

一类桃树桃蚜抗性新种质 09 南 3-30

潘磊, 闫乐乐, 鲁振华, 曾文芳, 崔国朝, 牛良*, 王志强*

(中国农业科学院郑州果树研究所·国家桃葡萄改良中心·农业部果树育种技术重点实验室, 郑州 450009)

摘要:【目的】桃蚜(*Myzus persicae*)是春季对桃树危害最大的害虫,严重影响了桃产业的绿色健康发展。利用树体自身抗性进行桃树蚜虫防控是最为环保和经济的方式,而筛选桃树抗蚜种质资源是抗性利用的先决条件。【方法】以栽培种来源的抗蚜材料09南3-30为试材,通过抗性表型观察,结合系谱分析、遗传分析和集群分离分析(Bulk Segregant Analysis, BSA)定位的方法对该试材的新颖性进行了评价。【结果】在本研究中首次报道了一类新的栽培种抗蚜材料09南3-30。09南3-30具有强烈的趋避性桃蚜抗性,结合系谱分析表明该材料区别于以往毛桃和山桃类抗蚜材料。基于群体的遗传规律分析表明,这种抗性受到单基因或主效数量性状座位(Quantitative Trait Locus, QTL)基因控制。以桃树中桃红玉×09南3-30杂交F₁群体为试验材料,基于二代测序的BSA集群分离分析法,将该抗性定位到了桃第3号染色体的特定区段。【结论】09南3-30的抗蚜表型、结合系谱分析、遗传分析和定位分析都表明其为一类来自于桃栽培种的新型抗蚜资源。

关键词:桃树;桃蚜;抗性;新种质

中图分类号:S662.1

文献标志码:A

文章编号:1009-9980(2021)06-0895-06

09N3-30, a new peach germplasm with green peach aphid resistance

PAN Lei, YAN Lele, LU Zhenhua, ZENG Wenfang, CUI Guochao, NIU Liang*, WANG Zhiqiang*

(Zhengzhou Fruit Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences/National Peach and Grape Improvement Center/Key Laboratory of Fruit Breeding Technology of Ministry of Agriculture, Zhengzhou 450009, Henan, China)

Abstract:【Objective】Peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] is an economically important fruit tree originated from China and cultivated across the world. The green peach aphid (GPA, *Myzus persicae* Sölzer) is the major pest in peach orchards. Three times of chemical controls are usually required to control GPA epidemics effectively in the spring, resulting in the increases of the cost and the risk of food safety and ecological hazards. Using host-plant resistance to control the aphid infestation is a sustainable, eco-friendly method of pest management. New host-plant germplasms with resistance to the pest can speed up the breeding of new varieties with the resistance. To date, several wild aphid-resistant peach germplasms have been identified, such as Fen shouxing, Rubira, Weeping Flower Peach and *Prunus davidi-antha*, by Avignon Centre of French Academy of Agricultural Sciences and Zhengzhou Peach Germplasm Repository. However no cultivated peaches with the resistance to GPA has been found yet.【Methods】In this study, a new *Myzus persicae* resistant peach germplasm 09N3-30 derived from cultivated variety were created and evaluated for resistance to green peach aphids. The inheritance was analyzed and the gene was mapped by Bulk Segregant Analysis (BSA).【Results】Here, we introduced a new GPA-resistant germplasm characterized by *Myzus persicae* resistance, 09N3-30, that exhibited strong antixenosis-type resistance. However, different from previous report (*Rm1*, *Rm2*, and *Rm3*), allergic spots did not occur in the new materials after aphid infestation. We did not observe any leaf curling on GPA-resis-

收稿日期:2020-11-27 接受日期:2021-03-11

基金项目:国家自然科学基金面上项目(32071800);国家重点研发计划项目子课题(2019YFD1000801-03);中国农业科学院科技创新工程(CAAS-ASTIP-2020-ZFRI)

