

基于西双版纳黄瓜的遗传图谱构建 及其重要农艺性状 QTL 定位分析

马 政, 薄凯亮, 李 蕾, 钱春桃, 陈劲枫

(南京农业大学园艺学院/作物遗传与种质创新国家重点实验室, 南京 210095)

摘要:【目的】以西双版纳黄瓜与北京截头黄瓜为亲本构建的 F_9 重组自交系群体为作图材料进行遗传图谱的构建, 并对叶绿素含量、果实大小、侧枝多少及其第一分枝节位等重要农艺性状进行 QTL 定位分析, 为黄瓜品种的选育及高产、稳产育种提供有益参考和帮助。【方法】以北京截头黄瓜与西双版纳黄瓜为亲本杂交得到 F_1 , 之后按单粒传方式得到含有 124 个 F_9 重组自交系 (RILs) 群体。以该 F_9 重组自交系 (RILs) 群体为作图群体, 以 995 对 SSR 标记为筛选引物, 采用 joinmap4.0 软件进行遗传图谱的构建。并利用构建的遗传图谱, 采用 WinQTLcart2.5 软件复合区间作图法, 结合统计的叶片叶绿素含量, 商品瓜的瓜长、瓜粗, 种瓜的瓜长、瓜粗、瓜把, 以及侧枝数、第一分枝节位等相关的共 12 个黄瓜重要农艺性状的 QTL 位点进行检测。【结果】构建了含有 7 个连锁群, 137 个 SSR 标记的遗传图谱, 图谱总长 591.2 cM, 平均图距为 4.3 cM; 共检测到与 12 个黄瓜农艺性状相关的 QTL 位点 29 个, 分布在第 1、2、3、4、6、7 染色体上。其中, 叶绿素性状相关的 QTL 有 6 个, 商品瓜性状相关的 QTL 有 7 个, 种瓜性状相关的 QTL 有 9 个, 侧枝性状相关的 QTL 有 7 个, 单个 QTL 位点的可解释的表型变异范围为 5.30%—19.24%。Ldr4.2 的贡献率最小, 为 5.30%, Lbn1.2 的贡献率最大, 为 19.24%。【结论】构建了西双版纳黄瓜 RIL 群体遗传图谱, 并对叶片叶绿素含量、果实及侧枝等相关的 12 个农艺性状进行了 QTL 定位分析, 共获得 29 个相关 QTL。

关键词: 黄瓜; 遗传图谱; 农艺性状; QTL

QTL Mapping and Analysis of the Important Agronomic Traits of BeijingjietouxXishuangbanna Cucumber Recombinant Inbred Lines

MA Zheng, BO Kai-liang, LI Lei, QIAN Chun-tao, CHEN Jin-feng

(College of Horticulture, Nanjing Agricultural University/State Laboratory for Crop Genetics and Germplasm Enhancement, Nanjing 210095)

Abstract: 【Objective】A genetic map was constructed using Xishuangbanna cucumber (*Cucumis sativus* L. var. *xishuangbannanensis* Qi et Yuan) recombinant lines and QTLs associated with yield, chlorophyll content, fruit related traits, the lateral branch number and the first lateral branch node were identified. These results will be beneficial and helpful to cucumber plant selection and high yield breeding. 【Method】Using JoinMap 4.0 software, a genetic linkage map based on 995 SSR primers data from 124 F_9 recombinant inbred lines, derived from Beijingjietou cucumber and Xishuangbanna cucumber by using single seed descend method, was constructed. Using WinQTLcart2.5 software, QTLs associated with 12 cucumber traits related to chlorophyll content, fruit lengths, fruit diameters, length of fruit for seed harvest, diameter of fruit for seed harvest, stalk lengths of fruit for seed harvest, and lateral branch, the first lateral branch node were mapped. 【Result】The linkage map consisted of 137 SSR (simple sequence repeat) markers, 7 linkage groups that spanned 591.2 cM with an average distance of 4.32 cM. A total of twenty-nine QTLs for the 12 cucumber traits were detected, and 6, 7, 9 and 7 QTLs for chlorophyll content characters, commercial fruit, mature fruit and lateral branch traits were

收稿日期: 2013-07-17; 接受日期: 2013-11-27

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30972007)

联系方式: 马政, E-mail: myz162@163.com. 通信作者陈劲枫, E-mail: jfchen@njau.edu.cn. 通信作者钱春桃, E-mail: chuntaoq@njau.edu.cn

detected, respectively. These QTLs were mapped on chromosomes 1, 2, 3, 4, 6 and 7, respectively. The QTLs explained 5.30%-19.24% of the phenotypic variation. The minimum contribution rate of *Ldr4.2* is 5.30%, the maximum contribution rate of *Lbn1.2* is 19.24%. **【Conclusion】** The results of QTL analysis on the 12 cucumber traits will provide a basis for gene fine mapping to unravel the genetic basis of yield related traits in cucumber. Moreover, the obtained genetic linkage map of this RIL population could be used for analysis of other important cucumber traits.

