

黄瓜种子大小遗传分析与 QTL 定位

王 敏, 苗 晗, 张圣平, 刘书林, 董邵云, 王 烨, 顾兴芳*

(中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 北京 100081)

摘 要: 以种子大小差异显著的黄瓜野生变种 ‘PI183967’ (*Cucumis sativus* var. *hardwickii*) 和栽培品种 ‘新泰密刺’ 选系 ‘931’ 为亲本, 通过 6 世代混合模型分析方法, 研究种子长度和宽度的遗传规律, 并利用包含 160 个株系的 F₉ 代重组自交系群体, 构建 SSR 分子遗传图谱, 完成种子长度、宽度及百粒质量的 QTL 染色体定位。结果表明: (1) 种子长度与宽度在正、反交 6 世代群体中均符合 C-0 遗传模型 (加性—显性—上位性多基因遗传模型), 且以多基因加性效应为主。(2) 构建的永久 SSR 遗传图谱, 包含 149 个 SSR 标记, 9 个连锁群, 覆盖基因组长度 389.2 cM, 平均标记间距为 2.61 cM。(3) 2012 年春季与 2013 年春季共检测到 14 个与种子长度、宽度和百粒质量相关的 QTL, 分布在 Chr.2、Chr.3、Chr.4、Chr.5、Chr.6 染色体上, LOD 值介于 2.59~9.39 之间, 可解释 7.4%~28.3% 的表型变异率, 贡献率 ≥ 10.0% 的 QTL 位点 6 个, 占 QTL 总数的 42.9%, 可在两年中重复检测出的 QTL 位点 3 个, 占 QTL 总数的 21.5%。

关键词: 黄瓜; 种子大小; 遗传分析; QTL 定位

中图分类号: S 642.2

文献标志码: A

文章编号: 0513-353X (2014) 01-0063-10

Inheritance Analysis and QTL Mapping of Cucumber Seed Size

WANG Min, MIAO Han, ZHANG Sheng-ping, LIU Shu-lin, DONG Shao-yun, WANG Ye, and GU Xing-fang*

(Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract: The cucumber wild variety ‘PI183967’ (*Cucumis sativus* var. *hardwickii*) and a cultivated cucumber Northern Chinese inbred line ‘931’ were used as parental materials to construct genetic populations because of their significant difference in seed size. The inheritance of seed length and width was studied by joint segregation analysis using positive and negative six-generation populations. A SSR genetic map was constructed using the RILs to finish QTL mapping of seed length, width and 100-seed weight. Results showed that (1) The inheritance of seed length and width fitted into C-0 model (Additive dominance-epistasis polygene inheritance model) in the positive and negative cross six-generation, and mainly with additive effect of multi-genes (2) A SSR linkage map of cucumber was constructed 149 SSR markers. The map included 9 linkages and spanned 389.2 cM with a mean marker interval of 2.61 cM. (3) 14 QTLs related to seed length, seed width and 100-seed weight were detected 2012 and 2013 spring. These QTLs accounted for 7.4%–28.3% of phenotypic variance were located on Chr.2, Chr.3, Chr.4,

收稿日期: 2013-08-18; 修回日期: 2013-12-25

基金项目: 国家现代农业产业技术体系建设专项资金项目 (CARS-25); 国家重点基础研究发展计划 (‘973’) 项目 (2012CB113900); 农业部园艺作物生物学与种质创制重点实验室项目

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: guxingfang@caas.cn)

Chr.5, Chr.6 with *LOD* scores of 2.59 – 9.39. Of all the QTLs, 6 QTLs explained over 10.0% of phenotypic variance accounting for 42.9% and 3 QTLs could be detected in different years which accounted for 21.5%.

Key words: cucumber; seed size; genetic analysis; QTL mapping

黄瓜作为重要的蔬菜作物, 目前其遗传研究主要集中在果实品质性状(Heang et al., 2008; Zhang et al., 2010b, 2012, 2013; Miao et al., 2011; Bo et al., 2012; 董邵云 等, 2013; Li et al., 2013)、植株性状(Fazio et al., 2003; Nam et al., 2005; Weng et al., 2010; 苗晗 等, 2013)、抗病性(Zhang et al., 2010a, 2013)等方面, 而对于由胚珠发育而来的种子性状(种子形态、成分含量、产量与休眠特性等)研究较少。有报道称黄瓜种子中除含有淀粉、糖类、脂肪等主要成分外, 还富含多种微量元素, 芳香物质以及油酸等物质(贾昊玺 等, 2008; 王桂艳 等, 2008; 李孝莉 等, 2011)。黄瓜种子的含油量较高(侯冬岩和回瑞华, 2006), 其油类物质有很好的美容护肤效果(Yajima & Sakak, 1985; Kemp & Thomas, 1986), 有人已经对种子含油量进行了遗传分析与 QTL 定位(田友 等, 2010; 李坤 等, 2011)。

研究发现, 大粒种子比小粒种子拥有较大的胚乳或子叶, 能够为幼苗提供更多的营养物质, 在苗期能忍受更大的环境压力, 对后代幼苗贡献较大(Stanton, 1984; Comezs, 2004; Moles et al., 2005)。目前其他作物种子大小相关性状的研究主要有, 克隆了控制拟南芥种子大小的基因(Nikolai et al., 2009; Fang et al., 2012), 将控制水稻种子粒长/粒重的 *GS3* 基因精细定位在 7.9 kb 的物理区间内(Fan et al., 2006), 在西瓜与甜瓜上检测到了多个与种子大小相关的 QTL 位点(Hawkins et al., 2001; 王贤磊 等, 2011; Prothro et al., 2012), 但关于黄瓜种子大小相关性状的研究仅有陈璐璐等(2012)报道黄瓜种子长度属于数量性状, 以显性效应为主, 同时存在加性效应, 广义遗传力与狭义遗传力较低, 并检测到 6 个与黄瓜种子长度相关的 QTL。

