

王大玮,汪元超,李根前,等. 杜仲育种研究进展[J]. 江苏农业科学,2014,42(8):7-10.

杜仲育种研究进展

王大玮¹,汪元超¹,李根前¹,李周岐²

(1. 西南林业大学/西南山地森林资源保育与利用省部共建教育部重点实验室,云南昆明 650224;

2. 西北农林科技大学林学院,陕西杨凌 712100)

摘要:从杜仲常规育种、生物技术育种方面对杜仲遗传育种研究现状进行总结,提出了今后杜仲育种的研究方向和发展趋势,为我国杜仲生产和开发利用提供参考。

关键词:杜仲;遗传育种;研究进展

中图分类号: S567.1⁺90.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)08-0007-04

杜仲(*Eucommia ulmoides* Oliv.) 属杜仲科植物,该科仅 1 属、1 种,为地质史上第三纪冰川运动残留下来的古生树种^[1],还是我国特有的名贵经济树种^[2]。鉴于其起源古老,具有重要的研究价值及重要的药用价值,已被列为国家二级保护植物^[3]。杜仲自古以皮入药而著称,具有抗疲劳、抗衰老、抗肿瘤、增强免疫力等药效,特别是对血压独有的双向调节作用对维持人体健康具有至关重要的作用^[4-5]。杜仲既是贵重药材,又是提取天然橡胶的工业原料^[6],此外还是很好的用材树种、园林绿化及水土保持树种。因此,杜仲是一种集经济效益、生态效益、社会效益于一身的植物,具有极高的开发利用价值^[7]。目前国内外对杜仲的综合开发利用涉及医药卫生、能源化工以及园林绿化等多个领域,已形成利用多学科综合研究开发的全新格局。为了更进一步开发利用杜仲资源,本文综述了杜仲的遗传育种研究成果,以期对杜仲的大规模开发利用及生产提供参考。

1 国内外杜仲研究概况

1.1 国外杜仲研究概况

由于杜仲具有较高经济价值,自 1940 年起前苏联、美国、日本、韩国、瑞典、西班牙、墨西哥、英国等国先后对杜仲进行研究,相关研究主要集中在杜仲有效成分的提取及利用等方面。目前对杜仲的研究以日本最为领先,其次为中国^[8]。日本对杜仲的研究涉及种质资源培植、成分分析、药理试验、产品研制、市场开发等方面^[9]。近年来,英国、韩国也在杜仲愈伤组织诱导、血管紧张素化酶抑制剂等化学成分的提取和分析、药理及保健功能的研究方面取得了一定成果^[10]。

1.2 我国杜仲研究概况

我国早在 2 000 多年前就开始对杜仲进行栽培和药理方面的研究,《草本神农经》《本草纲目》《本草备要》等古代著名药书都有详细记载。目前我国对杜仲的研究主要集中在遗传育种、药材用林营造与栽培、组培快繁、活性成分提取及分析、药理及保健功能研究等方面^[16-19]。近年来随着杜仲橡胶产业的蓬勃发展,杜仲橡胶提取工艺及胶用新品种选育方面的研究^[20-21]也获得了成功。

传育种^[11]、药材用林营造与栽培^[12-13]、组培快繁^[14-15]、活性成分提取及分析^[16-17]、药理及保健功能研究等方面^[18-19]。近年来随着杜仲橡胶产业的蓬勃发展,杜仲橡胶提取工艺及胶用新品种选育方面的研究^[20-21]也获得了成功。

2 杜仲育种

我国系统开展杜仲遗传育种工作始于 20 世纪 80 年代,以西北农林科技大学和河南省洛阳市林业科学研究所为主的一些单位在杜仲常规育种、生物技术育种方面作了大量研究,并取得了一定成果。

