

莲子产量相关性状的 QTL 定位

刘正位¹, 郭丹丹^{1,2}, 彭 静¹, 朱红莲¹, 匡 晶¹, 季 群¹, 王直新¹,
丁 毅^{3,*}, 柯卫东^{1,*}

(¹武汉市农业科学院, 武汉 430070; ²华中农业大学园艺林学学院, 武汉 430070; ³武汉大学生命科学学院, 武汉 430072)

摘 要: 以中国长江流域圆柱形莲子资源‘中间湖野莲’为母本, 泰国圆球形莲子资源‘清迈野莲’为父本, 构建了含 86 个单株的 F₂ 遗传群体。2017 和 2018 年对亲本及群体黑子期莲子长、莲子宽、单粒质量、开花数、心皮数、饱粒数等 6 个莲子产量相关性状进行了表型鉴定, 利用 197 个 SSR 标记对亲本及 F₂ 单株进行基因分型, 结合表型和基因型数据对相关性状进行了 QTL 定位和分析。结果表明: 莲子产量相关性状在 F₂ 群体中均呈近正态连续分布, 表明均为多基因控制的数量性状。6 个莲子产量相关性状共检测到 28 个 QTL 位点, 分布在 7 条连锁群上, LOD 值变幅为 2.55 ~ 12.34, 可解释 5.5% ~ 27.4% 表型变异率。贡献率 ≥ 10 的 QTL 位点有 25 个, 占 QTL 总数的 89.29%。黑子期莲子长(*bsl1*), 莲子宽(*bsw6*)、开花数(*fn4.1*, *fn5*) 可在两年被稳定检测到, 贡献率变幅为 7.33% ~ 17.6%。

关键词: 莲; 莲子; 产量性状; QTL 定位

中图分类号: S 645.1

文献标志码: A

文章编号: 0513-353X (2020) 08-1565-12

QTL Mapping of Six Seed Yield Related Traits in Lotus

LIU Zhengwei¹, GUO Dandan^{1,2}, PENG Jing¹, ZHU Honglian¹, KUANG Jing¹, JI Qun¹, WANG Zhixin¹,
DING Yi^{3,*}, and KE Weidong^{1,*}

(¹Wuhan Academy of Agricultural Sciences, Wuhan 430070, China; ²College of Horticulture and Forestry, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China; ³College of Life Sciences, Wuhan University, Wuhan 430072, China)

Abstract: In this study, a F₂ population of lotus including 86 individuals was constructed with the cylindrical type accession ‘Middle Lake Wild Lotus’ and spherical type ‘Chiang Mai Wild Lotus’ as female and male parents, respectively. By combining the phenotypic identification of the F₂ individuals and the parents in 2017 and 2018 with the genotyping by 197 SSR markers, QTL mapping of six yield-related traits (i.e., black seed length, black seed width, single seed weight, flower number, carpel number and seed number per seedpod) was carried out. The results showed that all the six yield-related traits were close to continuous normal distribution in the F₂ population, which indicated that these traits are quantitative traits controlled by multi genes. In total, twenty-eight QTLs that distributed on seven linkage groups were identified in the two years’ experiments, which explained 5.5% – 27.4% of the phenotypic variation with LOD values between 2.55 and 12.34. Twenty-five QTLs (accounting for 89.29% of total QTLs) explained

收稿日期: 2020-05-26; 修回日期: 2020-07-02

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-24-A-12); 国家重点研发计划专项 (2016YFD0100204-29)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: yiding@whu.edu.cn, wdke63@163.com)

more than 10% phenotypic variation. Four of the twenty-five QTLs [i.e., black seed length (*bsl1*), black seed width (*bsw6*) and flower number *fn4.1*, *fn5*] were repeatedly identified over the two years, explaining 7.33% to 17.6% phenotypic variation.

Keywords: *Nelumbo nucifera*; lotus seed; yield trait; QTL mapping

莲 (*Nelumbo nucifera* Gaertn., $2n = 16$) 主要有 3 种栽培类型: 子莲、藕莲和花莲。子莲主要食用莲子, 藕莲主要食用地下茎, 花莲则主要供观赏。中国子莲主要分布于江西、福建、湖南、湖北、浙江等地, 年栽培面积 10 万 hm^2 左右, 其需求量呈逐年上升趋势。

