

文章编号: 1001-1498(2003)05-0595-09

毛新杨 × 毛白杨 AFLP 分子遗传图谱*

张蕴哲¹, 刘红霞², 邬荣领³, 李明亮¹, 胡建军¹, 尹伟伦², 韩一凡¹

(1. 中国林业科学研究院林业研究所, 北京 100091; 2. 北京林业大学, 北京 100083;

3. Department of Statistics, 533 McCarty Hall C, University of Florida, Gainesville, FL 32611, USA)

摘要:利用毛新杨 × 毛白杨的杂交群体构建了毛新杨 × 毛白杨的 AFLP 分子遗传图谱, 这个群体对杨树溃疡病的抗性是正态分布。本实验使用 AFLP 分子标记技术对这一构图群体进行了分析, 共选用了 19 对 PstI/MseI 引物和 4 对 EcoRI/MseI 引物, 得到标记 662 个, 其中 3 1 标记占 43.2%, 异倍标记占 14.5%, 偏分离标记 ($P < 0.05$) 占 48.8%。在双亲整合的图谱中, 239 个标记形成 22 个含 4 个以上标记的连锁群, 总图距 4 418 cM, 标记间的平均图距是 18.5 cM。图中还有 8 个重复位点和 7 个只与连锁群中的某一个标记连锁, 但却无法加入这一连锁群的标记, 这可能是由染色体的同源性造成的。此外还得到 15 个属于双亲共有的只有 2~3 个标记的小连锁群, 13 个父本独有的连锁群和 21 个母本独有的连锁群。

关键词: AFLP; 遗传图谱; 毛白杨; 毛新杨

中图分类号: S792.11 **文献标识码:** A

遗传图谱的构建在引入 DNA 分子标记后取得了重大进展, 成为遗传学领域的研究热点之一。杨树作为一种重要的工业用材树种和模式植物, 得到了广泛的研究, 现已获得了几张不同杨树群体的遗传图谱。1994 年建立美洲黑杨 (*Populus deltoids* Marsh) × 毛果杨 (*P. trichocarpa* Torr & Gray) F_2 群体的遗传图谱, 图中有 RFLP、RAPD、STS 三类标记 343 个, 毛果杨的致死基因造成一些标记偏离正常的分离比例, Bradshaw 等^[1~4]用这张图谱进行了树干生长、干形、树叶萌发和叶片变异等 QTLs 的定位研究。Frewen 等^[5]用美洲黑杨 × 毛果杨的 F_2 群体构建了有 AFLP 和微卫星标记的遗传图谱, 用以研究控制花芽发生时间和萌发时间的 QTLs。他们采集了位于不同地点的相同无性系数数据进行分析, 定位了 3 个控制花形成、6 个控制花萌发的 QTLs, 2 个候选基因 PHYB2 (参与光周期) 和 ABI1B (参加脱落酸信号反应) 在图谱上与这些 QTLs 一致。

苏晓华等^[6]用 3 代群体构建了美洲黑杨 × 青杨 (*P. cathayana* Rehd.) 的含有 110 个 RAPD 标记的图谱, 总图距覆盖基因组总长度的 70.35%。尹佟明等^[7]利用 RAPD 标记响叶杨 (*P. adenopoda* Maxim.) × 银白杨 (*P. alba* L.) 的 F_1 群体, 按拟测交的作图策略, 分别构建了响叶杨

收稿日期: 2002-07-02

基金项目: 国家农业新技术引进项目“杨树抗病虫害育种新技术引进”(96-4-24)的部分内容

作者简介: 张蕴哲(1976—)女, 江苏苏州人, 硕士。

* 致谢: 本文得到北京林业大学沈瑞祥和杨旺教授的指导, 中国林业科学研究院林研所李玲、李淑梅、周银莲 3 位老师的帮助, 在此一并表示感谢!

和银白杨的分子标记连锁图谱。利用多点连锁分析,银白杨中有189个连锁标记构成了20个不同的连锁群(4个以上),6个三连体和16个连锁对,总图距2402.4 cM。响叶杨有41个连锁标记,分属2个连锁群,总图距为479.4 cM。张新叶等^[8]利用RAPD标记和美洲黑杨×欧美杨(*P. euramericana* (Dode) Guinier)的F₁群体构建了美洲黑杨×欧美杨的分子标记图谱,241个标记形成19个连锁群,6个三连体和14个连锁对。19个连锁群共含标记129个,图距1914.2 cM。邬荣邻等^[9]利用美洲黑杨回交群体先分别构建了两个亲本的AFLP分子标记连锁图谱,并以异倍标记为桥梁,将两张图整合为一张,这张图包括总图距为2927 cM的19个主要连锁群和24个小连锁群,主要连锁群有198个AFLP标记。房建军等^[10]将甙类次生代谢产物和抗光肩星天牛(*Anoplophora glabripennis* Motsch.)的QTLs定位在这张图上。

