

网络出版时间:2017-08-21 13:50

DOI:10.13207/j.cnki.jnwfufu.2017.10.002

网络出版地址:http://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20170821.1350.004.html

高丹草 AFLP 分子遗传连锁图谱的构建

石悦,于肖夏,于卓,杨东升,姜超,张明飞

(内蒙古农业大学 农学院,内蒙古 呼和浩特 010019)

【摘要】【目的】对高丹草低氢氰酸含量及产量等重要性状进行 QTL 定位,构建其 AFLP 分子遗传连锁图谱,为分子标记辅助育种等研究奠定基础。【方法】以散穗高粱×红壳苏丹草杂种 F₂ 代 305 个分离单株为作图群体,利用 AFLP 分子标记技术先从供试 AFLP 引物中筛选适宜引物对,再用这些引物对对其供测群体进行 PCR 扩增;根据扩增原始数据,利用 Join Map 3.0 作图软件进行高丹草分子遗传连锁图谱构建。【结果】从 113 对 AFLP 引物组合中筛选出了 25 对多态性丰富、重复性好、条带清晰的适宜引物,对高丹草 F₂ 分离群体 305 个单株的基因组 DNA 扩增,得到 444 个 AFLP 分子标记位点,据此构建的高丹草遗传图谱包含 10 个连锁群,覆盖的基因组总长度为 1 468.12 cM,各连锁群的长度变幅为 114.24~189.34 cM,标记间平均图距为 3.38 cM。【结论】成功构建了一张密度较高的高丹草分子遗传连锁图谱。

【关键词】 高丹草;AFLP 分子标记;遗传连锁图谱

【中图分类号】 S544⁺.9

【文献标志码】 A

【文章编号】 1671-9387(2017)10-0007-08

Construction of AFLP molecular genetic linkage map of *Sorghum*-Sudangrass

SHI Yue, YU Xiaoxia, YU Zhuo, YANG Dongsheng,
JIANG Chao, ZHANG Mingfei

(Agronomy College, Inner Mongolia Agriculture University, Huhhot, Inner Mongolia 010019, China)

Abstract: 【Objective】In order to identify the QTLs of hydrocyanic acid, seed yield and other important traits of *Sorghum*-Sudangrass, a genetic linkage map was constructed with AFLP marker to lay a foundation for marker-assisted selection breeding. 【Method】Screening suitable AFLP primers combinations and PCR amplification of these primers by using AFLP molecular marker technique, Join Map 3.0 software were applied to construct a genetic linkage map of *Sorghum*-Sudangrass for amplification data, with 305 individuals of an F₂ population from a cross of *Sorghum bicolor* × Red hull Sudangrass as a mapping population. 【Result】A total of 25 suitable primer combinations with high polymorphism, good repeatability and clear bands were screened from 113 AFLP primer combinations, and used to amplified 444 AFLP markers from genomic DNA of 305 individuals of the mapping population; the constructed genetic linkage map contained 10 linkage groups, and covered 1 468.12 cM of the total genome length. The length of each linkage group ranged from 114.24 to 189.34 cM, and the average distance between markers was 3.38 cM. 【Conclusion】It is a genetic linkage map of *Sorghum*-Sudangrass with a high marker density.

Key words: *Sorghum*-Sudangrass; AFLP molecular marker; genetic linkage map

〔收稿日期〕 2016-08-12

〔基金项目〕 国家“973”计划项目(2014CB138703);国家自然科学基金面上项目(31472141)

〔作者简介〕 石悦(1990—),女,内蒙古乌兰察布人,在读博士,主要从事饲用作物遗传育种研究。E-mail: shiyue900920@163.com

〔通信作者〕 于卓(1958—),男,内蒙古呼和浩特人,教授,博士,博士生导师,主要从事饲用作物及马铃薯遗传育种研究。

E-mail: yuzhuo58@sina.com

高丹草是高粱(*Sorghum bicolor*, $2n=2x=20$)与苏丹草(*Sorghum sudanese*, $2n=2x=20$)的种间杂种,其结合了高粱产草量高、抗逆性和适应性强以及苏丹草分蘖多、叶量大、营养价值高的优点^[1-3],杂种优势明显^[4]。高丹草的不足是分蘖期鲜草氢氰酸含量偏高^[5],若家畜采食过量容易引发中毒,因此亟待选育超低氢氰酸含量(即株高约 100 cm 时茎叶鲜草氢氰酸含量 ≤ 15 mg/kg)的高丹草新品种。近几年来,本课题组为培育超低氢氰酸高丹草新品种及构建其高密度分子遗传连锁图谱,以散穗高粱为母本,红壳苏丹草为父本,进行种间远缘杂交,成功获得杂种 F_1 代,并套袋自交得到其 F_2 分离群体 305 个单株,这 305 个单株的鲜草氢氰酸含量差异较大,变幅为 1.56~153.72 mg/kg^[6],这为进一步开展超低氢氰酸含量高丹草新品种的选育及其遗传作图和 QTL 定位研究奠定了基础。