Key words: cucumber; genetic map; agronomic traits; QTL

0 引言

【研究意义】 黄瓜 (*Cucumis sativus* L.) 是中国重要蔬菜作物之一, 而西双版纳黄瓜 (*C. sativus* var. *xishuangbannanensis* Qi et Yuan) 是中国特有的一个黄瓜变种, 具有生长势强、侧枝数多、叶色浓绿、果型粗大等特点, 在黄瓜优质、高产育种中具有巨大潜能^[1]。利用以西双版纳黄瓜为亲本构建的群体, 对叶绿素含量相关性状 (叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素总量)、果实相关性状 (商品瓜瓜长、瓜粗、瓜长/粗、种瓜长、种瓜粗、种瓜把长及种瓜长/粗) 及侧枝相关性状 (侧枝数、第一分枝节位) 等重要农艺性状进行 QTL 定位研究, 能够为高产、稳产育种及新品种的选育提供有益的参考和帮助, 同时也为进一步进行精细定位的研究奠定了基础。**【前人研究进展】** 国内外学者对黄瓜果实相关性状进行了较多的 QTL 定位研究, 对侧枝相关性状 QTL 定位研究相对较少, 对黄瓜叶片叶绿素含量相关性状 QTL 定位的研究却未见报道, 而已有的研究报道均未涉及到西双版纳黄瓜。迄今为止, 国内外研究人员共获得与黄瓜商品瓜的瓜长相关的 QTL 位点 31 个^[2-10], 瓜粗相关的 QTL 位点 22 个^[2,3,5-12], 瓜长/瓜粗相关的 QTL 位点 34 个^[2-3,5,7-10], 瓜把相关的 QTL 位点 17 个^[2-3,5-6,13-15]; 与黄瓜种瓜的种瓜长相关的 QTL 位点 3 个^[5], 种瓜粗相关的 QTL 位点 5 个^[5]; 与黄瓜植株侧枝数相关的 QTL 位点 34^[2,7,12,16] 个, 第一分枝节位相关的 QTL 位点 10 个^[16]。**【本研究切入点】** 现有研究表明, 黄瓜果实相关性状研究较多, 但主要集中在商品瓜性状方面, 侧枝与叶绿素相关性状报道较少或未见报道。薄凯亮等^[17] 曾对西双版纳黄瓜 RIL 群体侧枝、果实等相关农艺性状进行了遗传分析, 但未进行 QTL 定位分析。**【拟解决的关键问题】** 本研究以西双版纳黄瓜北京截头黄瓜为亲本构建的 RIL 群体为作图材料, 利用 SSR 标记构建遗传图谱, 对黄瓜叶片叶绿素含量、果实及侧枝等 12 个相关农艺性状进行 QTL 定位, 为相关性状的分子标记辅助育种和精细定位的研究奠定基础。

1 材料与方 法

1.1 材料

西双版纳黄瓜由陈劲枫教授采自中国云南省西双版纳地区, 叶色浓绿, 耐弱光, 侧枝生长势较强, 果实粗短, 果肉为橙色, 实验室自交保存。

北京截头黄瓜属于华北型黄瓜, 叶色深绿, 侧枝生长势较弱, 果型细长, 果肉为白色, 实验室自交保存。

124 个重组自交系 (RIL) 群体: 西双版纳黄瓜作父本, 北京截头黄瓜作母本, 杂交得到 F_1 , 之后按单粒传方式获得, 已达到 F_9 。

1.2 连锁图谱构建

引物序列信息来源于全黄瓜基因组测序开发的 995 对 SSR 引物^[18], 均匀的分布于黄瓜基因组的 7 条染色体上, 由上海英潍捷基贸易有限公司合成。

采用改良 CTAB 法提取 DNA。PCR 反应体系为 $10 \times$ PCR Buffer 2.0 μ L、dNTP (2.5 mmol·L⁻¹) 1.5 μ L, Primer Pair (20 mmol·L⁻¹) 各 1.0 μ L、MgCl₂ (25 mmol·L⁻¹) 1.2 μ L、Taq 酶 (5 U· μ L⁻¹) 0.2 μ L、DNA (10 ng) 1.0 μ L, ddH₂O 补充至 20 μ L。反应程序为 94 5 min ;94 30 s ,55—60 30 s ,72 1 min 20 s , 35 个循环 ;72 5 min , 4 保存。

聚丙烯酰胺凝胶电泳后, 银染法显色统计。条带标记如下: a、b 分别表示与父母本相同的条带, h 表示与父母本皆不同的杂带, -表示模糊不清或丢失的带。对所有的 RILs 单株带型进行 χ^2 检验, 判断偏离标记, 采用 JoinMap4.0 (LOD =3) 软件构建遗传图谱。

1.3 试验设计与性状调查

试验于 2012 年春季进行, 4 月 9 日定植于南京农业大学江浦试验站, 起垄覆膜栽培, 行距 85 cm, 株距 35 cm, 采用滴水灌溉, 常规栽培管理。

1.3.1 叶绿素含量统计 按照改进的 Arnon^[19] 分光光度计法测定叶片叶绿素含量。待植株长到始花期时, 用直径为 0.8 cm 打孔器打取植株从上往下数第四片展

开叶放于 10 mL 95%乙醇离心管中, 3 次重复。用遮光布将离心管遮光后放于暗处 20 h 左右, 中间摇晃几次离心管, 保证叶片中叶绿素的溶解。待叶片由绿色变白时, 将浸取液摇匀, 使用 Spectrum752 型分光光度计测定。测定 470、649 和 665 nm 3 个波段下的 OD 数据, 并依照以下公式计算叶绿素浓度, 其中, Ca、Cb 分别表示叶绿素 a 和叶绿素 b 的浓度值, 叶绿素总量为叶绿素 a 与叶绿素 b 含量值的和:

$$Ca=13.95 \times OD_{665} - 6.88 \times OD_{649}$$

$$Cb=24.96 \times OD_{649} - 7.32 \times OD_{665}$$

叶绿素含量的计算公式: 叶绿体色素含量 ($\text{mg} \cdot \text{cm}^{-2}$) = $(C_x \times V) / S$ 。其中, C_x 表示上面所求得的浓度值, V 表示提取液体积, S 表示打取叶片的面积。