2.1 常规育种

2.1.1 种质资源区划和保存 由于杜仲皮药用价值较高,20 世纪 80 年代初非法商贩在川陕等地大量收购杜仲皮,导致野生杜仲资源遭到严重破坏,直至杜仲被列为国家二级保护植物后育种工作者才开始开展杜仲资源的收集保护工作^[22]。张维涛等根据杜仲生物学特性和栽培现状,对全国杜仲栽培资源进行区划,划分出中心栽培区、主要栽培区、边缘区、引种区^[23]。20 世纪 90 年代末陈品良等根据自然地理特点、经济性状、形态特点上的差异,划分出杜仲的 7 个主要分布区:秦巴山区、大娄山区、鄂西山区、武陵山区、伏牛山-桐柏山-大别山区以及浙、赣、皖交界山区和南岭山区^[24]。此后四川、贵州、河南、湖南、河北等省对当地杜仲种质资源分别进行了调查和收集^[22,25-28]。21 世纪初中国林业科学研究院经济林研究开发中心建立了世界上最大的杜仲种质资源库,共收集保存了 600 余份杜仲优良基因资源^[29]。武汉植物园发现了 1 株指纹图谱与栽培杜仲差异很大的 200 多年树龄雄性古树,被认为是野生杜仲灭绝后发现的重要野生种质资源^[30]。这些都为我国杜仲育种工作提供了宝贵的基因资源。

2.1.2 引种 杜仲为我国特有树种,仅在我国部分地区有野生资源,其他国家的杜仲资源均引种自我国^[31]。1890 年杜仲首次被引入欧洲,先被引入法国,几年后被引入英国,1899 年被引入日本,1906 年被传入俄国,1907 年被引入美国。除上述国家外,先后从我国引种杜仲的国家还有韩国、德国、匈牙利、印度、朝鲜、加拿大等。目前杜仲已在欧洲、美洲、亚洲的十多个国家和地区安家落户^[32]。

由于杜仲适应性强,在我国亚热带、暖温带的大部分地方均能正常生长发育。杜仲除在与其主要栽培区邻近、气候土

收稿日期:2013-11-03

基金项目:国家自然科学基金(编号:30771751)。

作者简介:王大玮(1980—),男,四川蓬溪人,博士,讲师,主要从事林木遗传育种研究。E-mail: daweiwon@163.com。

通信作者:李周岐,博士,教授,主要从事林木遗传育种研究。E-mail: lzhouqi@yahoo.com.cn。

壤条件相似的江西、广西、福建、广东等地得到较大发展外,距主要栽培区较远的甘肃、宁夏、北京、河北、天津、山东、辽宁、陕北、吉林、新疆、云南、上海等省(市、区)的部分地区,也先后引种获得成功。目前除海南、台湾、黑龙江、西藏等地外的 27 个省(区、市)均有杜仲种植^[29,31]。

2.1.3 良种选育 河南省洛阳市林业科学研究所等单位根据多年系统研究,通过培育同龄苗、无性系苗期测定、多点造林测定、区域试验,选育出我国首批杜仲优良品种华仲 1 号至华仲 5 号,填补了我国杜仲良种的空白,对杜仲生产逐步实现良种化具有积极引导和推动作用^[33]。此后,研究者从树皮特征、枝条变异特点、叶片、果实特征等方面将杜仲划分为不同类型,并总结其形态特征和经济价值等,为挖掘优良杜仲基因资源和杜仲遗传改良研究提供材料^[34]。在此基础上,针对不同育种目标分别选育出适于营建杜仲良种果园、生产杜仲胶和杜仲亚麻酸油的华仲 6~9 号^[35-38]。同时还选育出具有特异性状的杜仲良种红叶杜仲和密叶杜仲,目前已审定杜仲良种 5 个,认定杜仲良种 1 个^[29]。西北农林科技大学通过有效成分分析,选出杜仲优良种源区和优良类型^[39];在此基础上选择优树,建立了无性系测定林^[40];然后以有效成分为首选指标,结合生长量、抗性指标,选出 14 个优良无性系;最后通过优良无性系区域栽培试验,选育出有效成分含量高且性状稳定的优良品种秦仲 1 号至秦仲 4 号,其产量和品质较野生杜仲均有一定程度提高^[11]。

2.1.4 杂交育种 杂交育种是培育新品种的传统方法之一,近年来关于杜仲杂交育种的研究也在进行中。西北农林科技大学选择性状差异较大的 12 个杜仲优良品种(无性系)各 1 株作为杂交亲本,按析因交配设计组成 35 个杂交组合进行人工杂交,得到 7 个较大的 F_1 全同胞家系^[41];测定了这些 2 年生杜仲杂种苗苗期表型性状,并对苗高、地径、叶面积等性状的遗传参数进行了分析;结果表明杜仲杂交子代的苗期表型性状差异显著,可以进行家系间和家系内的初步选择,其中 5 个家系各性状的特殊配合力相对较高,可用于进一步杂交选育杜仲良种^[42]。

