

# 黄瓜全雌性基因连锁的 AFLP和 SCAR分子标记

娄群峰<sup>1</sup> 陈劲枫<sup>1\*</sup> Molly Jahn<sup>2</sup> 陈龙正<sup>1</sup> 耿红<sup>1</sup> 罗向东<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>作物遗传与种质创新国家重点实验室, 南京农业大学园艺学院, 南京 210095; <sup>2</sup>康乃尔大学育种系, 伊萨卡, 纽约 14853, 美国)

**摘要:** 本研究以全雌品种‘戴多星’自交系和弱雌品种‘北京截头’自交系为双亲杂交获得  $F_1$ , 然后得到  $F_2$  性型分离群体, 利用分离群体分组分析法 (Bulked Segregant Analysis, BSA) 构建全雌和弱雌两个基因池, 筛选了 64 对 AFLP 选择性引物 EcoR FNN + Mse HNN 组合, 发现 EcoR F-TG + Mse F-CAC 引物组合在全雌基因池中扩增出一条分子量为 234 bp 的特异带。经  $F_2$  代单株验证, 该特异条带能在全雌单株中稳定出现。以 MAPMAKER (Version 3.0) 软件分析, 该标记与全雌性位点的连锁距离在 6.7 cM。命名该连锁标记为 TG/CAC<sub>234</sub>。将该特异条带回收、克隆、测序, 设计特异 SCAR 引物, 再对  $F_2$  代单株基因组 DNA 进行扩增, 仅在全雌单株中扩增出 1 条分子量为 166 bp 的特异带, 表明已成功地将与黄瓜全雌性连锁的 AFLP 标记转化为操作简便、表现稳定的 SCAR 标记, 该标记命名为 SA<sub>166</sub>。

**关键词:** 黄瓜; 全雌性; 分子标记; AFLP; SCAR

**中图分类号:** S 642.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2005) 02-0256-06

## Identification of AFLP and SCAR Molecular Markers Linked to Gynoecious Loci in *Cucumis sativus* L.

Lou Qunfeng<sup>1</sup>, Chen Jinfeng<sup>1\*</sup>, Molly Jahn<sup>2</sup>, Chen Longzheng<sup>1</sup>, Geng Hong<sup>1</sup>, and Luo Xiangdong<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>State Key Laboratory of Crop Genetics and Germplasm Enhancement, College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; <sup>2</sup>Department of Plant Breeding, Cornell University, Ithaca, NY 14853, USA)

**Abstract:** Gynoecy plays an important role in cucumber (*Cucumis sativus* L.) heterosis breeding and identification of the markers linked to this character will facilitate selection of gynoecious cucumber line in breeding program. In the present study, selfed gynoecious cucumber ‘Delta Star’ and monoecious cucumber ‘Beijing Jietou’ were used as parents to make  $F_1$  and then selfed to build  $F_2$  sex segregated population. Gynoecious and monoecious DNA pools were developed separately using bulked segregant analysis (BSA). Amplified fragment length polymorphism (AFLP) technique with 64 primer combinations were employed to find the polymorphisms between both DNA pools, and in gynoecious DNA pool a 234 bp specific fragment was amplified in the primer combination of TG + CAC. This marker was testified with individual DNA of the  $F_2$  population and the band could only be amplified in the gynoecious plants. Linkage analysis using the software of MAPMAKER (version 3.0) indicated its genetic distance to the gynoecious loci was 6.7 cM, and this AFLP marker was designed as TG/CAC<sub>234</sub>. This band was collected and sequenced to synthesize a sequence-characterized amplified region (SCAR) primer. The primer was used to amplify the individual DNAs of the  $F_2$  population and obtained a specific band of 166 bp in the gynoecious plants, indicating a successful conversion of the SCAR marker from AFLP one. This SCAR marker was designed as SA<sub>166</sub>, and has been practically useful to the marker-assisted selection in our cucumber breeding program.

