

菜瓜 × 马泡瓜遗传连锁图谱构建及果实相关性状 QTL 分析

王晨晖, 栾非时*, 高 鹏*, 刘 识, 解志强

(东北农业大学园艺园林学院, 农业农村部东北地区园艺作物生物学与种质创制重点实验室, 哈尔滨 150030)

摘 要: 试验用果实相关性状差异显著的两个亲本, 菜瓜 (*Cucumis melo* ssp. *melo* var. *flexuosus*) 品系 M4-75 (长型、肉厚) 为母本和马泡瓜 (*C. melo* ssp. *agrestis*) 品系 X207 (小果、圆形、肉薄) 为父本, 进行基因组重测序, 并以此双亲配制 F₂ 群体, 进行 CAPS 标记的开发、遗传连锁图谱的构建和甜瓜果实相关性状的 QTL 分析。共筛选出 180 对具有多态性的引物, 并得到一张遗传连锁图谱, 该图谱包含 165 个 CAPS 标记、12 个连锁群, 覆盖基因组长度 1 019.81 cM, 标记间平均距离为 6.18 cM。试验结果表明甜瓜果实相关性状均为数量性状, 并检测到与之相关的 QTL 共 14 个, 分布在第 1、2、3、4、5、6、7、10 和 11 连锁群上, LOD 值介于 2.67~9.63, 可解释 7.60%~35.18% 的表型变异率, 其中果实形状相关位点有 9 个, 果肉厚度相关位点有 3 个, pH 相关位点有 2 个。

关键词: 甜瓜; 果实长度; CAPS 标记; 遗传连锁图谱; QTL

中图分类号: S 652

文献标志码: A

文章编号: 0513-353X (2019) 12-2347-12

Construction of Melon Genetic Linkage Map and QTL Analysis of Fruit Related Traits in Snake Melon × Wild Type Melon Genetic Background

WANG Chenhui, LUAN Feishi*, GAO Peng*, LIU Shi, and XIE Zhiqiang

(College of Horticulture and Landscape Architecture, Northeast Agricultural University; Ministry of Agriculture Key Laboratory of Biology and Germplasm Enhancement of Horticultural Crops in Northeast China, Harbin 150030, China)

Abstract: Based on the importance on the fruits related traits on melon production, QTLs locus linked with the fruits related traits in melon was analyzed in this paper. F₂ populations obtained from Snake melon (*Cucumis melo* L.) 'M4-75' and wild type melon (*Cucumis melo* L.) 'X207' as parents were used as materials. Cleaved amplified polymorphic sequence (CAPS) markers were developed to construct a genetic linkage map and detect the QTLs (quantitative trait locus) related with fruit traits in melon based on the parental genome re-sequencing data. As the results, totally 180 CAPS markers were screened which showed polymorphism between parents and for the genetic linkage map construction. Finally, the map contained 165 markers and grouped into 12 linkage groups corresponded to the 12 chromosomes in melon, spanning a total length of 1 019.81 cM, with an average of 6.18 cM between markers. Meanwhile, fruits related traits (fruit shape, flesh thickness and flesh pH) in melon were all quantitative traits. Totally

收稿日期: 2019-06-11; 修回日期: 2019-11-08

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); 国家自然科学基金项目 (31772331)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: luanfeishi@neau.edu.cn, gaopeng_neau@163.com)

14 QTLs associated with the traits were detected which distributed among Chromosome 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 10, 11. The *LOD* (log of odds) score ranged from 2.67 to 9.63, which could explain the phenotypic variation rate of 7.60% - 35.18%. Nine QTLs related with fruit shape, 3 QTLs for flesh thickness and 2 QTLs for flesh pH.

Keywords: melon; fruit length; CAPS marker; genetic linkage map; QTL

甜瓜 (*Cucumis melo* L.) 果实形状、体积、质量等性状是构成甜瓜果实品质的重要因素, 从而影响其商品性 (Zalapa et al., 2007)。另外, 甜瓜具有较高的遗传多态性, 果实变异类型丰富 (Stepansky et al., 1999; Burger et al., 2010)。近年来, 研究者不仅在甜瓜田间栽培及生理方面 (李静媛 等, 2006; Dantas et al., 2011; Verzera et al., 2014) 获得进展, 同时也对甜瓜果实性状开展了遗传规律研究以及 QTL 分析 (Paris et al., 2008; 白立华 等, 2010; Harel-Beja et al., 2010; 王贤磊 等, 2011; 张雪娇 等, 2013)。Diaz 等 (2014) 以印度甜瓜品种 PI 1124112 和西班牙甜瓜品种 PS 为亲本, 配制 F_2 群体, 共检测到 10 个与果实长度、直径和果形相关的 QTL, 3 个性状中均检测到贡献率较大的 QTL。Yael 等 (2002) 以 F_2/F_3 群体为作图群体, 获得一张包含 70 个与甜瓜果皮条纹、果肉 pH 值等果实性状相关标记的遗传连锁图谱。Wang 等 (2016) 以甜瓜品系 ‘TARI-08874’ 和 ‘Bai-li-gua’ 为亲本, 获得 1 张基因组覆盖长度为 626.1 cM、平均图距为 8.3 cM 的遗传连锁图谱, 并检测到 19 个果实性状相关的 QTL。张宁等 (2014) 以 ‘0246’ 和 ‘Y101’ 两亲本构建的 6 世代为基础, 证明了甜瓜果实纵径、横径和果形指数均受主基因 + 多基因共同控制, 且 F_2 群体中控制各性状的主基因的遗传率均在 70% 以上。Périn 等 (2002) 用甜瓜品系 ‘PI 161375’ 和 ‘PI 414723’ 分别与甜瓜品系 ‘Ve’drantais’ 构建重组自交系群体, 检测到 4 个与果实品质相关的 QTL, 表明果形性状为数量性状, 果实长度对果形起到主要影响作用。虽然前人取得了大量研究进展, 但至今, 仍有许多重要性状定位遗传距离较远, 部分甜瓜果实相关性状遗传机理未明确。随着分子生物学的发展, 分子标记技术也得到了更多应用 (李利斌 等, 2019), 现有的 CAPS 等数十种分子标记被广泛应用于基因定位、基因克隆等方面。在高通量测序基础上开发 CAPS 分子标记, 构建遗传图谱, 进行相关性状 QTL 分析, 可使基因定位更为精确, 更深入了解相关性状的遗传机制, 能够为品种选育提供参考以加快作物育种进程 (Yan et al., 2013)。

本研究中在果实差异性性状较大的菜瓜品系 M4-75 和马泡瓜 X207 为亲本的遗传背景下, 实现 SNP (single nucleotide polymorphism) 到 CAPS 标记的转化, 并构建遗传连锁图谱, 对本试验研究的甜瓜果实长度、宽度、果形指数、果肉厚度和果肉 pH 进行遗传效应分析及相关位点定位, 以期所得图谱可以被利用到与其他图谱的整合, 使甜瓜遗传图谱更加饱和, 信息更为完整, 为甜瓜分子标记辅助育种提供参考信息。

