

# 大粒裸燕麦 (*Avena nuda* L.) 遗传连锁图谱的构建

徐 微<sup>1,2</sup>, 张宗文<sup>1,3</sup>, 张恩来<sup>1,4</sup>, 吴 斌<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>中国农业科学院作物科学研究所, 北京 100081; <sup>2</sup>嘉兴学院生物与化学工程学院, 嘉兴 314001;

<sup>3</sup>国际生物多样性中心东亚办事处, 北京 100081; <sup>4</sup>云南省农业科学院生物技术与种质资源研究所, 昆明 650223)

**摘要:**以元蓼麦和 555 杂交得到的 281 个 F<sub>2</sub> 单株为作图群体, 利用 20 对 AFLP 引物、3 对 SSR 引物和 1 个穗型性状构建了一张大粒裸燕麦遗传连锁图。该图谱全长 1544.8 cM, 包含 19 个连锁群, 其上分布有 92 个 AFLP 标记、3 个 SSR 标记和 1 个穗型形态标记, 不同连锁群标记数为 2~14 个, 长度在 23.7~276.3 cM 之间, 平均长度为 81.3 cM, 标记间平均距离为 20.1 cM。穗型标记分离比符合 3:1, 11 个 AFLP 标记表现为偏分离, 偏分离比为 11.5%。该图谱符合遗传连锁框架图的要求, 为今后大粒裸燕麦的 QTL 定位、分子标记辅助育种和比较基因组学研究奠定基础。

**关键词:**大粒裸燕麦; 遗传连锁图谱; AFLP; SSR

## A Genetic Linkage Map for Naked Oat (*Avena nuda* L.)

XU Wei<sup>1,2</sup>, ZHANG Zong-wen<sup>1,3</sup>, ZHANG En-lai<sup>1,4</sup>, WU Bin<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081; <sup>2</sup>School of Biology and Chemical

Engineering, Jiaxing University, Jiaxing 314001; <sup>3</sup>Bioversity Office for East Asia, Beijing 100081; <sup>4</sup>Biotechnology and

Germplasm Resources Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650223)

**Abstract:** Based on 281 individual plants of F<sub>2</sub> population derived from a cross “Yuan Naked Oat” × “555”, a genetic linkage map for naked oat (*Avena nuda* L.) was constructed by 20 AFLP primer pairs, 3 SSR primer pairs, and 1 panicle type character. The map was 1544.8 cM in total length with 20.1 cM for the average distance between neighboring markers. 92 AFLP markers, 3 SSR markers, and 1 morphological trait were mapped on 19 linkage groups, which contained 2-14 markers and varied in size from 23.7 cM to 276.3 cM with an average of 81.3 cM. The segregation ratio of panicle type fitted to 3:1, and 11 AFLP markers demonstrated distorted segregation with the percentage of 11.5%. The results provided a framework of genetic linkage map for naked oat (*Avena nuda* L.), which was the theoretical basis for QTL mapping, molecular breeding, and comparative genomics in naked oat research.

**Key words:** *Avena nuda*; genetic linkage map; AFLP; SSR

燕麦 (*Avena* L.) 是世界上主要粮食作物之一, 当前全球基因库保存的燕麦种质资源达 130653 份, 在主要作物中居第 8 位<sup>[1]</sup>。世界上其他国家主要种植皮燕麦 (*A. sativa* L.), 而我国主要种植大粒裸燕麦 (*A. nuda* L.)<sup>[2]</sup>。中国国家种质库长期库中的燕麦资源有 3408 份<sup>[3]</sup>, 大多数是大粒裸燕麦, 其子粒作食用, 有降低血脂、控制血糖、减肥和美容的功能<sup>[4]</sup>。L. S. O'Donoghue 等<sup>[5]</sup> 和 P. J. Rayapati 等<sup>[6]</sup>

分别于 1992 年和 1994 年采用 RFLP 标记构建了二倍体燕麦遗传图谱, 为六倍体燕麦分子图谱的构建奠定基础。1995 年以 L. S. O'Donoghue 为首的研究小组首次完成了六倍体皮燕麦的分子连锁图谱, 标记数量至少覆盖了其基因组的 50%<sup>[7]</sup>。分子标记技术的迅速发展有力地推动了燕麦遗传图谱的研究, 国外学者陆续将 RAPD、STS、AFLP、SSR、SCAR 和 EST 等多种标记运用到皮燕麦遗传图谱的构建

收稿日期: 2012-10-20      修回日期: 2012-11-16      网络出版日期: 2013-06-07

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20130607.1740.018.html>

基金项目: 国家科技支撑计划项目 (2006BAD02B05-11); 国家燕麦产业技术体系 (nycytx-14)

