

文章编号:1007-7847(2000)S0-0068-07

# 分子标记的发展及其在植物研究中的应用<sup>\*</sup>

赵中秋,郑海雷,张春光

(厦门大学 生命科学学院,中国福建 厦门 361005)

**摘要:**概述了分子标记的研究进展,并对其在植物研究领域中的应用及前景作了介绍和展望.

**关键词:**分子标记;植物研究;应用

**中图分类号:**Q943.2      **文献标识码:**A

## Development of Molecular Markers and Their Application in Botany Research

ZHAO Zhong-qiu, ZHENG Hai-lei, ZHANG Chun-guang

(College of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen 361005, Fujian, China)

**Abstract:** The development of molecular markers and their application in plant study were summarized, and the application prospect were previewed.

**Key words:** molecular markers; plant study; application

随着分子生物学和生物技术的迅速发展,遗传标记技术也得到了迅猛的发展.分子标记作为一种最先进最能揭示本质的遗传标记技术自一产生就有着巨大的生命力,尤其是在植物学研究中的发展和应用.

遗传标记(genetic markers)的发展主要经历了4个阶段:1)形态标记(morphological markers),主要指植物学形态特征;2)细胞标记(cytological markers),主要是染色体核型和带型等;3)生化标记(biochemical markers),主要是同工酶和储藏蛋白等生化物质;4)分子标记(molecular markers),即核苷酸.广义的分子标记也包括生化标记,即指可遗传并可检测的DNA序列或蛋白质,而广泛采用的是狭义的概念,仅指DNA标记.分子标记是以生物大分子(主要是遗传物质DNA)的多态性为基础的一种遗传标记.理想的分子标记具有以下优点:1)多态性高;2)遍布整个基因组;3)检测手段简单、迅速;4)无基因多效性;5)能够明确辨别等位基因;6)实验重复性好;7)直接以DNA的形式表现,不受植物的生长条件和发育阶段的影响,在植物的任何生长阶段都可检测.目前发现的任何一种分子标记均有一定的局限性,不能兼具以上所有优点.

\* 收稿日期:2000-05-24

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39870630)

作者简介:赵中秋(1975-),女,河南人,硕士研究生,主要从事植物生理生态学研究.

## 1 分子标记的发展与种类

### 1.1 RFLP 技术

RFLP 技术是发展最早的分子标记技术,是由 Bostein<sup>[1]</sup>首先提出的.其原理是检测 DNA 在限制性内切酶酶切后形成的特定 DNA 片段的大小.不同来源的 DNA 具有不同的限制酶酶切位点分布,每一种 DNA/限制性酶组合所产生的片段都是特异的,从而产生了多态性. RFLP 技术涉及的基本步骤有:DNA 的提取 限制性酶酶切 DNA 琼脂糖凝胶电泳 SOUTHERN 印迹转移、杂交 结果分析.操作较复杂,效率低,成本高,而且不易获得足够有效的探针.

### 1.2 以 PCR 为基础的分子标记

PCR 标记是随着 PCR 技术的诞生而发展起来的第二代分子标记技术.自 Williams<sup>[2]</sup>、Wilson 和 McClelland<sup>[3]</sup>首先分别独立地建立了 RAPD 技术,许多在 PCR 基础上改进的新分子标记技术相继出现.

#### 1.2.1 RAPD

RAPD(Random Amplified Polymorphic DNA)标记通常采用 10 个碱基的寡核苷酸作引物,不同来源的 DNA 与引物具有不同的结合位点,因而在 RAPD-PCR 反应中可获得不同的扩增产物,再经凝胶电泳分离,即可观察.这种标记继承了 PCR 的优点,不需要克隆制备、探针标记、Southern 印记、分子杂交等一系列生物学技术,简便迅速,实验成本低,且样品需要量少,灵敏度高,缺点是稳定性较差.Nair 等<sup>[4]</sup>、Paran 和 Michelmore<sup>[5]</sup>在此基础上研究出 SCARs(Sequence Characterized Amplified Regions),通过扩增 RAPD 片段,重新构建较长的 PCR 引物,比 RAPD 稳定性好,重复性更高.

