

黄瓜基因组研究进展

张 祖 成, 杨 林

(信阳农业高等专科学校, 河南 信阳 464000)

摘 要:黄瓜是世界上重要的蔬菜作物之一,其遗传育种长期受到研究人员的关注。现全面回顾了有关黄瓜遗传图谱构建现状、基因定位与分子标记比较基因组学等研究进展情况,提出了黄瓜基因组研究中所存在的一些问题,并探讨了黄瓜分子育种的发展趋势。

关键词:黄瓜;基因组;分子标记

中图分类号:S 642.2;Q 78 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)16-0208-03

黄瓜(*Cucumis sativus*)是世界上最重要的蔬菜作物之一,也是我国保护地生产的第一大作物,在蔬菜生产中具有非常重要的地位,其遗传、育种研究长期受到研究人员的关注。随着分子生物技术的发展,对黄瓜遗传育种的研究也在不断深入。因此,黄瓜基因组的研究对培育黄瓜优良品种以及改善黄瓜品质等方面具有非常重要的意义。现从遗传图谱的构建、基因定位与分子标记、比较基因组学等方面对黄瓜基因组的研究进展做以全面总结。

1 黄瓜遗传图谱的构建现状

遗传图谱(Genetic map)是指某一物种的染色体图谱,显示已知的基因或遗传标记在染色体上的相对位置。遗传图谱的构建是遗传学中一个非常重要的研究领域,是对基因定位、基因克隆以及基因组的结构与功能进行深入研究的基础。因此,一张具有各种形态学标记和大量分子标记的遗传图谱将给某一作物进行深入的分子生物学研究奠定良好的基础。随着现代分子生物学理论和技术的发展,有关黄瓜的遗传图谱构建取得了巨大的进展。

黄瓜的染色体数目为 $2n=2x=14$,由于染色体数目较少且基因组相对比较小,大概为(376 Mbp/C)[1]。因此,黄瓜的遗传图谱曾被认为是比较容易构建的。然而,Knerr 等人的研究结果表明,黄瓜的遗传基础相对比较狭窄,并且其遗传多样性的水平也很低[2],RFLP 多样性分析显示的多态性只有 3%~9%[3]。黄瓜基因组多态性低的特点限制了多态位点的获得,因而构建较高密度的遗传图谱比较困难。

黄瓜遗传图谱的构建始于 20 世纪 80 年代。1987 年,Fanourakis 等利用黄瓜 F_2 和回交群体以及 13 个标记构建了含有 11 个形态学标记和相关抗病基因的 4 个连锁群,该图谱显示的基因最小间距是 14.2 cM[4]。Knerr 等应用同工酶标记对黄瓜的遗传关系进行了分

析,并利用 12 个同工酶标记构建了含有 4 个连锁群的遗传图谱[5]。此后,Pierce 等全面地分析了 105 个已报道的黄瓜基因,并把其中的 42 个基因定位在第 6 个遗传连锁群中[6]。1994 年,Kennard 等发表了分别以栽培品种之间杂交和栽培品种与野生种之间杂交所产生的 F_2 代作为研究群体所构建的 2 张遗传图谱,覆盖基因组长度最大达 766 cM,2 个标记间平均最小间距达 7 cM[7]。1996 年,Meglic 等研究者在利用同工酶标记和形态标记构建黄瓜的连锁图时发现,抗黑星病与抗细菌角斑病、有限生长与小叶、小叶与雌性、有限生长与雌性分化具有相应的遗传连锁关系[8]。Serquen 等利用 RAPD 等分子标记技术,构建了 1 个具有 80 个位点的连锁图谱。此外,Serquen 等还利用 F_3 代群体对黄瓜的形态结构以及性别表现等数量性状位点(QTL)进行了相应的定位分析和研究[9]。Park 等在以 F_6 代 RIL 群体构建了黄瓜的连锁图谱时发现番木瓜条斑病毒与小西葫芦叶黄化病之间存在着紧密的连锁关系,其连锁距离约为 2.2 cM[10]。2001 年,Walters 等人在 Pierce 所构建连锁图谱的基础上重新深入的研究了其中 18 个基因的连锁关系,最后认为连锁群 I 与连锁群 IV 之间存在着相对较弱的遗传连锁关系[11]。