作者简介:潘磊,男,副研究员,研究方向为桃抗性分析生物学。Tel:0371-55001909, E-mail:panley@126.com

*通信作者 Author for correspondence. E-mail:niuliang@caas.cn; E-mail:wangzhiqiang@caas.cn

tant 09N3-30 individual or any aphid colonization in the young shoot tips in the experimental field without any chemical insecticide control against GPA. However, the opposite observation was observed on susceptible individuals, and there were large quantities of GPA colonization at leaf curling sites. After aphid inoculation, the number of aphids in resistant *Rm3* and 09N3-30 peach trees decreased to approximately half number on the second day after inoculation, and near 100% of the aphids had left within 6 days. We constructed two F₁ segregating populations to analyze the inheritance of the new trait. The largest population was produced from the combination of Zhongtaohongyue × 09N3-30, with a total of 287 individuals. The segregation of phenotypes was approximately 1:1 for resistant : susceptible ($\chi^2 = 0$ to 2.36). This segregation ratio is indicative of a trait controlled by a single dominant gene or major effect gene. To identify the causative gene for the new resistance phenotype, high-throughput specific length amplified fragment sequencing of the 2 parental lines and resistant/susceptible pools generated approximately 22.0 million high-quality short reads. The SNP-index was calculated by integrating the polymorphism of the two pools. The overlap revealed a single peak in the genomic region between Pp03:21 523 514 and Pp03:26 958 658; the GPA resistant gene was located in the 5.44 Mb region on chromosome 3. 【Conclusion】 The resistance phenotype, genetic pedigree and mapping analysis have confirmed 09N3-30 is a new germplasm resource resistant to *Myzus persicae*.

Key words: Peach; *Myzus persicae* Sölzer; Resistance; New germplasm

桃树是重要的经济林树种,我国桃树的栽培面积和产量均居世界首位^[1]。桃蚜(*Myzus persicae*)是桃树春季危害最大的害虫之一,严重影响桃产业的绿色健康发展。利用树体自身抗性进行桃树蚜虫防控是最为环保和经济的方式,开展桃树蚜虫抗性的遗传分析和基因克隆,具有重要的科学意义和育种应用价值。

自20世纪80年代以来,法国国家农业科学院(INRA)先后报道砧木桃Rubira、垂枝桃WFP、山桃P1908等抗蚜资源,并以此开展了抗性表型分析、遗传规律分析与定位、抗性相关次生代谢物分析等方面的研究^[2-4]。国内,王力荣等^[5]从国家桃种质资源圃(郑州)保存的资源中鉴定出了寿星桃类和山桃类等抗蚜材料。但是,这些筛选到的抗性种质都是桃野生近缘种或半野生材料,果实品质差,如山桃和P1908同为野生近缘种、Rubira是桃砧木品种、垂枝桃WFP和寿星桃是观赏桃品种。此外,作为木本植物,桃树生长周期长,育种改良过程中抗蚜性状的导入与纯化过程漫长,导致抗性利用十分困难。目前,世界范围内还没有商业化推广的桃树抗蚜品种。遗传分析表明,砧木Rubira、垂枝桃WFP和寿星桃的蚜虫抗性均受显性单基因调控,分别命名为*Rm1*、*Rm2*和*Rm3*^[6-8],并被定位在桃第1号染色体尾部3 Mb区段内^[9-11]。我国的山桃和法国的山桃P1908来源的抗蚜

性是同类抗性,是多位点调控的抗生性抗性。研究发现,这种抗性受到7个微效位点共同控制,其中主效调控位点位于桃第3号染色体上^[12]。

已报道的桃树抗蚜材料均来源于野生毛桃或桃近缘,新品种培育过程中蚜虫的抗性利用效率低,通常需要数代才能将这些抗性整合到现有品种中,目前还没有关于桃树栽培种来源抗蚜性状及性状定位的研究报道。笔者首次报道了一类新的抗蚜栽培种材料,以桃树中桃红玉×09南3-30(抗蚜)杂交F₁群体为试验材料,采用幼树期自然感染桃蚜的方法进行抗性鉴定,在抗蚜性遗传规律分析的基础上,进一步采用基于二代测序的集群分离分析法(Bulk Segregant Analysis, BSA)开展调控基因定位研究。研究结果初步揭示了一类桃树栽培品种来源桃蚜的抗性及其遗传规律,为桃树抗蚜育种提供新的育种材料,同时为今后桃树抗蚜机制的研究奠定基础。

1 材料和方法

1.1 试验材料

试验材料为以桃树感蚜品种中桃红玉为母本、抗蚜品系09南3-30为父本构建F₁杂交群体,包含287个单株;以桃树感蚜品系09南6-25为母本、抗蚜品系09南3-30为父本构建F₁杂交群体,包含21个单株。