本研究中以黄瓜野生变种(*Cucumis sativus* var. *hardwickii*) ‘PI183967’ 和栽培品种 ‘新泰密刺’ 选系 ‘931’ 为亲本构建正反交 6 世代和 RIL 群体, 应用植物数量性状主基因 + 多基因混合遗传模型分析种子长度与宽度的遗传规律。同时借助 SSR 多态性标记构建的黄瓜分子遗传图谱, 进行种子长度、宽度与百粒质量的 QTL 定位, 从分子角度探究黄瓜种子大小的遗传规律, 可为培育籽用黄瓜新品种及分子辅助育种提供依据, 也为控制黄瓜种子性状相关基因的分离与克隆奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料与性状调查

试验在中国农业科学院蔬菜花卉研究所北京南口中试基地进行。以黄瓜野生变种 ‘PI183967’ 和栽培品种 ‘新泰密刺’ 选系 ‘931’ 为亲本, 2007—2008 年在温室进行杂交、自交和回交, 获得 F_2 、 BC_1P_1 和 BC_1P_2 代种子。2009—2012 年 F_3 继续自交, 通过单粒传法获得重组自交系 RIL 群体(F_9)。2012 年春季与 2013 年春季, 分别种植 F_9 代 RIL 群体(含 160 个株系), 每个株系设置 3 次重复, 随机区组排列, 每次重复 5 株, 常规栽培管理, 单株自交授粉。当种瓜成熟后, 采摘种瓜, 并将其后熟 5 ~ 7 d, 剖瓜取籽, 洗净, 晾干, 每次重复的种子混收。

用电子游标卡尺测量种子的长度与宽度(单位: mm), 其中 6 世代(P_1 、 P_2 、 F_1 、 BC_1P_1 、 BC_1P_2 、 F_2) 群体测量 10 粒种子, RIL 群体测量每株系 3 次重复的种子, 每重复测量 10 粒种子。用电子天平称量 RIL 群体每个株系种子百粒质量(单位: g)。

1.2 DNA 提取和分子标记

DNA 的提取采用改良的 CTAB 法 (Clark, 1998), 应用氯仿: 异戊醇 (24:1) 抽提两次, 以保证 DNA 纯度。亲本的 DNA 用于多态性 SSR 标记筛选, RIL 群体的 DNA 用于连锁分析。

SSR 标记: 所需的 2 112 对 SSR 引物均来自黄瓜基因组序列 (Ren et al., 2009), 由上海生物工程技术服务有限公司合成。PCR 反应体系为 10 μ L, 包括 5 μ L Mix (北京康润诚业生物科技有限公司), 3 μ L 模板 DNA, 前后引物各 1.0 μ L。SSR 程序优化后为 94 $^{\circ}$ C 预变性 4 min; 94 $^{\circ}$ C 变性 15 s, 55 $^{\circ}$ C 退火 15 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 30 s, 循环 34 次; 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 5 min。采用 6%聚丙烯酰胺凝胶电泳分离, 并进行银染显色与数据统计 (Sambrook & Russell, 2001)。

1.3 遗传图谱的构建

利用亲本筛选多态性 SSR 分子标记, 挑选在黄瓜染色体上均匀分布的多态性 SSR 标记对 RIL 群体 DNA 进行分析。按照 JoinMap 4.0 软件要求的方法统计条带: 与母本 ‘PI183967’ 一致的带型记为 a, 与父本 ‘931’ 一致的带型记为 b, 杂合的带型记为 h, 未扩增出的或模糊不清的带型记 u。采用 JoinMap 4.0 软件作图。

1.4 遗传分析与 QTL 定位

使用 Microsoft[®] Excel2010 软件进行数据统计分析, 并获得频率分布柱形图。采用盖钧镒等 (2003) 和章元明等 (2000) 多世代联合数量性状分离分析方法进行试验数据遗传分析。根据 AIC 值最小准则和适合检验选择最优模型, 在最优模型的基础上进行最小二乘法估计, 并相应进行一阶和二阶遗传参数估计。

利用 MapQTL4.0 软件进行 QTL 分析, 首先利用置换测验 1 000 次重复, 估算基因组范围内 $\alpha = 0.05$ 水平上的 LOD 阈值。在本研究中使用的阈值为 $LOD \geq 2.58$ 。然后, 利用区间作图法 (IM) 进行 QTL 分析, 在每条染色体上每隔 1 mm 对 QTL 存在的可能性扫描 1 次。对于 IM 分析检测到的 QTL, 将最高 LOD 值所在位置的标记或与其紧密连锁的标记作为协同因子, 再对 IM 检测到的 QTL 进行多座位 QTL 模型 (MQM) 检测。以连锁群上 LOD 值最高的位置作为 QTL 的位置, 以 2-LOD 的区间作为 95% 的置信区间。QTL 的命名规则如下: 性状的英文缩写 + 连锁群号 + QTL 编号。

2 结果与分析

2.1 黄瓜种子长度、宽度表型分析

从表 1 可以看出两亲本在种子长度和宽度方面差异显著, F_1 的种子长度与宽度介于两亲本之间。

表 1 正反交 6 世代群体种子长度和宽度
Table 1 Seed length and width in six-generation of positive and negative cross

| 正交或反交 Positive or negative cross | 世代 Generation | 种子长度/mm Seed length | 种子宽度/mm Seed width |
|----------------------------------|--------------------------------|---------------------|--------------------|
| 正交 Positive cross | P ₁ | 4.50 \pm 0.06 c | 2.38 \pm 0.06 c |
| | P ₂ | 7.81 \pm 0.10 a | 3.73 \pm 0.10 a |
| | F ₁ | 6.20 \pm 0.32 b | 2.84 \pm 0.21 b |
| | BC ₁ P ₁ | 5.44 (4.72 ~ 6.65) | 2.63 (2.13 ~ 3.06) |
| | BC ₁ P ₂ | 6.82 (5.78 ~ 7.71) | 3.22 (2.56 ~ 3.75) |
| | F ₂ | 6.26 (4.80 ~ 7.80) | 2.98 (2.24 ~ 3.60) |
| 反交 Negative cross | P ₁ | 4.50 \pm 0.06 c | 2.38 \pm 0.06 c |
| | P ₂ | 7.81 \pm 0.10 a | 3.73 \pm 0.10 a |
| | F ₁ | 6.13 \pm 0.21 b | 3.02 \pm 0.07 b |
| | BC ₁ P ₁ | 5.91 (5.30 ~ 6.70) | 2.71 (2.40 ~ 3.10) |
| | BC ₁ P ₂ | 7.14 (4.50 ~ 8.10) | 3.35 (2.30 ~ 3.80) |
| | F ₂ | 6.44 (4.70 ~ 7.8) | 3.00 (2.10 ~ 3.90) |

