

# 我国桉树遗传育种研究进展

李梅<sup>1,4</sup>, 施季森<sup>2</sup>, 罗建中<sup>3,4\*</sup>, 甘四明<sup>1,4\*</sup>

- (1. 中国林业科学研究院热带林业研究所, 热带林业研究国家林业和草原局重点实验室, 广东 广州 510520; 2. 南京林业大学林木遗传与生物技术省部共建教育部重点实验室, 南京林业大学林学院, 南方现代林业协同创新中心, 江苏 南京 210037; 3. 中国林业科学研究院速生树木研究所, 广东 湛江 524022; 4. 中国林业科学研究院, 林木遗传育种国家重点实验室, 北京 100091)

**摘要:**桃金娘科(Myrtaceae)桉属(*Eucalyptus*)、桉木属(*Angophora*)和伞房属(*Corymbia*)树种统称桉树,引入我国已有130余年的历史,是重要的工业用材林树种。我国桉树遗传育种研究始于20世纪60年代的种子园建设和70年代后期的种源试验,一些技术显著促进了其进程,主要有:①早期的种子园技术促进了无性繁殖困难树种的有性扩繁;②20世纪90年代兴起的扦插和组织培养技术推动了优良无性系选育与应用;③20世纪90年代末分子标记技术开启了我国桉树分子育种研究的新纪元;④21世纪初转基因技术为品种创制提供了崭新的手段;⑤刚尝试的基因组编辑技术展现了巨大的应用潜力。桉树育种策略和种质资源是其遗传育种研究的基础,已对一些树种制定了育种策略和育种计划,兼顾纯种内轮回选择和杂种无性系的选育,主要经济性状包括材积生长、木材密度、抗病虫和抗风等;累计已收集了近200个树种3000余个家系的种质资源。我国桉树遗传育种研究已取得显著进展,主要包括:①几个主要树种的轮回选择和世代改良,仅尾叶桉(*E. urophylla*)进入了第3个世代;②杂交育种的成效显著,培育了目前仍主栽的DH32-29和DH33-27等优良杂种无性系;③无性系育种结合无性繁殖技术(尤其是组织培养)的研发,极大地推动了无性系林业的发展;④开发了多种分子标记,包括基于新一代测序技术的标记,并基于分子标记利用连锁作图和关联分析的方法,在尾叶桉等6个树种中检测了与生长、材性和/或抗逆等性状相关的基因组位点;⑤已对逆境响应、激素和木材形成等相关的功能基因进行了克隆和表达分析,一些功能基因显示了较好的育种应用潜力;⑥已优化遗传转化体系,获得了转基因植株,并尝试了基因组编辑的可行性。但是,我国桉树遗传育种研究仍面临诸多挑战,如基因型×环境互作的复杂性和高质量基因组/泛基因组的缺乏,种质资源流失,新无性系缺乏,尚待从头克隆和鉴定具有育种价值的优异基因,基因组选择实用性有待探索,遗传转化率需进一步提高等。桉树遗传育种研究对促进我国林业生产的意义是显著的,将有望在高世代改良、种质资源的长期评价、杂种优势的机制与利用、基因组选择的有效应用和转基因与基因组编辑技术等方面取得突破。

**关键词:**桉树;遗传育种;高世代;杂种无性系;分子育种;遗传转化

中图分类号:S722.3

文献标志码:A

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

文章编号:1000-2006(2022)06-0041-10



## Progresses of eucalypt genetics and breeding studies in China

LI Mei<sup>1,4</sup>, SHI Jisen<sup>2</sup>, LUO Jianzhong<sup>3,4\*</sup>, GAN Siming<sup>1,4\*</sup>

- (1. Key Laboratory of National Forestry and Grassland Administration on Tropical Forestry Research, Research Institute of Tropical Forestry, Chinese Academy of Forestry, Guangzhou 510520, China; 2. Key Laboratory of Forest Genetics & Biotechnology of the Ministry of Education, College of Forestry, Co-Innovation Center for Sustainable Forestry in Southern China, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China; 3. Research Institute of Fast-growing Trees, Chinese Academy of Forestry, Zhanjiang 524022, China; 4. State Key Laboratory of Tree Genetics and Breeding, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091, China)

**Abstract:** Eucalypts are the common name for trees from the three genera *Eucalyptus*, *Angophora* and *Corymbia* within

收稿日期 Received: 2022-06-20

修回日期 Accepted: 2022-09-07

基金项目: 广东省林业科技创新项目(2022KJ CX024)。

第一作者: 李梅(limei3043@caf.ac.cn), 副研究员。\*通信作者: 罗建中(luojz69@hotmail.com), 研究员, 负责常规育种部分内容修改; 甘四明(simanggan@caf.ac.cn), 研究员, 负责分子生物学育种部分内容修改。

引文格式: 李梅, 施季森, 罗建中, 等. 我国桉树遗传育种研究进展[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2022, 46(6): 41-50. LI M, SHI J S, LUO J Z, et al. Progresses of eucalypt genetics and breeding studies in China[J]. Journal of Nanjing Forestry University (Natural Sciences Edition), 2022, 46(6): 41-50. DOI: 10.12302/j.issn.1000-2006.202206036.

family Myrtaceae. They have been introduced into China for more than 130 years and are currently an important choice of trees for industrial plantations. In China, genetics and breeding studies of eucalypts began with seed orchard establishment in the 1960s, followed by provenance trials in the late 1970s. Since then, some important techniques have shown significant impacts on accelerating the genetics and breeding studies of eucalypts, mainly including: (1) seed orchard management, especially in the early years, which has promoted the sexual propagation of those eucalypt species with difficulty in vegetative propagation; (2) cutting and tissue culture developed in the 1990s that have enhanced the selection and cultivation of superior clones; (3) molecular markers arisen in the late 1990s that have started the new era of eucalypt molecular breeding; (4) genetic transformation initiated in the 2000s that has provided a novel approach for creating new varieties; and (5) genome editing that is under attempt and has casted great application potentials. As breeding strategy and germplasm are concerned, breeding strategies and breeding plans have formulated for several species, in which within-species recurrent selection and hybrid clone selection were taken into account on such economic traits as volume growth, wood density, pest and disease resistance and typhoon tolerance; and more than 3 000 families of about 200 species collected for germplasm conservation. Great progresses have been made in eucalypt genetics and breeding studies in China, mainly including: (1) recurrent selection over generations accomplished for major species, with only *E. urophylla* reaching the third generation; (2) hybrid breeding with achievements of such widely planted hybrid clones as DH32-29 and DH33-27; (3) clonal breeding plus vegetative propagation technique development for tremendous contribution to clonal forestry; (4) development of several types of molecular markers, including the next-generation sequencing based markers, and marker-based delineation of genomic loci linked/associated with growth, wood properties and/or stress response detected in *E. urophylla* and other five species; (5) genes cloned and expression analyzed for stress response, phytohormone and wood formation, including some with promising application potentials; and (6) optimization of genetic transformation system, successful production of transgenic plants and attempt of genome editing. Nevertheless, some challenges remain herein, including genotype  $\times$  environment interaction complexity and high-quality genome and pan-genome sequence absence as well as germplasm erosion, new clone scarcity, few *de novo* cloned genes with breeding values, genomic selection uncertainty and further upgrading of genetic transformation technology. Eucalypt genetics and breeding studies have played a pivotal role in China's forestry development, and breakthrough may be made in advanced generation improvement, long-term germplasm evaluation, heterosis mechanism exploration and utilization, genomic selection application and trans-genic and genome editing techniques.