杨树溃疡病是杨树的一种重要病害,病原菌为*Dothiorella gregaria* Sacc.。这种病原菌侵入树体后,是否继续进行扩展,并表现出症状,取决于树木的抗病性,不同杨树对杨树溃疡病的抗性不同^[11]。目前,对于造成这种抗性差异的机制还不完全清楚,本文利用AFLP标记构建遗传图谱将有利于了解抗病的分子机理,也使育种的早期筛选成为可能。

1 材料与方法

1.1 材料

材料为毛新杨(*P. tomentosa* Carr × *P. alba* L. var. *pyramidalis* Bge) × 毛白杨(*P. tomentosa* Carr.)的杂交群体,共有子1代个体73株。母本毛新杨是我国20世纪50年代徐纬英研究员培育的毛白杨×新疆杨(*P. alba* L. var. *pyramidalis* Bge.)的杂交种,对溃疡病有中等程度的抗性,父本毛白杨为鲁毛50,对溃疡病有很强的抗性,这一性状在子1代中发生分离。

1.2 总DNA的提取和纯化

采用CTAB法提取总DNA^[12]。DNA纯化采用博大科技公司(BioDev)的DNA快速纯化回收试剂盒,实验过程依据其产品说明进行。

1.3 AFLP分析

按照Vos P.等^[13]人的方法进行分析。用EcoRI/MseI(E/M)酶切总DNA,其后的连接、预扩增和选择扩增都按照GIBCOBRL公司的AFLP分析系统使用说明进行,共使用4对引物(表1)。再使用PstI/MseI(P/M)酶切总DNA,酶联后的反应液稀释10倍,作为预扩增的模板。共用了4对引物(P+A/M+A、P+A/M+G、P+C/M+A、P+C/M+G)进行预扩增的PCR反应,反应条件为:94℃,30 s;60℃,60 s;72℃,60 s,25个循环(Perkin-Elmer 9600PCR仪,下同)。预扩增产物稀释100倍后作为选择扩增的PCR反应模板。选择扩增共用19对引物(表2),反应分为两步:(1)梯度降温扩增:第一个循环为94℃,30 s;65℃,30 s;72℃,60 s。以后每个循环的退火温度依次降低0.7℃,共13个循环。(2)普通扩增:94℃,30 s;56℃,30 s;72℃,60 s;23个循环。

P-接头: 5'-CTC GTA GAC TGC GTA CAT GCA-3'

3'-CAT CTG ACG CAT GT-5'

M-接头: 5'-GAC GAT GAG TCC TGA G-3'

3'-TA CTC AGG ACT CAT-5'

预扩增引物:

P + A :5 - GAC TGC GTA CAT GCA GA-3 P + C :5 - GAC TGC GTA CAT GCA GC-3
 M + A :5 - GAT GAG TCC TGA GTA AA-3 M + G :5 - GAT GAG TCC TGA GTA AG-3

表 1 EcoRI/ MseI 酶切组合中所使用引物的序号及选择碱基

EcoRI1	EcoRI2	MseI3	MseI4	MseI6	MseI8
AAC	AAG	CAG	CAT	CTC	CTT

表 2 PstI/ MseI 酶切组合中所使用引物的序号及选择碱基

PstI1	PstI2	PstI3	PstI4	MseI1	MseI2	MseI3	MseI5	MseI9	MseI10
AAC	ACC	CAA	CCT	GAA	ACA	ACC	GCC	GCA	GCG

1.4 电泳及检测

用 6% 变性聚丙烯酰胺凝胶(丙烯酰胺 N,N-亚甲双丙烯酰胺 = 19 1),在伯乐 DNA 测序仪上进行电泳。功率是 50 W,3.5 h。上样量为 4 $\mu\text{L} \cdot \text{次}^{-1}$ 。采用银染法进行检测。银染所用试剂是 Bioneer 公司银染试剂盒,实验过程按照用户使用说明进行。

1.5 构建遗传图谱

首先进行方差分析($P < 0.05$),判断标记是否符合孟德尔规律。然后使用 Mapmaker 3.0 软件在 LOD 3.0,最大图距为 37.2 cM(根据 Kosambi 函数将重组率转换成图距单位 cM)的条件下,构建父本图谱^[14,15]。Mapmaker 3.0 软件是一种连锁分析软件,用于构建杂交试验中发生分离的标记的连锁遗传图谱,它可以对显性、隐形和共显性标记进行多点连锁分析,即同时估计所有数据间的连锁关系。具体过程如下:

对所有标记使用“group”命令,进行两点分析,以推测可能有的连锁群;然后用“compare”命令计算指定序列的最大拟然值,找出标记的最佳顺序,当某一顺序的 LOD 值比其它顺序的 LOD 值至少大 1.0 时,这一序列被确定下来;用“build”命令尝试将不连锁的标记加入各小组;并用“ripple”命令对序列进行细微的调整,得到父本的图谱。对用于构建母本毛新杨图谱的所有标记也在 LOD 3.0,最大图距为 37.2 cM 的条件下使用“group”命令。发现与父本图谱中的标记绝大部分相同,于是将不相同部分的标记加到父本的数据中,构成综合数据,用“build”命令尝试将新加入的数据插入已有的连锁群,对剩下的标记使用“compare”和“ripple”命令,寻找存在的连锁群。最后得到两个亲本的通用图谱。

2 结果与分析

2.1 标记的多态型

实验使用了 23 对引物,PstI/MseI 引物 19 对,EcoRI/MseI 引物 4 对,共得到标记 662 个(图 1)。其中 19 对 PstI/MseI 引物得到 484 个标记,平均每对组合产生 25.5 个。EcoRI/MseI 引物平均每对组合产生标记 45.5 个,共 178 个。

把符合孟德尔规律的标记分为 4 类,3:1 标记(“a”),异倍标记(“b”)^[16],属于母本的 1:1 标记(“c”)和属于父本的 1:1 标记(“e”)。偏分离标记占总数的 48.8%,3:1 标记占 43.2%。用 PstI/MseI 引物得到的 c 类标记(27.9%)多于 e 类标记(20.5%),而用 EcoRI/MseI 引物得到的 c 类标记(4.5%)少于 e 类标记(21.3%)。实验分别采用两种 6 个碱基识别位点的内切酶进

行酶切,使标记在两个亲本间的分布更均匀。

2.2 AFLP 分子遗传图谱

用 Mapmaker 3.0 软件分别用“group”命令处理两亲本的数据,发现能够连锁在一起组成图谱的标记绝大多数是相同的,所以只对父本毛白杨的数据进行了进一步的分析,得到各个连锁群,再将母本独有的标记用“build”命令加入。这样得到了含4个以上(包括4个)标记的22个连锁群,共有标记239个,总图距4418 cM,标记间的平均距离是18.5 cM(图2)。其中最大的连锁群(LG1)有26个标记,图距为553 cM。LG13 标记最密集,平均距离6.7 cM。此外还得到15个属于双亲共有的只有2~3个标记的小连锁群,13个父本独有的连锁群和21个母本独有的连锁群(未列出)。没有发现 PstI 酶切与 EcoRI 酶切所得标记分布不均匀的情况,也没有发现同一引物组合产生的标记相聚集的情况^[9]。