两回交群体种子长度与宽度差异较大，在正、反交 6 世代群体中，BC₁P₁ 种子长度与宽度均偏向表型值较小的亲本 P₁，BC₁P₂ 均偏向表型值较高的亲本 P₂，F₂ 群体介于两亲本之间。另外，正、反交回交群体与 F₂ 群体种子长度与宽度的变异幅度大。

2.2 正交 6 世代群体种子长度和宽度遗传分析

2.2.1 最优遗传模型

利用软件对 6 世代种子长度和宽度遗传模型分析，检测到与黄瓜种子长度相关的遗传模型 22 个，其中 1 对主基因（A）模型 4 个，2 对主基因（B）模型 6 个，多基因模型（C）2 个，1 对主基因 + 多基因（D）5 个，2 对主基因 + 多基因（E）模型 5 个。另外，也检测到与种子宽度相关的遗传模型 22 个，其中 A 模型 4 个，B 模型 6 个，C 模型 2 个，D 模型 5 个，E 模型 5 个。根据 AIC 值最小原则，种子长度（C - 0）模型 AIC 值最小，为 460.60；种子宽度（C - 0）模型 AIC 值最小，为 - 97.15。

故种子长度与宽度均符合 C - 0 遗传模型，即加性—显性—上位性多基因模型。适合性检验表明 C - 0 遗传模型为种子长度和宽度的最优遗传模型（表略）。

2.2.2 种子长度和宽度遗传参数分析

由表 2 可知，种子长度的群体平均数为 5.64 mm，多基因加性效应与显性效应值分别为 - 1.52 与 0.88，说明控制种子长度基因的加性效应强于显性效应。加性效应为负值，表明控制种子长度的增效基因来自表现型较小的亲本 P₁。在基因遗传率方面，BC₁P₁、BC₁P₂ 群体的多基因遗传率分别为 49.72% 与 61.58%，F₂ 群体的多基因遗传率为 76.14%。种子长度环境变异率则是介于 23.86% ~ 50.28% 之间。因此，黄瓜种子长度由多基因控制，且以加性效应为主。

种子宽度的群体平均数为 2.56 mm，多基因加性效应与显性效应值分别为 - 0.55 与 0.51，即控制种子宽度的多基因加性效应强于显性效应。BC₁P₁ 与 BC₁P₂ 群体的多基因遗传率分别为 37.0% 与 63.9 %。F₂ 群体的多基因遗传率为 72.1%。种子宽度环境变异率则是介于 27.9% ~ 63.0% 之间。因此，黄瓜种子宽度也是由多基因控制，且以多基因的加性效应为主。

表 2 正交 6 世代种子长度和宽度遗传参数估计值

Table 2 The estimation of genetic parameter of seed length and width in positive six-generation

| 性状 Traits | 一阶参数 1st order parameter | 估计值 Estimation | 二阶参数 2nd order parameter | 估计值 Estimation | | |
|---------------------|-----------------------------|-------------------|-----------------------------|--------------------------------|--------------------------------|----------------|
| | | | | BC ₁ P ₁ | BC ₁ P ₂ | F ₂ |
| 种子长度 Seed length | m | 5.64 | δ_p^2 | 0.15 | 0.19 | 0.31 |
| | [d] | - 1.52 | δ_{pg}^2 | 0.07 | 0.12 | 0.23 |
| | [h] | 0.88 | δ_e^2 | 0.07 | 0.07 | 0.07 |
| | | | h_{pg}^2 (%) | 49.72 | 61.58 | 76.14 |
| 种子宽度 Seed width | m | 2.56 | δ_p^2 | 0.03 | 0.05 | 0.07 |
| | [d] | - 0.55 | δ_{pg}^2 | 0.01 | 0.03 | 0.05 |
| | [h] | 0.51 | δ_e^2 | 0.02 | 0.02 | 0.02 |
| | | | h_{pg}^2 (%) | 37.0 | 63.9 | 72.1 |

2.3 反交 6 世代群体种子长度和宽度遗传分析

2.3.1 最优遗传模型

反交 6 世代群体种子长度与宽度的遗传分析，检测到与反交群体种子长度和宽度相关的遗传模型均为 23 个，且根据 AIC 值最小原则，其中种子长度（C - 0）遗传模型的 AIC 值最小，为 353.13，种子宽度（C - 0）遗传模型最小，为 - 111.20。依据统计量 U_1^2 、 U_2^2 、 U_3^2 的均匀性检验，W 的 Smirnov 检验及 D 的 Kolomogorov 检验对其进行适合性检验，C - 0 达到的显著性水平的个数最少。因此，

反交 6 世代群体种子长度与和宽度也符合 C - 0 模型，与正交 6 世代群体种子长度和宽度遗传模型一致。

2.3.2 种子长度和宽度遗传参数分析

由表 3 可以看出，种子长度的群体平均数为 6.64 mm，种子宽度的群体平均数为 3.01 mm。种子长度与宽度的加性效应均高于显性效应，受多基因影响较大。BC₁P₁ 与 BC₁P₂ 群体的种子长度多基因遗传率均在 59.0%与 84.81%，F₂ 群体种子长度的多基因遗传率为 82.17%；而 BC₁P₁ 与 BC₁P₂ 群体的种子宽度多基因遗传率均在 80.95%与 90.40%，F₂ 群体种子宽度的多基因遗传率为 94.64%。可见，反交 6 世代群体种子长度和宽度受多基因控制，且加性效应强于显性效应。

