

综述 Review

分子标记技术在黄瓜农艺性状基因定位上的应用

李利斌^{1, #}, 牛佳玉^{2, #}, 王永强¹, 杨宗辉¹, 杨桂兰¹, 侯丽霞¹, 刘淑梅¹, 曹齐卫^{1, *}, 孟昭娟^{1, *}¹山东省农业科学院蔬菜花卉研究所, 国家蔬菜改良中心山东分中心, 山东省设施蔬菜生物学重点实验室, 农业部黄淮地区蔬菜科学观测实验站(山东), 济南250100²山东农业工程学院食品科学与工程学院, 济南250100

摘要: 分子标记是继形态学、细胞学和生化标记后的新型技术, 随着分子生物学的迅猛发展, 该技术已在蔬菜育种上广泛应用。本文概述了分子标记的概念及分类, 包括典型标记技术的原理及优缺点, 详述其近年在黄瓜(*Cucumis sativus*)外观、品质、产量与性型、抗逆、种质资源鉴定以及品种纯度鉴定方面相关基因定位上的应用, 最后对其在基因定位及辅助选择育种方面的应用前景进行了展望。

关键词: 分子标记; 黄瓜; 外观品质; 农艺性状; 基因定位

分子标记(molecular markers)有两个概念, 即广义和狭义的概念。广义的分子标记是指可遗传并可检测的DNA序列和蛋白质, 狭义概念指DNA标记(黎裕等1999)。20世纪80年代, 以生物个体之间DNA的序列差异作为分子标记的研究兴起, 随后分子生物学技术快速发展, 分子标记技术得到了飞速发展, 为不同的研究提供了较为丰富的技术手段(胡丽芳和刘世强2014)。

黄瓜(*Cucumis sativus*)是最重要的蔬菜之一, 随着它的基因组测序的成功完成, 每年定位或克隆的黄瓜农艺性状相关基因数量逐年增长, 这使利用分子标记辅助选择的方法快速培育出具有目标性状的新品系成为可能(刘鸣等2013)。本文综述了分子标记近年来在黄瓜育种应用方面, 主要是在黄瓜农艺性状基因定位方面, 包括黄瓜外观、品质、产量与性型、抗逆相关基因的定位, 种质资源以及品种纯度鉴定上的进展。

1 分子标记的种类及特点

现有的分子标记有限制性片段长度多态性(restriction fragment length polymorphism, RFLP)、简单重复序列(simple sequence repeat, SSR)、随机扩增多态性DNA (random amplified polymorphic DNA, RAPD)、序列相关扩增多态性(sequence-related amplified polymorphism, SRAP)、扩增片段长度多态性(amplified fragment length polymorphism, AFLP)、单

核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)、序列特异性扩增(sequence-characterized amplification, SCAR)、酶切扩增多态性序列(cleaved amplified polymorphic sequence, CAPS)、单引物扩增反应(single primer amplification reaction, SPAR)等(黎裕等1999)。常用的分子标记目前主要分为4类, 分别为基于杂交的分子标记(例如: RFLP)、基于PCR的分子标记(例如: SSR、RAPD、SRAP)、基于限制性酶切与PCR结合的分子标记(例如: AFLP)、新一代的分子标记(例如: SNP) (徐操和赵宝华2009)。

RFLP是发展最早的分子标记技术。1974年Grodjicker将RFLP作为遗传工具创立, 1980年Botstein等提出利用其构建遗传图谱, 1983年Soller和Beckman首次将其用于品种鉴别和品系纯度测定(任国良2013; 黄映萍2010)。其技术原理是检测DNA被限制性内切酶切后得到的特定DNA片段大小(黎裕等1999), 具有数量多、可选择性大、检测方便、不易受环境影响、遗传稳定性和专一性好等优点, 但也存在操作复杂、检测周期长、成本费用

收稿 2018-09-17 修定 2019-01-01

资助 国家现代农业产业技术体系大宗蔬菜济南综合试验站(CARS-23-G14)、山东省农业科学院农业科技创新工程(CXGC2018E08)和山东省农业良种工程(2017LZGC013)。

并列第一作者。

* 共同通讯作者: 孟昭娟(mengzhaojuan1@163.com)、曹齐卫(caoqiwei2004@sina.com)。

用高、对DNA多态性检出的灵敏性低等缺点(任国良2013)。

SSR也称微卫星DNA标记,是第二代分子标记(Miao等2011),1991年由Moore等创立,目前应用广泛。其原理是以SSR两端序列为依据设计一对特异引物,再通过PCR技术扩增出简单重复序列,最后利用聚丙烯酰胺或琼脂糖凝胶电泳技术获得其长度多态性。其为共显性标记,具有单基因座、等位基因变异多、多态性丰富、信息量大、稳定性好、操作简单、进化所受选择压小、种族特异性强等优点(罗兵等2013),它最大的缺点是在微卫星DNA的寻找上比较繁琐,绝大多数的SSR标记通过对SSR鉴定和筛选基因组文库、克隆、设计引物等获得,在此过程中人力、物力消耗极大,且效率不高(刘列钊和林呐2004)。RAPD标记技术在1990年美国由Williams和Welsh几乎同时提出(黄映萍2010),该技术用一个或两个随机引物非定点地扩增DNA片段,不需要DNA探针,设计引物不必提前知道序列信息,一个引物可扩增多个片段,检测多态性快速(黎裕等1999)。SRAP作为第一代分子标记,2001年首次由美国加州大学作物系Li和Quiros提出(张彤等2009),原理是利用基因外显子中鸟嘌呤(guanine, G)、胞嘧啶(cytosine, C)含量丰富而内含子和启动子中腺嘌呤(adenine, A)、胸腺嘧啶(thymine, T)含量丰富的特点设计两套引物,对开放阅读框扩增(张彤等2009),其具有产率高、中等产量、高共显性、易于分离条带等优点(徐操和赵宝华2009)。

AFLP技术是1992年由荷兰科学家Zabeau和Vos所创立(黄映萍2010),具有覆盖面广、高分辨率、高效性、高保真性、DNA需要量少、不用提前获知序列的任何信息、标记的分离遵循孟德尔遗传规律、可在全基因组产生标记等优点,其缺点是显性标记、扩增片段偏短、不能大规模进行单位点检测和反应标记的位置信息(李韬2006)。

SNP是第三代分子标记技术,是指同一位点的不同等位基因之间只有小的插入、缺失或者只有一个核苷酸的差异,1996年由Lander等正式提出(黄映萍2010;任国良2013)。该标记弥补了第一代、第二代分子标记方法上的缺陷,具有遗传稳

定性高,位点丰富且分布广泛,富有代表性、二态性和等位基因性,多样性高,数量大,检测快速,易实现自动化分析等优点,但其位点的开发不易,在检测遗传多样性时有一定的限制(唐立群等2012;饶龙兵2009)。

2 分子标记在黄瓜农艺性状相关基因定位上的应用

黄瓜是最重要的蔬菜之一。随着分子生物技术的发展,出现了一种新的技术即分子标记技术。由于分子标记可以直接以DNA的形式出现,非等位的标记之间不存在上位效应及其他形式的基因互作,不受环境的影响,多态性几乎遍及整个基因组,结果稳定可靠,重复性好,被广泛地应用于遗产育种、基因定位、基因克隆、遗传图谱的构建、系统分类学与种质资源遗传关系的研究,以及辅助选择育种(徐操和赵宝华2009;胡裕清和赵树进2010;闫华超等2006)。以下详述分子标记在黄瓜外观、品质、产量与性型、抗逆、种质资源鉴定以及品种纯度鉴定相关基因定位方面的应用(表1)。

2.1 在外观方面

黄瓜的外观包括两方面,一方面是株形,包括株高、分枝、叶片大小等,是关系密植黄瓜栽培方式高效与否及果实产量高低的重要因素。

苗晗等(2012)利用黄瓜材料‘9930’和‘9110Gt’为亲本构建的F₂代重组自交系(recombinant inbred lines strains, RILs)群体遗传图谱,共检测到11个与株高、节间长度、节数相关的数量性状基因位点(quantitative trait locus, QTL),控制黄瓜株高的基因至少有4个;获得与株高、节数主效QTLs位点紧密连锁的两个标记SSR22826和SSR17922,遗传距离分别为2.4和1.4 cM。雍建朋等(2013)以黄瓜蔓生材料WI7200(长节间)与矮生材料WI7201(短节间)为亲本构建F₂群体,利用 cp 初始精细定位的两侧翼微卫星标记UW084680和UW084870筛选F₂群体1348个单株,共筛选出57株重组交换单株;在 cp 基因初始精细定位的220 kb区间内,新开发了68对微卫星标记和1对序列标签位点(sequence-tagged site, STS)标记,2对SSR标记和1对STS标记被成功用于交换单株的分析,并结合 cp 基因初始精细定位所用