目前子莲育种以杂交或诱变育种为主, 育种效率较为低下, 现有育成品种少且遗传基础狭窄, 不能满足产业发展需求。近年来, 莲基因组学得到快速发展, 中国科学院武汉植物园、武汉市农业科学院先后完成了莲基因组框架图测序 (Ming et al., 2013; Wang et al., 2013)。武汉大学利用高密度遗传图谱结合光学测序将莲基因组进一步组装到染色体水平 (Gui et al., 2018), 标志着莲分子研究进入后基因组时代。在遗传图谱构建方面, 武汉植物园采用 SSR 标记和 SRAP 标记构建了第 1 张中国古代莲和美洲黄莲遗传图谱 (Yang et al., 2012)。随后该图谱被进一步完善, 含 562 个序列标签集和 156 个 SSR 标记, 共 9 个连锁群, 总长 543.4 Mb (Zhang et al., 2014)。2016 年, 武汉市农业科学院利用子莲和藕莲栽培品种构建的 F_2 遗传群体, 获得了含 891 个共整合标记, 全长 556 cM, 由 8 个连锁群构成较完整的遗传图谱 (Liu et al., 2016)。总的说来, 莲分子研究仍较为落后, 基因组有待进一步完善, 仅少数遗传连锁图发布, 迄今未见对莲性状进行 QTL 定位与挖掘的报道。

本研究中以定位子莲产量性状为目标, 利用长江流域野莲‘中间湖野莲’为母本, 热带野莲‘清迈野莲’为父本杂交构建了 F_2 遗传群体, 对群体黑子期莲子长、莲子宽、单粒质量、开花数、莲蓬心皮数、饱粒数等性状进行了为期两年的表型鉴定, 结合亲本及群体基因型, 开展了相关性状 QTL 定位和分析, 以期子莲分子辅助育种提供技术基础。

1 材料与方法

1.1 材料

采用的母本‘中间湖野莲’为长江流域代表性野莲, 属亚热带生态型, 花期短, 莲蓬心皮数少, 果实圆柱形, 已完成染色体级别全基因组测序与组装 (Gui et al., 2018); 父本‘清迈野莲’收集自泰国, 属热带生态型, 花期长, 心皮数多, 为目前唯一的莲子圆球形野莲资源。2014—2015 年, 通过亲本杂交、 F_1 自交获得 86 个 F_2 株系, 应用于表型鉴定和基因分型研究。

1.2 试验设计与性状考察

本研究在国家种质武汉水生蔬菜资源圃武汉江夏郑店完成。分别于 2017、2018 年 4 月中下旬, 将亲本与 F_1 各 3 株及 F_2 株系 86 株定植于 $2 \text{ m} \times 1.5 \text{ m}$ 水泥池, 随机区组排列。水泥池内填土深 30 cm, 每池定植 1 支藕, 按照常规田间管理。

2017 年、2018 年 6—10 月分别调查亲本、 F_1 、 F_2 群体黑子期莲子长、莲子宽、单粒质量、开花数、心皮数、饱粒数等产量性状 (柯卫东和李峰, 2005): 取每个单株籽粒饱满的黑子期莲子 5 粒, 测量莲子长与宽; 计数与称量每个单株所有饱满老熟莲子数和单粒质量; 收获整个生长期老熟莲蓬, 统计每个单株的开花数 (即莲蓬数); 选取莲蓬 5 ~ 10 个, 调查心皮数和饱粒数。将调查数据输入

Microsoft Excel 2007 软件, 并进行数据统计与分析。

1.3 基因分型与 QTL 定位

利用 197 个 SSR 标记对亲本‘中间湖野莲’和‘清迈野莲’及其 F₂ 单株进行基因分型, SSR 标记引物序列见表 1 (Gui et al., 2018)。在 Excel 中将各株系表型数据和基因型文件按照 QTL Ici Mapping 软件 (Meng et al., 2015) 格式要求进行整理, 并导入 QTL Ici Mapping 软件, 采用混合线性模型计算各性状与 SSR 标记的关系和 LOD 值。以 $LOD \geq 2.5$ 为标准, 判断 QTL 存在与否, 估算 QTL 位点贡献率等参数。