第一作者 E-mail: xuwei@mail.jzhu.edu.cn

通信作者: 张宗文, 博士, 研究员, 研究方向为燕麦种质资源的保护与利用。E-mail: zongwenz@163.com

中<sup>[8-11]</sup>。S. Groh 等<sup>[12]</sup>将 2 张包含 AFLP 标记的“KO”图和“KM”图进行比较研究,通过共同的 AFLP 标记确定了同源连锁群。S. C. K. Milach 等<sup>[13]</sup>借助 RFLP 标记定位了皮燕麦的矮化基因。此外,皮燕麦的许多数量性状,如冠锈病抗性<sup>[14-15]</sup>、 $\beta$ -葡聚糖含量<sup>[16]</sup>、子粒油脂含量<sup>[17]</sup>、出粉率<sup>[18]</sup>等在遗传图谱的基础上也有所研究。大粒裸燕麦是燕麦属的 5 个栽培种之一,作为我国特有的类型,在全国燕麦种质资源目录内占 86.9%<sup>[2]</sup>,利用价值和开发潜力巨大,然而目前对其遗传图谱的相关研究却几乎是一项空白。本研究拟通过杂交  $F_2$  群体,利用 AFLP 和 SSR 标记构建一张大粒裸燕麦遗传连锁图谱,为今后大粒裸燕麦的分子标记辅助育种、QTL 定位、优异基因挖掘、基因克隆等工作奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

以元莠麦为母本、555 为父本,二者均取自中国农业科学院国家农作物种质库。其中元莠麦穗型为周散,555 穗型为周紧。2006 年在温室种植父母本,杂交收获  $F_1$  种子。2007 年在北京延庆县试验田种植  $F_1$ ,自交获得  $F_2$ ,最终选择 281 个  $F_2$  植株为作图群体。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 基因组 DNA 的提取** 采用改良的 CTAB 法提取 DNA<sup>[19]</sup>,提取液中加入 1%  $\beta$ -巯基乙醇和水溶性的 PVP,以防止植物组织中酚类的氧化;氯仿-异戊醇抽提 2 次;沉淀 DNA 用无水乙醇代替异丙醇,并同时加入 1/10 体积的 3 mol/L 醋酸钠。

**1.2.2 AFLP 分析** 采用分步法对模板 DNA 进行酶切和连接。用限制性内切酶 *EcoR* I 和 *Mse* I 对基因组 DNA 双酶切。酶切体系 20  $\mu$ L,包括 DNA 2  $\mu$ L, *EcoR* I (20 U/ $\mu$ L) 0.3  $\mu$ L, *Mse* I (10 U/ $\mu$ L) 0.5  $\mu$ L, 10  $\times$  *EcoR* I buffer 2.0  $\mu$ L, 100  $\times$  BSA 0.2  $\mu$ L, ddH<sub>2</sub>O 15.0  $\mu$ L,混匀 37  $^{\circ}$ C 水浴 7 h。连接体系 30  $\mu$ L,包括酶切产物 5  $\mu$ L, 10  $\times$  T<sub>4</sub> 连接酶 buffer 3.0  $\mu$ L, *EcoR* I 接头 (50 pmol/ $\mu$ L) 1.0  $\mu$ L, *Mse* I 接头 (50 pmol/ $\mu$ L) 1.0  $\mu$ L, T<sub>4</sub> 连接酶 (400 U/ $\mu$ L) 0.2  $\mu$ L, ddH<sub>2</sub>O 19.8  $\mu$ L,混匀后 16  $^{\circ}$ C 水浴过夜,65  $^{\circ}$ C 灭活 20 min, -20  $^{\circ}$ C 保存。

预扩增采用 E + 0/M + 0 引物组合,体系 20  $\mu$ L,包括 DNA 模板 3.0  $\mu$ L, 10  $\times$  PCR buffer (含  $Mg^{2+}$  15 mmol/L) 2.0  $\mu$ L, dNTP (各 10 mmol/L) 0.4  $\mu$ L, E00 引物 (10 pmol/ $\mu$ L) 1.0  $\mu$ L, M00 引物 (10 pmol/ $\mu$ L) 1.0  $\mu$ L, *Taq* 酶 (5 U/ $\mu$ L) 0.2  $\mu$ L, ddH<sub>2</sub>O 12.4  $\mu$ L。