1 材料与方法

1.1 材料

母本材料 (P_1) 为中晚熟菜瓜 (*Cucumis melo* ssp. *melo* var. *flexuosus*) 品系 M4-75。菜瓜又称蛇甜瓜, 原产于土耳其、阿富汗和伊朗, 主要分布于摩洛哥至印度和地中海北部海岸, 在中国亦有种植, 果实棒状, 浅绿色。M4-75 来源于巴基斯坦, 果肉黄白色, 单果质量、种子均较大, 果实长圆形, 果皮青绿色, 表面无网纹, 植株强健。

父本材料 (P₂) 为早中熟圆形马泡瓜 (*C. melo* ssp. *agrestis*) 品系 X207。马泡瓜又称杂草甜瓜, 分布于中亚、东南亚及中国, 植株纤细, 果实小、近球形, 果肉极薄。X207 来源于中国, 果肉白色, 果实圆形, 果形和种子均较小, 果皮薄, 黄绿色, 表面无网纹。

两亲本配制杂交组合获得 F₁ 代, F₁ 代自交获得 F₂ 分离群体。

1.2 方法

1.2.1 田间试验

田间试验于东北农业大学向阳实验实习基地进行, 采用随机区组设计。2017 年 5 月—8 月, 种植 P₁、P₂、F₁ 代各 45 株, 每个小区种植 15 株, 3 次重复; 随机种植 F₂ 代用于分子标记及分析, 其中 93 株用于遗传图谱的构建与 QTL 分析。分株编号, 株行距 0.35 m × 0.5 m, 吊蔓栽培, 双蔓整枝, 定植后从每株的第 2 朵雌花开始授粉, 每株一果, 进行统一田间管理。授粉 35 ~ 45 d 后, 待果实成熟即对 P₁、P₂、F₁ 及 F₂ 分离群体进行采摘收获和田间性状调查。

1.2.2 分子试验

2017 年 9 月—2018 年 11 月, 在苗期分别采集 P₁、P₂、F₁ 及 F₂ 干净的幼嫩真叶 2 g, P₁、P₂、F₁ 各世代单独采样, F₂ 群体各单株单独编号, 采样时分袋保存并注明编号, 以免混淆, 置于 - 80 °C 冰箱以备提取 DNA。采用改良的 CTAB 法提取基因组 DNA (Luan et al., 2008)。使用 1% 琼脂糖凝胶电泳对 DNA 样品的浓度和质量进行检测, 并将合格的双亲材料 DNA 样品送至深圳华大基因研究院进行基因组重测序。

将质量检测合格的父、母本 DNA 进行高通量基因组重测序, 基于重测序所得数据, 在 Linux 系统下开展生物信息学分析, 使用 BWA (Burrows-Wheeler Aligner) 软件将按严格标准过滤掉测序质量低及包含有测序接头读段从而得到的高质量读段, 比对回帖到甜瓜参考基因组中。使用 SAMTOOLS 软件在全基因组范围内检测两亲本间 SNP 位点, 提取 SNP 位点前后约 500 bp 碱基序列作为候选 SNP 位点序列。然后用 SNP2CAPS 软件分析序列, 再结合 7 种限制性内切酶 (*Bam*H I、*Pst* I、*Eco*R I、*Xho* I、*Xba* I、*Hind*III 和 *Hinf* I) 对序列作酶切位点分析, 从而实现 SNP 位点向 CAPS 分子标记的转化。在甜瓜全基因组范围内均匀选取 940 个 CAPS 位点, 利用 Primer Premier 6 软件设计引物, 所选取序列范围为酶切位点上下游约 100 ~ 500 bp, 退火温度 (55 ± 5) °C, GC% 为 40% ~ 60%, 引物长度 20 ~ 30 bp。引物命名原则: 酶切位点所在染色体号 + 引物编号 + 限制性内切酶缩写。

按 1:49 的体积比稀释引物母液后, 利用 P₁、P₂ 及 F₁ 的 DNA, 通过降落 PCR 扩增反应、限制性内切酶的消化和 1% 琼脂糖凝胶电泳筛选及验证 CAPS 标记。PCR 扩增体系参照张法惺等 (2010) 的: 2 μL 模板 DNA, 2 μL 引物 (上、下游引物各 1 μL), 0.2 μL *Taq* 酶, 0.3 μL dNTPs, 2 μL *Taq* Buffer, 13.5 μL 超纯水。采用降落式 PCR 扩增程序: 94 °C 预变性 7 min, 94 °C 变性 1 min, 60 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 90 s, 30 个循环, 每个循环降 0.5 °C, 94 °C 变性 1 min, 45 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 90 s, 72 °C 终止延伸 7 min。PCR 产物用 1% 琼脂糖凝胶电泳检验质量, 合格后进行酶切反应, 酶切体系具体为: 5 μL PCR 扩增产物, 0.3 μL 限制性内切酶 (10 U · μL⁻¹, THERMO), 1.5 μL 限制性内切酶缓冲液, 8.3 μL 超纯水。酶切反应在恒温箱内进行, 具体反应温度根据不同限制性内切酶最适反应温度而定, 反应时间 2 h (束永俊 等, 2010)。酶切产物用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测, 并用凝胶成像系统保存结果。利用筛选出的具有多态性的 CAPS 引物, 以上述相同方法对 F₂ 群体的 DNA 进行 PCR 扩增、酶切反应及 1% 琼脂糖凝胶电泳, 并记录条带结果, 从而对 F₂ 群体进行基因分型。

授粉后 35 ~ 45 d, 采摘 P₁、P₂、F₁ 及 F₂ 群体中成熟果实, 每株 1 果, 分株编号, 参照《甜瓜种

质资源描述规范和数据标准》(马双武和刘君璞, 2006), 进行农艺性状调查。每个性状严格按照要求测量 3 次, 并取平均值。

(1) 果实长度: 果实纵切面从基部边缘到顶部边缘之间的最大距离; (2) 果实宽度: 果实纵切面与果实纵轴垂直方向两边缘之间最大距离; (3) 果形指数: 成熟果实长度与宽度的比值; (4) 果肉厚度: 成熟果实纵切面上、中、下, 3 个部位外果皮到种腔壁之间距离的平均值; (5) 果肉 pH: 用 pH 计测量。

使用 Microsoft Excel 2003 软件录入田间数据, 利用 SPSS 22.0 软件对果实相关性状的数据进行分析, 包括主要果实性状的频次直方图的绘制, 差异显著性分析, 相关性分析, 均值、标准差、峰度等常规描述统计。

利用筛选出的具有多态性的 CAPS 引物对 F_2 群体进行基因分型, 用 Microsoft Excel 2003 软件统计凝胶电泳图像条带结果, 用“A”、“B”分别表示母本和父本的带型, “H”表示杂合带型, “-”表示缺失或模糊带型。