分子遗传连锁图谱是作物产量、品质、抗性等重要性状的基因定位、图位克隆及分子标记辅助育种研究的基础,国内外学者已构建了玉米^[7]、水稻^[8]、小麦^[9]、棉花^[10]等作物的高密度遗传图谱(图谱标记间平均距离 <5 cM),但在牧草上遗传作图研究相对滞后,已报道的仅有紫花苜蓿^[11]、鸭茅^[12]、黑麦草^[13]、苇状羊茅^[14]等,且均为框架图谱,高密度遗传连锁图谱研究报道甚少。在高丹草遗传作图研究方面,逯晓萍^[15]以雄性不育系高粱 314 A $\times$ 棕壳苏丹草 248 个杂种 F_2 :3 家系为作图群体,构建了一张含 166 个分子标记、10 个连锁群的遗传图谱,其图谱覆盖基因组长度 836 cM,标记间平均距离 5.03 cM;卢杰等^[16]以皖草 2 号(TX623A $\times$ S722) F_2 代 180 个分离单株为作图群体,构建了包括 4 个连锁群、33 个 SSR 标记的高丹草遗传图谱,图谱长度 458.5 cM,标记平均距离 13.8 cM。

目前,尚未见有关高丹草高密度分子连锁图谱构建的研究报道,为此本试验拟以前期获得的散穗高粱 $\times$ 红壳苏丹草杂种 F_2 代 305 个单株为作图群体^[17],利用多态性丰富、重复性好的 AFLP 分子标记技术^[18],构建高丹草高密度分子遗传连锁图谱,以期深入开展高丹草低氢氰酸含量及产量等重要性状的 QTL 定位和分子标记辅助育种研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 供试材料及处理

供试材料为高丹草(散穗高粱 $\times$ 红壳苏丹草) F_2

代 305 个分离单株及其双亲。2015-04-26 将各供试材料种植在呼和浩特市赛罕区内蒙古农业大学农场,单粒播种,行距 50 cm,株距 30 cm,播深 2 cm,播后镇压。

1.2 试验方法

1.2.1 基因组 DNA 的提取 在供试材料株高约 100 cm 时,分别剪取高丹草 F_2 代 305 个单株及亲本各 10 个单株的嫩叶,装入自封袋中,带回实验室。每材料取 1 g 叶片剪碎置研钵中,加少量液氮研磨成浆后用天根公司的 DNA 提取试剂盒提取 DNA^[19]。1.2% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 纯度后,稀释至 100 ng/ μ L,置 -40 °C 冰箱中保存备用。

1.2.2 AFLP 引物及来源 用 *Pst* I 和 *Mse* I 2 种限制性内切酶对高丹草基因组 DNA 进行双酶切, T4 连接酶连接,酶切和连接采用一步法完成^[18]。预扩增引物 P00 和 M00 的序列分别为 5'-GACT-GCGTACATGCAG-3'和 5'-GATGAGTCCTGAG-TA A-3'。选择性扩增引物是在预扩增引物的 3'端随机添加 2 个或 3 个碱基所得,分别为 P00+2/3 和 M00+2/3,选用其中的 113 对用于试验。限制性内切酶和 T4 连接酶购自 NEB 公司,其他试验药品购自全式金公司,供试引物及接头序列均由上海生工有限公司合成。

1.2.3 AFLP-PCR 反应 (1)酶切-连接反应。反应体系为:10 $\times$ NEB Buffer 2.0 μ L,10 mg/mL BSA 0.2 μ L,10 mmol/L ATP 0.4 μ L,50 μ mol/L *Mse* I adapter 0.4 μ L,5 μ mol/L *Pst* I adapter 0.4 μ L,10 U/ μ L *Mse* I 0.5 μ L,20 U/ μ L *Pst* I 0.25 μ L,400 U/ μ L T4 ligase 0.4 μ L,100 ng/ μ L DNA 模板 2.5 μ L,加 ddH₂O 至 20 μ L。37 °C 温浴 16 h 后,置于 -40 °C 冰箱中备用。

(2)预扩增反应。反应体系为:10 $\times$ NEB Buffer 2.4 μ L,2 mmol/L dNTP 2.0 μ L,50 mmol/L Mg-SO₄ 0.2 μ L,50 μ mol/L 引物 M00 和 P00 各 1.0 μ L,5 U/ μ L *Taq*-polymerase 0.15 μ L,酶切-连接产物 4.0 μ L,加 ddH₂O 至 20 μ L。预扩增反应程序:94 °C 预变性 3 min;94 °C 变性 1 min,56 °C 退火 30 s,72 °C 延伸 1 min,28 个循环;72 °C 延伸 10 min。

(3)选择性扩增反应。反应体系为:10 $\times$ NEB Buffer(含 Mg²⁺)2.0 μ L,2 mmol/L dNTP 2.4 μ L,50 ng/ μ L M00+2/3 和 P00+2/3 各 1.0 μ L,5 U/ μ L *Taq*-polymerase 0.2 μ L,25 倍稀释的预扩增产物模板 2.0 μ L,加 ddH₂O 至 20 μ L。选择性扩增反应程序:94 °C 预变性 5 min;94 °C 变性 30 s,65 °C

退火 30 s,72 ℃延伸 1 min,12 个循环;94 ℃变性 30 s,56 ℃退火 30 s,72 ℃延伸 1 min,26 个循环;72 ℃延伸 10 min。