**Key words:** Cucumber (*Cucumis sativus* L.); Gynoecious; Molecular marker; AFLP; SCAR

收稿日期: 2004 - 06 - 07; 修回日期: 2004 - 07 - 26

基金项目: 上海市科技兴农重点攻关项目 (2001-3-3; 2003D2-1-1); 国家自然科学基金项目 (30470120); 国家高技术研究发展计划专项 (2002AA241251; 2004AA241120)

\*通讯作者 Author for correspondence

黄瓜 (*Cucumis sativus* L.) 是重要的设施栽培作物, 其雌花率的高低直接影响到产量的多少。目前设施栽培优良的黄瓜品种都具备全雌性或强雌性特征。全雌性是黄瓜优势育种的重要途径。但由于黄瓜性别表现受到遗传和环境等多种因素的影响, 应用传统的方法, 从表型上进行全雌性基因的选择效率不高, 给全雌性的有效利用带来困难。应用与目的基因相连锁的分子标记进行辅助育种能直接从基因型上对后代单株进行选择, 提高准确率, 从而大大地提高育种效率。

目前, 与植物性别决定基因连锁的分子标记研究主要集中在雌雄异株植物中, 如大麻 (*Cannabis sativa* L.)<sup>[1,2]</sup>、石刁柏 (*Asparagus officinalis* L.)<sup>[3]</sup>、银杏 (*Ginkgo biloba* L.)<sup>[4]</sup>等。相比之下黄瓜性别表现更为复杂, 除雌雄异花同株外, 还有全雌株、两性株、雄花两性花同株, 雄花、雌花及两性花同株等类型。黄瓜全雌性状被认为主要由 *F* 基因控制, 同时还受到隐性 *gy* 基因和一些修饰基因的作用<sup>[5,6]</sup>。迄今, 有关黄瓜性别决定相关基因的分子标记研究较少。已构建的少数黄瓜分子标记连锁图谱将 *F* 基因进行了定位, 如 Fazio等<sup>[7]</sup>发表的连锁图上与 *F* 基因最近的为 5.0 cM 的 1 个 SSR 标记。然而, 在这些连锁图上, 对 *F* 位点贡献率的解释有所差异<sup>[7~9]</sup>。因此, 目前能用于黄瓜全雌性辅助育种实践的分子标记仍不多见。

AFLP 标记技术现已普遍地用于图谱的构建<sup>[10,11]</sup>、性状连锁标记的筛选<sup>[12,13]</sup>、亲缘关系的分析<sup>[14]</sup>等工作。本研究利用 AFLP 技术, 研究与黄瓜全雌性状连锁的标记, 希望获得连锁紧密的 AFLP 标记, 以实现黄瓜全雌性状的标记辅助育种, 加速我国黄瓜全雌性品种的选育进程。

## 1 材料与方法

### 1.1 植物材料和性型分离群体的构建

亲本 1: CC3, 华北型黄瓜品种‘北京截头’ (来源于中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 编号为 V05A464) 的 8 代自交后代。雌花率在 20% 以下, 为纯合弱雌; 果皮多刺。

亲本 2: EC1, 欧洲雌性系‘戴多星’ (来源于 Rijk Zwaan 公司) 的 6 代自交后代。未见出现雄花的单株, 为纯合全雌; 果皮光滑。

利用 CC3 和 EC1 的正反交  $F_1$ 、 $F_2$  代和以 CC3 为回交亲本的  $BC_1$  代作性型遗传分析, 分离比例以卡方测验进行显著性分析。各代的性型统计以全株上下均为雌花, 无 1 朵雄花为全雌性; 主茎 20 节内雌花与雄花比例大于 50% 为强雌性; 小于或等于 50% 的为弱雌性。

利用  $F_2$  代群体进行 AFLP 分子标记研究。 $F_1$  代的全雌单株自交时, 利用 300 mg/kg 的硝酸银水溶液于 3~4 片叶龄进行叶面喷施, 每隔 3 d 喷施 1 次, 共喷施 2 次。诱导出雄花后进行单株隔离授粉。

