

## 樟科 16 个树种木材的 RAPD 与 ISSR 分子鉴别

骆嘉言<sup>1</sup>, 王 英<sup>1</sup>, 钟文翰<sup>2</sup>, 刘海冲<sup>1</sup>, 蒋火俊<sup>1</sup>

(1. 南京林业大学 材料科学与工程学院, 江苏 南京 210037; 2. 浙江省家具检测技术研究重点实验室, 浙江 杭州 311112)

**摘要:** 采用随机扩增多态性(RAPD)和简单序列重复区间扩增多态性(PCR)技术鉴别樟科 Lauraceae 16 个树种。用改良十六烷基三甲基溴化铵-十二烷基硫酸钠(CTAB-SDS)法提取樟科 16 个树种 192 株(12 株·种<sup>-1</sup>)木质部基因组 DNA, 用 RAPD 与 ISSR 技术对它们进行聚合酶链式反应(PCR)扩增。共筛选出 8 条 RAPD 引物与 6 条 ISSR 引物, 8 条 RAPD 引物共扩增出 165 条大小为 100~2 000 bp 的条带, 其中多态性条带为 153 条, 多态率为 92.7%; 6 条 ISSR 引物共扩增出 96 条大小为 100~2 000 bp 的条带, 其中多态性条带为 86 条, 多态率为 89.6%。通过 1~2 个引物扩增的多态性条带就可鉴别与区分参试的 16 个树种, 为树种鉴定提供技术支持。图 3 表 5 参 18

**关键词:** 植物学; 樟科; 木材; RAPD; ISSR; 分子鉴定

**中图分类号:** S792.26      **文献标志码:** A      **文章编号:** 2095-0756(2017)05-0942-07

## Establishment of RAPD and ISSR markers for wood identification of 16 species of Lauraceae

LUO Jiayan<sup>1</sup>, WANG Ying<sup>1</sup>, ZHONG Wenhan<sup>2</sup>, LIU Haichong<sup>1</sup>, JIANG Huojun<sup>1</sup>

(1. College of Materials Science and Engineering, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, Jiangsu, China; 2. Key Laboratory of Furniture Inspection Technology of Zhejiang Province, Hangzhou 311112, Zhejiang, China)

**Abstract:** Random amplified polymorphic DNA (RAPD) and inter simple sequence repeats (ISSR) techniques were applied to identify 16 species of Lauraceae. The optimized cetyl trimethylammonium bromide (CTAB)-sodium dodecyl sulfate (SDS) method was used to extract wood DNA of 192 trees in the 16 species. RAPD and ISSR techniques were used to amplify DNA of the 16 species. Results showed that eight RAPD primers and six ISSR primers were screened. Through the eight RAPD primers, 165 bands were obtained, among which 153 were polymorphic for a species level polymorphism loci rate of 92.7%. 96 bands were obtained through the six ISSR primers, among which 86 were polymorphic for a species level polymorphism loci rate of 89.6%. DNA fragment size was 100–2 000 bp. These polymorphism bands amplified by 1 or 2 primers could distinguish the wood of these 16 species in the Lauraceae family, providing technical support for wood identification. [Ch, 3 fig. 5 tab. 18 ref.]

**Key words:** botany; Lauraceae; wood; random amplified polymorphic DNA (RAPD); inter simple sequence repeats (ISSR); molecular identification

樟科 Lauraceae 植物广泛分布于热带及亚热带地区, 全世界约 50 属 2 500~3 000 种<sup>[1]</sup>, 中国有 24 属约 430 种。樟科树木是中国南方重要的经济林木, 在林业、轻工、医药、园林绿化中均占有重要地位。楠属 *Phoebe* 和樟属 *Cinnamomum* 等木材被认为是优质木材, 常用作建筑物的梁柱构件、棺槨、家具、箱盒等。樟科木材普遍含有油细胞或黏液细胞, 是樟科木材的识别标识; 但樟科各个属间及种间, 木材

收稿日期: 2016-10-28; 修回日期: 2017-01-05

基金项目: 江苏高校优势学科建设工程资助项目(PAPD, 2014-2017)

作者简介: 骆嘉言, 副教授, 从事木材学研究。E-mail: luojiayan@njfu.edu.cn。通信作者: 王英, 从事木材科学与技术研究。E-mail: yingw823924@163.com

