

黄瓜嫩果白色果皮颜色遗传规律及其 AFLP 标记研究

孙晓丹^{1,2}, 商庆梅¹, 秦智伟¹

(1. 东北农业大学 园艺学院, 黑龙江 哈尔滨 150030; 2. 黑龙江大学 生命科学学院, 黑龙江 哈尔滨 150086)

摘 要:运用形态学观察、经典遗传性状分析、AFLP 分子标记等技术在形态学和分子标记水平上研究黄瓜嫩果白色果皮颜色遗传规律。结果表明:黄瓜嫩果白色果皮颜色性状是由 1 对隐性基因“*ww*”控制的; AFLP 分子标记结果显示对于组合 631(黄绿果皮类型)×D0351(乳白果皮类型)、E35M51、E63M79、E63M91 被划分为一个连锁群; E33M49、E63M85、E43M61、E62M47、E37M85、E56M90 被划分为另一个连锁群,各自总的遗传距离为 51.3 cM 和 114.6 cM。对于组合 631(黄绿果皮类型)×D0351(乳白果皮类型), E37M31、E49M70、E55M90、E32M47、E36M60 被划分为一个连锁群, E34M59、E63M50 被划分为另一个连锁群,各自总的遗传距离为 132.1 cM 和 24.9 cM。其中,在对组合 631(黄绿果皮类型)×D0351(乳白果皮类型)的 F_2 群体进行标记过程中,引物对 E43M61 标记的遗传距离为 5.2 cM; 在对于组合 631(黄绿果皮类型)×翠玉 8 号(乳白果皮类型)的 F_2 群体进行标记过程中,引物对 E34M59 标记的遗传距离为 5.6 cM; 表明这 2 个标记与控制黄瓜果白色果皮的隐性基因“*w*”连锁。

关键词:黄瓜; 果皮颜色; 遗传规律; AFLP 标记

中图分类号:S 642.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)03-0135-06

黄瓜(*Cucumis sativus* L.), 是葫芦科(Cucurbitaceae), 幼果具刺的栽培种, 1 a 生攀缘性草本植物。是世界性的主要蔬菜之一, 在世界上的栽培面积仅次于番茄, 位居第 2 位。黄瓜幼果脆嫩, 果实含水量高, 除富含钙、镁、钾等元素; 还含有促进神经发育的叶酸, 改善新陈代谢的 VA、VC, 含有起到稀释和降低血糖作用的铬元素; 黄瓜中的黄瓜酶有很强的生物活性, 能有效地促进机体的新陈代谢; 同时, 黄瓜含有少量蛋白质、脂肪、碳水化合物和纤维素。因其可口且营养丰富, 起源于喜马拉雅山南麓的印度北部地区的黄瓜, 随着民族的迁移, 在世界范围内广泛传播。通过数千年的自然选择、人工选择和引变, 形成了很多变种和生态型; 再经过不断淘汰和改良, 发展成为现在的众多栽培品种。根据不同黄瓜果实的特性, 人们往往采用生食、熟食、腌渍的食用方式。在取食过程中, 黄瓜嫩果果皮颜色成为一个重要的参考指标。所以, 研究黄瓜嫩果果皮颜色的遗传规律具有重要的现实意义。

现利用黄瓜嫩果绿色果皮系列黄瓜与黄瓜嫩果白

色果皮黄瓜为试验材料, 按照 Griffing 完全双列杂交方法 I 配制 9 个组合。根据形态学标记的结果, 选取 2 个最佳组合的 F_2 群体作为遗传规律鉴定群体, 对亲本和 F_1 、 F_2 群体分离后代的果皮颜色进行了分析鉴定, 并采用 AFLP 分子标记进行分析。主要目的是探明黄瓜嫩果果皮颜色的遗传规律, 开发实用有效的分子标记, 提高育种工作效率, 为丰富黄瓜品种类型、选育具有不同果皮颜色的黄瓜品种提供理论与实践依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

亲本 1: D0351, 黄瓜嫩果白色果皮品系, 由东北农业大学黄瓜课题组选育。亲本 2: 翠玉 8 号, 华北型黄瓜, 黄瓜嫩果白色果皮品种。亲本 3: 631-1, 华南型黄瓜, 黄瓜嫩果绿色果皮品系, 由东北农业大学黄瓜课题组选育。