### 1.2 AFLP 研究方法

AFLP 研究主要参考 Vos 等<sup>[15]</sup>的方法。其中条带的显示采用银染法。部分步骤略有修改。

1.2.1 基因组 DNA 的提取和 DNA 池的构建 基因组 DNA 提取采用 CTAB 法<sup>[16]</sup>。利用琼脂糖凝胶电泳和溴化乙锭显色进行 DNA 浓度的定量。 $F_2$  单株 DNA 提取后, 利用 BSA 法<sup>[17]</sup>各取 10 个全雌和弱雌单株 DNA 等量混合, 构建成全雌和弱雌 DNA 池用于 AFLP 引物的多态性筛选。

1.2.2 酶切和接头的连接 取 0.5  $\mu$ g 基因组 DNA, 采用 *Eco*R I 和 *Mse*I 进行双酶切。酶切后与 *Eco*R I 和 *Mse*I 接头连接。*Eco*R I 接头: 5'-CTCGTAGACTGCGTACC-3', 3'-CA TCTGACGCA TG GTTAA-5'; *Mse*I 接头: 5'-GACGATGAGTCCTGA-3', 3'-TACTCAGGACTCAT-5'。

1.2.3 酶切连接产物的扩增 取 5  $\mu$ L 酶切连接产物为模板进行预扩增。预扩增程序为: 94 1 min, 56 1 min, 72 1 min, 36 个循环; 72 延伸 7 min。

预扩增产物 1:30 稀释, 作为选择性扩增的模板。选择性引物组合共 64 对, 由 8 个带 2 个选择性碱基的 *Eco*R HNN 引物, 和 8 个带 3 个选择性碱基的 *Mse* HNNN 引物组成。选择性扩增程序为: 94 预变性 30 s, 94 30 s, 65 30 s, 72 120 s, 然后每个循环退火温度降低 0.7, 经 13 个循环后,

退火温度降至 56℃；再进行 23 个循环的扩增：

94℃ 30 s, 56℃ 30 s, 72℃ 120 s

扩增反应在 PTC-100 PCR 仪上进行。所用预扩增和选择性扩增引物序列见表 1。

1.2.4 变性聚丙烯酰胺凝胶电泳 选择性扩增产物在 6% 的变性聚丙烯酰胺凝胶（6% 丙烯酰胺，0.32% 甲叉丙烯酰胺，7 mol·L<sup>-1</sup> 尿素，1× TBE）中电泳分离。电泳缓冲液为 1× TBE，恒功率 60 W 预电泳 30 min 后，将扩增产物加入等体积的上样缓冲液（98% 甲酰胺，10 mmol·L<sup>-1</sup> EDTA，0.25% 溴酚蓝），95℃ 变性 5 min 后，立即转移至冰浴中冷却，然后每个样品取 8 μL 上样，60 W 电泳 2~3 h。

1.2.5 银染 电泳后，小心分开两块玻璃板，将附着凝胶的长玻璃板放入 10% 冰醋酸中固定 30 min；再用去离子水漂洗 2 次，每次 5 min；然后

转入染色液（2 g 硝酸银，3 mL 37% 甲醛溶于 2 L 去离子水）中染色 30 min，用 2 L 去离子水快速漂洗 5~6 s，立即转入显影液（60 g 碳酸钠，3 mL 37% 甲醛，400 μL 10% 硫代硫酸钠溶于 2 L 去离子水）中，轻摇至条带清晰后，加入等体积的 10% 冰醋酸停显，约 10 min 后用去离子水漂洗干净。自然干燥保存。

1.2.6 连锁性分析 利用 Mapmaker（version 3.0）软件对 F<sub>2</sub> 代分离群体单株的标记和性型表现数据进行连锁分析，并利用 Kosambi 函数将重组率转化为遗传图距（cM）<sup>[18]</sup>。

### 1.3 特异条带的回收克隆及 SCAR 标记的转化

对连锁标记进行条带的回收。以灭菌的解剖刀准确切下多态条带，转入装有 200 μL 重蒸水的离心管中。置于沸水浴中 15 min，然后 12 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min。取 5 μL 上清液作为模板再次以相应引物组合，相同条件进行扩增。扩增产物经测序胶电泳验证分子量后，克隆于 pGEM-T easy 载体上，单菌落质粒提取后，经酶切鉴定，由上海博亚生物技术有限公司进行 DNA 测序。

