

杨俊芳,曹 越,王 宙,等. 蓖麻高密度遗传图谱构建亲本 SNP 多态性分析[J]. 江苏农业科学,2021,49(9):53-57.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2021.09.009

蓖麻高密度遗传图谱构建亲本 SNP 多态性分析

杨俊芳,曹 越,王 宙,王 亚,张宏斌,赵宜婷,王宏伟

(山西农业大学经济作物研究所,山西太原 030031)

摘要:为了筛选最佳构建蓖麻高密度遗传图谱的亲本组合,以农艺性状差异较大的蓖麻两性系 SL1 为父本,镶嵌型雌性系 HCH3 和 HCH1 分别为母本,基于全基因组重测序(WGS)技术和生物信息学分析方法对 2 组亲本进行 SNP 标记多态性分析。结果表明,2 组亲本间多态性标记均比较丰富,其中以 HCH1 为母本的组合 2 的亲本多态性更佳,SNP 多态性标记总数为 581 158 个,可用 aa×bb 型 SNP 标记为 181 791 个。最佳亲本组合的确定为构建蓖麻的高密度遗传图谱、多种农艺性状定位和基因挖掘奠定了良好的基础。

关键词:蓖麻;全基因组重测序;亲本;SNP;多态性分析

中图分类号:S563.903.2 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2021)09-0053-05

蓖麻(*Ricinus communis* L., $2n=20$),属于大戟科的单型蓖麻属^[1],是雌雄同株异花植物,正常株蓖麻花序轴上方为红色雌花,下方为黄色雄花,圆锥花序,常异花授粉,多级分枝,无限花期。蓖麻是一种重要的能源油料作物,因其蓖麻油具有的特殊物理性质,被应用于航空、航天、军工、工程塑料、化工、纺织等数十个行业^[2]。但是受困于蓖麻传统育种的局限性,在选择具有理想性状的植株,特别是

多基因控制性状时,需要很长时间且缺乏精确性,蓖麻品种改良进程缓慢。分子标记辅助育种(MAS)方法可以有效地解决这些问题。遗传图谱和数量性状定位(QTL)已成为多种植物分子标记辅助育种的重要工具^[3-8]。

在蓖麻上关于遗传图谱构建的研究起步较晚,研究者也较少。国内学者毕川等最早开始蓖麻图谱构建工作^[9],2016 年构建了第 1 张相对完整的遗传图谱^[10],共 331 个标记(317 个 SSR、7 个 SRAP 标记、3 个 SSRAP 标记、3 个形态学标记、1 个 ISSR 标记)分布在 10 个连锁群上,覆盖 1 164.73 cM 基因组,平均标记间隔为 3.63 cM。2019 年又新构建了 1 张 SSR 标记遗传图谱并对蓖麻雌性复杂性状进行了定位^[11]。2016 年 Tomar 等通过遗传群体筛选出 141 个(RAPD、ISSR、SSR)标记,构建了遗传连锁图

收稿日期:2020-09-07

基金项目:国家自然科学基金培育项目(编号:YGJPY1904);山西省农业科学院育种工程项目(编号:17ygc054)。

作者简介:杨俊芳(1987—),女,山西运城人,硕士,助理研究员,主要从事蓖麻遗传育种研究。E-mail:2287353329@qq.com。

通信作者:王宏伟,研究员,主要从事蓖麻遗传育种和杂种优势利用研究。E-mail:jzshw@163.com。

[24] Ślusarkiewicz - Jarzina A, Ponitka A. The effect of physical medium state on anther culture response in Polish cultivated oat (*Avena sativa* L.) [J]. Acta Biologica Cracoviensia (Series Botanica), 2007, 49(2): 27-31.

[25] Noga A, Skrzypek E, Warchol M, et al. Conversion of oat (*Avena sativa* L.) haploid embryos into plants in relation to embryo developmental stage and regeneration media [J]. In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant, 2016, 52(6): 590-597.