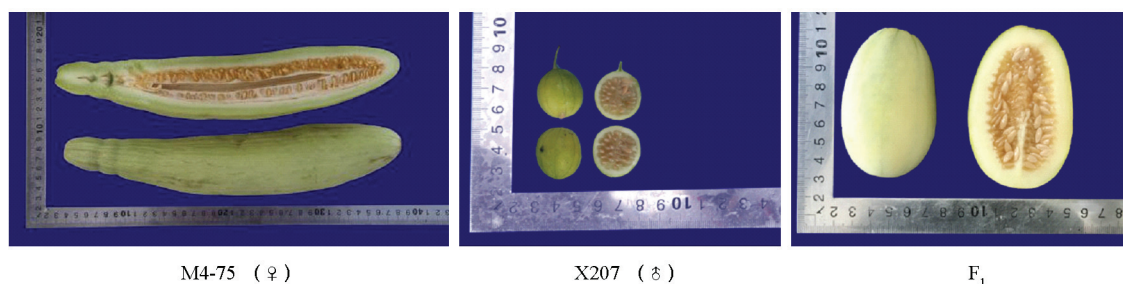
根据分子标记数据, 利用 QTL IciMappingV3.3 软件绘制遗传连锁图谱。依据 CAPS 分子标记在染色体上的编号及与连锁群的对应关系, 依次将连锁群命名为 Chromosome 1 ~ Chromosome 12。结合各果实性状的表型数据和绘制出的遗传连锁图谱, 使用 QTL IciMappingV3.3 软件对 F_2 群体进行 QTL 分析, 利用置换测验进行 1 000 次重复, 结合复合区间作图法 (CIM, Composite Interval Mapping), 以 1.0 cM 为步长扫描全基因组, 以显著性最高位置作为 QTL 位置。QTL 命名方式: 性状英文缩写 + 连锁群号 + QTL 编号。

2 结果与分析

2.1 甜瓜果实相关性状表型分析

如图 1 和表 1 所示, 母本 M4-75 的果实各个性状均与父本 X207 存在显著性差异。在果实形状方面, 母本 M4-75, 果实为长圆形; 父本 X207 果实为近圆形; F_1 果实长度、宽度均介于双亲之间。

在 F_2 群体中, 果实长度为 4.60 ~ 28.90 cm; 果实宽度最小为 2.80 cm, 最大为 9.70 cm; 果形指数介于 1.21 ~ 3.87 之间, 既有亲本类型的近圆形和长圆形, 也存在两者之间的过渡类型。果实长度、宽度及果形指数变异幅度均较大, 而且与两亲本相比, 果实宽有超亲遗传的现象发生, 分离趋势均基本符合连续正态分布 (图 2, a、b、c 所示), 表明果实长度、宽度及果形指数均受多个基因共同控制, 为数量性状, 可作进一步 QTL 分析。



M4-75 (♀)

X207 (♂)

 F_1 图 1 甜瓜双亲及 F_1 代果实Fig. 1 Melon fruits of parents and F_1

表 1 甜瓜主要果实性状在亲本和 F₁ 及 F₂ 群体的分离情况
Table 1 The separation of the main melon fruit traits among parents, F₁ and F₂ groups

性状 Trait	双亲及 F ₁ 均值 Parents and F ₁ mean			F ₂			
	M4-75 (♀)	X207 (♂)	F ₁	均值 + 标准差 Mean ± SD	范围 Range	峰度 Kurtosis	偏度 Skewness
果实长度/cm Fruit length	39.74 ± 1.06 a	3.20 ± 0.15 c	7.84 ± 0.73 b	10.68 ± 3.62	4.60 ~ 28.90	1.83	1.05
果实宽度/cm Fruit width	9.64 ± 0.70 a	2.72 ± 0.22 c	5.52 ± 0.34 b	5.02 ± 1.13	2.80 ~ 9.70	1.66	1.05
果肉厚度/mm Flesh thickness	19.94 ± 1.49 a	1.90 ± 0.22 c	10.20 ± 1.64 b	9.08 ± 3.48	2.00 ~ 23.00	0.96	0.90
果形指数 Fruit shape index	4.14 ± 0.35 a	1.19 ± 0.13 c	1.42 ± 0.09 b	2.10 ± 0.42	1.21 ~ 3.87	0.99	0.77
果肉 pH Fruit pH	5.00 ± 0.25 a	3.70 ± 0.31 b	3.84 ± 0.11 b	4.06 ± 0.35	3.80 ~ 5.40	2.60	1.67

注：同行后同一指标不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。
Note: Different letters of the same index in the same row indicate significant differences at 0.05 level.

