

利用多种分子标记构建龙眼高密度分子遗传图谱

郭印山¹, 赵玉辉^{1*}, 刘朝吉², 任鹏荣¹, 黄天林¹, 傅嘉欣¹, 卢博彬¹, 刘成明^{1**}

(¹华南农业大学园艺学院, 广州 510642; ²潮州市果树研究所, 广东潮州 515726)

摘要: 以龙眼特优质品种‘凤梨朵’为母本, 大果型主栽品种‘大乌圆’为父本, 杂交创建了‘凤梨朵’×‘大乌圆’F₁群体。从该杂种群体中随机选用94个单株作为作图群体, 连同两个亲本品种, 进行了RAPD、ISSR、SRAP和AFLP分子标记分析, 并运用JoinMap3.0进行连锁分析, 分别构建了‘凤梨朵’和‘大乌圆’的分子遗传图谱, 其中, ‘凤梨朵’的遗传图谱为21个连锁群, 包含183个标记位点, 覆盖总图距965.1 cM, 位点间平均遗传距离为5.84 cM; ‘大乌圆’的遗传图谱为22个连锁群, 包含251个标记位点, 覆盖总图距1 064.8 cM, 位点间平均遗传距离为4.65 cM。这是龙眼上首次报道的高密度分子遗传图谱, 为后续的基因定位及辅助选择奠定了良好的基础。

关键词: 龙眼; 分子标记; 遗传图谱

中图分类号: S 667.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2009) 05-0655-08

Construction of a Molecular Genetic Map for Longan Based on RAPD, ISSR, SRAP and AFLP Markers

GUO Yin-shan¹, ZHAO Yu-hui^{1*}, LIU Chao-ji², REN Peng-rong¹, HUANG Tian-lin¹, FU Jia-xin¹, LU Bo-bin¹, and LIU Chengming^{1**}

(¹College of Horticulture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China; ²Chaozhou Fruit Research Institute, Chaozhou, Guangdong 515726, China)

Abstract: A big F₁ population of ‘Fengliduo × Dawuyuan’ were created by crossing between a high quality cultivar ‘Fengliduo’ and a large fruit size main cultivar ‘Dawuyuan’. Among the hybrid population, 94 F₁ individuals were randomly chosen and used as the mapping population. Based on the mapping population, a molecular genetic linkage map of longan was constructed with RAPD, ISSR, SRAP and AFLP molecular markers. According to the linkage analysis by JoinMap3.0, the molecular linkage map of ‘Fengliduo’ fell into 21 linkage groups, which contained 183 markers, with an average interval of 5.84 cM and covered a total distance of 965.1 cM; While the molecular linkage map of ‘Dawuyuan’ fell into 22 linkage groups, which contained 251 markers, with an average interval of 4.65 cM and covered a total distance of 1 064.8 cM. This was the first report about high-density molecular genetic map for longan and would lay a solid foundation for gene location and marker assisted selection in longan breeding.

Key words: longan; molecular marker; genetic map

遗传连锁图谱的构建是基因组研究中的重要环节, 是基因定位、克隆及基因组结构与功能研究的必要基础, 因此, 遗传图谱构建长期以来倍受遗传育种工作者的重视。木本果树由于具有多年生、童期长及基因组高度杂合的特性, 其常规育种水平一直落后于大田作物。现今, 由于分子标记技术的介入, 使木本果树的育种水平得到明显提升, 其中分子遗传作图和分子聚合育种不但对果树育种具有重

收稿日期: 2008-10-17; 修回日期: 2009-02-19

基金项目: 国家自然科学基金项目(30771498); 中国博士后科学基金项目(20080440763); 广东省科技计划项目(2KM03001N)

*并列第一作者。 **通讯作者 Author for correspondence (Email: cmliu@scau.edu.cn)

要的理论指导意义，而且在育种实践中也逐渐显示出诱人的前景。

自 Hemmat 等 (1994) 提出“双假测交”理论并应用于果树作物的分子遗传图谱构建以来，果树分子遗传作图研究取得了快速发展，除了桃 (Rajapakse et al., 1995; Dirlewanger et al., 1998; Blenda et al., 2007)、杏 (Vilanova et al., 2003)、番木瓜 (Ma et al., 2004) 等之外，绝大部分果树，如苹果 (Hemmat et al., 1994; Kenis & Keulemans, 2005)、梨 (Ikeda et al., 2001; Pierantoni et al., 2007)、葡萄 (罗素兰等, 2001; Welter et al., 2007; Xu et al., 2008)、桃 (乔飞等, 2006; 高妍等, 2008)、柑橘 (Chen et al., 2008)、橄榄 (La Rosa et al., 2003)、酸樱桃 (Wang et al., 1998)、芒果 (房经贵等, 2003)、猕猴桃 (Testolin et al., 2001)、荔枝 (Liu & Mei, 2003) 等都利用“双假测交”理论成功构建了分子遗传图谱。