[26] Kiviharju E, Puolimatka M, Saastamoinen M, et al. The effect of genotype on anther culture response of cultivated and wild oats [J]. Agricultural and Food Science in Finland, 1998, 7(3): 409-422.

[27] Kiviharju E, Moisander S, Tanhuanpaa P, et al. Oat anther culture and use of DH - lines for genetic mapping [J]. Methods of Molecular Biology, 2017, 1536: 71-93.

[28] Sidhu P K, Davies P A. Regeneration of fertile green plants from oat isolated microspore culture [J]. Plant Cell Reports, 2009, 28(4): 571-577.

[29] Ferrie A M R, Irmen K I, Beattie A D, et al. Isolated microspore culture of oat (*Avena sativa* L.) for the production of doubled haploids: effect of pre - culture and post - culture conditions [J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2014, 116(1): 89-96.

[30] Ponitka A, Ślusarkiewicz - Jarzina A. Regeneration of oat androgenic plants in relation to induction media and culture conditions of embryo - like structures [J]. Acta Societatis Botanicorum Poloniae, 2009, 78(3): 209-213.

[31] Warchol M, Czyczyło - Mysza I, Marcińska I, et al. Factors inducing regeneration response in oat (*Avena sativa* L.) anther culture [J]. In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant, 2019, 55(5): 595-604.

谱,找到了关于蓖麻抗枯萎病的 2 个 QTLs^[12]。2017 年 Tomar 等筛选出 336 个 (RAPD、ISSR、SSR) 标记,构建了遗传连锁图谱,并定位到了与蓖麻木炭腐病相关的新型 QTLs^[13]。2019 年 Yu 等基于 GBS 测序技术对 200 个重组自交系 (RIL) 群体进行测序分析,构建了 10 个连锁群 (LGs) 的高分辨率遗传图谱包含 8 896 个高质量的 SNPs,覆盖 1 852.33 cM 基因组,筛选到了 16 个控制种子大小和质量的 QTLs^[14]。

近年来,随着第 2 代测序技术迅速发展和测序成本的降低,高通量测序技术为植物基因型鉴定和遗传作图带来了方法上跨越式的突破^[15]。以 SNP 标记为代表的新一代分子标记大批量地用于植物高密度遗传图谱的构建^[16-19]。传统的 SSR、RAPD、AFLP、RFLP 等分子标记上图量少,标记间遗传距离较大、基因组覆盖率低,而 SNP 标记的上图量远远超过传统分子标记,图谱分辨率高、定位精度高。蓖麻全基因组测序完成于 2010 年,形成了蓖麻的第 1 张基因草图,基因组大小约 350 M,组装水平为 Scaffold, Scaffolds 有 25 763 条^[20]。蓖麻测序工作的完成为开展蓖麻基因组水平的研究奠定了基础,但是由于蓖麻基因组组装水平并未到染色体,而且 Scaffolds 也比较多,组装水平还远远落后于很多作物。据此可以借助构建高密度遗传图谱的方法,对蓖麻的多种农艺性状进行 QTL 定位,挖掘相关基因,加快蓖麻分子标记辅助育种的进程。而且高密度的遗传图谱可以辅助基因组组装,提高全基因组精细图谱完整性。

本研究以农艺性状差异较大的蓖麻两性系 SL1 为父本,镶嵌型雌性系 HCH3 和 HCH1 为母本分别构建 F₁、F₂、BC1 群体。基于全基因组重测序 (WGS) 技术和生物信息学分析方法对 2 组亲本进行 SNP 标记多态性分析,以便筛选出最佳组合,为构建蓖麻高密度遗传图谱奠定良好的基础,进而对蓖麻多种农艺性状进行 QTL 定位和基因挖掘。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以蓖麻两性系 SL1 为父本,镶嵌型雌性系 HCH1 和 HCH3 为母本,2017 年分别杂交收获 F₁, 2018 年 F₁ 自交收获 F₂、与母本回交收获 BC1。父本 SL1 为绿秆、密刺、中秆、早熟、花籽的正常两性株,且雄花比例极大,单株主穗甚至无雌花,仅在分枝穗上有少量雌花。母本 1:HCH3 为红秆、无刺、高