**Keywords:** eucalypts; genetics and breeding; advanced generation; hybrid clone; molecular breeding; genetic transformation

桉树泛指桃金娘科(Myrtaceae)桉属(*Eucalyptus*)、杯果木属(*Angophora*)和伞房属(*Corymbia*)树种<sup>[1]</sup>,天然分布于大洋洲大陆[869种和370亚种/变种(<https://lists.ala.org.au/speciesListItem/list/dr9850>)]及其北部华莱士线以东岛屿(特有5种)<sup>[2-3]</sup>。桉树是重要的工业用材林营造树种,已被引种到全球100余个国家和地区<sup>[4]</sup>。我国早在1890年即开始引入桉树,早期多用于庭园绿化和零星种植,20世纪50年代开始大面积造林<sup>[5]</sup>。截至2018年,我国桉树人工林面积达546.74万hm<sup>2</sup><sup>[6]</sup>。

我国最早的桉树遗传育种工作是20世纪60年代的种子园建设,系统的育种研究则始于80年代澳大利亚农业研究中心和澳大利亚国际发展援助局分别资助的合作项目<sup>[5]</sup>。20世纪90年代,随着国际桉树分子育种研究的兴起,国内最先开展了基于分子标记的桉树品种鉴定<sup>[7]</sup>。近40多年来,我国桉树常规育种和分子育种研究均取得了显著

的进展,展示了广阔的前景,但亦面临一些挑战。笔者对我国桉树遗传育种研究的进展进行综述,以期有助于推动桉树遗传育种的进程。

## 1 我国桉树遗传育种研究的简要技术历程

我国桉树遗传育种研究早期的系统性工作主要是多个树种的种源/家系的引种及轮回选择与杂交育种,如广西东门林场在1987年制定了包括这些内容的育种策略<sup>[8]</sup>,并育成了目前仍广泛栽培的DH32-29和DH33-27等杂种无性系。其后,一些技术显著促进了桉树遗传育种研究的进程,主要有:①种子园技术促进了无性繁殖困难树种的有性扩繁,如云南省2005年前建立了蓝桉(*E. globulus*)、直干桉(*E. maidenii*)和史密斯桉(*E. smithii*)实生种子园27hm<sup>2</sup>及直干桉无性系种子园8hm<sup>2</sup>(<https://www.ynls.gov.cn/xxgk/015281693/info/2016-81717.html>);②20世纪90年代兴起的桉树扦插和组织培养技术推动了优良无性系的选

育与应用。据不完全统计,截至2002年,我国共先后选育桉树无性系142个,无性系年均材积生长量可达 $30\text{ m}^3/\text{hm}^2$ 以上<sup>[5]</sup>;③分子标记技术早在1999年即用于我国桉树品种鉴定<sup>[7]</sup>,开启了我国桉树分子育种研究的新纪元;④转基因技术在21世纪初开始在桉树上应用<sup>[9]</sup>,为品种创制提供了崭新的手段;⑤基因组编辑技术在桉树中试用<sup>[10]</sup>,展现了巨大的应用潜力。

## 2 我国桉树育种策略与种质资源

育种策略和种质资源是林木遗传育种研究的基础。我国早期的桉树遗传育种研究少有育种策略和种质材料的完整记录。20世纪80年代开始(尤其是与澳大利亚长达20余年的合作研究),引进了大量的桉树种质资源<sup>[11]</sup>,并制定了育种策略以指导系统的遗传育种工作。

### 2.1 育种策略和育种计划

我国早期的桉树育种未见明确的育种策略和育种计划,育种活动亦少有报道,如在云南种植了近百年的蓝桉直到1990年才有优树选择的报道<sup>[12]</sup>。20世纪60年代,广东省雷州林业局选育‘雷林1号桉’(*E. leizhou* ‘No.1’)时遵循了一定的育种程序,如将优良林分疏伐为母树林,亦选择优树用于建立无性系种子园<sup>[13]</sup>,但仍缺乏系统的育种策略和育种计划的指导。

系统的育种策略和育种计划是在20世纪80年代与澳大利亚合作的研究项目中才开始制定的,到目前主要有3个:①广西东门林场的中澳合作造林项目于1987年制定的部分热带桉树遗传改良的育种策略<sup>[8]</sup>;②原林业部的世界银行贷款造林项目聘请咨询专家于1991年制定的华南桉树育种策略<sup>[14]</sup>;③中国桉树育种联盟2010年制定的桉树遗传改良计划<sup>[15]</sup>。这些都是由澳方专家主导完成,体现了澳方援助对我国桉树育种的深远影响。

早期的桉树育种策略主要针对选择和繁殖而进行基础群体、育种群体和繁殖群体的管理,基本都是基于纯种内轮回选择的群体改良与良种繁育<sup>[16]</sup>。20世纪90年代以来,随着扦插和组织培养技术的建立及无性系林业的兴起,对于易无性繁殖的树种越来越重视优良无性系(尤其是杂种无性系)的选育,育种策略也纳入了基于无性系选育的个体改良,并兼顾杂交育种的多个树种。比如,中国桉树育种联盟的桉树遗传改良计划<sup>[15]</sup>兼顾尾叶桉(*E. urophylla*)、巨桉(*E. grandis*)、粗皮桉(*E. pellita*)、赤桉(*E. camaldulensis*)和细叶桉(*E. tereti-*

*cornis*)5个树种,考虑材积生长、木材密度、抗病虫害和抗台风等主要经济性状,每个树种基于120~300个家系进行一般配合力的轮回选择,并通过自由授粉进行各树种独立的育种群体世代更新,优良家系的优良单株再用于种内和/或种间控制授粉以选育优良单株和优良无性系(图1)。经过联盟成员(研究院所、林场和公司)的多年实践,该育种计划比独立的纯种改良具有更大的遗传增益。

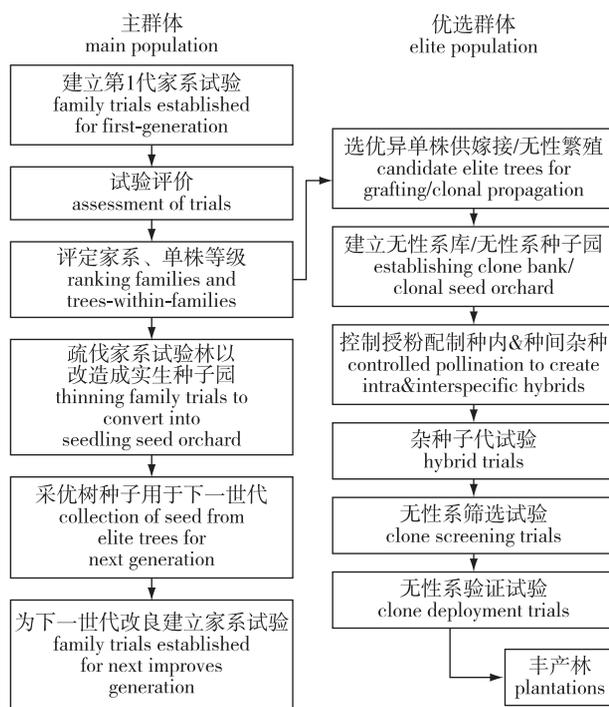


图1 中国桉树育种联盟的桉树育种计划流程

Fig.1 Flowchart for eucalypt breeding plan proposed by China Eucalypt Breeding Alliance

### 2.2 收集的种质资源

我国收集的桉树种质资源均引自澳大利亚、印度尼西亚和巴布亚新几内亚等原产地。1980—2010年的30年间是我国桉树种质资源引进最集中的时期,几乎都是通过澳大利亚援助项目和中国-澳大利亚政府间合作项目,如“东门国有林场造林项目”(1981—1989年)引进了174个树种<sup>[17]</sup>，“澳大利亚阔叶树引种和栽培试验”项目(1985—1992年)引进和试验了100个树种388个种源1301个家系<sup>[18]</sup>，“耐寒桉树种质资源及其培育技术在中国南方冷凉地区和澳大利亚的研究”项目(1999—2004年)引进了12个树种22个种源,建立了5种耐寒桉树的种子园(含508个家系)<sup>[19]</sup>。此后,中国桉树育种联盟在2010—2012年结合引进和选育的材料,建立了5个树种的育种群体,包含1078个家系;“南方国家桉树种质资源

库建设项目”(2012—2015年)建立了覆盖我国桉树主要适生区的24个树种/亚种3000余份种质材料的保存库。

总体而言,华南和西南地区以及福建、湖南和江西等省的多家单位均引进和收集了相当多的桉

树种质材料,先后引入的种质资源数量非常庞大,难以准确统计。然而,引进的桉树种质资源的保存状况差异很大,大部分资源得到妥善的保存,也有一定数量的种质资源因多种因素而流失。我国目前保存的主要桉树种质资源见表1。