结构特征相似, 仅通过木材解剖结构特征很难区分。随机扩增多态性(RAPD)与简单序列重复区间扩增多态性(ISSR)是利用聚合酶链式反应(PCR)扩增进行检测的 DNA 标记<sup>[2]</sup>, 具备稳定性好、多态性丰富、成本低、操作简单、样品用量少等优点, 因此, 利用分子标记技术建立 DNA 指纹图谱被认为是鉴别树种的有力工具<sup>[3]</sup>。LANGE 等<sup>[4]</sup>运用 RAPD 分子标记技术对巨桉 *Eucalyptu grandis* 12 个无性系进行研究, 发现通过其指纹图谱可以有效地鉴定 12 个巨桉无性系。CASTIGLIONE 等<sup>[5]</sup>利用 RAPD 分子标记绘制了杨树 *Populus* 32 个无性系的指纹图谱, 并对它们加以区分。GRAHAM 等<sup>[6]</sup>运用 RAPD 分子标记技术研究悬钩子属 *Rubus* 的 13 种植物的分类状况。沈永宝等<sup>[7]</sup>采用 ISSR 标记技术, 仅用 2 条 ISSR 引物就将银杏 *Ginkgo biloba* 13 个品种进行区分。侯渝嘉等<sup>[8]</sup>利用 ISSR 分子标记技术研究了茶树 *Camellia sinensis* 种质资源, 结果表明: 只要用其中任何 1 条引物即可区分 14 个茶树品种。李薇等<sup>[9]</sup>采用 ISSR 标记技术对 6 个美洲黑杨 *Populus deltoids* 品种进行鉴定, 并用 1 条引物将它们区别。RAPD 与 ISSR 分子标记技术在树种鉴定中被证实具有较强可靠性和稳定性。因此, 本研究利用 RAPD 和 ISSR 分子标记技术对樟科 16 个树种进行鉴别, 以期对樟科木材精确鉴别提供技术支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

本试验采集南京中山植物园樟科 5 属 16 种立木的新鲜枝条, 12 株·种<sup>-1</sup>, 计 192 个样品(表 1)。

表 1 实验用材信息

Table 1 Information of tested materials

编号	属名	种名	编号	属名	种名
1	楠属 <i>Phoebe</i>	浙江楠 <i>P. chekiangensis</i>	9	山胡椒属 <i>Lindera</i>	山胡椒 <i>L. glauca</i>
2	楠属 <i>Phoebe</i>	紫楠 <i>P. sheareri</i>	10	山胡椒属 <i>Lindera</i>	狭叶山胡椒 <i>L. angustifolia</i>
3	楠属 <i>Phoebe</i>	桢楠 <i>P. zhennan</i>	11	山胡椒属 <i>Lindera</i>	黑壳楠 <i>L. megaphylla</i>
4	楠属 <i>Phoebe</i>	闽楠 <i>P. bournei</i>	12	山胡椒属 <i>Lindera</i>	江浙钓樟 <i>L. chienii</i>
5	楠属 <i>Phoebe</i>	湘楠 <i>P. hunanensis</i>	13	樟属 <i>Cinnamomum</i>	浙江樟 <i>C. chekiangense</i>
6	润楠属 <i>Machilus</i>	滇润楠 <i>M. pingii</i>	14	樟属 <i>Cinnamomum</i>	樟树 <i>C. camphora</i>
7	润楠属 <i>Machilus</i>	龙眼润楠 <i>M. oculodracontis</i>	15	樟属 <i>Cinnamomum</i>	大叶樟 <i>C. septentrionale</i>
8	润楠属 <i>Machilus</i>	薄叶润楠 <i>M. leptophylla</i>	16	月桂属 <i>Laurus</i>	月桂 <i>L. nobilis</i>

### 1.2 实验方法

1.2.1 DNA 提取 将去除树皮的枝条切成碎木屑, 液氮研磨成粉, 准确称量 0.1 g 木粉, 采用改良十六烷基三甲基溴化铵-十二烷基硫酸钠(CTAB-SDS)法<sup>[10]</sup>提取基因组 DNA; 紫外分光光度计及质量分数为 2% 琼脂糖凝胶检测模板 DNA 的浓度和纯度, 置于 -20 °C 冰箱中备用。

1.2.2 PCR 扩增 按照文献[11-15]选出 ISSR 引物 42 条(表 2), RAPD 引物 45 条(表 3), 对提取到的模板 DNA 进行 PCR 扩增。RAPD 扩增反应体系: 10×*Taq* 缓冲液(含 Mg<sup>2+</sup>) 2.0 μL; 10 mmol·L<sup>-1</sup> dNTP Mixture 0.6 μL; 10 μmol·L<sup>-1</sup> RAPD 引物 3.0 μL; 5×16.67 mkat·L<sup>-1</sup> *Taq* DNA 聚合酶 0.2 μL; DNA 模板 2.0 μL; 无菌水 12.2 μL。PCR 程序: 94 °C 预变性 5 min; 94 °C 变性 1 min, 退火 50 s, 72 °C 延伸 1 min, 循环 35 次; 72 °C 保温 10 min。设定梯度退火温度 34 °C, 36 °C, 38 °C 和 40 °C。ISSR 扩增反应体系: 10×*Taq* 缓冲液(含 Mg<sup>2+</sup>) 2.0 μL; 10 mmol·L<sup>-1</sup> dNTP Mixture 0.8 μL; 10 μmol·L<sup>-1</sup> ISSR 引物 3.0 μL; 5×16.67 mkat·L<sup>-1</sup> *Taq* DNA 聚合酶 0.2 μL; DNA 模板 2.0 μL; 无菌水 12.0 μL。PCR 程序: 94 °C 预变性 5 min; 94 °C 变性 40 s, 退火 40 s, 72 °C 延伸 2 min, 循环 35 次; 72 °C 保温 10 min。设定梯度退火温度 50 °C, 52 °C, 54 °C 和 56 °C。