表1 黄瓜农艺性状相关基因及分子标记的应用
Table 1 Agronomic trait genes and application of molecular markers in cucumber

性状	黄瓜品种/系	标记	基因名称	基因功能	参考文献
株高	‘9930’和‘9110Gt’为亲本构建的F ₉ 代RILs群体	SSR	—	与株高、节间长度、节数相关	苗晗等(2012)
	以黄瓜蔓生材料WI7200 (长节间)与矮生材料WI7201 (短节间)为亲本构建F ₃ 群体	SSR、STS	<i>cp</i>	株高	雍建朋等(2013)
侧枝	无侧枝品系419和长侧枝品系SB-2	SSR	<i>nlb</i>	控制无侧枝性状	任国良(2013)
叶片大小	Gy7和H-19 (小叶) F ₉ 重组自交系和两个亲本	SSR、SCAR	<i>LL</i>	调控叶片大小	Weng等(2010)
	小叶品系H19、正常叶品系G421杂交产生的145个RILs和F ₂ 群体	SSR、SNP、dCAPS	<i>LL</i>	调控叶片大小	Yang等(2018)
果皮	绿皮‘WD3’和白皮‘B-2-2’	SRAP	—	控制果皮颜色(绿色)	李亚利(2008)
	自交系‘1101’	SSR	<i>G</i>	果皮有光泽	董邵云(2013)
果刺	两个自交系WI7200和WI7201	SSR	<i>B</i>	黑色果刺和果实颜色	Li等(2013)
	自交系S06和无毛(果刺)突变体 <i>gl</i>	SRAP	—	果刺形成	关媛(2008)
	有毛黄瓜‘9110Gt’ (P ₁)和无毛突变体‘NCG-042’ (P ₂)及F ₂	SSR	<i>gl-2</i>	控制果刺有无	杨双娟等(2011)
	白色果刺自交系GY14和黑色果刺自交系NC76	SSR	—	果刺颜色	刘书林等(2014)
果瘤	荷兰无瘤品种‘Z1’ ‘Z3’和有瘤品系东农129, 果瘤自交系S52、S94和无果瘤自交系S06、SB S06和S52的F ₂ 群体	SSR	<i>Tu</i>	黄瓜果瘤有无	王桂玲等(2007); 杨绪勤(2014)
		SSR、SRAP、SCAR	<i>Tu/tu</i>	决定黄瓜疣状特征	Zhang等(2010)
	大小果瘤品系3546-1和3546-2及其F ₂ 群体	SNP、InDel	<i>CsTS1</i>	调控果瘤的大小	Yang等(2018)
香味	‘PK2011T202’ (PKT)和‘301176’ (301), F ₁ 、F ₂ 、BC ₁ P ₁ 和BC ₁ P ₂	—	<i>fgr</i>	香味	Pramnoi等(2013)
	‘PK2011T202’和‘301176’构建的F ₂ 、BC ₁ F ₁ 的连锁群	SSR、SNAP	<i>qFgr</i>	香味主效基因	Yundaeng等(2015)
苦味	自交系新泰密刺和38	AFLP、SSR	<i>Bi,Bt</i>	黄瓜苦味性状	国艳梅(2003)
	纯合自交系931和932	SSR	<i>Bt</i>	黄瓜苦味性状	顾兴芳等(2006)
	华南型果实苦味自交系D9320和欧洲型无苦味自交系D0432-3-4	SNP	—	黄瓜苦味性状	李宗扬等(2015)
	9110Gt和9930杂交重组自交系(RIL)群体	—	<i>Bi</i>	黄瓜苦味性状	Zhang等(2013)
雌性	115份具有代表性的黄瓜材料	—	<i>Bl、Bt</i>	黄瓜苦味性状	Shang等(2014)
	全雌品系240-1-2-2-3-1自交系和弱雌品系3-5-1-3-2-1-1-1-2及其F ₁ 、F ₂ 、BC ₁ P ₁ 和BC ₁ P ₂	SSR	—	黄瓜性别表达	周胜军等(2013)
抗逆	K8和K18	AFLP	—	黄瓜霜霉病感病	张素勤等(2010)
	高抗和高感白粉病黄瓜	SRAP	—	黄瓜抗白粉病	景然等(2011)
	黄瓜2-3叶	RAPD	—	黄瓜叶斑病	Olczak-Woltman等(2009)
种质	148个重组自交系	SSR	—	种质资源鉴定	Miao等(2011)
	16份黄瓜种质	InDel	—	种质资源鉴定	李斯更(2013)
品种鉴定	黄瓜杂交种‘优一’ ‘津优38’父本、母本及杂交种, 8批种子样品	SNP, InDel	—	种子纯度鉴定	兰青阔等(2012, 2011)
	‘津优401’	SSR	—	种子纯度鉴定	崔兴华等(2015)
	4份黄瓜F ₁ 种子	SSR	—	鉴定F ₁ 种子纯度	李海梅等(2015)
	早青二号T03雄性系、B35雌性系及杂交种	RAPD	—	鉴定杂交种纯度	孙敏等(2003)

F₂群体1 273株单株的数据, 将*cp*基因定位在共分
离标记为SSR标记UW057998和STS标记*cp*-STS-6
之间的178 kb区间内, 与最近的两侧翼标记CKX-indel
和UW058058分别相距0.04和0.23 cM。

果枝的数量与加工黄瓜的产量呈正相关,在分子标记辅助选择(marker-assisted selection, MAS)中使用与多侧枝(multiple lateral branching, MLB)相关的标记将很可能成为黄瓜改良有效工具(Fazio等2003)。任国良(2013)通过无侧枝和有侧枝基因池间分析SSR分子标记的多态性,定位到黄瓜无侧枝基因 nlb 连锁标记SSR10018,将其定位于黄瓜第一染色体,其后进一步验证,定位到更加紧密的分子标记SSR19673,遗传距离为15.9 cM。另一方面是果实外观,包括果形、果皮、果瘤、果刺等,消费者对黄瓜的外观有着不同的喜好,影响着黄瓜的市场价值,因此现在许多研究是对黄瓜的外观性状进行分子标记精细定位,以期对黄瓜的品质育种提供理论依据。

对于叶片大小的研究近期取得了突破性进展。Weng等(2010)发现小叶基因*LITTLE LEAF (LL)*位于第6染色体上,SSR02355和SSR03940标记之间。Yang等(2018)用145个RILs作图发现6个多态性SSR标记,其中SSR21758和UW083795最接近*LL*基因,分别距离1.0和0.6 cM,物理图距约563 kb。这两个标记也用于小叶品系H19和正常叶品系G421杂交的 F_2 群体1 423株单株筛选,从中鉴定了29个重组体。通过测序确定了960个SNP,将4个SNP转化为dCAPS标记物(II-dCAPS1~II-dCAPS4)用于对29个重组体进行鉴定,发现*LL*基因与II-dCAPS1和II-dCAPS3之间的距离为0.4 cM。不仅构建了黄瓜小叶(*ll*)突变体,还鉴定了其基因功能。结果发现,突变体器官比野生型更小但有更多的侧枝。*LL*是拟南芥*STERILE APETALA (SAP)*的直系同源物,编码含WD40重复结构域的蛋白质,通过几种已知的器官大小调节剂和相关途径介导器官大小,是重要的器官大小控制和黄瓜侧枝发育的参与者,突变体的器官小是由于减少了细胞的数量和大小。

另一方面是果实外观,包括果形、果皮、果瘤、果刺等,对消费者的选择和黄瓜的市场价值有重要影响,因此对黄瓜的外观性状进行分子标记的研究越来越深入,以期对黄瓜的品质育种提供理论依据。