1.2 试验方法

1.2.1 黄瓜嫩果白色果皮性状的形态学标记 2004 年 2 月 28 日在东北农业大学园艺试验站选取 3 个亲本试材进行育苗。于 2004 年 4 月 27 日定植于东北农业大学园艺试验站大棚, 当年 7 月采收 F_1 代杂交种子(组合见表 2)。于 2005 年 2 月 26 日在东北农业大学园艺试验站对符合试验设计要求的杂交组合的 F_1 代种子进行育苗, 2005 年 4 月 26 日将 F_1 代群体定植于东北农业大学实验基地日光节能温室, 2005 年 5 月 10 日在东北农业大学实验基地露地定植。在开花期进行常花自交授粉,

第一作者简介:孙晓丹(1974-), 女, 博士, 讲师, 研究方向为分子遗传育种。E-mail: sunxiaodan2005@yahoo.com.cn。

通讯作者:秦智伟(1957-), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 现从事黄瓜育种研究工作。

基金项目:国家“863 计划”资助项目(2006AA10ZB9)。

收稿日期:2010-11-23

生成 F_2 ; 在开花期同时进行将 F_1 组合 D0351×631, 翠玉 8 号×631 分别与各自白色果皮亲本即 D0351 与翠玉 8 号进行回交, 生成 BC1。在 6~7 月收获 F_2 种子和 BC1 种子。2005 年 7 月在东北农业大学实验基地加代, 对 F_2 和 BC1 的表型进行调查、统计。每份材料定植 36 株, 进行观察和统计。2006 年 2 月 25 日, 对 2005 年 11 月收获的种子进行育苗, 加大 F_2 和 BC1 的单株数, 进行育苗; 2006 年 7 月, 在东北农业大学园艺实验站自动化温室加代, 继续种植 F_2 及 BC1。2006 年 7 月 10 日, 对 F_2 和 BC1 进行育苗; 2006 年 9 月 1 日定植于东北农业大学园艺实验站温室。逐一对植株进行植物形态学标记的记录。2006 年累计对 2 个组合的 F_2 代各 180 株健康植株进行 DNA 样本采样, 用于分子生物学研究。2007 年 2 月 26 日, 对入选组合 D0351×631 及翠玉 8 号×631 的 F_2 群体进行育苗, 同时逐一对植株进行形态学标记的跟踪记录。2007 年 4 月 15 日在东北农业大学园艺实验站蔬菜育种温室定植, 继续逐一进行形态学标记的跟踪记录。此 F_2 群体, 进行常花自花授粉, 于 2007 年 7 月获得 F_3 种子。春季育苗保证夜温; 夏季育苗控水防徒长。整个栽培过程, 尽量减少遮荫加大受光时间, 诱使黄瓜果皮颜色充分表达。对于黄瓜果皮颜色的目测结果; 同一批单株, 确保果实形成期一致, 减少因果实生长期不同产生的差异。观测时, 保证黄瓜果实受光条件相同, 2 人或多人同测, 确保结果客观。

1.2.2 研究黄瓜嫩果白色果皮性状遗传规律群体构建及 DNA 提取 试验根据植物形态学标记及遗传分析结果, 确立 2 个亲本杂交组合 (D0351×631, 翠玉 8 号×631) 自交形成 F_2 代分离群体, 群体大小各为 180 个单株。黄瓜种质由东北农业大学园艺学院黄瓜课题组提供, 杂交及繁育工作在园艺学院实验基地及东北农业大学园艺实验站完成。DNA 提取采用异丙醇沉淀法并进行优化。

1.3 AFLP 分子标记

1.3.1 用 BSA 法建立近等基因池 参照 Michmore 等(1991)提出的 BSA(Bulked-segregate analysis)法, 从 F_2 群体中随机选取黄绿色果皮单株、白绿色果皮单株、白色果皮单株各 10 株构建黄绿色果皮表型、白绿色果皮表型和白色果皮表型近等基因池, 终浓度为 50~100 ng/ μ L。