根据测序后去除接头的全序列，利用 Primer Premier 5.0 软件设计 SCAR 引物，由上海博亚生物技术有限公司合成引物。以 F<sub>2</sub> 代单株的基因组 DNA 验证 SCAR 引物的特异性。SCAR-PCR 扩增体系 20 μL，其中包含 10×Buffer 2 μL，MgCl<sub>2</sub> 1.5 mmol·L<sup>-1</sup>，dNTP 150 μmol·L<sup>-1</sup>，引物 0.5 μmol·L<sup>-1</sup>，基因组 DNA 约 50 ng，Taq DNA 聚合酶 1 U。扩增程序为：94℃ 预变性 5 min；94℃ 1 min，63℃ 1 min，72℃ 2 min，30 个循环；最后在 72℃ 下延伸 7 min。

## 2 结果与分析

### 2.1 利用分离群体进行黄瓜全雌性遗传规律分析

以全雌性 EC1 和弱雌性 CC3 为亲本进行正反交获得 F<sub>1</sub> 代。共观察 F<sub>1</sub> 代单株 54 株，均表现全雌性，全株上下无一朵雄花，说明黄瓜全雌性对弱雌性为完全显性，由核基因控制。对 BC<sub>1</sub> 和 F<sub>2</sub> 代群体单株的性型统计表明，BC<sub>1</sub> 代群体共有 98 株，其中 53 株全雌性，45 株弱雌株。经 χ<sup>2</sup> 测验，BC<sub>1</sub> 代全雌与弱雌株比例完全符合 1:1 的分离比（P 值为 0.25~0.5，大于 0.05），表明黄瓜全雌性状由单显性基因控制。同时对 F<sub>2</sub> 代共 166 个单株的性型统计表明，其中全雌性 67 株、强雌性 57 株、弱雌性 42 株。理论上来说，F<sub>2</sub> 代单株性型表现应该为两种类型，即全雌型和弱雌型。但在本试验中，F<sub>2</sub> 代群体也有出现少量雄花的强雌性株，可能是雌性表现受到环境条件的影响，产生少量雄花，因

表 1 AFLP 预扩增和选择性扩增引物序列

Table 1 Pre-amplification and selective amplification primer sequences used in AFLP

预扩增引物 * Primers for preamplification	选择性引物 Primers for selective amplification
E00	E-AA 5'-GACTGCGTACCAATTCAA-3' E-AG 5'-GACTGCGTACCAATTCAG-3' E-AC 5'-GACTGCGTACCAATTCAC-3' E-AT 5'-GACTGCGTACCAATTCAT-3' E-TA 5'-GACTGCGTACCAATTCAT-3' E-TG 5'-GACTGCGTACCAATTCG-3' E-TC 5'-GACTGCGTACCAATTCCT-3' E-TT 5'-GACTGCGTACCAATTCCT-3'
M00	M-CAA 5'-GATGAGTCTCTGAGTAACAA-3' M-CAG 5'-GATGAGTCTCTGAGTAACAG-3' M-CAC 5'-GATGAGTCTCTGAGTAACAC-3' M-CAT 5'-GATGAGTCTCTGAGTAACAT-3' M-CTA 5'-GATGAGTCTCTGAGTAACAT-3' M-CTG 5'-GATGAGTCTCTGAGTAACATG-3' M-CTC 5'-GATGAGTCTCTGAGTAACATC-3' M-CTT 5'-GATGAGTCTCTGAGTAACATT-3'

\* E00: 5'-GACTGCGTACCAATTC-3'; M00: 5'-GATGAGTCTGAGTAA-3'.