混匀离心后用以下程序扩增:94  $^{\circ}$ C 预变性 4 min; 94  $^{\circ}$ C 变性 30 s, 56  $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72  $^{\circ}$ C 延伸 1 min (30 个循环); 72  $^{\circ}$ C 延伸 7 min; 4  $^{\circ}$ C 保存。预扩增产物稀释 20 倍后于 -20  $^{\circ}$ C 保存。

选择性扩增选用 E + 3/M + 3 引物组合。选扩体系 20  $\mu$ L,包括稀释的预扩增产物 3.0  $\mu$ L, 10  $\times$  PCR buffer (含  $Mg^{2+}$  15 mmol/L) 2.0  $\mu$ L,  $Mg^{2+}$  (10 mmol/L) 1.0  $\mu$ L, dNTP (各 10 mmol/L) 0.4  $\mu$ L, E00 引物 (10 pmol/ $\mu$ L) 1.2  $\mu$ L, M00 引物 (10 pmol/ $\mu$ L) 1.2  $\mu$ L, *Taq* 酶 (5 U/ $\mu$ L) 0.2  $\mu$ L, ddH<sub>2</sub>O 11.0  $\mu$ L。混匀离心后用以下程序扩增:94  $^{\circ}$ C 预变性 4 min; 94  $^{\circ}$ C 变性 30 s, 65  $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72  $^{\circ}$ C 延伸 1 min (每循环降低 0.7  $^{\circ}$ C, 12 个循环); 94  $^{\circ}$ C 变性 30 s, 56  $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72  $^{\circ}$ C 延伸 1 min (25 个循环); 72  $^{\circ}$ C 延伸 7 min; 4  $^{\circ}$ C 保存。

选择扩增后的样品中加入 5  $\mu$ L loading buffer (98% 甲酰胺; 10 mmol/L EDTA, pH 8.1; 0.25% 二甲苯青), 95  $^{\circ}$ C 变性 5 ~ 8 min, 然后迅速放入冰浴中冷却, 在 80 W 下用 5% 的聚丙烯酰胺凝胶电泳 90 min 左右, 至二甲苯青指示线距板底部约 1/3 处。银染检测扩增产物。

**1.2.3 SSR 分析** 对基因组 DNA 直接扩增,反应体系 20  $\mu$ L,包括 DNA 5.0  $\mu$ L,引物 (10 pmol/ $\mu$ L) 2.0  $\mu$ L, 10  $\times$  PCR buffer (含  $Mg^{2+}$  15 mmol/L) 2.0  $\mu$ L, dNTP (10 mmol/L each) 0.2  $\mu$ L, *Taq* 酶 (2.5 U/ $\mu$ L) 0.5  $\mu$ L, ddH<sub>2</sub>O 10.3  $\mu$ L。混匀离心后用以下程序扩增:94  $^{\circ}$ C 预变性 4 min; 94  $^{\circ}$ C 变性 30 s, 55  $^{\circ}$ C (退火温度依据具体引物而定) 退火 30 s, 72  $^{\circ}$ C 延伸 30 s (30 个循环); 72  $^{\circ}$ C 延伸 7 min; 4  $^{\circ}$ C 保存。聚丙烯酰胺凝胶电泳和银染检测同 AFLP 检测。

**1.2.4 遗传图谱的构建** 形态标记数据转化:田间调查单株穗型,与母本相同(周散)记为 D,与父本相同(周紧)记为 B。

分子标记数据转化:对于显性标记,若两亲本属于无带(母本)  $\times$  有带(父本)时,则用 A 表示无带, C 表示有带;若两亲本属于有带(母本)  $\times$  无带(父本)时,则用 B 表示无带, D 表示有带。对于共显性标记,与母本相同的带型记为 A,与父本相同的带型记为 B,杂合型记为 H。缺失的带型记为 - -。

遗传图谱构建:用 Mapmaker/exp V 3.0 软件进行图谱构建。首先按照 Mapmaker 要求的格式将 Excel 中的数据转换为文本文件。用 Prepare data 命令载入数据文件,用 Photo 命令保存运行命令。运行 Group 命令进行标记间的连锁分析 ( $LOD = 3.0$ , Max distance = 50)。当连锁标记数小于或等于 6

个时,用 Compare 命令进行排序;当标记数多于 6 个时,使用 Ripple 命令进行排序。运行 Map 命令确定标记间的图距(cM)。图距转换采用 Kosambi 函数。采用 MapDraw 软件绘制连锁图谱。

## 2 结果与分析

### 2.1 F<sub>2</sub>群体穗型分离结果

调查 281 个 F<sub>2</sub>单株的穗型,结果发现,有 200 个单株的穗型为周散,81 个单株的穗型为周紧。经卡方测验,该穗型标记未显著偏分离( $P=0.05$ ),分离比符合 3:1。