我国是龙眼的原产国，而且在多年前就已成为世界上最大的龙眼生产国，但一直以来有关龙眼的遗传基础研究相对滞后。易干军等 (2003)、彭宏祥等 (2008) 用 AFLP 技术对龙眼遗传多样性进行过研究，然而目前国内尚未有龙眼遗传图谱构建的报道。作者在课题组前期对作图群体进行初步 RAPD (random amplified polymorphic DNA) 分析 (黄天林, 2006) 的基础上，继续开展 ISSR (inter-simple sequence repeat)、SRAP (sequence-related amplified polymorphism) 和 AFLP 分子标记分析，构建高密度的龙眼的分子遗传图谱，为今后 QTL 定位和分子标记辅助育种提供依据。

1 材料与方法

1.1 植物材料及其基因组 DNA 的提取

试验在华南农业大学园艺学院园艺生物技术研究所进行。作图群体及双亲材料均取自广东省潮州市果树研究所。2002年春选用广东潮州的特优质农家品种‘凤梨朵’和广西主栽品种‘大乌圆’为亲本，杂交创建了‘凤梨朵’×‘大乌圆’的 F₁ 杂种群体。经分子标记分析淘汰假杂种植株后，从375个真杂种植株中按编号顺序选取 94 株，连同两个亲本植株，用于构建遗传图谱。

基因组 DNA 的提取采用 CTAB 法，并按黄天林 (2006) 的方法有所改进。

1.2 RAPD 反应体系及扩增条件

扩增反应体积 25 μL: 10 ×PCR buffer (15 mmol · L⁻¹ Mg²⁺) 2.5 μL, MgCl₂ (25 mmol · L⁻¹) 0.5 μL, dNTPs (2.5 mmol · L⁻¹) 1.0 μL, 引物 (5 μmol · L⁻¹) 1.0 μL, 模板 DNA (5 ng · μL⁻¹) 3.0 μL, Taq 酶 (5 U · μL⁻¹) 0.20 μL。94 预变性 3 min; 94 变性 40 s, 38 退火 60 s, 72 延伸 90 s, 共进行 35 个循环；然后 72 后延伸 10 min。扩增产物用 1.2% 的琼脂糖凝胶电泳分离。

1.3 ISSR 反应体系及扩增条件

反应体积为 25 μL, 各组份为: 10 ×PCR buffer (15 mmol · L⁻¹ Mg²⁺) 2.5 μL, MgCl₂ (25 mmol · L⁻¹) 1.0 μL, dNTPs (2.5 mmol · L⁻¹) 1.5 μL, 引物 (5 μmol · L⁻¹) 2.0 μL, 模板 DNA (5 ng · μL⁻¹) 5.0 μL, Taq 酶 (5 U · μL⁻¹) 0.15 μL。扩增条件为: 94 预变性 4 min; 94 变性 45 s, 52 退火 60 s, 72 延伸 60 s, 共进行 40 个循环；然后 72 后延伸 10 min。扩增产物用 1.5% 的琼脂糖凝胶电泳分离。

1.4 SRAP 反应体系及扩增条件

反应体积 25 μL, 各组份为: 10 ×PCR buffer 2.5 μL, MgCl₂ (25 mmol · L⁻¹) 3.0 μL, dNTPs (2.5 mmol · L⁻¹) 2.0 μL, 引物 (5 μmol · L⁻¹) 1.0 μL, 模板 DNA (5 ng · μL⁻¹) 2.0 μL, Taq 酶 (5 U · μL⁻¹) 0.20 μL。扩增条件为: 94 预变性 5 min; 94 变性 60 s, 35 退火 60 s, 72 延伸 90 s, 5 个循环；然后 94 变性 60 s, 50 退火 60 s, 72 延伸 90 s, 35 个循环；最后在 72 下后延伸 10 min。扩增产物用 4% 的聚丙烯酰胺凝胶电泳分离。

1.5 AFLP反应体系及扩增条件

参照 Vos 等 (1995) 的方法进行分析，基本步骤为：*EcoR* 和 *Mse* 双酶切，将酶切产物连接上接头后进行预扩增，将预扩增产物稀释 20倍后用于选择性扩增，选择性扩增产物采用 6%聚丙烯酰胺凝胶电泳分离后用银染法进行谱带检测。所用试剂及引物均购自上海生工生物工程技术服务公司。