果形是黄瓜外观的重要性状之一。黄瓜的弯

曲度、果实粗细、果把长度等与果形这一性状密切相关。在黄瓜生产中,果实弯曲严重影响了黄瓜的外形美观、风味和口感,甚至影响销量,使黄瓜的商品性能显著下降(梁长宏和李桂华2001),因此,在黄瓜育种、生长中,对黄瓜果实弯曲性的研究至关重要。张鹏(2009)用果实弯曲品种和果实顺直品种为亲本,对黄瓜果实弯曲性进行遗传分析,对 F_2 分离群体进行分子标记和QTL定位,筛选出了7个SSR多态性引物,检测到1个与黄瓜果实弯曲性相关的QTL位点,距离最近标记图距为2.5 cM。孙洪涛等(2010)运用分子标记技术对黄瓜果实横径进行了研究,用116对SSR引物对果实横径性状进行了分子标记,检测到一个位于CSWCT25-CSWCT29-CSWTA03连锁群上的与黄瓜果实横径相关的QTL位点,距最近的CSWTA03引物1.98 cM。黄瓜的果把长度影响其品质和商业价值。人们大多青睐果把短甚至没有果把的黄瓜,因此为了适应市场的需求,对果把的研究较多。赵鹏(2011)以温室黄瓜品种‘拉迪特Z9’(短瓜把)和‘东农129’(长瓜把)为亲本,使用集群分析法(bulked segregant analysis, BSA)和SRAP技术进行黄瓜瓜把长度的QTL定位,检测到9个标记产生多态性条带,定位到2个影响瓜把长度的QTL。

果皮是最直观反映黄瓜外观优劣的性状之一,果皮颜色和光泽度是决定市场接受程度的关键因素之一。绿色果皮黄瓜是市场主要的黄瓜类型,引起人们对绿色果皮基因的大量关注。其中,李亚利(2008)利用‘WD3’(绿皮黄瓜)和‘B-2-2’(白皮黄瓜)为亲本,采用BSA和SRAP分子标记技术,找到了一个与绿色基因连锁的显性SRAP标记ME9EM1-369,遗传距离为6 cM;对黄瓜果皮光泽性状研究发现,黄瓜自交系‘1101’的果皮光泽性状是由显性单基因*G*控制,并将其定位在第5条染色体上的SSR标记Cs28和UW013295之间,遗传距离分别为1.5和4.8 cM(董邵云2013)。

果瘤是黄瓜果实的外观性状,它与果刺一起构成了黄瓜果实的刺瘤性状,即疣状果实性状。遗传分析表明,单显性基因*Tu* (tuberculate fruit)决定了黄瓜植株的疣状果实性状(Zhang等2010)。其中有无果瘤这一外观性状关系着消费者对黄瓜的选

择,进而关系着黄瓜的市场价值,因此越来越多的人开始对果瘤进行研究。王桂玲等(2007)以‘Z1’、‘Z3’(荷兰温室无瘤黄瓜品种)和东农129(有瘤黄瓜品系)为亲本,利用SSR分子标记技术,发现*Tu*基因位于CSWGATT01C和CSCT335之间,遗传距离分别为20.0和14.1 cM; Zhang等(2010)通过与序列相关的SRAP和SSR标记相结合,确定了与*Tu/tu*位点相关的15个标记(9个SRAPs和6个SSR); 杨绪勤(2014)在*Tu*基因的精确定位方面开发了20个SNP标记和332个SSR标记,同时发现了2个可用于黄瓜果瘤的分子标记辅助选择育种的显性标记TY-1和TY-2。Yang等(2018)通过图位克隆技术鉴定控制果瘤大小的基因座*CsTSI*,其编码一种油体蛋白,启动子区中等位基因变异导致*CsTSI*在所有22种不同的小瘤或非瘤黄瓜品系中低表达,而在44个果瘤增大的不同黄瓜品系中高表达;启动子与*CsTu*直接结合促进*CsTSI*表达。

果刺是果实外观重要的性状,可以根据果刺的形态判断黄瓜品质的优劣。关媛(2008)以欧洲温室类型自交系S06和黄瓜无毛(果刺)突变体*gl*为亲本,对黄瓜果刺形成基因进行定位,发现2个与*Gl*连锁的SRAP标记,其中一个标记ME4EM3,连锁距离为3.2 cM,并成功将其转化为一个SCAR标记;杨双娟等(2011)以黄瓜有毛类型‘9110Gt’(P₁)和无毛突变体‘NCG-042’(P₂)为试材,对无毛基因*gl-2*进行遗传分析和基因定位研究,发现黄瓜的有毛、无毛性状由一对核基因控制,有毛对无毛为显性。结合BSA,以F₂为作图群体,筛选得到18对与黄瓜无毛基因*gl-2*相关的SSR引物,构建了*gl-2*基因的SSR连锁群,并将该基因定位在黄瓜第2染色体上,两侧最近的连锁标记为SSR10522和SSR13275,遗传距离分别为0.6和3.8 cM。刘书林等(2014)以GY14(黄瓜白色果刺自交系)和NC76(黑色果刺自交系)为亲本,发现NC76(黄瓜自交系)的黑色果刺性状由显性单基因控制,此基因被定位于黄瓜4号染色体上,位于最近标记SSRB-130和SSRB-181之间,遗传距离分别为1.6和2.0 cM。Li等(2013)调查了两个自交系WI7200和WI7201之间杂交后代,证实是单一的显性基因*B*控制着黑色果刺颜色和成熟的果实颜色,利用SSR标记技术精细定位,得出

R2R3-MYB基因可能是构建黄瓜黑色和成熟橙色果实颜色的*B*基因座的最佳候选基因。

2.2 在品质方面

黄瓜的品质特征主要包括内部品质和营养品质,内部品质又包括质地和风味。质地包括硬度、坚韧度、紧密度、苦味等,风味一般指黄瓜特有的气味和滋味。郝丽宁等(2013)对不同基因型黄瓜果实的香气物质进行了测定,主要风味物质有反,顺-2,6-壬二烯醛、1-戊烯-3-醇、1-戊醇、乙醛、丙醛等,营养品质包括纤维素、可溶性糖、可溶性蛋白、维生素C、有机酸、可溶性固形物、果胶质、矿物质等。刘春香等(2003)研究了风味物质的形成途径及其与果实其他性状的关系,肯定了感官鉴定最能反映蔬菜的实际受欢迎程度及脂氧合酶在生理作用方面的重要性。

有研究表明,植物中的香气主要是由于存在挥发性化合物2-乙酰基-1-吡咯啉(2-acetyl-1-pyrroline, 2AP)。在高粱(*Sorghum bicolor*)中发现香味是由一个隐性基因控制的(Murty等1982)。在水稻(*Oryza sativa*)和大豆(*Glycine max*)中,研究人员成功地发现了甜菜碱醛脱氢酶2(BADH2)基因的突变,导致蛋白质BADH2的无效功能,这是香味产生的原因(Bradbury等2005; Juwattanasomran等2011)。在黄瓜中, F₂和回交群体中的分离也表明香味是隐性的并且由单个基因*fgr*控制(Pramnoi等2013),黄瓜香味变化取决于BADH/AMADH中SNP(A1855G)的改变。利用在F₂和BC₁F₁群体中进行QTL定位以确定香味和CsBADH之间的关联,从43个SSR标记中筛选出11个在亲本间存在多态性,与SNAP标记Cs-BADH-AG一起用于构建F₂和BC₁F₁的连锁群,其长度分别为61.0和152.2 cM, qFgr位于距离SNAP标记CsBADH-AG 1.1 cM处,分别解释香味80.85%和43.27%的变异(Yundaeng等2015),表明除了BADH基因之外可能还有其他遗传因素影响黄瓜的香味。2AP是香味的主要成分,它的生物合成途径涉及几个脯氨酸,很大程度上受环境因素影响(Bradbury等2008),从而影响黄瓜的香味水平。此外,2AP生物合成的另一条途径是不依赖于BADH, Huang等(2008)证明了 Δ^1 -吡咯啉-5-羧酸合成酶(Δ^1 -pyrroline-5-carboxylic acid synthetase, P5CS)可直接与甲

基乙二醛(methylglyoxal, MG)反应导致水稻2AP形成, 而Wu等(2009)表明P5CS可能降解为1-吡咯啉并与MG互作生成2AP。基因控制的这些化学物质可能影响黄瓜的香味程度。