秆、晚熟、小黑籽有极少量镶嵌雄花雌性系。母本 2:HCH1 为红秆、密刺、高秆、晚熟、小黑籽有少量镶嵌雄花的雌性系。2019 年 5 月将 3 个亲本材料、F₂ 及回交 BC1 群体种植于山西农业大学 (山西省农业科学院) 经济作物研究所,正常田间管理。

1.2 基因组 DNA 提取及测序

用剪刀取幼嫩蓖麻叶片 0.1 ~ 0.5 g,用植物基因组 DNA 提取试剂盒 (Solar Bio) 提取每个样品的基因组 DNA。利用 Eppendorf AG 22331 蛋白/核酸分析仪 (Eppendorf 公司,德国) 检测 DNA 浓度及纯度,用 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 质量。按照高通量测序的要求,每样品的 DNA 总量 ≥ 1 μg,浓度 ≥ 50 ng/μL;样品纯度 D_{260 nm/280 nm} 为 1.8 ~ 2.0, D_{260 nm/230 nm} 为 1.9 ~ 2.4。电泳结果主带清晰,无降解,可用于高通量测序。检验合格的 DNA 样品寄送北京诺禾致源生物信息科技有限公司进行建库,并利用 illumina HiSeqTM PE150 进行测序。

1.3 信息分析方法

原始测序数据基于 Raw data 进行质量评估,去掉包含接头信息、低质量碱基、未测出的碱基 (以 N 表示) 等干扰信息,最终得到有效数据,即 Clean data 或 Clean reads。经质控过滤后的有效测序数据通过 BWA 软件 (参数: mem - t4 - k32 - M) 比对到蓖麻参考基因组 (蓖麻全基因组数据库 TIGR, <http://castorbean.jcvi.org/downloads.php>), 比对结果经 SAMTOOLS 去除重复 (参数: rmdup)。采用 GATK 等软件进行群体 SNP 的检测。

1.4 亲本间标记开发

基于蓖麻亲本基因型检测结果,进行亲本间多态性标记开发。过滤掉亲本信息缺失的位点,筛选父母本间具有多态性的位点,并从中筛选出符合 F₂ 群体作图标记类型的位点。用于 F₂ 群体作图的标记类型为 aa × bb 型,筛选父母本都为纯合且亲本间具有多态性的位点,即在某个 SNP 位点亲本 1 基因型为 GG,亲本 2 基因型为 AA,亲本基因型都为纯合,且亲本间基因型不相同。

2 结果与分析

2.1 测序数据统计及质量评估

对经过严格质控过后的亲本测序数据进行统计 (表 1),可以看出母本 2 的碱基数最大,达到了 9.47×10^9 bp。父本次之,为 8.64×10^9 bp。母本 1 的碱基数最少,为 8.58×10^9 bp。3 个亲本的有效数

据产量均达到了 99.8% 以上,测序错误率同为 0.04%,Q₂₀、Q₃₀、GC 含量也达到了测序要求。最终

获得了高质量的 Clean data,能够顺利进行下一步的比对工作。

表 1 测序数据产出及质量统计

样本名称	原始数据碱基数 (bp)	高质量碱基数 (bp)	数据有效 利用率(%)	测序错误率 (%)	Q ₂₀ (%)	Q ₃₀ (%)	GC 含量 (%)
父本	8 640 868 800	8 627 347 200	99.84	0.04	97.00	91.53	35.66
母本 1	8 575 830 000	8 566 738 800	99.89	0.04	97.09	91.77	35.77
母本 2	9 467 359 800	9 456 281 100	99.88	0.04	97.08	91.74	35.71