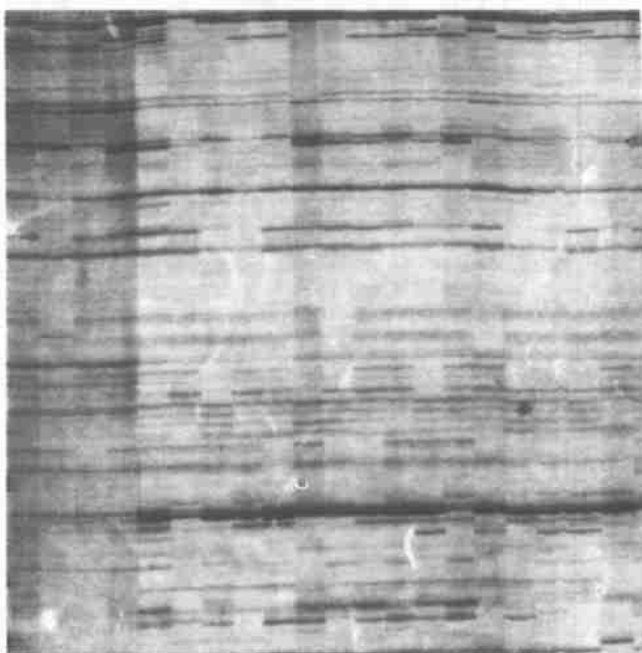


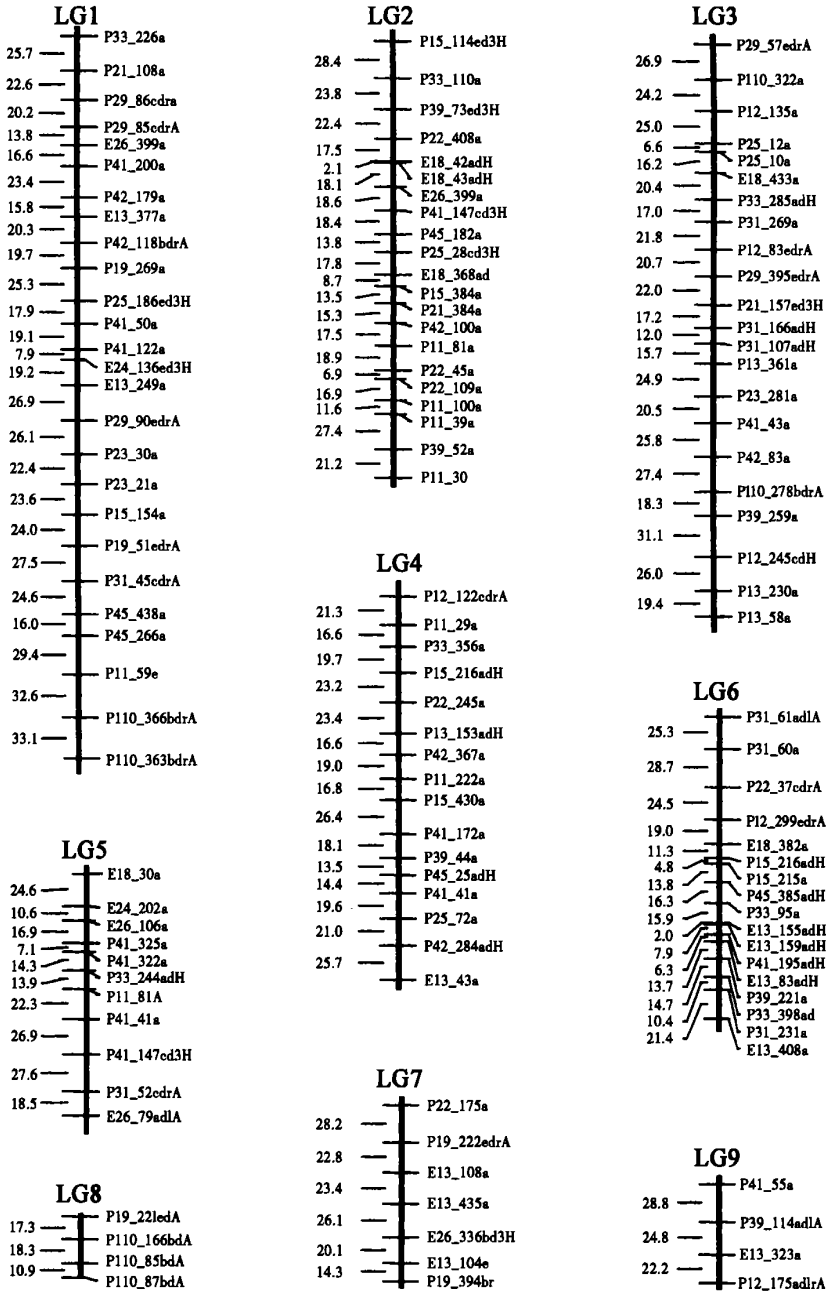
图1 变性聚丙烯酰胺凝胶银染结果

3 讨论

(1)3:1 标记 实验中所得到的3:1标记比例很高,这可能与构图群体有关。有报道说^[17]毛白杨是天然的杂交种,北方型毛白杨的亲本是银白杨和山杨(*P. dividiata* Dodo),所以毛白杨可能有大量的 A_0 基因型(o 表示不存在A的等位基因),这与双假测交的原理相同。因为新疆杨是银白杨的变种,毛白杨和新疆杨的杂交种毛新杨的基因型是 A_0 或AA的可能性很大,再与毛白杨杂交就会遇到 $A_0 \times A_0$ 或 $AA \times A_0$ 的情况, $A_0 \times A_0$ 时子代中有带与无带的比例为3:1,而 $AA \times A_0$ 时所有子代均有带,不能作为标记,所以实验中所得到的3:1标记比例很高。

