

# 菊花营养生长期观赏性状的 RAPD 和 ISSR 标记

张 飞, 陈发棣\*, 房伟民, 陈素梅

( 南京农业大学园艺学院, 南京 210095 )

**摘 要:** 以菊花 ‘雨花落英’ 和 ‘奥运含笑’ 及其 142 株  $F_1$  群体为材料, 采用单因素方差分析方法, 检测了与  $F_1$  群体营养生长期 6 个观赏性状关联的 RAPD 和 ISSR 遗传标记。结果表明, 6 个性状的观测值在  $F_1$  群体中显著分离 ( 变异系数大于 20% ), 且均基本服从正态分布。单因素方差分析检测出与株高、株幅、株高/株幅比、节间长度、叶长和叶宽相关联遗传标记分别为 15、9、9、11、7 和 8 个, 这些标记的累积贡献率均在 30% 以上, 单个标记对目标性状的贡献率却较低 ( 2.77% ~ 8.50% ), 说明这些标记位点可能为微效多基因。与目标性状显著关联的标记位点的正确利用将进一步加速菊花选择育种的效率。

**关键词:** 菊花; 营养生长期; 数量性状; RAPD; ISSR; 方差分析

**中图分类号:** S 682.1+1

**文献标识码:** A

**文章编号:** 0513-353X ( 2010 ) 08-1345-06

## Detection of RAPD and ISSR Markers Associated with Ornamental Traits of Chrysanthemum in Vegetative Stage

ZHANG Fei, CHEN Fa-di\*, FANG Wei-min, and CHEN Su-mei

( College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China )

**Abstract:** Association analysis were undertaken to detect the genetic markers significantly related to the 6 ornamental traits ( i.e. plant height, plant width, the ratio of plant height to plant width, internode length, leaf length and leaf width ) in vegetative stage by the method of One-Way ANOVA based on a  $F_1$  population derived from chrysanthemum cultivars, ‘Yuhualuoying’ and ‘Aoyunhanxiao’. The result showed that the 6 traits segregated significantly in the  $F_1$  population ( coefficient of variation > 20% ), basically fitting in a normal distribution. The One-Way ANOVA analysis revealed that the number of genetic markers significantly associated with plant height, plant width, the ratio of plant height to plant width, internode length, leaf length and leaf width was 15, 9, 9, 11, 7 and 8, respectively. Of these genetic markers, the cumulative contribution ratio for each trait was above 30%, whereas the contribution ratio of each single genetic marker ranged from 2.77% to 8.50%, revealing that these markers were polygene with little effect. We anticipated that the proper utilization of these genetic markers significantly associated with these target traits would effectively improve selection breeding in chrysanthemum.

**Key words:** chrysanthemum; vegetative stage; quantitative trait; RAPD; ISSR; association analysis

菊花 ( *Chrysanthemum morifolium* ) 系菊科菊属多年生宿根花卉, 在生产中常以扦插方式进行无性繁殖。栽培菊花的遗传背景复杂, 存在高度杂合、自交不亲和、近交衰退等现象, 与多年生林木

收稿日期: 2009-12-23; 修回日期: 2010-06-23

基金项目: 国家自然科学基金项目 ( 30871724 )

\* 通信作者 Author for correspondence ( E-mail: chenfd@njau.edu.cn )

相似,在杂交  $F_1$  代就开始高度分离。根据 Grattapaglia 和 Sederoff (1994) 提出的“双拟测交作图策略”,可以利用  $F_1$  代构建长期无性繁殖植物的遗传图谱,从而克服了必须构建  $F_2$ 、RIL、DH 和回交等作图群体,简化和推动了该类植物遗传图谱的构建工作,相关研究已经在杜鹃 (Dunemann et al., 1999)、月季 (Crespel et al., 2002; Oyant et al., 2008)、百合 (Abe et al., 2002) 和康乃馨 (Yagi et al., 2006) 等观赏植物中得到很好应用,但是在菊花上尚无遗传图谱与基因定位的相关报道。本研究中利用菊花杂交  $F_1$  代的 RAPD 和 ISSR 标记数据,采用单因素方差分析方法初步探索与株型和叶形等数量性状相关联的遗传标记或 QTLs,以期为进一步开展菊花的分子育种提供参考。