1.3.2 酶切连接体系建立及优化 酶切连接体系成分组成: DNA 模板 100~500 ng, EcoRI(10 U/ μ L) 0.3 μ L, Mse I(10 U/ μ L) 0.3 μ L, EcoRI adapter(5 pmol/ μ L) 1.0 μ L, Mse I adapter(5 pmol/ μ L) 1.0, ATP(10 mM) 0.2 μ L, 10×Buffer 2.0 μ L, T₄ DNA Ligase 1.0 μ L, 加水定容至 50 μ L。酶切连接方法为 37℃ 水浴锅中进行酶切与连接 8 h 或过夜。

1.3.3 预扩增体系建立及优化 体系成分组成: 酶切连接模板 5.0 μ L, ddH₂O 7.2 μ L, 10×PCR Buffer 2.0 μ L,

Taq-polymerase(5 U/ μ L) 0.2 μ L, dNTP(2.5 mM) 1.6 μ L, MgCl₂(25 mM) 2.0 μ L, E00-primer(50 ng/ μ L) 1.0 μ L, M00-primer(50 ng/ μ L) 1.0 μ L 总体积 20.0 μ L。预扩增 PCR 反应程序: 95℃ 预变性 5 min; 94℃ 变性 30 s, 56℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 30 s, 26 个扩增循环; 72℃ 延伸 7 min。4℃ 保存。

1.3.4 选择性扩增体系建立及优化 将预扩增产物稀释 20~30 倍, 作选择性扩增模板使用。选择性扩增 PCR 反应体系成分组成: 预扩增稀释后产物 5.0 μ L, ddH₂O 7.2 μ L, 10×PCR Buffer 2.0 μ L, Taq-polymerase(5 U/ μ L) 0.2 μ L, dNTP(2.5 mM) 1.6 μ L, MgCl₂(25 mM) 2.0 μ L, E-primer(50 ng/ μ L) 1.0 μ L, M-primer(50 ng/ μ L) 1.0 μ L, 总体积 20.0 μ L。选择性扩增 PCR 反应程序: 95℃ 预变性 5 min; 梯度 PCR 扩增, 94℃ 变性 30 s, 65~56℃ 梯度降落扩增, 每循环降落退火 0.7℃, 12 个循环。4℃ 保存体系稳定性检测, 随机选择 5 对 AFLP 引物并更换基因组 DNA 对优化后的黄瓜反应体系及反应参数的可靠性和稳定性进行检测。每个引物设 2 次重复。扩增引物序列见表 1。

1.3.5 聚丙烯酰胺电泳及银染 在进行烯酰胺电泳前, 3% 琼脂糖凝胶电泳检测。取 8 μ L PCR 扩增产物和 2 μ L Loading Buffer(含 0.25% 溴酚蓝, 40% 蔗糖), 混匀, 点入含有 0.5 mg/L 溴化乙锭的 3% 琼脂糖凝胶中。用 1×TAE 电泳缓冲液, 在恒定 100 V 电压下电泳约 30 min, 然后用紫外凝胶成像系统观察照相。将选择性扩增的产物 20 μ L 中加入变性上样缓冲液 8 μ L(98% 甲酰胺, 10 mM EDTA, 0.25% 溴酚蓝, 0.25% 二甲苯蓝), 95℃ 变性 5 min, 然后在冰浴中迅速冷却, 在预电泳后的 6% 的聚丙烯酰胺凝胶上继续电泳 1.5 h。采用 Bio-lab 垂直板电泳, 加样量 8 μ L。

1.3.6 AFLP 标记结果统计分析 采用“0,1”记录法。将清晰可辨别的条带记录为“1”, 将同一位点无带记录为“0”。相应转换参照 MAPMAKER/EXP 3.0 说明书进行。标记与基因间的相互连锁关系采用 MAPMAKER/EXP 3.0 分析。在 Microsoft Excel 2000 上, 分别建立作图群体 180 个单株的 AFLP 标记基因型数据库, F_2 代带型表现数据库。应用 MAPMAKER 3.0 计算基因间遗传距离, 分子遗传图谱由 Excel 绘制。

2 结果与分析

2.1 黄瓜嫩果白色果皮形态学遗传规律分析结果

表 1 的结果为 2004 年至 2007 年 8 月的田间形态学标记调查。表 2、3 总株数为 2005、2006、2007 年 3 a 调查的总和。通过对亲本 D0351、631、翠玉 8 号和 F_1 代及 F_2 代的形态学标记结果, 将试验涉及的黄瓜果皮颜色及其它性状的基因型及表现型进行分析, 并对相应数据进行统计分析。按着孟德尔的基因独立分配与连锁遗传规律的原理和公式进行。首先用 X^2 测验逐一分析参试性状在杂交组合后代 F_1 、 F_2 群体中的显隐性情况, 以确认