#### 1.2.2 SSR

SSR(Simple Sequence Repeat)<sup>[6,7]</sup>引物根据与微卫星重复序列两翼的特定短序列设计,由于重复的长度变化极大,它是检测多态性的一种有效方法,可鉴别杂合子和纯合子.在 SSR 基础上发展的相近的分子标记种类有:1) ISSR(Inter-Simple Sequence Repeat)<sup>[8]</sup>技术,也称 AS-SSR(Anchored-Simple Sequence Repeat),用 5 端或 3 端加锚的 SSR 作引物,再附加几个碱基构成单引物;2)把 SSR 互补的寡核苷酸作为多位点 RFLP 技术中的探针;3) RAMS,用标记的 SSR 探针与 RAPD 扩增片段杂交;4) RAMPS,把与 SSR 互补的寡核苷酸作为 PCR 引物,扩增基因组 DNA 的特定片段.

#### 1.2.3 SPAR, STS

SPAR(Single Primer Amplification Reaction)<sup>[9]</sup>直接利用微卫星作引物,与 RAPD 的原理及步骤极为相似;STS(Sequence Tagged Site)<sup>[10]</sup>对 RFLP 技术中使用的探针两端进行测序,构建 PCR 引物.

#### 1.2.4 AFLP

AFLP(Amplified Fragment Length Polymorphism)是由 Zabeau 和 Vos 首先发明的<sup>[11]</sup>,它把 RFLP 技术与 PCR 技术结合起来.具体步骤是:先把 DNA 进行酶切,选择特定的片段进行 PCR 扩增,然后在扩增中使用的引物 3 端附加几个随机选择的核苷酸引物再次进行扩增,扩增后的片段可用放射性技术检测,因而非常适用于分类研究及绘制品种的指纹图谱,比 RAPD 稳定性好,重复性高. Arencidia 等在此基础上研究出 AFRP(Amplified Fragment Random

Polymorphism)技术,其 PCR 引物中一侧为 AFLP 引物,另一侧为随机引物。

### 1.2.5 其它几种新的分子标记技术

SNP(Single Nucleotide Polymorphism)技术可对单核苷酸的差异进行检测,目前用 SNP 技术已经在人类染色体上标记定位了 2 000 多个位点,对植物的研究也正在进行。

IFLP(Intron Fragment Length Polymorphism)检测内含子长度的差异。

dCAPS(derived Cleaved Amplified Polymorphic Sequence)是 Neff 等在 CAPS 基础上发展起来的,也是检测单核苷酸多态性的较好方法。

SSCP(Single-strand Conformation Polymorphism)是一种快速有效的检测 DNA 多态性的方法。不过,只能用于相对较短的 DNA 片段。在人类遗传病诊断中已有应用,在植物中的应用尚未很好的展开<sup>[12]</sup>。

## 2 分子标记技术在植物学研究中的应用

### 2.1 植物分类学及遗传多样性研究

对不同品种精确的系统学间的区分是种质资源保护和品种改良的基础。传统的植物学分类方法主要是形态标记分类法,具有很大的不可靠性,许多物种之间的分类关系及亲缘关系仍需进一步研究。分子标记的出现,大大弥补了传统形态标记分类法的不足,成为现代植物分类学研究的有力工具。Arnold 等<sup>[13]</sup>用种特异的 RFLP 和 RAPD 标记检测了鸢尾属种的渐渗现象和自然状态下的杂种,并证实其来源于一个假定的品种;Wanger<sup>[14]</sup>用 RFLP 标记鉴定出了松属和云杉属的杂交种,并成功地区分了欧洲山杨和大齿杨。由于越橘属的形态学质量性状很少,其品种的区分非常困难,Novy 等<sup>[15]</sup>利用 RAPD 标记对 5 个品种进行了分析,结果表明,每个品种都由多个基因型组成,且品种内的异质性很大。

分子标记也是进行物种亲缘关系研究及遗传多样性分析的有效工具。利用分子标记可确定亲本之间的遗传差异和亲缘关系,进而划分杂种优势群,提高杂交优势潜力。张开春等<sup>[16]</sup>利用 RAPD 技术对中国的苹果无融合生殖资源平邑甜茶进行分析,证明其具有丰富的遗传多样性;张海英等<sup>[17]</sup>用 RAPD 技术对国内外多个黄瓜品种种资源进行了遗传亲缘关系研究,从分子水平上验证了黄瓜是遗传基础狭窄的作物;陈新平<sup>[18]</sup>等对近缘野生大麦进行了 RAPD 分析,并对近缘野生大麦与栽培大麦亲缘关系进行了研究,结果表明中国栽培大麦与近缘野生大麦聚为一类,这对阐明大麦的进化途径和大麦的分类体系具有十分重要的意义。