1.2.3 电泳检测 取扩增产物 5.0 μL 上样到质量分数为 2% 琼脂糖凝胶中电泳, 电泳缓冲液为 0.5×TBE, 电压 160 V, 电泳 40 min。电泳完毕后放入凝胶成像系统中观察并拍照。

### 1.3 数据分析

分析电泳图, 读带时只记录清晰可辨的条带, 排除模糊不清的条带。以 16 个树种为单元, 统计同一树种 12 株同一位置上出现的共有条带, 忽略同一树种不同样本间的差异条带, 统计多态性位点, 计

表2 ISSR引物及其序列

Table 2 ISSR primers and sequences

编号	引物序列 3'-5'	编号	引物序列 3'-5'	编号	引物序列 3'-5'
811	GAGAGAGAGAGAGAC	895	AGAGTTGGTAGCTCTTGATC	823	TCTCTCTCTCTCTCC
812	GAGAGAGAGAGAGAA	837	TATATATATATATART	825	ACACACACACACACT
815	CTCTCTCTCTCTCTG	844	CTCTCTCTCTCTCTRC	808	TATATATATATATAG
818	CACACACACACACAG	836	AGAGAGAGAGAGAGYA	826	ACACACACACACACC
840	GAGAGAGAGAGAGAYT	838	TATATATATATATARC	827	ACACACACACACACC
841	GAGAGAGAGAGAGAC	858	TGTGTGTGTGTGTGRT	828	TGTGTGTGTGTGTGA
842	GAGAGAGAGAGAGAYG	859	TGTGTGTGTGTGTGRC	866	CTCCTCCTCCTCCTC
853	TCTCTCTCTCTCTCRT	871	TATTATTATTATTAT	891	HVHTGTGTGTGTGTG
854	TCTCTCTCTCTCTCRG	872	GATAGATAGATAGATA	860	TGTGTGTGTGTGTGRA
807	AGAGAGAGAGAGAGT	855	ACACACACACACACYT	878	GGATGGATGGATGGAT
856	ACACACACACACACYA	857	ACACACACACACACYG	848	CACACACACACACARG
849	GTGTGTGTGTGTGTYA	843	CTCTCTCTCTCTCTRA	873	GACAGACAGACAGACA
881	GGGTGGGGTGGGGT	830	TGTGTGTGTGTGTGG	834	AGAGAGAGAGAGAGYT
835	AGAGAGAGAGAGAGYC	874	CCCTCCCTCCCTCCCT	880	GGAGAGGAGAGAGA

表3 RAPD引物及其序列

Table 3 RAPD primers and sequences

编号	引物序列 3'-5'	编号	引物序列 3'-5'	编号	引物序列 3'-5'
S2	TCGGCAGCTG	S43	GTCCCGTCA	S446	CCACGGGAAG
S8	GTGACGTAGG	S45	TGAGCGGACA	S461	GTAGCACTCC
S11	CAATCGCCAT	S60	ACCCGGTCAC	S3	CATCCCCCTG
S12	TCGGCGATAG	S66	GAACGGACTC	S21	CAGGCCCTG
S17	GACCGTTGT	S68	TGGACCGGTG	S24	AATCGGGCTG
S22	TGCCGAGCTG	S85	CTGAGACGGA	S28	GTGACCTAGG
S35	TCCGAACCC	S86	GTGCCTAACC	S31	CAATCGCCGT
S44	GTGACATGCC	S91	TGCCCGTCGT	S40	GTTGCGATCC
S117	GGTACGCG	S126	GGGAATTCGG	S62	GTGAGGCCCTC
S150	CACCAGGTGA	S130	GGAAGCTTGG	S97	ACGACCGACA
S397	AGCCTGAGCC	S222	AGTCACTCCC	S221	TGACCGCATGG
S377	CCCAGCTGTG	S237	ACCGGCTTGT	S380	GTGTCCGGAG
S187	TCCGATGCTG	S133	GGCTGCAGAA	S146	AAGACCCCTC
S216	TGGGCGTCAA	S247	CCTGCTCATC	S167	CAGCGACAAG
S226	ACGCCAGGT	S285	GGCTCGGACA	S184	CACCCCTTG

