

绣线菊 18 份材料观赏性状与 RAPD 标记的关联分析

刘慧民¹, 朱玉涛¹, 车代弟¹, 姜 隆³, 陈庆山^{2,*}, 吴凤芝^{1,*}

(¹东北农业大学园艺学院, 哈尔滨 150030; ²东北农业大学农学院, 哈尔滨 150030; ³哈尔滨应用职业技术学院, 哈尔滨 150078)

摘 要: 利用 208 个 RAPD 标记, 通过关联作图对 18 份绣线菊 (*Spiraea* L.) 材料的基因组进行扫描, 分析其群体结构, 进行 28 个观赏性状观测值与标记的关联分析。结果表明: 18 份绣线菊材料可分为 6 个亚群; 全群体共有 23 个标记与 16 个观赏性状关联, 其中 5 个标记同时与 2 个或多个性状关联; 发掘出观赏性状优异关联标记 7 条 (s5-2、s152-6、s1216-1 等) 及其载体品种, 这些标记与观赏性状中的花期 (s5-2 等 2 个)、彩叶期 (s1049-9 等 2 个)、开花生物学特征 (s22-1 等 7 个)、花色 (s103-9 等 3 个)、花瓣形态 (s22-7) 等性状关联; 载体品种包括 ‘金焰’ 绣线菊、‘金山’ 绣线菊、珍珠绣线菊、日本绣线菊及石蚕叶绣线菊等。

关键词: 绣线菊; 观赏性状; RAPD 标记; 关联分析

中图分类号: S 685

文献标识码: A

文章编号: 0513-353X (2010) 07-1125-07

Association Analysis of Ornamental Traits with RAPD Markers in 18 Portion Materials of *Spiraea* L.

LIU Hui-min¹, ZHU Yu-tao¹, CHE Dai-di¹, JIANG Long³, CHEN Qing-shan^{2,*}, and WU Feng-zhi^{1,*}

(¹College of Horticulture, Northeast Agriculture University, Harbin 150030, China; ²College of Agriculture, Northeast Agriculture University, Harbin 150030, China; ³Harbin Application Vocational Technology College, Harbin 150078, China)

Abstract: Using the 208 RAPD markers and association mapping in 18 portion materials of *Spiraea* L., by scanning their genome in this study. We analyzed their population structure and performed the association analysis between RAPD markers and 28 ornamental traits. The results showed that: Eighteen portion materials of *Spiraea* L. were composed of 6 subpopulations; There were 23 RAPD markers associated with 16 ornamental traits in the population, there were 5 RAPD markers associated with 2 or more traits; Seven super association markers (s5-2, s152-6, s1216-1) of the ornamental traits and their carried species were detected. These markers associated with flower period (s5-2 total 2), colored-leaf period (s1049-9 total 2), flowering biological habit (s22-1 total 7), flower color (s103-9 total 3) and petal shape (s22-7) of ornamental traits. The carried species were *S. bumalda* ‘Gold Mound’, *S. bumalda* ‘Gold Flame’, *S. thunbergii* Blume, *S. japonica* Linn. and *S. chamedryfolia* L.

收稿日期: 2009-10-09; 修回日期: 2010-06-21

基金项目: 黑龙江省自然科学基金项目 (C2007-11)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: fzwu2006@yahoo.com.cn)

Key words : *Spiraea* L. ; ornamental trait ; RAPD marker ; association mapping

掌握植物数量性状的基因型和表型是育种工作的基础(文自翔等,2008a)。自然群体关联作图是解析植物数量性状基因型的主要方法,关联分析具有自然群体或种质资源都可作为作图群体,遗传材料广泛,可考察多个性状,多数关联位点及其等位变异不受“两亲本范围”限制,自然群体经历多轮重组后连锁不平衡(linkage disequilibrium, LD)衰减,其存在于短的距离内保证定位的高精确性等特点(Yu & Edward 2006)。对于质量性状可按照便于量化的原则将其赋值进行研究(王瑞等,2004)。自Thornsberry等(2001)首次将关联分析应用到植物上,获得与早期突变体研究和QTL作图相一致的结果,证明了*dwarf8*基因不仅控制玉米的株高还影响其开花期以后,Breseghello和Sorrells(2006)文自翔等(2008b)在小麦及大豆中作了相关的研究。