2.1.5 多倍体育种 人工诱导多倍体是获得植物新类型或新种质的重要途径之一。20 世纪 90 年代初就有了杜仲三倍体诱导成功的报道^[43],此后我国对杜仲多倍体诱导进行了大量研究。西北农林科技大学先后利用⁶⁰Co 辐射处理萌动种子和秋水仙素处理杜仲幼苗顶端生长点,成功诱导出形态变异的单株,但诱导后染色体数目是否发生变化尚不明确^[44-45]。成都大学、北京林业大学分别使用秋水仙素对杜仲种子和花粉染色体进行人工诱导加倍,经植物形态学和染色体数检测,诱导后的材料具有明显的多倍体特征^[46-47]。河北农业大学的郭海凤等采用秋水仙素溶液处理生长点的诱变方法对杜仲籽苗进行诱导,对获得的 148 个变异株进行染色体数检测及 DNA 相对含量测定后,鉴定出 47 株为四倍体,而且这些四倍体植株明显表现出多倍体的特征^[48]。然后对其主要药用成分、杜仲胶等进行了测定,从中筛选出生长快、抗性强、有效成分含量高的优良四倍体植株^[49]。

2.2 生物技术育种

2.2.1 组织培养 杜仲造林以种子繁殖为主,但其发芽率较低,而且实生个体之间的有效成分含量差异较大,不利于新品

种选育。组织培养技术可以大大缩短育种周期,而且可以提高品质^[50]。杜仲组织培养从 20 世纪 80 年代就已经开始,经过 30 年研究,技术已经逐渐趋于成熟。目前除子叶外,叶片、叶柄、腋芽、胚轴、带芽茎段、茎尖、子叶等外植体在不同再生体系中均获得了再生植株。由于杜仲的体细胞胚发生还未能突破,所以杜仲苗的工厂化生产在一定程度上受到限制^[51]。

2.2.2 遗传多样性研究 近年来随着分子生物学的高速发展,有关先进技术在杜仲育种研究中也得以应用。杜仲 RAPD、AFLP、ISSR、SSR 等分子标记反应体系相继被建立^[7,52-54],为分子水平上的杜仲育种研究提供了技术支持。王媛琦等以 20 年树龄栽培杜仲的 16 个群体共 260 个个体为研究对象,利用 RAPD 分子标记技术对其遗传多样性和居群遗传结构进行了研究。结果表明,杜仲种内具有丰富的遗传多样性,各群体内部的遗传多样性较低。认为杜仲群体间已发生了高度的遗传分化,在此基础上提出了“尽可能保护更多的种群”的保护策略^[55]。武汉植物园在上述研究基础上扩大了研究样本量,以 15~30 年生的 9 个栽培群体和 1 个半野生群体共 582 个个体为材料,利用稳定性高于 RAPD 的 SSR、AFLP 2 种标记分别从叶绿体 DNA 及核基因 DNA 角度再次对杜仲遗传多样性进行分析。结果表明栽培群体间的遗传多样性较低,神农架半野生群体与其他栽培群体相比,表现出很高水平的遗传多样性。说明人工选择是导致栽培品种遗传多样性降低的主要原因。而各群体内的遗传多样性表现为中等水平。这与 RAPD 标记分析结果有一定差异,认为是 RAPD 分析的群体内样本量过少造成的。并提出优先保护与其他群体差异较大的遵义群体,而神农架半野生群体应进行迁地保护,以保证种内高水平的遗传多样性^[56]。

2.2.3 性别相关分子标记 杜仲为严格的雌雄异株植物,不同性别的杜仲植株在经济价值和实际利用方面有很大差别。在幼年期仅凭形态学特征难以辨别其性别,给杜仲品种改良和保护工作带来困难。北京大学、西北农林科技大学分别利用 RAPD、AFLP 标记结合 BSA(bulk segregant analysis)法对杜仲性别相关分子标记进行了筛选和验证;分别得到 1 个 569 bp 的雌性特有的 RAPD 标记和 1 个 350 bp 的雄性特有的 AFLP 标记,并将这 2 个标记转化成简单、稳定的 SCAR 标记。经反复验证,确定这 2 个 SCAR 标记可用于杜仲分子标记辅助育种,可用于杜仲后代在苗期进行性别快速选择,大幅提高育种效率^[57-58]。