1.2 抗蚜性鉴定

对杂种圃2年生桃树杂交单株自然感染蚜虫鉴定于2018年4—6月在中国农业科学院郑州果树研究所新乡试验基地的杂种苗定植圃内进行。寿星桃类抗性材料和杂交群体的抗性等级确定参考Pascal等^[10]的抗蚜表型鉴定方法和标准进行。2018年4月上旬对群体F₁代定植圃内的杂种实生苗不进行蚜虫虫害防治,任由桃蚜危害;4月中旬以后,对于仍未感蚜的株系,分别进行人工接种混合桃蚜30~50头后套上小纱网,蚜虫来自试验园感蚜株,2周后观察蚜虫对新梢的危害,重复接种过程,以使感蚜表型充分表现,确定抗蚜与感蚜表型。将统计的杂种苗枝条的感蚜比例分为5个等级(1级:=0;2级:>0~25%;3级:2:>25%~50%;4级:>50%~75%;5级:>75%)。

以中国农业科学院郑州果树研究所保存寿星桃类桃树抗蚜材料01-77-03、栽培种来源抗蚜材料09南3-30和感蚜品种中油桃13号为试材,鉴定材料是否具有对桃蚜的趋避性。试验中用到的蚜虫采自育种圃感蚜品种自然生长的健康蚜虫成虫。在2018年5月前后的蚜虫危害期进行蚜虫的人工接种处理,将15只成蚜接到桃树新梢未完全展开的新叶上,随后6 d观察新梢上蚜虫的数量变化和新梢茎部过敏性红色斑点的数量,以20个新梢作为1个处理进行统计。

1.3 重测序-BSA分析

在F₁代中分别选取极端抗蚜(5级)或极端感蚜(1级)各30株,组成2个极端性状材料混池(抗蚜植株混池为R pool,感蚜植株混池为S pool),连同2个亲本中桃红玉和抗蚜品系09南3-30的样品,提取基因组DNA,委托北京百迈客生物科技有限公司进行基因组重测序,全部样品的测序深度均为50倍基因组。参考基因组为桃lovell (https://www.rosaceae.org/gb/gbrowse/prunus_persica_v2.0.a1/)。挑选分离群体2个亲本之一为纯合、另1个亲本相同位点为杂合的多态性位点,以纯合亲本作为参考基因组,对子代混池中该多态性位点的突变频率进行计算,即SNP-index。选择1 Mb窗口进行滑动窗口计算,以20 kb为单位步长,计算窗口内的多态性位点的均值,取2个极端池中分离位点在子代的基因频率差值(Δ SNP-index)的绝对值,绘制子代混池SNP-index图^[13]。选取 Δ SNP-index前1%作为筛选的阈值,阈值外的区域为潜在候选调控基因定位区域。

2 结果与分析

2.1 栽培种来源的新型抗蚜材料09南3-30的抗蚜表型与系谱来源

感蚜品种中桃红玉在春季4—6月非常容易发生蚜虫危害,蚜虫危害严重发生时,通常表现为蚜虫在桃树幼嫩枝梢的大量着生繁殖和叶片的卷曲(图1)。寿星桃来源的抗蚜品系具有强烈的趋避性蚜虫