绣线菊属(*Spiraea* L.)植物资源丰富,黑龙江省有20个原种4个栽培变种(程银虎和武荣贵,2008),其中许多种类是理想的园林绿化树种。目前对绣线菊的研究仅限于其生理适应性、引种与分子标记体系优化(房慧旺等,2008)等。本研究中以18份绣线菊材料为研究样本,对28个性状进行表型观测与鉴定,首次利用在基因组上均匀分布的208个RAPD标记获得样本的标记(基因型)数据,在分析群体结构的基础上进行性状的关联分析,了解绣线菊基因组连锁不平衡状态,发掘与观赏性状相关联的优良标记及携带载体,为利用优秀资源定向改良品种提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为广泛栽培的18份绣线菊(表1),其中1~15号来自东北农业大学园艺设施工程中心温室,16~18号来自黑龙江省森林植物园。采集苗高15~25 cm,分枝数3~5条,叶片数25~35以上的植株当年生叶片为试材。

表1 18份绣线菊材料
Table 1 The 18 portion materials of *Spiraea* L.

材料编号 Material No.	种(品种) Species	主要产地分布 Main location distribution
1	毛果绣线菊 <i>S. trichocarpa</i> Nakai	辽宁、内蒙古 Liaoning, Inner Mongolia
2	石棒绣线菊 <i>S. media</i> Schmbt.	黑龙江、吉林 Heilongjiang, Jilin
3	珍珠绣线菊 <i>S. thunbergii</i> Blume	华东、陕西 Huadong, Shaanxi
4	‘金焰’绣线菊 <i>S. bumalda</i> ‘Gold Flame’	美国、中国 USA, China
5	‘金山’绣线菊 <i>S. bumalda</i> ‘Gold Mound’	美国、中国 USA, China
6	华北绣线菊 <i>S. fritschiana</i> Schneid.	河南、陕西 Henan, Shaanxi
7	石蚕叶绣线菊 <i>S. chamedryfolia</i> L.	黑龙江、吉林 Heilongjiang, Jilin
8	土庄绣线菊 <i>S. pubescens</i> Turcz.	陕西、甘肃 Shaanxi, Gansu
9	美丽绣线菊 <i>S. elegans</i> Pojark.	吉林、内蒙古 Jilin, Inner Mongolia
10	绢毛绣线菊 <i>S. sericea</i> Turcz.	黑龙江、吉林 Heilongjiang, Jilin
11	楔叶绣线菊 <i>S. canescens</i> D. Don	西藏、印度 Xizang, India
12	日本绣线菊 <i>S. japonica</i> Linn.	日本、中国 Japan, China
13	三裂绣线菊 <i>S. trilobata</i> Linn.	山东、山西 Shandong, Shanxi
14	金丝桃叶绣线菊 <i>S. hypericifolia</i> L.	辽宁、内蒙古 Liaoning, Inner Mongolia
15	柳叶绣线菊 <i>S. salicifolia</i> Linn.	内蒙古、华北 Inner Mongolia, Huabei
16	耧斗菜叶绣线菊 <i>S. aquilegifolia</i> Pall.	内蒙古、山西 Inner Mongolia, Shanxi
17	绒毛绣线菊 <i>S. velutina</i> Franch.	河北、山西 Hebei, Shanxi
18	曲萼绣线菊 <i>S. flexuosa</i> Cambess.	黑龙江、吉林 Heilongjiang, Jilin

1.2 观赏性状的观察与测定

绣线菊群体的14个质量性状见表2。数量性状测定包括叶长、叶宽、株高、花径、花瓣数、每花枝花序、每花序花数、花瓣长、花瓣宽、花期、果期、花期长、彩叶期长、抗白粉

病指数。按育种试验常规方法调查及观测观赏性状（刘毅，2007），利用游标卡尺测得叶、花的大小等数量性状，用赋值法对各质量性状量化。2008 年和 2009 年各测 1 次，3 次重复。

表 2 供试材料观赏性状中的质量性状及其编号
Table 2 Quality traits and their number of ornamental traits among materials