算多态性比率, 多态性比率(%)=(总条带数-共有条带数)/总条带数×100%。

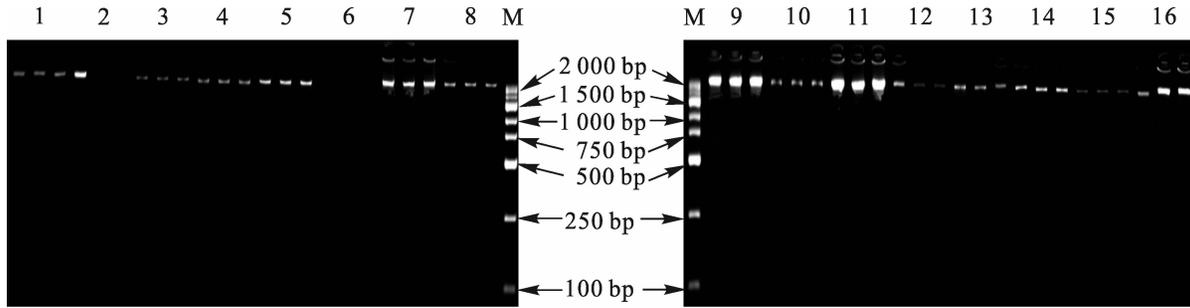
## 2 结果与分析

### 2.1 木材基因组 DNA 的检测结果

16个树种均取3个样本的基因组DNA进行电泳检测,发现所有条带清晰无弥散,点样孔清晰(图1),说明基因组DNA完整性好;紫外分光光度计检测,DNA样品 $D(260/280)$ 值为1.7~2.0,说明DNA样品纯度较好,满足本试验的要求。

### 2.2 RAPD引物筛选及多态性标记鉴别

RAPD-PCR扩增筛选出8条能扩增出清晰条带且多态性好的引物,并测得其最佳退火温度均是38℃(表4)。共获得清晰可辨条带165条,其中多态性条带153条,多态性比率为92.7%,扩增的DNA片段长度集中在100~2000 bp。平均每条引物扩增出20.6条带,其中19.1条具多态性。引物S91多态性最高,达到100%,引物S221最低,为83.3%。不同引物扩增的产物在多态性水平上的较大差异,表明



数字1~16代表16个树种(编号见表1), 3个样本·树种<sup>-1</sup>, 对应相邻3个泳道。M为标记

图 1 基因组 DNA 电泳检测结果

Figure 1 Electrophoresis figure of genomic DNA

参试的 16 个树种在分子水平上差异很大, 具有丰富的遗传多样性。

表 4 8 条 RAPD 引物扩增结果

Table 4 Amplified results of 8 RAPD primers

引物序号	退火温度/ ℃	总条带数/ 条	多态性条 带/条	多态性比 率/ %	引物序号	退火温度/ ℃	总条带数/ 条	多态性条 带/条	多态性比 率/ %
S22	38	23	21	91.3	S66	38	22	21	95.5
S91	38	23	23	100	S85	38	19	18	94.7
S35	38	22	21	95.5	S97	38	18	16	88.9
S150	38	20	18	90.0	总计		165	153	
S221	38	18	15	83.3	平均		20.6	19.1	92.7