1.6 数据的收集处理及遗传图谱构建

根据电泳结果，用 0, 1 来表示标记的有无，然后根据各位点在作图群体中的分离数据，用 JoinMap3.0 软件，选用‘CP作图模型’设置 LOD 为 3.0，最大重组值为 0.4，分别对双亲的分离位点进行连锁分析，获得双亲的分子标记连锁群，再用 Mapchart2.2 软件绘制连锁图。

2 结果与分析

2.1 引物筛选

对双亲和 F_1 代 6 个单株组成的小群体，分别用 1 200 条 RAPD 引物、101 条 ISSR 引物、288 对 SRAP 引物组合及 64 对 AFLP 引物组合进行筛选，获得扩增稳定、带型清晰、综合效果好的 RAPD 单引物 128 条，RAPD 双引物 24 对、ISSR 引物 36 条、SRAP 引物 43 对，以及 AFLP 引物 5 对，用于对大群体（96 株）进行 PCR 扩增、电泳并记录标记的分离情况。

2.2 双亲的多态性标记及标记的分离情况

经观察统计，在双亲间共获得多态性标记 454 个，其中父本特有标记 265 个，母本特有标记 189 个。 χ^2 检验 ($= 0.01$) 结果表明，父本标记中偏离孟德尔分离比例的标记为 55 个，占父本特有标记数的 20.75%，母本标记中偏离孟德尔分离比例的标记为 38 个，占母本特有标记数的 20.11%，由此可见，双亲特有标记在作图群体中的偏分离比率大致相同。另外，本研究还获得双亲共有的分离标记 186 个（共有标记是指双亲都有但在后代中出现分离的标记，理论上应符合 3:1 分离），经 χ^2 检验 ($= 0.01$)，发现偏离孟德尔分离比例标记为 51 个，占总数的 27.42%。各类标记的偏分离情况见表 1。

表 1 不同类型标记的数量及分离情况

Table 1 The number of different type of markers used in this study

标记类型 Type of markers	父本特有标记 Paternal markers	母本特有标记 Maternal markers	双亲共有的分离标记 Co-segregated markers	偏分离标记(比例 / %) Distorted markers (ratio)
RAPD 单引物 RAPD primer	81	63	57	38 (18.91)
RAPD 双引物 RAPD primer pair	15	10	18	9 (20.93)
ISSR	19	16	11	2 (4.35)
SRAP	131	92	91	87 (27.71)
AFLP	19	8	9	10 (27.78)
总数 Total	265	189	186	146 (22.81)

2.3 遗传图谱构建

应用 JoinMap3.0 软件，设置 LOD 为 3.0，最大重组值为 0.4，分别对母本分离位点 + 双亲共有分离位点和父本分离位点 + 双亲共有分离位点进行运算，通过 Kosambi 函数将重组率转换为图距 (cM)，并应用 Mapchart2.2 软件分别绘制出双亲的分子遗传图谱。获得如下结果：母本‘凤梨朵’的遗传图谱（图 1）包括 21 个连锁群，有 183 个标记位点，覆盖总图距 965.1 cM，位点间平均遗传距离为 5.84 cM，连锁群平均长度 46 cM，每个连锁群平均包含 8.41 个标记位点；21 个连锁群中，位点数最多的连锁群 FLD1 含有 60 个标记，有 9 个连锁群包含 2 个标记，最长的连锁群 FLD2 覆盖图距为 166.8 cM，最短的连锁群 FLD21 覆盖图距为 7.7 cM。父本‘大乌圆’的遗传图谱（图 2）包括 22 个连锁群，有 251 个标记位点；覆盖总图距 1 064.8 cM，位点间平均遗传距离为 4.65 cM，连锁群

平均长度 48.4 dM, 每个连锁群平均包含 11.41 个标记位点; 22 个连锁群中, 位点数最多的连锁群 DW Y1 含有 116 个标记, 有 6 个连锁群包含 2 个标记, 最长的连锁群 DW Y1 覆盖图距为 230.7 dM, 最短的连锁群 DW Y21 覆盖图距为 4.4 dM。