2.2 Reads 与参考基因组比对情况

蓖麻参考基因组大小为 336 968 299 bp。3 个亲本的比对率在 98% 以上,对参考基因组(排除 N 区)的平均覆盖深度在 20X 以上,1X 覆盖深度(至

少有 1 个碱基覆盖)95.73% 及以上,4X 覆盖深度(至少有 4 个碱基覆盖)在 92.35% 及以上。亲本比对结果正常(表 2),可用于后续的变异检测及多态性分析。

表 2 测序深度及覆盖度统计

样本名称	用于比对的 reads 数目	比对到参考基因组的 reads 数目	比对占比 (%)	平均测序 深度	覆盖深度 1X (%)	覆盖深度 4X (%)
父本	57 515 648	56 674 291	98.54	20.10	95.85	92.72
母本 1	57 111 592	56 533 287	98.99	20.26	95.73	92.35
母本 2	63 041 874	62 296 291	98.82	20.99	95.87	93.12

2.3 亲本 SNP 检测结果

将比对到蓖麻基因组上的 reads 挑选出来,采用 GATK 对数据进行群体 SNP 的检测,统计得到的 SNP 相关信息。父本和母本 2 的 SNP 标记总数和纯合标记数量均高于母本 1。亲本 SNP 检测结果见表 3。

表 3 亲本 SNP 检测结果统计

样本名称	所有 SNP 个数	纯合 SNP 个数	杂合 SNP 个数	纯合 SNP 占比 (%)
父本	838 419	449 493	388 926	46.39
母本 1	703 889	414 788	289 101	41.07
母本 2	893 337	520 652	372 685	41.72

2.4 标记多态性分析

以父本 SL1 和母本 HCH3(母本 1)为杂交组合 1 构建 F₂ 群体,多态性标记总数为 542 928 个,可用 aa × bb 型标记为 171 829 个(表 4)。以父本 SL1 和母本 HCH1(母本 2)为杂交组合 2 构建 F₂ 群体,多态性标记总数为 581 158 个,可用 aa × bb 型标记为 181 791 个(表 5)。通过 2 个杂交组合间不同类型标记数量比较,可见由父本 SL1 和母本 HCH1(母本 2)搭配的组合 2 的总标记数和可用型标记数都较优。这与田间观察到的表型性状分离情况也一致,组合 2 构建的 F₂ 群体、BC1 群体分离的多样性比组

合 1 更丰富。同时,通过表 4 和表 5 明显看出 aa × bb 型标记并不是最多的标记,hk × hk 类型标记最多,超过 25 万个,在组合 1 中同样存在类似的问题。由于 hxxhk 与 nxxnp、lmxll 型标记均适用于由杂合亲本构建的 F₁ 作图群体。而本试验的亲本均为纯合,且构建的为 F₂ 作图群体,故同一组合间不同标记数量的比较没有太大的参考价值,本试验仅对不同组合间的同一 aa × bb 型标记进行比较分析。

表 4 标记开发类型(父本 × 母本 1)

亲本基因型	各类型标记数 (个)	各类标记占比 (%)
aa × bb	171 829	31.65
nn × np	124 502	22.93
ab × cd	0	0.00
cc × ab	165	0.03
lm × ll	34 631	6.38
hk × hk	211 367	38.93
ab × cc	37	0.01
ef × eg	397	0.07
有效标记总数	542 928	

3 讨论与结论

在构建遗传图谱前首先要确定亲本组合,若亲本材料选取不当,会直接影响图谱的质量以及准确

表 5 标记开发类型(父本×母本 2)

亲本基因型	各类型标记数 (个)	各类标记占比 (%)
ab × cd	0	0.00
cc × ab	59	0.01
nn × np	80 071	13. 78
lm × ll	63 308	10. 89
hk × hk	255 277	43. 93
aa × bb	181 791	31. 28
ef × eg	554	0. 10
ab × cc	98	0. 02
有效标记总数	581 158	