表 3 反交 6 世代种子长度和宽度遗传参数估计值
Table 3 Estimates of genetic parameters of seed length and width in negative six-generation

| 性状 Traits | 一阶参数 1st order parameter | 估计值 Estimation | 二阶参数 2nd order parameter | 估计值 Estimation | | |
|---------------------|-----------------------------|-------------------|-----------------------------|--------------------------------|--------------------------------|----------------|
| | | | | BC ₁ P ₁ | BC ₁ P ₂ | F ₂ |
| 种子长度 Seed length | m | 6.64 | δ^2_p | 0.1 | 0.27 | 0.23 |
| | [d] | - 1.44 | δ^2_{pg} | 0.059 | 0.229 | 0.189 |
| | [h] | 0.46 | δ^2_e | 0.041 | 0.041 | 0.041 |
| | | | $h^2_{pg}(\%)$ | 59.0 | 84.8 | 82.27 |
| 种子宽度 Seed width | m | 3.01 | δ^2_p | 0.021 | 0.05 | 0.056 |
| | [d] | - 0.7 | δ^2_{pg} | 0.017 | 0.047 | 0.053 |
| | [h] | 0.1 | δ^2_e | 0.003 | 0.003 | 0.003 |
| | | | $h^2_{pg}(\%)$ | 80.95 | 90.40 | 94.64 |

2.4 SSR 遗传图谱构建

所用的 2 112 对 SSR 引物在亲本 P₁ 和 P₂ 之间表现出多态的有 1 125 对，多态率为 53.2%。从其多态性引物中挑选出了 201 对条带清晰、稳定，而且基本上没有定位在高密度图谱（Zhang et al., 2012）上的 SSR 标记，用于 RIL 群体 DNA 进行分析，排除群体分析中条带模糊不清的标记，最终得到 149 对可用标记，建立了包含 9 个连锁群的黄瓜遗传图谱。该图谱覆盖基因组长度 389.2 cM，平均图距 2.61 cM。每个连锁群的标记数在 5 ~ 33 之间，其中 LG3 包含的标记数最多，为 33 个；LG8 含有的标记数最少，仅有 5 个；连锁群的长度在 13.5 ~ 88.3 cM 之间；图谱密度在 1.16 ~ 4.93 cM 之间，LG4 的平均间距最小，为 1.16 cM；LG2 的平均间距最大，为 4.93 cM。本试验中的 1 ~ 9 个连锁群中分别有 15、6、33、16、6、29、28、5、11 个标记并确定了 9 个连锁群与黄瓜 7 条染色体相对应，具体对应关系如下：LG1 与 Chr.1 对应，LG2 与 Chr.2 对应，LG3 与 Chr.3 对应，LG4、LG5 与 Chr.4 对应，LG6 与 Chr.5 对应，LG7 与 Chr.6 对应，LG8、LG9 与 Chr.7 对应（表 4）。

表 4 黄瓜 RIL 群体 SSR 遗传连锁图谱
Table 4 Cucumber SSR genetic map of RIL

| 染色体 Chromosome | 连锁群 Linkage | 标记数 Number of markers | 长度/cM Length | 平均距离/cM Average distance |
|-------------------|----------------|--------------------------|-----------------|-----------------------------|
| Chr.1 | LG1 | 15 | 41.0 | 2.73 |
| Chr.2 | LG2 | 6 | 29.6 | 4.93 |
| Chr.3 | LG3 | 33 | 82.5 | 2.50 |
| Chr.4 | LG4, LG5 | 16, 6 | 18.6, 13.5 | 1.16, 2.25 |
| Chr.5 | LG6 | 29 | 64.5 | 2.22 |
| Chr.6 | LG7 | 28 | 88.3 | 3.15 |
| Chr.7 | LG8, LG9 | 5, 11 | 16.1, 35.1 | 3.22, 3.19 |
| 总计 | 9 | 149 | 389.2 | 2.61 |

2.5 RIL 群体种子长度、宽度及百粒质量 QTL 定位

2.5.1 RIL 群体种子性状遗传分析

2012 年春季与 2013 年春季 RIL 群体的种子长度、宽度及百粒质量平均值介于两亲本之间，且群体间的变异幅度较大。2012 年春季的种子长度与宽度略小于 2013 年春季的种子长度与宽度，百粒质量则相反（表 5）。RIL 群体种子长度、宽度及百粒质量整体表现为明显的单峰偏态分布，接近于正态分布。因此，RIL 群体种子长度、宽度与百粒质量在等效多基因的假设下，次数分布应该是正态的，可以初步判定种子长度、宽度与百粒质量由多基因控制，与采用 6 世代分析的结果一致。故可以进行种子长度、宽度与百粒质量（图 1）的 QTL 定位。

表 5 亲本及 RIL 群体在不同环境下的表现

Table 5 Parental lines and RIL progeny phenotypic values for traits in different environments

| 群体 Group | 种子长/mm Seed length | | 种子宽/mm Seed width | | 种子百粒质量/g 100-seed weight | |
|----------------|-----------------------|-------------------------|----------------------|-------------------------|-----------------------------|-------------------------|
| | 平均值 Average | 变异幅度 Variation range | 平均值 Average | 变异幅度 Variation range | 平均值 Average | 变异幅度 Variation range |
| | | | | | | |
| P ₁ | 4.50 ± 0.06 | | 2.38 ± 0.06 | | 0.50 ± 0.01 | |
| P ₂ | 7.81 ± 0.10 | | 3.73 ± 0.10 | | 2.10 ± 0.058 | |
| RIL (2012) | 6.51 ± 0.42 | 5.06 ~ 8.17 | 2.77 ± 0.39 | 1.82 ~ 3.90 | 1.31 ± 0.34 | 0.40 ~ 2.14 |
| RIL (2013) | 6.69 ± 0.67 | 5.27 ~ 8.70 | 3.01 ± 0.31 | 1.97 ~ 3.77 | 1.30 ± 0.52 | 0.45 ~ 2.27 |