观赏性状 Ornamental trait	性状编号 Trait No.
开花生物学特征 Flowering biological habit	先叶后花 1，花叶同放 2 First leaves then flowers 1，Flowers and leaves at the same time 2
株形 Plant type	直立型 1，直立扩张型 2，扩张型 3 Vertical 1，Vertical expansion 2，Expansion 3
小枝条颜色 Color of twig	绿色 1，褐色 2，褐黄色 3，黄色 4 Green 1，Brown 2，Brown-yellow 3，Yellow 4
叶色 Leaf color	浅绿色 1，黄绿色 2，深绿色 3 Light green 1，Yellow-green 2，Dark green 3
叶形 Leaf shape	扇形 1，椭圆 2，卵形 3，圆形 4，菱形 5，披针形 6 Sector 1，Ellipse 2，Oval 3，Circular 4，Rhombus 5，Lanceolate 6
花着生方式 Flower location	顶生 1，侧生 2 Terminal 1，Lateral 2
彩叶期 Colored-leaf period	有 1，无 2 Have 1，None 2
叶尖 Leaf tip	渐尖 1，圆钝 2，急尖 3，锐尖 4 Acuminate 1，Obtuse 2，Acute 3，Sharp 4
叶缘 Leaf margin	全缘 1，全锯齿 2，只尖端锯齿 3，浅裂 4 Entire 1，Serrate 2，Only the point serrated 3，Lobed 4
花展 Flower expand	完全开放 1 Completely open 1
花姿 Flower posture	直立 1，斜出 2 Straight 1，Inclined 2
花相 Flower phase	线性花相 1，星散花相 2，密满花相 3 Linear 1，Scattered 2，Dense full 3
花色 Flower color	白色 1，粉红色 2，淡粉色 3 White 1，Pink 2，Pale 3
花序类型 Inflorescence type	伞形花序 1，复伞房花序 2，伞形总状花序 3，圆锥花序 4，伞房花序 5 Umbel 1，Compound corymb 2，Racemose-umbellate 3，Panicle 4，Corymb 5

1.3 基因组 DNA 提取及 RAPD 扩增

参考李青霞和李宏飞(2009)CTAB 法 ,从 6 ~ 10 片叶期单株嫩叶中提取纯化每份材料总 DNA ,并对 200 条随机引物进行筛选 ,选出多态性较高的引物做 3 次重复。PCR 总反应体系为 20 μL ,含 Taq buffer 2 μL、20 ng DNA 1 μL、0.2 nmol 引物 2 μL、2.5 mmol · L⁻¹ dNTP 1.2 μL、2.5 mmol · L⁻¹ MgCl₂ 1.6 μL 及 5 U · μL⁻¹ Taq DNA 聚合酶 0.2 μL。PCR 反应程序为 94 预变性 4 min , 35 个循环 , 94 变性 45 s , 38 退火 1 min , 72 延伸 1 min ,再经 72 延伸 10 min 后 4 保存。PCR 扩增产物在 1%琼脂糖凝胶上电泳 ,胶片在 Tanon GIs 2010 凝胶成像系统中扫描分析。试验中使用的扩增仪为梯度 PCR 仪 Biometra TGRADIENT (Bio-RAD , Beijing)。

1.4 数据处理与分析

群体结构分析：采用基于数学模型的聚类方法分析 18 份绣线菊的遗传结构，确定其亚群数。应用 Pritchard 等(2000)STRUCTRE2.2 软件 ,对绣线菊群体进行类群划分 ,计算材料相应的 Q 值(文自翔 等 , 2008b)。

关联分析：使用 TASSEL 软件 (Edward Buckler Lab. , 2007) 的 GLM 程序 ,将个体 Q 值作为协变量 ,用 28 个性状的表型数据分别对标记变异进行回归分析。

RAPD 标记分析：通过 RAPD 对 200 条引物进行初次扩增 ,筛选出多态性高 ,重复性好的引物 25 条 ,其中具有多态性的标记 208 个 ,根据公式 $P = k/n$ (P 为多态位点百分率 ,k 为多态性位点数 ,n 为测定的总位点数) 计算多态性比值。个体中有此标记的记为 1 ,无此标记的记为 0 ,对 18 份绣