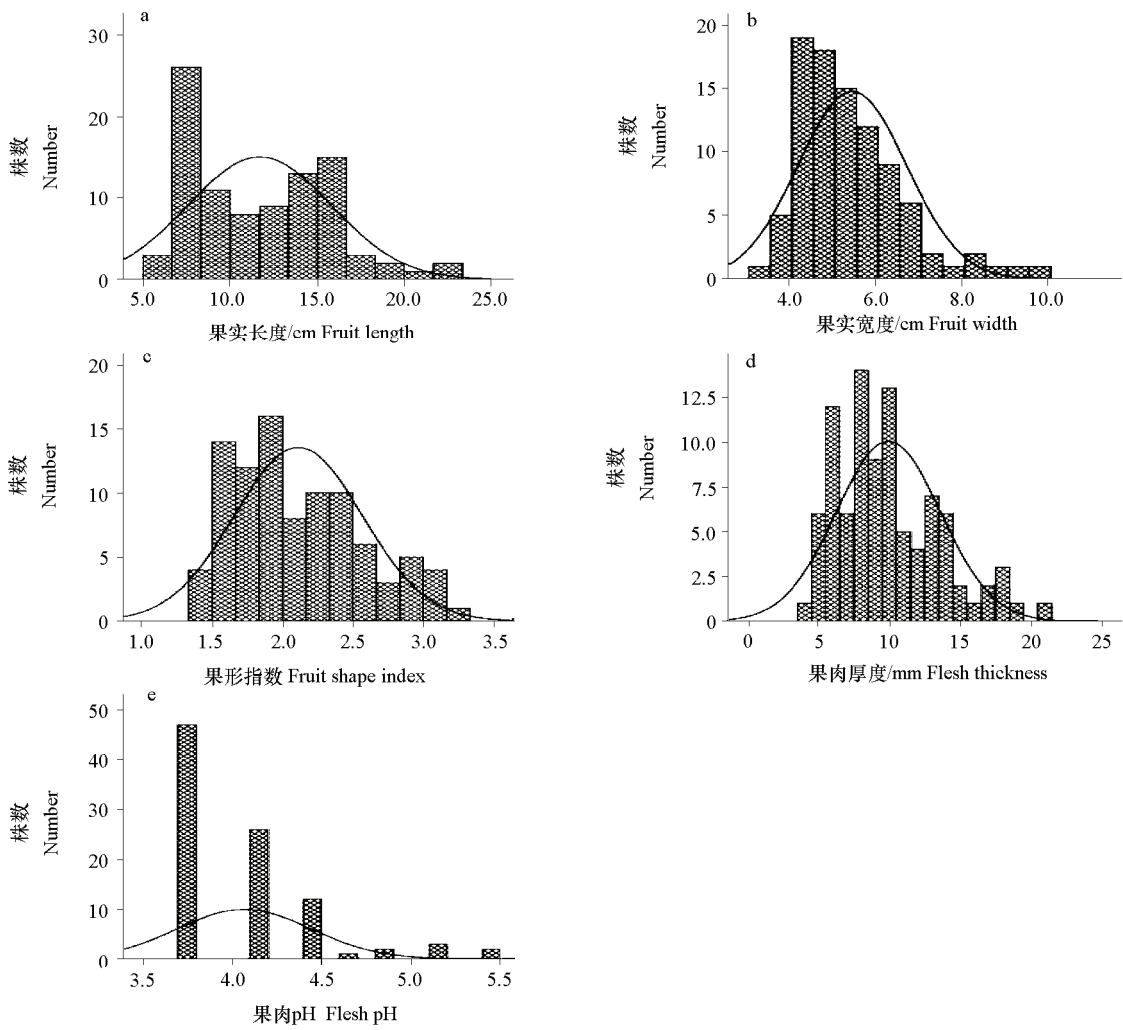


图 2 甜瓜 F₂ 群体果实相关性状频次分布图
Fig. 2 Histogram for the melon fruit traits of F₂ population

在果肉厚度方面，母本 M4-75 为 19.94 mm，父本 X207 为 1.90 mm，F₁ 为 10.20 mm，介于双亲之间。在 F₂ 群体中，果肉厚度分离范围为 2.00 ~ 23.00 mm，最高值出现超亲现象，整体呈连续正态分布（如图 2，d 所示）。说明果肉厚度是数量性状，其表达受多个基因共同控制，且可进行 QTL 分析。

在果肉 pH 方面，母本 M4-75 为 5.00，父本 X207 为 3.70，F₁ 为 3.84，与父本差异不显著。在 F₂ 果实中，pH 分布在 3.80 ~ 5.40，且最高值出现超亲现象。

各性状的相关性分析结果（表 2）显示，除果实宽度与果肉 pH 不存在相关性外，其余各果实相关性状之间均存在极显著相关性，且均为极显著正相关。

表 2 甜瓜果实相关性状的的相关性分析					
Table 2 Correlation analysis of fruits related traits in melon					
性状 Trait	果实长度 Fruit length	果实宽度 Fruit width	果肉 pH 值 Flesh pH	果肉厚度 Flesh thickness	果形指数 Fruit shape index
果实长度 Fruit length	1.000				
果实宽度 Fruit width	0.818**	1.000			
果肉 pH 值 Flesh pH	0.156**	0.079	1.000		
果肉厚度 Flesh thickness	0.694**	0.779**	0.181**	1.000	
果形指数 Fruit shape index	0.741**	0.241**	0.170**	0.294**	1.000

***P* < 0.01.

2.2 DNA 的提取和引物多态性筛选

采用改良 CTAB 法提取 P₁、P₂、F₁ 及构图群体的基因组 DNA，并用 1%的琼脂糖凝胶电泳进行质量检测，电泳结果如图 3 所示，各单株 DNA 基本均含有少量蛋白质、RNA 等杂质，无明显降解现象，其质量可用于分子标记检测，其浓度和纯度均可用于 CAPS 分子标记。

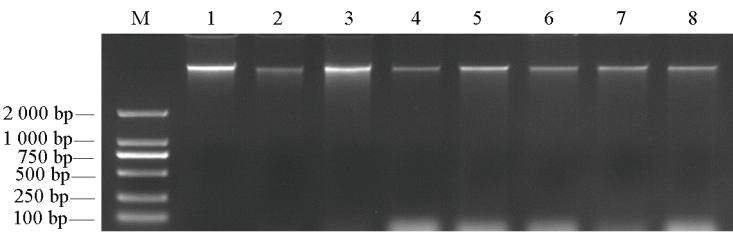


图 3 甜瓜基因组 DNA
M: Marker; 泳道 1 ~ 8 表示部分单株 DNA。
Fig. 3 Genomic DNA of melon
M: Marker; Lane 1 to 8 stand for the DNAs from individuals of P₁, P₂ and F₁.

在甜瓜全基因组范围内均匀选取 940 个酶切位点，利用 Primer Premier 6 软件设计引物，用 940 对引物对双亲、F₁ 代的 DNA 进行 PCR 反应和酶切反应，图 4 为部分引物经 PCR 和酶切反应后产物电泳条带。此过程共筛选出亲本间有多态性的引物 180 对，多态率为 19.1%。引物命名原则：酶切位点所在染色体序号 + 引物序号 + 限制性内切酶缩写。

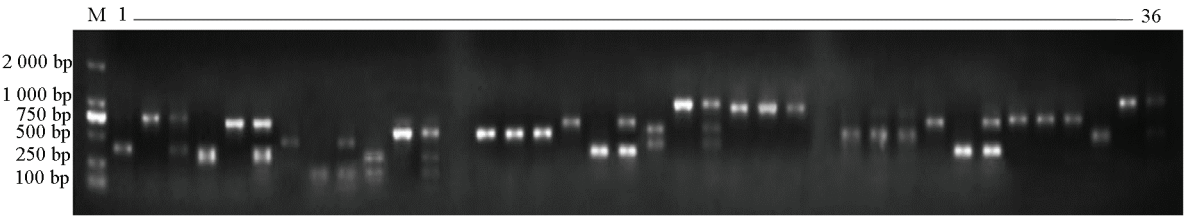


图 4 CAPS 标记在亲本及 F₁ 代间多态性表现

M: 表示 Marker; 泳道 1~36 表示部分具有多态性的 CAPS 引物在 P₁、P₂ 及 F₁ 代中的基因分型结果。

Fig. 4 Polymorphism of CAPS markers among parents and F₁ generation

M: Marker; Lane 1 to 36 stand for the genotyping results of some polymorphism CAPS markers among P₁, P₂ and F₁ generation.