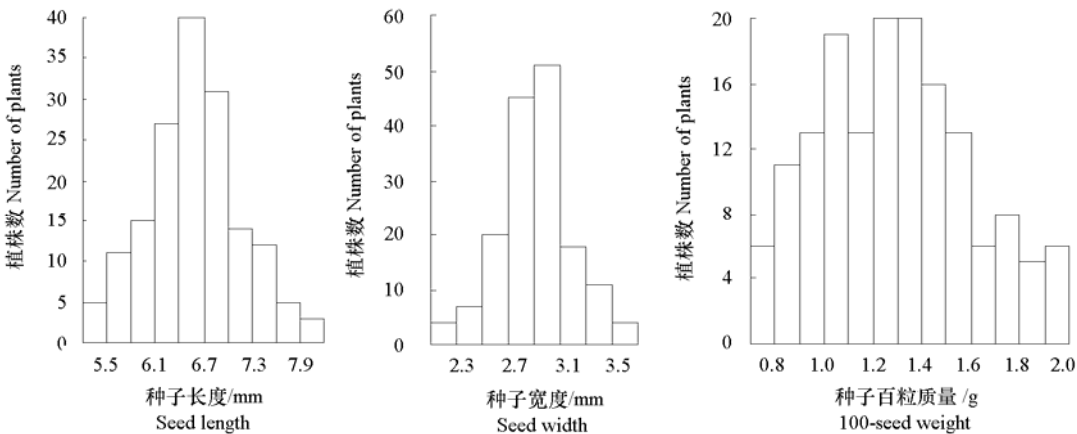


图 1 RIL 群体种子长度、宽度及百粒质量频数分布图

Fig. 1 Frequency distribution of seed length, width and 100-seed weight in RIL population

2.5.2 RIL 群体种子性状 QTL 定位

共检测到 14 个与种子长度、宽度和百粒质量相关的 QTLs，分布在 Chr.2、Chr.3、Chr.4、Chr.5、Chr.6 染色体上，*LOD* 值介于 2.59 ~ 9.39 之间，可解释 7.4% ~ 28.3% 的表型变异率，贡献率 $\geq 10.0\%$ 的 QTL 位点 6 个，占 QTLs 总数的 42.9%，可在两年中重复检测出的 QTL 位点 3 个，占 QTLs 总数的 21.5%（表 6）。

（1）种子长度 QTL：*SL5.1* 和 *SL6.1* 在两年中均可检测到。其中 *SL5.1* 在两年春季中的贡献率分别为 15.6% 和 7.4%；*SL6.1* 介于标记 SSR23109 ~ SSR02591 之间，贡献率分别为 9.1% 与 9.2%。另外在 2013 年春检测到的 QTL 位点中，*SL2.1* 的贡献率较大，为 13.6%，该位点位于标记 SSR21276 ~ SSR13131 之间。

(2) 种子宽度 QTL: 2012 年春季检测到的 QTL 位点的贡献率较低, 而 2013 年春季检测到的 QTL 位点 (*SWD2.2* 和 *SWD5.1*), 分别可解释 18.8%和 16.2%的表型变异率, 位于第 2 号染色体 SSR21276~SSR13131 与第 5 号染色体 SSR10542~SSR19531 之间。

(3) 种子百粒质量 QTL: QTL 位点 *100SWT6.1* 位于标记 SSR23109~SSR02591 之间, 可解释 28.3%的表型变异率。2013 年春季检测到的 3 个与百粒质量相关的 QTL 位点(*100SWT2.1*、*100SWT5.2*、*100SWT6.1*) 贡献率均在 10.0%以上, 分别位于第 2、5、6 号染色体上。

据上述结果可知, 种子长度 QTL 位点 *SL5.1*、*SL6.1*, 种子百粒质量 QTL 位点 *100SWT6.1* 可在两年中重复检测到; SSR00182~SSR20208 和 SSR23109~SSR02591 这 2 个区域聚集了影响种子长度、宽度和百粒质量的相关基因, 推测此区域可能是控制种子大小性状的关键区域。

表 6 黄瓜种子大小在 RIL 群体的 QTL 定位
Table 6 QTL analysis of cucumber seed size in RIL population

| 性状 Trait | QTL | 时期 Time | 染色体 Chr. | 位置/cM Position | 标记区间 Marker interval | LOD | 贡献率/% Phenotypic variance | 加性效应 Additive effect |
|-------------------------|------------------|------------|-------------|-------------------|-------------------------|------|------------------------------|-------------------------|
| 种子长度 Seed length | <i>SL2.1</i> | 2013 | 2 | 13 | SSR21276~SSR13131 | 5.68 | 13.6 | -0.29 |
| | <i>SL3.1</i> | 2013 | 3 | 44.2 | SSR22874 | 2.73 | 7.7 | -0.2 |
| | <i>SL4.1</i> | 2012 | 4 | 9.7 | SSR07581 | 3.82 | 9.2 | -0.24 |
| | <i>SL4.2</i> | 2013 | 4 | 11.8 | SSR15296 | 3.24 | 7.5 | -0.23 |
| | <i>SL5.1</i> | 2012, 2013 | 5 | 49.9 | SSR00182~SSR20208 | 5.45 | 15.6 | -0.3 |
| | <i>SL6.1</i> | 2012, 2013 | 6 | 26.3 | SSR23109~SSR02591 | 3.8 | 9.1 | -0.21 |
| 种子宽度 Seed width | <i>SWD2.1</i> | 2012 | 2 | 18.8 | SSR13131 | 2.59 | 7.7 | -0.12 |
| | <i>SWD2.2</i> | 2013 | 2 | 13 | SSR21276~SSR13131 | 6 | 18.8 | -0.15 |
| | <i>SWD5.1</i> | 2013 | 5 | 48.3 | SSR10542~SSR19531 | 5.49 | 16.2 | -0.15 |
| | <i>SWD6.1</i> | 2012 | 6 | 31.3 | SSR14684~SSR02591 | 2.89 | 9.9 | -0.13 |
| 百粒质量 100-Seed weight | <i>100SWT2.1</i> | 2013 | 2 | 13 | SSR21276~SSR13131 | 5.71 | 14 | -0.15 |
| | <i>100SWT5.1</i> | 2012 | 5 | 48.8 | SSR15818 | 5.14 | 11 | -0.14 |
| | <i>100SWT5.2</i> | 2013 | 5 | 39.1 | SSR01610~SSR06660 | 4.66 | 13.4 | -0.15 |
| | <i>100SWT6.1</i> | 2012, 2013 | 6 | 26.3 | SSR23109~SSR02591 | 9.39 | 28.3 | -0.19 |