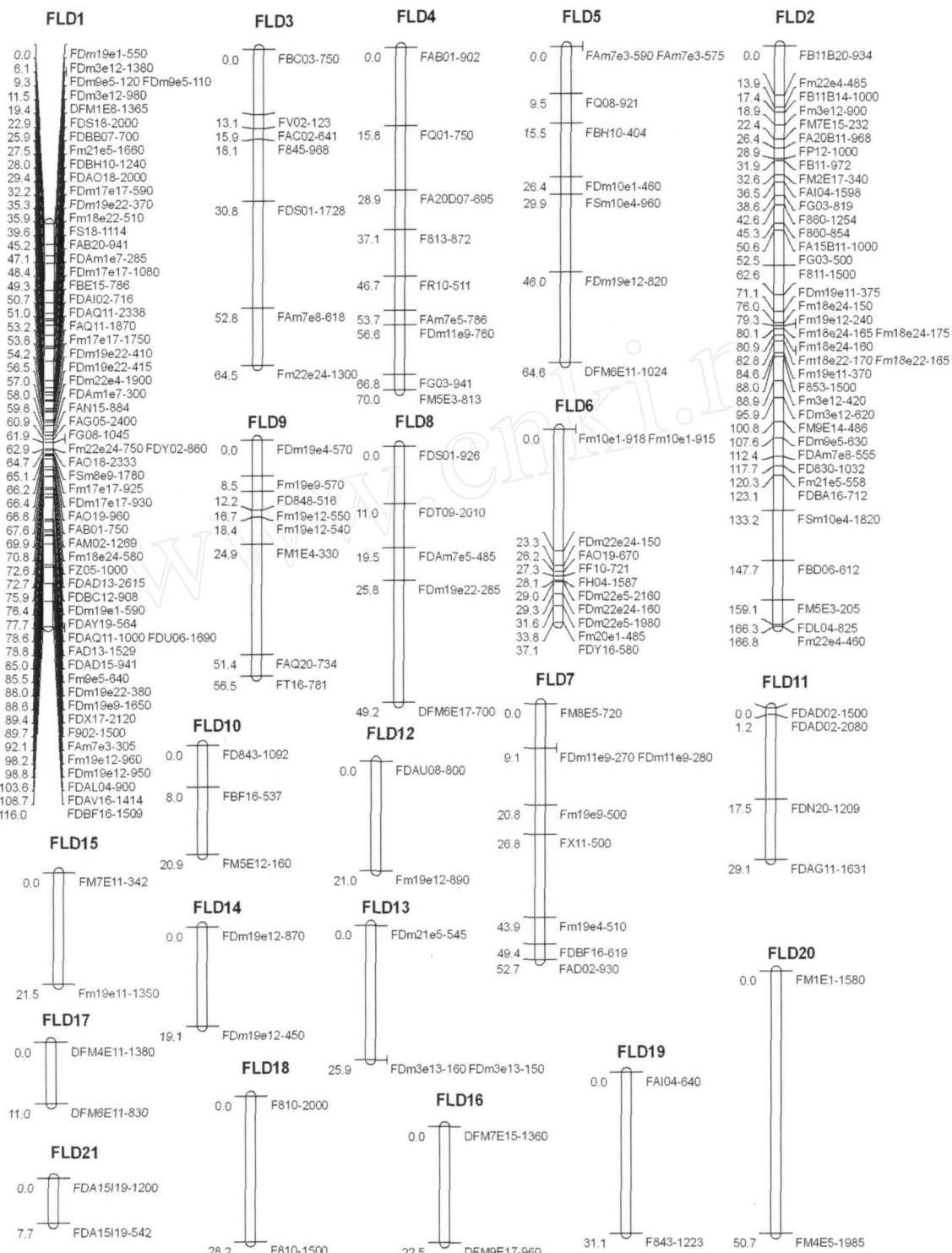


图 1 ‘凤梨朵’分子遗传连锁图谱

Fig. 1 Genetic linkage map of ‘Fengliduo’

