样有利于接穗与砧木的愈合以及营养的供应,提高成活率和萌发效果。

参考文献:

- [1] Jonard R, Hugard J, MaChix J, et al. In vitro micro-grafting and its applications to fruit science[J]. Scientia Horticulturae, 1983, 20(1):147-159.
- [2] Estrada-Luna A A, López-Peralta C, Cárdenas-Soriano E. In vitro micrografting and the histology of graft union formation of selected species of prickly pear cactus (*Opuntia* spp) [J]. Scientia Horti-

culturae, 2002, 92(3/4):317-327.

- [3] 陈如珠,李耿光,张兰英. 柑桔三倍体的试管嫁接及微繁殖的研究[J]. 中国柑桔, 1992, 21(4):10-12.
- [4] 周艳,周洪英,朱立,等. 植物微嫁接研究进展[J]. 贵州科学, 2013, 31(2):194-199.
- [5] 张金林,王锁民,许瑞,等. 植物微嫁接技术的研究及应用[J]. 植物生理学通讯, 2005, 41(2):247-252.
- [6] 蒋泽平,张敏. 金焰彩栎组织培养技术研究[J]. 江苏林业科技, 2015, 42(3):40-42.
- [7] 曾斌,李疆,张孝霖,等. 库尔勒香梨试管微体嫁接技术的研究[J]. 新疆农业科学, 2006, 43(1):47-49.
- [8] 董丽芬,邹朋波,贾彩霞,等. 核桃微体嫁接方法研究[J]. 西北林学院学报, 2007, 22(2):79-81.
- [9] 成密红,成鸿飞. 果树微型嫁接技术研究进展[J]. 陕西林业科技, 2005(2):49-51, 63.
- [10] 董高峰,黄涛,李耿光,等. 外源激素对沙田柚茎尖微嫁接成活率的影响[J]. 生态科学, 2001, 20(3):26-30.

(上接第9页)

物学特性,做好虫情预测预报工作。定期剥查虫瘿,根据虫态的变化,做出羽化盛期的预测^[11]。

(2)抓住每年最合适的防治时间即成虫羽化盛期,采取药剂喷洒防治措施,每隔4~5 d,连续喷治2~3次,将虫害控制在不成灾范围内。

(3)加强竹林的培育和管理,搞好林地卫生,提高早竹林抗虫能力,降低虫害的发生^[12]。

参考文献:

- [1] 刘力,潘锡东. 早竹高产笋用林及其土壤理化性质分析研究[J]. 竹子研究汇刊, 1994, 13(3):38-43.
- [2] 沈代琦. 苦竹主要虫害防治技术初探[J]. 安徽农学通报, 2013, 19(11):74-75, 98.
- [3] 徐天森,葛振华. 毛笋象鼻与毛竹退笋关系的研究[J]. 林业科学, 1966, 11(3):30-37.
- [4] 梁光红. 黄甜竹林间主要害虫调查[J]. 福建林业科技, 2003,

31(3):34-36, 39.

- [5] 王问学,莫建初,王明旭等. 竹广肩小蜂的生物、生态学特性及综合治理研究[J]. 中南林学院学报, 1994, 14(1):29-34.
- [6] 陈顺立,吴晖,陈更新. 竹小蜂幼虫空间分布型及抽样技术研究[J]. 华东昆虫学报, 1997, 6(1):50-54.
- [7] 杨忠武,唐艳琼,全桂生,等. 林间竹腔注射防治刚竹泰广肩小蜂和竹泰广肩小蜂试验研究[J]. 广西林业科学, 2011, 40(1):56-57.
- [8] 孙品雷,陈为民,黄照岗,等. 毗虫啉竹腔注射防治竹泰广肩小蜂试验[J]. 中国森林病虫, 2005, 24(1):20-22.
- [9] 刘国. 注射法大面积防治楠竹小蜂试验[J]. 湖南林业科技, 1997, 24(1):56-57.
- [10] 朱国良,朱朝华,吴浙东. 雷竹基地竹小蜂的危害及防治技术研究[J]. 浙江林业科技, 2000, 20(2):53-54.
- [11] 莫建初,王问学,王明旭,等. 竹小蜂的化学防治实验[J]. 林业科技通讯, 1992(9):12-14.
- [12] 黄照岗,石纪茂,郑建国,等. 早竹园竹笋夜蛾防治实验[J]. 中国森林病虫, 2006, 25(4):35-37.

(上接第5页)

- [16] 王燕龙,姜言生,曲志才,等. SSR分子标记在作物种质资源鉴定中的应用[J]. 山东农业科学, 2012, 44(10):11-18.
- [17] 殷继艳,张建国. SSR标记技术在杨属植物研究中的应用[J]. 四川林业科技, 2009, 30(2):25-29.
- [18] Lewers K S, Saski C A, Cuthbertson B J, et al. A blackberry (*Rubus* L.) expressed sequence tag library for the development of simple sequence repeat markers[J]. BMC Plant Biology, 2008, 8

(1):69.

- [19] Castro P, Stafne E T, Clark J R, et al. Genetic map of the primocane fruiting and thornless traits of tetraploid blackberry[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2013, 126(10):2521-2532.
- [20] Dossett M, Bassil N V, Lewers K S, et al. Genetic diversity in wild and cultivated black raspberry (*Rubus occidentalis* L.) evaluated by simple sequence repeat markers[J]. Genetics Resources and Crop Evolution, 2012, 59(8):1849-1865.