表1 我国现存的主要桉树种质资源

Table 1 Eucalypt germplasm resources conserved currently in China

序号 No.	树种 species	种植年份 planting year	种源数量 number of provenances	家系数量 number of families	保存地点 planting site
1	尾叶桉 <i>E. urophylla</i>	1988—1995 2008 及 2020	38 20	590 194	广西崇左和广东湛江 广东肇庆 <sup>[20]</sup> 和广州及阳江和德庆(张卫华,私人交流)
2	巨桉 <i>E. grandis</i>	1987—2010 2009 及 2020	20 20	380 176	广西崇左和福建三明 广东肇庆 <sup>[21]</sup> 和广州及阳江、德庆和曲江(张卫华,私人交流)
3	粗皮桉 <i>E. pellita</i>	1989—2004	32	410	广西崇左和广东湛江
4	细叶桉 <i>E. tereticornis</i>	1987—2012	43	320	广西崇左和广东湛江
5	赤桉 <i>E. camaldulensis</i>	2000—2012	31	280	广西崇左和广东湛江
6	大花序桉 <i>E. cloeziana</i>	2004—2009	17	115	广西玉林 <sup>[22]</sup> 、福建漳州和四川宜宾 <sup>[23]</sup>
7	柠檬桉 <i>C. citriodora</i>	2015	10	120	广东湛江 <sup>[24]</sup> 和广西南宁 <sup>[25]</sup>
8	邓恩桉 <i>E. dunnii</i>	1991—2012	20	250	广西柳州、福建三明和云南昆明
9	蓝桉 <i>E. globulus</i>	1990—2014	12	270	云南昆明和楚雄
10	史密斯桉 <i>E. smithii</i>	2005—2012	10	191	云南昆明和楚雄
11	本沁桉 <i>E. benthamii</i> 多利桉 <i>E. dorrigoensis</i>	2015	8	110	云南昆明

注:无文献引用的均为中国桉树育种联盟成员单位提供。Planting sites without citations were provided by members of China Eucalypt Breeding Alliance.

### 3 我国桉树遗传育种研究的方法与进展

#### 3.1 轮回选择与高世代育种

基于自由授粉的家系轮回选择是单个树种群体改良的通用方法<sup>[16]</sup>。我国早期的桉树轮回选择基本针对生长性状,如20世纪80和90年代对巨桉<sup>[26-27]</sup>、尾叶桉<sup>[28-29]</sup>和细叶桉<sup>[30]</sup>等树种速生性的评价和选择。21世纪以来,开始重视材性和抗逆性等性状,如大花序桉(*E. cloeziana*)物理力学性质<sup>[22]</sup>和柠檬桉(*C. citriodora*)抗病性<sup>[25]</sup>。此外,也对粗皮桉<sup>[31]</sup>、蓝桉<sup>[32]</sup>、邓恩桉(*E. dunnii*)<sup>[33]</sup>和赤桉<sup>[34]</sup>等树种先后开展了重要性状的遗传评价和选择。研究结果均表明,各树种在生长、材性和抗性性状上几乎都存在显著的遗传分化,这为多世代轮回选择的有效性提供了遗传基础的保障。

目前,我国在多种桉树上开展了多世代育种,如中国桉树育种联盟确定的尾叶桉<sup>[35]</sup>、巨桉<sup>[36]</sup>、粗皮桉<sup>[37]</sup>、细叶桉和赤桉<sup>[34]</sup>等核心树种。其中,除尾叶桉的育种进入了第3个世代外,其他树种仅进行到第2个世代。然而,对世代推进后遗传变异的变化和遗传增益的幅度较少进行系统评价,尚需

对高世代育种的全面深入分析。尤其遗憾的是,受常用杂种无性系(个体)选育的影响,我国桉树的群体世代改良未受到足够的重视,不少树种引进多年后仍长时间停留在一个世代,这不利于实现长期的、更高的育种成效。

#### 3.2 杂交育种

杂交育种是我国桉树育种最具成效的育种途径。早在20世纪60年代,在广西曾发现柳桉(*E. saligna*)与窿缘桉(*E. exserta*)的天然杂种,后来还开展了人工杂交,并在8个省/区进行了杂种测试<sup>[38]</sup>。20世纪80年代,广西东门林场开展了尾叶桉和巨桉为主要亲本的杂交育种,木材产量和干形的杂种优势非常显著,在华南地区推广了70多个尾叶桉×巨桉无性系<sup>[39]</sup>,目前仍广泛栽培的DH32-29和DH33-27等无性系均是其代表性成果。同时,具有一定耐寒、抗风和/或抗病性的细叶桉、赤桉、粗皮桉和邓恩桉等树种也较广泛地用于杂交育种<sup>[40-43]</sup>,并产生一批有潜力的杂种无性系。相对来讲,适于热带地区的桉树比温带树种的杂种优势明显<sup>[44]</sup>,而我国海南和两广为主的桉树栽培区处于热带或亚热带南缘,这为尾叶桉和巨桉等热

带树种作亲本的杂种提供了展示杂种优势的广泛区域。

国内已进行了大量的桉树杂交工作,如东门林场在20世纪80年代后期就配制了多个树种间的杂交组合1200余个<sup>[11]</sup>,中国林业科学研究院热带林业研究所在20世纪90年代和21世纪初配制了1200余个杂交组合<sup>[45]</sup>,国家林业和草原局桉树研究开发中心以高世代亲本为主配制了近1000个杂交组合,杂种优势比较显著的尾叶桉×巨桉和尾叶桉×细叶桉已广泛用于营林生产。并且,对亲本组配进行了探索,发现以性状显著相关的简单序列重复(simple sequence repeats, SSR)等位片段估算的尾叶桉和细叶桉亲本遗传距离与生长和木材基本密度等性状的子代均值、特殊杂交力和杂种优势均显著相关<sup>[46]</sup>,这为优良亲本组合的有效选配提供了可行的方法。

### 3.3 无性系育种

近20年来,我国桉树人工林95%以上是利用无性系造林,体现了我国桉树无性系育种和无性扩繁(尤其是组织培养)技术对无性系林业的巨大贡献。我国桉树无性系育种很大程度上与杂交育种直接相关,采用“有性改良,无性利用”的策略,如生产上广泛栽培的DH32和DH33系列无性系均是杂交和杂种无性系培育的成果。另一方面,也有栽培无性系来自天然杂种,如种植面积曾达30余万hm<sup>2</sup>的无性系U6,原株选自尾叶桉人工林,其父本很可能是细叶桉或赤桉<sup>[47]</sup>。

为了满足无性系多样化的需要,我国桉树无性

系培育过程中测试了大量的无性系,工业用途主要包括纸浆材<sup>[48]</sup>和胶合板材<sup>[49]</sup>,经济性状除了生长和材性,还包括抗青枯病(病原为 *Ralstonia solanacearum*)<sup>[50]</sup>和抗风<sup>[51]</sup>等。同时,也重视基因型(无性系)与环境的互作,对一些无性系开展了多点试验<sup>[48,52-53]</sup>。

### 3.4 桉树分子标记及性状相关位点

多种分子标记已被用于我国桉树分子育种研究。早期利用随机扩增多态性DNA(randomly amplified polymorphic DNA, RAPD)标记进行了无性系多样性分析<sup>[7]</sup>和遗传图谱构建<sup>[54]</sup>,之后基于表达序列标签(expressed sequence tag, EST)开发了基于切割扩增多态性序列(cleaved amplified polymorphic sequences, CAPS)的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)标记<sup>[55]</sup>及插入/缺失(insert/deletion, InDel)标记<sup>[56]</sup>、SSR标记<sup>[57-59]</sup>和包含1536个SNP标记的GoldenGate芯片<sup>[60]</sup>,也利用多态性阵列技术(diversity arrays technology, DArT)芯片进行了遗传图谱构建<sup>[61]</sup>。此外,基于简化基因组测序在尾叶桉×细叶桉析因交配群体中检测了15万余个SNP标记<sup>[46]</sup>,基于重测序在粗皮桉育种群体中检测了632万余个SNP和215万余个InDel标记<sup>[62]</sup>。

连锁作图和关联分析是基于分子标记检测性状相关的基因组位点的两个主要途径。国内已在尾叶桉、细叶桉、巨桉、赤桉、大花序桉和粗皮桉等6个树种中检测了与生长、材性和/或抗逆等性状相关的基因组位点(表2)<sup>[46,60-67]</sup>。

表2 开展连锁和关联分析的桉树主要性状

Table 2 Major traits analyzed for linkage mapping and/or association studies in eucalypts