此统计时将全雌株和强雌株合并作为雌性株, 经  $\chi^2$  测验,  $F_2$  代雌性株与弱雌株分离比例完全符合 3:1 的比例 ( $P$  值 = 1, 大于 0.05), 也表明黄瓜全雌性状由单显性基因控制。

## 2.2 AFLP引物在全雌和弱雌 DNA 池间的多态性

采用 64 对 AFLP 引物组合对分别由 10 个单株混合组成的全雌和弱雌 DNA 池进行扩增, 共产生约 4250 条带, 每对引物平均扩增出约 70 条带。筛选出在全雌和弱雌 DNA 池间表现多态的标记共 5 个, EcoR HNN / Mse HNN 分别为 AA/CAT<sub>142</sub>、AG/CAC<sub>350</sub>、AT/CTC<sub>260</sub>、TA/CTG<sub>263</sub>、TG/CAC<sub>234</sub>。

## 2.3 多态性标记在 $F_2$ 代单株中的检测及连锁距离的确定

利用上述具有多态带的 5 个引物组合对  $F_2$  代单株进行 PCR 验证。结果发现, 其中 TG/CAC<sub>234</sub> 与全雌性表型存在连锁关系, 绝大多数全雌单株中出现该条带, 而雌雄异花同株单株中则未见该标记 (图 1)。所用  $F_2$  代单株共有全雌性 38 株, 雌雄异花同株 42 株。标记检测表明其中全雌单株中有 34 株出现该标记, 4 株未见该标记。雌雄异花同株单株中, 有 3 株未出现该标记, 39 株出现该标记。利用 Mapmaker (version 3.0) 计算出标记与全雌性位点的连锁距离在 6.7 cM, 连锁较为紧密。

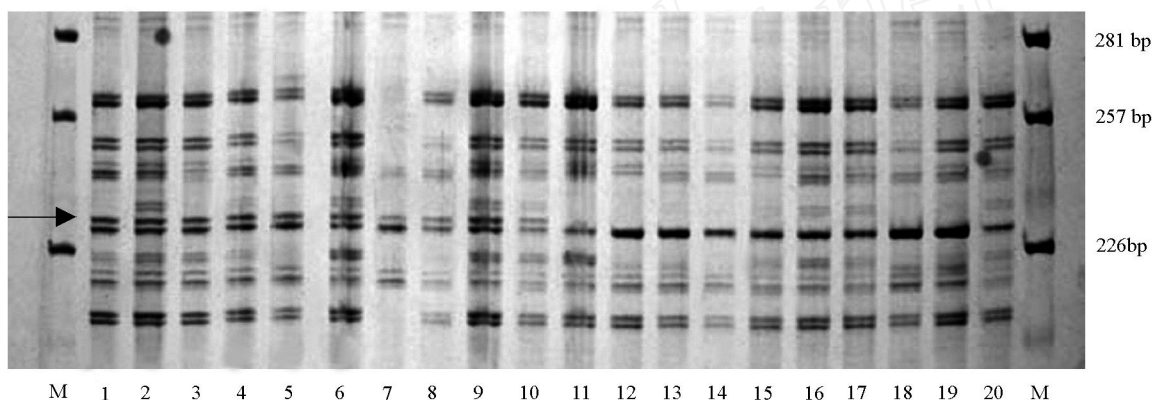


图 1 E-TG 和 M-CAC 引物组合扩增的聚丙烯酰胺凝胶电泳结果

1~10: 全雌性单株; 11~20: 雌雄异花同株单株; M: pBR322 DNA / *Alu* I 分子量标准。箭头示全雌性单株中出现的特异带。

Fig. 1 The PAGE electrophoresis results of selective amplification with primer combination E-TG and M-CAC

1 - 10: individual gynoeious plants; 11 - 20: individual monoecious plants; M: pBR322 DNA / *Alu* I marker

The arrow showing the specific band from gynoeious plants

## 2.4 AFLP标记转化为 SCAR 标记

对该连锁标记进行回收、克隆、测序, 序列如图 2 所示, 全长共 234 bp。去除接头部分序列后, 所得特异片段长度为 200 bp (图 2)。根据 Primer Premier 5.0 软件设计 SCAR 引物。上下游引物位置为第 3~24 和第 143~168 个碱基, 扩增产物长度为 166 个碱基。引物 SA1 序列为: 5'-CAAAA TGTC-CTATGACTGGTAA-3', SA2 序列为: 5'-CA TAT TGA TCACAA GTTCTTAAA-3'。