这些性状是否符合显隐性单基因的遗传特点。再统计每2对基因在杂交组合后代中各基因型的植株数分离比率,用 X^2 测验确定它们之间是否符合独立遗传。若推断其存在连锁遗传关系,则进一步计算每2对基因间的重组率。计算基因重组率 R 和标准误的公式参照刘进生等的方法。

计算基因重组率 R 和标准误 SE 的公式为:

F_2 相斥相:

$$R = p = [((bc + ad)^2 + ad(bc - ad))]^{0.5} - (bc + ad)^{0.5} / (bc - ad); SE = [(1 - p^2)(2 + p^2) / 2n(1 + 2p^2)]^{0.5}.$$

① 确定组合 $P_1 \times P_2$ 基因型及表现型为:D0351($wwYgyg$)、631($WWYgyg$)。其遗传规律如下:

P ₁ :	P1(D0351)	×	P2(631)	
	白色果皮(wwygyg)	×	黄绿色果皮(WWYgYg)	
F ₁ :	黄绿色果皮(WwYgyg)			
F ₂ :	黄绿色果皮(9W_Yg_)	:	浅绿色果皮(3W_ygyg)	: 白色果皮(3wwYg_+1ww ygyg)
	190	:	69	: 83
	近似 9	:	3	: 4

② 确定组合 $P_2 \times P_3$ 基因型及表现型为:翠玉8号($wwYgyg$)、631($WWYgyg$)。其遗传规律如下:

P ₁ :	P1(D0351)	×	P2(631)	
	白色果皮(wwygyg)	×	黄绿色果皮(WWYgYg)	
F ₁ :	黄绿色果皮(WwYgyg)			
F ₂ :	黄绿色果皮(9W_Yg_)	:	浅绿色果皮(3W_ygyg)	: 白色果皮(3wwYg_+1ww ygyg)
	150	:	47	: 59
	近似 9	:	3	: 4

经 X^2 测验发现,将各组合在 F_2 代出现的3种表现型归纳为“果皮有绿色素”与“果皮无绿色素”2类, yg 与 w 符合显隐性单基因的特点,分离比为3:1。经 X^2 测验2对基因控制的性状在 F_2 代的分离情况,发现这2对基因不符合独立遗传的规律,分离比不是9:3:3:1,而表现为9:3:4。为较明显的隐性上位表现分离比,是质量性状遗传6种类型基因互作的一种。

其中 a, b, c, d 分别为基因型 $A_B_$, A_bb , $aaB_$ 和 $aabb$ 在 F_2 代的分离比率。

表2以 X^2 测验各个性状在 F_2 代的分离情况,表明各个性状在后代显隐性比例为3:1,确定这些性状符合显隐性单基因的遗传特点。

表3以 X^2 测验各对基因控制的性状在 F_2 代的分离情况,分别出现了2种复杂的不符合孟德尔规律的分离比和符合孟德尔规律的分离比。现作如下分析:

(1)控制黄瓜果皮颜色遗传规律的2对基因间作用效果分析:

(2)控制黄瓜果皮颜色遗传规律的2对基因与其它性状之间的遗传关系

在组合 $P_2 \times P_3$ 中,发现控制黄瓜果皮颜色的2对基因“ Yg ”、“ W ”与 Tu (果实有棱状突起, Se (shape of fruit end, 暂定)间;分别为独立遗传关系,它们在各杂交后代群体中的基因型分离比率,符合独立遗传的9:3:3:1的分离比率。

表1 黄瓜亲本基因型及有关性状

基因名称	基因符号	表现型		亲本基因		
		显性	隐性	P1	P2	P3
白色果皮	w	果皮绿色	果皮白色	W	w	w
绿色果皮	yg	果皮深绿	果皮绿色	yg	Yg	yg
瓜把形状	se	瓜把溜肩型	瓜把瓶颈型	Se	Se	se