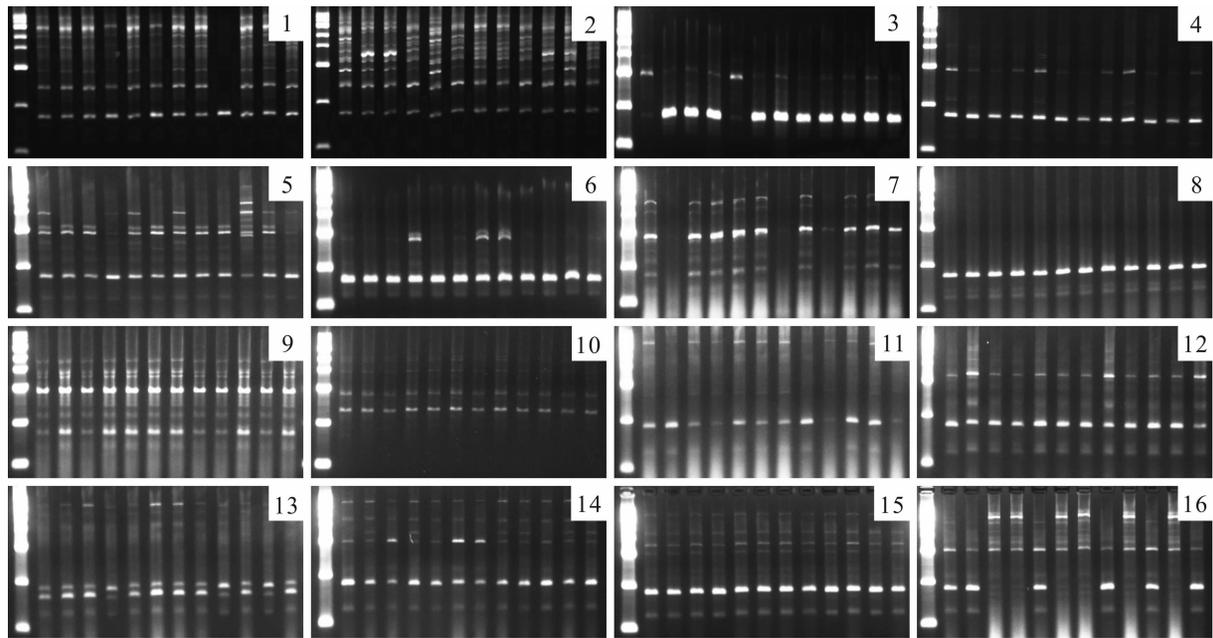
扩增结果表明: 每条RAPD 引物单独使用均可区别这 16 个树种。以引物 S35 为例, 该引物共扩增出 21 条多态性条带 (图 2), 其中楠属扩增出 4 条共有条带, 樟属扩增出 5 条共有条带。楠属树种扩增出特异性条带 450 bp 和 750 bp, 山胡椒属特异性条带为 310 bp, 樟属特异性条带为 2 000 bp 和 1 000 bp; 这些条带可将樟科 5 属区别开。同属树种间多态性条带差异较小, 楠属树种浙江楠(编号 1)特异性条带为 1 500 bp, 紫楠(编号 2)特异性条带为 1 800 bp, 桢楠(编号 3)特异性条带为 600 bp, 湘楠(编号 5)特异性条带为 2 000 bp。由此可区分楠属 5 个树种。润楠属中薄叶润楠(编号 8)特异性条带为 170 bp, 龙眼润楠(编号 7)特异性条带为 1 000 bp; 山胡椒属山胡椒(编号 9)特异性条带为 300 bp, 狭叶山胡椒(编号 10)特异性条带为 1 000 bp, 黑壳楠(编号 11)特异性条带为 2 000 bp; 樟属大叶樟(编号 15)特异性条带为 320 bp, 浙江樟(编号 13)特异性条带为 1 000 bp。由此可知, RAPD 引物 S35 可将 16 个树种有效区分。

### 2.3 ISSR 引物筛选及多态性标记鉴别

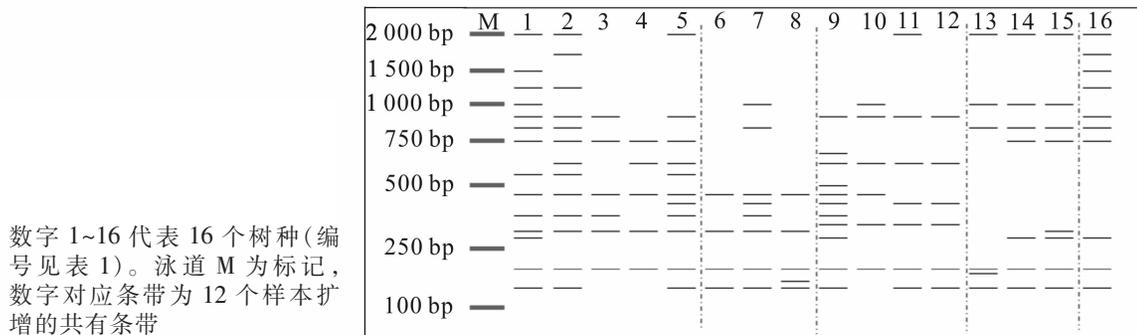
ISSR-PCR 扩增筛选出 6 条能够扩增出清晰条带且多态性好的引物, 并测得其最佳退火温度(表 5)。共获得清晰可辨条带 96 条, 其中多态性条带 86 条, 平均多态性比率为 89.6%, 扩增的 DNA 片段长度集中在 100~2 000 bp。平均扩增出条带 16 条·引物<sup>-1</sup>, 其中 14.3 条具多态性, 引物 843 多态性最高, 为 94.4%, 引物 825 多态性最低, 为 80.0%。