树种 species	生长性状 growth trait	木材性质 wood property	抗病虫 resistance to pest and disease	耐逆境 tolerance of abiotic stress
尾叶桉 <i>E. urophylla</i>	根长和不定根数量等 <sup>[63]</sup> , 树高和胸径 <sup>[46,60-64]</sup>	木材基本密度、纤维素含量、半纤维素含量、木素含量和木素 S/G 等 <sup>[46,60-62,64]</sup>		
细叶桉 <i>E. tereticornis</i>	根长和不定根数量等 <sup>[63]</sup> , 树高和胸径 <sup>[46,60-65]</sup>	木材基本密度、纤维素含量、半纤维素含量、木素含量和木素 S/G 等 <sup>[46,60-62,64]</sup>	枝瘿姬小蜂 ( <i>Leptocybe invasa</i> ) <sup>[66]</sup>	
巨桉 <i>E. grandis</i>			枝瘿姬小蜂 <sup>[66]</sup>	
赤桉 <i>E. camaldulensis</i>	树高、胸径和材积 <sup>[67]</sup>			风害 <sup>[67]</sup>
大花序桉 <i>E. cloeziana</i>	树高和胸径 <sup>[68]</sup>	木材基本密度和弹性模量 <sup>[68]</sup>		
粗皮桉 <i>E. pellita</i>	胸径 <sup>[62]</sup>	抽提物和木质素含量及纸浆得率 <sup>[62]</sup>		

我国对桉树性状相关的基因组位点的研究紧跟国际林木相关研究的趋势,如:①性状广泛,涵盖

主要的经济性状;②芯片和测序分型等高通量的分子标记检测技术逐渐普及,已有几项桉树全基因组

关联研究<sup>[46,62,64]</sup>;③利用较大的研究群体以提高位点检测的精度,如尾叶桉×细叶桉全基因组关联研究的析因交配群体包括960余株<sup>[46]</sup>;④设置多点试验以考虑环境的影响,解析位点与环境、年份的互作效应<sup>[64]</sup>;⑤结合参考基因组序列和/或转录组数据挖掘性状相关的候选基因<sup>[64]</sup>。

### 3.5 桉树功能基因与调控因子

国内已对桉树逆境响应、激素和木材形成等相关的多类功能基因进行了克隆和表达分析。逆境响应方面,相关基因如巨桉响应低温和干旱胁迫的C重复结合因子基因 *EgrCBF*<sup>[68-69]</sup>、干旱响应元件结合蛋白基因 *EgrDREB*<sup>[70]</sup> 和 C2H2-锌指蛋白基因 *EgrZFP*<sup>[71]</sup>,以及响应低温和盐胁迫的转录因子 *HD-Zip*<sup>[72]</sup> 和 *FHY3/FAR1*<sup>[73]</sup> 等。逆境结合激素响应方面,已鉴定巨桉响应盐和低温胁迫及激素处理的 *EgrWRKY*<sup>[74]</sup>、*EgrBZR*<sup>[75]</sup> 和 *EgrVQ*<sup>[76]</sup> 等转录因子。木材形成方面,相关基因如巨桉纤维素合成酶基因 *EgrCesA*<sup>[77]</sup>、扩张蛋白基因 *EgrEXP* 和己糖激酶基因 *EgrHEX*<sup>[78]</sup>,以及尾叶桉木素合成相关的肉桂醇脱氢酶基因 *EuCAD*<sup>[79]</sup>、肉桂酰-辅酶A还原酶基因 *EuCCR*<sup>[80]</sup>、4-香豆酰辅酶A连接酶基因 *Eu4CL*<sup>[81]</sup>、咖啡酸-O-甲基转移酶基因 *EuCOMT* 和咖啡酰辅酶A-O-甲基转移酶基因 *EuCCoAOMT*<sup>[82]</sup> 等。

一些功能基因显示了较好的育种应用潜力。例如,尾叶桉肉桂醇脱氢酶基因 *EuCAD* 在烟草 (*Nicotiana tabacum*) 中抑制表达可显著降低茎部木质部厚度和木质素总量且伴随纤维素含量升高<sup>[75]</sup>;咖啡酰辅酶A-O-甲基转移酶基因 *EuCCoAOMT* 在烟草中抑制表达可提高紫丁香基/愈创木基木质素的比率,同时过表达咖啡酸-O-甲基转移酶基因 *EuCOMT* 可进一步提高其比例<sup>[78]</sup>。这些基因对木材主要成分含量的定向改良具有较大潜力。

### 3.6 桉树转基因与基因组编辑

我国桉树转基因研究始于20世纪初。早期主要是优化和建立遗传转化体系,如利用根癌农杆菌 (*Agrobacterium tumefaciens*) 介导法成功建立了尾叶桉×赤桉无性系 DH201-2 组培苗茎段<sup>[9]</sup> 和巨桉无性系 Eg5 组培苗叶片<sup>[83]</sup> 的遗传转化体系,巨桉的转化率可达0.26%。并且,利用 *mCherry* 与 *ruby* 基因作为阳性转化株筛选的形态可视化标记,能有效解决转化后嵌合体筛选的难题<sup>[84]</sup>。近年来,桉树的转化率大幅提高,如对尾叶桉×细叶桉无性系 YL02 组培苗节间的转化率可达3.8%<sup>[85]</sup>。

已有研究成功将功能基因转入桉树并获得转化植株,如转入枯草杆菌 (*Bacillus subtilis*) 的 *aiiA* 基因提高了尾叶桉×巨桉无性系对青枯菌的抗性<sup>[84]</sup>。但是,尚无转基因植株进入大田测试。

也有研究对桉树基因组编辑的可行性进行了有益的尝试,如尾叶桉中利用 GoldenGate 方法构建肉桂醇脱氢酶基因 *EuCAD* 的双靶点基因编辑载体,成功删除了两个靶点之间约300 bp 的片段<sup>[10]</sup>。

## 4 我国桉树遗传育种面临的挑战

类似于国内外其他林木,桉树的遗传育种亦面临诸多挑战,如基因型×环境互作的复杂性<sup>[86]</sup>,高通量/无损的表型测定技术亟待开发<sup>[87]</sup>,无性系多样性的有效维持<sup>[88]</sup> 和应对气候变化的育种策略与育种方法<sup>[89]</sup> 以及高质量基因组/泛基因组的缺乏、标记辅助选择的不确定性和转基因的应用效果有待观察<sup>[90]</sup> 等。同时,结合国际桉树遗传育种的动态,我国桉树遗传育种面临的挑战还有以下一些特别的方面。

因经费短缺、土地征用、间伐改造和/或火灾等原因,一些桉树种质资源保存林被荒废或损毁而流失,后续育种又要重复引进种质材料,难以长期保存和评价。再加上缺乏系统的育种策略和育种计划(尤其是如何与无性系选育相结合),不少树种的育种只进行到第2代甚至仍停留在第1代。因此,桉树种质资源的长期保存与育种世代的有效推进仍是不小的挑战。

目前广泛栽培的 DH32-29、广林-9 和 DH33-27 等无性系已有近20 a 的历史,但仍未选育出生长量和适应性可与之媲美的新无性系。鉴于桉树“有性改良,无性利用”的策略,很大程度上对有性改良提出了更高的要求,尤其是如何通过更高的世代选择优良的杂交亲本<sup>[91]</sup>。此外,针对无性系林业的需要,杂交或杂种优势可不需关注一个全同胞的子代群体的表现,更多地应重视产生个别优良子代无性系的能力;相应地,对杂种优势的机制仍需深入理解,育种策略也需结合杂种优势的遗传机制(包括分子机理)进行修订。

生产上有潜力的一些树种,如耐寒性较好的邓恩桉和本沁桉 (*E. benthamii*) 及实木材质优良的大花序桉,无性繁殖(尤其组培)困难或繁殖系数较低,仍未实现规模化繁殖无性系苗。这一方面需要提高有性繁殖的效益;另一方面需谨慎评估无性繁殖途径的可行性,并可考虑更多的繁殖方式(如胚

培养)。

虽然基于连锁和关联分析及转录组测序已经筛选出一些重要性状相关的候选基因,但仍未从头克隆和鉴定具有育种价值的优异基因,这对桉树和其他多类林木仍是不容小觑的挑战。

基因组选择为育种值预测和优良基因型鉴定提供了崭新的方法,国外已在桉树上有效开展<sup>[92]</sup>,但国内尚鲜见报道。结合国内的桉树育种群体,如何建立有效的基因组选择或预测模型并用于育种实践仍需探索。