1.3.2 果实及侧枝相关性状统计 果实相关性状及侧枝相关性状的测定方法参照《黄瓜种质资源描述规范和数据标准》^[20], 具体如下:

瓜长 (fruit lengths, Fl), 正常商品瓜瓜蒂至瓜顶的长度 (单位: cm), 精确到 0.1 cm;

瓜粗 (fruit diameters, Fd), 正常商品瓜 1/2 处的横径 (单位: cm), 精确到 0.1 cm;

瓜长/瓜粗 (fruit length/diameter ratio, Ldr), 正常商品瓜瓜长与瓜横径比;

种瓜长 (length of fruit for seed harvest, Sfl), 正常种瓜瓜蒂至瓜顶长度 (单位: cm), 精确到 0.1 cm;

种瓜粗 (diameter of fruit for seed harvest, Sfd), 正常种瓜 1/3 处的横径 (单位: cm), 精确到 0.1 cm;

种瓜长/粗 (length/diameter ratio of fruit for seed harvest, Sldr), 正常种瓜瓜长与瓜横径比;

种瓜把长 (stalk lengths of fruit for seed harvest, Sfsl), 正常商品瓜种子腔底部至瓜把顶端距离 (单位: cm), 精确到 0.1 cm;

分枝数 (the lateral branch number, Lbn), 结果盛期, 分枝长度大于或等于 5 cm, 且有两片完全展开叶的一级侧枝的总数, 单位为个;

第一分枝节位 (the first lateral branch node, Flbn), 子蔓长度大于或等于 5 cm, 且有两片完全展开叶的第一个分枝节位。

1.4 统计分析 & QTL 定位分析

采用 Microsoft[®] Excel 2003 软件进行数据统计分析。用 WinQTLcart2.5 软件进行 QTL 分析, 采用复合区间定位法进行 QTL 定位。利用 Permutation 检验法作 1 000 次重复检验, 估算基因组范围内 $\alpha=0.05$ 水平上的 LOD 阈值; 选用 2 cM 的步长, 背景标记为 5,

窗口大小为 10 cM。利用 LOD2.3 为阈值判断 QTL 是否存在, 当 $\text{LOD} > 2.3$ 时, 认为该区间 LOD 峰值所对应位点为该性状的 1 个 QTL。QTL 命名规则如下: 性状的英文缩写+连锁群号+QTL 在连锁群上的编号, 其中, 连锁群编号和 QTL 连锁群上的编号之间用“.”隔开。比如: *Chla4.1*, 表示叶绿素 a (Chla) 在第 4 连锁群上的第 1 个 QTL 位点。

2 结果

2.1 遗传图谱的构建

利用亲本北京截头黄瓜和西双版纳黄瓜进行多态性引物的筛选, 995 对 SSR 引物中, 243 对表现出多态性, 占总引物的 24.4%。将 243 对亲本多态性引物全部用于重组自交系群体的多态性引物筛选, 除去扩增条带差异性不明显或条带模糊不清的引物, 获得 179 对可用群体多态性 SSR 引物, 占总引物的 17.39%。经 χ^2 检验, 41 个标记位点在 $P = 0.05$ 水平上表现偏分离, 偏分离率为 22.9%。先将偏分离标记全部去除后作图, 之后逐个添加, 根据添加后对图谱的影响大小决定是否去除, 结果 26 个偏分离标记对图谱影响较大, 决定去除。最终, 构建了一张含有 7 个连锁群, 137 个 SSR 标记的遗传图谱 (图 1)。对比 SSR 标记与黄瓜染色体的对应关系, 显示该 7 个连锁群与黄瓜的 7 条染色体相对应。遗传图谱总长度为 591.2 cM, 平均图距为 4.3 cM, 每个连锁群含有的标记数在 6—29 个, 其中, 第 7 连锁群上的标记数最少, 仅有 6 个, 长度为 26.5 cM, 标记间平均间距为 4.4 cM; 第 6 连锁群上的标记数为 29 个, 长度为 100.4 cM, 标记间平均间距最小, 为 3.4 cM; 第 4 连锁群上的标记数为 15 个, 标记间平均间距最大, 为 5.73 cM (表 1)。

表 1 西双版纳黄瓜群体遗传图谱各连锁群参数

Table 1 Basic parameters of the Xishuangbanna cucumber population linkage groups

连锁群	标记数	长度	平均间距
LG	No. of markers	Length (cM)	Average (cM)
1	29	109.1	3.7
2	18	82.6	4.5
3	23	97.5	4.2
4	15	85.9	5.7
5	17	89.2	5.2
6	29	100.4	3.4
7	6	26.5	4.4
总计 Total	137	591.2	4.3

2.2 遗传分析

叶绿素含量相关性状(叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素总量)、商品瓜相关性状(瓜长、瓜粗、瓜长/粗)、老瓜相关性状(种瓜长、种瓜粗、种瓜长/粗、种瓜把长)及侧枝相关性状(侧枝数、第一分枝节位)等 12 个黄瓜农艺性状的统计分析见表 2。数据结果显示, 12 个黄瓜农艺性状在 RIL 群体中表现出广泛变异, 有些性状变异范围较大, 如瓜长变异范围为 5.2—27.1, 种瓜长变异范围为 7.2—54.0, 侧枝数变异范围为 0—16.3; 也有性状亲本值高于 RIL 群体值, 如西双版纳