2.3 遗传连锁图谱的构建

将筛选出的 180 对引物全部用于 F₂ 群体的基因分型,图 5 为标记 *2-54-BA* 在部分 F₂ 中的基因分型情况。删除在图谱中与大部分标记遗传距离较远和未能与其他标记拼接在一起的标记,利用 QTL IciMappingV3.3 软件对剩下的 165 个多态性标记作连锁分析,构建了一张包含 165 对分子标记和 12 个连锁群(分别对应甜瓜的 12 条染色体)的遗传连锁图谱,覆盖基因组长度 1 019.81 cM,标记间平均距离为 6.18 cM,将连锁群依次命名为 Chromosome 1~Chromosome 12,连锁群长度介于 39.03~122.65 cM(表 3)。

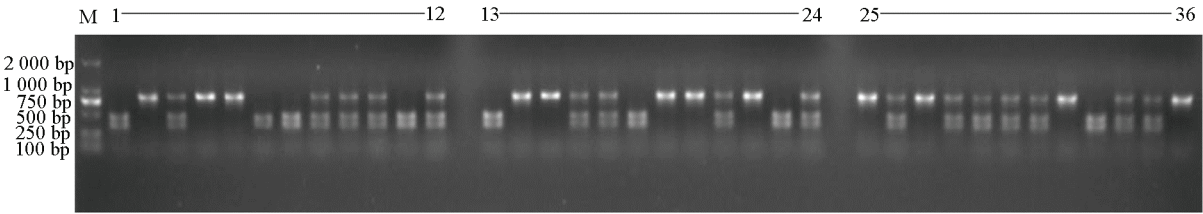


图 5 CAPS 标记 *2-54-BA* 在部分 F₂ 群体中的多态性

M: Marker; 泳道 1、2 和 3 分别表示父本、母本及 F₁ 代酶切后带型,泳道 4~36 表示部分 F₂ 代单株的基因分型结果。

Fig. 5 Polymorphism of CAPS marker *2-54-BA* in part of F₂ population

M: Marker; Lane 1, 2 and 3 stands for the restriction enzyme cutting results of P₁, P₂ and F₁ generation. Lane 4 to 36 stands for the genotyping results in partial F₂ individuals.

表 3 CAPS 标记在遗传连锁图谱中的分布

Table 3 Distribution of CAPS markers in genetic linkage map

连锁群 No. chromosome	标记数量 Number of marker	长度/cM Genetic distance	标记间平均 距离/cM Average distance between marker	连锁群 No. chromosome	标记数量 Number of marker	长度/cM Genetic distance	标记间平均 距离/cM Average distance between marker
1	12	55.06	4.59	7	12	98.36	8.20
2	14	118.92	8.49	8	14	122.65	8.76
3	12	78.01	6.50	9	12	46.58	3.88
4	14	119.52	8.54	10	14	67.81	4.84
5	18	68.40	3.80	11	15	39.03	2.60
6	16	117.46	7.34	12	12	88.01	7.33
总计 Total	165	1 019.81	6.18				

其中 11 号连锁群最短 (39.03 cM), 平均图距也最小 (2.60 cM), 分布有 15 个分子标记; 8 号连锁群最长 (122.65 cM), 同时平均图距也最大, 分布有 14 个分子标记。包含标记最多的是 Chromosome 5, 包含 18 个标记, 标记间平均距离为 3.80 cM, 包含标记最少的分别为 1、3、7、9 和 12 号连锁群, 各包含 12 个标记 (表 3, 图 6)。