1.2.4 凝胶电泳检测 用 6% 的变性聚丙烯酰胺凝胶电泳检测 PCR 产物,加入 0.5×TBE 缓冲液,预电泳 30 min,恒定功率 70 W,上样量 5 μL,电泳至胶板的 2/3 处时结束,用 3 g/L 的硝酸银溶液染色并观察结果。

1.3 数据统计与分析

1.3.1 多态性位点标记统计 按点样顺序记录 AFLP 多态性位点条带数,有条带的记录为“1”,无条带的记录为“0”,缺失或条带不清楚的记录为“—”,生成“0”和“1”组合的原始矩阵。

多态性位点百分率(P)的计算公式为: $P=(K/N) \times 100\%$,其中 K 为多态性位点数, N 为所测位点总数^[20]。

1.3.2 标记偏分离统计 根据孟德尔分离定律, F_2 群体的基因型理论分离比为 3 : 1,在 $P \leq 0.05$ 水平上,利用卡方检验 AFLP 多态性位点标记是否符合

3 : 1 的分离比例,明确是否存在偏分离现象,统计偏分离标记数^[21]。

1.4 图谱构建

利用 Join Map 3.0 作图软件,构建高丹草高密度分子遗传连锁图谱。将 0,1 原始矩阵转换成所要求的数据格式 a,c 后,新建 1 个文件,用 Load Data 导入数据文件;用 Individual genot. freq 命令排除缺失数据,并确定作图群体;用 LOD groupings (tree) 选择连锁群数(LOD 值 ≥ 3),打开 Create Groups for mapping 命令即可得到高丹草分子遗传连锁图谱。

2 结果与分析

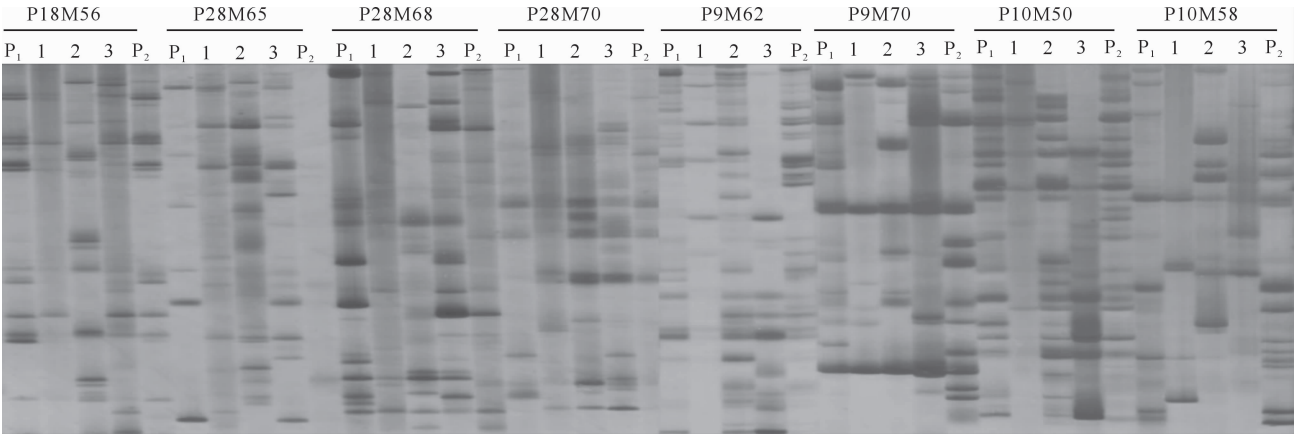
2.1 高丹草 AFLP 引物筛选及多态性标记位点分析

将父母本和高丹草 F_2 部分单株的基因组 DNA 经酶切-连接反应及预扩增,以得到的产物作模板,进行 AFLP 适宜引物的筛选,结果从 113 对引物组合中筛选出多态性丰富、重复性好、条带清晰的适宜引物 25 对(表 1、图 1、图 2、图 3)。

表 1 高丹草供试株 AFLP 适宜引物组合的碱基序列及多态性标记位点

Table 1 Nucleotide sequences of AFLP primers combinations of *Sorghum*-Sudangrass plants and the analysis results of polymorphism Marker loci