黄瓜各叶绿素相关性状的含量值均高于 RIL 群体中的含量值, 北京截头黄瓜的瓜长和种瓜长高于 RIL 群体中的瓜长和种瓜长。

分别对各性状的偏度与峰度值进行了分析。除种瓜把长的峰度值高于 2 外, 其余各性状的偏度峰度值的绝对值均小于 2, 符合正态分布的特征, 峰度值高于 2 说明其符合偏正态分布。结合各性状柱形分布图表现情况, 证明所统计的 12 个黄瓜农艺性状均属于数量性状遗传, 适合进行 QTL 定位研究。

通过对各统计性状间的相关性分析(表 3), 可

表 2 亲本和 RIL 群体性状表现

Table 2 Phenotypic performance of the RIL population and the parental lines

性状 Traits	亲本 Parents		RIL 群体 RIL population			
	西双版纳黄瓜	北京截头黄瓜	平均值 Mean	变异范围 Range	峰度 Skewness	偏度 Kurtosis
	Xishuangbanna cucumber	Beijingjietou cucumber				
叶绿素 a Chla	13.0	11.9	9.2	7.1—12.7	1.10	0.42
叶绿素 b Chlb	5.5	5.2	3.7	2.7—5.1	0.78	0.39
叶绿素总量 Chlt	18.5	17.1	12.9	9.8—17.9	1.11	0.42
瓜长 Fl	10.3	35.7	15.7	5.2—27.1	-0.34	0.11
瓜粗 Fd	2.9	3.2	3.0	1.1—4.6	-0.38	0.09
瓜长/瓜粗 Ldr	3.5	11.2	5.5	2.8—9.5	-0.53	0.34
种瓜长 Sfl	25.9	60.1	31.4	7.2—54.0	0.66	0.35
种瓜粗 Sfd	11.5	6.5	7.3	4.7—11.9	0.93	0.53
种瓜长/粗 Sfldr	2.3	9.2	4.4	0.5—8.8	0.94	0.36
种瓜把长 Sfsl	3.2	7.1	4.0	1.4—10.8	2.67	1.37
侧枝数 Lbn	10.8	2.0	4.8	0—16.3	-0.34	0.63
第一分枝节位 Flbn	3.0	5.0	3.3	0—10.0	-0.08	0.27

表 3 各农艺性状在 RIL 群体中的相关分析

Table 3 Correlation analysis of the agronomic traits in the RIL population

性状 Traits	Chla	Chlb	Chlt	Fl	Fd	Ldr	Sfl	Sfd	Sfldr	Lbn	Flbn	
Chla	1											
Chlb	0.894	1										
Chlt	0.991	0.947	1									
Fl	-0.148	-0.101	-0.137	1								
Fd	-0.106	0.012	-0.072	0.355	1							
Ldr	-0.091	-0.159	-0.114	0.634	-0.463	1						
Sfl	-0.258	-0.290	-0.273	0.538	-0.050	0.557	1					
Sfd	-0.069	-0.068	-0.070	-0.025	0.308	-0.263	0.146	1				
Sfldr	-0.214	-0.251	-0.230	0.292	0.008	0.272	0.517	0.507	1			
Lbn	-0.183	-0.211	-0.195	0.519	-0.224	0.679	0.791	-0.465	0.157	1		
Flbn	0.164	0.150	0.163	-0.158	0.092	-0.213	-0.254	-0.108	-0.254	-0.152	1	
	-0.026	-0.003	-0.019	0.079	0.036	0.028	0.056	0.042	0.124	0.008	0.171	1

以看出叶绿素相关性状间的相关性较高，叶绿素总量与叶绿素 a 的相关系数达到 0.991, 但仅与植株侧枝数成正相关。说明黄瓜植株始花期叶绿素含量对果实大小影响不大，对植株的生长有一定的影响。

2.3 叶绿素相关性状的 QTL 分析

以 LOD2.3 作为 QTL 位点阈值，对统计的 12 个黄瓜农艺性状进行 QTL 检测 (图 1)。结果显示，在

RIL 群体中共检测到与这些性状相关的 QTL 位点 29 个，分布在第 1、2、3、4、6、7 染色体上。其中，与叶绿素含量相关性状的 QTL 位点 6 个，果实相关 (包括商品瓜和种瓜) QTL 位点 16 个，侧枝相关的 QTL 位点 7 个。单个 QTL 位点的贡献率在 5.30%—19.24%，贡献率大于等于 10% 的为主效 QTL 位点有 17 个，占总 QTL 位点的 58.62% (表 4)。