随着国外对黄瓜基因组遗传图谱研究的深入,国内对黄瓜连锁图谱的构建以及相关性状位点的定位研究也不断增多。2004 年,张海英等利用“欧洲八号”和“秋棚”杂交所得的黄瓜重组自交系,构建了包含有 9 个连锁群和 234 个标记组成的遗传连锁图谱,图谱总长 727.5 cM,平均间距达 3.1 cM[12]。李效尊等利用黄瓜自交系 S06 和 S52 的杂交 F_2 代群体,构建了全长 111.0 cM 包含有 79 个 RAPD 标记的遗传框架图谱,平均间距 13.7 cM[13]。王刚等也利用此黄瓜自交系的 F_2 群体构建了 SRAP 连锁图谱,该图谱总长 1 164.2 cM,标记的平均间距为 12.6 cM[14]。Staub 等利用 Joinmap 3.0 软件对黄瓜的遗传图谱进行了整合,并发表了整合的黄瓜基因组图谱[15]。Bradeen 等将前人发表的 8 张连锁图谱整合到以 G421×H-19,GY14×PI183967 为亲本所构建的 2 套遗传图谱中,使得该图谱总长达到 417.6 cM,标记之间的平均距离为 2.2 cM[16]。2003 年,Fazio 等利用黄瓜的重组近交系

第一作者简介:张祖成(1972-),男,讲师,研究方向为园艺植物栽培育种,现主要从事园林园艺专业的教学与科研工作。

收稿日期:2011-05-24

以及 F_2 群体,构建了一含有 7 个连锁群和 131 个位点的遗传连锁图,该图谱总长为 706 cM,标记位点之间的平均距离为 5.6 cM^[17]。

Yuan 等利用 130 个 F_2 群体构建了包含有 116 个 SRAPs, 33 个 RAPDs, 11 个 SSRs, 9 个 SCARs, 3 个 ISSRs 和 1 个 STS 标记的遗传图谱,全长达到 1 016 cM,平均间距为 5.9 cM^[18]。2007 年, Martin 等利用 SRAP 和 ISSR 对 112 个 F_2 群体进行标记分析,共获得了 109 个多态性标记,构建了全长为 992.2 cM 包含有 7 个连锁群的连锁图谱,基因位点间距为 16 cM^[19]。Yi Ren 等利用 SSR 标记 11 个重组自交系群体,利用全基因组鸟枪法测序构建了高密度的黄瓜遗传图谱。该图谱包含 995 个 SSR 标记,每 2 个标记间的平均距离为 0.58 cM,共 7 个连锁群,并利用 FISH 技术将这 7 个连锁群分别定位到黄瓜的 7 条染色体上^[20]。

从以上研究可以看出,黄瓜遗传图谱的构建经历了一个不断完善的过程,图谱上的标记越来越多,密度不断增大,为更深入地研究黄瓜基因组起到了很大的促进作用。

2 相关基因的定位与分子标记

Park 等^[10]利用黄瓜 F_6 代群体对番木瓜环斑病毒和南瓜黄叶病毒的抗性位点进行了分子标记的筛选,发现对这 2 种病毒的抗性位点是紧密连接的,并最后找到一个与南瓜黄叶病毒共分离的 AFLP 标记。李效尊等^[13]利用全雌性黄瓜自交系与强雄性黄瓜自交系的杂交 F_2 群体,采用 RAPD 分子标记将侧枝性状基因(1 b)和全雌性基因(*f*)定位在 2 个不同的连锁群上。王刚等^[14]利用 SRAP 标记并经 QTLmapper 分析后,检测到了与黄瓜侧枝数量和侧枝平均长度相关的数量性状位点各 4 个。潘俊松等^[21]利用 SRAP 标记将始花节位性状控制基因 *ffn* 定位在了第 IX 连锁群上。

张海英等^[22]利用不同的分子标记以及复合区间作图等方法对黄瓜的耐弱光性状进行了 QTL 定位研究,共检测到了 5 个与耐弱光有关的数量性状位点。张海英等利用 Joinmap 软件对小西葫芦黄化花叶病毒(ZYMV)、番木瓜环斑病毒西瓜株系(PRSV-W)和西瓜花叶病毒(wMV)的抗性基因进行了遗传定位研究,结果表明,ZYMV、PRSV-W 和 wMV 3 个抗病毒病基因被定位在第 2 连锁群上^[23]。陈惠民等^[24]将黄瓜雌性性状主控基因定位在第 10 连锁群上。