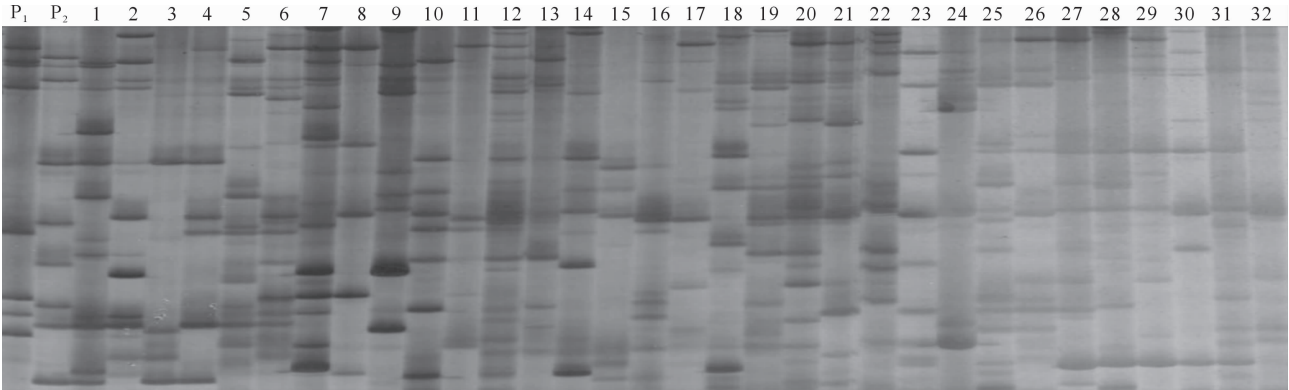
引物组合 Primer combination	<i>Pst</i> I 引物(5'→3') <i>Pst</i> I primer(5'→3')	<i>Mes</i> I 引物(5'→3') <i>Mes</i> I primer(5'→3')	扩增位点数 Number of amplified loci	多态性位点数 Number of polymorphic loci	多态性位点 百分率/% Percentage of polymorphic loci
P2M53	GACTGCGTACATGCAGAAT	GATGAGTCCTGAGTAACCG	14	10	71.4
P2M56	GACTGCGTACATGCAGAAT	GATGAGTCCTGAGTAACGC	15	12	80.0
P3M47	GACTGCGTACATGCAGACT	GATGAGTCCTGAGTAACAA	29	26	89.7
P3M53	GACTGCGTACATGCAGACT	GATGAGTCCTGAGTAACCG	13	11	84.6
P8M47	GACTGCGTACATGCAGGAC	GATGAGTCCTGAGTAACAA	16	12	75.0
P9M47	GACTGCGTACATGCAGCAA	GATGAGTCCTGAGTAACAA	17	17	100.0
P9M50	GACTGCGTACATGCAGCAA	GATGAGTCCTGAGTAACAT	32	29	90.6
P9M51	GACTGCGTACATGCAGCAA	GATGAGTCCTGAGTAACCA	21	18	85.7
P9M53	GACTGCGTACATGCAGCAA	GATGAGTCCTGAGTAACCG	16	13	81.3
P9M55	GACTGCGTACATGCAGCAA	GATGAGTCCTGAGTAACGA	24	20	83.3
P9M58	GACTGCGTACATGCAGCAA	GATGAGTCCTGAGTAACGT	24	21	87.5
P9M62	GACTGCGTACATGCAGCAA	GATGAGTCCTGAGTAAC TT	17	12	70.6
P9M66	GACTGCGTACATGCAGCAA	GATGAGTCCTGAGTAACCAT	15	11	73.3
P10M50	GACTGCGTACATGCAGGTC	GATGAGTCCTGAGTAACAT	28	25	89.3
P10M51	GACTGCGTACATGCAGGTC	GATGAGTCCTGAGTAACCA	26	23	88.5
P10M59	GACTGCGTACATGCAGGTC	GATGAGTCCTGAGTAAC TA	24	20	83.3
P10M60	GACTGCGTACATGCAGGTC	GATGAGTCCTGAGTAAC TC	12	9	75.0
P10M61	GACTGCGTACATGCAGGTC	GATGAGTCCTGAGTAAC TG	11	9	81.8
P10M62	GACTGCGTACATGCAGGTC	GATGAGTCCTGAGTAAC TT	14	11	78.6
P17M47	GACTGCGTACATGCAGACG	GATGAGTCCTGAGTAACAA	28	24	85.7
P18M48	GACTGCGTACATGCAGTT	GATGAGTCCTGAGTAACAC	21	21	100.0
P18M49	GACTGCGTACATGCAGTT	GATGAGTCCTGAGTAACAG	22	21	95.5
P28M58	GACTGCGTACATGCAGCC	GATGAGTCCTGAGTAACGT	27	24	88.9
P28M65	GACTGCGTACATGCAGCC	GATGAGTCCTGAGTAACCAG	24	21	87.5
P28M70	GACTGCGTACATGCAGCC	GATGAGTCCTGAGTAACCGT	26	24	92.3
总计 Total			516	444	86.0



1~3. F₂ 单株;P₁. 母本散穗高粱;P₂. 父本红壳苏丹草
1—3. F₂ plants;P₁. *Sorghum bicolor* (female);P₂. Red hull Sudangrass (male)

图 1 高丹草亲本及 F₂ 部分单株 AFLP 引物的筛选(部分引物的结果)

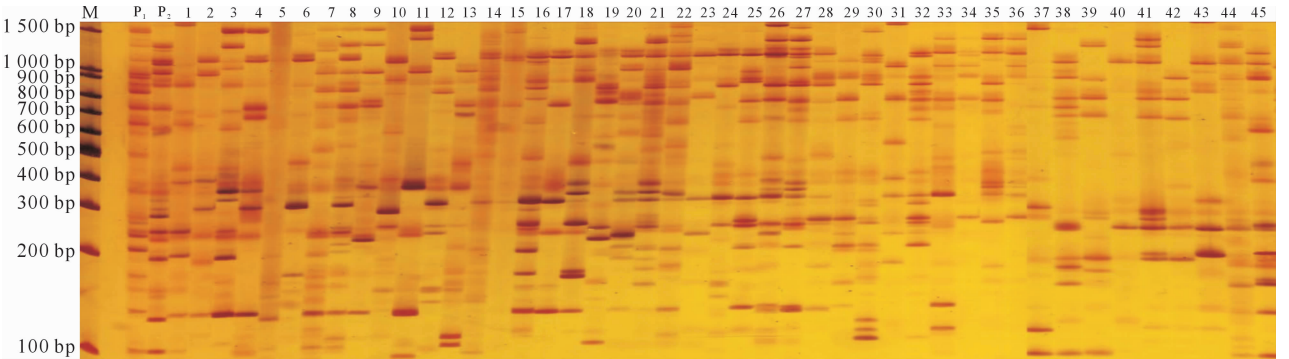
Fig. 1 The screening results of parents and F₂ plants of *Sorghum-Sudangrass* amplified with AFLP markers (Partial primers results)