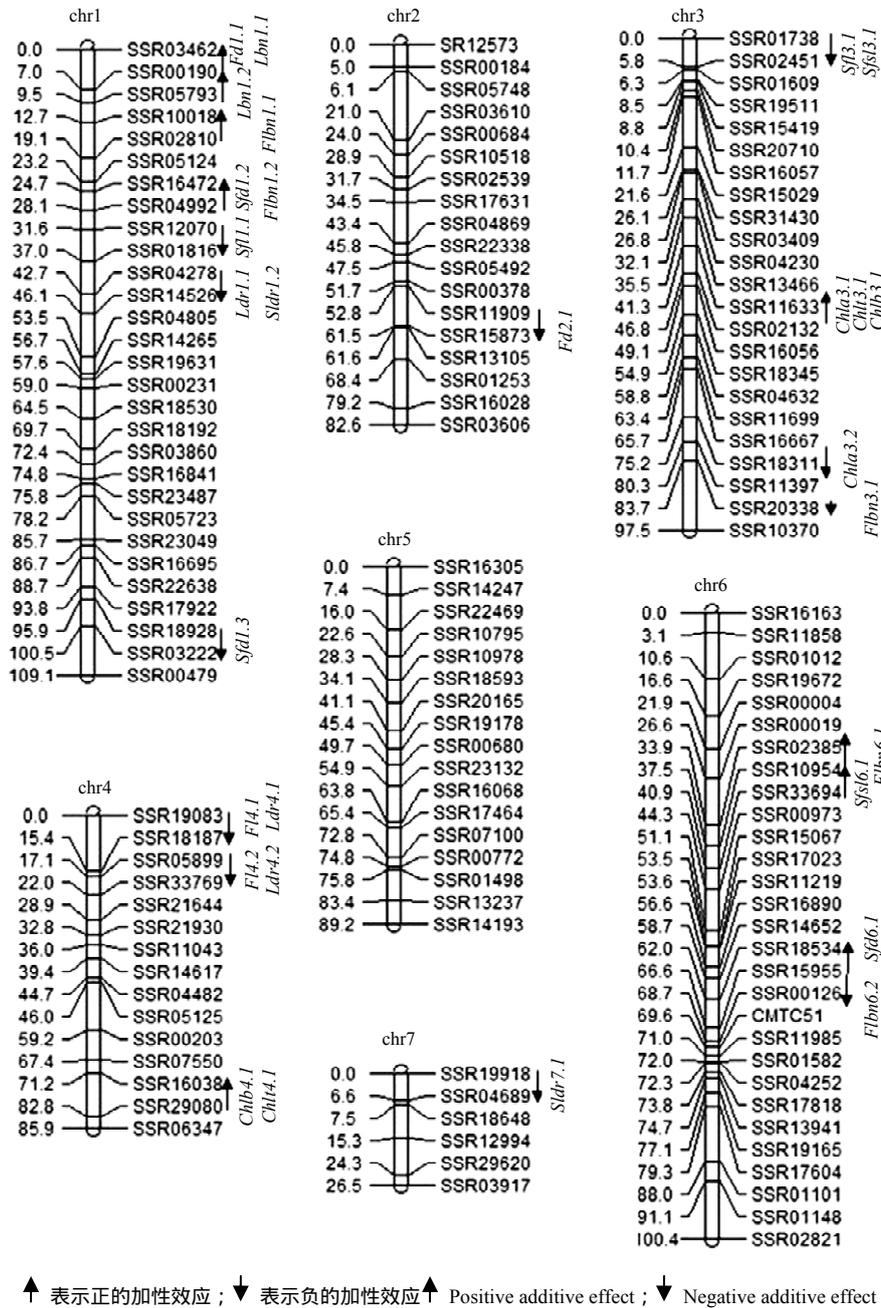


图 1 西双版纳黄瓜 RIL 群体连锁群及其农艺性状的 QTL 定位

Fig. 1 Linkage groups of Xishuangbanna cucumber RIL population and QTLs mapping of the important agronomic traits

表 4 西双版纳黄瓜各性状在 RIL 群体的 QTL 定位

Table 4 QTL analysis of Xishuangbanna cucumber traits in RIL population

性状 Trait	QTL	LG Linkage group	位置 cM	标记区间 Marker interval	LOD	贡献率 R^2 (%)	加性效应 Additive Effect
叶绿素 a Chla	<i>Chla3.1</i>	3	41.3	SSR13466—SSR02132	3.78	13.61	1.11
	<i>Chla3.2</i>	3	75.2	SSR16667—SSR11397	2.38	8.63	-0.88
叶绿素 b Chlb	<i>Chlb3.1</i>	3	41.3	SSR13466—SSR02132	2.93	10.45	0.38
	<i>Chlb4.1</i>	4	73.2	SSR16038—SSR28080	3.45	18.22	0.64
叶绿素总量 Chlt	<i>Chlt3.1</i>	3	41.3	SSR13466—SSR16056	2.91	10.38	1.30
	<i>Chlt4.1</i>	4	73.2	SSR07550—SSR28080	3.27	17.67	2.18
瓜长 Fl	<i>Fl4.1</i>	4	14.0	SSR19083—SSR18187	2.38	8.51	-2.16
	<i>Fl4.2</i>	4	21.1	SSR05899—SSR33769	3.97	12.69	-2.66
瓜粗 Fd	<i>Fd1.1</i>	1	4.0	SSR03462—SSR00190	2.48	10.18	0.46
	<i>Fd2.1</i>	2	58.8	SSR11909—SSR15873	2.33	9.06	-0.40
瓜长/粗 Ldr	<i>Ldr1.1</i>	1	44.7	SSR04278—SSR14526	5.54	16.62	-1.11
	<i>Ldr4.1</i>	4	12.0	SSR19083—SSR18187	2.35	8.81	-0.76
	<i>Ldr4.2</i>	4	17.1	SSR05899—SSR33769	3.96	5.30	-0.96
种瓜长 Sfl	<i>Sfl1.1</i>	1	35.7	SSR12070—SSR01816	2.4	8.72	-4.53
	<i>Sfl3.1</i>	3	2.0	SSR01738—SSR02451	3.62	11.30	-4.43
种瓜粗 Sfd	<i>Sfd1.2</i>	1	28.1	SSR16472—SSR04992	2.34	7.53	0.76
	<i>Sfd1.3</i>	1	99.9	SSR18928—SSR03222	2.43	8.27	-0.80
	<i>Sfd6.1</i>	6	66.6	SSR15955—SSR00126	2.35	7.61	0.75
种瓜把长 Sfs1	<i>Sfs13.1</i>	3	2.0	SSR01738—SSR02451	3.72	11.87	-0.72
	<i>Sfs16.1</i>	6	39.5	SSR10954—SSR33694	2.41	8.90	0.61
种瓜长/粗 Sldr	<i>Sldr1.2</i>	1	44.7	SSR04278—SSR14526	6.42	18.79	-0.81
	<i>Sldr7.1</i>	7	6.6	SSR19918—SSR04689	2.33	6.39	-0.48
侧枝数 Lbn	<i>Lbn1.1</i>	1	4.0	SSR03462—SSR00190	5.74	16.57	1.75
	<i>Lbn1.2</i>	1	9.1	SSR00190—SSR05793	7.34	19.24	1.87
第一分枝节位 Flbn	<i>Flbn1.1</i>	1	18.8	SSR10018—SSR02810	4.07	11.49	0.91
	<i>Flbn1.2</i>	1	24.7	SSR16472—SSR04992	4.25	12.45	0.94
	<i>Flbn3.1</i>	3	83.7	SSR20338	3.25	8.55	-0.79
	<i>Flbn6.1</i>	6	34.0	SSR02385—SSR10954	4.18	11.12	0.93
	<i>Flbn6.2</i>	6	68.7	SSR15955—SSR00126	3.72	11.08	-0.89