### 2.2 亲本间引物筛选及多态性

从 200 对 AFLP 引物组合中筛选出条带清晰、多态性好的 20 对引物组合用于图谱构建。利用该 20 对引物组合对 F<sub>2</sub>群体扩增,共得到 99 条多态性条带,每对引物扩增出 3~7 条差异带(表 1)。从 20 对 SSR 引物中筛选到 3 对引物有多态性,对 F<sub>2</sub>群体扩增均得到 1 个多态性位点。

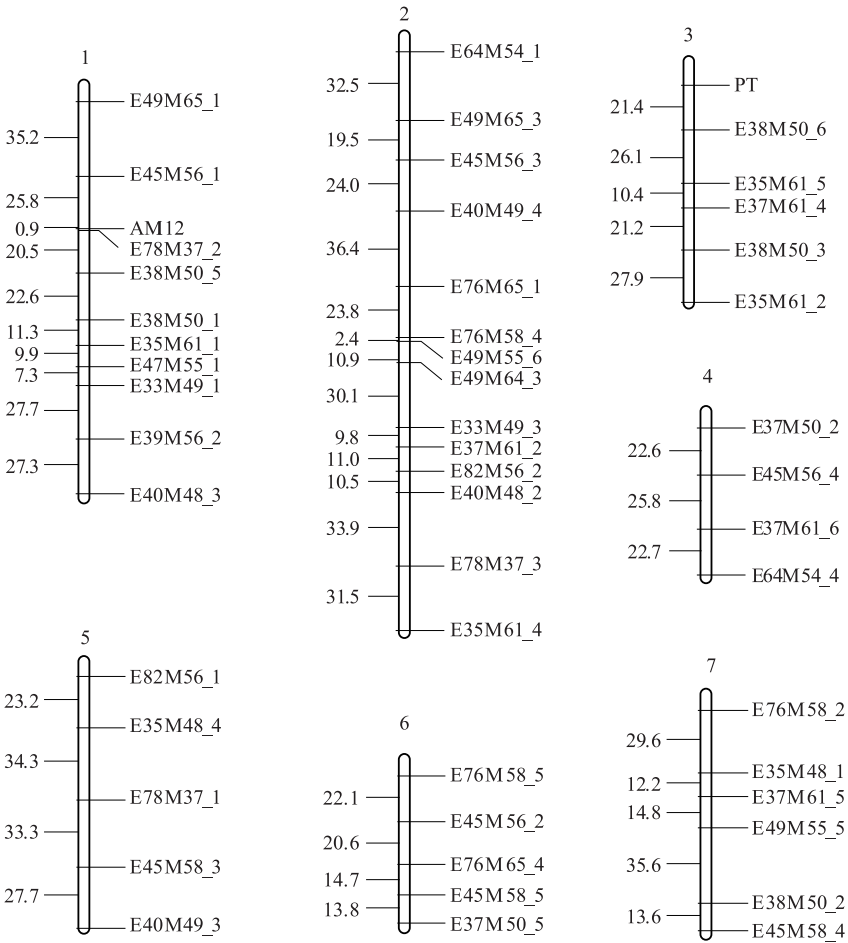
### 2.3 遗传连锁图谱的构建

用 Mapmarker 3.0 软件绘制遗传连锁图,103 个标记(99 个 AFLP 标记、3 个 SSR 标记和 1 个形态标

记)中有 7 个 AFLP 标记没连锁上,其余 96 个标记构成 19 个连锁群。2 号连锁群标记最多,共 14 个;19 号连锁群标记最少,只有 2 个。每条连锁群长度在 23.7~276.3 cM 之间,平均为 81.3 cM。该图谱全长 1544.8 cM,标记间平均距离为 20.1 cM。表示穗型的形态标记(PT)被定位在 3 号连锁群(图 1)。

表 1 20 对 AFLP 引物组合对 F<sub>2</sub>代的扩增结果  
Table 1 Amplification results to F<sub>2</sub> population by 20 AFLP primer combinations

引物组合 Primer combination	多态性位点数 No. of polymorphic loci	引物组合 Primer combination	多态性位点数 No. of polymorphic loci
E33M49	4	E45M58	6
E35M48	5	E47M55	4
E35M61	5	E49M55	6
E37M50	6	E49M64	4
E37M61	6	E49M65	5
E38M50	6	E64M54	7
E39M56	6	E76M58	5
E40M48	4	E76M65	5
E40M49	4	E78M37	4
E45M56	4	E82M56	3