P₁. 母本散穗高粱;P₂. 父本红壳苏丹草;1~32. 高丹草 F₂ 群体部分单株
P₁. *Sorghum bicolor*(female);P₂. Red hull Sudangrass(male);1—32. F₂ partial plants

图 2 AFLP 引物组合 P9M50 对高丹草 F₂ 分离群体部分单株及亲本的扩增结果

Fig. 2 Amplification of AFLP primer combination P9M50 in partial F₂ individuals population and parents of *Sorghum-Sudangrass*



M. DNA Marker;P₁. 母本散穗高粱;P₂. 父本红壳苏丹草;1~45. 高丹草 F₂ 群体部分单株
M. DNA Marker;P₁. *Sorghum bicolor* (female);P₂. Red hull Sudangrass(male);1—45. F₂ partial plants

图 3 AFLP 引物组合 P10M50 对高丹草 F₂ 分离群体部分单株及亲本的扩增结果

Fig. 3 Amplification of AFLP primer combination P10M50 in partial F₂ individuals population and parents of *Sorghum-Sudangrass*

利用这 25 对 AFLP 引物对高丹草 F₂ 代 305 个单株 DNA 进行 PCR 扩增,共得到 516 个位点,其中多态性标记位点 444 个,占总位点数的 86.0%;25 对 AFLP 引物中平均每对引物可扩增出 17.76 个多态性标记位点,表明该 F₂ 群体的遗传多态性比较丰富。

表 2 高丹草 AFLP 作图标记的偏分离分析
Table 2 Segregation distortion of AFLP genetic map Marker of *Sorghum*-Sudangrass

连锁群 Linkage group	多态性标 记位点数 Number of polymorphic loci	偏分离标记数 Number of biased markers	偏分离标 记比率/% Ratio of distorted marker	连锁群 Linkage group	多态性标 记位点数 Number of polymorphic loci	偏分离标记数 Number of biased markers	偏分离标 记比率/% Ratio of distorted marker
LG1	52	8	15.38	LG7	31	8	25.81
LG2	44	9	20.45	LG8	41	7	17.07
LG3	39	8	20.51	LG9	47	7	14.89
LG4	38	10	26.32	LG10	48	9	18.75
LG5	47	8	17.02	合计 Total	444	82	18.47
LG6	57	8	14.04				

2.3 高丹草分子遗传图谱的构建

利用 Join Map 3.0 作图软件,构建高丹草 AFLP 分子遗传连锁图谱,结果见图 4。该图谱以 LOD≥3 为临界值,共包含 10 个连锁群、444 个 AFLP 分子标记位点,覆盖的基因组总长度为 1 468.12 cM,各连锁群的长度变幅为 114.24~189.34 cM,其中 LG7 连锁群最短,LG4 连锁群最

2.2 高丹草 AFLP 标记的偏分离分析

卡方检验表明,在检测到的 444 个高丹草 AFLP 多态性分子标记位点中,符合孟德尔 3:1 分离比例的有 362 个,说明在 $P\leq 0.05$ 水平时,有 82 个标记发生偏分离,占总标记数的 18.47%(表 2),符合植物遗传作图中偏分离标记比率<30%的要求^[22]。

长。各连锁群的标记数为 31~57 个,各标记间距离为 2.65~4.98 cM,平均图距为 3.38 cM,但均未超过 5 cM(表 3),表明该分子遗传连锁图谱为高密度图谱,这也是目前报道的高丹草遗传图谱中标记数最多、密度最高的图谱,为高丹草低氢氰酸含量及产量等重要性状的 QTL 定位研究奠定了基础。