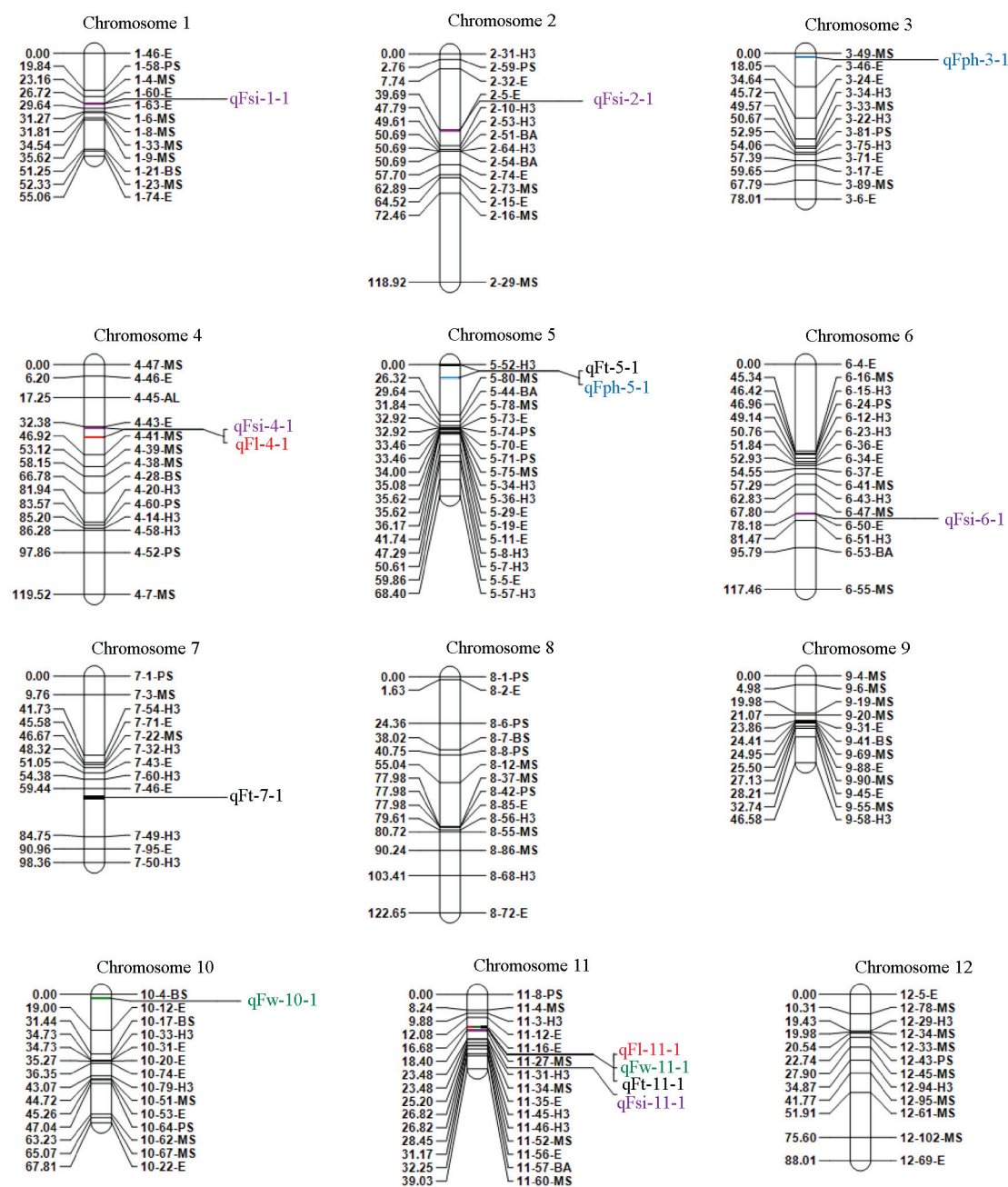


图 6 甜瓜遗传连锁图谱及主要果实性状 QTL

Fig. 6 Genetic linkage map and QTLs for the main fruit traits in melon

2.4 甜瓜果实相关性状的 QTL 分析

利用 QTL IciMappingV3.3 软件, 采用复合区间作图法, 结合 F₂ 群体的田间表型数据, 对所构建的遗传连锁图谱进行 QTL 扫描, 结果如表 4 所示。共获得控制 5 个性状的 14 个 QTL, 分布于连锁群 Chromosome 1、2、3、4、5、6、7、10 和 11 连锁群上, 其中 Chromosome 11 包含 4 个, Chromosome 4 和 Chromosome 5 各包含 2 个。不同性状 QTL 存在成簇分布的现象, 连锁群 Chromosome 4 的 4-43-E 和 4-41-MS 两个标记之间同时存在分别与果实长度及果形指数相关的 2 个 QTL (Ft4.1 和 Fsi4.1); 与果肉厚度、pH 相关的 2 个 QTL, Ft5.1 和 Fph5.1 均定位在第 5 连锁群上的标记 5-52-H3 和 5-80-MS 之间; 而连锁群 Chromosome 11 的 11-16-E 和 11-27-MS 两标记间则同时存在分别和果实长度、果实宽度及果肉厚度相关的 3 个 QTL, Ft11.1、Fw11.1 和 Ft11.1。

表 4 甜瓜果实相关性状 QTL 遗传效应分析
Table 4 Genetic effects of QTL for the fruit related traits in melon

性状 Trait	QTL	连锁群 Chromosome	相邻标记 Adjacent markers	标记区间 Markers interval	图谱位置 Position	LOD	加性效应 Additive effect	贡献率/% PVE
果实长度 Fruit length	Ft4.1	4	4-43-E/4-41-MS	32.38 ~ 46.92	38.00	4.20	2.13	15.63
	Ft11.1	11	11-16-E/11-27-MS	16.68 ~ 18.40	17.00	7.99	2.82	27.49
果实宽度 Fruit width	Fw10.1	10	10-4-BS/10-12-E	0 ~ 19.00	2.00	4.76	0.66	16.58
	Fw11.1	11	11-16-E/11-27-MS	16.68 ~ 18.40	17.00	9.63	0.87	35.18
果肉厚度 Flesh thickness	Ft5.1	5	5-52-H3/5-80-MS	0 ~ 26.32	0	3.08	- 1.39	8.89
	Ft7.1	7	7-46-E/7-49-H3	59.44 ~ 84.75	64.00	3.15	1.88	12.62
	Ft11.1	11	11-16-E/11-27-MS	16.68 ~ 18.40	17.00	7.00	2.02	23.11
果形指数 Fruit shape index	Fsi1.1	1	1-60-E/1-63-E	26.72 ~ 29.64	27.00	4.44	0.23	13.26
	Fsi2.1	2	2-5-E/2-10-H3	39.69 ~ 47.79	40.00	3.69	0.19	10.63
	Fsi4.1	4	4-43-E/4-41-MS	32.38 ~ 46.92	33.00	4.40	0.21	13.03
	Fsi6.1	6	6-47-MS/6-50-E	67.80 ~ 78.18	78.00	3.66	0.21	10.65
	Fsi11.1	11	11-27-MS/11-31-H3	18.40 ~ 23.48	19.00	2.67	0.17	7.60
果肉 pH Flesh pH	Fph3.1	3	3-49-MS/3-46-E	0 ~ 18.05	2.00	3.20	0.21	11.85
	Fph5.1	5	5-52-H3/5-80-MS	0 ~ 26.32	7.00	4.53	- 0.18	19.52

果实长度方面, 共获得 2 个 QTL (Ft4.1 及 Ft11.1), 分别位于连锁群 Chromosome 4 和 Chromosome 11 上, 其加性效应值分别为 2.13 和 2.82, 对果实长度均表现为增加强加性效应。其中 Ft11.1 位于连锁群 Chromosome 11 的 11-16-E 和 11-27-MS 两标记之间, 与两端标记的最近遗传距离为 0.32 cM, 可解释表型变异率为 27.49%, 为主效 QTL; Ft4.1 位于连锁群 Chromosome 4 的 4-43-E 和 4-41-MS 两个标记之间, 距两侧标记最近的遗传距离为 5.62 cM, 可解释表型变异率为 15.63%。

果实宽度方面, 共获得 2 个 QTL (Fw10.1 和 Fw11.1), 其加性效应分别为 0.66 和 0.87, 对果实宽度均起到增加作用, LOD 值分别为 4.76 和 9.63。其中 Fw11.1 位于连锁群 Chromosome 11 的 11-16-E 和 11-27-MS 两标记之间, 距离侧翼标记的最近遗传距离为 0.32 cM, 可解释表型变异为 35.18%, 为主效 QTL; Fw10.1 位于连锁群 Chromosome 10 的 10-4-BS 和 10-12-E 两标记之间, 距离侧翼标记的最近距离为 2.00 cM, 可解释表型变异为 16.58%。

果形指数方面定位到相关 QTL 共计 5 个 (Fsi1.1、Fsi2.1、Fsi4.1、Fsi6.1 和 Fsi11.1), 分别位于连锁群 Chromosome 1、2、4、6 和 11 上。其中贡献率为 13.26% 的主效 QTL *Fsi1.1* 位于连锁群 Chromosome 1 上 1-60-E 和 1-63-E 标记之间, 与两标记间的距离分别为 0.28 和 2.64 cM。Fsi11.1 定位在连锁群 Chromosome 11 上, 贡献率为 7.60%, 低于 10%, 为 5 个 QTL 中最小。这 5 个位点贡献率累计达 55.17%, 并且均与其相对应的两端标记中的一侧标记紧密连锁, 距离均小于 1 cM。并在

连锁群 Chromosome 4 的标记 4-43-E 和 4-41-MS 之间同时获得了果形指数和果实长度相关位点。

果肉厚度方面, 获得相关 QTL 3 个 (Ft5.1、Ft7.1、Ft11.1), 其中 Ft11.1 贡献率为 23.11%, 且 *LOD* 值在 5.0 以上, 为主效 QTL, 距离侧翼标记的最近遗传距离为 0.32 cM。并发现该位点与果实长度位点 Ft11.1 以及果实宽度位点 Fw11.1 位置一致, 结合表 2 显示果实长度、宽度及果肉厚度三者呈极显著相关, 表示可能存在一因多效现象。Ft5.1 与 Ft7.1 贡献率分别为 8.89% 和 12.62%, 为微效 QTL。Ft5.1 为负向加性效应, Ft7.1 和 Ft11.1 为正向加性效应。

在果肉 pH 方面, 共定位到 2 个 QTL (Fph3.1 和 Fph5.1), 其中定位在连锁群 Chromosome 5 上的 QTL 位点 Fph5.1 两端标记为 5-52-H3 和 5-80-MS, 贡献率较大, 达 19.52%, 为主效 QTL, 且其加性效应为负; 另一个位点 Fph3.1 位于连锁群 Chromosome 3 的两标记 3-49-MS 和 3-46-E 之间, 贡献率为 11.85%, 其加性效应为正。位点 Fph5.1 和与果肉厚度相关位点 Ft5.1 均位于标记 5-52-H3 和 5-80-MS 之间。