3 讨论

被子植物经历双受精过程后形成二倍体胚和三倍体胚乳, 珠被最终发育成种皮。胚、胚乳与种皮构成了种子的三大组织。目前在拟南芥、水稻等大田作物上已经进行了定位和克隆了多个影响种子大小相关性状的基因 (Tan et al., 2000; Kubo et al., 2001; Thomson et al., 2003; Aluko et al., 2004; Li et al., 2004; Jofuku et al., 2005; Fan et al., 2006; Adamski et al., 2009; Fang et al., 2012)。综合前人研究结果, 不难发现种子大小性状属于由多基因控制的数量性状。

本研究通过正、反交 6 世代群体进行, 对黄瓜种子长度与宽度进行遗传分析。结果表明 (1) BC_1P_2 群体的种子长度、宽度大于 BC_1P_1 群体种子长度、宽度, 且 BC_1P_1 群体种子接近于 P_1 的种子大小, BC_1P_2 群体种子接近于 P_2 的种子大小。(2) 种子长度在正、反交 6 世代群体中均由多基因作用控制, 加性效应强于显性效应, 此结果与陈璐璐 (2012) 结果一致。黄瓜种子宽度是在 6 世代群体中是由多基因作用控制, 且以多基因加性效应为主。此结论与祁祖白等 (1983) 在水稻粒宽上的研究结果一致。大多数学者认为中粒西瓜种子显性于长粒西瓜种子, 且种子大小是由单显性基因控制的质量性状 (Shimotsuna, 1963; Tanaka et al., 1995; Kang et al., 2000; Lou, 2009)。但也有学者认为“番茄籽”西瓜种子大小是由单隐性基因“*ts*”控制 (Zhang, 1996)。

本研究利用构建的包含 149 个 SSR 标记的 F_9 代 RIL 群体遗传连锁图谱, 共检测到 14 个与种子长度、宽度和百粒质量相关的 QTLs, 分布在 Chr.2、Chr.3、Chr.4、Chr.5、Chr.6 染色体上, LOD 值

介于 2.59 ~ 9.39 之间, 可解释 7.4 % ~ 28.3 % 的表型变异率, 贡献率 $\geq 10.0\%$ 的 QTL 位点 6 个, 占 QTLs 总数的 42.9 %, 可在两季中重复检测出的 QTL 位点 3 个, 占 QTLs 总数的 21.5 %。且检测到的所有 QTL 位点的加性效应均为负值, 表现为减效加性效应, 说明这些位点的增效基因来自表现型较小的亲本 (‘PI183967’)。种子性状在不同年份中检测到的 QTL 位点不同, 微效位点较多, 说明种子长度、宽度与百粒质量受多基因效应影响较大。其中, 种子长度 QTL 位点 *SL5.1* 和 *SL6.1*, 种子百粒质量 QTL 位点 *100SWT6.1* 可在 2012 年春和 2013 年春季试验中重复检测到; 分别位于第 5 号染色体上的标记 SSR00182 ~ SSR20208 和第 6 号染色体上标记 SSR 23109 ~ SSR02591 之间, 这 2 个区域聚集了影响种子长度和百粒质量的相关基因, 推测这些区域可能是控制种子大小性状的关键区域。

目前, 无论是在种子长度、宽度和百粒质量等研究方面, 黄瓜种子大小相关性状研究都处于起步阶段, 且由于种子性状的遗传规律较为复杂, 种子大小因材料的遗传背景不同而差异较大, 再加之目前已报道的研究结果缺乏与其紧密连锁的分子标记, 无法有效应用于育种研究。故在今后研究中, 有必要在构建高密度饱和遗传图谱的基础上, 对控制种子大小性状的相关基因或主效 QTL 进行精细定位, 从而为种子性状相关基因的分离与克隆奠定基础, 也为种子性状的分子标记辅助育种提供理论依据。