果实苦味是影响黄瓜品质的重要性状之一, 因其严重影响口感, 使得人们的购买欲下降, 造成黄瓜滞销, 给生产带来巨大损失。因此, 改善黄瓜品质, 对黄瓜苦味的研究势在必行, 研究发现了大量苦味基因的分子标记。国艳梅(2003)以亲缘关系较远的新泰密刺(黄瓜自交系)和38为亲本, 筛选出与苦味基因*Bi*紧密连锁的AFLP分子标记E4M6, 连锁距离为15.0 cM, E5M5与*bi*之间的遗传图距为18.8 cM; 顾兴芳等(2006)获得的与黄瓜苦味基因连锁的2个显性标记E23M66-101和E25M65-213, 与*Bi*基因的遗传距离分别为5和4 cM, 是国内外首次获得的AFLP标记。利用自交系9110Gt和9930杂交RIL群体进行SSR标记定位黄瓜果实和叶片苦味遗传基因*Bi-1*和*Bi-3*分别在第6和第5染色体上(Zhang等2013)。李宗扬等(2015)发现了与黄瓜苦味*Bt*基因更近的标记(SSR12291和SSR02118), 遗传距离分别为1.9和1.8 cM。通过SNP标记发现黄瓜苦味合成、调控及驯化的分子机制共涉及11个基因, 即: 苦味物质葫芦素是由9个基因负责合成的, 其中4个基因的生物化学功能已经确证了; 这9个基因受到2个“主开关基因”(*Bl*和*Bt*)的直接控制, *Bl*控制叶片苦味, *Bt*控制果实苦味; 在野生极苦黄瓜向栽培黄瓜驯化过程中, *Bt*基因受到选择, 导致无苦味黄瓜的出现, 但在逆境条件下仍然会变苦; 发现*Bt*启动子区域的一个突变能够使黄瓜在逆境条件下也不会变苦, 通过精确调节果实和叶片中*Bt*和*Bl*的表达模式, 可以确保黄瓜果实中不积累苦味物质, 保证黄瓜的商品品质, 同时提高叶片中的葫芦素含量用于抵御害虫的侵害, 减少农药的使用(Shang等2014)。

黄瓜的品质除了自身特有物质有关, 还与贮藏期相关。黄瓜是贮藏难度较大的蔬菜, 采后的处理关系着黄瓜贮藏期的长短与其品质的改变。辛丹丹等(2017)对采后贮藏的‘博耐35’黄瓜进行外源褪黑素处理, 黄瓜中的维生素C、叶绿素、可溶性蛋白和可滴定酸含量下降速度减缓, 使黄瓜品质得到更好的保持。

2.3 在产量与性型方面

产量是黄瓜生产的最重要的农艺性状之一, 人们已经在产量标记开发方面进行了大量研究。陈青君等(2010)对秋冬茬和冬春茬黄瓜产量相关性状的QTLs进行定位, 利用高代自交系欧洲8号与华北露地生态型自交系秋棚的F₈代113份黄瓜重组自交系群体, 对产量相关的9个性状进行QTL分析, 共检测到温室黄瓜与产量相关的9个性状的58个QTLs, 其中*ffa2a*、*ffa2b*表达稳定, 在温室黄瓜产量分子标记辅助选择方面提供了理论依据。

黄瓜花期的早晚是影响产量的一个因素。Lu等(2014)通过快速QTL定位鉴定了一个早花的候选基因*Efl.1*, 联合快速QTL定位和传统的QTL分析将*Efl.1*划分为890 kb的基因组区域, 在该区域鉴定出一个黄瓜基因*Csa1G651710*, 此基因是拟南芥中主要开花基因*FLOWERING LOCUS T (FT)*的同源物。对*Csa1G651710*表达水平分析发现早花基因型中表达显著提高, 由此得出基因*Csa1G651710*可能是黄瓜早期开花的候选基因。

黄瓜的雌花比例也是影响产量的重要因素之一。黄瓜性别表型受3类基因决定, 分别是F、M和A, 与其连锁的标记已被大量报道, 如: 与全雌性F位点紧密连锁的ACC合酶基因(*CS-ACSI*基因)标记(叶波平等2000), 与M基因连锁的SSR标记SSR19914 (3.2 cM)、SSR23487 (0.28 cM)、SCAR标记SCAR123 (0.94 cM) (时秋香等2009), SRAP标记ME23SA4 (17.8 cM)、SCAP标记SCAP123 (0.94 cM); 与强雌基因连锁的CAPS标记C-MT700 (向太和等2006)。周胜军等(2013)以全雌品系240-1-2-2-3-1自交系和弱雌品系3-5-1-3-2-1-1-1-2及其F₁、F₂、BC₁P₁和BC₁P₂世代为试验材料, 进行田间鉴定和遗传规律分析, 发现黄瓜性别表达由寡基因控制, 黄瓜全雌性相关基因遗传模型符合加性-显性-上位性遗传模型; 利用PCR技术和SSR分子标记方法, 通过亲本、F₂全雌和全雄基因池筛选, 从699对SSR引物组合中获得稳定的多态性引物组合2对, 即CSWCT25和SSR18956; 经回收、测序, 特异片段全长分别为331和145 bp, 与黄瓜全雌性基因的连锁距离分别为7.7和6.8 cM。

单性结实能力的强弱直接关系着黄瓜产量的

高低, 目前相关标记已被大量发掘。闫立英(2009)采用BSA法筛选了与黄瓜单性结实性连锁的AFLP分子标记, 引物E41/M47扩增出分子量约为325 bp的特异条带, 其与黄瓜非单性结实基因连锁, 遗传距离为9.7 cM; 王垒(2011)筛选了386对伴随黄瓜基因组计划完成而开发的SSR标记, 发现引物SSR22338在大多数F₂单性结实群体中有特异条带, 而大多数非单性结实中不存在特异条带, 故推测此引物可能与单性结实主效QTL连锁; 2013年春、秋, 武喆(2015)共检测到7个与单性结实相关的QTL, 其中Parthenocarp 2.1 (位于2号染色体上SS-R00684~SSR22083之间)被认为是控制黄瓜单性结实性状的主效QTL位点, 其他为微效位点。Guo等(2010)对两个近等基因系黄瓜花蕾WI1983G (雌性, 只带雌花)和WI1983H (只有双性花的雌雄同株)转录组测序鉴定出这两种不同性别花之间差异表达的表达序列标签(expressed sequence tags, ESTs)序列基因, 并发现了上千种SSR和SNP标记, 为未来的分子标记发展、功能基因组学分析和黄瓜育种提供了丰富的资源。

2.4 在抗逆方面

黄瓜的病害一般有霜霉病、白粉病、枯萎病等, 严重影响了黄瓜的品质, 进而使其产量下降, 商品价值受损, 因此各种病害相关基因连锁的标记开发成为人们研究的热点之一。丁国华等(2007)用感霜霉病黄瓜L18-10-2、抗霜霉病黄瓜129作为亲本, 利用RAPD技术和转SCAR的方法, 筛选出引物P18的SBSP18₅₆₁扩增片段与霜霉病抗病基因紧密连锁, 其遗传距离为7.85 cM, 并成功将其转换为SCAR标记; 张素勤等(2010)以K8和K18为试验黄瓜材料, 利用AFLP技术和BSA法, 对黄瓜霜霉病抗性基因进行研究, 得出E25M63-103标记与控制黄瓜霜霉病感病的基因连锁; 景然等(2011)以高抗和高感白粉病的黄瓜为亲本, 发现了1个SRAP分子标记Mel/Em9-284 bp与黄瓜抗白粉病基因连锁, 遗传距离为9.8 cM; 胡丽芳和刘世强(2014)总结了黄瓜的主要病害如白粉病、枯萎病、霜霉病、黑星病、炭疽病和病毒病、果实品质和营养生长相关的基因连锁的标记及遗传距离; Olczak-Woltman等(2009)通过研究鉴定了一个与抗叶斑病相关基因

连锁的RAPD标记OP-AO07, 遗传距离为13 cM。获得的分子标记对抗病基因的克隆和辅助选择育种在提高效率方面具有重要意义。

抗冷热胁迫方面, 李恒松等(2015)选取黄瓜耐冷型品系0839和低温敏感型品系B52为亲本, 对F₁和F₂苗期低温鉴定和遗传分析, 发现供试亲本的耐冷性主要受一对显性单基因控制; 结合BSA和SSR分子标记, 鉴定出与耐冷性基因连锁的分子标记SSR07248, 该标记与耐冷性基因间的遗传距离为32.6 cM。用耐高温自交系863-7和不耐高温自交系863-6构建F₂群体高温胁迫一个月后, 对8对SSR引物和71对SRAP引物组合多态性的标记进行群体分组分析和选择性基因型分析, 发现1个SSR标记和9个SRAP标记与黄瓜耐高温QTL连锁, 对表型的贡献率在6%~17%之间(陈飞雪等2008)。