TGACTGCGTACCAATTCTGCAAAATGTCCTATGACTGGTAAATATTATCCTCGTTAGTACTTATTACAACTTTTCTTTAG  
CTTTGTGAAAGTAATTGTTCCCAATGCAACTCGATTATTGAACATATGCTTCTAGCAATCGTCTGGAAATAAAATTTT  
AAGAACATTGTGATCAATATGATAATCATGTATAATTATCGATCAAAATAGTGTACTCAGGACTCATCA

图 2 全雌性特异标记 TG/CAC<sub>234</sub> 全序列

黑体为 AFLP 引物 TG/CAC 序列; 带下划线的序列为 SCAR 特异引物 SA<sub>166</sub>

Fig. 2 DNA sequence of the AFLP fragment TG/CAC<sub>234</sub>

The sequence in bold is the sequence of the AFLP primer TG/CAC; The underlined is the sequence of the specific primers SA<sub>166</sub>

利用所设计的特异引物对  $F_2$  代单株的基因组 DNA 进行扩增鉴定。结果经琼脂糖电泳检测表明, 在全雌单株中扩增出 166 bp 长的片段, 而在雌雄异花同株单株中则未见该标记 (图 3), 表明已成功地将该 AFLP 标记转化为 SCAR 标记。并将该 SCAR 标记命名为 SA<sub>166</sub>。

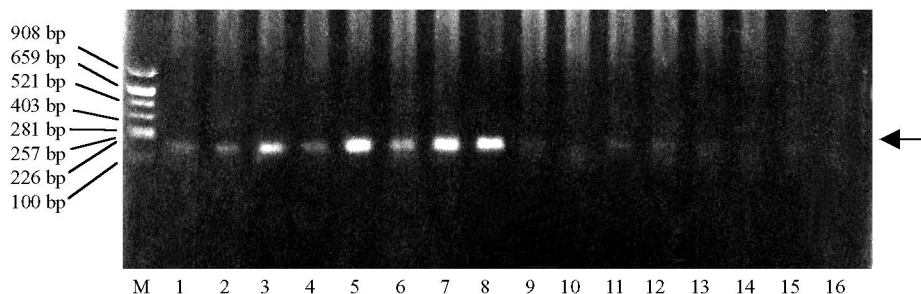


图 3 SCAR标记  $SA_{166}$  在  $F_2$  代单株中的扩增结果

1~8为全雌株; 9~16为雌雄异花同株; M为 pBR322 DNA /A *lu* I分子量标准; 箭头示特异带位置。

**Fig 3** Amplification for the individual plants of  $F_2$  population with the specific primers  $SA_{166}$

1 - 8: individual gynoeious plants; 9 - 16: individual monoecious plants; M: pBR322 DNA /A *lu* I marker

The arrow showing the specific band from gynoeious plants

### 3 讨论

我国在黄瓜全雌性基础理论研究和全雌性品种选育方面虽有了一些报道, 但与欧美等发达国家相比仍存在较大的差距。目前, 我国大型温室中栽培的黄瓜品种多为进口的全雌性单性结实品种, 春夏栽培全雌性状表现稳定。而国产相关优良品种较少, 已有的强雌性品种其雌花率常常随栽培季节的变化而变化。本试验利用 AFLP标记结合银染技术获得了与黄瓜全雌性位点连锁距离为 6.7 cM 的标记, 并成功地将其转化成操作简便、表现稳定的 SCAR 标记。这是目前国内首次报道的与黄瓜全雌性基因位点紧密连锁的分子标记, 该标记能在苗期对黄瓜全雌性单株进行有效的选择, 这对黄瓜全雌性品种的辅助选育具有重要的实践意义。