检测到的 6 个与叶绿素含量相关的 QTL 位点,与叶绿素 a、叶绿素 b 及叶绿素总量相关的 QTL 位点各 2 个,贡献率范围为 8.63%—18.22%。其中,与叶绿素 a 相关 QTL 位点 *Chla3.1*、叶绿素 b 相关的 QTL 位点 *Chlb3.1* 及叶绿素总量相关的 QTL 位点 *Chlt3.1* 均位于第 3 染色体的同一区域,贡献率分别为 13.61%、10.45%和 10.38%;叶绿素 b 相关的 QTL 位点 *Chlb4.1* 与叶绿素总量相关 QTL 位点 *Chlt4.1* 位于第 4 染色体的同一区域,贡献率分别为 18.22%和 17.67%。

检测到 7 个与商品瓜瓜长、瓜粗及瓜型指数(瓜长/粗)相关的 QTL 位点,分布在第 1、2、4 染色体,贡献率范围为 5.30%—16.22%;7 个与种瓜长、种瓜粗及种瓜瓜型指数性状相关的 QTL 位点,分布在第 1、3、6、7 染色体,贡献率范围为 6.39%—18.79%;因为商品瓜和种瓜测定选用同一果实,所以本文只对种瓜的瓜把长进行了 QTL 位点检测,得到 2 个 QTL 位点,分布在第 3、6 染色体上。其中,在第 1 染色体上均检测到与瓜粗、种瓜粗,瓜长/粗、种瓜长/粗相关

的 QTL 位点,而与瓜长/粗相关位点 *Ldr1.1* 与种瓜长/粗相关位点 *Sldr1.2* 所在区域相同,可能是同一位点,贡献率分别为 16.22%和 18.79%。4 个与瓜长和种瓜长相关的 QTL 位点,加性效应均为负加性效应,说明西双版纳黄瓜瓜长的等位基因起增效作用;5 个与瓜粗和种瓜粗相关的 QTL 位点,其中 3 个为正加性效应,基本表明西双版纳黄瓜瓜粗的等位基因起增效作用。

检测到 2 个与侧枝数相关的 QTL 位点—*Lbn1.1* 和 *Lbn1.2*,贡献率分别为 16.57%、19.24%,加性效应为 1.75、1.87。与第一分枝节位相关的 QTL 位点有 5 个,分布在第 1、3、6 染色体上,其中,第 3 染色体上的 QTL 位点 *Flbn3.1* 与标记 SSR20338 重合,贡献率为 8.55%,其余 4 个 QTL 位点贡献率均大于 10%。

3 讨论

在黄瓜全基因组测序完成后,SSR 标记在黄瓜遗传图谱的构建上的应用越来越多^[4,18,21]。本研究以西双版纳黄瓜 RIL 群体为材料,利用 SSR 引物,构建了首张西双版纳黄瓜群体的遗传图谱,标记分布较均匀,平均图距为 4.3 cM,适于进行目标性状初步定位的研究;根据和高密度图谱的比较,确定了本图谱中的 7 个连锁群与黄瓜的 7 条染色体相对应,这将更利于分子标记辅助育种工作的开展^[18]。

本试验共检测到 29 个相关农艺性状的 QTL 位点,解释的表型变异从 5.30%(瓜长/粗 *Ldr4.2*) 到 19.24%(侧枝数 *Lbn1.2*) 不等,达到 10%以上的占 58.62%。从图谱的定位结果可以看出,在多个连锁群上都存在不同性状位点聚集现象,对此,研究人员普遍认为是一因多效”和多个基因间紧密连锁而造成的^[22-24]。

叶绿素是植物进行光合作用的重要色素之一,对产量具有重要影响^[25]。前人对水稻、大豆等^[26-27]多种作物叶片叶绿素含量进行了 QTL 定位的研究,但未见对黄瓜叶片叶绿素相关性状 QTL 定位的报道。本文对黄瓜叶片叶绿素 a、叶绿素 b 叶绿素总量等叶绿素相关性状进行 QTL 位点检测,共检测到 6 个与之相关的 QTL 位点,分布在第 3、4 染色体上,其中 5 个 QTL 位点贡献率大于 10%。但是,叶片叶绿素含量受环境影响较大,还需多年多点检测以确定稳定的 QTL 位点。

本研究共检测到 16 个与商品瓜和种瓜相关性状的 QTL 位点,分布在第 1、2、3、4、6、7 染色体上。与程周超等^[4]研究结果相比,均在第 4 染色体检测到与黄瓜商品瓜瓜长相关的 QTL 位点,说明在第 4 染色