(2)异倍标记 b类标记(双亲无带,而子代中呈1:1分离)报道不多,但在美洲黑杨 \times 欧美杨的RAPD图谱和美洲黑杨回交群体的AFLP图谱中有报道^[8,9]。张新叶等^[8]认为这是由多等位基因引起的。在本研究中出现两亲本均无带,而子代1:1分离;或两亲本均有带,而子代也是1:1分离。假设在1个基因位点上存在2个不同的等位基因 a_1 、 a_2 ,基因型 a_1a_1 和 a_2a_2 在电泳中谱带相同,而基因型 a_1a_2 的谱带因为产生异螺旋而不同于 a_1a_1 和 a_2a_2 ^[16]。这样 $a_1a_2 \times a_1a_2$ 在双亲中只表现出1条谱带,但子代中 a_1a_1 a_2a_2 a_1a_2 成1:1:2分离,并出现2条谱带,分离比均为1:1。本研究的构图群体虽然是毛新杨 \times 毛白杨的 F_1 代群体,但双亲都是杂合体,遗传基础复杂,双亲之间的亲缘关系却很近,所以这个群体可以说是遗传基础复杂的近缘杂交群体。在这样的群体中,出现会产生异螺旋的等位基因的可能性较大,这也许是产生b类标记较多的原因。在3:1标记中,那些发生严重的偏分离,分离比符合1:1的标记,可能属于异倍标

记,但因为无法与其它因素造成的偏分离标记相区分,所以没有和 b 类合并。



注:连锁群左边数字为图距,单位为 cM;右边为标记名称。名称中“-”左边为所用的引物组合:“P”、“E”分别代表由 P/M 或 E/M 酶切;第一个数字代表 P 或 E 引物的序号,第二个数字代表 M 引物的序号。“-”右边的数字为标记的长度,单位是 bp;a、b、c、e 代表标记的种类,如 2.1 中所述;d 代表偏分离,其后可能有数字“1”或“3”,分别代表分离比是 1:1 或 3:1 分离;r 代表标记间为相斥相,A、H 分别代表标记向隐性偏离或显性偏离。