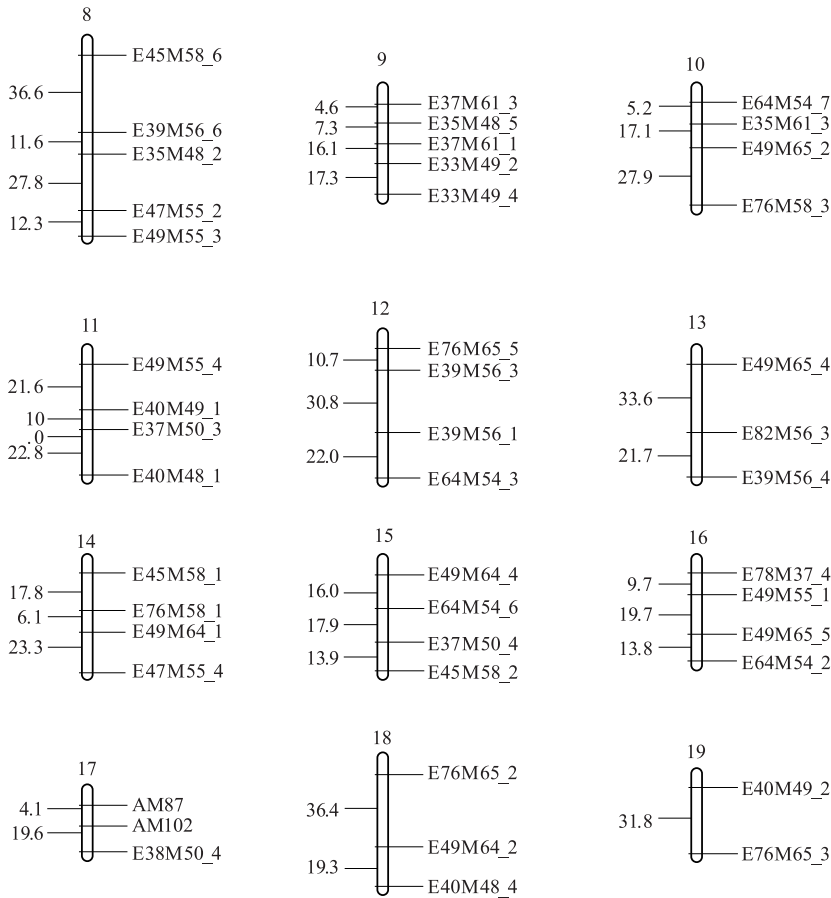


图 1 大粒裸燕麦遗传连锁图谱

Fig. 1 Genetic linkage map of *Avena nuda*

2.4 标记的偏分离

定位在 19 个连锁群上的 96 个标记中,81 个 AFLP 标记,3 个 SSR 标记及 1 个形态标记均符合孟德尔分离比;11 个 AFLP 标记表现为显著偏分离 ( $P=0.05$ ),偏分离比例为 11.5%,2 个偏分离标记在 3 号连锁群,其余 9 个在 5、6、9、10、11、14、16、17、19 号连锁群各分布 1 个(表 2)。

表 2 偏分离标记在连锁群上的分布

Table 2 Distribution of distorted segregation markers on linkage groups

标记名称 Marker	定位连锁群 No. of linkage group	基因型比例 Genotype ratio	$\chi^2$ Chi-square
E35M61_2	3	B: D = 51: 226	6. 413
E38M50_6	3	A: C = 53: 219	4. 412
E45M58_3	5	A: C = 55: 225	4. 286
E45M56_2	6	B: D = 55: 222	3. 910
E37M61_3	9	A: C = 55: 226	4. 414
E35M61_3	10	B: D = 55: 223	4. 034
E49M55_4	11	B: D = 55: 225	4. 286
E45M58_1	14	B: D = 55: 226	4. 414
E78M37_4	16	A: C = 52: 229	6. 322
E38M50_4	17	A: C = 52: 217	4. 611
E76M65_3	19	B: D = 54: 224	4. 610

3 讨论

3.1 遗传连锁图谱的构建

通常一个基本的连锁框架图要求标记间平均距离在 20 cM 左右;若要进行基因定位,则要求标记的平均间隔在 10 ~ 20 cM 或更小;若要用于 QTL 定位,其平均距离须在 10 cM 以下。本研究利用  $F_2$  群体构建了一张包含 96 个标记的大粒裸燕麦遗传连锁图谱,标记间平均距离为 20.1 cM,因此构建的图谱符合基本框架图的要求。然而,大粒裸燕麦属异源六倍体,单倍体的染色体数目为  $n=3X=21$ ,相对于其庞大的基因组,本研究使用的标记种类和数量还不够丰富,19 个连锁群未能覆盖到其每条染色体,许多连锁群的长度有限,一些标记间仍存在较大间隙,因此在今后的研究工作中还需要增加标记的种类和数量,以构建较丰满的大粒裸燕麦遗传连锁图,为基因及数量性状定位奠定基础。