张桂华等^[25]研究发现 AFLP 引物组合 P18M47 的特异带与白粉病抗病相关基因紧密连锁,随后,杜胜利等^[26]将此与抗白粉病相关的 AFLP 共显性标记转换为比较实用的 SCAR 标记,运用相同的方法,他们又筛选出了与黄瓜抗黑星病基因相关的大小为 125 bp 的分子标记^[27]。张海英等^[28]利用 AFLP 对与黄瓜抗枯萎病基因相关的分子标记研究,找到了一段与枯萎病抗性基因连锁 DNA 片段。罗建华等^[29]利用 BSA 分析法和 AFLP 技术获得与 ZYMV-CH 的抗性基因相连锁的特异片段并将其转化为 SCAR 标记。王惠哲等^[30]利用 BSA 分析法和 AFLP 技术得到了与黄瓜炭

疽病抗性相关基因紧密连锁的特异条带。

陈劲枫等^[31]利用 RAPD 技术对黄瓜的性别特异基因进行了分子标记研究,结果发现 1 条与黄瓜全雌性相关的特异基因片段 B11-1000。姜群峰^[32]、周晓艳^[32]与邓思立^[34]等也先后发现了与黄瓜全雌性基因相关的分子标记。叶波平等发现黄瓜 ACC 合成酶基因与雌性系之间存在明显的相关性,因此认为该基因可能是鉴定黄瓜雌性系的一个分子标记^[35]。向太和等研究结果表明,黄瓜 ACC 合酶基因 CS-ACS2 的单核苷酸变异可能与雌性系的发生和形成相关;并根据 SNP 的多态性分析得到了 1 个可将强雌性优良品种 MT-705 与其它黄瓜品种相区别的分子标记^[36]。陈学好等利用 BSA 方法与 ISSR 技术得到了可以鉴别单性结实与非单性结实植株的分子标记^[37]。顾兴芳等运用 AFLP 技术和集群分析法(BSA)找到了与黄瓜苦味基因连锁的 2 个显性标记^[38]。池秀蓉等运用 AFLP 技术获得了与黄瓜营养器官无苦味位点相连锁的分子标记,并将其转化为相应的 SCAR 标记^[39]。王桂玲等运用 SSR 技术成功筛选到了 5 对与黄瓜果瘤相关的 SSR 标记^[40]。

从以上研究可以看出,与黄瓜分枝、抗病、味道等相关基因的定位和分子标记取得了很大进展,但是这些基因和标记的数量相对于整个基因组还是很少的,因此与黄瓜更多性状相关的基因定位还有待于更加深入的研究。

3 比较基因组学研究

比较基因组学是基于基因组图谱和测序的基础上,利用模式生物基因组与目的基因组之间编码顺序和结构上的同源性来了解目的基因的功能、表达机理与物种进化的一门学科。很多研究表明,黄瓜和甜瓜在基因组上有很大的关联性。Danin 等^[41]研究表明,黄瓜和甜瓜有 9 个共同的 SSR 标记,并认为黄瓜的连锁群 B 和甜瓜的连锁群 E 是极其相似的。Park 等^[42]利用从甜瓜 BAC 文库中分离的探针成功获得了黄瓜抗小西葫芦黄化花叶病毒的基因。Havey 等^[43]利用 PstI 对黄瓜的 cDNA 片段进行了酶切,将得到的 RFLPs 片段进行测序分析,结果发现与拟南芥序列的相似性最高可达 80%。Yi Ren 等^[20]在构建黄瓜的遗传图谱的研究中发现,在得到的 995 个 SSR 标记中,有 49% 的标记在甜瓜中是保守的,26% 的标记在西瓜中是保守的,22% 的标记在南瓜中是保守的。可以看出,对黄瓜比较基因组学的研究相对较少,研究还不够深入。

4 问题及展望

大量的研究表明,尽管黄瓜的完整遗传图谱已经构建完成,但还并不是很完善,还需要对整个图谱进行不断地补充和整合;黄瓜相关基因的定位和分子标记虽然取得了一些进展,但是这些基因和标记的数量还很少,还需要更加深入地研究。另外,对黄瓜比较基因组学的研究还相对较少。因此,对黄瓜基因组的研究还需要不断地深入,使遗传图谱不断地完整,基因和标记的数量不断增加,找到更多的性状基因以培育优良的黄瓜新品种,改善黄瓜品质。