## 1 材料与方法

供试材料为保存于南京农业大学中国菊花品种保存中心的夏菊品种‘奥运含笑’和秋菊品种‘雨花落英’及其 142 个杂交  $F_1$  后代单株。

Lambda DNA、*Taq* DNA 聚合酶、dNTPs 以及 100 bp DNA marker (100、300、500、700、1 000、1 500、2 000 bp) 购自宝生物工程 (大连) 有限公司, RAPD 和 ISSR 引物由上海英骏生物技术有限公司合成。

基因组 DNA 的提取与检测:参照 Murray 和 Thompson 方法 (1980),以嫩叶为材料,采用 CTAB 微量法提取基因组 DNA,以 Lambda DNA 为分子量标准,利用 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 质量和浓度,并用 ddH<sub>2</sub>O 稀释至  $25 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ ,  $-20^\circ\text{C}$  保存备用。

PCR 反应与电泳检测:RAPD 和 ISSR 反应体系与程序分别参照缪恒彬等 (2007) 和赵静媛等 (2009) 的方法。扩增反应结束后,每管各加入  $6 \times$  溴酚蓝  $0.5 \mu\text{L}$ ,离心混匀后,取  $2 \sim 3 \mu\text{L}$  扩增产物经 8% 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳后银染,电极缓冲液为  $0.5 \times \text{TBE}$ 。银染步骤为:(1) 在含 10% 乙醇、0.5% 冰乙酸的固定液中固定 12 min;(2) 0.2% 硝酸银溶液染色 12 min;(3) 10% 的硫代硫酸钠脱色 30 s 左右;(4) 在显色液 (1.5% 氢氧化钠、0.4% 甲醛及 0.025% 硫代硫酸钠) 中显色 8 ~ 10 min。最后在胶片观察灯上拍照,保存。

与数量性状相关联的遗传标记检测:2007 年,于盛花期统计  $F_1$  群体的 142 个后代单株营养生长期的 6 个观赏性状,包括株高、株幅、株高/冠幅比、植株中上部 (顶始第 10 ~ 12 节间) 的节间长度及叶长和叶宽等 6 个性状,单株重复 3 次,具体测量方法参见李鸿渐 (1993) 的方法。采用以标记为基础的 Marker-based 方法 (Singh et al., 1991),即根据标记基因型的种类将分离群体划分两组:有带位点记为 1,无带记为 0,对每一个位点按 0、1 将其分成两个组,对各位点中的两组进行性状差异的单因素方差分析,确定与不同数量性状相关的标记位点。用组间方差与总方差的比值求得该遗传标记位点产生的性状变异占性状总变异的百分率,即标记对该性状变异的贡献率。

所有数据整理分析均在 SPSS 11.5 软件中进行。

## 2 结果与分析

### 2.1 菊花营养生长期观赏性状在 $F_1$ 代的分离情况

菊花营养生长期的 6 个观赏性状表型值在  $F_1$  代群体中分布的描述性统计结果见表 1。由表 1 可以看出,6 个性状均表现出程度相似的变异情况,变异系数在 23.56% ~ 32.68% 之间,说明 6 个性状在该  $F_1$  代群体中个体间差异较大,表现出显著的分离情况,适合进行性状相关分子标记的筛选。从表 1 中的偏度和峰度可知,6 个性状在  $F_1$  代群体中的分离情况均基本服从正态分布,适用于进一步

作遗传分析。

表 1 菊花营养生长期 6 个观赏性状在 F<sub>1</sub> 代群体中的描述性数据

Table 1 Descriptive statistics for the 6 ornamental traits in vegetative stage of the F<sub>1</sub> population of chrysanthemum