线菊基因组扫描结果进行赋值分析(朱玉涛, 2010)。

2 结果与分析

2.1 RAPD 分子标记及扫描分析

利用 200 条引物对 18 份绣线菊进行 RAPD 扩增, 187 条引物都有扩增条带, 占扩增条带总数 93.5%, 每个引物可扩增出 2~9 条带; 扩增条带均在两条以上, 有多态性的引物共 57 条。对 57 条引物进行复筛, 得到扩增性强, 稳定性和多态性好的引物 25 条, 共扩增出 286 条条带, 其中多态性条带 208 条, 占扩增条带总数 72.7%。通过对绣线菊基因组 PCR 扩增, 多数 RAPD 标记在绣线菊种间表现多态性, 不同引物扩增结果在总条带数、多态性条带数、带型及条带亮度等方面都表现出差异。在所有材料中, RAPD 反应扩增的条带分子量一般在 200~2 000 bp (图 1)。利用扩增图谱对 18 份绣线菊的标记结果赋值后进行关联分析。

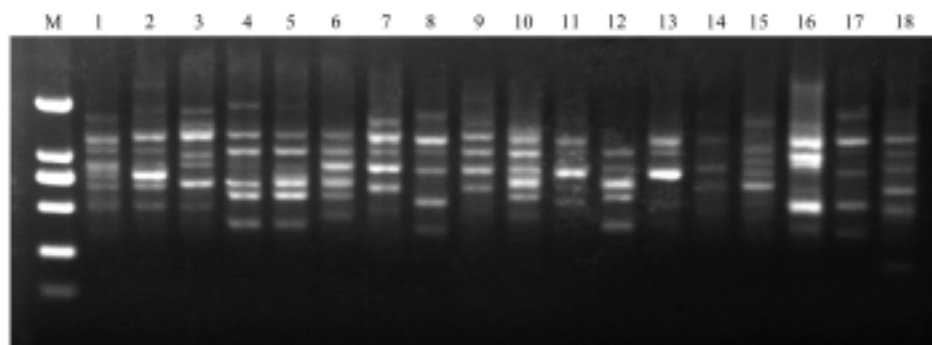


图 1 引物 S1029 对 18 份绣线菊的 RAPD 扩增结果

M: DNA 分子量标准 DL2000。品种编号见表 1。

Fig. 1 RAPD amplification results of primer S1029 in 18 portion materials of *Spiraea L.*

M: DL2000 DNA marker. The materials No. as in Table 1.

2.2 群体结构分析

群体结构是一个群体内存在的亚群情况。亚群的混合使整个群体的连锁不平衡 (linkage disequilibrium, LD) 强度增强, 可能导致基因多态性位点与性状的相关性并非由功能性等位基因引起, 从而产生假阳性结果。因此关联分析前有必要对群体进行结构分析和调节。应用 208 个 RAPD 标记, 利用 STRUCTURE2.2 软件对绣线菊群体结构进行分析, 结果表明绣线菊的等位变异频率特征类型数 $K = 6$ (服从 Hardy-Weinberger 平衡的亚群数为 6) 时其模型后验概率最大, 因此判断样本亚群数为 6, 这与刘一佳 (2009) 对此 18 份绣线菊材料聚类分析结果一致。

2.3 与观赏性状相关联的 RAPD 标记分析

对绣线菊群体 28 个性状连续 2 年的观测数据进行方差分析, 由于样本群体由多个亚群体组成, 将各个体的相应 Q 值作为协变量, 分别进行 2008 年、2009 年和 2 年平均表型值对标记的回归分析。

分析 (表 3) 表明: (1) 28 个性状中有 16 个观赏性状与标记相关, 与 16 个性状相关联的标记共有 23 个。其中有重要影响 ($P < 0.05$, 表明差异显著) 的标记主要集中在株高、株形、叶长、花期长、开花生物学特征、花色、花姿、花瓣宽、果期及彩叶期等性状中, 这些关联标记分别为 s5-2、s22-4、s1029-7、s1216-1、s206-8、s22-7 和 s1049-9, 这些含有优异关联标记的绣线菊可作为定向育种的优良材料, 为育种目标设计提供参考; 标记对性状的解释率范围为 0.42~1, 解释率越高说明