以引物 840 扩增结果(图 3)为例, 共扩增出 16 条多态性条带, 其中山胡椒属特异性条带在 600 bp 和 750 bp 位置, 润楠属特异性条带在 250 bp 和 700 bp 位置, 樟属特异性条带为 300 bp 和 700 bp, 月桂属在 100 bp 处扩增出特异性条带。根据这些特异性条带可区分樟科 5 属。同属树种间多态性条带差异较小, 楠属树种浙江楠(编号 1)的特异性条带在 1 000 bp 位置, 紫楠(编号 2)特异性条带为 450 bp 和 750 bp, 闽楠(编号 4)特异性条带为 350 bp 和 400 bp 的片段, 湘楠(编号 5)特异性条带为 350 bp 和 750 bp 位置。由此将楠属树种区分开。引物 840 在山胡椒属的黑壳楠(编号 11)和江浙钓樟(编号 12)中扩增出相同的条带, 不能有效区分这 2 个树种。

除引物 840 外, 引物 815, 825, 848 和 843 扩增的多态性条带都可区分 16 个树种。引物 840 扩增的多态性条带不能有效区分黑壳楠和江浙钓樟, 引物 834 不能有效区分山胡椒和狭叶山胡椒, 但这 2 个



▲16个树种192个样本扩增图谱；▼16个树种扩增条带比较图



数字1~16代表16个树种(编号见表1)。泳道M为标记,数字对应条带为12个样本扩增的共有条带

图2 引物S35扩增16个树种的产物比较图

Figure 2 Amplified profile comparison of 16 species with RAPD primer S35

表5 6条ISSR引物扩增结果

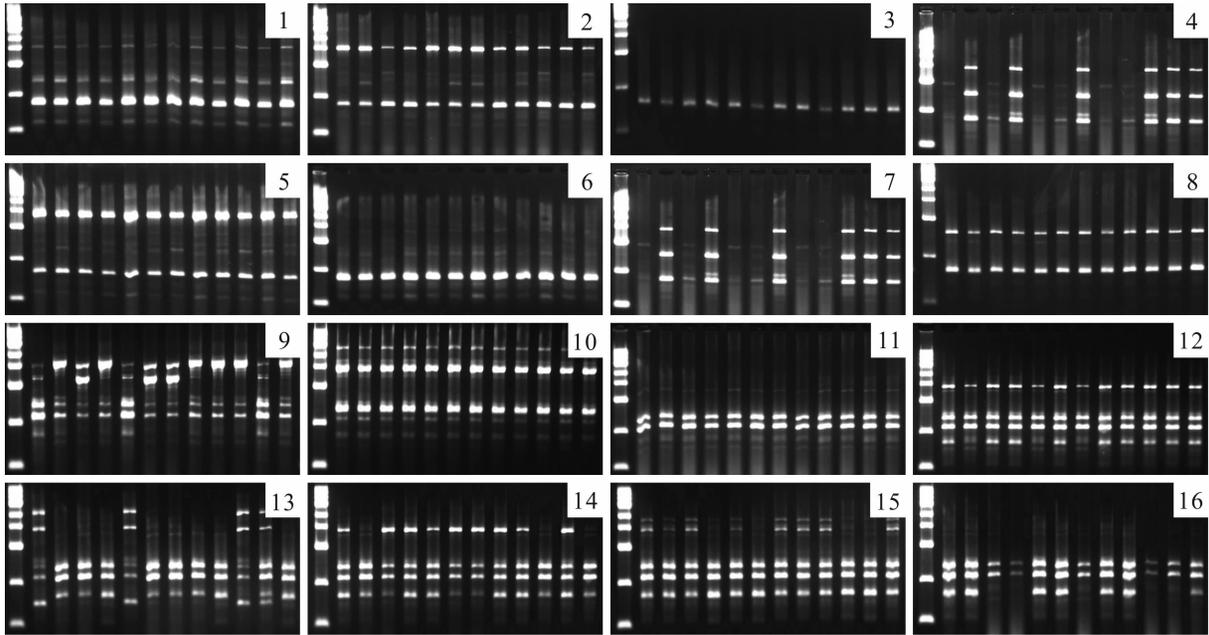
Table 5 Amplified results of 6 ISSR primers

引物序号	退火温度/ ℃	总条带数	多态性条 带	多态性比 率/%	引物序号	退火温度/ ℃	总条带数	多态性条 带	多态性比 率/%
815	56	13	12	92.3	848	56	15	13	86.7
825	54	15	12	80.0	843	54	18	17	94.4
834	54	18	16	88.9	总计		96	86	
840	54	17	16	94.1	平均		16	14.3	89.6