体上极有可能存在一个或几个与黄瓜商品瓜瓜长相关的基因。苗晗等^[5]对黄瓜商品瓜瓜长、瓜粗、瓜长/粗的定位结果基本都位于第 6 染色体,而本实验检测到的 QTL 位点却分布在第 1、2、4 染色体上;种瓜长、种瓜粗相关的 QTL 位点定位结果较为接近,分布在第 1、3、6 染色体上,并且均在第 1 染色体标记 SSR17922 (*Sfd1.3*) 附近检测到与种瓜粗相关的基因位点。研究结果表明,瓜长、瓜粗等 QTL 增效基因大都来自西双版纳黄瓜,表明西双版纳黄瓜对果实性状的选育具有重要作用。

黄瓜植株侧枝多少对田间机械化操作、植株生长环境及产量有重要影响,但目前与之相关的研究较少^[16]。本研究检测到 6 个与侧枝性状相关的 QTL 位点,其中与侧枝数相关的 2 个 QTL 位点均位于第 1 染色体,贡献率为 16.57%、19.24%;获得与第一分枝节位相关位点 *Flbn3.1* 紧密连锁的标记 SSR20338,这为黄瓜植株侧枝相关性状的研究提供了有益的参考。

同时,本试验的后续研究还在进行当中。一方面是对现有的图谱进行加密,便于检测到更加准确的 QTL。另一方面是多年多点采集农艺性状数据,以便检测到稳定的 QTL。在此基础上,试验还将针对稳定的 QTL 进行深入研究:第一,利用较大的 F₂ 群体对 QTL 的峰值标记继续进行验证。第二,在 QTL 的峰值区域进行候选基因的预测。

4 结论

以西双版纳黄瓜 RIL 群体为材料构建了含有 137 个 SSR 标记的分子遗传图谱,总长度为 591.2 cM,平均图距为 4.3 cM。利用构建的遗传图谱,共检测到 29 个与叶片叶绿素、果实、侧枝等 12 个农艺性状相关的 QTL 位点,单个位点贡献率为 5.30%—19.24%,大于 10%的 QTL 位点有 17 个。

References

- [1] 戚春章,袁珍珍,李玉湘. 黄瓜新类型—西双版纳黄瓜. 园艺学报, 1983,10(4): 259-264.
Qi C Z, Yuan Z Z, Li Y X. A new type of cucumber-*Cucumis sativus* L. var. *xishuangbannanensis*. *Acta Horticulturae Sinica*, 1983, 10(4): 259-264. (in Chinese)
- [2] 李效尊. 黄瓜重要性状的 QTL 定位与分析[D]. 上海: 上海交通大学, 2007.
Li X Z. QTL mapping and analysis of important traits in cucumber (*Cucumis sativus* L.)[D]. Shanghai: Shanghai Jiao Tong University,