2.5 在种质资源方面

分子标记广泛应用于黄瓜种质资源的多样性和特异性的鉴定上。吕婧等(2011)在黄瓜基因组连锁遗传图谱开发的995对备选SSR引物中, 综合挑选出23对多态性引物, 对30份黄瓜种质资源的遗传多样性进行分析, 验证挑选的23对引物具备高多态性; Miao等(2011)利用两个栽培黄瓜品种的SSR标记和148个RILs, 构建了黄瓜遗传图谱; 李斯更等(2013)以16份典型黄瓜种质检测134对插入缺失标记(insertion-deletion, InDel)引物的有效性, 116对引物具有多态性, 充分揭示了种质的多样性和特异性; 刘盼娜等(2015)对92份黄瓜核心种质进行苗期和初花期形态学标记分析, 结果苗期和初花期性状存在明显的遗传变异, 不同种质间各性状如子叶长、子叶宽、下胚轴长等的平均变异系数为31%, 此92份黄瓜核心种质有丰富的表型多样性。

2.6 在品种纯度鉴定方面

兰青阔等(2012)根据国际葫芦科基因组数据库CuGenDB中序列信息, 应用高分辨率熔解曲线技术筛选出用于黄瓜杂交种纯度鉴定的SNP位点CLA6 (A/G), 该位点在33个市售黄瓜品种中的多态信息量为0.401, 处于中度多态。结合焦磷酸测序技术, 建立基于CLA6位点的SNP-Pyrosequencing黄瓜杂交种纯度鉴定方法, 利用该方法检测黄瓜杂交种‘优一’90粒种子, 其纯度为96.7%。另以黄瓜

品种‘津优38’中InDel标记为研究对象,筛选能够区分‘津优38’父本、母本及其杂交种的[TT]缺失位点并检测8批种子样品,发现8批种子样品平均种子纯度为97.08%,与SSR鉴定结果(95.83%)基本相符(兰青阔等2011)。崔兴华等(2015)则采用SSR分子标记技术对黄瓜新品种‘津优401’种子的纯度鉴定结果进行比较,发现在备选的100对引物中有12对引物在亲本间出现多态性互补的条带,尤其引物N67和N87因其特异性强、条带清晰的特点以及与田间鉴定的高度吻合被选为鉴定‘津优401’黄瓜新品种种子纯度的标记引物,从而将以往该品种种子纯度鉴定的时间从2~3个月缩短到4~5 h。李海梅等(2015)根据黄瓜线粒体基因组序列筛选出在30份黄瓜品种中呈现特异性的SSR标记4对,选用2对引物mtSSR4和mtSSR10对4份人为掺假的黄瓜F₁种子进行纯度检测,结果显示黄瓜F₁种子的带型与父本的一致,可将掺入杂交组合中的假种子区分开。孙敏等(2003)从102条引物中筛选出了应用于黄瓜种子纯度鉴定的RAPD引物32条:13条偏母型引物、9条偏父型引物、5条互补型引物、2条特异型引物及3条缺失型引物。利用4条引物S293、S287、S297、S300鉴定3份黄瓜杂交种子的纯度为90.04%,还建立了黄瓜早青二号父本T03雄性系、早青二号母本B35雌性系以及其杂交种子的RAPD指纹图谱。

3 展望

分子标记作为继形态学标记、细胞学标记、生化标记等之后的新型标记技术,克服了基因互作、环境影响以及信息量小的缺点(孙振久等2006),在黄瓜育种上已被广泛应用。如顾兴芳等(2006)获得的与黄瓜苦味基因连锁的2个显性标记E23M66-101和E25M65-213,与*Bt*基因的遗传距离分别为5和4 cM,是国内外首次获得的AFLP标记;李宗扬等(2015)发现了与黄瓜苦味*Bt*基因更近的标记SSR12291和SSR02118,遗传距离分别为1.9和1.8 cM。随着分子生物学理论与技术的飞速发展,分子标记与目的基因的距离越来越近,越发有利于达到分子标记辅助选择应用的要求。与小麦(*Triticum aestivum*)、水稻(张林等2017)等作物相比,黄

瓜分子标记研究进程相对缓慢。高通量测序技术的发展和黄瓜全基因组测序的完成在培育黄瓜优良品种、改善黄瓜品质、增强黄瓜抗逆性等方面具有非常重要的意义。但是,还需要加强以下几方面的工作。

(1)大力开发新的标记基因,加强标记的整合。黄瓜各种性状分子标记的开发和运用,促使利用分子标记技术对优良基因进行聚合育种成为黄瓜育种未来新的发展方向。目前还没有一种分子标记拥有DNA标记的全部优点(宋常美和文晓鹏2005)。不同的分子标记有着不同的适用对象。如RFLP是应用最早的分子标记技术,适用于系统遗传学分析;SSR适宜于个体间遗传变异分析;RAPD、SSR、SNP适宜于基因组作图、种群遗传分析、家系鉴定等(闫华超等2006)。SNP标记在一定程度上优于第一代、第二代分子标记,能够准确地辨别一个位点的等位基因,但其位点不易开发,在多样性检测上会有一定的限制(饶龙兵2009)。但如今,第三代分子标记如SNP标记已在位点开发上有所进展(杨绪勤2014),今后要在此基础上加强与现已开发的标记的整合,提高其通用性。开发的分子标记尽管在不断增加,但较之于黄瓜整个生育期和不同类型,各性状的分子标记相对数量还是很少。目前,分子标记技术在黄瓜抗病育种方面的研究较多,今后也应加强其在抗逆境育种方面的应用,逐渐建立起高通量和高效的黄瓜多基因聚合分子育种技术。因此,大力开发和研究黄瓜各种性状的分子标记将对培育更多符合市场需求,兼具早熟性、高品质、抗病、抗逆和丰产、适用范围广的优质黄瓜具有促进作用。

(2)开发功能标记,克隆重要功能基因。对现已开发的黄瓜分子标记分析可以看出,在过去的几十年中,对黄瓜遗传图谱分子作图主要运用SSR、RFLP、AFLP和RAPD标记,这些遗传标记通常离目标基因有一定距离,使该类标记在育种方面的应用受到很大限制。但SNP标记能够准确地辨别一个位点的等位基因,伴随着黄瓜全基因组测序的完成,功能标记将成为黄瓜研究中最理想的遗传标记。基于功能性SNP位点,开发与基因功能相关的分子标记可以克隆获得更多重要的黄瓜功能

基因。关注研究的基因功能与黄瓜重要农艺性状的关系, 发掘调控目标性状的重要基因, 并通过基因工程、分子标记辅助选择育种等手段可培育优良黄瓜品种。

(3)拓宽种质资源, 加大遗传图谱利用率。可对野生种质资源和国外资源进行引进和充分利用, 创新种质, 并利用永久性群体如近等基因系(near isogenic lines, NIL)、RILs和双单倍体(doubled haploid, DH)群体来构建遗传图谱, 以解决遗传图谱难饱和、重要农艺性状的QTL定位不准确、试验稳定性和重复性差的问题。

(4)实现分子标记技术的自动化, 缩短育种年限。黄瓜大多数经济性状都为数量性状, 如产量、品质、抗病性等, 利用分子标记可以对多个基因进行分解分析, 快速寻找到与基因紧密连锁或共分离分子标记, 选择出抗病、优质品种和遗传材料, 促进目标基因在品种间的转移, 使得黄瓜种质资源的管理、利用和新品种的选育变得更加有效, 培育和育种年限缩短, 极大地加快黄瓜育种步伐。

参考文献(References)