黄瓜性别表现被认为主要受到两个主效基因  $m$  和  $F$  相互作用的影响。 $F$  基因能加速植物的性转变过程, 决定雌性化的程度 ( $FF > Ff > ff$ ), 即  $FF$  为全雌性,  $Ff$  为强雌性,  $ff$  为弱雌性<sup>[19]</sup>;  $M$  基因控制黄瓜植株性别是单性花 (基因型为  $M_{-}$ ) 或两性花 (基因型为  $mm$ ), 纯雌株型基因型为  $M_{-}FF$ <sup>[19~21]</sup>。而  $F$  基因又受到  $In-F$  ( $F$  增强基因) 和其它一些基因的修饰。在最近构建的的黄瓜分子标记连锁图中, 有 3 个与性别表达相关的位点被定位, 分别为第 1 连锁群上的  $sex 1.1$  ( $F$ )、 $sex 1.2$  ( $de$ ) 和第 6 连锁群上的  $sex 6.1$  (AT1-2-SCAR), 在后代中, 当这 3 个位点均存在时, 表现出强烈的雌性特点<sup>[7]</sup>。在本研究中, 与 TG/CAC<sub>234</sub> 标记连锁的雌性基因对黄瓜全雌性表型具有决定作用, 即该基因存在时即表现全雌性, 否则表现雌雄同株。因此, 与 TG/CAC<sub>234</sub> 标记连锁的雌性基因可能是一个决定全雌性的关键性基因, 但其是否为  $F$  基因则需要进一步的验证。

### 参考文献:

- Mandolino G, Carboni A, Forapani S, Faeti V, Ranalli P. Identification of DNA markers linked to the male sex in dioecious hemp (*Cannabis sativa* L.). 1999, 9 (1): 86~92
- 陈其军, 韩玉珍, 傅永福, 赵德刚, 国凤利, 孟繁静, 刘卫平. 大麻性别的 RAPD 和 SCAR 分子标记. 植物生理学报, 2001, 27 (2): 173~178  
Chen Q J, Han Y Z, Fu Y F, Zhao D G, Guo F L, Meng F J, Liu W P. RAPD and SCAR molecular markers of sexuality in the dioecious species *Cannabis sativa* L. Acta Phytophysiologica Sinica, 2001, 27 (2): 173~178 (in Chinese)
- Reamon Buttner SM, SchonedeMaier J, Jung C. AFLP markers tightly linked to the sex locus in *Asparagus officinalis* L. Molecular Breeding, 1998, 4 (2): 91~98
- 王晓梅, 宋文芹, 刘松, 李秀兰, 陈瑞阳. 利用 AFLP 技术筛选与银杏性别相关的分子标记. 南开大学学报 (自然科学), 2001, 34 (1): 5~9  
Wang X M, Song W Q, Liu S, Li X L, Chen R Y. AFLP markers related to sex in a dioecious plant, *Ginkgo biloba* L. Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Nankaiensis, 2001, 34 (1): 5~9 (in Chinese)
- Kennard W C, Poetter K, Dijkhuizen A, Meglic V, Staub J E, Havey M J. Linkages among RFLP, RAPD, isozyme, disease-resistance, and