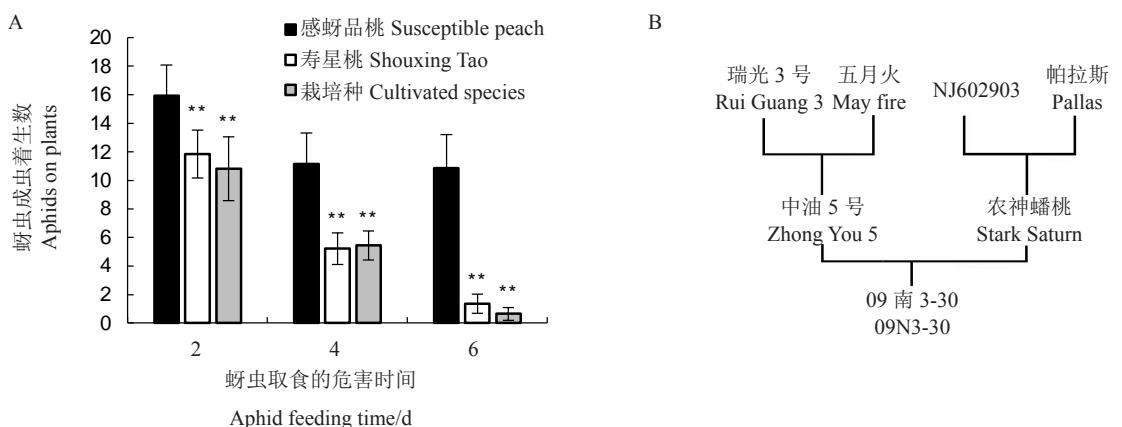


图1 栽培种来源的抗蚜材料09南3-30的蚜虫抗性表型

Fig. 1 Aphid-resistant phenotype of the aphid resistant material 09N3-30 from cultivated species

抗性(图2-A),寿星桃上外接蚜虫在4 d后有超过半数离开寄主,6 d时几乎没有蚜虫残留,而此时感蚜品种上仍有大量蚜虫存在;寿星桃抗性另外的显著特征是在蚜虫取食后的1周前后,部分叮咬部位会出现红色的过敏性坏死斑点(图1)。新的抗蚜材料09南3-30和寿星桃抗性材料一样具有强烈的趋避

性抗性(图2-A),但蚜虫叮咬取食后,未发现该材料具有与寿星桃一样的过敏性斑点(图1)。抗蚜材料09南3-30来源于中油5号和农神蟠桃的杂交组合,而中油5号的亲本为瑞光3号和五月火,农神蟠桃的亲本为NJ602903和Pallas(图2-B),这些涉及到的亲本材料中没有已知的抗蚜材料。



A. 寿星桃和栽培种来源的抗新的趋避性抗蚜表型统计;B. 栽培种来源的抗蚜材料09南3-30的来源系谱。**表示数据差异经过T检验,达到显著水平($p < 0.01$)。

A. Statistics of antixenosis resistance phenotype of Shouxing Tao and cultivar original 09N3-30; B. Origin genealogy of aphid-resistant material 09N3-30 from cultivated species sources. ** indicates statistically significant differences compared with aphid susceptible varieties at a similar stage (days after GPA treatment) using Student's T test ($p < 0.01$).

图2 栽培种来源的抗蚜材料09南3-30的趋避性抗性和来源系谱

Fig. 2 Aphid antixenosis resistance and origin genealogy of the aphid resistant material 09N3-30 from cultivated species

2.2 栽培种来源的新型抗蚜材料09南3-30的抗性遗传分离规律

为了分析栽培种来源的新型抗蚜材料抗性性状的遗传规律,对以抗蚜09南3-30作为父本的2个 F_1 分离群体进行抗性鉴定,发现群体后代抗性均呈现显著的双峰模式,即1级的抗蚜单株和5级的感蚜单株数量基本一致,并占到分离群体的大部分单株,中

间类型数量很少(图3)。如果将具有显著抗性或部分抗性的抗蚜等级在1~4级的抗感分离单株归为具有蚜虫抗性的组别,将抗性等级5级的单株归为感蚜组别,则分离群体的抗蚜和感蚜性状分离比大致为1:1(卡方检验值介于0~2.36)(表1),抗性性状的分离比例与显性单基因或主效基因调控性状的分离比例一致。

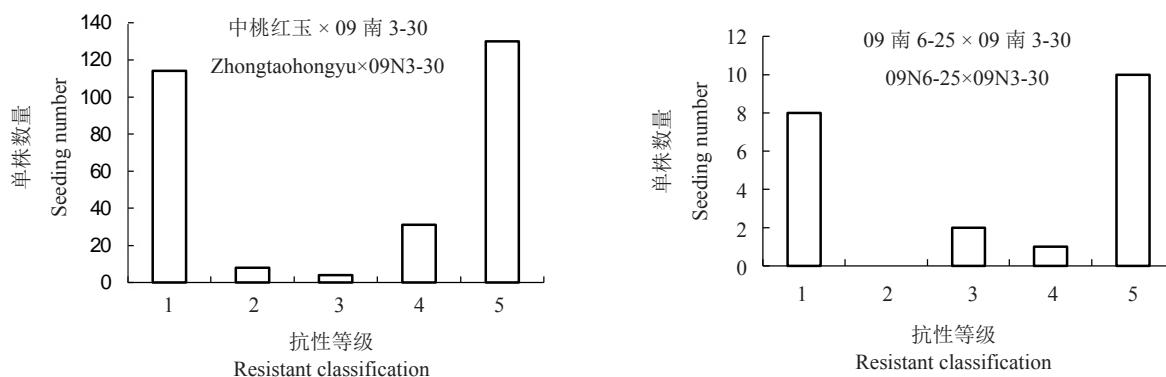


图3 栽培种来源的抗蚜性的后代分离情况

Fig. 3 Separation of aphid-resistant in F_1 population of progeny from GPA resistance from cultivated species