2.2.4 遗传连锁图谱构建及 QTL 定位 西北农林科技大学利用 AFLP 标记技术和拟测交作图策略,以人工杂交获得的 F_1 作图群体为材料,构建了首张杜仲分子遗传连锁图谱。亲本 Q_1 遗传连锁图包括 12 个连锁群 108 个标记,覆盖基因组总长 929.57 cM,相邻标记的平均间距为 8.61 cM。亲本 LF 遗传连锁图包括 14 个连锁群 127 个标记,覆盖 LF 基因组总长约 1 116.08 cM,连锁图上相邻标记间的平均距离为 8.78 cM。在此遗传连锁图谱的基础上利用 F_1 作图群体的表型数据分析结果,对杜仲生长性状和叶片性状进行了 QTL 定位,共检测到控制 8 个性状的 29 个 QTL 位点^[59]。遗传连锁图谱的构建为今后杜仲分子遗传改良及分子标记辅助育种奠定了坚实基础。

2.2.5 功能基因研究 杜仲功能基因研究也取得了一定进

展。贵州大学以杜仲幼嫩树皮为材料,采用 RT-PCR 技术构建了杜仲树皮的 cDNA 文库^[60]。在此基础上又分离出杜仲胶颗粒结合蛋白 EuRPP,并证明 EuRPP 存在于含胶细胞中,可能参与杜仲胶的形成过程^[61-62]。随着一个新的杜仲抗真菌蛋白 EAFP3 被发现,EuRPP 的氨基酸序列也得到鉴定,其具有与 EAFP3 相同的抗菌功能也能得到证明^[63]。目前已经成功克隆出的杜仲胶合成相关基因还有 *EuFPS*、杜仲肉桂醇脱氢酶基因和杜仲 3-羟基-3-甲基戊二酸单酰辅酶 A 还原酶基因^[64-66]。近年来随着第 2 代测序技术的发展,转录组测序分析已经成为发掘功能基因的主流方法。中南林业科技大学对杜仲叶片和果实的转录组数据进行了深度分析,得到了果实和叶片差异表达基因和特异表达基因信息,以及杜仲胶、 α -亚麻酸、苯丙素类等活性物质生物合成途径的相关基因表达规律及关键酶基因信息;分别发现杜仲胶合成上游、下游相关基因 124.74 条,筛选出杜仲胶合成上游和下游包括乳胶管蛋白、橡胶延伸因子、橡胶小颗粒蛋白和杜仲胶合成关键酶基因异戊二烯磷酸二合酶等关键酶基因 63 条^[67-69]。

2.2.6 转基因研究 功能基因的大量发掘为杜仲的转基因育种奠定了基础。贵州大学采用农杆菌介导法对杜仲进行了遗传转化,构建了杜仲胶合成基因的 RNA 干扰表达载体和过量表达载体,建立了杜仲遗传转化体系^[70-71]。将杜仲胶合成基因成功转入烟草,得到了转基因植株,证明 *EuFPS* 基因参与了烟草挥发性成分等萜类物质的调控^[72],且发现转基因植株的杜仲胶含量提高了 18.65%~26.54%^[69]。

3 研究展望

近年来,我国在杜仲常规育种和生物技术育种工作中均取得了一定成就,但活性成分提取、药理等方面的研究还相对薄弱。常规育种方面,研究部门充分利用当地种质资源选育出一批杜仲优良品种和优良无性系,为杜仲的产业化发展奠定了坚实基础。

生物技术育种方面,分子标记技术已经在杜仲育种研究中得到大量应用,第 1 张杜仲分子标记遗传连锁图谱已经被成功构建,但所构建的遗传图谱密度中等,虽能够用于杜仲重要性状定位,但距离饱和差距还较大,无法进行精细定位,离图位克隆仍有一定距离。为了高效、精准对杜仲重要经济性状进行定位,还须进一步建立其高密度连锁图。随着大量功能基因被发掘,杜仲转基因育种方面的研究也在不断完善,杜仲遗传转化体系已经建立,而且成功获得了高胶含量的转基因植株,为大幅度提高杜仲胶含量奠定了基础。随着更多功能基因被不断发掘,转基因技术在杜仲育种中一定会扮演更加重要的角色。