性状 Trait	平均值 Mean	极差 Range	标准差 SD	变异系数/% CV	偏度 Skewness	峰度 Kurtosis
株高/cm Plant height	35.14	64.60	11.48	32.68	0.69	1.15
株幅/cm Plant width	76.46	85.00	19.40	25.37	0.05	-0.36
株高/株幅 Ratio of plant height to width	0.46	0.76	0.11	23.56	1.00	2.66
节间长度/cm Internode length	1.63	3.07	0.45	27.63	1.19	3.31
叶长/cm Leaf length	3.63	5.93	0.96	26.50	0.40	0.55
叶宽/cm Leaf width	2.81	5.03	0.77	27.56	0.68	1.49

2.2 与菊花营养生长期观赏性状相关联的分子标记

2.2.1 与株型性状关联的遗传标记

在菊花株型性状中，与株高显著关联的遗传标记有 15 个，其中极显著的有 4 个，这些标记位点对株高变异的贡献率在 3.11% ~ 8.50%，累积贡献率为 70.92%；与株幅显著关联的遗传标记有 9 个，其中极显著的有 3 个，这些标记对株幅变异的贡献率在 2.77% ~ 6.17%，累积贡献率为 36.77%；与株高/株幅比显著关联的遗传标记有 9 个，其中极显著的有 1 个，单个标记的贡献率变异范围在 3.11% ~ 4.68%，累积贡献率为 34.38%；与节间长度显著关联的遗传标记有 11 个，其中极显著的有 2 个，单个标记位点对节间长度变异的贡献率为 2.93% ~ 5.24%，累积贡献率为 41.81%（表 2）。

2.2.2 与叶形性状关联的遗传标记

在叶形性状中，与叶长显著关联的遗传标记有 7 个，其中极显著的有 3 个，单个标记位点对叶长变异的贡献率为 2.99% ~ 7.84%，累积贡献率为 31.61%；与叶宽显著关联的遗传标记有 8 个，单个标记的贡献率为 3.11% ~ 4.40%，累积贡献率为 30.45%（表 2）。

表 2 单因素方差分析方法检测菊花 F<sub>1</sub> 群体营养生长期 6 个观赏性状关联的 RAPD 和 ISSR 标记及其贡献率

Table 2 RAPD and ISSR markers significantly associated with the 6 ornamental traits in vegetative stage of the F<sub>1</sub> population of chrysanthemum by One-Way Variance Method and their contribution ratio

性状 Trait	标记名称 Marker name	组间平方和 Sum of squares between groups	组内平方和 Sum of squares within groups	F 值 F value	贡献率/% Contribution ratio
株高 Plant height	Y-A118-3	578.92	18 010.54	4.50 <sup>*</sup>	3.11
	Y-AS10-1	1 281.13	17 308.33	10.36 <sup>**</sup>	6.89
	Y-BH19-1	689.52	17 899.94	5.39 <sup>*</sup>	3.71
	Y-T09-2	735.11	17 854.35	5.76 <sup>*</sup>	3.96
	A-A18-4	646.10	17 943.36	5.04 <sup>*</sup>	3.48
	A-B10-5	780.69	17 808.77	6.14 <sup>*</sup>	4.20
	A-BH12-1	1 580.40	17 009.06	13.01 <sup>**</sup>	8.50
	A-C08-2	795.45	17 794.01	6.26 <sup>*</sup>	4.28
	A-Q08-1	615.60	17 973.86	4.80 <sup>*</sup>	3.31
	Y-I32-1	649.75	17 939.71	5.07 <sup>*</sup>	3.50
	Y-I35-1	1 102.77	17 486.69	8.83 <sup>**</sup>	5.93
	Y-I35-2	661.27	17 928.19	5.16 <sup>*</sup>	3.56
	Y-I58-1	1 461.47	17 127.99	11.95 <sup>**</sup>	7.86
	Y-I58-2	940.79	17 648.67	7.46 <sup>**</sup>	5.06
	A-I17-5	663.74	17 925.72	5.18 <sup>*</sup>	3.57