References

- Adamski N M, Anastasiou E, Eriksson S, O'Neill C M, Lenhard M. 2009. Local maternal control of seed size by KLUHICYP78A5-dependent growth signaling. *PNAS*, 106: 20115 - 20120.
- Aluko G, Martinez C, Tohme J, Castano C, Bergman C, Oard H J. 2004. QTL mapping of grain quality traits from the interspecific cross *Oryza sativa* \times *O. glaberrima*. *Theor Appl Genet*, 109: 630 - 639.
- Ben Wu-xi, Lu Da-dong, Bian Ning-sheng, Wu Mei-fang. 2008. Studies on the chemical constituents of cucumber. *Natural Product Research and Development*, 20 (3): 388 - 394. (in Chinese)
- 贾昊玺, 陆大东, 卞宁生, 吴美芳. 2008. 黄瓜化学成分的提取与研究. *天然产物研究与开发*, 20 (3): 388 - 394.
- Bo K L, Song H, Shen J, Qian C T, Staub J E, Simon P W, Lou Q F, Chen J F. 2012. Inheritance and mapping of the ore gene controlling the quantity of betacarotene in cucumber (*Cucumis sativus* L.) endocarp. *Molecular Breeding*, 30 (1): 335 - 344.
- Chen Lu-lu, Qin Zhi-wei, Zhou Xiu-yan, Xin Ming, Wu Tao. 2012. Molecular marker and genetic analysis of cucumber seed length. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 28 (16): 165 - 170. (in Chinese)
- 陈璐璐, 秦智伟, 周秀艳, 辛明, 武涛. 2012. 黄瓜种子长度的遗传分析及分子标记. *中国农学通报*, 28 (16): 165 - 170.
- Clark M S. 1998. *Experimental manual of plant molecular biology*. Beijing: Higher Education Press: 427.
- Comez J M. 2004. Bigger is not always better: Conflicting selective pressure on seed size in *Quercus ilex*. *Evolution*, 58 (1): 71 - 80.
- Dong Shao-yun, Miao Han, Zhang Sheng-ping, Wang Ye, Wang Min, Liu Shu-lin, Gu Xing-fang. 2013. Genetic analysis and gene mapping of glossy fruit skin in cucumber. *Acta Horticulturae Sinica*, 40 (2): 247 - 254. (in Chinese)
- 董邵云, 苗晗, 张圣平, 王烨, 王敏, 刘书林, 顾兴芳. 2013. 黄瓜果皮光泽性状的遗传分析及基因定位研究. *园艺学报*, 40 (2): 247 - 254.
- Fan C C, Xing Y Z, Mao H L, Lu T T, Han B, Xu C G, Li X H, Zhang Q F. 2006. GS3, a major QTL for grain length and weight and minor QTL for grain width and thickness in rice, encodes a putative transmembrane protein. *Theor Appl Genet*, 112: 1164 - 1171.
- Fang Wenjuan, Wang Zhibiao, Cui Rongfeng, Li Jie, Li Yunhai. 2012. Maternal control of seed size by EOD3/CYP78A6 in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal*, 70 (6): 929 - 939.
- Fazio G, Chung S M, Staub J E. 2003. Comparative analysis of response to phenotypic and marker-assisted selection for multiple lateral branching in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 107 (5): 875 - 883.
- Gai Jun-yi, Zhang Yuan-ming, Wang Jian-kang. 2003. *Genetic system of quantitative traits in plant*. Beijing: Science Publication. (in Chinese)
- 盖钧镛, 章元明, 王建康. 2003. *植物数量性状遗传体系*. 北京: 科学出版社.

- Hawkins L K, Dane F, Kubisiak T L. 2001. Molecular markers associated with morphological traits in watermelon. *HortScience*, 36: 1318 - 1322.
- Heang D, Sato H, Sassa H, Koba T. 2008. Detection of two QTLs for fruit weight in cucumber (*Cucumis sativus* L.). Proceedings of the IXth EUCARPIA meeting on genetics and breeding of Cucurbitaceae. Pitrat M, ed. INRA, Avignon (France). 5: 511 - 514.
- Hou Dong-yan, Hui Rui-hua. 2006. Studies on chemical constituents of cucumber. *Journal of Anshan Normal University*, 8 (2): 28 - 30. (in Chinese)
- 侯冬岩, 回瑞华. 2006. 水黄瓜营养成分的研究. *鞍山师范学院学报*, 8 (2): 28 - 30.
- Jofuku K D, Omidyar P K, Gee Z. 2005. Control of seed mass and seed yield by the floral homeotic gene APETALA 2. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102 (8): 3117 - 3122.
- Kemp H, Thomas R. 1986. Volatile from winter wheat. *Phytochemistry*, 25 (1): 241 - 243.
- Kubo T, Takano-kai N, Yoshimura A. 2001. RFLP mapping of genes for long kernel and awn on chromosome 3 in rice. *Rice Genet News*, 18: 26 - 28.
- Li J, Thomson M, McCouch S R. 2004. Fine mapping of a grain-weight quantitative trait locus in the pericentromeric region of rice chromosome 3. *Genetics*, 168: 2187 - 2195.
- Li Kun, Si Long-ting, Zhang Ke-yan, Jiang Jing, Tian You, Li Dan-dan. 2011. Mapping and analysis of QTL related to seed oil content trait in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Molecular Plant Breeding*, 9 (2): 198-203. (in Chinese)
- 李 坤, 司龙亭, 张克岩, 姜 晶, 田 友, 李丹丹. 2011. 黄瓜 (*Cucumis sativus* L.) 种子含油量性状的 QTL 定位与分析. *分子植物育种*, 9 (2): 198 - 203.
- Li Xiao-li, Li Li-hua, Zhang Jin-sheng, Yu Yong-qing, Zhou Ya-lan. 2011. Refining and composition analysis of cucumber seed oil. *China Oils and Fats*, 36 (11): 15 - 17. (in Chinese)
- 李孝利, 李丽华, 张金生, 郁永清, 周雅兰. 2011. 黄瓜籽油的精炼与分析. *中国油脂*, 36 (11): 15 - 17.
- Li Y, Wen C, Weng Y. 2013. Fine mapping of the pleiotropic locus B for black spine and orange mature fruit color in cucumber identifies a 50 kb region containing a R2R3-MYB transcription factor. *Theor Appl Genet*, 126: 2187 - 2196.
- Lou L L. 2009. Inheritance of fruit characteristics in watermelon [*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai] [M. D. Dissertation]. Raleigh: North Carolina State University.
- Miao Han, Gu Xing-fang, Zhang Sheng-ping, Zhang Zhong-hua, Huang San-wen, Wang Ye. 2013. Detection of quantitative trait loci for plant height in different environments using an RIL population in cucumber. *Scientia Agricultura Sinica*, 45 (22): 4552 - 4560. (in Chinese)
- 苗 晗, 顾兴芳, 张圣平, 张忠华, 黄三文, 王 烨. 2013. 利用永久群体在不同环境下定位黄瓜株高 QTL. *中国农业科学*, 45 (22): 4552 - 4560.
- 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, Z Y, Zhang Z X, Weng Y Q, Gu X F. 2011. A linkage map of cultivated cucumber (*Cucumis sativus* L.) with 248 microsatellite marker loci and seven genes for horticulturally important traits. *Euphytica*, 182: 167 - 176.
- Moles A T, Ackerly D D, Webb C O, Tweddle J C, Dickie J B, Westoby M. 2005. A brief history of seed size. *Science*, 307: 576 - 580.
- Nam Y W, Lee J R, Song K H, Lee M K, Robbins M D, Chung S M, Staub J E, Zhang H B. 2005. Construction of two BAC libraries from cucumber (*Cucumis sativus* L.) and identification of clones linked to yield component quantitative trait loci. *Theoretical and Applied Genetics*, 111: 150 - 161.
- Nikolai M, Adamskia, Elena A, Sven E, Carmel M, O'Neillc, Michael L. 2009. Local maternal control of seed size by KLUH/CYP78A5-dependent growth signaling. *PNAS*, 106 (47): 20115 - 20120.
- Qi Zu-bai, Li Bao-jian, Yang Wen-guang, Wu Xiu-feng. 1983. A Study on the Genetic of Exterior Quality and Fat of the Rice Grains. *Acta Genetica Sinica*, 10: 452 - 458. (in Chinese)
- 祁祖白, 李宝健, 杨文广, 吴秀峰. 1983. 水稻籽粒外观品质及脂肪的遗传研究. *遗传学报*, 10: 452 - 458.
- Ren Yi, Zhang zhong-hua, Liu Jin-hua, Staub J E, Han Yong-hua, Cheng Zhou-chao, Li Xue-feng, Lu Jing-yuan, Miao Han, Kang Hou-xiang, Xie Bing-yan, Gu Xing-fang, Wang Xiao-wu, Du Yong-chen, Jin Wei-wei, Huang San-wen. 2009. An integrated genetic and cytogenetic map of the cucumber genome. *PLOS ONE*, 4 (6): e5795.
- Sambrook J, Russell D W. 2001. *Molecular cloning: a laboratory manual*. 3rd ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Shimotsuma M. 1963. Cytogenetical studies in the genus *Citrullus*. Inheritance of several characters in watermelons. *Jpn J Breeding*, 13: 235 - 240.