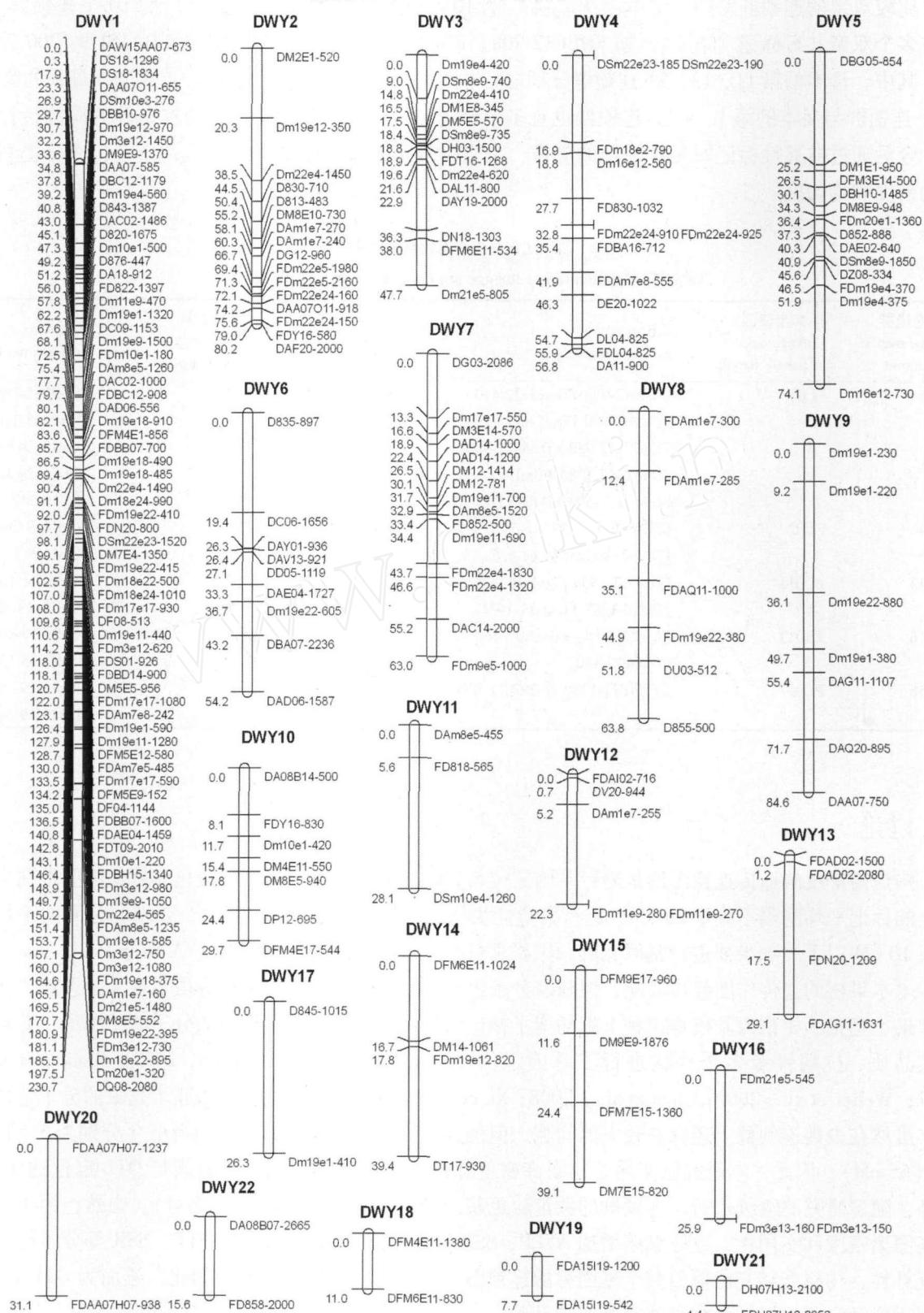


图 2 ‘大乌圆’分子遗传连锁图谱

Fig. 2 Genetic linkage map of ‘Dawuyuan’

比较双亲的连锁群发现，父本‘大乌圆’的10个连锁群和母本‘凤梨朵’的10个连锁群中，存在多个双亲共有标记（表2），如FDBC12-908、FDm22e5-1980、FD830-1032、FDA15 II9-1200等标记。其中，母本的第11、13、21连锁群分别与父本的第13、16、19连锁群的位点相同，母本的第1、2、6连锁群与父本的第1、4、2连锁群也有多个标记位点相同，说明这些连锁群之间的同源性比较高，今后通过共显性标记如SSR标记的应用，可望将双亲的遗传图谱进行有效的整合，充分提高图谱的密度和均匀度。

表2 双亲遗传图谱中连锁群的对应关系

Table 2 Relationship of linkage groups in parental genetic maps

父本连锁群 Linkage map of male parent	母本连锁群 Linkage map of female parent	共同标记 Common marker	父本连锁群 Linkage map of male parent	母本连锁群 Linkage map of female parent	共同标记 Common marker
DW Y1	FLD1	FDBC12-908 FDm19e22-410 FDDB07-700 FDm19e22-415 FDm17e17-930 FDm3e12-980 FDm17e17-1080 FDm19e1-590 FDm17e17-590 FDm3e12-1380	DW Y2	FLD6	FDm22e5-1980 FDm22e5-2160 FDm22e24-160 FDm22e24-150 FD Y16-580
DW Y4	FLD2	FD830-1032 FDBA16-712 FDAm7e8-555 FDL04-825	DW Y12	FLD7	FDm11e9-280 FDm11e9-270
DW Y13	FLD11	FDAD02-1500 FDAD02-2080 FDN20-1209 FDAG11-1631	DW Y14	FLD5	DM6E11-1024 FDm19e12-820
DW Y16	FLD13	FDm21e5-545 FDm3e13-160 FDm3e13-150	DW Y15	FLD16	DM9E17-960 DM7E15-1360
DW Y18	FLD17	DM4E11-1380 DM6E11-830	DW Y19	FLD21	FDA15 II9-1200 FDA15 II9-542