表 1 SSR 标记引物信息表
 Table 1 SSR marker information

SSR 名称 SSR name	正向引物 (5' - 3') Forward primer	反向引物 (5' - 3') Reverse sequence
NnSSR004	AGTCGGTTGAATTGCCTTTTAATG	CAACTGTGAGAGTGAGAGAGTGGG
NnSSR023	TACTGAGAGTTGTAGCAACGGTGG	AGATGCCATGCTCATTGGTATTT
NnSSR025	TGCAAATACAAGGCTTAGAAATACAA	TTTTATTAGGATGTGGAATGACCC
NnSSR032	TTCGATTTTGCAGACATTTGGTAA	TCCAATGCCACCGATAGACAC
NnSSR036	CTGATCCTCTTCCCATAGAGTCC	GCGACGTTGCCCTCAGTTAACTAT
NnSSR039	CACATTGAAATTTGAAGCACTTGG	AAAGATTGGGGCTTCATGTTTTT
NnSSR051	TGGTGCTTATTTTCAGCTTAAAGGC	TTCAGCTCTCAGTAGTGGATGACG
NnSSR055	AGGATTGTTCACAGTCTGAAAGGT	TTTTTGCTTCCCTACCTCAACA
NnSSR062	TTCCTCTGCTACTCCCACTCTTTT	TTGGGAGAACGTTAGAGATTGAGG
NnSSR066	TGATTGGTGACACATAAATCAAG	AGGGAAACAGGAGAAAGACTAAGGG
NnSSR067	ACTGCAGTAGCAGTGTGAGGAAGA	CCACCAGTGCCTATCTCTCCTTTA
NnSSR075	CCTCCCTCCCTCTCTCCCTC	GGCCTTCTAAAACTGATAGACAGACAG
NnSSR076	TTCAAATCCTTTTCATCCAAGAACC	GGTTTTTCGGCAAGTCCTATATCCT
NnSSR077	AACATCCTCCTCAATCTATCCCTT	TCGATGAAACTAAAGAAGAGGCTTT
NnSSR081	AGCATGGTGTTTACCTTTGAGGAC	GATTCTGATTCCGATTCCAATTCT
NnSSR082	ACATCTATCCACCACATTCAAGCA	AGGGGTCAACCTAGAGGTCAAACCT
NnSSR083	AAATGAGAGAGGTGAGGTATGGGG	AGACGGGTGTAACTACAAGGGGT
NnSSR084	AGAAGAAGAAGCAGCAGTAGCAGC	TGTAGTCGGACAAAACCTTGTTCAA
NnSSR087	GCATTGAGCCATTTTCAAGATCTTT	ATGGATACGAGAATTGATGAGGGA
NnSSR088	ATCTTGCAATGTGAGAATCGATCA	AATAAGCTTTGGTAAGCCAGGAGG
NnSSR092	AATCATCTTTTCATCTCCCACTCCA	TGACCAAGAAGAAGAGTGAGGGAA
NnSSR097	TTTTGGGGAAAGATTGAAGAAACA	ATATCCACCAATCACCATTTCGTC
NnSSR098	CAAAGTTCTGGCATCCTTTTCATAG	TTCACCCTCTCTATCTTCTTCGTTTT
NnSSR099	GAGAAGTGGGATAAATTGCCAACA	ACATTGGATGCTTAAATGCATGG
NnSSR101	CAGACACTAACCATCGGTGAACAA	ATGTACGGGAAGCGAAATATGCTA
NnSSR104	TGAAAGCAGGTCAACCATTGATAG	TCCATGTATGTCTGTGTGCTTGTTG
NnSSR105	TTAGGAATGGATTTTGCTGGAAGG	GGTGAATCATCATGGAAGTCTTCGT
NnSSR106	GCTTCTGTTTGTATTTCGATGTCCA	GTTTTTCCTTCTCCTTCCATCGTC
NnSSR107	CAGACCCTGTTCCATGTAAATCAGA	CTTGAGTTGTTGGAATCTGTAGGA
NnSSR110	GATCAGTTGCTTCCAGTAGCTTCA	TTAAACAAGGGACCCTCTGAAAAG
NnSSR114	CGTGACGTCTGGGAAGAAAGAAG	CCTCTCAAGTCTCAACTGCGTGTA
NnSSR115	AATGTGCGAGATGTTCTTCAAGGT	ATAATGGTTCGGTTCAGGTTAG
NnSSR118	ACTTGACTCTCTCCATCCCATCAC	CTTTGTTCAATGTGTATCCATCC
NnSSR119	AGAGGTGCAGAAAACAGAGATTGG	TATGACAAACTTGCTCAAACGGAA
NnSSR120	TGGCATTTAATCCAATTGCTTTTC	GTTTTGATGGAAGCTGAGCAAAGT
NnSSR121	ATGCAACGATAGAAGAGATGCTCA	AGCCAAAGTACAGGGTACTGATCG
NnSSR124	CTTGTGAAGTCTTGCCCTCCTCTC	CTGCTTTTAGCACCACGACCTAAG