续表 2

性状 Trait	标记名称 Marker name	组间平方和 Sum of squares between groups	组内平方和 Sum of squares within groups	F 值 F value	贡献率/% Contribution ratio
株幅 Plant width	Y-AI19-1	1 963.27	51 104.58	5.37 <sup>*</sup>	3.70
	Y-BH09-2	2 529.72	50 538.13	7.01 <sup>**</sup>	4.77
	Y-BH10-1	1 627.85	51 440.00	4.43 <sup>*</sup>	3.07
	A-A18-1	2 318.16	50 749.69	6.39 <sup>*</sup>	4.37
	A-BH12-1	1 726.68	51 341.17	4.71 <sup>*</sup>	3.25
	A-C08-2	3 274.70	49 793.15	9.21 <sup>**</sup>	6.17
	Y-I35-1	1 471.80	51 596.05	3.99 <sup>*</sup>	2.77
	Y-I35-2	1 476.16	51 591.69	4.01 <sup>*</sup>	2.78
株高/株幅 The ratio of plant height to plant width	Y-I58-1	3 124.43	49 943.42	8.76 <sup>**</sup>	5.89
	Y-AS10-1	0.06	1.62	4.97 <sup>*</sup>	3.42
	A-A18-4	0.07	1.61	5.60 <sup>*</sup>	3.85
	A-B01-2	0.06	1.62	4.70 <sup>*</sup>	3.25
	A-BC15-4	0.08	1.60	6.51 <sup>*</sup>	4.44
	A-BF12-2	0.07	1.61	6.31 <sup>*</sup>	4.31
	A-BH10-3	0.05	1.63	4.50 <sup>*</sup>	3.11
	A-BH12-1	0.08	1.60	6.87 <sup>**</sup>	4.68
节间长度 Internode length	Y-I36-1	0.06	1.62	5.59 <sup>*</sup>	3.84
	A-I17-5	0.06	1.62	5.04 <sup>*</sup>	3.48
	Y-AI18-3	0.83	27.30	4.18 <sup>*</sup>	2.93
	Y-AY03-1	0.90	27.23	4.57 <sup>*</sup>	3.21
	Y-B06-1	1.14	26.99	5.83 <sup>*</sup>	4.06
	Y-B10-1	0.96	27.17	4.88 <sup>*</sup>	3.42
	Y-B10-4	1.10	27.03	5.61 <sup>*</sup>	3.91
	Y-B15-4	1.15	26.98	8.88 <sup>*</sup>	4.09
叶长 Leaf length	A-B06-3	1.47	26.66	7.63 <sup>**</sup>	5.24
	A-B10-5	0.89	27.24	4.50 <sup>*</sup>	3.16
	A-BE13-1	0.87	27.26	4.41 <sup>*</sup>	3.10
	A-T12-1	1.36	26.77	7.01 <sup>**</sup>	4.83
	A-I76-2	1.09	27.04	5.55 <sup>*</sup>	3.86
	Y-B10-7	4.46	123.97	4.97 <sup>*</sup>	3.47
	Y-B15-4	3.83	124.60	4.25 <sup>*</sup>	2.99
	Y-BH01-4	6.77	121.66	6.17 <sup>*</sup>	4.28
叶宽 Leaf width	Y-BH10-1	3.94	124.49	4.37 <sup>*</sup>	3.07
	A-BF12-5	10.07	118.36	11.70 <sup>**</sup>	7.84
	Y-I32-1	6.32	122.11	7.14 <sup>**</sup>	4.92
	Y-I65-3	6.48	121.95	7.33 <sup>**</sup>	5.04
	Y-B10-7	2.75	80.43	4.71 <sup>*</sup>	3.30
	Y-B15-4	2.63	80.55	4.51 <sup>*</sup>	3.17
	Y-BH01-4	3.56	79.62	6.18 <sup>*</sup>	4.28
	Y-BH19-1	3.54	79.64	6.13 <sup>*</sup>	4.26
	A-B10-5	3.66	79.52	6.34 <sup>*</sup>	4.40
	A-BF12-5	3.61	79.57	6.26 <sup>*</sup>	4.34
	Y-I32-1	2.98	80.20	5.13 <sup>*</sup>	3.59
	Y-I35-1	2.59	80.59	4.43 <sup>*</sup>	3.11