引物的组合可区分16个树种。

### 3 结论与讨论

ISSR和RAPD分子标记具备良好的多态性,因而在树种鉴定和指纹图谱研究方面得到了广泛应用。本试验利用8条RAPD引物和6条ISSR引物对樟科16个树种进行DNA扩增,发现2种标记均能扩增出稳定、清晰且多态性好的条带。RAPD分子标记扩增的多态性比率为92.7%,平均每条引物扩增的多态性条带有19.1条;ISSR分子标记扩增的多态性比率为89.6%,平均每条引物扩增的多态性条带有14.3条,通过1个RAPD引物或1~2个ISSR引物扩增的多态性条带可鉴别樟科16个树种。对比结果也发现,RAPD分子标记的多态性和稳定性比ISSR高,与李元春等<sup>[16]</sup>在山核桃*Carya cathayensis*中发现RAPD标记的多态性要高于ISSR标记的结果一致;而在马尾松*Pinus massoniana*<sup>[17]</sup>和银杏<sup>[18]</sup>等的研究却



▲16个树种192个样本扩增图谱；▼16个树种扩增条带比较图

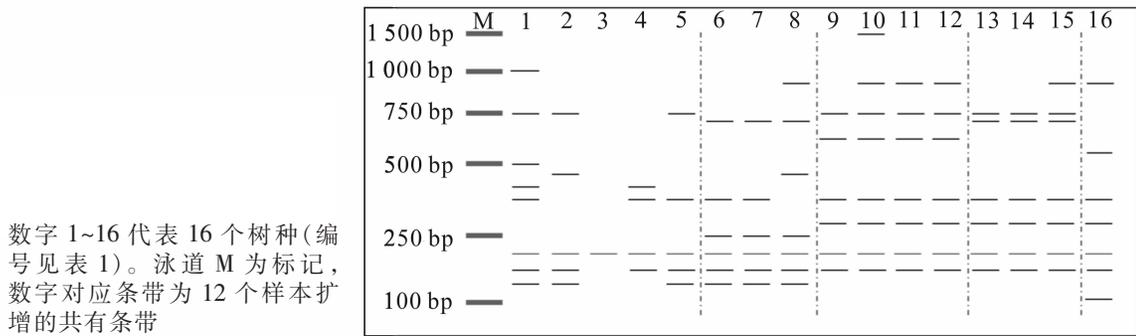


图 3 引物 840 扩增 16 个树种的产物比较图

Figure 3 Amplified profile comparison of 16 species with ISSR primer 840

发现 ISSR 标记的多态性要高于 RAPD 标记, 说明不同树种适合不同的分子标记。考虑到 2 种分子标记的检测水平不同, 产生的高效的多态性条带也不同, 因此, 将这 2 种标记结合使用会使树种鉴别结果更加准确和全面。

用 RAPD 分子标记和 ISSR 分子标记技术鉴定木材, 结果准确、耗材少、不受时间和环境的限制, 拓宽了木材识别的范围, 提高了木材识别的精确性; 采用琼脂糖凝胶电泳进行分子鉴定节约了实验经济成本, 这不仅在进出口树种鉴定中意义重大, 在巨大的木制品消费市场及相关其他领域也具有广泛的应用前景和开发利用价值。