续表 1

SSR 名称 SSR name	正向引物 (5' – 3') Forward primer	反向引物 (5' – 3') Reverse sequence
NnSSR129	AGAATGCATCATACTGCAAAACCA	CGCCAGGCTTATGGTTGAATA
NnSSR130	GAAGGGAGAGGAAATAATTGCCAG	CTTCTCCGTCTCAGAGTCCAGTTT
NnSSR131	GTGTGATTGAAATGAACATTTGGC	CAGCTTCTCAATATCTTGGCATT
NnSSR132	CTGTTCAAACATGTCTCTGCAAC	TATTGCTGATGCTCCTAAATTTCCC
NnSSR133	ACCTTTCTGAACAAACAAAGCTGG	ATCCATGGTTTCCACCTTCATCTA
NnSSR134	CTTGGCAGTTCTCTTTCTCCCTCT	AAATCGCAGTCTGTTTCTCTTG
NnSSR135	GCCAAGCAGTTTTCATACCTGTG	AAATATAGGGGCAGAACCCCTTTT
NnSSR138	ACCCAACCAACCAATTAAGGCATA	ATTGCATGGAGGTGAAATTAAAGC
NnSSR139	TTGTCAAGTCTTTGTGGCACTGT	ACAACCTCCCTCTCACCTCTTTCT
NnSSR141	TGCAACACGACAAGTCACTAGAAA	CACAAAATTGGCATCTTAGTCAAGG
NnSSR143	GGGAAGAAGAAGAGAAGAGGAGGA	TCGATGTAATAGGTAGCCGCTCTT
NnSSR144	CTTAACCTCTTGTGCGGTATGTCC	TGGTTTAAGAAATTGGAGTCTGCG
NnSSR148	CCATTTGGCTGGTAAAAGAGACTG	GCGATGAGGTAAGATGACATGAGA
NnSSR149	GTTAACCAAGATTTTCATGATCCA	TTTTATGGGAAGGAAAACCTCTCA
NnSSR151	TGGAGATGAAAAACGAAGAAGAAGA	CGTTTCGTCACACTGTTGCAAGT
NnSSR152	GCCCAATACTTGTGCTCTGATACC	CAGTCGCCCTGTTATAAATAGAGTGG
NnSSR155	CAAATCTTTCTGTTTACGGATAGGT	ATCCTTTGCATTTTCGATGACTGAC
NnSSR156	TGAAGTTTGAACACCACTTCTCA	GCAAATCGAACCTATTCAAACCTCG
NnSSR157	TCGGCCTCTAGTCCATACATCTTC	AGTTTTCGGGAGTTACCTTCGTTT
NnSSR158	TTGGTTTGCCAAAGAAAGTAGGAA	TGGGCTTCTAGGAACTATTTCAGCA
NnSSR159	TAGCTCTTGAGGAAAGGCTCATT	CTAAACAATTAATTCTGGGTTTGTGTTT
NnSSR160	TCATGATACAAAACCTACAAAACCC	GCTGCTAACATGGACCATCCTG
NnSSR164	GCCTCTCTTCTCTTCTTCTCTCT	AAAAGAGAAATCAGGAAGCCCTTG
NnSSR166	TCTCTCTAAAATCATAGCCAAGCC	GGGGGATCTCTCTGGTATAATTGC
NnSSR167	CTCCAGCAAGCAACTAAACCAGAT	CTCTCATATGCAAAAATGGTGCC
NnSSR168	TGGAATTTCTATTGTTGCAGTGACTT	CACACTTTTGTGTGATTGAACGA
NnSSR171	TCAATGACACGAATGACTAATGGAG	GAATGCAAAAAGTTGCAGGTAATCC
NnSSR172	TATAAATAGCAATGTTGGGCACCG	TGTCTAAACACTTCTGGGTGTCA
NnSSR174	TGGAGAAGAACGAGCAAGAGGTTA	CAGTTTCGATTTTGTAGGCATTG
NnSSR175	CTAAGAATTTTGGAGTGGGCTGAA	TCCTTCCAATGTCATAGCAACAAA
NnSSR176	TCTTTTCGACATGGATGTTCTTTT	CCTAGGTGATTCATGCTTGAAGA
NnSSR177	GCAGGGGAACATAACCAATAGATG	TCGATATTTTCCAAGGATTTTCCA
NnSSR178	GATTTGCAGTAAGACCACGGAAC	TGATACACAGACCTGTTGCCTCAT
NnSSR179	CCCATGCATATTCTGTTTACAGG	TCAAGCACCATTCTTCTCTCAGAC
NnSSR181	TGAAGTGCTAGTTTGGGGTTGAT	GATGGTGGCTCAATTGTAGGTTTT
NnSSR184	AGAACCTCGTTTCTATTCTGTTCCC	GCGGTTAAGATAATAAGGCCAACCC
NnSSR185	ATGATTCTAGGGGTTATGGGTTGG	TAGGACCTCTTCAGTTTGGGATTG
NnSSR186	GCATGCCATCCAATCTATGGTT	TTGGCTCTAAATCACCAGTATCAGG
NnSSR191	GAGTTCTCAACTCCTAGGGTGCAA	CAAAGCATCTTTCTCTATCTTTTCCC
NnSSR195	GAAAATTGAAACAACGGAATCTGG	AGCTCACGGATACAGAAATCAAGG
NnSSR196	TCGAGCTGCTAAGTGCTAACCTCT	TGAAGGGTACCTTCTATGACTGC
NnSSR198	GTGGCAAAACAGAAAGGAGTAATG	GATGAGGCAGCCAACAAGATAGAT
NnSSR200	ACTTCCATCCAAGAGAACAGATGC	TCATTTGCTTCAATATTGTATCGCC
NnSSR201	TCATATTGAAGTTAATCAAACACCAA	AAGACAATAGAGGGGACAAGAAC
NnSSR204	TGTTGGGTGTCTGTTTTCTTCTG	AGGCCATATCACATTTATGCGAAC
NnSSR205	ATGGGCAAGGATTCATCAGTGTAT	ACATAATTTTTCGTCGTTCCGAGA
NnSSR206	AACAGCAGCGACGATCGAGAAT	GAGAGAGGTAGTGATGGTTTGGGA
NnSSR207	GAATTCAAATGCTTTGCTTCAACA	CTCTGCATGAATTACTCTGCAAAAA
NnSSR208	AACCTTGCCCATGTTTTCTTTA	AGATGTTTCTTGTCTCAAGACCAG
NnSSR210	AAATTCAATAACAGCTGGGGATGAT	CGAATCCACAATCCTCTGTCAATT
NnSSR212	GCAAGGAGTCTTTCGAGGATTTA	AAAGAAAATGTGGGGTTAGATAGATA
NnSSR213	TTCAAACCCATCGATTCTTCAAT	TGGCATAGAATTAAACCTTCCAGG