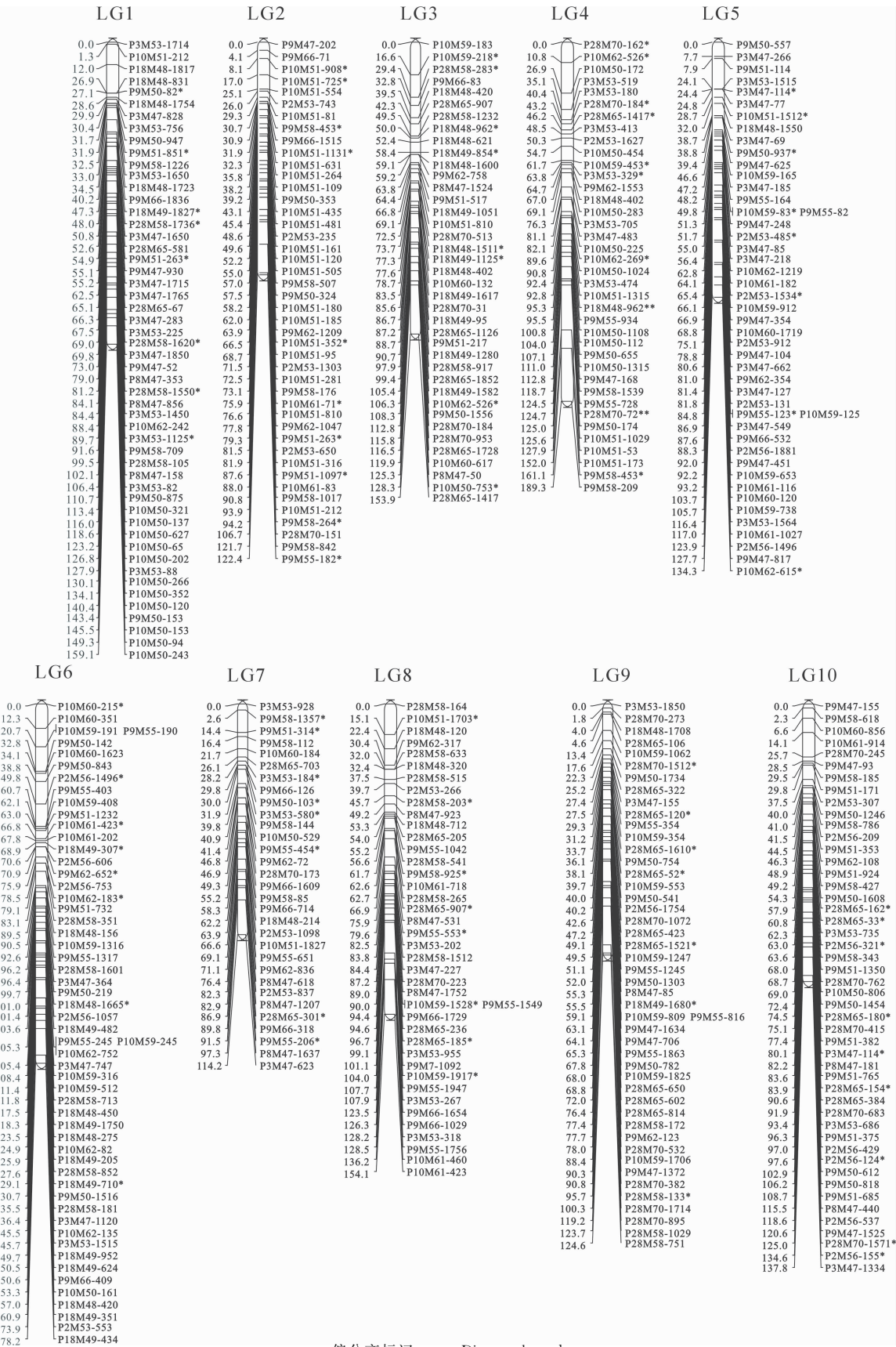
表 3 高丹草遗传连锁图谱的基本特征
Table 3 Basic characteristics of genetic linkage map of *Sorghum*-Sudangrass

连锁群 Linkage group	连锁群长度/cM Map length	连锁标记数 Number of linked markers	标记间平均 间距/cM Average distance	连锁群 Linkage group	连锁群长度/cM Map length	连锁标记数 Number of linked markers	标记间平均 间距/cM Average distance
LG1	159.06	52	3.06	LG7	114.24	31	3.69
LG2	122.42	44	2.78	LG8	154.10	41	3.76
LG3	153.94	39	3.95	LG9	124.63	47	2.65
LG4	189.34	38	4.98	LG10	137.84	48	2.87
LG5	134.33	47	2.86	合计 Total	1 468.12	444	3.38
LG6	178.22	57	3.18				

3 讨 论

分子遗传连锁图谱是进行作物重要性状 QTL 定位、基因图位克隆、功能分析及分子标记辅助育种研究的基础,图谱的质量取决于标记间的密度和标记分布的均匀度,标记间密度越高、标记分布越均匀的图谱,其质量就越好,应用价值也越大^[23]。与逯晓萍^[15]、卢杰等^[16]所报道的高丹草分子遗传图谱相比,本试验构建的遗传连锁图谱所用的 AFLP 分子标记数量较多(444 个),密度较高(标记间平均距离 3.38 cM),且各个连锁群上的标记分布比较均匀,说明该图谱的质量较高,可用于高丹草低氢氰酸含

量及产量等主要农艺性状的 QTL 定位研究。
偏分离是指在一个分离群体中观察到的基因型比例偏离预期的孟德尔分离定律的现象。在分子遗传连锁图谱构建过程中,常出现 DNA 分子标记偏离孟德尔分离比例的现象,如在玉米^[24]、高粱^[25]、苜蓿^[26]等多种作物上均发现了偏分离现象。一般认为,造成这种现象的主要原因是杂交过程中因染色体交换引起的结构重排、缺失、插入和突变^[27],群体类型^[28]、环境因素的不同,以及基因转化和转座子因素^[27]。但偏分离标记不会影响植物遗传连锁图谱构建的准确性^[29-30]。