杜仲生长周期长,生长环境较难控制,是杜仲遗传改良研究中最主要的限制因素。由于杜仲遗传基础研究比较薄弱,对其许多经济性状的早期选择和高效遗传改良等问题仍无法从根本上得到解决,从而制约杜仲良种选育工作进程。因此,寻找有效的早期选择方法,提高选择效率,缩短育种周期,对杜仲育种工作具有十分重要的意义。

总的说来,如何进一步选育出速生、丰产、有效成分含量高的新品种仍是今后杜仲育种工作的重要目标。今后应根据生产和产业化发展的需求,将常规育种与生物技术育种紧密

结合,选育出更多具有广阔产业化前景的优良品种。

参考文献:

- [1] 张康健. 中国杜仲研究[M]. 西安:陕西科学技术出版社,1992.
- [2] 张宏达. 中国植物志:第 35 卷第 2 分册[M]. 北京:科学出版社,1979.
- [3] 傅立国. 中国植物红皮书——稀有濒危植物:第 1 册[M]. 北京:科学出版社,1991.
- [4] 袁天翊,方莲花,吕 扬,等. 杜仲叶的药理作用研究进展[J]. 中国中药杂志,2013,38(6):781-785.
- [5] Li Z Y, Gu J, Yan J, et al. Hypertensive cardiac remodeling effects of lignan extracts from *Eucommia ulmoides* Oliv. bark - A famous traditional Chinese medicine[J]. The American Journal of Chinese Medicine, 2013, 41(4):801-815.
- [6] 黄丽莉,段玉芳,杨春霞. 杜仲综合开发利用及产业化发展探讨[J]. 农学报,2013,3(6):57-60.
- [7] 王大玮,李 煜,周 玮,等. 杜仲 AFLP 反应体系的建立及优化[J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版,2010,38(6):88-94.
- [8] 唐建军,张禄源,何鸣筱. 杜仲的研究与应用进展[J]. 植物学通报,1998,15(6):48-52.
- [9] 苏印泉,马希汉,杨宗英. 日本的杜仲研究开发评述[J]. 西北林学院学报,1996,11(2):96-102.
- [10] 艾伦强,李婷婷,何银生,等. 杜仲的应用研究进展[J]. 亚太传统医药,2010,6(10):163-165.
- [11] 张博勇,张康健,张 檀,等. 秦仲 1-4 号优良品种选育研究[J]. 西北林学院学报,2004,19(3):18-20.
- [12] 杜红岩,谭运德,张保怀. 杜仲良种果园、种子园的营建与整形修剪技术[J]. 林业科技开发,1997(5):15-17.
- [13] 吕 强,彭密军,彭 胜,等. 不同栽培模式对杜仲叶及枝皮中多种活性成分含量的影响[J]. 经济林研究,2012,30(1):73-76.
- [14] 张康健,苏印泉,刘淑明,等. 杜仲优树返幼及快速繁殖方法的研究[J]. 西北植物学报,1989,10(2):102-109.
- [15] 袁香云. 杜仲叶片愈伤组织诱导及增殖培养条件的优化[J]. 科学技术与工程,2013,13(7):1927-1929.
- [16] 尉 芹,马希汉,张康健. 杜仲化学成分研究[J]. 西北林学院学报,1995,10(4):88-93.
- [17] 潘亚磊,翟远坤,武祥龙,等. 杜仲活性成分的提取及分离纯化方法研究进展[J]. 化学与生物工程,2012,29(2):1-5.
- [18] 杜红岩. 杜仲活性成分与药理研究的新进展[J]. 经济林研究,2003,21(2):58-61,82.
- [19] 彭红梅,李小姝. 杜仲的药理研究现状及应用展望[J]. 中医学报,2013,28(1):72-73.
- [20] 王 聪,毛 波,王 旭,等. 高温蒸煮结合溶剂提取法提取杜仲胶的工艺研究[J]. 化学与生物工程,2012,29(2):77-79.
- [21] 杜红岩,乌云塔娜,杜兰英. 杜仲高产胶优良无性系的选育[J]. 中南林学院学报,2006,26(1):6-11.
- [22] 谭家驹. 川北杜仲资源及其开发利用[J]. 山区开发,1994(6):20-21.
- [23] 张维涛,刘湘民,沈绍华,等. 中国杜仲栽培区划初探[J]. 西北林学院学报,1994,9(4):36-40.
- [24] 陈品良,吴俊元,贺晋安. 杜仲种质资源的现状及保护对策[J]. 植物资源与环境,1992,1(4):6-11.
- [25] 严玉平,宋国英,葛喜珍,等. 河北省种植杜仲的问题浅析[J]. 河北林果研究,1998(增刊):28-29.