注：\*，\*\*分别表示在 0.05 和 0.01 水平差异显著。

Note：\* and \*\* indicate significant difference at 0.05 and 0.01，respectively.

### 3 讨论

株型和叶形是菊花观赏特性的重要构成因子，也是菊花育种中需要改良的重要数量性状（Chen et al.，1995；陈发棣等，2005；赵洪波，2007）。由单因素方差分析结果来看，共有 37 个分子标记（其中 RAPD 标记 30 个，ISSR 标记 7 个）与 6 个数量性状相关联。从关联分析结果可以看出，不

同数量性状与标记关联有两种情况：一是同一个数量性状与多个标记相关联，在研究的 7 个性状中，与某个性状相关联的标记至少有 7 个（如叶长），最多的有 15 个（如株高）；二是同一标记与多个数量性状显著相关联，如 B10-5 与株高、节间长度和叶宽显著相关联，BH12-1 与株高、株幅和株高/株幅比显著相关联，I32-1 与株高、叶长和叶宽以及 I35-1 与株高、株幅和节间长度同时显著相关联等。尹伟伦和胡建军（2005）、邹林林等（2008）研究也得出相似的结果。上述研究结果说明，性状间相关的原因存在一因多效或者是由于紧密连锁的处于同一染色体区间的不同 QTLs 控制所引起。一般地，数量性状的连续变异是由于微效多基因的累加作用再加上环境条件的影响而产生的。本研究检测出与各个性状关联标记的累积贡献率都比较高（大于 30%），但是单个标记位点对性状变异的贡献率都较小（2.77% ~ 8.50%），表明这些标记位点很可能为微效多基因。

与其它作物相比较（李金花等，1999；尹伟伦和胡建军，2005），本研究中检测到的单个遗传标记对目标性状的贡献率普遍较低，尽管如此，仍获得了一些比较有意义的遗传标记位点，如 A-BH12-1 和 Y-I58-1 可以解释菊花株高变异的贡献率分别高达 8.50% 和 7.86%；A-C08-2 可以解释菊花株幅变异的贡献率为 6.17%，且这些标记位点与目标性状极显著相关。借助于这些紧密连锁的分子标记，可以在菊花育种中对有关 QTLs 的遗传行为进行动态跟踪，从而加强对数量性状的遗传操纵能力，提高育种中对数量性状优良基因型选择的准确性和预见性（黄秦军等，2004）。

目前，尚无关于菊花观赏性状基因定位方面的报道，作者采用方差分析方法利用 RAPD 和 ISSR 初次检测了与菊花株型和叶形相关 6 个性状关联的遗传标记。该方法已经在很多作物中报道（李春丽和郑康乐，1998；李金花等，1999；何祯祥等，2000；黄烈健等，2004），虽然该方法不能与以遗传图谱为基础的区间作图法一样定位 QTLs 在基因组上的位置，但是能检测到与目标性状紧密连锁的标记位点，与以遗传图谱为基础的 QTL 定位研究也具有同一性（苏晓华等，2000；尹伟伦和胡建军，2005）。所以，这些与目标性状紧密连锁的标记位点或 QTLs 对开展菊花分子标记辅助育种、进一步提高选择育种效率具有重要意义。