- morphological markers in narrow and wide crosses of cucumber Theor Appl Genet , 1994, 89: 42 ~ 48
- 6 Serquen F C, Bacher C J, Staub J E Mapping and QTL analysis of a narrow cross in cucumber (*Cucumis sativus* L.) using random amplified polymorphic DNA markers Molecular Breeding, 1997, 3: 257 ~ 268
- 7 Fazio G, Staub J E, Stevens M R Genetic mapping and QTL analysis of horticultural traits in cucumber (*Cucumis sativus* L.) using recombinant inbred lines Theor Appl Genet , 2003, 107: 864 ~ 874
- 8 Bradeen J M, Staub J E, Wye C, Antonise R, Peleman J Towards an expanded and integrated linkage map of cucumber (*Cucumis sativus* L.). Genome, 2001, 44: 111 ~ 119
- 9 Staub J E, Serquen F C, Katzir N, Paris H S Towards an integrated linkage map of cucumber: map merging Acta Horticulturae, 2000, 510: 357 ~ 366
- 10 Qi X, Stam P, Lindhout P Use of locus specific AFLP markers to construct a high-density molecular map in barley Theor Appl Genet , 1998, 96 (3 - 4): 376 ~ 384
- 11 Bert P F, Chamet G, Sourdille P A high-density molecular map for ryegrass (*Lolium perenne*) using AFLP markers Theor Appl Genet , 1999, 99 (3 - 4): 445 ~ 452
- 12 Terauchi R, Kahl G Mapping of the *Dioscorea tokoro* genome: AFLP markers linked to sex Genome, 1999, 42 (4): 752 ~ 762
- 13 Reamon Buettner S M, Jung AFLP-derived STS markers for the identification of sex in *Asparagus officinalis* L., Theor Appl Genet , 2000, 100 (3 - 4): 432 ~ 438
- 14 Hill M, Witsenboer H, Zabeau M, Vos P, Kesseli R, Michelmore R PCR-based fingerprinting using AFLPs as a tool for studying genetic relationships in *Lactuca* spp, Theor Appl Genet , 1996, 93 (8): 1202 ~ 1210
- 15 Vos P, Hoger R, Bleeker M AFLP: a new technique for DNA fingerprinting Nucl Acids Res , 1995, 23: 4407 ~ 4414
- 16 Murray H G, Thompson W F Rapid isolation of higher weight DNA Nucl Acids Res , 1980, 8: 4321
- 17 Michelmore R W Identification of marker linked to disease-resistance gene by bulked segregant analysis: A rapid method detect marker in specific genomic regions by using segregating populations Proc Natl Acad Sci USA, 1991, 88: 9828 ~ 9832
- 18 Lander E S, Green P, Abrahamson J. MAPMAKER: an interactive computer for constructing primary genetics maps of experimental and natural populations Genomics, 1987, 1: 174 ~ 182
- 19 陈惠明, 刘晓虹. 黄瓜性型遗传规律的研究. 湖南农业大学学报, 1999, 25 (1): 40 ~ 43  
Chen H M, Liu X H A study on the inheritance of sex expression in the cucumber Journal of Hunan Agricultural University, 1999, 25 (1): 40 ~ 43 (in Chinese)
- 20 Shiffriss O. Sex control in cucumbers J. Hered, 1961, 52: 5 ~ 12
- 21 Galun E Study of the inheritance of sex expression in the cucumber—The interaction of major genes with modifying genetic and non-genetic factors Genetica, 1961, 32: 134 ~ 163

## 新书推荐

## 《中国蔬菜品种志》

本书由中国农业科学院蔬菜花卉研究所主编, 已于 2002 年 9 月出版发行。全书分上、下卷, 1 ~ 6 章为上卷, 包括根菜类、白菜类、芥菜类、甘蓝类、绿叶菜类及葱蒜类, 计 2263 个品种, 1347 页; 7 ~ 12 章为下卷, 包括瓜类、茄果类、豆类、薯芋类、水生蔬菜类和多年生蔬菜类, 计 2550 个品种, 1177 页。入志的品种中, 地方品种占 90% 以上, 少量在全国栽培时间较长、种植面积较大的一代杂种也选入其中。本书较全面系统而又有重点地反映了中国丰富的蔬菜品种资源概貌、研究成果及育种水平, 可供蔬菜科研、教学、生产及种子公司、农业行政单位的人员参考。本书出版后受到读者普遍好评, 现尚有少量存书, 特以优惠价格 490 元 (上、下卷) 提供给读者 (原价 980 元)。

购书者请通过邮局汇款至北京中关村南大街 12 号中国农科院蔬菜花卉所 《园艺学报》编辑部, 邮编 100081。

## 《中国蔬菜实用新技术大全》

《中国蔬菜实用新技术大全》由北京科学技术出版社出版, 分南方蔬菜卷 (120 万字) 和北方蔬菜卷 (170 万字), 每卷均有白菜类、根菜类、甘蓝类、芥菜类、茄果类、豆类、瓜类、葱蒜类、绿叶菜类、薯芋类、水生蔬菜类、多年生蔬菜类、野生蔬菜类、芽苗菜类、食用菌、设施栽培、蔬菜产品及种子质量标准等 17 章, 每章包括优良品种、栽培技术、采收、贮藏、运输及加工等内容 (南方卷和北方卷各有侧重)。定价: 南方卷 198 元, 北方卷 228 元。

购书者请通过邮局汇款至北京中关村南大街 12 号中国农科院蔬菜花卉所 《园艺学报》编辑部, 邮编 100081。