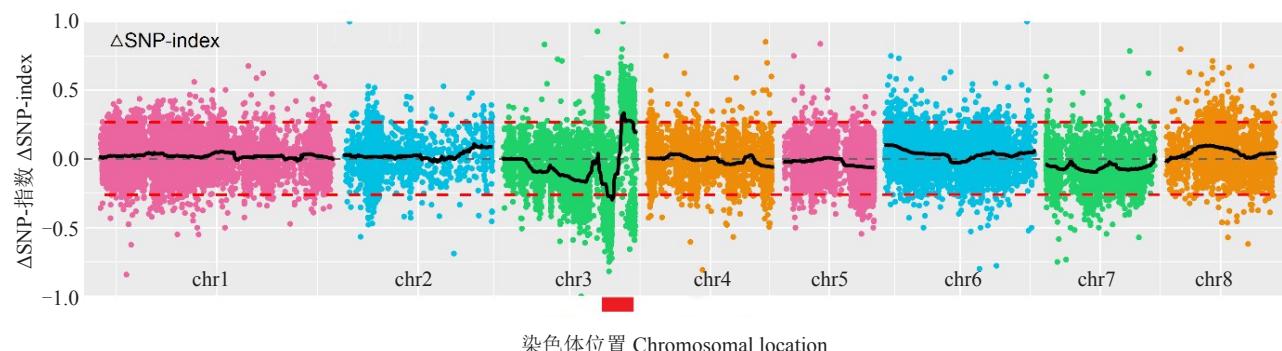
表1 栽培种来源的抗蚜材料09南3-30抗蚜性遗传
Table 1 Inheritance of GPA resistance in offspring of 09N3-30

杂交组合 Cross combination	1~4级(抗) Grade 1-4 (Resistance)	5级(感) Grade 5 (Susceptible)	理论比例 Theoretical ratio	卡方检验 Chi-square test
09南6-25×09南3-30 09N6-25×09N3-30	11	10	1:1	0.00
中桃红玉×09南3-30 Zhongtaohongyu×09N3-30	157	130	1:1	2.36

2.3 栽培种来源的桃蚜抗性的BSA混池定位分析

采用以中桃红玉和09南3-30为亲本构建的遗传分离群体为试材,根据分离单株抗性表型的鉴定结果,选取极端抗蚜单株和极端感蚜单株各40株,构建抗、感基因池,进行BSA定位分析(图4)。为了鉴定栽培种来源抗性调控位点,对2个亲本及抗感混合池进行高通量特异性片段测序,抗性亲本09南3-30平均测序深度为39倍,感蚜亲本中桃红玉的测序深度为38倍,抗性池和感性池的的测序深度分别

为75倍和61倍。在88万个多态性标记中,筛选出26.38万个单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)和5.59万个插入缺失(Indel)多态性标记,采用 Δ SNP-index定位分析方法,将该性状的调控位点关联到了第3号染色体靠近底部pp03:21 523 514和pp03:26 958 658之间,表明桃蚜抗性基因位于第3号染色体上的5.44 Mb候选区段,未发现染色体其他区段存在 Δ SNP-index较高的候选基因调控区间。



桃第3号染色体下方的红色粗线条指示BSA分析关联出的候选调控区域。3号染色体下方红色粗线指示候选区间位置,即pp03:21 523 514~pp03:26 958 658。

The bold red line below chromosome 3 indicates the candidate regions associated with aphid-resistance. The red thick line below chromosome 3 indicates the candidate interval location, pp03:21 523 514 to pp03:26 958 658.