3 讨论

亲本的遗传背景影响着所构建的遗传图谱适用范围以及复杂程度。前人已经利用了各种类型的甜瓜品系作为试验材料构建了多套遗传连锁图谱。本研究运用了前人未曾使用过的甜瓜类型组合, 即利用菜瓜和马泡瓜作为亲本材料配制杂交组合。本试验所用两甜瓜品系 M4-75 和 X207 的果实长度、宽度、果形指数、果肉厚度和果肉 pH 方面具有显著差异, 这种差异有利于相关 QTL 的开发。

试验共检测到 14 个与果实相关性状关联的 QTL, 解释表型变异从 7.60% (果形指数 Fsi11.1) 到 35.18% (果实宽度 Fw11.1)。各连锁群上 QTL 分布不均, 较多聚集在 Chromosome 11 上。研究表明甜瓜果实长度、宽度、果形指数、果肉厚度和 pH 属于多基因控制的数量性状。栾非时等 (2017) 利用 ms-5 和 HM-1 两甜瓜品系为亲本材料, 获得了 1 个与果实长度相关的 QTL, 位于第 2 连锁群; 定位到 3 个与果实宽度相关位点, 位于第 6、7 连锁群; 定位到 7 个与果形指数相关 QTL, 分别位于连锁群 LG2、LG4、LG6 和 LG7, 其中位于连锁群 LG2 的 FS2.1、连锁群 LG4 上的 FS4.1、连锁群 LG6 上的 FS6.1 和 FS6.2 的贡献率分别为 8.71%、3.38%、5.72% 和 2.68%。而在本研究中, 检测到 2 个与果实长度相关的 QTL, 分别位于第 4、11 号染色体上; 2 个与果实宽度相关的位点, 分别位于第 10、11 号连锁群上; 以及 5 个果形指数相关位点, 分别位于第 1、2、4、6、11 号连锁群上, 其中位于连锁群 2、4 以及 6 上的 Fsi2.1、Fsi4.1 和 Fsi6.1 的贡献率分别为 10.63%、13.03%、10.65%, 这 3 个 QTL 所在染色体虽与栾非时等 (2017) 的研究结果一致, 但经物理图谱上位置的比较, 所在区段与其研究结果均无共同区间, 距离较远, 该结果可能是由于本试验选用的亲本材料较为特殊, 从而导致新位点的发掘。盛云燕等 (2016) 采用植物数量性状主基因—多基因混合模型对甜瓜果实果肉厚度等作遗传分析表明, 果肉厚度受 1 对主基因控制。本试验中共发现 3 个与果肉厚度有关位点 (Ft5.1、Ft7.1、Ft11.1), 分别位于连锁群 5、7 和 11 上, 贡献率分别为 23.11%、12.62% 和 8.89%, 说明果肉厚度受一个主效基因和多个微效基因控制, 这与盛云燕等 (2016) 的果肉厚度受一对主效基因控制的研究结果一致。

前人研究表明, 甜瓜果实不同性状的 QTL 会出现在相同连锁群甚至相同区域, 表现出一因多效的效应, 这种现象在甜瓜果实性状 QTL 分析中常有发生, 而通过相关性分析发现, 相关性越高的性状之间越有可能出现这种现象。Ramamurthy 等 (2015) 在连锁群 8 上同时定位了与甜瓜果实长度、宽度、果形指数、单果质量、果肉厚度等相关 QTL, 本试验结果也出现不同性状 QTL 存在成

簇分布的现象, 例如连锁群 11 上的相邻区间 11-16-E-11-27-MS-11-31-H3 中集中分布了 4 个 QTL, 分别与甜瓜果实长度、宽度、果形指数和果肉厚度 4 个性状相关联, 在连锁群 Chromosome 4 的标记 4-43-E 和 4-41-MS 之间同时检测到了果实长度和果形指数的 QTL 位点, 这 4 个性状的相关性分析结果表明它们之间呈极显著相关 ($P < 0.01$), 且分布位置较近的 QTL 具有相同方向的加性效应。有学者认为这种现象的发生与基因多因一效和一因多效遗传机制有关 (Zhang et al., 1994; Sandlin et al., 2012)。

References

- Bai Li-hua, Liu Yan, Sun Xi-mei, Guo Hong-qiang, Liu Hong, Zhang Yong-mei. 2010. Preliminary study on the inheritance of main fruit traits of thick-skinned melon. *Int J Genet*, 33 (4): 149-153. (in Chinese)
- 白立华, 刘 艳, 孙喜梅, 郭宏强, 刘 虹, 张永梅. 2010. 厚皮甜瓜果实主要性状遗传规律的初步研究. *国际遗传学杂志*, 33 (4): 149 – 153.
- Burger Y, Paris H S, Cohen R, Katzir N, Tadmor Y, Lewinsohn E. 2010. Genetic diversity of *Cucumis melo*. *Horticultural Reviews*: 165 – 198.
- Dantas D D C, José Francimar Medeiros, Alcione Guimarães Freire. 2011. Produção e qualidade do meloeiro cultivado com filmes plásticos em respostas à lâmina de irrigação. *Revista Ciência Agronômica*, 42 (3): 652 – 661.
- Díaz Aurora, Belkacem Z, Mohamed F, Iban E, Álvarez José M, Picó Belén, Antonio J M. 2014. Mapping and introgression of QTL involved in fruit shape transgressive segregation into ‘Piel de Sapo’ melon (*Cucumis melo* L.). *PLoS ONE*, 9 (8): e104188.
- Harel-Beja R, Tzuri G, Portnoy V, Lotan-Pompan M, Lev S, Cohen S. 2010. A genetic map of melon highly enriched with fruit quality QTLs and est markers, including sugar and carotenoid metabolism genes. *Theoretical and Applied Genetics*, 121 (3): 511 – 533.
- Li Jing-yuan, Jiao Zi-gao, Yu Xian-chang, Dong Yu-mei, Wang Chongqi. 2006. Physiological characteristics of thick-skinned melon in the middle and late stages of fruit development in solar greenhouse. *Chinese Vegetables*, (10): 13 – 16. (in Chinese)
- 李静媛, 焦自高, 于贤昌, 董玉梅, 王崇启. 2006. 日光温室厚皮甜瓜果实发育中后期植株生理特性. *中国蔬菜*, (10): 13 – 16.
- Li Li-bin, Niu Gui-yu, Wang Yong-qiang, Yang Zong-hui, Hou Li-xia, Liu Shu-mei, Cao Qi-wei, Meng Zhao-juan. 2019. Application of molecular markers in gene localization of cucumber (*Cucumis sativus*) agronomic traits. *Plant Physiology Journal*, 55 (1): 1 – 13. (in Chinese)
- 李利斌, 牛佳玉, 王永强, 杨宗辉, 杨桂兰, 侯丽霞, 刘淑梅, 曹齐卫, 孟昭娟. 2019. 分子标记技术在黄瓜农艺性状基因定位上的应用. *植物生理学报*, 55 (1): 1 – 13.
- Luan F, Delannay I, Staub J E. 2008. Chinese melon (*Cucumis melo* L.) diversity analyses provide strategies for germplasm curation, genetic improvement, and evidentiary support of domestication patterns. *Euphytica*, 164 (2): 445 – 461.
- Luan Fei-shi, Jiao Shi-qi, Sheng Yun-yan, Zhu Zi-cheng. 2017. Mapping of QTL for fruit traits in melon. *Journal of Northeast Agricultural University*, 48 (3): 1 – 9. (in Chinese)
- 栾非时, 矫士琦, 盛云燕, 朱子成. 2017. 甜瓜果实相关性状 QTL 分析. *东北农业大学学报*, 48 (3): 1 – 9.
- Ma Shuang-wu, Liu Jun-pu. 2006. Standards for describing melon germplasm resources and data standards. Beijing: China Agriculture Press. (in Chinese)
- 马双武, 刘君璞. 2006. 甜瓜种质资源描述规范和数据标准. 北京: 中国农业出版社.
- Paris M K, Zalapa J E, McCreight J D, Staub J E. 2008. Genetic dissection of fruit quality components in melon (*Cucumis melo* L.) using a RIL population derived from Exotic × Elite US Western Shipping germplasm. *Molecular Breeding*, 22 (3): 405 – 419.
- Périn C, Hagen L, Giovinozzo N, Besombes D, Dogimont C, Pitrat M. 2002. Genetic control of fruit shape acts prior to anthesis in melon (*Cucumis melo* L.). *Molecular Genetics & Genomics*, 266 (6): 933 – 941.
- Ramamurthy R K, Waters B M. 2015. Identification of fruit quality and morphology QTLs in melon (*Cucumis melo* L.) using a population derived from *Flexuosus* and *Cantalupensis* botanical groups. *Euphytica*, 204 (1): 163 – 177.
- Sandlin K, Prothro J, Heesacker A, Khalilian N, Okashah R, Xiang W. 2012. Comparative mapping in watermelon [*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. et Nakai]. *Theoretical and Applied Genetics*, 125 (8): 1603 – 1618.