桉树遗传转化率仍较低,既影响了转基因育种的效率,也制约了基因功能的鉴定(包括基于连锁和关联分析的基因从头克隆)及加速育种在桉树中的有效实施与效益实现。尤其对广泛栽培的桉树无性系,如何提高转化效率以增强其抗病虫、耐逆境和抗除草剂等能力仍是技术瓶颈。

## 5 展望

我国年产桉树木材超过3 000万m<sup>3</sup>,以低于全国10%的人工林面积生产了高于全国1/4的木材年产量<sup>[93]</sup>。因此,桉树遗传育种研究和良种应用对促进我国林业生产的意义是显著的,在未来相当长时间内也应得到足够的重视。

常规遗传育种研究仍将是桉树良种培育的主导途径。育种策略和育种计划将注重种质资源的多样性与高世代群体改良,尤其是对短期内难以突破无性繁殖技术的树种。种质资源的进一步完善、长期评价和挖掘将为种质创新提供材料基础,评价方法将充分利用多种表型、生理和基因组水平的变异等信息。优良杂交亲本选配与新无性系选育将是杂交育种的重点,杂种优势的机理与利用途径的探索将为此提供理论指导。因此,在常规遗传育种活动的框架下,结合遗传理论和育种技术的创新,加强优异种质的持续创制将是相当长时间内我国桉树遗传育种研究的核心任务。

随着巨桉<sup>[94]</sup>、赤桉和野桉(*E. rudis*)<sup>[95]</sup>基因组测序的完成,桉树分子育种研究进入了后基因组时代。类似于一般林木的分子育种研究与应用,桉树有望在基因组选择的有效性、新一代测序技术的广泛利用、转基因与基因组编辑技术的突破,以及与常规育种的有机结合等方面取得突破性进展<sup>[92]</sup>。另一方面,我国桉树分子育种研究仍在追赶国际林木相关研究的先进水平,需要考虑群体材料的优势和/或个别可能突破的方向(如具有育种价值的优异基因的挖掘和利用),集中力量进行攻

关,以显著提升我国桉树分子育种研究的水平,充分展示研究成果的巨大应用价值。

致谢:陈博雯研究员、欧阳乐军教授、尚秀华副研究员和范春节副研究员提供了部分文献。

## 参考文献(reference):

- [1] HILL K D, JOHNSON L A S. Systematic studies in the eucalypts-7: a revision of the bloodwoods, genus *Corymbia* (Myrtaceae) [J]. *Telopea*, 1995, 6(2/3): 185-504. DOI:10.7751/telopea19953017.
- [2] PRYOR L D, WILLIAMS E R, GUNN B V. A morphometric analysis of *Eucalyptus urophylla* and related taxa with description of two new species [J]. *Aust Syst Bot*, 1995, 8(1): 57-70. DOI:10.1071/SB9950057.
- [3] PRYOR L D. *Biology of Eucalypts* [M]. London: Edward Arnold, 1976: 82.
- [4] FAO. *Eucalypts for planting* [R]. Rome: Food and Agricultural Organization of the United Nations, 1979: 51-144.
- [5] 祁述雄. 中国桉树 [M]. 2版. 北京: 中国林业出版社, 2002: 56-57, 90. QI S X. *Eucalyptus in China* [M]. 2nd ed. Beijing: China Forestry Publishing House, 2002: 56-57, 90.
- [6] 国家林业和草原局. 中国森林资源报告(2014-2018) [M]. 北京: 中国林业出版社, 2019: 366. National Forestry and Grassland Administration. *China forest resources report (2014-2018)* [M]. Beijing: China Forestry Publishing House, 2019: 366.
- [7] 甘四明, 施季森, 白嘉雨, 等. 尾叶桉和细叶桉无性系的RAPD指纹图谱构建[J]. *南京林业大学学报(自然科学版)*, 1999, 23(1): 11-14. GAN S M, SHI J S, BAI J Y, et al. RAPD fingerprints of clones of *Eucalyptus urophylla* S T Blake and *Eucalyptus tereticornis* Smith [J]. *J Nanjing For Univ (Nat Sci Ed)*, 1999, 23(1): 11-14. DOI:10.3969/j.issn.1000-2006.1999.01.003.
- [8] NIKLES D G. A breeding strategy for genetic improvement of selected tropical eucalypts at Dongmen State Forest Farm [R]. Dongmen Town, Guangxi: Dongmen State Forest Farm, 1987.
- [9] 范春节, 曾炳山, 裘珍飞, 等. 尾赤桉DH201-2遗传转化体系建立的研究[J]. *浙江林业科技*, 2009, 29(4): 15-20. FAN C J, ZENG B S, QIU Z F, et al. Establishment of genetic transformation of *Eucalyptus urophylla* × *E. camaldulensis* clone DH201-2 [J]. *J Zhejiang For Sci*, 2009, 29(4): 15-20.
- [10] 陈博雯, 肖玉菲, 李军集, 等. *EuCAD* 基因 CRISPR/Cas9 敲除载体构建及基因编辑效果验证[J/OL]. *分子植物育种*, (2021-12-11) [2022-05-06]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20211209.0443.006.html>. CHEN B W, XIAO Y F, LI J J, et al. Construction and verification of CRISPR/Cas9 knockout vector of *EuCAD* gene [J]. *Mol Plant Breed*, (2021-12-11) (2022-05-06). <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20211209.0443.006.html>.
- [11] TURNBULL J W. Development of sustainable forestry plantations in China: a review [R]. Canberra: Australian Centre for International Agricultural Research, 2007.
- [12] 李淡清. 蓝桉、直干桉优树选择研究[J]. *林业科学*, 1990, 26(2): 167-174. LI D Q. A study on plus tree selection in *Eucalyptus globulus* Labill and *Eucalyptus maidenii* F V M [J]. *Sci Silvae Sin*, 1990, 26(2): 167-174.
- [13] 张翰华, 潘永言. 雷林1号桉子代林调查研究[J]. *桉树科技*, 1982, (3): 35-48. ZHANG H H, PAN Y Y. Investigation on progeny trials of *Eucalyptus leizhou* No.1 [J]. *Eucalypt Sci Technol*, 1982, (3): 35-48.
- [14] ELDRIDGE K G. Breeding strategy for eucalypts in southern China [R]. Beijing: World Bank Loan Project Management Cen-