3.2 作图群体对图谱精度的影响

分离群体包括暂时性分离群体(如  $F_2$ 、 $F_3$ 、 $F_4$ 、BC 和三交群体)和永久性分离群体(如 RI 和 DH)。



本研究选用  $F_2$  为作图群体,因其建立难度小,且周期短,但  $F_2$  群体不易长期保存,有性繁殖 1 代后,群体的遗传结构就会发生变化,很难对其进行连续性研究。此外, $F_2$  群体由单株组成,存在杂合基因型,而本研究中广泛使用的 AFLP 标记是显性,无法分辨出显性纯合基因型和杂合基因型,因此作图的精度可能会受到影响。作图群体的大小通常根据研究目标确定,构建骨架连锁图可基于大群体中的一个随机小群体(如 150 个单株或家系)。本研究的作图群体较大,包含了 281 个  $F_2$  单株,一方面是由于  $F_2$  群体的作图效率比 RI、BC1 和 DH 群体都低,为了达到彼此相当的作图精度,需适当扩大群体;另一方面,大群体也可以适当弥补显性标记对作图精度的影响。

### 3.3 穗型连锁遗传特点

本研究构建的图谱包含 1 个穗型形态形状标记,经卡方测验,未显著偏分离( $P = 0.05$ ),周散和周紧的性状分离比符合 3:1。由此结果初步推断,裸燕麦的散紧穗型性状可能由 1 对显隐性基因控制,周散穗型由显性基因控制,周紧穗型由隐性基因控制,属于典型的孟德尔遗传。连锁图谱显示,表示穗型的形态标记(PT)被定位在 3 号连锁群,与 E38M50\_6 这一 AFLP 标记距离 21.4 cM,在今后的研究工作中,可进一步分析 E38M50 这对引物组合与穗型标记的连锁关系。此外,由于 E38M50\_6 与 PT 标记仍距离较远,因此有必要继续筛选能够定位在 3 号连锁群上的引物,以饱和连锁群,填补 PT 与 E38M50\_6 之间的空隙,找到与裸燕麦穗型性状紧密连锁的分子标记。

### 3.4 标记的偏分离

偏分离普遍存在于作图群体中,其原因主要由配子体和孢子体选择引起<sup>[20]</sup>,另外可能的原因还有遗传搭车效应、染色体丢失、非同源重组、转座子、基因转换等,作图群体亲本少数位点的不完全纯合也是重要因素之一。V. A. Portyanko 等<sup>[8]</sup>利用 136 个 RIL 群体构建皮燕麦的遗传连锁图谱,发现有 13% 的标记偏分离;S. Zhu 等<sup>[9]</sup>在构建燕麦“OM”遗传连锁图时,观察到 9% 的偏分离标记。本研究中定位的 96 个标记中共有 11 个表现为显著偏分离( $P = 0.05$ ),比例为 11.5%,与 V. A. Portyanko 等<sup>[8]</sup>及 S. Zhu 等<sup>[9]</sup>的研究结果近似。此外,偏分离还受群体类型的影响,通常在远缘杂交组合的分离群体及 DH 和 RI 群体中表现更为明显。P. Tanhuanpaa 等<sup>[21]</sup>构建了第 1 张 DH 群体的皮燕麦遗传图谱,发

现偏分离标记超过 50%,显著高于其他群体。一些研究表明,偏分离标记并非随机分布,而是成簇地分布于染色体的某些区域,这些热点区域很可能存在与偏分离有关的基因。本研究中的 11 个偏分离标记分别被定位在 10 个连锁群上,分布分散,并未形成所谓“热点区”。这可能与定位标记数量少,间隙大,分布不均匀等因素有关。