- Sheng Yun-yan, Chen Ke-nong, Wu Shi-qi, Dai Dong-yang. 2016. Genetic analysis of fruit traits in F_2 population of muskmelon. Northern Horticulture, (7): 9 - 12. (in Chinese)
- 盛云燕, 陈克农, 矫士琦, 戴冬洋. 2016. 甜瓜 F_2 代群体果实性状的遗传分析. 北方园艺, (7): 9 - 12.
- Shu Yong-jun, Li Yong, Wuna La-hu, Bai Xi, Cai Hua, Ji Wei. 2010. Excavation and identification of EST-SNP from soybean and development of its CAPS markers. Journal of Crop Science, 36 (4): 574 - 579. (in Chinese)
- 束永俊, 李 勇, 吴娜拉胡, 柏 锡, 才 华, 纪 巍. 2010. 大豆 EST-SNP 的挖掘、鉴定及其 CAPS 标记的开发. 作物学报, 36 (4): 574 - 579.
- Stepansky A, Kovalski I, Perl-Treves R. 1999. Intraspecific classification of melons (*Cucumis melo* L.) in view of their phenotypic and molecular variation. Plant Systematics and Evolution, 217 (3 - 4): 313 - 332.
- Verzera A, Dima G, Tripodi G, Conduro C, P Crinò, Romano D. 2014. Aroma and sensory quality of honeydew melon fruits (*Cucumis melo* L. subsp. *melo* var. *inodorus* H. Jacq.) in relation to different rootstocks. Scientia Horticulturae, 169 (11): 118 - 124.
- Wang Xian-lei, Gao Xing-wang, Li Guan, Wang Hui-lin, Geng Shou-dong, Kang Feng. 2011. Construction of genetic map and QTL analysis of fruits and seeds of melon. Heredity, 33 (12): 1398 - 1408. (in Chinese)
- 王贤磊, 高兴旺, 李 冠, 王惠林, 耿守东, 康 锋. 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.
- Wang Y H, Wu D H, Huang J H, Tsao S J, Hwu K K, Lo H F. 2016. Mapping quantitative trait loci for fruit traits and powdery mildew resistance in melon (*Cucumis melo* L.). Botanical Studies, 57 (1): 19.
- Yael D P, Yaakov T, Galil T, Noa R, Joseph H, Nurit K. 2002. Construction of a genetic map of melon with molecular markers and horticultural traits, and localization of genes associated with ZYMV resistance. Euphytica, 125 (3): 373 - 384.
- Yan T, Nimmakayala P, Levi A, Reddy U K. 2013. Map-based molecular diversity, linkage disequilibrium and association mapping of fruit traits in melon. Molecular Breeding, 31 (4): 829 - 841.
- Zalapa J E, Staub J E, McCreight J D, Chung S M, Cuevas H. 2007. Detection of QTL for yield-related traits using recombinant inbred lines derived from exotic and elite US western shipping melon germplasm. Theoretical & Applied Genetics, 114 (7): 1185.
- Zhang Fa-xing, Luan Fei-shi, Sheng Yun-yan. 2010. SSR analysis of genetic diversity of watermelon germplasm resources of different ecological types. Chinese Vegetables, (14): 36 - 43. (in Chinese)
- 张法惺, 栾非时, 盛云燕. 2010. 不同生态类型西瓜种质资源遗传多样性的 SSR 分析. 中国蔬菜, (14): 36 - 43.
- Zhang Ning, Zhang Xian, Zhang Yong, Ma Jian-xiang, Yang Xiao-zhen, Liu Xiao-hui, Ji Yin-hua, Wang Yong-qi, Liu Chang-ming, Xian Feng, Mo Yan-ling. 2014. Genetic analysis of fruit traits in melon distant populations. Northwest Agricultural Journal, 23 (5): 121 - 128. (in Chinese)
- 张 宁, 张 显, 张 勇, 马建祥, 杨小振, 刘晓辉, 计银花, 王永琦, 刘长命, 咸 丰, 莫言玲. 2014. 甜瓜远缘群体果实性状遗传分析. 西北农业学报, 23 (5): 121 - 128.
- Zhang X, Rhodes B, Wang M. 1994. Genes controlling watermelon seed size. Cucurbitaceae, 94: 144 - 147.
- Zhang Xue-jiao, Gao Peng, Luan Fei-shi. 2013. QTL analysis of fruit-related traits of melon. Chinese Vegetables, (18): 35 - 41. (in Chinese)
- 张雪娇, 高 鹏, 栾非时. 2013. 甜瓜果实相关性状 QTL 分析. 中国蔬菜, (18): 35 - 41.