## References

- Abe H, Nakano M, Nakatsuka A, Nakayama M, Koshioka M, Yamagishi M. 2002. Genetic analysis of floral anthocyanin pigmentation traits in Asiatic hybrid lily using molecular linkage maps. *Theor Appl Genet*, 105: 1175–1182.
- Chen Fa-di, Fang Wei-min, Zhao Hong-bo, Guan Zhi-yong, Xu Gao-juan. 2005. New varieties of chrysanthemum: Ground cover varieties. *Acta Horticulturae Sinica*, 32 (6): 1167. (in Chinese)
- 陈发棣, 房伟民, 赵宏波, 管志勇, 许高娟. 2005. 菊花新品种——地被菊系列. *园艺学报*, 32 (6): 1167.
- Chen J Y, Wang S P, Wang X C, Wang P W. 1995. Thirty years studies on breeding ground-cover chrysanthemum new varieties. *Acta Horticulturae*, 404: 30–34.
- Crespel L, Chirrollet M, Durel C, Zhang D, Meynet J, Gudin S. 2002. Mapping of qualitative and quantitative phenotypic traits in *Rosa* using AFLP markers. *Theor Appl Genet*, 105: 1207–1214.
- Dunemann F, Kahnau R, Stange I. 1999. Analysis of complex leaf and flower characters in *Rhododendron* using a molecular linkage map. *Theor Appl Genet*, 98: 1146–1155.
- Grattapaglia D, Sederoff R. 1994. Genetic linkage maps of *Eucalyptus grandis* and *Eucalyptus urophylla* using a pseudo-testcross: Mapping strategy and RAPD markers. *Genetics*, 137: 1121–1137.
- He Zhen-xiang, Shi Ji-sen, Yin Zeng-fang, Chen Xiao-chou, Yu Rong-zhuo. 2000. Detection of genetic markers associated with growth traits in Chinese fir. *Journal of Zhejiang Forestry College*, 17 (4): 350–354. (in Chinese)
- 何祯祥, 施季森, 尹增芳, 陈孝丑, 余荣卓. 2000. 杉木生长性状相关联遗传标记的检测. *浙江林学院学报*, 17 (4): 350–354.
- Huang Lie-jian, Su Xiao-hua, Zhang Xiang-hua, Huang Qin-jun. 2004. SSR molecular markers related to wood density and fibre traits in poplar. *Acta Genetica Sinica*, 31 (3): 299–304. (in Chinese)