#### 4 参考文献

- [1] 李捷, 李锡文. 世界樟科植物系统学研究进展[J]. 云南植物研究, 2004, 26(1): 1 - 11.  
LI Jie, LI Xiwen. Advances in Lauraceae systematic research on the world scale [J]. *Acta Bot Yunnan*, 2004, 26 (1): 1 - 11.
- [2] ZIETICWIEZ E, RAFALSKI A, LABUDA D. Genome fingerprinting by simple sequence repeats (SSR). anchored polymerase chain reaction amplification [J]. *Genomics*, 1994, 20(2): 176 - 183.
- [3] CEATANO-ANOLLÉS G, GRESSHOFF P M. *DNA Markers: Protocols, Applications, and Overviews* [M]. New York: Wiley-VCH Press, 1997.
- [4] de LANGE W J, WINGFIELD B D, VILJOEN C D, et al. RAPD fingerprinting to identify *Eucalyptus grandis* clones [J]. *South Afr For J*, 1993, 167(1): 47 - 50.
- [5] CASTIGLIONE S, WANG 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**(1/2): 54 – 59.
- [6] GRAHAM J, McNICOL R J. An examination of the ability of RAPD markers to determine the relationship within and between *Rubus* species [J]. *Theor Appl Genet*, 1995, **90**(7/8): 1128 – 1132.
- [7] 沈永宝, 施季森, 赵洪亮. 利用 ISSR DNA 标记鉴定主要银杏栽培品种[J]. 林业科学, 2005, **41**(1): 202 – 204.  
SHEN Yongbao, SHI Jisen, ZHAO Hongliang. Identification on the main cultivated varieties of *Ginkgo biloba* using ISSR DNA marker [J]. *Sci Silv Sin*, 2005, **41**(1): 202 – 204.
- [8] 侯渝嘉, 何桥, 李中林, 等. 应用 ISSR 分子标记对茶树种质资源进行分子鉴定[J]. 西南农业学报, 2007, **20**(6): 1272 – 1276.  
HOU Yujia, HE Qiao, LI Zhonglin, et al. ISSR applied to the germplasms identification of *Camellia sinensis* [J]. *Southwest China J Agric Sci*, 2007, **20**(6): 1272 – 1276.
- [9] 李薇, 王永进, 樊军锋. 美洲黑杨新无性系的 ISSR 鉴别及 SCAR 标记转化[J]. 西北林学院学报, 2014, **29**(4): 98 – 102.  
LI Wei, WANG Yongjin, FAN Junfeng. ISSR identification and transformation of SCAR marker of three new clones of *Populus deltoids* [J]. *J Northwest For Univ*, 2014, **29**(4): 98 – 102.
- [10] 刘金良, 伏建国, 杨晓军, 等. 进口针叶木木材的 DNA 提取与分子鉴定方法[J]. 中南林业科技大学学报, 2012, **32**(8): 131 – 136.  
LIU Jinliang, FU Jianguo, YANG Xiaojun, et al. DNA extraction from imported coniferous tree wood and identification technology based on molecular genetic tools [J]. *J Cent South Univ For Technol*, 2012, **32**(8): 131 – 136.
- [11] 刘玉香, 宋晓琛, 江香梅. 润楠 ISSR-PCR 优化反应体系建立及引物筛选[J]. 林业科技开发, 2013, **27**(5): 24 – 28.  
LIU Yuxiang, SONG Xiaochen, JIANG Xiangmei. Optimization of ISSR-PCR reaction system and primers screening in *Machilus pingii* [J]. *China For Sci Technol*, 2013, **27**(5): 24 – 28.
- [12] 邢建宏, 陈存及, 张国防, 等. 樟树 ISSR-PCR 反应体系优化研究[J]. 福建林业科技, 2006, **33**(3): 96 – 100.  
XING Jianhong, CHEN Cunji, ZHANG Guofang, et al. Study on the establishment of ISSR-PCR reaction conditions in *Cinnamomum camphora* [J]. *J Fujian For Sci Technol*, 2006, **33**(3): 96 – 103.
- [13] 陈俊秋, 慈秀芹, 李巧明, 等. 樟科濒危植物思茅木姜子遗传多样性的 ISSR 分析[J]. 生物多样性, 2006, **14**(5): 410 – 418.  
CHEN Junqiu, CI Xiuqin, LI Qiaoming, et al. Genetic diversity of *Litsea szemaois*, an endangered species endemic to China, detected by inter-simple sequence repeat (ISSR) [J]. *Biodiversity Sci*, 2006, **14**(5): 410 – 418.
- [14] 张炜, 龙汉利, 贾廷彬, 等. 桢楠 DNA 提取和 RAPD 条件的优化[J]. 四川林业科技, 2011, **32**(4): 55 – 62.  
ZHANG Wei, LONG Hanli, JIA Tinbin, et al. DNA extraction and optimization of RAPD reaction system for *Phoebe zhennan* [J]. *J Sichuan For Sci Technol*, 2011, **32**(4): 55 – 62.
- [15] 张国防, 陈存及, 邢建宏. 樟树 RAPD 反应体系的优化[J]. 江西农业大学学报, 2006, **28**(3): 373 – 377.  
ZHANG Guofang, CHEN Cunji, XING Jianhong. Optimalization of RAPD reaction system in *Cinnamomum camphora* [J]. *Acta Agric Univ Jiangxi*, 2006, **28**(3): 373 – 377.
- [16] 李元春, 沈林, 曾燕如. 山核桃 SRAP 体系的建立及与 RAPD 和 ISSR 标记的比较[J]. 浙江农林大学学报, 2011, **28**(3): 505 – 512.  
LI Yuanchun, SHEN Lin, ZENG Yanru. Establishment of a SRAP analysis protocol in *Carya cathayensis* and a comparison among SRAP, RAPD, ISSR analysis protocols [J]. *J Zhejiang A & F Univ*, 2011, **28**(3): 505 – 512.
- [17] 刘爱萍. 中国 12 个省(区)马尾松主要种质资源的 RAPD 与 ISSR 分析[D]. 福州: 福建农林大学, 2007.  
LIU Aiping. *RAPD and ISSR Analysis of Main Pinus massoniana Genetic Resources in 12 Provinces of China* [D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2007.
- [18] 花喆斌. 银杏群体遗传多样性的 RAPD 和 ISSR 分析[D]. 南京: 南京林业大学, 2007.  
HUA Zhebin. *Genetic Diversity in Populations of Ginkgo biloba L. Detected by RAPD and ISSR* [D]. Nanjing: Nanjing Forestry University, 2007.