- tre, China National Afforestation Project, 1991.
- [15] ARNOLD R J, 罗建中, 谢耀坚. 中国桉树育种联盟遗传改良计划[R]. 湛江: 中国桉树育种联盟, 2010. ARNOLD R J, LUO J Z, XIE Y J. Genetic improvement plan for China Eucalypt Breeding Alliance [R]. Zhanjiang: China Eucalypt Breeding Alliance, 2010.
- [16] ELDRIDGE K G, DAVIDSON J, HARWOOD C, et al. Eucalypt domestication and Breeding [M]. Oxford: Oxford University Press Inc, 1993: 162-180.
- [17] 刘德杰. 广西东门林场桉树无性系的研究、发展及生产[J]. 广西林业科学, 2001(S1): 28-32. LIU D J. Research, development and production on eucalypt clones in Guangxi Dongmen forest farm [J]. Guangxi For Sci, 2001(S1): 28-32. DOI: 10.3969/j.issn.1006-1126.2001.z1.008.
- [18] VAN BUEREN M. Eucalypt tree improvement in China. Impact assessment series report No. 30 [R]. Canberra: Australian Centre for International Agricultural Research, 2004.
- [19] 罗建中. 我国耐寒桉树的种质资源及其遗传改良[J]. 桉树科技, 2006, 23(1): 24-31. LUO J Z. Cold-tolerant eucalypt germplasm resources and their genetic improvement in China [J]. Eucalypt Sci Technol, 2006, 23(1): 24-31. DOI: 10.3969/j.issn.1674-3172.2006.01.006.
- [20] 刘德浩, 张卫华, 张方秋. 尾叶桉核心种质初步构建[J]. 华南农业大学学报, 2014, 35(6): 89-93. LIU D H, ZHANG W H, ZHANG F Q. Preliminary construction of core collection of *Eucalyptus urophylla* germplasm [J]. J South China Agri Univ, 2014, 35(6): 89-93. DOI: 10.7671/j.issn.1001-411X.2014.06.017.
- [21] 刘德浩, 张卫华, 张方秋, 等. 不同种源巨桉幼林生长性状变异与早期评价[J]. 西南林业大学学报, 2015, 35(4): 91-94. LIU D H, ZHANG W H, ZHANG F Q, et al. Growth traits variation analysis and early evaluation of *Eucalyptus grandis* seedling of different provenance [J]. J Southwest For Univ, 2015, 35(4): 91-94. DOI: 10.11929/j.issn.2095-1914.2015.04.016.
- [22] LI C, WENG Q, CHEN J B, et al. Genetic parameters for growth and wood mechanical properties in *Eucalyptus cloeziana* F. Muell. [J]. New For, 2017, 48(1): 33-49. DOI: 10.1007/s11056-016-9554-4: 1-17.
- [23] 陈小中, 张临萍, 陈炎, 等. 大花序桉优树家系苗期性状的遗传变异[J]. 四川林业科技, 2020, 41(2): 8-14. CHEN X Z, ZHANG L P, CHEN J, et al. Genetic variation and selection of seedling traits in superior *Eucalyptus cloeziana* families [J]. J Sichuan For Sci Technol, 2020, 41(2): 8-14. DOI: 10.12172/201912120001.
- [24] 刘思汝, 林彦, 刘晓华, 等. 柠檬桉群体遗传多样性和遗传结构的SSR分析[J]. 分子植物育种, 2016, 14(7): 1923-1929. LIU S R, LIN Y, LIU X H, et al. Genetic diversity and genetic structure of *Corymbia citriodora* based on SSR analysis [J]. Mol Plant Breed, 2016, 14(7): 1923-1929. DOI: 10.13271/j.mpb.014.001923.
- [25] 谢秋兰, 林彦, 王楚彪, 等. 柠檬桉在中国湿热地区的早期生长和抗病性遗传变异[J]. 分子植物育种, 2017, 15(8): 3278-3285. XIE Q L, LIN Y, WANG C B, et al. Genetic variation in early growth and disease resistance in *Corymbia citriodora* in humid subtropical China [J]. Mol Plant Breed, 2017, 15(8): 3278-3285. DOI: 10.13271/j.mpb.015.003278.
- [26] 王豁然. 澳大利亚阔叶树引种与栽培的研究——中澳合作研究项目[J]. 林业科学研究, 1988, 1(1): 112-113. WANG H R. Introduction and cultivation experiments for Australian broad-leaved tree species: China-Australia cooperative project [J]. For Res, 1988, 1(1): 112-113.
- [27] WANG H, ZHENG Y, ZANG D, et al. Provenance variation in growth and wood properties of *E. grandis* in China [C]// BROWN A G. Australian tree species research in China. ACIAR Proceedings No. 48. Canberra: Australian Centre for International Agricultural Research, 1994: 105-107.
- [28] WEI X, BORRALHO N M G. Genetic control of wood basic density and bark thickness and their relationships with growth traits of *Eucalyptus urophylla* in South East China [J]. Silvae Genet, 1997, 46(4): 245-250.
- [29] LUO J. Variation in growth and wood density of *Eucalyptus urophylla* [C]// TURNBULL J W. Eucalypts in Asia. ACIAR Proceedings No. 111. Canberra: Australian Centre for International Agricultural Research, 2003: 94-100.
- [30] XU J, WU K, WU J, et al. Genetic variation in a provenance trial of *Eucalyptus tereticornis* [C]// BROWN A G. Australian tree species research in China. ACIAR Proceedings No. 48. Canberra: Australian Centre for International Agricultural Research, 1994: 123-126.
- [31] LUO J, ARNOLD R J, AKEN K. Genetic variation in growth and typhoon resistance in *Eucalyptus pellita* in southwestern China [J]. Aust For, 2006, 69(1): 38-47. DOI: 10.1080/00049158.2006.10674986.
- [32] ZANG D, WANG H, YOU Y. Performance and selection of a 4-year *Eucalyptus globulus* seedling seed orchard in Yunnan Province, China [C]// POTTS B M, BORRALHO N M G, REID J B, et al. Eucalypt plantations: improving fibre yield and quality. Proceedings of CRCTHF-IUFRO conference. Hobart: CRC for Temperate Hardwood Forestry, 1995: 226-229.
- [33] 罗建中, ARNOLD R, 项东云, 等. 邓恩桉生长、木材密度和树皮厚度的遗传变异研究[J]. 林业科学研究, 2009, 22(6): 758-764. LUO J Z, ARNOLD R, XIANG D Y, et al. Genetic variation in growth, wood density and bark thickness of *Eucalyptus dunnii* [J]. For Res, 2009, 22(6): 758-764.
- [34] LUO J, ARNOLD R, LU W, et al. Genetic variation in *Eucalyptus camaldulensis* and *E. tereticornis* for early growth and susceptibility to the gall wasp *Leptocybe invasa* in China [J]. Euphytica, 2014, 196(3): 397-411. DOI: 10.1007/s10681-013-1042-8.
- [35] LU W, ROGER R, ZHANG L, et al. Genetic diversity and structure through three cycles of a *Eucalyptus urophylla* S.T. Blake breeding program [J]. Forests, 2018, 9(7): 372. DOI: 10.3390/f9070372.
- [36] LUO J, ZHOU G, WU B, et al. Genetic variation and age-age correlations of *Eucalyptus grandis* at Dongmen Forest Farm in southern China [J]. Aust For, 2010, 73(2): 67-80. DOI: 10.1080/00049158.2010.10676312.
- [37] 刘晓华, 罗建中, 卢万鸿, 等. 两个连续世代粗皮桉生长与抗风能力遗传特征[J]. 分子植物育种, 2017, 15(12): 5103-5111. LIU X H, LUO J Z, LU W H, et al. Genetic characteristics in 2 consecutive generations' *Eucalyptus pellita* for growth and typhoon resistance [J]. Mol Plant Breed, 2017, 15(12): 5103-5111. DOI: 10.13271/j.mpb.015.005103.
- [38] 苏兴仁, 吴世明, 韦民, 等. 广西柳窿杂种桉选育研究初报[J]. 桉树科技协作动态, 1982(4): 24-28. SU X R, WU S M, WEI M, et al. Preliminary study on Guangxi's *Eucalyptus saligna* × *E. exserta* hybrid breeding [J]. Eucalypt Sci Technol, 1982(4): 24-28.
- [39] 项东云, 郑白, 周维, 等. 广西桉树育种研究概述[J]. 广西林业科学, 1999, 28(2): 71-80. XIANG D Y, ZHENG B, ZHOU W, et al. Review on eucalypt breeding in Guangxi region [J]. Guangxi For Sci Technol, 1999, 28(2): 71-80. DOI: 10.19692/j.cnki.gfs.1999.02.004.
- [40] HE X, LI F, LI M, et al. Quantitative genetics of cold hardiness and growth in *Eucalyptus* as estimated from *E. urophylla* × *E. tereticornis* hybrids [J]. New For, 2012, 43(3): 383-394. DOI: 10.1007/s11056-011-9287-3.
- [41] GAN S, LI M, LI F, et al. Genetic analysis of growth and susceptibility to bacterial wilt (*Ralstonia solanacearum*) in *Eucalyptus* by interspecific factorial crossing [J]. Silvae Genet, 2004, 53(5/6): 254-258. DOI: 10.1515/sg-2004-0047.