性^[21]。传统遗传图谱构建亲本组合的确定,需经过分子标记多态性筛选^[22-25],高密度遗传图谱构建亲本的选择同样也需要进行标记多态性分析。

2018 年花生上基于 WGS 技术对 2 个亲本及 91 个 RIL 群体进行测序,构建了高密度遗传图谱,亲本间总的 SNPs 标记数为 97 571 个,可用多态性 SNPs 标记为 18 252 个,最终上图标记数为 8 869 个,覆盖 3 120 cM 基因组,平均遗传距离 1. 45 cM^[26]。2018 年大豆上基于 SLAF 测序技术对亲本和 149 株 RILs 个体进行测序,构建了高密度遗传图谱,亲本间总的 SNPs 标记数为 391 476 个,可用多态性 SNPs 标记为 53 132 个,最终上图标记数为 5 111 个,覆盖 2 909. 46 cM 基因组,平均遗传距离 0. 57 cM^[27]。2019 年在胡萝卜上基于 WGS 技术对 2 个亲本及 137 个 F2 群体进行测序,构建了超高密度遗传图谱,亲本间可用多态性 SNPs 标记为 411 891 个,最终上图标记为 378 738 个,覆盖 1 306. 8 cM 基因组,平均遗传距离 0. 46 cM^[28]。2020 年在烟草上基于 WGS 技术构建了高密度遗传图谱,亲本间可用多态性 SNPs 标记为 1 626 811 个,最终上图标记为 45 081 个,遗传距离为 3 486. 78 cM,平均遗传距离 0. 495 cM^[29]。本研究获得的组合 1 亲本间多态性标记总数为 542 928 个,可用多态性标记为 171 829 个;组合 2 亲本间多态性标记总数为 581 158 个,可用多态性标记为 181 791 个。最终的上图标记量还需要经过对 F₂ 群体多态性标记分析,之后再过滤掉一部分缺失的、偏分离的标记才能确定。但是目前来看,通过 2 组亲本间的可用多态性标记分析,进一步对 2 个组合子代 F₂ 群体进行重测序均是可行的。相比较而言,组合 2 优于组合 1。

在群体构建亲本选择恰当的基础上,通过高通

量测序获得的 SNP 标记构建的图谱质量一般要远高于传统标记图谱。然而通过选择不同的测序技术、测序群体种类和大小获得的图谱质量会有很大差异。测序方法上常用到的有全基因组测序和简化基因组测序,简化基因组测序技术根据文库构建的不同原理又分为 RAD、GBS、2b - RAD、ddRAD、SLAF 测序技术^[30]。理论上同一群体利用全基因组测序比简化基因组测序获得的图谱质量更高。但全基因组测序的方法在成本上比简化基因组测序要高很多,因此简化基因组测序要比全基因组测序应用得更多。近年来玉米^[31]、大豆^[32]、花生^[33]、芝麻^[34]、红豆^[35]、向日葵^[36]、甜瓜^[37]等多种作物均有用简化测序技术的研究成果。蓖麻基因组相对于其他作物较小,在测序成本方面利用全基因组测序技术相比其他作物更具有优势。

本研究通过对 3 个亲本的全基因重测序及亲本间的标记多态性分析表明,2 组亲本间多态性标记都比较丰富,均可用来作为构建高密度遗传图谱的亲本。组合 1 亲本多态性标记总数为 542 928 个,可用 aa × bb 型标记为 171 829 个。组合 2 亲本多态性标记总数为 581 158 个,可用 aa × bb 型标记 181 791。经比较确定了以 SL1 为父本和 HCH1 为母本的组合 2 为最佳亲本组合。最佳亲本的确定为构建蓖麻的高密度遗传图谱及进行多种农艺性状定位和基因挖掘奠定了良好的基础。

参考文献:

[1] Alexandrov O S, Karlov G I. Molecular cytogenetic analysis and genomic organization of major DNA repeats in castor bean (*Ricinus communis* L.) [J]. Molecular Genetics and Genomics, 2016, 291 (2): 775 - 787.