- [26]覃正亚. 论湖南杜仲产业发展的策略调整[J]. 经济林研究, 2001,19(1):66-68.
- [27]丁 锐. 慈利县杜仲资源的保护与开发[J]. 湖南环境生物职业技术学院学报,2001,7(2):34-37.
- [28]张 敏. 科学种植、合理开发我省杜仲资源[J]. 种子,2002(4):74-75.
- [29]杜红岩. 我国的杜仲胶资源及其开发潜力与产业发展思路[J]. 经济林研究,2010,28(3):1-6.
- [30]邓建云,李建强,黄宏文. 一株具有特异 AFLP 指纹图谱的杜仲古树[J]. 武汉植物学研究,2006,24(6):509-513.
- [31]李芳东,杜红岩. 杜仲[M]. 北京:中国中医药出版社,2001:232-256.
- [32]周政贤. 中国杜仲[M]. 贵阳:贵州科技出版社,1993.
- [33]杜红岩. 杜仲良种——华仲 1-5 号[J]. 经济林研究,1995,13(4):78.
- [34]杜红岩. 我国杜仲变异类型的研究[J]. 经济林研究,1997,15(3):34-36,64.
- [35]杜红岩,李芳东,杜兰英,等. 果用杜仲良种“华仲 6 号”[J]. 林业科学,2010,46(8):182.
- [36]杜红岩,李芳东,李福海,等. 果用杜仲良种“华仲 7 号”[J]. 林业科学,2010,46(9):186.
- [37]杜红岩,李芳东,杨绍彬,等. 果用杜仲良种“华仲 8 号”[J]. 林业科学,2010,46(11):189.
- [38]杜红岩,李芳东,杨绍彬,等. 果用杜仲良种“华仲 9 号”[J]. 林业科学,2011,47(3):194.
- [39]张博勇,张康健,王亚琴,等. 杜仲优良种源区与类型选择的研究[J]. 西北林学院学报,2003,18(4):32-34.
- [40]张康健,苏印泉,张 檀. 中国杜仲优良品种选育[M]. 杨凌:西北农林科技大学出版社,2002.
- [41]李 煜,王大玮,李周岐,等. 杜仲遗传作图群体的建立[J]. 西北林学院学报,2012,27(2):62-65,108.
- [42]魏永成,李周岐,李 煜,等. 杜仲杂交子代苗期表型性状的遗传分析[J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版,2012,40(8):137-143.
- [43]崔克明. 杜仲研究的历史、现状和展望[J]. 西北林学院学报,1994,9(4):51-57.
- [44]毕春侠,张存旭,郭军战,等. 杜仲多倍体的诱导[J]. 河北林果研究,1999,14(2):50-52.
- [45]张焕玲,李俊红,李周岐. 秋水仙素处理杜仲种子诱导多倍体的研究[J]. 西北林学院学报,2008,23(1):78-81.
- [46]高 鹏,林 威,康向阳. 秋水仙碱诱导杜仲花粉染色体加倍的研究[J]. 北京林业大学学报,2004,26(4):39-42.
- [47]王跃华. 杜仲种子的多倍体诱导研究[J]. 亚太传统医药,2006(8):73-76.
- [48]张海凤,郭宝林,张成合,等. 杜仲四倍体的诱导与鉴定[J]. 园艺学报,2008,35(7):1047-1052.
- [49]赵 静. 四倍体与二倍体杜仲生长、抗寒及主要药物成分的比较研究[D]. 保定:河北农业大学,2011.
- [50]何 莉,贾文庆,刘 宇. 杜仲茎尖离体培养的研究[J]. 浙江农业科学,2008(6):675-677.
- [51]唐 亮,金晓玲. 杜仲组织培养的研究进展[J]. 贵州农业科学,2010,38(3):15-18.
- [52]王 宏,赵 辉,李周岐,等. 杜仲 RAPD 反应体系的优化[J]. 西北林学院学报,2007,22(4):86-89.
- [53]Deng J Y, Liu Y F, Huang H W. Development and characterization of microsatellite markers in *Eucommia ulmoides* Oliver (Eucommiaceae)[J]. Molecular Ecology Notes,2006,6(2):496-498.
- [54]王弦云,朱晓敏,王 勤,等. 杜仲 ISSR-PCR 反应体系的建立与引物筛选及其在遗传多样性研究中的应用[J]. 经济林研究,2013,31(1):30-34.