图 2 毛新杨 ×毛白杨 AFLP 分子遗传图谱

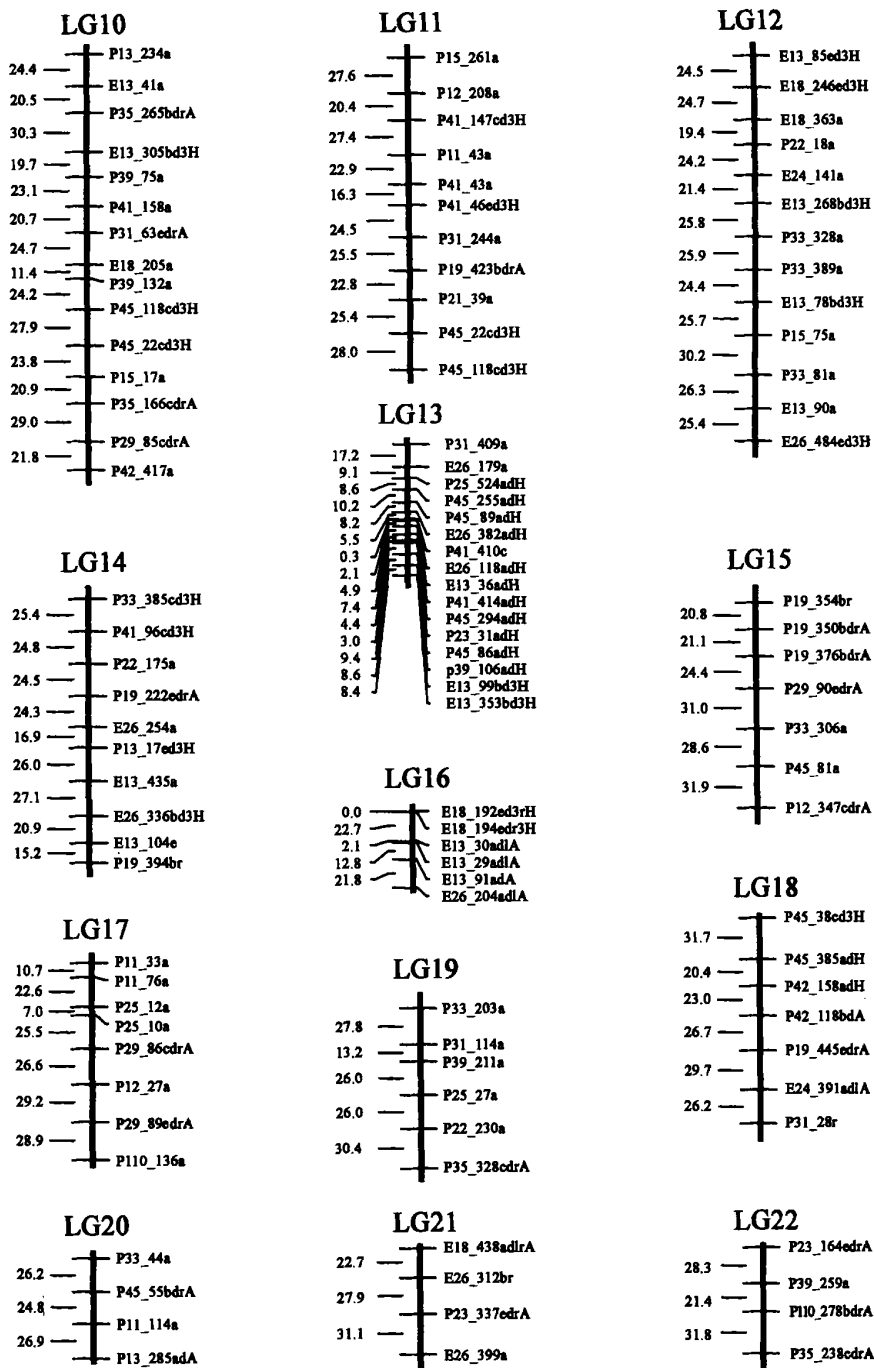


图2 毛新杨 x 毛白杨 AFLP 分子遗传图谱(续)

(3) 偏分离标记 实验中得到了大量偏分离标记,在所有标记中约占一半。偏分离标记普

遍存在,但所占比例相差很大。有人^[18]比较了14个种间构图群体,发现平均有25.3%的标记发生偏离。这一比例也有接近50%的报道,如Joobeur T等^[19]用杏(*Pyrus betulaefolia* Bunge cv. Texas) ×桃(*Prunus persica* (L.) Batsch cv. Earlygold)的种间杂交F₂群体构建图谱时有46%的偏分离标记。

导致偏分离标记的因素有3类:由于存在迁移率相同的不同标记而引起的计数错误;因随机误差产生了弱带而引起的样品误差,如在计数时本来应该是“无”的记作了“有”,或本来应该是“有”的记作了“无”;生物因素,包括染色体丢失、遗传隔离机制、隐性纯合子会影响生长或致死等^[1,20]。在本试验中,这3种因素可能同时存在。AFLP是以片段长度来区分不同标记的,如果两种标记的长度相同,就无法加以区别,但这类标记在构建图谱时绝大部分会被排除在外。PCR技术的使用也可能引起假阳性带、假阴性带和弱带,读取数据时会产生误差。生物因素可能是一个最为重要的原因。由图谱可以看出LG3的偏分离标记很集中,偏分离程度很大,特别是E26_118adH到P45_86adH,²为10~14。LG6中也存在一个偏分离标记比较集中的区域,偏分离程度比较一致,但不很大,²为4~6。毛新杨与毛白杨的亲缘关系很近,可能存在近交不亲和的现象。这两个偏分离标记集中区的标记都是显性个体数超过标准值,所以可能与某个隐性致死基因或与遗传隔离机制有关的基因相对应。在Kaló等^[21]人构建的三叶苜蓿草(*Medicago sativa* L.)图谱中,因为合子选择作用,连锁群中出现了偏分离标记集中区。

(4)重复位点 重复位点是指一个标记同时存在于同一张图谱的不同连锁群中,或者在一个连锁群中存在一个标记的多个拷贝,实验中就发现有些标记同时存在于不同的连锁群。标记P41_41a同时存在于LG5和LG4;LG1和LG10都有标记P29_85cdrA;LG7和LG14更拥有6个相同的标记且它们的排列顺序相同:P22_175a、P19_222edrA、E13_435a、E26_336bd3H、E13_104e、P19_394br。

对于这些位点现在存在不同的处理方法。Grattapaglia^[22]在将标记加入框架图时,只将标记保留在LOD值最高、重组率最小的连锁群中,这种处理方法得到重复位点的可能性很低。Lan等^[23~26]则保留了重复位点,他们发现重复位点不但存在于连锁群之间,在同一连锁群内也有同一个标记的几个拷贝。如两个亲本甘蓝(*Brassica oleracea* L.)和拟南芥(*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh)有相同的重复标记;甘蓝图谱中几个相同标记存在于一个染色体的现象很普遍,甚至有重复位点组成的大片段,这些片段的标记顺序有的没改变,有的已经改变。他们认为一张图谱中的重复位点可以由染色体的同源性来解释,而两张图共有的重复位点可能是在分化前就已存在于它们的祖先的染色体中。