- Bradbury LMT, Fitzgerald TL, Henry RJ, et al (2005). The gene for fragrance in rice. *Plant Biotechnol J*, 3: 363–370
- Bradbury LMT, Gillies SA, Brushett DJ, et al (2008). Inactivation of an aminoaldehyde dehydrogenase is responsible for the fragrance in rice. *Plant Mol Biol*, 68: 443–449
- Chen F, Zhang G, Qian W, et al (2008). Molecular markers linked to high temperature resistance QTLs in cucumber. *Acta Sci Nat Univ Nankaiensis*, 41 (4): 49–54 (in Chinese with English abstract) [陈飞雪, 张桂华, 钱文成等(2008). 与黄瓜耐高温QTL连锁的分子标记分析. 南开大学学报(自然科学版), 41 (4): 49–54]
- Chen QJ, Zhang HY, Wang YJ, et al (2010). Mapping and analyzing QTLs of yield-associated agronomic traits of greenhouse cucumbers. *Sci Agr Sin*, 43 (1): 112–122 (in Chinese with English abstract) [陈青君, 张海英, 王永健等(2010). 温室黄瓜产量相关农艺性状QTLs的定位. 中国农业科学, 43 (1): 112–122]
- Cui X, Han Y, Du S, et al (2015). Purity identification of cucumber new variety 'Jinyou 401' by SSR markers. *China Cucurbits Veget*, 28 (3): 38–39 (in Chinese with English abstract) [崔兴华, 韩毅科, 杜胜利等(2015). 黄瓜新品种‘津优401’种子纯度的SSR鉴定. 中国瓜菜, 28 (3): 38–39]
- Ding GH, Qin ZW, Zhou XY, et al (2007). A novel RAPD and SCAR marker of the resistant gene for Downy Mildew (*dm*) in cucumber. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*, 27 (9): 1747–1751 (in Chinese with English abstract) [丁国华, 秦智伟, 周秀艳等(2007). 黄瓜霜霉病抗病基因的RAPD及SCAR标记. 西北植物学报, 27 (9): 1747–1751]
- Dong S (2013). Genetic mechanism and gene mapping of glossy fruit skin in cucumber (dissertation). Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences (in Chinese with English abstract) [董邵云(2013). 黄瓜果皮光泽性状的遗传机制与基因定位(学位论文). 北京: 中国农业科学院]
- Fazio G, Chung SM, Staub JE (2003). Comparative analysis of response to phenotypic and marker-assisted selection for multiple lateral branching in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Theor Appl Genet*, 107: 875–883
- Gu X, Zhang S, Zhang S (2006). The AFLP makers linked with the bitter fruit gene (*Bt*) in cucumber. *Acta Hort Sin*, 33 (1): 140–142 (in Chinese with English abstract) [顾兴芳, 张素勤, 张圣平(2006). 黄瓜果实苦味 Bt 基因AFLP分子标记. 园艺学报, 33 (1): 140–142]
- Guan Y (2008). Mapping and cloning of related gene for fruit spines formation in cucumber (dissertation). Shanghai: Shanghai Jiao Tong University (in Chinese with English abstract) [关媛(2008). 黄瓜果刺形成相关基因的定位与克隆(学位论文). 上海: 上海交通大学]
- Guo S, Zheng Y, Joung JG, et al (2010). Transcriptome sequencing and comparative analysis of cucumber flowers with different sex types. *BMC Genomics*, 11: 384
- Guo Y (2003). Studies on the inheritance of the cucumber bitterness and AFLP molecular marker (dissertation). Harbin: Northeast Agricultural University (in Chinese with English abstract) [国艳梅(2003). 黄瓜苦味遗传规律研究及AFLP分子标记(学位论文). 哈尔滨: 东北农业大学]
- Hao L, Chen S, Liu L, et al (2013). Cluster analysis and principal components analysis of aroma components in different genotype cucumber fruits. *Acta Agr Boreal-Occident Sin*, 22 (5): 101–108 (in Chinese with English abstract) [郝丽宁, 陈书霞, 刘拉平等(2013). 不同基因型黄瓜果实香气组成的主成分分析和聚类分析. 西北农业学报, 22 (5): 101–108]
- Hu L, Liu S (2014). Research progress in cucumber molecular markers related to important agronomic character. *Chin Agr Bull*, 30 (1): 289–297 (in Chinese with English abstract) [胡丽芳, 刘世强(2014). 黄瓜重要性状相关分子标记研究进展. 中国农学通报, 30 (1): 289–297]
- Hu Y, Zhao S (2010). RAPD technology and its application on plant research. *Biotechnol Bull*, (5): 74–77 (in Chinese

- with English abstract) [胡裕清, 赵树进 (2010). RAPD 技术及其在植物研究中的应用. 生物技术通报, (5): 74–77]
- Huang TC, Teng CS, Chang JL, et al (2008). Biosynthetic mechanism of 2-acetyl-1-pyrroline and its relationship with Δ^1 -pyrroline-5-carboxylic acid and methylglyoxal in aromatic rice (*Oryza sativa* L.) callus. *J Agr Food Chem*, 56: 7399–7404
- Huang Y (2010). Progress of studies on the molecular markers. *J Grad Sun Yat-Sen Univ-Nat Sci Med*, 31 (2): 27–36 (in Chinese) [黄映萍(2010). DNA 分子标记研究进展. 中山大学研究生学刊(自然科学、医学版), 31 (2): 27–36]
- Jing R, Chen XJ, Zhu YQ, et al (2011). Identification of SRAP molecular markers linked to powdery mildew resistance in cucumber, 37 (4): 387–392 (in Chinese with English abstract) [景然, 陈新娟, 朱育强等(2011). 黄瓜白粉病抗性序列相关扩增多态性的分子标记研究, 37 (4): 387–392]
- Juwattanasomran R, Somta P, Chankaew S, et al (2011). A SNP in *GmBADH2* gene associates with fragrance in vegetable soybean variety “Kaori” and SNAP marker development for the fragrance. *Theor Appl Genet*, 122: 533–541
- Lan Q, Zhang G, Wang Y, et al (2011). Detecting seed purity quickly by InDel molecular of cucumber Jinyou-38. *Seed*, 30 (6): 19–23 (in Chinese with English abstract) [兰青阔, 张桂华, 王永等(2011). 基于InDel标记快速检测黄瓜津优38种子纯度. 种子, 30 (6): 19–23]
- Lan QK, Zhang GH, Wang Y, et al (2012). SNP-based molecular assay for cucumber hybrid seed purity identification by pyrosequencing. *China Veget*, (6): 58–63 (in Chinese with English abstract) [兰青阔, 张桂华, 王永等(2012). 基于SNP标记的黄瓜杂交种纯度鉴定方法. 中国蔬菜, (6): 58–63]
- Li H, Shen J, Zhao J, et al (2015). Development of mtSSR markers in cucumber (*Cucumis sativus* L.) and their application in the identification of seed purity. *J Nanjing Agr Univ*, 38 (5): 764–771 (in Chinese with English abstract) [李海梅, 沈佳, 赵娟等(2015). 黄瓜线粒体基因组SSR标记开发及其在种子纯度鉴定中的应用. 南京农业大学学报, 38 (5): 764–771]
- Li HS, Zhu WY, Peng JL, et al (2015). Inheritance analysis and screening of linked marker of chilling resistance in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *J Shanghai Jiaotong Univ-Agr Sci*, 33 (1): 14–18 (in Chinese with English abstract) [李恒松, 朱文莹, 彭佳林等(2015). 黄瓜耐冷性遗传分析与连锁标记筛选. 上海交通大学学报(农业科学版), 33 (1): 14–18]
- Li SG, Shen D, Liu B, et al (2013). Development and application of cucumber InDel markers based on genome re-sequencing. *J Plant Genet Resour*, 14 (2): 278–283 (in Chinese with English abstract) [李斯更, 沈锦, 刘博等(2013). 基于黄瓜基因组重测序的InDel标记开发及其应用. 植物遗传资源学报, 14 (2): 278–283]
- Li T (2006). The advancement of AFLP technology. *Chin J Biotechnol*, 22 (5): 861–865 (in Chinese with English abstract) [李韬(2006). AFLP标记技术的发展和完善. 生物工程学报, 22 (5): 861–865]
- Li Y (2008). SRAP markers linked to the green skin trait of cucumber (dissertation). Yangling: Northwest A&F University (in Chinese with English abstract) [李亚利(2008). 与黄瓜果皮绿色性状相关的SRAP分子标记(学位论文). 杨凌: 西北农林科技大学]
- Li Y, Jia J, Wang T (1999). Types of molecular markers and their development. *Biotechnol Bull*, (4): 19–22 (in Chinese with English abstract) [黎裕, 贾继增, 王天宇(1999). 分子标记的种类及其发展. 生物技术通报, (4): 19–22]
- 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
- Li Z, Qin Z, Zhou X, et al (2015). Genetic analysis and molecular mapping of fruit bitterness in cucumber. *Mol Plant Breed*, 13 (7): 1578–1583 (in Chinese with English abstract) [李宗扬, 秦智伟, 周秀艳等(2015). 黄瓜果实苦味性状遗传分析与分子标记. 分子植物育种, 13 (7): 1578–1583]
- Liang C, Li G (2001). Factors affecting the appearance quality of cucumber and preventive measures. *Inner Mongolia Agr Sci Technol*, (S1): 18 (in Chinese) [梁长宏, 李桂华(2001). 影响黄瓜外观品质的因素及防止措施. 内蒙古农业科技, (S1): 18]
- Liu CX, He QW, Fu MQ (2003). Study of flavor compounds of tomato and cucumber fruits. *J Shandong Agr Univ-Nat Sci*, 34 (2): 193–198 (in Chinese with English abstract) [刘春香, 何启伟, 付明清(2003). 番茄、黄瓜的风味物质及研究. 山东农业大学学报(自然科学版), 34 (2): 193–198]
- Liu LZ, Lin N (2004). Research advance of SSR (simple sequence repeat) in canola. *Chin Bull Life Sci*, 16 (3): 173–176 (in Chinese with English abstract) [刘列钊, 林呐(2004). 油菜简单重复序列SSR (simple sequence repeat)研究进展. 生命科学, 16 (3): 173–176]
- Liu M, Li YH, Xie LN (2013). Progress in QTL research for abiotic stress in rice. *Plant Physiol J*, 49 (12): 1301–1308 (in Chinese with English abstract) [刘鸣, 李玉花, 解莉楠(2013). 水稻非生物胁迫相关QTL研究进展. 植物生理学报, 49 (12): 1301–1308]