3 讨论

构建高密度的遗传连锁图谱是进行基因定位与克隆的基础，一个基本的染色体框架图要求在染色体上的标记平均间隔不大于20 cM，进行数量性状位点的基因定位（QTL）时，要求标记间的平均间隔在10 cM以下，如果要进行基因克隆，则要求目标区域标记的平均间隔在1 cM以下。

木本果树的遗传作图起步较晚，但随着分子生物学技术的发展，近年也取得了较大的进展，例如在苹果、葡萄、柑桔以及桃等树种上都构建了标记数量和密度都比较理想的分子遗传图谱，并且对果实品质、抗病性等多个性状进行了基因定位（Kenis & Keulemans, 2005, 2007; Blenda et al., 2007; Welter et al., 2007; Chen et al., 2008; Xu et al., 2008）。本研究首次构建了龙眼的分子遗传图谱，虽然在少数连锁群上还存在较大的间隙，但位点间的平均遗传距离已经相当小（分别为5.84 cM和4.65 cM），因此，本研究已实现了龙眼高密度遗传图谱的构建，能够部分满足QTL定位的研究，另外，随着研究的继续进行，连锁群的数量应更趋近于龙眼染色体的对数（15对）。当然，为了全面提高图谱密度和实用性，还应继续增加AFLP、SSR等标记，利用SRAP和AFLP、SSR等分子标记间的互补性，构建能够充分覆盖整个基因组的连锁图，实现图谱的饱和化和均匀化，进而为QTL定位、基因克隆及分子标记辅助育种奠定坚实的基础。

国内外已经发表了多篇采用JoinMap软件构建的果树遗传图谱，如Kenis和Keulemans（2005）采用JoinMap软件构建的苹果父母本遗传图谱各包含17个连锁群，覆盖图距分别为1 039 cM和1 245 cM，平均标记间的遗传距离为4.0 cM和4.7 cM；梨树上，Pierantoni等（2007）构建的西洋梨遗传图谱分别包含18和19个连锁群，总图距为908.1 cM和879.8 cM，标记间平均遗传距离为7.4 cM和

8.0 cM; Iketani等 (2001) 构建的日本梨遗传图谱包含了 18和 22个连锁群，总图距为 768 cM 和 508 cM; Welter等 (2007) 在葡萄上构建了整合的遗传图谱包含 19个连锁群，总图距 1 631 cM，标记间平均遗传距离为 4.67 cM; 高妍等 (2008) 构建的桃遗传图谱包含了 11个连锁群，覆盖桃基因组 1 034 cM，标记间平均遗传距离 8.34 cM。可以看出大部分图谱的连锁群数量还未能与物种的染色体一一对应。从覆盖的总图距来看，本研究构建的龙眼分子遗传图谱总图距分别达到了 965.1 cM 和 1 064.8 cM，推断应该能覆盖龙眼基因组的大部分区域。

标记的偏分离在作图过程中是普遍存在的 (Gebhardt & Ritter, 1989; Voorrips, 1997)。亲本间的不协调以及染色体发生结构重排、缺失、插入或突变等会引起子代基因型的偏分离；另外，因 PCR 扩增或电泳造成的带型缺失或模糊不清、作图群体数量偏小等也会引起标记的偏分离。Foolad等 (1995) 报道的利用桃 ×扁桃的杂交后代建构遗传图谱时偏分离比例达到 37%，吴俊等 (2004) 以及宋健等 (2008) 在构建桃遗传图谱时也都发现了 19.9% 和 24% 的偏分离标记。本试验中标记的偏分离比例平均为 22.81%，处在合理的范围之内。在有些遗传作图研究中，经卡平方测验后，偏分离的标记一般不应用于连锁作图；然而，Bradshaw 和 Stettler (1994) 研究发现，偏分离标记和正常分离的标记几乎具有相同的作图效率，而且，如果去除偏分离标记，还可能导致遗传连锁图中相应区段的基因失去连锁关系，因此，国际上不少学者并不排除偏分离标记的使用，只是应注意其扩增的真实性和稳定性。