注:P1、P2、P3 分别代表 0351、631、翠玉8号。

表2 单个基因在 F_2 代的分离情况

组合	基因型	F_2 分离情况		总株数	期望比	X^2	显著性	$X_{0.05}^2$
		A-	aa					
$P_1 \times P_2$	$Ygyg$	261	81	342	3:1	0.249	不显著	3.84
	Ww	261	81	342	3:1	0.187	不显著	3.84
$P_3 \times P_2$	$Ygyg$	189	67	256	3:1	0.033	不显著	3.84
	Ww	189	67	256	3:1	0.098	不显著	3.84
	$Tutu$	173	83	256	3:1	1.783	不显著	3.84

表 3 各对基因在 F₂ 代分离株数

组合	基因型	F ₂ 分离情况				总株数	期望比	X ²	显著性	X _{0.05} ²
		A-B-	A-bb	aaB-	aabb					
P1×P2	YgygWw	190	69		83	342	9:3:4	0.47	不显著	5.99
P3×P2	YgygWw	150	47		59	256	9:3:4	0.66	不显著	5.99
	YgygWwSese	153	45	43	15	256	9:3:3:1	1.57	不显著	7.81
	YgygWwTutu	151	40	46	19	256	9:3:3:1	2.32	不显著	7.81
	YgygWwSese	140	55	43	18	256	9:3:3:1	1.90	不显著	7.81

2.2 黄瓜嫩果白色果皮性状的 AFLP 分子标记结果

试验通过 BSA 法对 494 对选择性扩增引物进行筛选,共扩增出 23 630 条带,平均每对引物在 30 cm 胶板上扩增出 45 条带。不同引物扩增出的条带无论在大小和带型上都有很大差别。试验采用的是 M+3 与 E+3 个碱基的组合,最多的可扩增出 83 条带,最少的仅扩增出 11 条带。其中,在黄瓜绿色果皮、黄瓜浅绿色果皮、黄瓜白色果皮 3 个能扩增出较清晰差异带的引物;对应用于组合 D0351×631 定植于东北农业大学园艺实验站的 180 株 F₂ 群体,另对应用于组合翠玉 8 号×631 定植于东北农业大学园艺实验站的 180 株 F₂ 群体。用优化的反应体系对 6 对应用于组合翠玉 8 号×631 的黄瓜黄绿色果皮、黄瓜浅绿色果皮、黄瓜白色果皮 180 株 F₂ 群体 AFLP 差异性好的引物扩增的结果。这 6 对引物是:E35 与 M51;E37 与 M31;E49 与 M70;E55 与 M90;E63 与 M79;E63 与 M91。