### 2.2 遗传图谱的建立和基因定位

随着以 RFLP 为代表的分子标记的出现,遗传作图在许多作物及林木中得到了迅速发展。西红柿、黄瓜、土豆、玉米、水稻、小麦、大麦等多种作物的分子图谱已经建立,林木的遗传作图研究相对作物起步较晚,Devey<sup>[19]</sup>等于 1993 年构建了第一张火炬松的 RFLP 连锁图谱,随后又有巨桉、糖松、尾叶桉、苹果、桃等树种的分子图谱相继出现。

有了分子标记连锁图谱,寻找目标基因就变得容易而准确,Newcomb<sup>[20]</sup>对美洲黑杨的抗病基因进行研究,发现 8 个与抗病基因紧密连锁的标记,通过这些连锁标记就能很容易地追踪到目标基因(抗病基因);Rajapakse 等<sup>[21]</sup>在桃的遗传图谱上标记了重瓣花型基因、果实黄肉基因等 47 个标记;李仕贵、马玉清等<sup>[22]</sup>利用 RFLP 和微卫星标记定位了迟熟水稻 8987 中控制迟熟生育期的基因,这些目标基因的定位为分子标记辅助选择和基因克隆奠定了基础。

分子标记的出现对数量性状基因定位(QTL)研究有着很大的影响。大多数重要的农艺

性状和经济性状如产量(包括每穗粒数、粒重)、开花期、株高等受多个基因控制,为数量性状,而目前对这些基因数目及其相互作用知之甚少,给育种和研究带来很多不便.分子标记的应用可以说是数量性状基因定位研究的里程碑,它可将数量性状拆分,分别估计各个位点的表型效性,进而对其定位. Osborn 等<sup>[23]</sup>、Tanksley 和 Hewitt<sup>[24]</sup>、Paterson 等<sup>[25]</sup>的工作开创了分子标记在 QIL 研究中的应用领域.

QIL 分子标记在作物上发展较快,许多 QILs 在不同的作物中已被标记定位,如西红柿<sup>[26,27]</sup>、大麦<sup>[28~30]</sup>、玉米<sup>[31,32]</sup>等.最近,李晶昭、何平等<sup>[33]</sup>通过构建分子图谱对水稻抽穗期、每穗颖花数、每穗实粒数、200 粒重、结实率进行了 QIL 分析,定位了两个抽穗期、两个株高、两个每穗颖花数、一个每穗实粒数的 QILs. 在林木、果树上的研究也正在展开,加拿大 Bousquet 等对美洲白云杉成熟木材密度进行了 QILs 分析和早期选择研究.

### 2.3 辅助选择育种

选择分离目标性状是植物育种的中心环节,传统的育种方法主要依赖表型性状来选择,要求时间长,且所依赖的表型性状受到许多环境条件限制,不很可靠.分子标记的应用极大地提高了性状选择的效率和准确性,减少了育种过程的盲目性和周期性.

传统的育种方法只能借助表型去推测,对优良家系是否带有育种值高的优良等位基因,即优良个体是否真正的优良基因型,无法确切知道,而分子标记则可通过对其遗传背景进行准确考察,并通过 MAS 获得带有不同优良基因的个体.

分子标记能够对单个或多个目标性状在品种间、品种内进行综合选择,可提高选择反应 50%~200%;传统表型选择可能会丢失一些表型较差个体所携带的优良基因,即低频率基因,而分子标记则能有效地寻找和定位这些有用基因, Tankeley<sup>[34]</sup>利用分子标记在一小果西红柿中标记了两个果重基因,并将其转移到一大果品种,果重提高了 31%. 分子标记尤其在抗病虫、非生物胁迫忍耐性、雄性不育、数量性状等用传统方法很难定位的基因标记选择中表现出了极大的优越性.