续表 1

SSR 名称 SSR name	正向引物 (5' – 3') Forward primer	反向引物 (5' – 3') Reverse sequence
NnSSR218	ACAAAGAATGTGGGTAGCTTCGTC	TTTGCCTGTAAACACAGAAAAATTA
NnSSR219	GTCGGCTGAAACTGGAAGAGTTTA	GTCGTTGTTGCTGTGTAAAGTCAC
NnSSR220	TACCAAATGAAGGGAGGCTATGAA	CTGCTTTGCTTCTTATTGGTGCTT
NnSSR222	TTTGTCTATCCATTTGCGTGTTT	ATCTCCCTCACTCTTGCCCTTTTT
NnSSR227	ATGAATCATTCTTCAGCCACAACC	TAGGCATCACCTAAGCAATGTTGA
NnSSR230	TTGGCTCTCTCCTTGGGTAAATCT	ATTGTTGTGCCGAAAAGCTTGA
NnSSR231	CACCTGCACATTCTAAACCAAAAA	TTTCTATCCACAGCGTCATTCAAA
NnSSR236	CCCATTTTGGAAAAATAAGGAGGAC	CCTCCAAATACCGTTGTGACTTTC
NnSSR240	TCTCAGATTGGAGTCGTCTTTGTG	CGTCAACCTCACAAATTCTCCTCTT
NnSSR241	CGTTCATCTTTCCAGAATCTCAG	AAGAAGGGGCTAGACTATTGAGGC
NnSSR243	AAGCTCACAAATCCCAGCTGTAAG	ATATGGCTGTTCTGTTCTGCCTTC
NnSSR245	GCTAATTCTTGCCACATTTTCTTG	TGGGCACACATATTCTTAGTCATCA
NnSSR246	AAATGTACCCGTACACTGCCAGAT	ACCCACTCTATCAAAGCACCAGG
NnSSR247	TTTCTCCATTTTGAAGAGATTGTC	CTGGAGTTGCACAAACGATGACTA
NnSSR248	TAGAAATTCGCTTTGGAGGTACGA	ACACAGACACCATGGATGAGAAAA
NnSSR249	TGGACCAAAACCAAACTAATACCA	CTGCATGTGGCCATCTTAAAATTAG
NnSSR251	GAGAGGTTTGGCTGGGACTATTCT	TCTGACACAATACAGCACCTTGT
NnSSR252	GGTTCTCATGCTTTTGCCTCTT	TGCAGTGAGGAAATTTACAGAGCA
NnSSR253	AGTTCCTGCAGGCTCCTTTAAGAT	CTGCAATTCATCTTTCCTGGAAGT
NnSSR257	GTGGTGGTGAAGGTAGAGGAGAAA	GACGGAGATCTGTTTCATAGTGGG
NnSSR260	CAAGCTTTAAAAGTCCAGAAGCGA	AGATTTTCCCTTCGAGGTTTCTG
NnSSR261	AGACTAGTGAGATGCATTGTCGCA	GACTTGGAACATGCTATAGTGTGGG
NnSSR262	AACGCACAACGGTAGAATGGTAGT	GTTGTGTGTTTTAGTCGGGGAGAG
NnSSR264	TGCTATATAAACTCGGTGCCCT	GAGAAGTTGCCATTGATTTGAGT
NnSSR266	TGTAAGACTTTGAGAAGGGGCAAC	TCTTCTCTTCAGGCAAAATGGTTC
NnSSR269	TCTCTGCAATTCCAGTAAGGAAC	GCAGAGCTCAATTCTCTAATCCCA