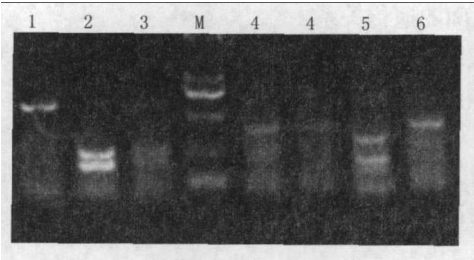


图 1 引物 E32M48 和 E33M48 对组合 D0351×631 和翠玉 8 号×631 各池扩增的结果

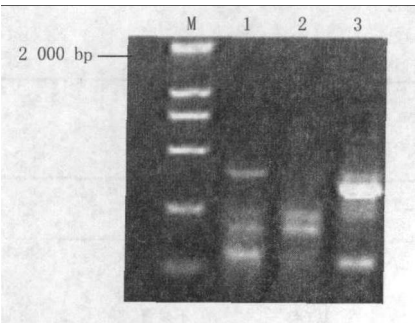


图 2 引物 E32M48 对组合 D0351×631 各池扩增的结果
注:1 为绿色池,2 为白色池,3 为浅绿色池。

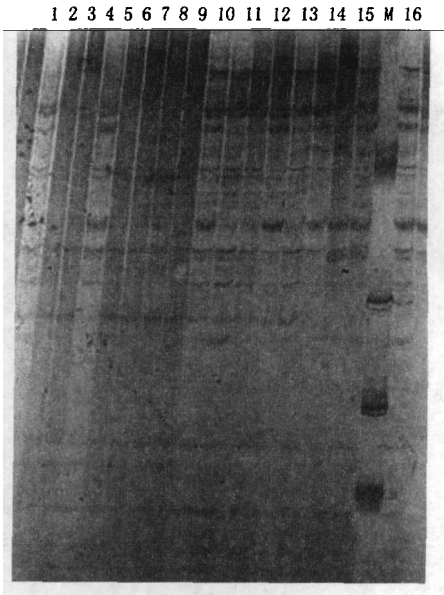


图 3 引物 E36M51 对组合 D0351×631 各池的扩增结果

注:绿色表现型单株为:1、2、4、5、6、7、8、10、11、12、15;浅绿色表现型单株为:9、16;白色表现型单株为:3、13、14。

应用于单株的试验操作步骤与筛选引物时基本一致,要在应用 1.5%的琼脂糖凝胶电泳对选择性扩增产物进行检测后,再进行聚丙烯酰胺凝胶电泳,收集、处理数据。对 AFLP 引物的扩增结果进行分析表明,组合 631(黄绿果皮类型)×D0351(乳白果皮类型)的 F₂ 群体,E35M51、E63M79、E63M91 被划分为一个连锁群;各自的遗传距离为 14.7、12.1、20.5 cM;总的遗传距离为 47.3 cM。E33M49、E63M85、E43M61、E62M47、E37M85、E56M90 被划分为另一个连锁群,各自的遗传距离为 11.3、9.9、5.2、7.3、25.0、45.9 cM;总的遗传距离为 114.6 cM。对于组合 631(黄绿果皮类型)×翠玉 8 号(乳白果皮类型)的 F₂ 群体,E37M31、E49M70、E55M90、E32M47、E36M60 被划分为一个连锁群,各自的遗传距离为:7.3、15.5、11.6、33.1、64.6 cM;总的遗传距离为 132.1 cM。E34M59、E63M50 被划分为另一个连锁群,各自的遗传距离为 5.6 cM 和 19.3 cM;总的遗传距离为 24.9 cM。这将为以后的黄瓜基因定位及遗传互作的研究提供基础。对于组合 631(黄绿果皮类型)×D0351(乳白果皮类型)的 F₂ 群体,绘图如下:

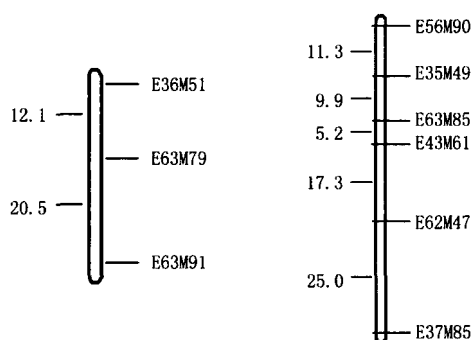
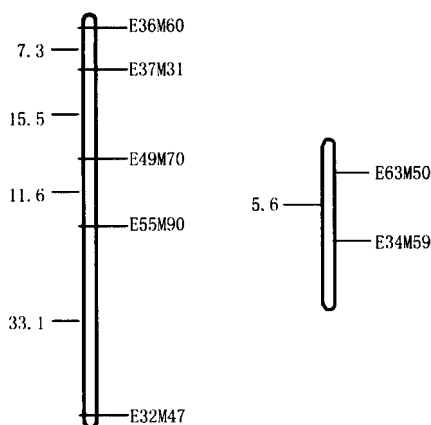


图4 组合 631(黄绿果皮类型)×D0351(乳白果皮类型)

的 F₂ 群体标记遗传连锁图

试验获得的对组合 631(黄绿果皮类型)×D0351(乳白果皮类型)的 F₂ 群体的标记引物 E35M51、E63M79、E63M91 与 E33M49、E63M85、E43M61、E62M47、E37M85、E56M90; 和对组合 631(黄绿果皮类型)×翠玉 8 号(乳白果皮类型)的 F₂ 群体的标记引物 E37M31、E49M70、E55M90、E32M47、E36M60、E34M59、E63M50 中, 引物 E43M61 与引物 E34M59 与目的基因的遗传连锁距离分别为 5.2 cM 和 5.6 cM, 可用于试验材料的苗期选择与鉴定。

图5 组合 631×Cuiyu 8 的 F₂ 群体标记遗传连锁图

3 讨论

3.1 利用形态学性状标记黄瓜嫩果白果皮遗传规律

试验采用东北农业大学黄瓜课题组的黄瓜种质 D0351(白色果皮, 小果型)与翠玉 8 号(绿色果皮, 华北型)与 631(绿色果皮, 华南型)进行研究, 通过对亲本、F₁、F₂ 单株进行形态学标记, 发现以下规律。