- [42] 罗建中, 谢耀坚, 曹加光, 等. 2年生桉树杂交种生长与抗风的遗传变异研究[J]. 草业学报, 2009, 18(6): 91-97. LUO J Z, XIE Y J, CAO J G, et al. Genetic variation in 2-year eucalypt hybrids' growth and typhoon resistance [J]. Acta Prataculturae Sin, 2009, 18(6): 91-97.
- [43] 翁启杰, 赖秋香, 李发根, 等. 尾叶桉×邓恩桉早期生长和耐寒性的遗传分析[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2015, 39(5): 33-38. WENG Q J, LAI Q X, LI F G, et al. Genetic analysis on early growth and cold tolerance of *E. urophylla* × *E. dunnii* hybrids [J]. J Nanjing For Univ (Nat Sci Ed), 2015, 39(5): 33-38. DOI:10.3969/j.issn.1000-2006.2015.05.006.
- [44] POTTS B M, DUNGEY H. Interspecific hybridization of *Eucalyptus*: key issues for breeders and geneticists [J]. New For, 2004, 27(2): 115-138. DOI:10.1023/A:1025021324564.
- [45] BAI J, XU J, GAN S. Genetic improvement of tropical eucalypts in China [C]// TURNBULL J W. Eucalypts in Asia. ACIAR Proceedings No. 111. Canberra: Australian Centre for International Agricultural Research, 2003: 64-70.
- [46] 陈升侃. 尾叶桉×细叶桉重要经济性状的遗传变异与关联分析[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2018. CHEN S K. Genetic variation and association analysis in important economic traits in *Eucalyptus urophylla* × *E. tereticornis* [D]. Beijing: Chinese Academy of Forestry, 2018.
- [47] LI F, GAN S, ZHANG Z, et al. Microsatellite-based genotyping of the commercial *Eucalyptus* clones cultivated in China [J]. Silvae Genet, 2011, 60(5): 216-223. DOI: 10.1515/sg-2011-0029.
- [48] LUO J, ARNOLD R J, CAO J, et al. Variation in pulp wood traits between eucalypt clones across sites and implications for deployment strategies [J]. J Trop For Sci, 2012, 24(1): 70-82.
- [49] 任世奇, 罗建中, 彭彦, 等. 桉树无性系的单板材率与价值研究[J]. 草业学报, 2010, 19(6): 46-54. REN S Q, LUO J Z, PENG Y, et al. A study on veneer recovery ratio and value of eucalypt clones [J]. Acta Prataculturae Sin, 2010, 19(6): 46-54.
- [50] 沈文生, 黄乃秀. 桉树种间、种内、无性系抗青枯病选育的新技术[J]. 中国野生植物资源, 2000, 19(2): 13-15. SHEN W S, HUANG N X. A new technique on anti-bacteria wilt variety selecting from eucalypt inter and intra-species clones [J]. Chin Wild Plant Resour, 2000, 19(2): 13-15.
- [51] 朱成庆. 雷州半岛桉树无性系抗风性的研究[J]. 林业科学研究, 2006, 19(4): 532-536. ZHU C Q. Study on the wind-resistance traits of *Eucalyptus* clones in Leizhou Peninsula [J]. For Res, 2006, 19(4): 532-536.
- [52] 李宝福. 福建中亚热带7个桉树无性系多点造林对比试验研究[J]. 林业科学研究, 2007, 20(2): 181-187. LI B F. Contrast investigation on seven clones of *Eucalyptus* multiplace forestation in middle-subtropical Fujian [J]. For Res, 2007, 20(2): 181-187.
- [53] YANG H, WENG Q, LI F, et al. Genotypic variation and genotype-by-environment interactions in growth and wood properties in a cloned *Eucalyptus urophylla* × *E. tereticornis* family in southern China [J]. For Sci, 2018, 64(3): 225-232. DOI:10.1093/for-sci/fox011.
- [54] GAN S, SHI J, LI M, et al. Moderate-density molecular maps of *Eucalyptus urophylla* S. T. Blake and *E. tereticornis* Smith genomes based on RAPD markers [J]. Genetica, 2003, 118(1): 59-67. DOI:10.1023/A:1022966018079.
- [55] YU X, GUO Y, ZHANG X, et al. Integration of EST-CAPS markers into genetic maps of *Eucalyptus urophylla* and *E. tereticornis* and their alignment with *E. grandis* genome sequence [J]. Silvae Genet, 2012, 61(6): 247-255. DOI: 10.1515/sg-2012-0031.
- [56] YU X, ZHOU C, LI F, et al. A novel set of EST-InDel markers in *Eucalyptus* L'Hérit.: polymorphisms, cross-species amplification, physical positions and genetic mapping [J]. Mol Breed, 2016, 36(7): 104. DOI:10.1007/s11032-016-0523-6.
- [57] 周长品, 李发根, 翁启杰, 等. 2010. PCR产物直接测序和混合克隆测序进行桉树 EST-SSR 标记开发[J]. 分子植物育种, 2010, 8(1): e0001. ZHOU C P, LI F G, WENG Q J, et al. Comparison between direct sequencing and pool-cloning-based sequencing of PCR products in EST-SSR marker development in *Eucalyptus* [J]. Fenzi Zhiwu Yuzhong, 2010, 8(1): e0001 DOI:10.5376/mpb.cn.2010.08.0001.
- [58] HE X, WANG Y, LI F, et al. Development of 198 novel EST-derived microsatellites in *Eucalyptus* (Myrtaceae) [J]. Am J Bot, 2012, 99(4): e134-148. DOI:10.3732/ajb.1100442.
- [59] ZHOU C, HE X, LI F, et al. Development of 240 novel EST-SSRs in *Eucalyptus* L' Hérít. [J]. Mol Breed, 2014, 33(1): 221-225. DOI:10.1007/s11032-013-9923-z.
- [60] 于晓丽. 桉树高密度遗传图谱构建及生长和材性相关 QTL 解析[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2015. YU X L. Construction of dense genetic maps in *Eucalyptus* and detection of quantitative trait loci (QTLs) for growth and wood property traits [D]. Beijing: Chinese Academy of Forestry, 2015.
- [61] LI F, ZHOU C, WENG Q, et al. Comparative genomics analyses reveal extensive chromosome colinearity and novel quantitative trait loci in *Eucalyptus* [J]. PLoS ONE, 2015, 10: e0145144. DOI:10.1371/journal.pone.0145144.
- [62] 王楚彪. 基于全基因组重测序的多世代粗皮桉遗传变异研究及材性性状关联分析[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2021. WANG C B. Genetic variation analysis and wood traits association study of multi-generation *Eucalyptus pellita* based on whole genome resequencing [D]. Beijing: Chinese Academy of Forestry, 2021.
- [63] 于晓丽, 李发根, 翁启杰, 等. 桉树扦插生根和生长性状的 QTL 定位[J]. 林业科学研究, 2011, 24(2): 200-204. YU X L, LI F G, WENG Q J, et al. Detection of quantitative trait loci related with rooting ability of cuttings and growth of *Eucalyptus* [J]. For Res, 2011, 24(2): 200-204. DOI:10.13275/j.cnki.lyxyj.2011.02.018.
- [64] 朱显亮. 利用 GBS 开展尾叶桉杂种生长、材性 QTL 定位及候选功能基因研究[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2021. ZHU X L. QTL mapping and candidate functional gene identification of growth and wood properties in *Eucalyptus urophylla* × *E. tereticornis* hybrids by GBS [D]. Beijing: Chinese Academy of Forestry, 2021.
- [65] 宋志姣, 翁启杰, 周长品, 等. 细叶桉(*Eucalyptus tereticornis*) 早期生长的 SSR 标记关联分析[J]. 分子植物育种, 2016, 14(1): 195-203. SONG Z J, WENG Q J, ZHOU C P, et al. SSR markers associated with early growth in *Eucalyptus tereticornis* [J]. Mol Plant Breed, 2016, 14(1): 195-203. DOI:10.13271/j.mpb.014.000195.
- [66] ZHANG M, ZHOU C, SONG Z, et al. The first identification of genomic loci in plants associated with resistance to galling insects: a case study in *Eucalyptus* L'Hér. (Myrtaceae) [J]. Sci Rep, 2018, 8: 2319. DOI:10.1038/s41598-018-20780-9.
- [67] 尚秀华, 张沛健, 谢耀坚, 等. 赤桉抗风和生长性状的 SSR 关联分析[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2018, 42(4): 97-105. SHANG X H, ZHANG P J, XIE Y J, et al. SSR association analysis of *Eucalyptus camaldulensis* wind resistance and growth traits [J]. J Nanjing For Univ (Nat Sci Ed), 2018, 42(4): 97-105. DOI:10.3969/j.issn.1000-2006.201711019.
- [68] ZHOU C, WANG L, WENG Q, et al. Association of microsatellite markers with growth and wood mechanical traits in *Eucalyptus cloeziana* F. Muell. (Myrtaceae) [J]. Ind Crop Prod, 2020, 154: 112702. DOI:10.1016/j.indcrop.2020.112702.
- [69] 王京京, 童再康, 黄程前, 等. 巨桉 *EgrCBF3* 基因的克隆与逆境响应表达分析[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2013, 41(7): 113-118. WANG J J, TONG Z K,