图谱中还有些标记只与连锁群中的某一个标记连锁,但却无法加入这一连锁群(表3)。连锁群中的标记可能就是重复位点,只是本实验还未发现那些与连锁群外的标记相连锁的其它标记而已。LG7和LG14的构建过程支持了这一解释。构建图谱时先得到了LG7,然后发现E26_254a可与P19_222edrA, P13_17ed3H可与E13_435a连锁,而相互连锁的

表3 与连锁群中1个标记连锁的群外标记

所在连锁群	连锁群中的标记	连锁群外的标记	图距/cM
LG1	P25_186ed3H	P21_155ed3H	24.4
LG1	P31_45cdrA	P25_68c	26.8
LG7、LG14	E26_336bd3H	P35_31edA	8.4
LG4	P25_72a	P22_263a	20.8
LG14	E26_254a	P13_153adH	7.5
LG10	P15_17a	P35_166cdrA	20.9
LG16	E13_30ad1A	P31_199cdA	23.5

E26_254a 和 P13_17ed3H 因 E13_108a 的存在无法加入 LG7,所以暂时将它们分为拥有 6 个相同碱基的两个连锁群 LG7(同前)和 LG14。后来将毛新杨标记加入时,P33_385cd3H、P41_96cd3H 可以加在 LG14 的顶端,与 P22_175a 连锁,却不能加在同样以 P22_175a 为顶端的 LG7。这说明这两个连锁群既有同源部分又存在变异。

据估计杨树的基因组长度是 2 400 ~ 2 800 cM^[8],图 2 的图距远远高于这个值,原因可能有 3 个:(1)图中有许多 3 1 标记和偏分离标记影响了对交换率的估计;(2)与构图群体有关;(3) AFLP 标记技术产生了假的多态性。

参考文献:

- [1] Bradshaw H D Jr,Stettler R F.Molecular genetics of growth and development in *Populus*. . Segregation distortion due to genetic load [J]. Theoretical and Applied Genetics,1994,89: 551 ~ 558
- [2] Bradshaw H D Jr,Villar M,Watson B D,et al. Molecular genetics of growth and development in *Populus*. . A genetic linkage map of a hybrid poplar composed of RFLP,STS and RAPD markers[J]. Theoretical and Applied Genetics,1994,89: 167 ~ 178
- [3] Bradshaw H D Jr,Stettler R F. Molecular genetics of growth and development in *Populus*. . Mapping QTLs with large effects on growth, form, and phenology traits in a forest tree[J]. Genetics,1995,139(2): 963 ~ 973
- [4] Wu R,Bradshaw H D Jr,Stettler R F. Molecular genetics of growth and development in *Populus (Salicaceae)*. . Mapping quantitative trait loci affecting leaf variation[J]. American Journal of Botany,1997,84(2): 143 ~ 153
- [5] Frewen B E,Chen T H H,Howe G T,et al. Quantitative trait loci and candidate gene mapping of bud set and bud flush in *Populus*[J]. Genetics,2000,154(2): 837 ~ 845
- [6] 苏晓华,张绮纹,郑先武,等.美洲黑杨(*P. deltoides* Marsh) ×青杨(*P. cathayana* Rehd)分子连锁图谱的构建[J].林业科学,1998,34(6): 29 ~ 37
- [7] 尹佟明,黄敏仁,王明麻,等.利用 RAPD 标记构建响叶杨和银白杨分子标记连锁图[J].植物学报,1999,41(9): 956 ~ 961
- [8] 张新叶,尹佟明,诸葛强,等.利用 RAPD 标记构建美洲黑杨 ×欧美杨分子标记图谱[J].遗传,2000,22(4): 209 ~ 213
- [9] Wu R L,Han Y F,Hu J J,et al. An integrated genetic map of *Populus deltoides* based on amplified fragment length polymorphisms[J]. Theoretical and Applied Genetics,2000,100: 1249 ~ 1256
- [10] Fang J J,Han Y F,Wu R L,et al. Mapping of QTLs for phenolic glycosides and longicorn resistance and in a *P. deltoides* backcross population[A]. For 21st Session International Poplar Commission (IPC),USA,2000
- [11] 杨旺,沈瑞祥,刘红霞.杨树溃疡病可持续控制技术的研究[J].北京林业大学学报,1999,21(4): 13 ~ 17
- [12] Gich B R,Thompson J E. Methods in plant molecular biology and biotechnology[M]. 李汝刚,张春义译.重庆:重庆出版社,1999
- [13] Vos P,Hogers R,Bleeker M,et al. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting [J]. Nucleic Acids Res,1995,23: 4407 ~ 4414
- [14] Lander E S,Green P,Abrahamson J,et al. MAPMAKER: an interactive computer package for construction primary genetic linkage maps of experiment and nature population[J]. Genomics,1987,1: 174 ~ 181
- [15] Lincoln S E,Daly M,Lander E. Constructing genetic maps with MAPMAKER/ EXP 3. 0[A]. Whitehead Institute Technical Report,3rd ed. Whitehead Institute, Cambridge, MA,1992
- [16] Ayliff M A,Lawrence G J,Blis J G,et al. Heterduplex molecules formed between allelic sequences cause nonparental RAPD bands[J]. Nucleic Acid Res,1994,22: 1632 ~ 1636
- [17] 张杰.毛白杨的起源、分类与分布研究概述[A].杨树遗传改良[C].北京:北京农业大学出版社,1991
- [18] Xu Y,Zhu L,Xiao J,et al. Chromosomal regions associated with segregation distortion of molecular markers in F₂, backcross, dihaploid, and recombinant inbred populations in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Mbl Gen Genet,1997,253: 535 ~ 545
- [19] Joobeur T,Viruel M A,Vicente M C de,et al. Construction of a saturated linkage map for *Prunus* using almond × peach F₂ progeny [J]. Theoretical and Applied Genetics,1998,97:1034 ~ 1041.
- [20] Kuang H,Richardson T,Carson S,et al. Genetic analysis of inbreeding depression in plus tree 850. 55 of *Pinus radiata* D. Don. I. Genetic map with distorted markers[J]. Theoretical and Applied Genetics,1999,98: 697 ~ 703