3.1.1 控制黄瓜嫩果白色果皮颜色的基因为隐性基因对“*ww*” 试验中黄瓜嫩果绿色果皮品系 631 与黄瓜嫩果白色果皮品系 D0351 的组合, 黄瓜嫩果绿色果皮品系 631 与黄瓜嫩果白色果皮品种翠玉 8 号的组合。各组合 F₂ 群体出现 2 种表现型, 分别为绿色和白色; 其分离比率接近孟德尔单基因控制性状的分离比率 3:1。其中绿色表现型又可分为 2 个等级: 绿色与浅绿色; 按此级别的划

分进行统计, 各表现型分离比率为 9:3:4, 而不是典型的孟德尔分离比率 9:3:3:1。表明控制黄瓜嫩果白色果皮性状的基因“*w*”对控制黄瓜嫩果果皮绿色的基因“*yg*”为隐性; 并且“*w*”与其它修饰基因间存在互作, 互作类型为隐性上位。是质量性状遗传 6 种类型基因互作中的一种。这与前人的研究结果(侯峰, 1999)不甚一致; 但与 Youngner(1952)报道的黄瓜嫩果绿色果皮性状由“*yg*”基因控制, “*yg*”对于控制黄瓜果皮颜色呈现深绿色的基因表现为隐性, 对于控制黄瓜果皮颜色呈现浅绿色的基因表现为上位性以及 Cochran(1938)报道的果皮颜色白色“*w*”隐性于绿色的论断相近。在 Elston(1973)提出了 1 对主基因+多基因混合遗传模型的基础上, 盖钧益(1997)等提出主基因+多基因混合遗传模型看作是植物数量性状遗传的普遍性模型, 将单纯多基因, 单纯主基因看作是特例, 并发展了一套 QTL 遗传模型的分离分析方法, 并将其应用到黄瓜果皮颜色遗传规律的研究中, 该模型不适用。

3.1.2 控制黄瓜嫩果白色果皮遗传规律的基因“*w*”与其它性状之间的遗传关系 在黄瓜嫩果绿色果皮品系 631 与黄瓜嫩果白色果皮品系 D0351 的组合与黄瓜嫩果绿色果皮品系 631 与黄瓜嫩果白色果皮品种翠玉 8 号的组合的 F₂ 群体中, 均发现控制黄瓜果皮颜色的基因“*yg*”、“*w*”与“*Tu*”(果实有棱状突起)、“*Se*”(shape of fruit end, 暂命名)间在 F₂ 代群体中的基因型分离比率分别为 9:3:3:1, 符合孟德尔的独立遗传分离比率, 即基因“*yg*”与“*w*”与基因“*Tu*”及“*Se*”之间的遗传关系为独立遗传。这部分研究内容未见报道。

3.2 AFLP 分子标记结果

在连续 4 a 的植物形态学研究和田间调查的基础上, 该试验认为, 黄瓜嫩果绿色果皮的遗传模式为 2 对基因共同控制的质量性状遗传, 即基因互作中的隐性上位。吴为人等^[6]认为, 用混合分离分析(BSA)快速寻找连锁的分子标记, 然后用 Mapmaker/Exp 软件构建局域连锁图, 已成为定位单个主基因的常用方法。但由于基因互作的遗传模式与单基因差异很大, 因此针对单基因定位的方法和软件不能简单地应用于互作基因的定位; 目前还没有提出快速筛选与互作基因连锁的分子标记的试验方法以及同时分析多个分子标记与互作基因间连锁关系的统计方法和计算机软件。试验中使用 Mapmaker3.0/Exp 软件获得的结果, 还可以继续完善。

参考文献

- [1] 池秀蓉, 顾兴芳, 张圣平. 黄瓜无苦味基因 B₁ 的分子标记研究[J]. 园艺学报, 2007, 34(5): 1177-1182.
- [2] 顾兴芳, 张圣平, 池秀蓉. 黄瓜叶色突变、苦味与其它 5 个性状的基因间连锁遗传关系[J]. 园艺学报, 2005, 32(1): 108-110.