#### 2.3.1 抗病虫基因的标记

病虫害是影响农业生产的一大难题,每年用于防治病虫害耗资惊人,且严重污染环境,选育抗性品种应该说是防治病虫害最经济最有效的战略. 目前已在燕麦、小麦、大麦、莴苣、菜豆等多种作物上获得了一些重要的抗病虫基因标记,如水稻的细菌枯萎病抗性基因 *Xa1*、*Xa3*、*Xa4*、*Xa5* 和 *Xa10*<sup>[35]</sup>、*Xa21*<sup>[36]</sup>; 虫瘻抗性基因 *Gm2*<sup>[37,38]</sup>、*Gm4*<sup>[39]</sup>; 小麦锈叶病抗性基因 *Lr9*<sup>[40]</sup>、*Lr24*<sup>[41]</sup>; 玉米枯叶病抗性基因 *rhm*<sup>[42]</sup>; 西红柿的 *TMV* 抗性基因 *Tm2*<sup>[43]</sup>; 土豆的孢囊线虫抗性基因 *Gpa2*<sup>[44]</sup>; 苹果黑星病抗性基因 *Vf*<sup>[45,46]</sup> 等.

#### 2.3.2 雄性不育及其它目标性状的标记

利用分子标记对雄性不育进行标记,可加快保持系、不育系、恢复系的选育,盖树鹏等<sup>[47]</sup>用 RAPD 技术获得了大葱胞质中与育性连锁的标记,并利用此标记选育不育系和保持系,减少了自交株数和侧交组合数,省时省力,加快了选育步伐. 此外,分子标记还对其它一些有价值的性状进行了标记研究,如植株矮秆基因、果实的无核基因、耐盐基因等.

## 3 展望

分子标记作为一种新的遗传标记技术发展不过几十年,却具有很强的生命力,十分活跃,呈现出广阔的应用前景和巨大的应用潜力.

在种质资源保护方面,分子标记技术为种质资源保护提供了有力的工具.由于生态环境的破坏和恶化,许多物种已经或正在消失,生物多样性消失已成为全球性问题;还有一些物种由于长期用于人工移植和杂交,其原产地及不同性系之间的界线用传统的方法很难确定,把基因技术用于种质资源保护已提上议事日程.借助于分子标记,通过物种分子遗传图谱的构建、群体遗传结构和多样性分析、物种演化和亲缘关系研究,能够对不同物种进行精确的系统学间的区分,精确确定物种的进化途径和分类学地位,进而对种质资源、基因库进行有目的的保护.目前这方面的应用研究已初步展开,并初见成效,遗传工程、基因技术的发展有力他推动了分子标记技术的迅速发展,分子标记技术将成为植物进化、分类学研究和种质资源保护最主要的手段.

在辅助选择育种和品种改良方面,分子标记的出现,可以说对传统的育种方法产生了变革性的影响,为植物遗传育种注入了强大的活力.利用分子标记技术,通过对现有品种的分子遗传图谱作图,能最大限度地综合利用有利基因和淘汰不利基因,设计出最佳杂交组合;通过对连锁标记的追踪和对数量性状的拆分,可准确定位一些其它方法难以确定的目标性状,从而进行早期选择,大大减少世代间隔和育种的盲目性,而且不受植株发育阶段和外界环境条件的限制.分子标记虽处于起步阶段,标记技术也还存在一定的局限性,然其准确、可靠、高效率等优越性在实践中已充分显示出来,展现出巨大的应用潜力和广阔的应用前景.辅助选择育种结合传统的育种方法,将会推动植物遗传育种研究进入一个新的阶段.随着分子标记技术的不断发展和成熟,分子标记技术在整个植物学研究领域的应用将会更为广泛深入.

#### 参考文献:

- [1] BOSTEIN D, WHITE R I, SKOLNIXK M, *et al.* Construction of genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism[J]. *Amer Genet*,1993 ,32 :314-318.
- [2] Williams J G K, Kubelik A R, Livak K J, *et al.* DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers[J]. *Nucl Acids Res*,1990 ,18 :6531-6535.
- [3] WELSON J, McLELLAND M. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers[J]. *Nucl Acids Res*, 1990 ,8 :7213-7218.
- [4] NAIR S, BENTUR J S, PRASDA R U, *et al.* DNA markers tightly linked to a gall midge resistance gene(Gm2) are potentially useful for marker-aided selection in rice breeding[J]. *Theor Appl Genet*,1995 ,91 :68-73.
- [5] PARAN I, MICHELMOR R W. Development of reliable PCR-based markers linked to downy mildew resistance genes in lettuce[J]. *Theor Appl Genet*,1993 ,85 :985-993.
- [6] FRAGEAU G J, FOURNEY R M. DNA typing with short tandem repeat: A sensitive and accurate approach to human identification[J]. *Bio Techniques*,1993 ,15 :100-119.
- [7] SHARON D, ADATO A, MHAMEED S, *et al.* DNA fingerprint in plant using simple-sequence repeat and microsatellite probes[J]. *Hort Science*,1995 ,30(1) :109-112.
- [8] ZIETKIEWICZ E, RAFALSKI A, LABUDA D. Genomic fingerprinting by simple sequence repeat(SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification[J]. *Genomics*,1994 ,20 :176-183.
- [9] GUPTA M, CHYI Y S, ROMERO SEVERSON J, *et al.* Amplification of DNA markers from evolutionarily diverse genomes using single primers of simple sequence repeats[J]. *Theor Appl Genet*,1994 ,89 :998-1006.
- [10] OLSOO M, HOOD L, CANTOR C, *et al.* A common language for physical mapping of human genome[J]. *Science*,1989 ,245 :1434-1435.