References

- Bleda A V, Verde I, Georgi L L, Reighard G L. 2007. Construction of a genetic linkage map and identification of molecular markers in peach rootstocks for response to peach tree short life syndrome. *Tree Genetics & Genomes*, 3: 341 - 350.
- Bradshaw H D, Stettler R F. 1994. Molecular genetics of growth and development in *Populus*. A genetic linkage map of a hybrid poplar composed of RFLP, STS, and RAPD markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 89: 167 - 178.
- Chen C X, Bowman K D, Choi Y A, Dang P M, Rao M N, Huang S, Soneji J R, McCollum T G, Gmitter Jr F G. 2008. EST-SSR genetic maps for *Citrus sinensis* and *Poncirus trifoliata*. *Tree Genetics & Genomes*, 4 (1): 1 - 10.
- Dirlewanger E, Pronier V, Parvery C, Rothan C, Guye A, Monet R. 1998. Genetic linkage map of peach [*Punus persica* (L.) Batsch] using morphological and molecular markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 97: 888 - 895.
- Fang Jing-gui, Liu Da-jun, Ma Zheng-qiang. 2003. Constructing mango (*Mangifera indica* L.) genetic map using markers for double heterozygous loci. *Molecular Plant Breeding*, 1 (3): 313 - 319. (in Chinese)
- 房经贵, 刘大钧, 马正强. 2003. 利用双杂合位点标记资料构建芒果遗传图谱. *分子植物育种*, 1 (3): 313 - 319.
- Foolad M R, Anusekar S, Becerra V, Bliss F A. 1995. A genetic map of *Punus* based on an interspecific cross between peach and almond. *Theoretical and Applied Genetics*, 91: 262 - 269.
- Gao Yan, Han Ming-yu, Zhao Caiping, Song Jian. 2008. Construction of AFLP molecular markers linkage map in nectarine. *Journal of Fruit Science*, 25 (4): 478 - 484. (in Chinese)
- 高妍, 韩明玉, 赵彩平, 宋健. 2008. 桃分子连锁图谱的构建. *果树学报*, 25 (4): 478 - 484.
- Gebhardt C, Ritter E. 1989. RFLP analysis and linkage mapping in *Solanum tuberosum*. *Theoretical and Applied Genetics*, 78: 65 - 75.
- Hemmat M, Weeden N F, Manganaris A G, Lawson D M. 1994. Molecular marker linkage map for apple. *Journal of Heredity*, 85 (1): 4 - 11.
- Huang Tian-lin. 2006. DNA markers analysis of litchi's two characters and molecular genetic linkage map construction of longan [M]. *Dissertation*. Guangzhou: South China Agricultural University. (in Chinese)
- 黄天林. 2006. 荔枝两个重要性状的分子标记分析及龙眼分子遗传图谱初步构建 [硕士论文]. 广州: 华南农业大学.
- Iketani H, Abe K, Yamamoto T, Kotobuki K, Sato Y, Saito T, Terai O, Matsuta N, Hayashi T. 2001. Mapping of disease-related genes in Japanese pear using a molecular linkage map with RAPD markers. *Breeding Science*, 51 (3): 179 - 184.
- Kenis K, Keulemans J. 2005. Genetic linkage maps of two apple cultivars (*Malus ×domestica* Borkh.) based on AFLP and microsatellite markers. *Molecular Breeding*, 15 (2): 205 - 219.
- Kenis K, Keulemans J. 2007. Study of tree architecture of apple (*Malus ×domestica* Borkh.) by QTL analysis of growth traits. *Molecular Breeding*, 19 (3): 193 - 208.