*. 偏分离标记 *. Distorted marker

图 4 高丹草 LG1~LG10 共 10 个连锁群的遗传连锁图谱

Fig. 4 Genetic linkage map of *Sorghum-Sudangrass*

本试验构建的高丹草分子遗传连锁图谱中偏分离标记比率为 18.47%,符合作物遗传作图偏分离标记比率 $\leq 30\%$ 的要求^[21],且偏分离标记位点并非集中在某一个或某几个连锁群上,而是分布在各个连锁群上,因此本研究先用符合孟德尔 3:1 分离比例的正常标记作图,再将偏离标记插到图谱中,如此则不影响高丹草遗传连锁图谱的准确性。

4 结 论

从 113 对 AFLP 引物组合中筛选出了 25 对多态性丰富、重复性好、条带清晰的适宜引物,用这 25 对引物对高丹草 F_2 分离群体 305 个单株的基因组 DNA 进行扩增,得到 444 个 AFLP 分子标记位点。据此构建了一张密度较高的高丹草分子遗传连锁图谱,该图谱含 10 个连锁群,覆盖的基因组总长度为 1 468.12 cM,各连锁群的长度为 114.24~189.34 cM,标记间平均图距为 3.38 cM。

[参考文献]

- [1] 于 卓,山田敏彦. 高丹草品种主要农艺性状的比较研究 [J]. 中国草地学报,2006,28(5):1-6.
Yu Z, Toshihiko Y. Comparative research on main characteristics of pacetter varieties [J]. Chinese Journal of Grassland, 2006,28(5):1-6.
- [2] 李晓宇,于 卓,马艳红,等. 高粱雄性不育系与四种苏丹草杂种 F_1 农艺性状及细胞遗传学研究 [J]. 草地学报,2011,19(2):317-324.
Li X Y, Yu Z, Ma Y H, et al. Agronomic traits and cytogenetics of hybrid F_1 generated from male sterile line of sorghum and four kinds of *Sorghum sudanense* [J]. Acta Prataculturae Sinica, 2011,19(2):317-324.
- [3] 于 卓,马艳红,李小雷,等. 蒙农 3 号高丹草选育 [J]. 中国草地学报,2008,30(6):1-9.
Yu Z, Ma Y H, Li X L, et al. Breeding of *Sorghum bicolor* $\times$ *Sorghum sudanense* cv. Mengnong No. 3 [J]. Chinese Journal of Grassland, 2008,30(6):1-9.
- [4] 詹秋文,钱章强. 高粱与苏丹草杂种优势利用的研究 [J]. 作物学报,2004,30(1):73-77.
Zhan Q W, Qian Z Q. Heterosis utilization of hybrid between *Sorghum* [J]. Acta Agronomica Sinica, 2004,30(1):73-77.
- [5] 赵晓杰,于 卓,刘永伟,等. 高粱 314A、13A 与苏丹草杂种 F_1 代的农艺特性及细胞学分析 [J]. 西北植物学报,2005,25(6):1107-1113.
Zhao X J, Yu Z, Li Y W, et al. Agronomic traits and cytological analysis of F_1 of the male sterile *Sorghum* lines 314A and 13A, and Sudangrass [J]. Acta Botanica Boreal-Occidentalia Sinica, 2005,25(6):1107-1113.
- [6] 于 卓,宋沧海,于肖夏,等. 超低氢氰酸含量新品种-蒙农 9 号高丹草的选育 [J]. 中国草地学报,2015,37(6):14-21.
Yu Z, Song C H, Yu X X, et al. Breeding of new cultivar of *Sorghum bicolor* $\times$ *Sorghum sudanense* cv. Mengnong No. 9 with super-low HCN content [J]. Chinese Journal of Grassland, 2015,37(6):14-21.
- [7] 秦伟伟,李永祥,李春辉,等. 基于高密度遗传图谱的玉米籽粒性状 QTL 定位 [J]. 作物学报,2015,41(10):1510-1518.
Qin W W, Li Y X, Li C H, et al. QTL Mapping for kernel related traits based on a high-density genetic map [J]. Acta Agronomica Sinica, 2015,41(10):1510-1518.
- [8] Kuarta N Y, Ngamaura K, Yammaoto Y, et al. A 300 kilobase interval genetic map of rice including 883 expressed sequences [J]. Nature Genetics, 1994,8:365-372.
- [9] 陈建省,陈广凤,李青芳,等. 利用基因芯片技术进行小麦遗传图谱构建及粒重 QTL 分析 [J]. 中国农业科学,2014,47(24):4769-4779.
Chen J S, Chen G F, Li Q F, et al. Construction of genetic map using genotyping chips and QTL analysis of grain weight [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2014,47(24):4769-4779.
- [10] 赵 亮. 四倍体栽培棉种高密度遗传图谱的加密及棉花红株 R1 和茸毛 T1 基因的精细定位 [D]. 南京:南京农业大学,2012.
Zhao L. Construction of high idensity genetic map for tetraploid cultivated cotton species and fine mapping of red plant R1 and trichomes T1 in cotton [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2012.
- [11] Yu K F, Pauls K P. Rapid estimation of genetic relatedness among heterogeneous populations of alfalfa by random amplification of bulked genomic DNA samples [J]. Theoretical and Applied Genetics, 1993,86:788-794.
- [12] 谢文刚. 鸭茅分子遗传连锁图谱构建及开花基因定位 [D]. 成都:四川农业大学,2012.
Xie W G. Genetic linkage map and flowering time gene mapping in orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.) [D]. Chengdu: Sichuan Agricultural University, 2012.
- [13] 丁成龙,沈益新,顾洪如,等. 多花黑麦草遗传连锁图的构建 [J]. 草地学报,2006,14(3):223-229.
Ding C L, Shen Y X, Gu H R, et al. Construction of genetic Linkage Map in *Lolium multiflorum* [J]. Acta Prataculturae Sinica, 2006,14(3):223-229.
- [14] Donald T, Pellerone F, Adam-Blondon A F, et al. Identification of resistance gene analogs linked to a powdery mildew resistance locus in grapevine [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2002,104:610-618.
- [15] 晁晓萍. 高丹草遗传图谱构建及重要农艺性状的基因定位研究 [D]. 呼和浩特:内蒙古农业大学,2005.
Lu X P. Genetic mapping and gene localization of main agronomic characters of *Sorghum* $\times$ Sudangrass [D]. Huhhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2005.
- [16] 卢 杰,吕媛媛,李杰勤,等. 高丹草 SSR 引物设计及分子遗传框架图谱构建 [J]. 中国草地学报,2009,31(2):28-33.
Lu J, Lü Y Y, Li J Q, et al. SSR primer designing and construction of a genetic map of *Sorghum bicolor* $\times$ *S. sudanense*