- [3] 孙小镛,王永强,王冰,等. 黄瓜嫩果果皮叶绿素含量的遗传[J]. 园艺学报,2004,31(3):327-331.
- [4] 顾兴芳,张圣平,国艳梅,等. 黄瓜苦味遗传分析[J]. 园艺学报,2004,31(5):613-615.
- [5] 严建兵,汤华. 玉米产量及构成因子主效和上位性 QTL 的全基因扫描分析[J]. 科学通报,2006,51(12):1413-1421.
- [6] 吴为人,黄碧华. 利用混合分离分析法和 Mapmaker/Exp 软件定位互作基因的策略[J]. 科学通报,2006,51(18):2134-2137.
- [7] 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.
- [8] 丁国华,秦智伟. 黄瓜的分子标记和连锁图谱研究进展[J]. 中国农学通报,2004,20(6):14-18.
- [9] 张素勤,顾兴芳,张圣平. 黄瓜对霜霉病和白粉病抗性的相关性研究[J]. 中国蔬菜,2007(9):9-11.
- [10] 陶俊. 柑橘果皮颜色的形成与类胡萝卜素组分变化的关系[J]. 植物生理与分子生物学报,2003(2):76-79.
- [11] 谢江辉. 芒果种质遗传多样性的 RAPD 分析[J]. 果树学报,2005(6):72-75.
- [12] 邓德红,杨四林,译. 黄瓜的基因和连锁群[J]. 中国蔬菜,1993(4):54-57.
- [13] 方宜钧,吴为人,唐纪良,等. 作物 DNA 标记辅助育种[M]. 北京:科学出版社,2001.
- [14] 顾兴芳,杨庆文. AFLP 技术在黄瓜种质资源鉴定及分类上的应用初探[J]. 中国蔬菜,2000(1):30-32.
- [15] 顾兴芳,方秀娟,张孟玉,等. 黄瓜苦味研究概况[J]. 园艺学报,2000,27(增刊):504-508.
- [16] 陆朝福,朱立煌. 植物育种中的分子标记辅助选择[J]. 生物工程进展,1995(15):411-415.
- [17] 刘旭. 遗传标记和遗传图谱构建[J]. 作物品种资源,1997(3):29-32.
- [18] 刘勋甲,郑用琰,尹艳,等. 遗传标记的发展及分子标记在农作物遗传育种中的应用[J]. 湖北农业科学,1998(1):33-35.
- [19] 罗培高,任正隆,张怀渝,等. AFLP 分子标记及其在作物遗传育种中的应用与前景[J]. 四川农业大学学报,2001,19(4):406-409.
- [20] 李加旺,张文珠,孙忠魁,等. 黄瓜资源筛选与育种研究及其发展趋势[J]. 天津农业科学,1997(12):235-237.

Inheridity of White Skin Color Cucumber Immature Fruit and AFLP Analysis

SUN Xiao-dan^{1,2}, SHANG Qing-mei¹, QIN Zhi-wei¹

(1. College of Horticulture, Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150030; 2. Life Sciences, Heilongjiang University, Harbin, Heilongjiang 150086)

Abstract: By the methods of morphology observe, analysis of classical genetic traits, AFLP molecular markers, the inheritance law of white skin color cucumber immature fruit were studied in the level of morphological and molecular markers. The results showed that white skin color cucumber immature fruit characters was a recessive gene from 1 “*ww*” control; AFLP markers showed that combination of 631 (yellow skin types) × D0351 (milky skin types), E35M51, E63M79, E63M91 was divided into a linkage group; E33M49, E63M85, E43M61, E62M47, E37M85, E56M90 was divided into different linkage groups, each of the total genetic distance of 51.3 cM and 114.6 cM. combination of 631 (yellow skin types) × D0351 (milky skin types), E37M31, E49M70, E55M90, E32M47, E36M60 was divided into a linkage group, E34M59, E63M50 was divided into different linkage groups, the total genetic distance of each 132.1 cM and 24.9 cM. Which, in the combination of 631 (yellow skin types) × D0351 (milky skin type) to mark the course of F₂ populations, labeled primers E43M61 genetic distance was 5.2 cM; in the combination of 631 (yellow skin types) × jade 8 (milky skin type) to mark the course of F₂ populations, labeled primers E34M59 genetic distance was 5.6 cM; that these two markers and control of white skin color cucumber immature fruit of the recessive gene “*w*” was linkage.

Key word: cucumber; immature fruit white skin color; inheritance; AFLP