- HUANG C Q, et al. Isolation and expression analysis under stress of *EgrCBF3* in *Eucalyptus grandis* [J]. J Northwest A&F Univ (Nat Sci Ed), 2013, 41(7): 113-118.
- [70] 魏晓玲, 程龙军, 窦锦青, 等. 巨桉 *EgrDREB2A* 基因结构及表达特性分析[J]. 林业科学, 2015, 51(2): 80-90. WEI X L, CHENG L J, DOU J Q, et al. The structure and expression characteristics of *EgrDREB2A* gene in *Eucalyptus grandis* [J]. Sci Silvae Sin, 2015, 51(2): 80-90. DOI:10.11707/j.1001-7488.20150210.
- [71] WANG S, WEI X L, CHENG L J, et al. Identification of a C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>-type zinc finger gene family from *Eucalyptus grandis* and its response to various abiotic stresses [J]. Biol Plant, 58(2): 385-390. DOI:10.1007/s10535-014-0399-4.
- [72] ZHANG J, WU J, GUO M, et al. Genome-wide characterization and expression profiling of *Eucalyptus grandis* HD-Zip gene family in response to salt and temperature stress [J]. BMC Plant Biol, 2020, 20: 451. DOI:10.1186/s12870-020-02677-w.
- [73] DAI J, SUN J, PENG W, et al. FAR1/FHY3 transcription factors positively regulate the salt and temperature stress responses in *Eucalyptus grandis* [J]. Front Plant Sci, 2022, 13: 883654. DOI:10.3389/fpls.2022.883654.
- [74] FAN C, YAO H, QIU Z, et al. Genome-wide analysis of *Eucalyptus grandis* WRKY genes family and their expression profiling in response to hormone and abiotic stress treatment [J]. Gene, 2018, 678: 38-48. DOI:10.1016/j.gene.2018.08.003.
- [75] FAN C, GUO G, YAN H, et al. Characterization of Brassinazole resistant (*BZR*) gene family and stress induced expression in *Eucalyptus grandis* [J]. Physiol Mol Biol Plant, 2018, 24(5): 821-831. DOI:10.1007/s12298-018-0543-2.
- [76] YAN H, WANG Y, HU B, et al. Genome-wide characterization, evolution, and expression profiling of *VQ* gene family in response to phytohormone treatments and abiotic stress in *Eucalyptus grandis* [J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(7): 1765. DOI:10.3390/ijms20071765.
- [77] LIU G, XIE Y, SHANG X, et al. Expression patterns and gene analysis of the cellulose synthase gene superfamily in *Eucalyptus grandis* [J]. Forests, 2021, 12: 1254. DOI:10.3390/f12091254.
- [78] ZHANN, SHANG X, WANG Z, et al. Screening cellulose synthesis related genes of *EgrEXP* and *EgrHEX* in *Eucalyptus grandis* [J]. Gene, 2022, 824: 146396. DOI:10.1016/j.gene.2022.146396.
- [79] CHEN B W, XIAO Y F, LI J J, et al. Identification of the *CAD* gene from *Eucalyptus urophylla* GLU4 and its functional analysis in transgenic tobacco [J]. Genet Mol Res, 2016, 15(4): gmr15049062. DOI:10.4238/gmr15049062.
- [80] 陈博雯, 盖颖, 蒋湘宁. 尾叶桉 GLU4 肉桂酰-辅酶 A 还原酶基因克隆及原核表达[J]. 中南林业科技大学学报, 2014, 34(11): 71-76, 97. CHEN B W, GAI Y, JIANG X N. Cloning and prokaryotic expression of cinnamoyl Co-A reductase of *Eucalyptus urophylla* clone GLU4 [J]. J Central South Univ For & Technol, 2014, 34(11): 71-76, 97.
- [81] 陈博雯, 潘俊霞, 蔡文侠, 等. 尾叶桉 GLU4 中 4-香豆酰辅酶 A 连接酶基因克隆及原核表达[J]. 广东农业科学, 2014, 41(12): 150-155. CHEN B W, PAN J X, CAI W X, et al. Gene cloning and prokaryotic expression of 4-coumarate: coenzyme A ligase in *Eucalyptus urophylla* clone GLU4 [J]. Guangdong Agri Sci, 2014, 41(12): 150-155.
- [82] 陈博雯, 刘海龙, 肖玉菲, 等. 尾叶桉 *COMT* 和 *CCoAOMT* 基因定向调控木质素单体合成的烟草转化研究[J]. 中国生物工程杂志, 2018, 38(3): 24-32. CHEN B W, LIU H L, XIAO Y F, et al. Directional regulation of lignin monomer synthesis in tobacco by using *COMT* gene and *CCoAOMT* gene of *Eucalyptus urophylla* [J]. China Biotechnol, 2018, 38(3): 24-32. DOI:10.13523/j.cb.20180304.
- [83] 郭利军, 曾炳山, 刘英. 根瘤农杆菌介导的巨桉 Eg5 高效遗传转化体系建立[J]. 植物学报, 2013, 48(1): 87-93. GUO L J, ZENG B S, LIU Y. Agrobacterium-mediated high-efficient transformation of *Eucalyptus grandis* clone Eg5 [J]. Chin Bull Bot, 2013, 48(1): 87-93. DOI:10.3724/SP.J.1259.2013.00087.
- [84] OUYANG L J, LI L M. Effects of an inducible *aiiA* gene on disease resistance in *Eucalyptus urophylla* × *Eucalyptus grandis* [J]. Transgenic Res, 2016, 25(4): 441-452. DOI:10.1007/s11248-016-9940-x.
- [85] WANG X, LUO P, QIU Z, et al. Adventitious bud regeneration and agrobacterium tumefaciens-mediated genetic transformation of *Eucalyptus urophylla* × *E. tereticornis* interspecific hybrid [J]. In Vitro Cell Dev Biol-Plant, 2021. DOI:10.1007/s11627-021-10240-x.
- [86] LI Y, SUONTAMA M, BURDON R D, et al. Genotype by environment interactions in forest tree breeding: review of methodology and perspectives on research and application [J]. Tree Genet Genomes, 2017, 13(3): 60. DOI:10.1007/s11295-017-1144-x.
- [87] 边黎明, 张慧春. 表型技术在林木育种和精准林业上的应用[J]. 林业科学, 2020, 56(6): 113-126. BIAN L M, ZHANG H C. Application of phenotyping techniques in forest tree breeding and precision forestry [J]. Sci Silvae Sin, 2020, 56(6): 113-126. DOI:10.11707/j.1001-7448.20200612.
- [88] INGVARSSON P K, DAHLBERG H. The effects of clonal forestry on genetic diversity in wild and domesticated stands of forest trees [J]. Scand J For Res, 2019, 34(5): 370-379. DOI:10.1080/02827581.2018.1469665.
- [89] MATA LLANA-RAMIREZ L P, WHETTEN R W, SANCHEZ G M, et al. Breeding for climate change resilience: a case study of loblolly pine (*Pinus taeda* L.) in North America [J]. Front Plant Sci, 2021, 12: 606908. DOI:10.3389/fpls.2021.606908.
- [90] 甘四明. 林木分子育种研究的基因组学信息资源述评[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2020, 44(4): 1-11. GAN S M. A review on genomics information resources available for molecular breeding studies in forest trees [J]. J Nanjing For Univ (Nat Sci Ed), 2020, 44(4): 1-11. DOI:10.3969/j.issn.1000-2006.202005036.
- [91] 黄崇辉, 杨朝辉, 陈文平, 等. 桉树杂交育种技术在雷州林业局的应用[J]. 桉树科技, 2008, 25(2): 55-60. HUANG C H, YANG Z H, CHEN W P, et al. Application of cross breeding technology of *Eucalyptus* in Leizhou Forestry Bureau [J]. Eucalypt Sci Technol, 2008, 25(2): 55-60.
- [92] GRATTAPAGLIA D, SILVA-JUNIOR O B, RESENDE R T, et al. Quantitative genetics and genomics converge to accelerate forest tree breeding [J]. Front Plant Sci, 2018, 9: 1693. DOI:10.3389/fpls.2018.01693.
- [93] 谢耀坚. 真实的桉树[M]. 北京: 中国林业出版社, 2015: 76. XIE Y J. Tell you the truth of eucalypts [M]. Beijing: China Forestry Publishing House, 2015: 76.
- [94] MYBURG A A, GRATTAPAGLIA D, TUSKAN G A, et al. The genome of *Eucalyptus grandis* [J]. Nature, 2014, 510(7505): 356-362. DOI:10.1038/nature13308.
- [95] DRIGUEZ P, BOUGOUFFA S, CARTY K, et al. Leaf Go: Leaf to Genome, a quick workflow to produce high-quality de novo plant genomes using long-read sequencing technology [J]. Genome Biol, 2021, 22: 256. DOI:10.1186/s13059-021-02475-z.