- Liu PN, Gu XF, Miao H, et al (2015). Genetic diversity analysis of seedling and early flowering stage morphological marker in cucumber core germplasm. *J Plant Genet Resour*, 16 (3): 472–478 (in Chinese with English abstract) [刘盼娜, 顾兴芳, 苗晗等(2015). 黄瓜核心种质遗传多样性的苗期和初花期形态标记分析. 植物遗传资源学报, 16 (3): 472–478]
- Liu SL, Gu XF, Miao H, et al (2014). Molecular mapping and candidate gene analysis of black fruit spine gene in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Sci Agr Sin*, 47 (1): 122–132 (in Chinese with English abstract) [刘书林, 顾兴芳, 苗晗等(2014). 黄瓜黑色果刺基因染色体定位及候选基因分析. 中国农业科学, 47 (1): 122–132]
- Lu H, Lin T, Joël Klein, et al (2014). QTL-seq identifies an early flowering QTL located near *Flowering Locus T* in cucumber. *Theor Appl Genet*, 127: 1491–1499
- Lü J, Shi QX, Ren Y, et al (2011). Screening and evaluation of 23 high polymorphism SSR markers in cucumber. *Acta Horti Sin*, 38 (11): 2140–2148 (in Chinese with English abstract) [吕婧, 时秋香, 任毅等(2011). 黄瓜23对高多态性SSR标记的筛选与评价. 园艺学报, 38 (11): 2140–2148]
- Luo B, Sun H, Xu G, et al (2013). Research progress of SSR molecular marker. *J Anhui Agr Sci*, 41 (12): 5210–5212, 5246 (in Chinese with English abstract) [罗兵, 孙海燕, 徐港明等(2013). SSR分子标记研究进展. 安徽农业科学, 41 (12): 5210–5212, 5246]
- Miao H, Gu XF, Zhang SP, et al (2012). Detection of quantitative trait loci for plant height in different environments using an RIL population in cucumber. *Sci Agr Sin*, 45 (22): 4552–4560 (in Chinese with English abstract) [苗晗, 顾兴芳, 张圣平等(2012). 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, Wang X, et al (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
- Murty DS, Nicodemus KD, House LR (1982). Inheritance of *Basmati* and dimpled seed in sorghum. *Crop Sci*, 22: 1080–1082
- Olczak-Woltman H, Bartoszewski G, Mądry W, et al (2009). Inheritance of resistance to angular leaf spot (*Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*) in cucumber and identification of molecular markers linked to resistance. *Plant Pathol*, 58: 145–151
- Pramnoi P, Somta P, Chankaew S, et al (2013). A single recessive gene controls fragrance in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *J Genet*, 92 (1): 147–149
- Rao LB (2009). Discussion on the key problems in the research of genetic diversity by molecular markers. *J Anhui Agr Sci*, 37 (15): 6904–6908 (in Chinese with English abstract) [饶龙兵(2009). 利用分子标记开展遗传多样性研究中的关键问题探讨. 安徽农业科学, 37 (15): 6904–6908]
- Ren G (2013). The research on genetic transformation of tuberculate fruit gene *Tu* in cucumber (*Cucumis sativus* L.) and gene mapping of non-lateral-branch gene *nlb* in cucumber (*Cucumis sativus* L.) (dissertation). Shanghai: Shanghai Jiao Tong University (in Chinese with English abstract) [任国良(2013). 黄瓜果瘤基因*Tu*的遗传转化研究及黄瓜无侧枝基因*nlb*的初步定位(学位论文). 上海: 上海交通大学]
- Shang Y, Ma Y, Zhou Y, et al (2014). Biosynthesis, regulation, and domestication of bitterness in cucumber. *Science*, 346 (6213): 1084–1088
- Shi QX, Liu SQ, Li Z, et al (2009). Three co-dominant markers linked to M gene in *Cucumis sativus*. *Acta Horti Sin*, 36 (5): 737–742 (in Chinese with English abstract) [时秋香, 刘世强, 李征等(2009). 与黄瓜M基因连锁的三个共显性标记. 园艺学报, 36 (5): 737–742]
- Song CM, Wen XP (2005). Application and advance of molecular markers in horticultural plants. *J Mount Agr Biol*, 24 (5): 442–447 (in Chinese with English abstract) [宋常美, 文晓鹏(2005). 分子标记在园艺植物上的应用与研究进展. 山地农业生物学报, 24 (5): 442–447]
- Sun H, Qin Z, Zhou X, et al (2010). Genetic analysis and molecular localization of the fruit diameter in cucumber. *Chin Agr Bull*, 26 (20): 38–42 (in Chinese with English abstract) [孙洪涛, 秦智伟, 周秀艳等(2010). 黄瓜果实横径的遗传分析及分子标记. 中国农学通报, 26 (20): 38–42]
- Sun M, Qiao A, Wang H, et al (2003). The purity identification of cucumber (*Cucumis sativus* L.) hybrid with RAPD markers. *J Southwest China Norm Univ-Nat Sci*, 28 (1): 103–107 (in Chinese) [孙敏, 乔爱民, 王和勇等(2003). 黄瓜杂交种子纯度的RAPD鉴定. 西南师范大学学报(自然科学版), 28 (1): 103–107]
- Sun ZJ, Wang YJ, Zhang X (2006). Progress in molecular marker-assisted breeding of cucumber. *Acta Bot Boreali-Occident Sin*, 26 (6): 1290–1294 (in Chinese with English abstract) [孙振久, 王亚娟, 张显(2006). 黄瓜分子标记辅助育种研究进展. 西北植物学报, 26 (6): 1290–1294]
- Tang L, Xiao C, Wang W (2012). Research and application progress of SNP markers. *Chin Agr Sci Bull*, 28 (12): 154–158 (in Chinese with English abstract) [唐立群, 肖层林, 王伟平(2012). SNP分子标记的研究及其应用进展. 中国农学通报, 28 (12): 154–158]
- Wang G, Qin Z, Zhou X, et al (2007). Genetic analysis and SSR markers of tuberculate trait in *Cucumis sativus*. *Chin*