- La Rosa R, Angiolillo A, Guerero C, Pellegrini M, Rallo L, Besnard G, Bervillé A, Martin A, Baldoni L. 2003. A first linkage map of olive (*Olea europaea* L.) cultivars using RAPD, AFLP, RFLP and SSR markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 106 (7): 1273 - 1282.
- Liu CM, Mei M T. 2003. Construction of a lychee genetic linkage map based on RAPD markers. *Acta Horticulturae*, 625: 131 - 136.
- Luo Su-lan, He Pu-chao, Zhou Peng, Zheng Xue-qin. 2001. Construction of molecular linkage map in grape using RAPD markers and F₁ population of interspecific cross. *Acta Horticulturae Sinica*, 28 (1): 68 - 70. (in Chinese)
- 罗素兰, 贺普超, 周鹏, 郑学勤. 2001. 利用 RAPD 标记和中间杂交组合构建葡萄的分子标记连锁图谱. 园艺学报, 28 (1): 68 - 70.
- Ma H, Moore P H, Liu Z Y, Kim M S, Yu Q Y, Fitch M M, Sekioka T, Paterson A H, Ming R. 2004. High-density linkage mapping revealed suppression of recombination at the sex determination locus in papaya. *Genetics*, 166: 419 - 436.
- Peng Hong-xiang, Li Dong-bo, Zhu Jian-hua, Li Jiang-zhou, Cao Hui-qing, Pan Li-mei. 2008. Genetic diversity of longan in guangxi assessed by AFLP markers. *Acta Horticulturae Sinica*, 35 (10): 1511 - 1516. (in Chinese)
- 彭宏祥, 李冬波, 朱建华, 李江舟, 曹辉庆, 潘丽梅. 2008. 用 AFLP 标记分析广西龙眼种质遗传多样性. 园艺学报, 35 (10): 1511 - 1516.
- Pierantoni L, Dondini L, Cho K H, Shin I S. 2007. Pear scab resistance QTLs via a European pear (*Pyrus communis*) linkage map. *Tree Genetics & Genomes*, 3: 311 - 317.
- Qiao Fei, Wang Li-rong, Fan Chong-hui, Zhu Geng-rui, Fang Wei-chao. 2006. A general genetic linkage map for peach established by using RAPD and AFLP markers. *Journal of Fruit Science*, 23 (5): 766 - 769. (in Chinese)
- 乔飞, 王力荣, 范崇辉, 朱更瑞, 方伟超. 2006. 利用 AFLP 和 RAPD 标记构建桃的遗传连锁图谱. 果树学报, 23 (5): 766 - 769.
- Rajapakse S, Belthoff L D, He G, Estager A E, Scorza R, Verde I, Ballard R E, Baird W V, Callahan A, Monet R, Abbott A G. 1995. Genetic linkage mapping in peach using morphological, RFLP and RAPD markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 90: 503 - 510.
- Song Jian, Han Ming-yu, Zhao Caiping, Gao Yan. 2008. Construction of a general genetic linkage map for peach using a 'Qinguang 2' × 'Shuguang' F₁ progeny by SSR markers. *Acta Botanica Boreali-Occidentalis Sinica*, 28 (5): 895 - 900. (in Chinese)
- 宋健, 韩明玉, 赵彩平, 高妍. 2008. 桃 '秦光 2 号' × '曙光' F₁ 代 SSR 遗传连锁图谱的构建. 西北植物学报, 28 (5): 895 - 900.
- Testolin R, Huang W G, Lain O, Messina R, Vecchione A, Cipriani G. 2001. A kiwifruit (*Actinidia* spp.) linkage map based on microsatellites and integrated with AFLP markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 103 (1): 30 - 36.
- Vilanova S, Romeo C, Abbott A G, Llacer G, Badenes M L. 2003. An apricot (*Prunus armeniaca* L.) F₂ progeny linkage map based on SSR and AFLP markers, mapping plum pox virus resistance and self-incompatibility traits. *Theoretical and Applied Genetics*, 107 (2): 239 - 247.
- Voorrips R E. 1997. Mapping of two genes for resistance to clubroot (*Plasmodiophora brassicas*) in a population of doubled haploid lines of *B. rassica oleracea* by means of RFLP and AFLP markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 94: 75 - 82.
- Vos P, Hogers R, Bleeker M, van de Lee T, Homes M, Frijters A, Pot J, Peleman J, Kuiper M. 1995. AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research*, 23 (21): 4407 - 4414.
- Wang D, Karle R, Brettschneider T S, Iezzoni A F. 1998. Genetic linkage map in sour cherry using RFLP markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 97: 1217 - 1224.
- Wu Jun, Shu Huai-rui, Zhang Kai-chun, Jiang Li-jie, Zhou Xiao-hang, Xin Cui-hua. 2004. Construction and analysis of peach genetic map. *Acta Horticulturae Sinica*, 31 (5): 593 - 597. (in Chinese)
- 吴俊, 束怀瑞, 张开春, 姜立杰, 周晓航, 辛翠花. 2004. 桃分子连锁图的构建与分析. 园艺学报, 31 (5): 593 - 597.
- Welter L J, Göktük-Baydar N, Akkurt M, Maul E, Eibach R, Töpfer R, Zyprian E M. 2007. Genetic mapping and localization of quantitative trait loci affecting fungal disease resistance and leaf morphology in grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Molecular Breeding*, 20 (4): 359 - 374.
- Xu K, Riaz S, Roncoroni N C, Jin Y, Hu R, Zhou R, Walker M A. 2008. Genetic and QTL analysis of resistance to *Xiphinema index* in a grapevine cross. *Theoretical and Applied Genetics*, 116 (2): 305 - 311.
- Yi Gan-jun, Tan Wei-ping, Huo He-qiang, Zhang Qiu-ming, Li Jian-guang, Zhou Bi-rong. 2003. Studies on the genetic diversity and relationship of longan cultivars by AFLP analysis. *Acta Horticulturae Sinica*, 30 (3): 272 - 276. (in Chinese)
- 易干军, 谭卫萍, 霍合强, 张秋明, 李建光, 周碧容. 2003. 龙眼品种 (系) 遗传多样性及亲缘关系的 AFLP 分析. 园艺学报, 30 (3): 272 - 276.