参考文献

- [1] Arumuganathan K, Earle E D. Nuclear DNA content of some important plantspecies[J]. Plant Mol. Bio. Rep., 1991(9):208-218.
- [2] Knerr L D, Staub J E, Holder D J, et al. Genetic diversity in *Cucumis sativus* L. assessed by variation at 18 allozyme coding loci[J]. Theor. Appl. Genet., 1989, 78: 119-128.
- [3] Kennard W C, Poetter K, Dijkhuizen A, et al. Among RFLP, RAPD, isozyme disease resistance and morphological markers in narrow and wide cross of cucumber[J]. Theor. Appl. Genet., 1994, 89: 42-48.
- [4] Fanourakis N E, Simon P W. Analysis of genetic linkage in the cucumber[J]. Journal of Heredity, 1987, 78(4): 238-242.
- [5] Knerr L D, Staub J E. Inheritance and linkage relationships of isozyme loci in cucumber (*Cucumis sativus* L.) [J]. Theor Appl. Genet., 1992, 84: 217-224.
- [6] Pierce L K, Wehner T C. Review of genes and linkage groups in cucumber[J]. Hort. Science, 1990, 25(6): 605-615.
- [7] Kennard W C, Poetter K, Dijkhuizen A, et al. Among RFLP, RAPD, isozyme, disease resistance and morphological markers in narrow and wide cross of cucumber[J]. Theor. Appl. Genet., 1994, 89: 42-48.
- [8] Melic V, Staub J E. Inheritance and linkage relationships of isozyme and morphological loci in cucumber [J]. Theor. Appl. Genet., 1996, 92: 865-872.
- [9] Serquen F C, Bacher J, Staub J E. Mapping and QTL analysis of horticultural traits in a narrow cross in cucumber using random-amplified polymorphic DNA markers[J]. Mol. Breed, 1997, 3(4): 257-268.
- [10] Park Y, Sensoy S, Wye C, et al. A genetic map of cucumber composed of RAPDs RFLPs AFLPs and loci condition resistance to papaya ringspot and zucchini yellow mosaic viruses [J]. Genome, 2000, 43 (6): 1003-1010.
- [11] Walters S A, Shetty N V, Wehner T C. Segregation and linkage of several genes in cucumber[J]. Amer. Soc. Hort Sci., 2001, 126(4): 442-450.
- [12] 张海英, 葛风伟, 王永健, 等. 黄瓜分子遗传图谱的构建[J]. 园艺学报, 2004, 15(3): 617-622.
- [13] 李效尊, 潘俊松. 黄瓜侧枝基因和全雌基因的定位及 RAPD 遗传图谱的构建[J]. 自然科学进展, 2004, 14(11): 1225-1229.
- [14] 王刚, 潘俊松, 李效尊, 等. 黄瓜 SRAP 遗传连锁图的构建及侧枝基因定位[J]. 中国科学 C 辑, 2004(6): 1123-1127.
- [15] Staub J E, Serquen F C. Towards an integrated linkage map of cucumber map merging[J]. Acta Hort., 2000, 510: 357-366.
- [16] Bradeen J E, Staub J E, Wye C. Towards an expanded and integrated linkage map of cucumber (*Cucumis sativus* L.) [J]. Genome, 2001, 44: 111-119.
- [17] Fazio G, Staub J E, Sreves M R. Genetic mapping and QTL analysis of horticultural traits in cucumber (*Cucumis sativus* L.) using recombinant inbred lines[J]. Theor Appl Genet., 2003, 107(5): 864-874.
- [18] Yuan X J, Li X Z, Pan J S, et al. Genetic linkage map construction and location of QTLs for fruit-related traits in cucumber [J]. Plant breeding, 2008, 127, 180-188.
- [19] Yeboah M A, Chen X H. A genetic linkage map of cucumber (*Cucumis sativus* L.) combining SRAP and ISSR markers [J]. African Journal of Biotechnology, 2007, 24(6): 2784-2791.