NnSSR270	TAACAACGATGGAATTATGCTGGA	ACTTGATAAAATTTGCCGTGCAAT
NnSSR271	GGCATTCCGGTTTATGTAGTCATC	AACAGGACTCATGTAGCCAACTC
NnSSR272	GCAGTAGACGAGCCATTGAAGATT	GAAAAGGAGCACATAGATCGGAGA
NnSSR274	TGAGAAGGAGGTGGTTGGTTAAAA	GGCAAAACAGTACAACAATCGATGA
NnSSR275	ATATGTGGAGCTCTATGGTGAGCG	TTCTGAGAGCATTACCAAGGAAGG
NnSSR276	TAGCCCACTGAACAGATGTGAAAT	CCCCACCAGGTAAGGTAGAACTT
NnSSR277	AGTGAAACGGAGAAATGATGACTTG	GGAGTGAGCCTACATCTTCTTCA
NnSSR279	TTTGAAACCACAGCTTAAAGGGAG	GCTCAACTCTGAACTTGCTTCAG
NnSSR284	TTCCTTTGCTATTCTATCTGCCTC	TGTGGCAGATAGCCGTTAGTGTA
NnSSR288	GAACCTACAGCAACGGTAATGAAA	GAGATCTGGGAGAGCAGACTAGAGA
NnSSR289	CTGGAGCTGGCCAATTATATATCA	TCTTCTCTCCTTCCCTTGAGTCT
NnSSR291	CTATTCCTCATGATTCGTTTGTAC	CCACTGCCGCTATAAAAGAGTTGT
NnSSR292	ACAACCAGATTTCATGTAGCCGTT	TAACCCCTCCCTCTTCTTTCATCT
NnSSR293	AATTCCTCCCTTCAAACTCTTTTA	TAAAGAAGCTTCTTGGTTGCAGG
NnSSR295	GTTTTCTTTTCAGCACTTCCCTCC	GAGTGATGTTTCTTCGTCCCTTGT
NnSSR296	GAATCTATTCATTCATCTACCTCCCA	TCTTTGTCTAAAGCAATTACCACA
NnSSR297	AAGGGGATGTTATCGGTATTTAGG	TGTGAAATCTTTCCTTTTAGCTTCA
NnSSR299	CTGGAGCAATTGGAGCCATTATAG	GGCATAGTGAATGTCTTCTTGCT
NnSSR304	GGTTCAAGTCCAACCAATTACAC	CAATTTTCAATTGATTTTCGGTT
NnSSR306	GTTGCAACAGAGAAGGTGAAGGT	AAAAATCCACAAGCGATTCTTCAA
NnSSR308	ACTCAAGTTAAAGGGGGAGGACAC	AAAGGATGAGGCTACATCAAGCAC
NnSSR313	TGACTTATGGTCTCTTTGATGGGA	TGGACAAATGAATGAAAATAGAGCA
NnSSR315	AGCTAAGAAGCCCAGAAGGCTAAG	ACAAACAAAACAAGACCACCCTGT
NnSSR317	GACGATCAGTTTTAGAGATCCAACCT	TGCATGTGGTGTGTCTATCTCTCA
NnSSR320	AAAGACTGCTATTGAAACCAACCG	GGGCTTGAGCTTACAAGGAATTTT
NnSSR324	GGACACTGGAATACCAATTCTCTTC	TGTCTCCTCCATTTTCATGCAACTA
NnSSR325	CCACCATTACCAACATCTGTCA	CAAAAGATGAGAGAAATGCGTCAA