[2] 杨俊芳,王 亚,曹 越,等. 蓖麻性别决定基因研究进展[J]. 山西农业科学, 2020, 48 (7): 1164 - 1167.

[3] Wheeler N, Sederoff R. Role of genomics in the potential restoration of the American chestnut [J]. Tree Genetics & Genomes, 2008, 5 (1): 181.

[4] Wu J, Li L T, Li M, et al. High - density genetic linkage map construction and identification of fruit - related QTLs in pear using SNP and SSR markers [J]. Journal of Experimental Botany, 2014, 65 (20): 5771 - 5781.

[5] Chen J, Wang N, Fang L C, et al. Construction of a high - density genetic map and QTLs mapping for sugars and acids in grape berries [J]. BMC Plant Biology, 2015, 15: 28.

[6] Ren X, Wang J, Liu L, et al. SNP - based high density genetic map and mapping of btwd1 dwarfing gene in barley [J]. Scientific Reports, 2016, 6: 31741.

- [7] Jiang N, Shi S, Shi H, et al. Mapping QTL for seed germinability under low temperature using a new high – density genetic map of rice [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8:1223.
- [8] Zhao Y, Su K, Wang G, et al. High – density genetic linkage map construction and quantitative trait locus mapping for hawthorn (*Crataegus pinnatifida* Bunge) [J]. *Scientific Reports*, 2017, 7(1): 5492.
- [9] 毕川, 陆建农, 殷学贵. 蓖麻遗传图谱构建初报[J]. 内蒙古民族大学学报(自然科学版), 2013, 28(5): 532 – 535, 564.
- [10] Liu S, Yin X E, Lu J N, et al. The first genetic linkage map of *Ricinus communis* L. based on genome – SSR markers [J]. *Industrial Crops and Products*, 2016, 89:103 – 108.
- [11] Lu J N, Shi Y Z, Yin X E, et al. The genetic mechanism of sex type, a complex quantitative trait, in *Ricinus communis* L. [J]. *Industrial Crops and Products*, 2019, 128:590 – 598.
- [12] Tomar R S, Parakhia M V, Thakkar J R, et al. Development of linkage map and identification of QTLs responsible for fusarium wilt resistance in castor (*Ricinus communis* L.) [J]. *Research Journal of Biotechnology*, 2016, 11(5): 67 – 73.
- [13] Tomar R S, Parakhia M V, Rathod V M, et al. Molecular mapping and identification of QTLs responsible for charcoal rot resistance in castor (*Ricinus communis* L.) [J]. *Industrial Crops and Products*, 2017, 95:184 – 190.
- [14] Yu A, Li F, Xu W, et al. Application of a high – resolution genetic map for chromosome – scale genome assembly and fine QTLs mapping of seed size and weight traits in castor bean [J]. *Scientific Reports*, 2019, 9(1):11950.
- [15] 赖国荣, 张静, 刘函, 等. 基于 GBS 构建玉米高密度遗传图谱及营养品质性状 QTL 定位[J]. 农业生物技术学报, 2017, 25(9):1400 – 1410.
- [16] 唐立群, 肖层林, 王伟平. SNP 分子标记的研究及其应用进展[J]. 中国农学通报, 2012, 28(12):154 – 158.
- [17] Li B, Lu X, Dou J, et al. Construction of a high – density genetic map and mapping of fruit traits in watermelon (*Citrullus lanatus* L.) based on whole – genome resequencing [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, 19(10):3268.
- [18] Jiang J, Fan X, Zhang Y, et al. Construction of a high – density genetic map and mapping of firmness in grapes (*Vitis vinifera* L.) based on whole – genome resequencing[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(3):797.
- [19] Talukder Z, Underwood W, Ma G, et al. Genetic dissection of phomopsis stem canker resistance in cultivated sunflower using high density SNP linkage map [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(4):1497.