- [11] ZBEAU M, VOS P. Selective restriction fragment amplification, A general method for DNA fingerprints[D]. European Patent Application Publ, 1993.
- [12] MOHAN M, NAIR S, BHAGWAT A, *et al.* Genome mapping, molecular markers and marker assisted selection in crop plants[J]. *Mol Breed*, 1997, 3:87-103.
- [13] ARNOLD M L, BUCKNER C M, ROBISON J J. Pollen mediated introgression and hybrid speciation in Louisiana irises[J]. *Proc Natl Acad Sci. USA*, 1991, 88:1398-1402.
- [14] WANGER D B. Nuclear, chloroplast, and mitochondrial DNA polymorphisms as biochemical markers in population genetic analysis of forest trees[J]. *New Forests*, 1992, 6:373-390.
- [15] NOVY R G, VOYSA N. Identification of intracultivar genetic heterogeneity in cranberry using silver stained RAPDs[J]. *HortScience*, 1995, 30(3):600-604.
- [16] 张开春, 吴禄平, 李荣旗, 等. RAPD 技术-检测平邑甜茶遗传一致性的有效方法[J]. *农业生物技术通报*, 1997, 5(2):201-202.
- [17] 张海英. 黄瓜种质资源遗传亲缘关系的 RAPD 分析[J]. *园艺学报*, 1998, 25(4):345-349.
- [18] 陈新平, 闫玲, 丁毅. 中国近缘野生大麦的 RAPD 分析与进化途径探讨[J]. *植物学报*, 2000, 42(2):179-183.
- [19] DEVEY M E, FIDDLER T A, LIU B H, *et al.* An RFLP linkage map for loblolly pine based on a generation outbred pedigree[J]. *Theor Appl Genet*, 1994, 88:273-278.
- [20] NEWCOMBE G, BRADSHAW H D Jr, CHASTAGNER G A, *et al.* A major gene for resistance to *melampsora medusae* f. sp. *deltoide* in a hybrid poplar pedigree[J]. *Phytopathology*, 1996, 86(1):87-94.
- [21] RAJAPAKSE S, BELTHOFF L D, HE G, *et al.* Genetic linkage mapping in peach using morphological, RFLP and RAPD markers[J]. *Theor Appl Genet*, 1995, 90:503-510.
- [22] 李仕贵, 马玉清, 王文明, 等. 一个新的水稻迟熟性基因的遗传分析和分子标记定位[J]. *遗传学报*, 2000, 27(2):133-138.
- [23] OSBORN T C, ALEXANDER D C, FOBES J F. Identification of restriction fragment length polymorphisms linked to genes controlling soluble solids content tomato fruit[J]. *Theor Appl Genet*, 1987, 73:350-356.
- [24] TANKSLEY S D, HEWITT J. Use of molecular markers in breeding for soluble solids content in tomato are examination[J]. *Theor Appl Genet*, 1988, 75:811-823.
- [25] PATERSON A H, TANKSLEY S D, SORRELLS M E. DNA markers in plant improvement[J]. *Advagron*, 1991, 46:39-90.
- [26] PATERSON A H, LANDER E S, HEWITT J D, *et al.* Resolution of quantitative traits into Mendelian factors by using a complete linkage map of restriction fragment length polymorphisms[J]. *Nature*, 1988, 335:721-726.
- [27] deVICENTE M C, TANKSLEY S D. QTL analysis of transgressive segregation in interspecific tomato cross[J]. *Genetics*, 1993, 134:585-596.
- [28] HAYS P M, LIU B H, KNAPP S J, *et al.* Quantitative trait locus effects and environmental interaction in a sample of North American barley germ plasm[J]. *Theor Appl Genet*, 1993, 87:392-401.
- [29] PAN A, HAYS P M, CHEN F, *et al.* Genetic analysis of the components of winterhardness in barley[J]. *Theor Appl Genet*, 1994, 89:900-910.
- [30] LAURIC D A, PRETCHETT N, BEZANT J I I, *et al.* RFLP mapping of five major genes and eight quantitative traits loci controlling flowering time in a winter spring barley cross[J]. *Genome*, 1995, 38:575-585.
- [31] EDWARDS M D, HELENTJARIS T, WHITE S, *et al.* Molecular marker-facilitated investigation of quantitative trait loci in maize[J]. *Theor Appl Genet*, 1992, 83:765-774.
- [32] PATERSON A I I, LIN Y R, LI Z, *et al.* Convergent domestication of cereal crops by independent mutations at corresponding genetic loci[J]. *Science*, 1995, 269:1714-1718.