### 3.5 标记种类对遗传连锁图谱的影响

RFLP 标记被最早用于作物的遗传图谱构建,但操作复杂,成本高,使用有一定局限性。随着分子标记的飞速发展,更多类型的标记被整合到连锁图上,不同种类的标记结合使用,往往能够取长补短,对图谱的完善起到重要作用。AFLP 标记多态性信息含量高,被认为是快速饱和框架遗传图谱的手段之一。S. Zhu 等<sup>[9]</sup>将包含多种标记的“OM”燕麦遗传连锁图与 L. S. O'Donoghue<sup>[7]</sup>的“KO”图进行同源比较,发现 AFLP 标记的加入使许多连锁群的长度得到扩展,个别连锁群的长度甚至增加了 1 倍。然而,由于其标记片段的染色体位置不能预知,因此若单独使用 AFLP 标记构图,则无法确认标记连锁群所属的染色体。SSR 标记的出现提供了可行的解决方法。以染色体位置预知的 SSR 标记为标杆,可将与之连锁的 AFLP 标记固定到某一确定的染色体上,因此将二者相结合可以快速有效地构建相对理想的遗传图谱<sup>[22]</sup>。本研究只使用了 3 对 SSR 引物,主要原因在于目前世界上开发出的燕麦 SSR 标记数量太少,远远不能满足构建饱和连锁图的要求,加之燕麦基因组本身较大,因此不仅仅是构建覆盖整个基因组的图谱有难度,将连锁群与 21 条染色体对应起来也依然很困难<sup>[23]</sup>。这一问题的解决还有待于大量燕麦 SSR 标记的开发<sup>[24]</sup>。

### 参考文献

- [1] 王述民,张宗文. 世界粮食和农业植物遗传资源保护与利用现状[J]. 植物遗传资源学报,2011,12(3):325-338
- [2] 郑殿升,张宗文. 大粒裸燕麦(莜麦)(*Avena nuda* L.)起源及分类问题的探讨[J]. 植物遗传资源学报,2011,12(5):667-670
- [3] 王述民,李立会,黎裕,等. 中国粮食和农业植物遗传资源状况报告(I)[J]. 植物遗传资源学报,2011,12(1):1-12
- [4] 郑殿升,吕耀昌,田长叶,等. 中国裸燕麦  $\beta$ -葡聚糖含量的鉴定研究[J]. 植物遗传资源学报,2006,7(1):54-58
- [5] O'Donoghue L S, Wang Z, Roder M, et al. An RFLP-based linkage map of oat based on a cross between two diploid taxa (*Avena atlantica*  $\times$  *A. hirtula*) [J]. Genome, 1992, 35(5):765-771
- [6] Rayapati P J, Gregory J W, Lee M, et al. A linkage map of diploid *Avena* based on RFLP loci and a locus conferring resistance to nine isolates of *Puccinia coronata* var. *avenae* [J]. Theor Appl Genet, 1994, 89(7-8):831-837

- [7] O'Donoghue L S, Kianian S F, Rayapati P J, et al. A molecular linkage map of cultivated oat [J]. *Genome*, 1995, 38 (2): 368-380
- [8] Portyanko V A, Hoffman D, Lee M, et al. A linkage map of hexaploid oat based on grass anchor DNA clones and its relationship to other oat maps [J]. *Genome*, 2001, 44 (2): 249-265
- [9] Zhu S, Kaeppler H F. A genetic linkage map for hexaploid, cultivated oat (*Avena sativa* L.) based on an intraspecific cross 'Ogle/MAM17-5' [J]. *Theor Appl Genet*, 2003, 107 (1): 26-35
- [10] De Koeyer D L. A molecular linkage map with associated QTLs from a hullless x covered spring oat population [J]. *Theor Appl Genet*, 2004, 108 (7): 1285-1298
- [11] Becher R. EST-derived microsatellites as a rich source of molecular markers for oats [J]. *Plant Breeding*, 2007, 126 (3): 274-278
- [12] Groh S, Zacharias A, Kianian S F, et al. Comparative AFLP mapping in two hexaploid oat populations [J]. *Theor Appl Genet*, 2001, 102 (6-7): 876-884
- [13] Milach S C K, Rines H W, Phillips R L. Molecular genetic mapping of dwarfing genes in oat [J]. *Theor Appl Genet*, 1997, 95: 783-790
- [14] Portyanko V A, Chen G, Rines H W, et al. Quantitative trait loci for partial resistance to crown rust, *Puccinia coronata*, in cultivated oat, *Avena sativa* L. [J]. *Theor Appl Genet*, 2005, 112 (1): 313-324
- [15] Jackson E W, Obert D E, Menz M, et al. Qualitative and quantitative trait loci conditioning resistance to *Puccinia coronata* pathotypes NQMG and LGCG in the oat (*Avena sativa* L.) cultivars Ogle and TAM O-301 [J]. *Theor Appl Genet*, 2008, 116 (4): 517-527
- [16] Kianian S F, Phillips R L, Rines H W, et al. Quantitative trait loci influencing  $\beta$ -glucan content in oat (*Avena sativa*,  $2n = 6x = 42$ ) [J]. *Theor Appl Genet*, 2000, 101 (7): 1039-1048
- [17] Kianian S F, Egli M A, Phillips R L, et al. Association of a major groat oil content QTL and an acetyl-CoA carboxylase gene in oat [J]. *Theor Appl Genet*, 1999, 98 (6-7): 884-894
- [18] Groh S, Kianian S F, Phillips R L, et al. Analysis of factors influencing milling yield and their association to other traits by QTL analysis in two hexaploid oat populations [J]. *Theor Appl Genet*, 2001, 103 (1): 9-18
- [19] Lyth T W. Segregation distorters [J]. *Annual Review of Genetics*, 1991, 25: 511-557
- [20] Tanhuanpaa P, Kalendar R, Schulman A H, et al. The first doubled haploid linkage map for cultivated oat [J]. *Genome*, 2008, 51 (8): 560-569
- [21] 兰进好, 张宝石. 玉米分子遗传图谱的 SSR 和 AFLP 标记构建 [J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2004, 32 (12): 28-37
- [22] Barbosa I M M, Federizzi L C, Sandra C K, et al. Molecular mapping and identification of QTL's associated to oat crown rust partial resistance [J]. *Euphytica*, 2006, 150 (1-2): 257-269
- [23] Wu B, Lu P, Zhang Z W. Recombinant microsatellite amplification: a rapid method for developing simple sequence repeat markers [J]. *Mol Breeding*, 2012, 29 (1): 53-59