- [21] Kal 6P, Endre G, Zim 6yi L, et al. Construction of an improved linkage map of diploid alfalfa (*Medicago sativa*) [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2000, 100: 641 ~ 657
- [22] Gattapaglia D, Sederoff R. Genetic linkage maps of *Eucalyptus grandis* and *Eucalyptus urophylla* using a pseudo-testcross: mapping strategy and RAPD markers[J]. *Genetics*, 1994, 137(4): 1121 ~ 1137
- [23] Maliepaard C, Alston F H, Arkel G V, et al. Aligning male and female linkage maps of apple (*Malus pumila* Mill.) using multi-allelic markers[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1998, 97: 60 ~ 73
- [24] Lespinasse D, Rodier G M, Grivet L, et al. A saturated genetic linkage map of rubber tree (*Hevea* spp.) based on RFLP, AFLP, microsatellite, and isozyme markers[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2000, 100: 127 ~ 138
- [25] Peng Y, Schertz K F, Cartinhour S, et al. Comparative genome mapping of *Sorghum bicolor* (L.) Moench using an RFLP map constructed in a population of recombinant inbred lines[J]. *Plant Breeding*, 1999, 118: 225 ~ 235
- [26] Lan T H, DelMonte T A, Reischmann K P, et al. An EST-enriched comparative map of *Brassica oleracea* and *Arabidopsis thaliana*[J]. *Genome Research*, 2000, 10: 776 ~ 788

An AFLP Linkage Map Using a Hybrid Population of *Populus tomentosa*

ZHANG Yur-zhe¹, LIU Hong-xia², WU Rong-ling³,
LI Ming-liang¹, HU Jiar-jun¹, YIN Wei-lun², HAN Yi-fan¹

(1. Research Institute of Forestry, CAF, Beijing 100091, China; 2. Beijing Forestry University, Beijing 100083, China;
3. Department of Statistics, 533 McCarty Hall C, University of Florida, Gainesville, FL 32611, USA)

Abstract: The map was constructed using *Populus tomentosa* × *P. alba* var. *pyramidalis* × *P. tomentosa* hybrid population in which the resistance of *Dothiorella gregaria* Sacc was segregated. The authors had obtained 662 markers using 19 PstI/MseI primer pairs and 4 EcoRI/MseI primer pairs, of which 43.2% had 3:1 in segregation, 14.5% appears to be non-parental heteroduplex, and 48.8% was distorted. 239 markers had been mapped into 22 linkage groups (each including 4 loci or more), and the integrated map was 4 418 cM in length, with an average locus interval of 18.5 cM. Linkage group LG1 was the largest one and covered 524 cM with 25 markers. The densest linkage group was LG13 with an average interval of 6.7 cM in length. There were duplicated loci for 8 markers, and 7 markers that linked to one of markers in a linkage group but couldn't be mapped into that group. In addition, there were 15 minor groups harboring 2 ~ 3 markers belonged to the parents. Moreover, 13 and 21 groups belonged to paternal and maternal parent, respectively.

Key words: AFLP; genetic map; *Populus tomentosa*; *Populus tomentosa* × *P. alba* var. *pyramidalis*