- Stanton M L. 1984. Seed variation in wild radish: Effect of seed size on components of seedling and adult fitness. *Ecology*, 65: 1105 – 1112.
- Tan Y F, Xing Y Z, Li J X, Yu S B, Xu C G, Zhang Q. 2000. Genetic bases of appearance quality of rice grains in Shanyou 63, an elite rice hybrid. *Theor Appl Genet*, 101: 823 – 829.
- Tanaka T, Wimol S, Mizutani T. 1995. Inheritance of fruit shape and seed size of watermelon. *Journal of The Japanese Society for Horticultural Science*, 64: 543 – 548.
- Thomson M, Tai T, McClung A, Xai X H, Hinga M, Lobos K, Xu Y, Martinez P, McCouch S. 2003. Mapping quantitative trait loci for yield, yield components and morphological traits in an advanced backcross population between *Oryza rufipogon* and the *Oryza sativa* cultivar Jefferson. *Theor Appl Genet*, 107: 479 – 493.
- Tian You, Si Long-ting, Li Na, Li Kun, Ma Juan. 2010. Inheritance of seed oil content in cucumber. *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences*, 26 (3): 577 – 582. (in Chinese)
- 田友, 司龙亭, 李娜, 李坤, 马娟. 2010. 黄瓜种子含油量的遗传研究. *江苏农业学报*, 26 (3): 577 – 582.
- Wang Gui-yan, Chai Jia-li, Tong De-cheng. 2008. The measurement the content of trace elements in cucumber seed powder. *Heilongjiang Medicine and Pharmacy*, 31 (3): 50. (in Chinese)
- 王桂艳, 柴佳丽, 佟德成. 2008. 黄瓜籽粉中微量元素的含量测定. *黑龙江医药科学*, 31 (3): 50.
- Wang Xian-lei, Gao Xing-wan, Li Guan, Wang Hui-lin, Geng Shou-don, Kang Feng, Nie Xiang-xiang. 2011. Construction of a melon genetic map with fruit and seed QTLs. *Hereditas*, 33 (12): 1398 – 1408. (in Chinese)
- 王贤磊, 高兴旺, 李冠, 王惠林, 耿守东, 康锋, 聂祥祥. 2011. 甜瓜遗传图谱的构建及果实与种子 QTL 分析. *遗传*, 33 (12): 1398 – 1408.
- Weng Y Q, Johnson S, Staub J E. 2010. An extended intervarietal microsatellite linkage map of cucumber, *Cucumis sativus* L. *HortScience*, 45 (6): 882 – 886.
- Yajima J, Sakak I H. 1985. Volatile flavor components of watermelon. *Agric BiolChem*, 49 (11): 3145 – 3150.
- Zhang J N. 1996. Inheritance of seed size from diverse crosses in watermelon. *Cucurbit Genet. Coop. Rpt*, 19: 67 – 69.
- Zhang S P, Miao H, Gu X F, Yang Y H, Xie B Y, Wang X W, Huang S W, Du Y C, Sun R F, Wehner T C. 2010a. Genetic mapping of the scab resistance gene (*Ccu*) in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Journal of the Society for Horticultural Science*, 135 (1): 53 – 58.
- Zhang S P, Miao H, Sun R F, Wang X W, Huang S W, Wehner T C, Gu X F. 2013. Localization of a new gene for bitterness in cucumber. *Journal of Heredity*, 104 (1): 134-139.
- Zhang W W, He H, Yuan G, Du H, Yuan L H, Li Z, Yao D Q, Pan J S, Cai R. 2010b. Identification and mapping of molecular markers linked to the tuberculate fruit gene in the cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 120 (3): 645 – 654.
- Zhang Wei-wei, Pan J S, He H L, Zhang C, Li Z, Zhao J L, Yuan X J, Zhu L H, Huang S W, Cai Run. 2012. Construction of a high density integrated genetic map for cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Theor Appl Genet*, 124: 249 – 259.
- Zhang Yuan-ming, Gai Jun-yi, Zhang Meng-chen. 2000. Jointly segregating of P_1 、 P_2 、 F_1 and F_2 or $F_{2,3}$ families. *Journal of Southwest Agricultural University*, 22 (1): 6 – 9. (in Chinese)
- 章元明, 盖钧镒, 张孟臣. 2000. 利用 P_1 、 P_2 、 F_1 和 F_2 或 $F_{2,3}$ 世代联合的数量性状分离分析. *西南农业大学学报*, 22 (1): 6 – 9.