(上接第 658 页)

- [8] Julio E, Verrier J L, Dorlhac de Borne F. Development of SCAR markers linked to three disease resistances based on AFLP within *Nicotiana tabacum* L. [J]. Theor Appl Genet, 2006, 112: 335-346
- [9] 杨本超, 肖炳光, 陈学军, 等. 基于 ISSR 标记的烤烟种质遗传多样性研究[J]. 遗传, 2005, 27(5): 753-758
- [10] 肖炳光, 杨本超, 石春海, 等. 利用 ISSR 标记分析烟草种质的遗传多样性[J]. 中国农业科学, 2007, 40(10): 2153-2161
- [11] 祁建民, 王涛, 陈顺辉, 等. 部分烟草种质遗传多样性与亲缘关系的 ISSR 标记分析[J]. 作物学报, 2006, 32(3): 373-378
- [12] 杨友才, 周清明, 尹晗琪. 利用 RAPD 和 AFLP 标记分析烟草种质资源的遗传多样性[J]. 农业生物技术学报, 2006(14): 585-593
- [13] Rossi L, Bindler G, Pijenburg H, et al. Potential of molecular marker analysis for variety identification in processed tobacco [J]. Plant Var Seeds, 2001, 14: 89-101
- [14] Bindler G, Van der Hoeven R, Gunduz I, et al. A microsatellite marker based linkage map of tobacco [J]. Theor Appl Genet, 2007, 114: 341-349
- [15] Moon H S, Nicholson J S, Lewis R S. Use of transferable *Nicotiana tabacum* L. microsatellite markers for investigating genetic diversity in the genus *Nicotiana* [J]. Genome, 2008, 51: 547-559
- [16] Moon H S, Nicholson J S, Heineman A, et al. Changes in genetics [17] Moon H S, Nifong J M, Nicholson J S, et al. Microsatellite-based analysis of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) genetic resources [J]. Crop Sci, 2009, 49: 2149-2159
- [18] Tong Z J, Jiao T L, Wang F Q, et al. Mapping of quantitative trait loci conferring resistance to brown spot in flue-cured tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) [J]. Plant Breeding, 2012, 131: 335-339
- [19] Tong Z J, Yang Z M, Chen X J, et al. Large-scale development of microsatellite markers in *Nicotiana tabacum* and construction of a genetic map of flue-cured tobacco [J]. Plant Breeding, 2012, 131: 674-680
- [20] De Riek J E, Calsyn I, Everaert E, et al. AFLP based alternatives for the assessment of distinctness, uniformity and stability of sugar beet varieties [J]. Theor Appl Genet, 2001, 103: 1254-1265
- [21] 许绍斌, 陶玉芬, 杨昭庆, 等. 简单快速的 DNA 银染和胶保存方法[J]. 农业生物技术学报, 2007(12): 183-187
- [22] Nei M, Li W H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases [J]. PNAS, 1979, 76: 5269-5273
- [23] Rohlf F J. NTSYSpc numerical taxonomy and multivariate analysis system (Version 2.0) [M]. New York: Applied Biostatistics Inc, 1998