图4 栽培种来源的抗蚜材料09南3-30抗蚜性状的BSA定位分析

Fig. 4 BSA mapping analysis of aphid-resistant traits for 09N3-30

3 讨 论

桃树抗蚜种质资源的鉴定筛选是抗性利用的先决条件,目前国内已经鉴定的桃树抗蚜资源主要包括两大类型:第1种类型为野生毛桃来源的抗蚜材料,包括法国的垂枝花桃WFP^[6]、砧木桃Rubira^[7]和我国的寿星桃^[8],这类材料具有相似的桃蚜抗性表现,包括强烈的趋避性和蚜虫取食后的过敏性反应,并且抗性调控基因定位区间重合^[8,10-11],推测可能是同类桃蚜抗性;第2种类型为山桃来源的抗蚜材料,分别为法国的山桃P1908^[4]和中国的山桃类材料^[5]。已经发现桃中的抗蚜种质材料都是野生或半野生材料,使得抗蚜材料的育种应用非常不便,需要

进行多代的回交才能去除野生材料携带的劣质基因,桃品种改良过程中急需更加便于利用的抗性材料。笔者报道的新型抗蚜材料09南3-3,从蚜虫取食后产生过敏性红色斑点反应的角度,可以发现09南3-30与野生毛桃来源的第1种类型抗蚜材料的明显区别;而结合09南3-30的系谱来源分析,发现该材料与山桃类材料也没有亲缘关系,09南3-30的亲本材料为推广品种中油5号和农神蟠桃,这2个亲本均未见有抗性存在的相关报导,表明09南3-30具有不同于前人报道的毛桃或山桃来源的桃蚜抗性,是一种新的抗蚜材料。

遗传分析表明,砧木Rubira、垂枝桃WFP和寿星桃具有的蚜虫抗性均呈现显性单基因调控规律,

并且分别命名为 *Rm1*、*Rm2* 和 *Rm3*^[6-8]。此前, *Rm1*、*Rm2* 和 *Rm3* 基因均被遗传定位在桃第 1 号染色体尾部 1 个 3 Mb 染区段内^[8,10-11]。由此推测寿星桃、砧木 Rubira 和垂枝桃 WFP 的抗性为相同类型, *Rm1*、*Rm2* 和 *Rm3* 可能为第 1 号染色体末端的相同基因。我国的山桃和法国的山桃 P1908 的抗蚜性是同类抗性, 是多位点调控的抗生性抗性。根据抗性的来源, 国内的山桃和国外的山桃 P190 应为同种抗性种质。山桃 P1908 对桃蚜的抗性由数量性状位点控制, 研究发现这种抗性受到 7 个微效位点共同控制^[12]。通过对栽培种来源抗蚜材料 09 南 3-30 的遗传分析和 BSA 定位的初步结果, 证实这种抗性为 3 号染色体上的单基因或主效基因位点调控, 并且 BSA 定位只能检测到 3 号染色体上这 1 个效应位点, 从抗性调控基因定位的结果, 也能将栽培种来源 09 南 3-30 抗蚜性与 1 号染色体末端的 *Rm1*、*Rm2* 和 *Rm3* 调控的抗蚜性和山桃 7 个微效位点调控的抗蚜性区别开。09 南 3-30 抗蚜材料的亲本中没有野生种或桃近缘种材料, 本身经济性状接近栽培品种, 与野生抗蚜种质山桃和寿星桃比, 更加容易被育种利用, 育种应用价值也更突出。本研究得到一类新的栽培种来源抗蚜材料 09 南 3-30, 并对其抗性表型和遗传规律进行描述和对比分析, 从分子遗传学角度揭示该类抗蚜性的调控机制将成为下一步的研究重点, 该材料抗蚜性调控基因的发掘和抗蚜性桃新品种培育具有重要理论和实践意义。

4 结 论

栽培种来源的抗蚜材料 09 南 3-30 具有强烈的趋避性桃蚜抗性, 但蚜虫叮咬后 09 南 3-30 没有寿星桃类似的过敏性斑点出现。结合系谱来源进行分析能够排除 09 南 3-30 与寿星桃和山桃间的亲缘关系, 显示其确实为栽培种来源新的桃蚜虫抗性类型。09 南 3-30 材料的抗蚜性应该为显性单基因或主效基因控制, 且调控基因位于第 3 号染色体上。

参考文献 References:

- [1] 中华人民共和国农业部. 中国农业年鉴 2015[M]. 北京: 中国农业出版社, 2015.
Ministry of Agriculture, People's Republic of China. Agricultural Yearbook of China 2015[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2015.
- [2] MASSONIÉ G, MAISON P, MONET R, GRASSELY C. Résistance au puceron vert du pêcher, *Myzus persicae* Sülzer (*Homop-tera aphididae*) chez *Prunus persica* L. Batsch. et d'autres espèces de *Prurru*s[J]. Agronomie, 1982, 2(1): 63-70.
- [3] MONET R, MASSONIÉ G. Déterminisme génétique de la résistance au puceron vert (*Myzus persicae*) chez le pêcher. Résultats complémentaires[J]. Agronomie, 1994, 14(3): 177-182.
- [4] SAUGE M H, KERVELLA J, PASCAL T. Settling behaviour and reproductive potential of the green peach aphid *Myzus persicae* on peach varieties and a related wild *Prunus*[J]. Entomologia Experimentalis et Applicata, 1998, 89(3): 233-242.
- [5] 王力荣, 朱更瑞, 方伟超, 左覃元, 韩立新. 桃种质资源对桃蚜的抗性评价[J]. 果树学报, 2001, 18(3): 145-147.
WANG Lirong, ZHU Gengrui, FANG Weichao, ZUO Qingyuan, HAN Lixin. Evaluation of resistance of peach germplasm resources to peach aphid[J]. Journal of Fruit Science, 2001, 18(3): 145-147.
- [6] SAUGE M H, LACROZE J P, P POËSSEL J L, PASCAL T, KERVELLA J. Induced resistance by *Myzus persicae* in the peach cultivar 'Rubira' [J]. Entomologia Experimentalis et Applicata, 2002, 102(1): 29-37.
- [7] SAUGE M H, MUS F, LACROZE J P, PASCAL T, KERVELLA J, POËSSEL J L. Genotypic variation in induced resistance and induced susceptibility in the peach *Myzus persicae* aphid system [J]. Oikos, 2006, 113(2): 305-313.
- [8] 牛良, 鲁振华, 曾文芳, 崔国朝, 潘磊, 徐强, 李国怀, 王志强. '粉寿星' 对桃绿蚜抗性的遗传分析[J]. 果树学报, 2016, 33(5): 578-584.
NIU Liang, LU Zhenhua, ZENG Wenfang, CUI Guochao, PAN Lei, XU Qiang, LI Guohuai, WANG Zhiqiang. Genetic analysis of resistance of 'Fen Shouxing' to peach green aphid[J]. Journal of Fruit Science, 2016, 33(5): 578-584.
- [9] LAMBERT P, CAMPOY J A, PACHECO I, MAUROUX J B, LINIGE C D S, MICHELETTI D, BASSI D, ROSSINI L, DIRLEWANGER E, PASCAL T, TROGGIO M, ARANZANA M J, PATOCCHI A, ARÚS P. Identifying SNP markers tightly associated with six major genes in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] using a high-density SNP array with an objective of marker-assisted selection (MAS)[J]. Tree Genetics & Genomes, 2016, 12(6): 1-21.
- [10] PASCAL T, ABERLENC R, CONFOLENT C, HOERTER M, LECERF E, TUÉRO C. Mapping of new resistance (*Vr2*, *Rm1*) and ornamental (*Di2*, *p1*) Mendelian trait loci in peach[J]. Eu-phytica, 2017, 213(6): 49-52.
- [11] NIU L, PAN L, ZENG W F, LU Z H, CUI G C, FAN M L, XU Q, WANG Z Q, LI G H. Dynamic transcriptomes of resistant and susceptible peach lines after infestation by green peach aphids (*Myzus persicae* Sülzer) reveal defence responses controlled by the *Rm3* locus[J]. BMC Genomics, 2018, 19(1): 846.
- [12] SAUGE M H, LAMBERT P, PASCAL T. Co-localisation of host plant resistance QTLs affecting the performance and feeding behaviour of the aphid *Myzus persicae* in the peach tree[J]. Heredity, 2012, 108(5): 292-301.
- [13] TAKAGI H, ABE A, YOSHIDA K, KOSUGI S, NATSUME S, MITSUOKA C, UEMURA A, UTSUSHI H, TAMIRU M, TAKUNO S, INNAN H, CANO L, KAMOUN S, TERAUCHI R. QTL-seq: rapid mapping of quantitative trait loci in rice by whole-genome resequencing of DNA from two bulked populations[J]. Plant Journal, 2013, 74(1): 174-183.