- [33] 李晶熠,何平,郑先武,等. 利用水稻重组自交群体对一些重要农艺性状进行基因定位和互作分析[J]. 植物学报,1999,41(11):1199-1203.
- [34] TANKSLEY S D. The International conference on the status of plant genome research[J]. Proc Plant Genome, 1995:229.
- [35] YOSHIMURS S, YOSHIMURA A, IWATA N, *et al.* Tagging and combining bacterial blight resistance genes in rice using RAPD and RFLP markers[J]. Mol Breed,1995,1:375-387.
- [36] ZHANG G, ANGELES E R, ABENES M L P, *et al.* Molecular mapping of a bacterial blight resistance gene on chromosome 8 in rice[J]. Rice Genet Newl,1994,11:142-144.
- [37] MOHAN M, NAIR S, BENTUR J S, *et al.* RFLP and RAPD mapping of the rice *Gm2* gene that confers resistance to biotype of gall midge (*Oreolia oryzae*) [J]. Theor Appl Genet,1994,87:782-788.
- [38] NAIR S, BENTUR J S, PRASADA R U, *et al.* DNA markers tightly linked to a gall midge resistance gene (*Gm2*) are potentially useful for marker-aided selection in rice breeding[J]. Theor Appl Genet,1995,91:68-73.
- [39] NAIR S, KUMAR A, SRIVASTAVA M N, *et al.* PCR-based DNA markers linked to a gall midge resistance gene, *Gm4t*, has potential for marker aided selection in rice[J]. Theor Appl Genet,1996,92:660-665.
- [40] SCHACHERMAYR G, SIEDLER H, GALE M D, *et al.* Identification and localization of molecular markers linked to the Lr9 leaf rust resistance of wheat[J]. Theor Appl Genet,1994,88:110-115.
- [41] SCHACHERMAYR G M, MESSMER M M, FEUILLET C, *et al.* Identification of molecular markers linked to the *agropyron elongatum*-derived leaf rust gene Lr24 in wheat[J]. Theor Appl Genet,1995,90:982-990.
- [42] ZATILIN D, DEMARS S, MA Y. LINKAGE of *rhm*, a recessive gene for resistance to southern corn leaf blight to RFLP marker loci in maize (*Zea mays*) seedlings[J]. Genome,1994,36:555-564.
- [43] YOUNG N D, TANKSLEY S D. RFLP analysis of the size of chromosomal segments retained around the Tm2 locus of tomato during backcross breeding[J]. Theor Appl Genet,1989,77:353-359.
- [44] Van der VORST J R, VOLTERS P, FOLKERSTIMA R, *et al.* Mapping of the cyst nematode resistance locus *Qpa2* in potato using a strategy based on comigrating AFLP markers[J]. Theor Appl Genet,1997,95(5-6):874-880.
- [45] TARTARINI S. RAPD markers linked to the *Vf* gene for scab resistance in apple[J]. Theor Appl Genet,1996,92(7):803-810.
- [46] GARDINER S E, BASSETT H C M, NOTTON D A M, *et al.* A detailed linkage map around an apple scab resistance gene demonstrates that two diseases resistance classes both carry the *Vf* gene[J]. Theor Appl Genet,1996,93(4):485-493.
- [47] 盖树鹏,孟祥栋. 利用 RAPD 技术进行植物性状标记及辅助选择[J]. 生物技术通报,1999,6:33-37.