- [20] Ren Y, Zhang Z H, Liu J H, et al. An Integrated Genetic and Cytogenetic Map of the Cucumber Genome[J]. Plos one, 2009, 4(6):
- [21] 潘俊松, 王刚, 李效尊, 等. 黄瓜 SRAP 遗传连锁图的构建及始花节位的基因定位[J]. 自然科学进展, 2005, 15(2): 167-172.
- [22] 张海英, 陈青君, 王永健, 等. 黄瓜耐弱光性状的 QTL 定位[J]. 分子植物育种, 2004, 2(6): 795-799.
- [23] 张海英, 毛爱军, 张峰, 等. 三种主要黄瓜病毒抗性基因的定位[J]. 农业生物技术学报, 2005, 13(6): 709-712.
- [24] 陈惠民, 许亮, 卢向阳, 等. 黄瓜雌性性状主控基因 CsA CSIG 的分析及其定位[J]. 分子植物育种, 2005, 3(4): 520-524.
- [25] 张桂华, 杜胜利, 王鸣, 等. 与黄瓜抗白粉病相关基因连锁的 AFLP 标记的获得[J]. 园艺学报, 2004, 31(2): 189-192.
- [26] 杜胜利, 张桂华, 李淑菊, 等. 黄瓜抗白粉病基因 AFLP 标记的 SCAR 转换[J]. 园艺学报, 2005, 32(6): 1095-1097.
- [27] 张桂华, 韩毅科, 孙小红, 等. 与黄瓜抗黑星病基因连锁的分子标记研究[J]. 中国农业科学, 2006, 39(11): 2250-2254.
- [28] 张海英, 张海霞, 张峰, 等. 黄瓜枯萎病抗性基因的连锁分子标记[J]. 生物技术通报, 2006(增刊): 320-322.
- [29] 罗建化, 张海英, 毛爱军, 等. 黄瓜 ZYMV—CH 抗性遗传与连锁分子标记研究[J]. 园艺学报, 2006, 33(5): 1001-1006.
- [30] 王惠哲, 李淑菊, 刘秀峰, 等. 与黄瓜抗炭疽病相关基因连锁的 AFLP 标记的筛选[J]. 园艺学报, 2007, 34(1): 213-216.
- [31] 陈劲枫, 姜群峰, 余纪柱, 等. 黄瓜性别基因连锁的分子标记筛选[J]. 上海农业学报, 2003, 19(4): 11-14.
- [32] 姜群峰, 陈劲枫, Mollyjahn, 等. 黄瓜全雌性基因连锁的 AFLP 和 SCAR 分子标记[J]. 园艺学报, 2005, 32(2): 256-261.
- [33] 周晓艳, 曲志才, 王转斌. 黄瓜全雌性状相关的 RAPD 分子标记筛选[J]. 曲阜师范大学学报, 2007, 33(3): 105-108.
- [34] 邓思立, 潘俊松, 何欢乐, 等. 黄瓜 M 基因连锁的 SRAP 分子标记[J]. 上海交通大学学报(农业科学版), 2006, 24(3): 240-244.
- [35] 叶波平, 白书农, 曹宗巽. ACC 合酶基因(ACSG)可能是黄瓜雌性系的分子标记[J]. 植物学报, 2000, 42(7): 765-766.
- [36] 向太和, 王利琳, 庞基良, 等. 不同性别类型黄瓜 ACC 合酶基因的单核苷酸多态性标记和酶切扩增长度多态性标记[J]. 生物化学与生物物理进展, 2006, 33(4): 326-367.
- [37] 陈学好, 王佳, 徐强, 等. 一个与黄瓜结实基因连锁的 ISSR 标记[J]. 分子植物育种, 2008, 6(1): 85-88.
- [38] 顾兴芳, 张素勤, 张圣平. 黄瓜果实苦味 BT 基因的 AFLP 分子标记[J]. 园艺学报, 2006, 33(1): 140-142.
- [39] 池秀蓉, 顾兴芳, 张圣平, 等. 黄瓜无苦味基因 bi 的分子标记研究[J]. 园艺学报, 2007, 34(5): 1177-1182.
- [40] 王桂玲, 秦智伟, 周秀艳, 等. 黄瓜果瘤的遗传及 SSR 标记[J]. 植物学通报, 2007, 24(2): 168-172.
- [41] Danin-Poleg Y, Reis N, Baudraco-Amas S, et al. Simple sequence repeats in Cucumis mapping and map merging [J]. Genome, 2000, 43: 963-974.
- [42] Park Y, Katzir N, Brotman Y, et al. Comparative mapping of ZYMV resistances in cucumber (*Cucumis sativus* L.) and melon (*Cucumis melo* L.) [J]. Theor. Appl. Genet., 2004, 109(4): 707-712.
- [43] Havey M J. Sequences of probes revealing mapped restriction fragment-length polymorphisms in cucumber [J]. HortScience, 2005, 40 (2): 323-324.

Research Progresses of Cucumber Genome

ZHANG Zu-cheng, YANG Lin

(Xinyang Agricultural College, Xinyang, Henan 464000)

Abstract: Cucumber is one of the important vegetable crops of the world, the genetics and breeding of which had been paid much researcher's attention. In this paper, the structure status of cucumber genetic mapping, gene mapping and molecular markers comparative genomics and other research progress were reviewed.

Key words: cucumber; genome; molecular marker