关联度越大，其中开花生物学特征最高（1），花色最低（0.42）。（2）同一性状有多个标记与之关联，包括开花生物学特征、花色、彩叶期长度等 9 个性状，同一标记与多个性状相关联也多次出现，这些性状多数是同一类性状，如 s5-2 标记与 5 个性状（花期长、果期、彩叶期、彩叶期长等）都有关联，可能是性状相关、基因多效性的遗传基础。（3）同一性状在 2 年重复试验中与相同标记关联，说明这些位点受环境影响较小，能够稳定遗传，这些关联标记可作为辅助选择育种标记。

表 3 与 16 个性状显著相关的标记位点及其对表型变异的解释率
Table 3 Marker locis associated with 16 traits and their explained phenotypic to the variation

标记位点 Marker locus	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
S1029-6	0.64															
S22-4		<u>0.48</u>														
S1260-1			0.62													
S1025-4					0.57											
S1027-8					0.49											
S5-2	<u>0.58</u>					<u>0.71</u>								0.53	<u>0.63</u>	0.99
S1216-1							<u>1</u>									
S22-1							1									
S152-6							<u>1</u>									
S75-7							1									
S103-9								0.51	0.52							
S206-8								<u>0.87</u>	<u>1</u>		<u>0.54</u>		0.52			
S1006-8								0.42								
S22-7												<u>0.68</u>				
S306-10															<u>0.57</u>	
S1049-9							0.47							<u>0.63</u>		
S1027-6						0.54										<u>0.61</u>
S1029-1																0.47
S1029-7				<u>0.53</u>												
S75-3					0.55											
S1027-4							0.47									
S1029-4							0.47									
S1043-7										0.51						
合计 Total	2	1	1	1	3	2	7	3	2	1	1	1	1	2	2	3

注：下划线表示 2 年关联分析都能检测到的标记。序号 1~16 分别代表株高、株形、叶形、叶长、叶尖、花期长、开花生物学特征、花色、花姿、花相、每花枝花序、花瓣宽、花着生方式、果期、彩叶期、彩叶期长。
Note : The underline indicates the markers that can be detected in 2 years' association analysis. The number from 1 to 16 represent plant height , plant type , leaf shape , leaf length , leaf tip , blooming period , flowering biological habit , flower color , flower posture , flower phase , inflorescence of per branch , petal width , flower location , fruit period , colored-leaf period , colored-leaf period.

2.4 群体观赏性状的优异关联标记与载体分析

试验获得的 2 年关联分析都能检测到的 RAPD 标记 10 个（表 3）。其中株形关联标记对表型变异解释率达到 40% 以上；叶长、叶尖、花相、花着生方式和每花枝花序数达 50% 以上；株高、叶形、花期长、花瓣宽、果期和彩叶期达 60% 以上；花色达 80% 以上；彩叶期长达 90% 以上；开花生物学特征和花姿达 100%，说明这些标记与性状的关联密切。

表 4 列出与性状关联的各标记位点及典型绣线菊材料，分析发现与性状显著关联的优异标记有 7 条，分别为 s5-2、s152-6、s1216-1、s206-8、s22-7、s1049-9 及 s1027-6，与之关联的性状主要为开花生物学特征、花色、花瓣宽和彩叶期等，这些标记多分布在‘金焰’绣线菊、‘金山’绣线菊、珍珠绣线菊、日本绣线菊及柳叶绣线菊等中。

表 4 与绣线菊 16 个观赏性状显著关联的标记及其对应的材料
Table 4 Materials and locis associated significantly with 16 ornamental traits of *Spiraea* L.

观赏性状 Ornamental trait	标记位点 Marker	材料编号 Material No.																	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
株高 Plant hight	S5-2	+			+	+													
株形 Plant type	S22-4	+													+	+			
叶长 Leaf length	S1029-7		+								+	+	+			+			+
花期长 Blooming period	S5-2				+	+													
开花生物学特征 Flowering biological habit	S152-6			+															
	S1216-1			+															
花色 Flower color	S206-8				+	+	+						+			+			
花姿 Flower posture	S206-8				+	+	+						+			+			
每花枝花序 Inflorescence of per branch	S206-8				+	+	+						+			+			
花瓣宽 Petal width	S22-7	+						+	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+
果期 Fruit period	S306-10				+	+						+							
彩叶期 Colored-leaf period	S5-2				+	+													
	S1049-9			+		+													
彩叶期长 Colored-leaf period	S1027-6			+	+	+													

注：+表示携有此标记。
Note：+ indicates the *Spiraea* L. species with this marker.