- [20] Chan A P, Crabtree J, Zhao Q, et al. Draft genome sequence of the oilseed species *Ricinus communis* [J]. *Nature Biotechnology*, 2010, 28(9):951 – 956.
- [21] 郑剑, 李兴星, 苏华英, 等. 粳稻资源热梗 35 遗传图谱构建与耐热 QTL 分析[J]. 核农学报, 2017, 31(5):844 – 851.
- [22] 单红丽, 李文凤, 黄应昆, 等. 甘蔗抗褐锈病基因定位亲本间多态性 SSR 标记筛选[J]. 核农学报, 2019, 33(11):2119 – 2125.
- [23] 许梦琦, 李双铃, 任艳, 等. 花生作图亲本间分子标记的多态性分析[J]. 湖北农业科学, 2015, 54(11):2763 – 2766.
- [24] 黄焕焕, 张桂华, 韩毅科, 等. 黄瓜作图亲本间分子标记的多态性分析[J]. 华北农学报, 2007, 22(2):47 – 49.
- [25] 贺丹, 吴芳芳, 张俊蕊, 等. 牡丹转录组 SSR 信息分析及其分子标记开发[J]. 江苏农业学报, 2019, 35(6):1428 – 1433.
- [26] Agarwal G, Clevenger J, Pandey M K, et al. High – density genetic map using whole – genome resequencing for fine mapping and candidate gene discovery for disease resistance in peanut [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2018, 16(11):1954 – 1967.
- [27] Zhang Y, Li W, Lin Y, et al. Construction of a high – density genetic map and mapping of QTLs for soybean (*Glycine max*) agronomic and seed quality traits by specific length amplified fragment sequencing [J]. *BMC Genomics*, 2018, 19(1):641.
- [28] Luo X, Xu L, Wang Y, et al. An ultra – high – density genetic map provides insights into genome synteny, recombination landscape and taproot skin colour in radish (*Raphanus sativus* L.) [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2020, 18(1):274 – 286.
- [29] Tong Z, Zhou J, Xiu Z, et al. Construction of a high – density genetic map with whole genome sequencing in *Nicotiana tabacum* L. [J]. *Genomics*, 2020, 112(2):2028 – 2033.
- [30] 魏庆镇. 黄瓜果实长度性状 QTL 定位及候选基因的筛选[D]. 南京:南京农业大学 2016:19 – 20.
- [31] Wu X, Feng F, Zhu Y, et al. Construction of high – density genetic map and identification of QTLs associated with seed vigor after exposure to artificial aging conditions in sweet corn using SLAF – seq [J]. *Genes*, 2019, 11(1):37.
- [32] Liu D L, Chen S W, Liu X C, et al. Genetic map construction and QTL analysis of leaf – related traits in soybean under monoculture and relay intercropping [J]. *Scientific Reports*, 2019, 9(1):2716.
- [33] Zhang S, Hu X, Miao H, et al. QTL identification for seed weight and size based on a high – density SLAF – seq genetic map in peanut (*Arachis hypogaea* L.) [J]. *BMC Plant Biology*, 2019, 19(1):537.
- [34] Du H, Zhang H, Wei L, et al. A high – density genetic map constructed using specific length amplified fragment (SLAF) sequencing and QTL mapping of seed – related traits in sesame (*Sesamum indicum* L.) [J]. *BMC Plant Biology*, 2019, 19(1):588.
- [35] Li Y, Yang K, Yang W, et al. Identification of QTL and qualitative trait loci for agronomic traits using SNP markers in the adzuki bean [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8:840.
- [36] Zhou F, Liu Y, Liang C, et al. Construction of a high – density genetic linkage map and QTL mapping of oleic acid content and three agronomic traits in sunflower (*Helianthus annuus* L.) using specific – locus amplified fragment sequencing (SLAF – seq) [J]. *Breeding Science*, 2018, 68(5):596 – 605.
- [37] Oren E, Tzuri G, Dafna A, et al. High – density NGS – based map construction and genetic dissection of fruit shape and rind netting in *Cucumis melo* [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2020, 133(6):1927 – 1945.