- [55]王媛琦,黄璐琦,邵爱娟,等. 子遗植物杜仲的遗传多样性 RAPD 分析和保护策略研究[J]. 中国中药杂志,2006,31(19):1583-1586.
- [56]Yao X H, Deng J Y, Huang H W. Genetic diversity in *Eucommia ulmoides* (Eucommiaceae), an endangered traditional Chinese medicinal plant[J]. Conservation Genetics,2012,13(6):1499-1507.
- [57]Xu W J, Wang B W, Cui K M. RAPD and SCAR markers linked to sex determination in *Eucommia ulmoides* Oliv. [J]. Euphytica, 2004,136(3):233-238.
- [58]Wang D W, Li Y, Li Z Q. Identification of a male-specific amplified fragment length polymorphism (AFLP) and a sequence characterized amplified region (SCAR) marker in *Eucommia ulmoides* Oliv. [J]. International Journal of Molecular Sciences,2011,12(1):857-864.
- [59]王大玮. 杜仲遗传连锁图谱构建及重要性状的分子标记[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2011.
- [60]周明兵,侯 磊,朱冬雪,等. 杜仲树皮 cDNA 文库的构建与分析[J]. 山地农业生物学报,2004,23(1):58-59,69.
- [61]赵德刚,韩玉珍,傅永福,等. 杜仲胶生物合成相关蛋白质的研究[J]. 中国农业大学学报,1999,4(1):114.
- [62]王敏杰,韩玉珍,刘卫平,等. 杜仲橡胶颗粒结合蛋白的分离、纯化及抗体制备[J]. 林业科学,2003,39(4):23-29.
- [63]刘世会. 杜仲蛋白纯化、序列分析及抗菌活性研究[D]. 贵阳:贵州大学,2008.
- [64]周明兵,肖月华,朱冬雪,等. 杜仲胶合成相关基因 *EuFPS* 的克隆及序列分析[J]. 分子植物育种,2003,1(1):66-71.
- [65]刘卫平,韩玉珍,赵德刚. 杜仲肉桂醇脱氢酶基因克隆及序列分析[J]. 中国农业大学学报,2003,8(1):27-30.
- [66]Jiang J H, Kai G Y, Cao X Y, et al. Molecular cloning of a HMG-CoA reductase gene from *Eucommia ulmoides* Oliver[J]. Bioscience Reports,2006,26(2):171-181.
- [67]李铁柱,杜红岩,刘慧敏,等. 杜仲幼果和成熟果实转录组数据组装及基因功能注释[J]. 中南林业科技大学学报,2012,32(10):9-17.
- [68]李铁柱,杜红岩,刘慧敏,等. 杜仲果实和叶片转录组数据组装及基因功能注释[J]. 中南林业科技大学学报,2012,32(11):122-130.
- [69]王凤菊. “2012 中国杜仲产业发展高峰论坛”总结杜仲产业重大进展[J]. 中国橡胶,2012,28(20):10-12.
- [70]赵 丹,赵德刚,李 岩. *EuFPS* 基因表达载体构建及对杜仲遗传转化的研究[J]. 基因组学与应用生物学,2009,28(1):27-33.
- [71]李 岩,赵德刚. *ipt* 基因促进杜仲遗传转化不定芽再生[J]. 北京林业大学学报,2011,33(6):90-93.
- [72]Zhao D, Liu Y, Zhu Y, et al. The effect of *Eucommia ulmoides* farnesyl pyrophosphate synthase gene on volatile constituents of transgenic tobacco[C]. 11th the International Association for Plant Tissue Culture and Biotechnology Congress. Beijing,2006:13-18.