3 讨论

3.1 RAPD 连锁不平衡位点与关联作图的关系

植物自然群体由于进化和交配体系不同其基因组连锁不平衡 (linkage disequilibrium, LD) 水平不相同, QTL 与标记位点间的 LD 是关联分析的前提, 在进行关联分析前必需获知研究群体基因组 LD。本研究对 18 份绣线菊材料 28 个观赏性状与试验检测到的 208 个 RAPD 分子标记进行关联分析, 并初步了解绣线菊基因组连锁不平衡状态, 绣线菊此方面的研究尚属空白; 对全基因组关联分析需要使用高密度标记对基因组进行扫描, 据报道对拟南芥进行全基因组 LD 分析需要 6 000 个标记 (Flint-Garcia et al., 2003)。RAPD 标记重复性差且标记数量有限, 因此在 2 年重复试验中得到的相同标记较少, 可能与 RAPD 的不稳定性有关。本研究初步分析绣线菊群体基因组状况及与性状的关联, 在此基础上将作扩展与深入研究。

3.2 群体关联分析结果与标记辅助育种

利用关联分析结果, 根据绣线菊育种目标进行标记辅助育种设计, 将不同标记位点的优异标记聚合可改良绣线菊单个性状或综合性状。

目前绣线菊的育种目标设计主要集中在花期、花色和彩色叶育种等方面, 据关联结果对含有优异关联标记的性状可进行性状改良。文中对开花生物学有重要影响的关联标记为 s152-6 和 s1216-1, 珍珠绣线菊同时具有这 2 个标记, 其开花生物学特征为花叶同放, 其它绣线菊均为先叶后花, 利用此份材料可能培育出花期更早的品种; 对彩叶期有重要影响的关联标记为 s5-2 与 s1049-5, 对彩叶期长有重要影响的关联标记为 s1027-6, 珍珠绣线菊、‘金焰’绣线菊和‘金山’绣线菊都含有上述标记, 绣线菊中仅这 3 种绣线菊具有彩叶期, 利用这 3 份材料可改良其它绣线菊叶片颜色, 育出彩叶绣线菊品种, ‘金焰’与‘金山’绣线菊的彩叶期较长, 它们间重组或其它绣线菊材料组合可能培育出彩叶期更长的新品种。从多个亲本中聚合多个位点的优良标记, 还可作多个性状的改良, 利

用含有花叶同放性状的珍珠绣线菊 (s1049-9, s1027-6, s1216-1) 与含有粉花系性状的日本绣线菊 (s1029-7, s206-8) ‘金焰’绣线菊 (s5-2, s1049-9, s1027-6, s306-10, s22-4) 等材料与含有宽花瓣性状的曲萼绣线菊 (s22-7, s1029-7) 柳叶绣线菊 (s22-7, s1029-7) 等材料进行杂交可能培育出花期早、花色艳丽、花朵大且具有彩叶期的新品种。探讨这些育种设计的准确性受分析精确性及统计真实性等因素的影响,有待试验进一步研究与验证。