2007. (in Chinese)
- [3] Yuan X J, Pan J S, Cai R, Guan Y, Liu L Z, Zhang W W, Li Z, He H L, Zhang C, Si L T, Zhu L H. Genetic mapping and QTL analysis of fruit and flower related traits in cucumber (*Cucumis sativus* L.) using recombinant inbred lines. *Euphytica*, 2008, 164: 473-491.
- [4] 程周超, 顾兴芳, 张圣平, 苗晗, 张若纬, 刘苗苗, 杨双娟. 黄瓜瓜长性状的 QTL 定位分析. *中国蔬菜*, 2010(12): 20-25.
Cheng Z C, Gu X F, Zhang S P, Miao H, Zhang R W, Liu M M, Yang S J. QTL Analysis for fruit length of cucumber. *China Vegetables*, 2010(12): 20-25. (in Chinese)
- [5] 苗晗, 顾兴芳, 张圣平, 张忠华, 黄三文, 王烨, 程周超, 张若纬, 穆生奇, 李曼, 张振贤, 方智远. 黄瓜果实相关性状 QTL 定位分析. *中国农业科学*, 2011, 44(24): 5031-5040.
Miao H, Gu X F, Zhang S P, Zhang Z H, Huang S W, Wang Y, Cheng Z C, Zhang R W, Mu S Q, Li M, Zhang Z X, Fang Z Y. Mapping QTLs for fruit-associated traits in *Cucumis sativus* L.. *Scientia Agricultura Sinica*, 2011, 44(24): 5031-5040. (in Chinese)
- [6] 袁晓君. 黄瓜永久群体遗传图谱的构建及花、果相关性状的 QTL 定位[D]. 上海: 上海交通大学, 2008.
Yuan X J. QTL mapping and analysis of fruit and flower related traits in cucumber(*cucumis sativus* L.)[D]. Shanghai: Shanghai Jiao Tong University, 2008. (in Chinese)
- [7] Serquen F C, Bacher J, Staub J E. Mapping and QTL analysis of horticultural traits in a narrow cross in cucumber (*Cucumis sativas* L.) using random amplified polymorphic DNA markers. *Molecular Breeding*, 1997, 3(4): 257-268.
- [8] Fazio G, Chung S M, Staub J E. Comparative analysis of response to phenotypic and marker-assisted selection for multiple aternal branching in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 2003, 107(5): 875-883.
- [9] Wenzel G, Kennard W C, Havey M J. Quantitative trait analysis of fruit quality in cucumber: QTL detection, confirmation, and comparison with mating-design variation. *Theoretical and Applied Genetics*, 1995, 91: 53-61.
- [10] Dijkhuizen A, Staub J E. QTL conditioning yield and fruit quality traits in cucumber (*Cucumis sativus* L.): Effects of environment and genetic background. *Journal of New Seeds*, 2002, 4: 1-30.
- [11] 孙洪涛, 秦智伟, 周秀艳, 武涛, 潘丹丹. 黄瓜果实横径的遗传分析及分子标记. *中国农学通报*, 2010, 26(20): 38-42.
Sun H T, Qin Z W, Zhou X Y, Wu T, Pan D D. Genetic analysis and molecular localization of the fruit diameter in cucumber. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2010, 26(20): 38-42. (in Chinese)
- [12] 陈青君, 张海英, 王永健, 李婉钰, 张峰, 毛爱军, 程继鸿, 陈明远. 温室黄瓜产量相关农艺性状 QTLs 的定位. *中国农业科学*, 2010, 43(1): 112-122.
Chen Q J, Zhang H Y, Wang Y J, Li W Y, Zhang F, Mao A J, Cheng J H, Chen M Y. Mapping and analyzing QTLs of yield-associated agronomic traits of greenhouse cucumbers. *Scientia Agricultura Sinica*, 2010, 43(1): 112-122. (in Chinese)
- [13] 赵昶云. 黄瓜果柄性状的 QTL 定位[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2006.
Zhao Z Y. QTL mapping for tedicel genein in cucumber[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2006. (in Chinese)
- [14] 赵鹏. 黄瓜瓜把长度的遗传分析及其 QTL 定位研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2011.
Zhao P. Genetic analysis of carpopedium length in cucumber and identification of its quantative trait loci[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2011. (in Chinese)
- [15] 王桂玲, 秦智伟, 周秀艳, 赵昶云. 黄瓜瓜把长度 QTL 定位的研究. *园艺学报*, 2008, 35(4): 543-546.
Wang G L, Qin Z W, Zhou X Y, Zhao Z Y. Mapping quantitative trait loci influencing cucumber length using simple sequence repeat markers. *Acta Horticulturae Sinica*, 2008, 35(4): 543-546. (in Chinese)
- [16] 蒋苏, 袁晓君, 潘俊松, 何欢乐, 蔡润. 利用重组自交系群体对黄瓜侧枝相关性状进行 QTL 定位分析. *中国科学: C 辑*, 2008, 38(10): 982-990.
Jiang S, Yuan X J, Pan J S, He H L, Cai R. QTL mapping and analysis for lateral branch associated trait of cucumber using an RIL population. *Science in China: Series C*, 2008, 38(10): 982-990. (in Chinese)
- [17] 薄凯亮, 沈佳, 钱春桃, 宋慧, 陈劲枫. ‘北京截头’×西双版纳黄瓜重组自交系群体重要农艺性状的遗传分析. *南京农业大学学报*, 2011, 34(3): 20-24.
Bo K L, Shen J, Qian C T, Song H, Chen J F. Genetic analysis of the important agronomic traits on ‘Beijingjietou’ × Xishuangbanna cucumber recombinant inbred lines. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2011, 34(3): 20-24. (in Chinese)
- [18] Ren Y, Zhang Z, Liu J, Staub J E, Han Y, Cheng Z, Li X, Lu J, Miao H, Kang H. An integrated genetic and cytogenetic map of the cucumber genome. *PLoS One*, 2009, 4(6): 5795.
- [19] Amon D I. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 1949, 24(1): 1.
- [20] 李锡香, 朱德蔚, 杜永臣, 沈颖. 黄瓜种质资源描述规范和数据标准. 北京: 中国农业出版社, 2005.
Li X X, Zhu D W, Du Y C, Shen D. *Descriptors and Data Standard*

- for Cucumber (*Cucumis sativus* L.). Beijing: China Agriculture Press, 2005. (in Chinese)
- [21] Miao H, Zhang S P, Wang X W, Zhang Z H, Li M, Mu S Q, Cheng Z C, Zhang R W, Huang S W, Xie B Y, Fang Z Y, Zhang Z X, Weng Y Q. A linkage map of cultivated cucumber (*Cucumis sativus* L.) with 248 microsatellite marker loci and seven genes for horticulturally important traits. *Euphytica*, 2011, 182: 167-176.
- [22] Ashikari M, Sakakibara H, Lin S Y, Yamamoto T, Takashi T, Nishimura A, Angeles E R, Qian Q, Kitano H, Matsuoka M. Cytokinin oxidase regulates rice grain production. *Science*, 2005, 309(5735): 741-745.
- [23] Clark R M, Wagler T N, Quijada P, Doebley J. A distant upstream enhancer at the maize domestication gene *tb1* has pleiotropic effects on plant and inflorescent architecture. *Nature Genetics*, 2006, 38(5): 594-597.
- [24] Mibus H, Tatlioglu T, Molecular characterization and isolation of the F/f gene for femaleness in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 2004, 109(8): 1669-1676.
- [25] 刘道宏. 植物叶片的衰老. *植物生理学通讯*, 1983, 2: 14-19.
Liu D H. Plant leaf senescence. *Plant Physiology Communications*, 1983, 2: 14-19. (in Chinese)
- [26] Takai T, Kondo M, Yano M, Yamamoto T. A quantitative trait locus for chlorophyll content and its association with leaf photosynthesis in rice. *Rice*, 2010, 3(2/3): 172-180.
- [27] 崔世友, 喻德跃. 大豆不同生育时期叶绿素含量 QTL 的定位及其与产量的关联分析. *作物学报*, 2007, 33(5): 744-750.
Cui S Y, Yu D Y. QTL mapping of chlorophyll content at various growing stages and its relationship with yield in soybean (*Glycine max* (L.) Merr.). *Acta Agronomica Sinica*, 2007, 33(5): 744-750. (in Chinese)

(责任编辑 李莉)