- Bull Bot, 24 (2): 168–172 (in Chinese with English abstract) [王桂玲, 秦智伟, 周秀艳等(2007). 黄瓜果瘤的遗传及SSR标记. 植物学通报, 24 (2): 168–172]
- Wang L (2011). Isolation, expression, SSR marker analysis of genes related to parthenocary of cucumber (dissertation). Nanjing: Nanjing Agricultural University (in Chinese with English abstract) [王垒(2011). 黄瓜单性结实相关基因的分离、表达及SSR标记分析(学位论文). 南京: 南京农业大学]
- Weng Y, Johnson S, Staub JE, et al (2010). An extended inter-varietal microsatellite linkage map of cucumber, *Cucumis sativus* L. HortScience, 45 (6): 882–886
- Wu ML, Chou KL, Wu CR, et al (2009). Characterization and the possible formation mechanism of 2-acetyl-1-pyrroline in aromatic vegetable soybean (*Glycine max* L.). J Food Sci, 74: 192–197
- Wu Z (2015). QTL mapping and candidate gene screening of parthenocary in cucumber (dissertation). Nanjing: Nanjing Agricultural University (in Chinese with English abstract) [武喆(2015). 黄瓜单性结实性状的QTL定位及候选基因筛选(学位论文). 南京: 南京农业大学]
- Xiang T, Wang L, Pang J, et al (2006). Development of SNP marker and CAPS marker linked to ACC synthase gene in different sexual phenotypes of cucumber. Progr Biochem Biophys, 33 (4): 362–367 (in Chinese with English abstract) [向太和, 王利琳, 庞基良等(2006). 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. 生物化学与生物物理进展, 33 (4): 362–367]
- Xin D, Si J, Kou L (2017). Postharvest exogenous melatonin enhances quality and delays the senescence of cucumber. Acta Horti Sin, 44 (5): 891–901 (in Chinese with English abstract) [辛丹丹, 司金金, 寇莉萍(2017). 黄瓜采后外源褪黑素处理提高品质和延缓衰老的研究. 园艺学报, 44 (5): 891–901]
- Xu C, Zhao BH (2009). The development and application of SRAP molecular markers, (7): 24–27 (in Chinese with English abstract) [徐操, 赵宝华(2009). SRAP分子标记的研究进展及其应用. 生命科学仪器, (7): 24–27]
- Yan H, Gao L, Li G (2006). Development and application of molecular marker technology. Bull Biol, 41 (2): 17–20 (in Chinese) [闫华超, 高岚, 李桂兰(2006). 分子标记技术的发展及应用. 生物学通报, 41 (2): 17–20]
- Yan L (2009). Studies on physiological and genetic analysis and molecular markers of parthenocary in cucumber (*Cucumis sativus* L.) (dissertation). Nanjing: Nanjing Agricultural University (in Chinese with English abstract) [闫立英(2009). 黄瓜单性结实性生理和遗传分析及分子标记研究(学位论文). 南京: 南京农业大学]
- Yang L, Liu H, Zhao J, et al (2018). *LITTLELEAF* (*LL*) encodes a WD40 repeat domain-containing protein associated with organ size variation in cucumber. Plant J, doi: 10.1111/tpj.13991
- Yang S, Wen C, Liu B, et al (2018). A *CsTu-TSI* regulatory module promotes fruit tubercle formation in cucumber. Plant Biotechnol J, doi: 10.1111/pbi.12977
- Yang SJ, Miao H, Zhang SP, et al (2011). Genetic analysis and mapping of *gl-2* gene in cucumber (*Cucumis sativus* L.). Acta Horti Sin, 38 (9): 1685–1692 (in Chinese with English abstract) [杨双娟, 苗晗, 张圣平等(2011). 黄瓜无毛基因 $gl-2$ 的遗传分析和定位. 园艺学报, 38 (9): 1685–1692]
- Yang X (2014). Mapping and functional analyses of the tuberculate fruit gene *Tu* and the dull fruit skin gene *D* in cucumber (dissertation). Shanghai: Shanghai Jiao Tong University (in Chinese with English abstract) [杨绪勤(2014). 黄瓜果瘤和果实无光泽性状基因的定位与功能分析(学位论文). 上海: 上海交通大学]
- Ye BP, Bai SN, Cao ZX (2000). ACC synthase gene (*ACSG*) as a possible molecular marker for female lines in cucumber. Acta Bot Sin, 42 (7): 765–766 (in Chinese with English abstract) [叶波平, 白书农, 曹宗巽(2000). ACC合酶基因(*ACSG*)可能是黄瓜雌性系的分子标记. 植物学报, 42 (7): 765–766]
- Yong J, Li Y, Meng Y, et al (2013). The simple sequence repeat (SSR) and sequence-tagged sites (STS) markers linked to the compact gene (*cp*) in cucumber (*Cucumis sativus* L.). J Agr Biotechnol, 21 (10): 1152–1158 (in Chinese with English abstract) [雍建朋, 李玉红, 孟永娇等(2013). 黄瓜矮生基因(*cp*)连锁的简单重复序列(SSRs)和序列标签位点(STS)标记. 农业生物技术学报, 21 (10): 1152–1158]
- Yundaeng C, Somta P, Tangphatsornruang S, et al (2015). A single base substitution in *BADH/AMADH* is responsible for fragrance in cucumber (*Cucumis sativus* L.), and development of SNAP markers for the fragrance. Theor Appl Genet, 128 (9): 1881–1892
- Zhang L, Leng B, Ma B, et al (2017). Crop genomic breeding. Plant Physiol J, 53 (8): 1325–1332 (in Chinese with English abstract) [张林, 冷冰, 马斌等(2017). 作物基因组育种. 植物生理学报, 2017, 53 (8): 1325–1332]
- Zhang P (2009). Mapping quantitative traits loci and proteomics studies on bending of cucumber fruit (dissertation). Harbin: Northeast Agricultural University (in Chinese with English abstract) [张鹏(2009). 黄瓜果实弯曲性QTL定位及蛋白质组差异研究(学位论文). 哈尔滨: 东北农业大学]
- Zhang S, Miao H, Sun R, et al (2013). Localization of a new gene for bitterness in cucumber. J Hered, 104 (1): 134–139

- Zhang SQ, Gu XF, Zhang SP, et al (2010). Tagging a downy mildew resistance related gene in cucumber using AFLP marker. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*, 30 (7): 1320–1324 (in Chinese with English abstract) [张素勤, 顾兴芳, 张圣平等(2010). 黄瓜霜霉病抗性相关基因AFLP标记. *西北植物学报*, 30 (7): 1320–1324]
- Zhang T, Qu S, Cui C (2009). Application of SRAP in genetics and breeding of vegetable crops. *J Northeast Agr Univ*, 40 (1): 119–122 (in Chinese) [张彤, 屈淑平, 崔崇士(2009). SRAP标记在蔬菜作物遗传育种中的应用. *东北农业大学学报*, 40 (1): 119–122]
- Zhang W, He H, Guan Y, et al (2010). Identification and mapping of molecular markers linked to the tuberculate fruit gene in the cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Theor Appl Genet*, 120: 645–654
- Zhao P (2011). Genetic analysis of carpopedium length in cucumber and identification of its quantitative trait loci (dissertation). Harbin: Northeast Agricultural University (in Chinese with English abstract) [赵鹏(2011). 黄瓜瓜把长度的遗传分析及其QTL定位研究(学位论文). 哈尔滨: 东北农业大学]
- Zhou S, Zhang P, Zhu Y, et al (2013). Identification of SSR marker linked to gynocious loci in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *J Zhejiang Univ-Agr Life Sci*, 39 (3): 291–298 (in Chinese with English abstract) [周胜军, 张鹏, 朱育强等(2013). 与黄瓜全雌性基因连锁的SSR分子标记. *浙江大学学报(农业与生命科学版)*, 39 (3): 291–298]

Application of molecular markers in gene localization of cucumber (*Cucumis sativus*) agronomic traits

LI Li-Bin^{1, #}, NIU Jia-Yu^{2, #}, WANG Yong-Qiang¹, YANG Zong-Hui¹, YANG Gui-Lan¹, HOU Li-Xia¹, LIU Shu-Mei¹, CAO Qi-Wei^{1, *}, MENG Zhao-Juan^{1, *}

¹Vegetable and Flower Research Institute of Shandong Academy of Agricultural Sciences; Shandong Branch of National Vegetable Improvement Center; Key Laboratory of Greenhouse Vegetable Biology of Shandong Province; Vegetable Science Observation and Experiment Station in Huang-Huai region of Ministry of Agriculture (Shandong), Jinan 250100, China

²College of Food Science and Engineering, Shandong Agriculture and Engineering University, Jinan 250100, China

Abstract: Molecular marker is a new technique after morphological, cytological and biochemical markers. With the rapid development of molecular biology, the technique has been widely used in vegetable breeding. This article summarizes the concept and classification of molecular markers, including the principle, advantages and disadvantages of typical marker techniques, and details of their application in recent years in the gene mapping of cucumber appearance, quality, yield and gynocious, adversity resistance, germplasm resources identification as well as seed purity test. Finally, the application of molecular markers in gene mapping and assisted selection was prospected.

Key words: molecular marker; cucumber; appearance quality; agronomic traits; gene localization

Received 2018-09-17 Accepted 2019-01-01

This work was supported by the China Agriculture Research System (CARS-23-G14), Agricultural Science and Technology Innovation Project of Shandong Academy of Agricultural Sciences (CXGC2018E08), and Shandong Provincial Agricultural Seeds Project (2017LZGC013).

#Co-first authors.

*Co-corresponding authors: Meng ZJ (mengzhaojuan1@163.com), Cao QW (caoqiwei2004@sina.com).