References

- Bresegheello F, Sorrells M E. 2006. Association mapping of kernelsize and milling quality in wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *Genetics*, 172 : 1165 – 1177.
- Cheng Yin-hu, Wu Rong-gui. 2008. Plant resource and application in garden of *Spiraea* in Heilongjaing Province. *Forestry Survey and Design*, 146 (2) : 62 – 63. (in Chinese)
- 程银虎, 武荣贵. 2008. 黑龙江省绣线菊属植物资源及在园林中的应用, 林业勘查设计, 146 (2) : 62 – 63.
- Edward Buckler Lab. 2007. Maize Diversity Research. <http://www.maizegenetics.net/bioinformatics/tassel>[2007-03-20]
- Fang Hui-wang, Liu Qing-hua, Wang Kui-ling, Liu Qing-chao, Tang Qi-he. 2008. Studies on DNA extraction and establishment of RAPD reaction system in *Spiraea* L. *Agricultural Biotechnology Science*, 24 (2) : 67 – 70. (in Chinese)
- 房慧旺, 刘庆华, 王奎玲, 刘庆超, 唐启和. 2008. 10 种绣线菊 DNA 的提取及 RAPD 反应体系的优化, 农业生物技术科学, 24 (2) : 67 – 70.
- Flint-Garcia S A, Thornsberry J M, Buckler E S. 2003. Structure of linkage disequilibrium in plants. *Ann Rev Plant Biol*, 54 : 357 – 374.
- Li Qing-xia, Li Hong-fei. 2009. Study on efficient extraction for genomic DNA from *Malus* leaves by CTAB method. *Northern Horticulture*, 2 : 49 – 52. (in Chinese)
- 李青霞, 李宏飞. 2009. CTAB 法高效提取苹果叶片 DNA 的研究. 北方园艺, 2 : 49 – 52.
- Liu Yi. 2007. The ornamental evaluation of main cultivars for *Ginkgo biloba* in Shaanxi Province [M. D. Dissertation]. Shaanxi : Northwest A & F University. (in Chinese)
- 刘毅. 2007. 陕西主要栽培银杏的观赏性状评价研究[硕士论文]. 陕西 : 西北农林科技大学.
- Liu Yi-jia. 2009. Study on the RAPD-SCAR marker and classification of eighteen species of *Spiraea* L. in Northern China [M. D. Dissertation]. Haerbin : Northeast Agricultural University. (in Chinese)
- 刘一佳. 2009. 北方 18 种绣线菊 RAPD-SCAR 标记及分类的研究[硕士论文]. 哈尔滨 : 东北农业大学.
- Pritchard J K, Stephens M, Donnelly P. 2000. Inference of popula-tion structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155 : 945 – 959.
- Thornsberry J M, Goodman M M, Doebley J, Kresovich S, Niel-sen D, Buckler E S. 2001. Dwarf 8 polymorphisms associate with varia-tion in flowering time. *Nat Genet*, 28 : 286 – 289.
- Wang Rui, Li Jia-na, Chen Li, Tang Zhang-lin. 2004. Canonical correlation for character groups in yellow-seeded rapeseed lines (*Brassica napus*-L.). *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 20 (2) : 99 – 101. (in Chinese)
- 王瑞, 李加纳, 谌利, 唐章林. 2004. 甘蓝型黄籽油菜性状组间的典型相关分析. 中国农学通报, 20 (2) : 99 – 101.
- Wen Zi-xiang, Zhao Tuan-jie, Zheng Yong-zhan, Liu Shun-hu, Wang Chun-e, Wang Fang, Gai Jun-yi. 2008a. Association analysis of agronomic and quality traits with SSR markers in *Glycine max* and *Glycine soja* in China : . Ex-ploration of elite alleles. *Acta Agron Sin*, 34 (8) : 1339 – 1349. (in Chinese)
- 文自翔, 赵团结, 郑永战, 刘顺湖, 王春娥, 王芳, 盖钧镒. 2008a. 中国栽培和野生大豆农艺及品质性状与 SSR 标记的关联分析 . 优异等位变异的发掘. 作物学报, 34 (8) : 1339 – 1349.
- Wen Zi-xiang, Zhao Tuan-jie, Zheng Yong-zhan, Liu Shun-hu, Wang Chun-e, Wang Fang, Gai Jun-yi. 2008b. Association analysis of agronomic and qualitytraits with SSR markers in *Glycine max* and *Glycine soja* in China : . Population structure and associated markers. *Acta Agron Sin*, 34 (7) : 1169 – 1178. (in Chinese)
- 文自翔, 赵团结, 郑永战, 刘顺湖, 王春娥, 王芳, 盖钧镒. 2008b. 中国栽培和野生大豆农艺品质性状与 SSR 标记的关联分析 . 群体结构及关联标记. 作物学报, 34 (7) : 1169 – 1178.
- Yu J, Edward S B. 2006. Genetic association mapping and genome or ganization of maize. *Curr Opin Biotechnol*, 17 : 155 – 160.
- Zhu Yu-tao. 2010. Association analysis of ornamental trait with RAPD markers in 18 portion of *Spiraea* L. [M. D. Dissertation]. Harbin : Northeast Agricultural University. (in Chinese)
- 朱玉涛. 2010. 18 份绣线菊观赏性状与 RAPD 分子标记的关联分析 [硕士论文]. 哈尔滨 : 东北农业大学.