续表 1

SSR 名称 SSR name	正向引物 (5' - 3') Forward primer	反向引物 (5' - 3') Reverse sequence
NnSSR334	TCCACTTGCAGACTGTAGATGCTC	TGGCTCTTTGTCTCCAATTCTC
NnSSR335	CATGCTCTACATAAAGCTTTCCCG	CTCGTAAATTTGGATTGCGGTAAC
NnSSR336	ACGTGTCACCTGCCTACCTGTATT	TTGAGATTAGCGGGAGAAAGAGAG
NnSSR337	AAGGATGGGCATAGGAGGAAGTAG	CCATCGAACATTGAACTACCACAA
NnSSR338	CATCCACCTTACAACCAAAACCAT	GTTGCAAACATGCAATTTCTCTTG
NnSSR340	CACAACCATGGAGATTGGAGTACA	TGAAGGAGTTCCTTACAAAGCGAG
NnSSR342	TGAAGGATGAGTTCTAGTGGGAGG	TTGTGCTCACAACAACAACCTCT
NnSSR344	CGTTTGTAAAGTTGCTTTCCCTGC	AAAACCAAAACCAACCATTAACCTAA
NnSSR345	GAGAGACACTGATAGGTCCGTCGT	TTTTGGACCACTTTTCTTTCTTCG
NnSSR349	TCTCTCTTCGAGCTTCAGGTCTTC	TATTCATCCCATGCTCCTCTTGTT
NnSSR351	GATGAAGTGGCCGAATAAGAACAT	GAGTTCATGAAGGACGAAGAGGAA
NnSSR352	GGCCTAAGAAGATATGGGTGTCAA	GGCAATATTGAGTCATAAGATTGGG
NnSSR354	ATCCTACACTGGACGTTACCAAA	GTTACTCCAAGAATCTGCCCTCCT
NnSSR356	CGTTGCATGTTTATTCTCCATTTG	TCCAACCATTAGCATTACCCATTC
NnSSR357	CAGCAATGTACTTTGGACTCATGG	GAAGCCGAGTTCACATCACAATAA
NnSSR358	CATTTGACAACAAAACAACCAAA	CCTCCCCATACCTTCTTGACTCTT
NnSSR359	ACCTCTTCTCTTTGCTGAAACCT	TGCTAGTGATTTTGAACCAGTGGA
NnSSR360	TATTCTACTTCAAAGGCCACGGA	TTGAGCTGTCTACACTCCACATCC
NnSSR361	CCCTGCCTTTGTACCTATCTCTCA	ACAATTTGCATTTGGAACCATCTT
NnSSR365	CACATACAACACATGCCAAAACCT	CAACTCTGACCTATGAAAATGAAACCT
NnSSR368	ACAGTGACCAACCATTTCTGCTAT	ATTGTTTCATCTTCTTCGTACACG
NnSSR371	TCAATAGCCCTGTTTTTGCAATTTT	CAAAATTGCCATGAATAACCAAGA
NnSSR372	TGGTCTCACAATCCGATCAAACCT	GGTTCATCTATTTTACGCCCTCAC
NnSSR373	TAGATATTAACCTTCGCCAACTCC	ACCTCCTCACACCAAGACAGACTC
NnSSR374	GCCCACAGAATATGCCTTGTGTA	ATTTTGTGAAAGCATGTCTGGGT
NnSSR375	GGTTCAACAGTGTCCATTGATTG	TTATATTGGGTGACCCCAACCAG
NnSSR378	AGTCTGACTCAACTTCGTCTGTCGT	CTCTCCTTCCCTTCTGTCTATGTA
NnSSR379	TTATTAAGAAGCCAAAGCCAAAGC	TGGCGAGAGAAATCCAAAATAAAT
NnSSR380	AGTATGAATGCCCAATTCACCAAT	GAACACAGAAAAATGACCTACGCC
NnSSR381	CCAATAGCTTATGGATTTTCGGAGA	CTAGGTCACCTCTTCACAAGCAT
NnSSR387	GATCATTTTTCCCTCCAACGGTAT	GGAGCTCCGATGGTCAAGTTAGTA
NnSSR388	TCTGTCAAAGAAAGAACTTCAGGC	TTTGCTGAAGGGTCAGATGTAGTTC
NnSSR389	TCTCTCGCTCGGTATCTCTCTAT	AGAGAGAATCGCTGATGTCCAATC
NnSSR390	TCAGTCTCCCCAGGTATCAATCTG	AGGGAGACTCACGTAATTTAGGGC
NnSSR392	CCAAGTAACCAACACGAACCATTA	TCAGAGGCTATCGTCGAGTCTTCT
NnSSR398	TATGGAAGACACTTCTTGGAAGC	TCCCTATTAAAGGAATTGGGCATT
NnSSR399	CCGCTAGAGGGAATCTTTTGTCT	TTCTTAGTGAAATGGCTGGGAAAA
NnSSR400	TGTGAAGCAGAGGATGTTGAGAAC	CCTCTGCCCTTCTTCTCTCTTCT
NnSSR403	GAAGGACAGCGCAATTTCTTTCTTA	GCAATTTTCAATTACATGGATCAGC
NnSSR408	CAACAGCAGGAACAGAAGCAGTAG	CGTGCACTCTGATTTCATCATAC
NnSSR409	AGAGCACTAGAATGATGGCAACCT	TTAACGCATCTGAGAGATGATGGA
NnSSR417	TTGAGAAAGTTGTCGACTGAAAGAGTTT	TACTCCAGTTTTTACCATCACCA
NnSSR418	CCATAAATAGGGCCCATACCCATA	AAAGTCCAAGGCAGTGGTGGTAAC
NnSSR420	AGGACACCGACATCAACAGGTAAT	TGGTTGAGTTTGGGAAGATAGGAA
NnSSR426	TGGAGTGAGACTCTAGTGAAGGGG	TCCTTCCTCTCCTTCTCTTTTC
NnSSR428	TCTGCCATAGGTTGTGTATTTGGA	GCAGAGTGGGATTTAACTTGGA
NnSSR433	CGGGAACAGAAAGGAATAAAGTAA	AATTTGCTTAGGGGCCTTAATCTG
NnSSR434	GATGATAACCCACTGAACGAGGAG	GTAATCATGGAATTGAGGAGGGTG
NnSSR436	TCATCACCATCTGCTCAAAATGT	ACCCCTTCGTAAATCCCTTTGAA
NnSSR438	CGCATCTCTTCCTCTTTTCGTA	GGCCGAGATTGAGTTGCACTACTA
NnSSR440	GCTATTTTAGTCCTTCAAACCCCAA	CCGTCAACGTTTCAGTAATCCTACC
NnSSR443	GAAGCCAGACACAGACAGATTTGA	GTCCACGAAAAGCTCCAATTTATG
NnSSR445	TTGAGAAGAAGGAAACTACCCCTG	ACTGTACTCCGGCTCTCTCTTCA