- [J]. Chinese Journal of Grassland, 2009, 31(2): 28-33.
- [17] 房永雨, 于肖夏, 于卓, 等. 高丹草 10 个重要性状的 QTL 定位分析 [J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2015, 43(4): 26-34.
- Fang Y Y, Yu X X, Yu Z, et al. QTL mapping analysis of 10 important traits in *Sorghum*-Sudangrass hybrid [J]. Journal of Northwest A&F University (Nat Sci Ed), 2015, 43(4): 26-34.
- [18] Vos P, Hogers R, Bleeker M, et al. AFLP: new technique for DNA fingerprinting [J]. Nucleic Acids Research, 1995, 23(21): 4407-4414.
- [19] 于卓, 秦永梅, 赵晓杰, 等. 优质饲用作物新品种: 蒙农青饲 1 号高丹草选育 [J]. 中国草地, 2004, 26(2): 1-9.
- Yu Z, Qin Y M, Zhao X J, et al. Breeding of forage crop *Sorghum bicolor* × *Sorghum sudanese* cv. Mengnong Qingsi No. 1 [J]. Grassland of China, 2004, 26(2): 1-9.
- [20] 于肖夏. 甘薯高密度分子遗传图谱的构建和干物质含量的 QTL 定位 [D]. 北京: 中国农业大学, 2013.
- Yu X X. Development of a high-density genetic linkage map and mapping of QTLs for dry-matter content in sweetpotato, *Ipomoea batatas* (L.) Lam [D]. Beijing: China Agricultural University, 2013.
- [21] Nei M. Analysis of gene diversity in subdivided populations [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA, 1973, 70(12): 3321-3323.
- [22] 宋宪亮, 孙学振, 张天真. 偏分离对植物遗传作图的影响 [J]. 农业生物技术学报, 2006, 14(2): 286-292.
- Song X L, Sun X Z, Zhang T Z. Segregation distortion and its effect on genetic mapping in plants [J]. Journal of Agricultural Biotechnology, 2006, 14(2): 286-292.
- [23] Castiglioni P, Ajmone P, van Wijk R, et al. AFLP markers in a molecular linkage map of maize: codominant scoring and linkage group distribution [J]. Theoretical and Applied Genetics, 1999, 99: 425-431.
- [24] Lu H, Romero-Severson J, Bernardo R. Chromosomal regions associated with segregation distortion in maize [J]. Theoretical Applied Genetics, 2002, 105: 622-628.
- [25] Pereira M G, Lee M, Bramel-Cox P, et al. Construction of an RFLP map in sorghum and comparative mapping in maize [J]. Genome, 1994, 37: 236-243.
- [26] Brummer E C, Bouton J H, Kochert G. Development of an RFLP map in diploid alfalfa [J]. Theoretical Applied Genetics, 1993, 86: 329-332.
- [27] 刘孟军, Uk S Y, Woo Y B. RAPD 标记在苹果属种间杂交一代的分离方式 [J]. 园艺学报, 1998, 25(3): 214-219.
- Liu M J, Uk S Y, Woo Y B. The segregation patterns of RAPD marker in an Inter specific F₁ hybrid between *Malus domestica* cv. Fuji and *M. baccata* [J]. Acta Horticulturae Sinica, 1998, 25(3): 214-219.
- [28] Xu S J, Singh R J, Hymowitz T. Establishment of a cytogenetic map of soybean: progress and prospective [J]. Soybean Genet Newslet, 1997, 24: 121-122.
- [29] Knox M R, Ellis T H N. Excess heterozygosity contributes to genetic map expansion in pea recombinant inbred populations [J]. Genetics, 2002, 162: 861-873.
- [30] Hackett C A, Broadfoot L B. Effects of genotyping errors, missing values and segregation distortion in molecular marker data on the construction of linkage maps [J]. Heredity, 1992, 69: 315-324.