- 黄烈健, 苏晓华, 张香华, 黄秦军. 2004. 与杨树木材密度、纤维性状相关的 SSR 分子标记. 遗传学报, 31 (3) : 299 – 304.
- Huang Qin-jun, Su Xiao-hua, Huang Lie-jian, Zhang Zhi-yi. 2004. QTLs mapping for wood properties of *Populus deltoids* × *P. cathayana*. Scientia Silvae Sinicae, 40 (2) : 55 – 60. (in Chinese)
- 黄秦军, 苏晓华, 黄烈健, 张志毅. 2004. 美洲黑杨 × 青杨木材性状 QTLs 定位研究. 林业科学, 40 (2) : 55 – 60.
- Li Chun-li, Zheng Kang-le. 1998. RAPD-based analysis for the QTLs related to plant height and heading date. Acta Genetica Sinica, 25 (1) : 34 – 39. (in Chinese)
- 李春丽, 郑康乐. 1998. 应用 RAPD 标记检测与水稻株高和抽穗期有关的 QTLs. 遗传学报, 25 (1) : 34 – 39.
- Li Hong-jian. 1993. Chinese chrysanthemum. Nanjing : Jiangsu Science and Technology Press. (in Chinese)
- 李鸿渐. 1993. 中国菊花. 南京 : 江苏科学技术出版社.
- Li Jin-hua, Su Xiao-hua, Zhang Qi-wen, Louis Zauffa. 1999. Detection of QTLs for growth and phenology traits of poplar using RAPD markers. Forest Research, 12 (2) : 111 – 117. (in Chinese)
- 李金花, 苏晓华, 张绮纹, Louis Zauffa. 1999. 用 RAPD 标记检测与杨树生长和物候期有关的 QTLs. 林业科学研究, 12 (2) : 111 – 117.
- Miao Heng-bin, Chen Fa-di, Zhao Hong-bo. 2007. Genetic relationship of 85 chrysanthemum [*Dendranthema* × *grandiflorum* (Ramat.) Kitamura] cultivars revealed by ISSR analysis. Acta Horticulturae Sinica, 34 (5) : 1243 – 1248. (in Chinese)
- 缪恒彬, 陈发棣, 赵宏波. 2007. 85 个大菊品种遗传关系的 ISSR 分析. 园艺学报, 34 (5) : 1243 – 1248.
- Murray M, Thompson W F. 1980. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. Nucleic Acids Res, 8 : 4321 – 4325.
- Oyant L H S, Crespel L, Rajapakse S, Zhang L, Foucher F. 2008. Genetic linkage maps of rose constructed with new microsatellite markers and locating QTL controlling flowering traits. Tree Genetics & Genomes, 4 : 11 – 23.
- Singh P S, Gutiérrez J A, Molina A, Urrea C, Gepts P. 1991. Genetic diversity in cultivated common bean : II Marker-base analysis of morphological and agronomic traits. Crop Science, 31 : 23 – 39.
- Su Xiao-hua, Li Jin-hua, Chen bo-wang, Zhang Qi-wen, Zhang Xiang-hua. 2000. Detection and identification of molecular markers associated with quantitative traits of leaf in poplar. Scientia Silvae Sinicae, 36 (1) : 33 – 36. (in Chinese)
- 苏晓华, 李金花, 陈伯望, 张绮纹, 张香华. 2000. 杨树叶片数量性状关联标记及其图谱定位研究. 林业科学, 36 (1) : 33 – 36.
- Yagi M, Onosaki T, Taneya M, Watanabe H, Yoshimura T, Yoshinari T, Ochiai Y, Shibata M. 2006. Construction of a genetic linkage map from the carnation by using RAPD and SSR markers and mapping quantitative trait loci (QTL) for resistance to bacterial wilt caused by *Burkholderia caryophylli*. J Japan Soc Hort Sci, 75 (2) : 166 – 172.
- Yin Wei-lun, Hu Jian-jun. 2005. Genetic linkage map construction and QTLs analysis in *Populus* spp. Beijing : China Environmental Science Press : 58 – 97. (in Chinese)
- 尹伟伦, 胡建军. 2005. 杨树遗传图谱构建与数量性状基因定位. 北京 : 中国环境科学出版社 : 58 – 97.
- Zhao Hong-bo. 2007. Phylogeny of tribe Anthemideae (Asteraceae) in east Asia and intergeneric cross between *Dendranthema* × *grandiflorum* (Ramat.) Kitam. and *Ajania pacifica* (Nakai) K. Bremer & Humphries [Ph. D. Dissertation]. Nanjing : Nanjing Agricultural University. (in Chinese)
- 赵宏波. 2007. 东亚春黄菊族系统演化及栽培菊花与矾菊属间杂交研究 [博士论文]. 南京 : 南京农业大学.
- Zhao Jing-yuan, Chen Fa-di, Teng Nian-jun, Chen Su-mei. 2009. Genetic analysis and RAPD marker of creeping habit in ground-cover chrysanthemum. Scientia Agricultura Sinica, 42 (2) : 734 – 741. (in Chinese)
- 赵静媛, 陈发棣, 滕年军, 陈素梅. 2009. 地被菊匍匐性的遗传分析与 RAPD 标记研究. 中国农业科学, 42 (2) : 734 – 741.
- Zou Lin-lin, Zhou Zun-chun, Dong Ying, Yan Xi-wu. 2008. Screening of the molecular markers related to quantitative traits of sea urchin by cDNA-AFLP. Fisheries Science, 27 (11) : 561 – 565. (in Chinese)
- 邹林林, 周遵春, 董颖, 闫喜武. 2008. 利用 cDNA-AFLP 技术筛选与海胆数量性状相关显著的分子标记. 水产科学, 27 (11) : 561 – 565.