2 结果与分析

2.1 亲本、F₁、F₂ 莲子产量相关性状表型鉴定分析

2017、2018 年对亲本 P₁ (中间湖野莲)、P₂ (清迈野莲)、F₁ 及 F₂ 单株黑子期莲子长、莲子宽、单粒质量、开花数、心皮数和饱粒数性状进行考察 (表 2)。两年平均, ‘中间湖野莲’ (P₁) 黑子期莲子长、宽、单粒质量为 1.74 cm、1.0 cm、1.20 g, 开花数、心皮数、饱粒数为 29.8 个、20.7 个、13.6 个; ‘清迈野莲’ (P₂) 黑子期莲子长、宽、单粒质量为 1.33 cm、1.25 cm、1.03 g, 开花数、心皮数、饱粒数为 48 个、34.3 个、17.8 个。两亲本间主要莲子产量相关性状均具有显著差异。F₁ 单株黑子期莲子长、宽、单粒质量为 1.61 cm、1.2 cm、1.32 g, 开花数、心皮数、饱粒数为 20.9 个、27.6 个、19.4 个。F₁ 单粒质量、饱粒数明显高于两亲本, 具有较高的正向杂种优势; 黑子期莲子长、宽、心皮数性状在中亲值附近, 无明显杂种优势; F₁ 开花数显著低于双亲, 说明开花数呈现负向杂种优势。

表 2 亲本、F₁ 及 F₂ 群体的 6 个产量相关性状表型
Table 2 Phenotype for the six yield-related traits in parents, F₁ and F₂ population in two years

年份 Year	世代 Population	黑子期莲子长/cm Black seed length	黑子期莲子宽/cm Black seed width	单粒质量/g Single seed weight	开花数 Flower number	心皮数 Carpel number	饱粒数 Seed number
2017	P ₁	1.72 ± 0.03	0.99 ± 0.01	1.18 ± 0.04	32.0 ± 2.8	15.9 ± 0.1	12.4 ± 3.7
	P ₂	1.35 ± 0.01**	1.27 ± 0.01**	0.98 ± 0.03*	52.5 ± 3.5**	33.0 ± 1.4**	15.8 ± 0.2
	F ₁	1.58 ± 0.03	1.16 ± 0.03	1.28 ± 0.05	23.0 ± 2.8	26.5 ± 2.8	18.8 ± 2.2
	F ₂	1.64 ± 0.11	1.11 ± 0.07	1.22 ± 0.74	30.1 ± 18.8	14.1 ± 4.7	25.5 ± 5.0
2018	P ₁	1.76 ± 0.08	1.00 ± 0.02	1.21 ± 0.08	27.5 ± 1.9	23.4 ± 1.5	14.8 ± 1.8
	P ₂	1.30 ± 0.04**	1.23 ± 0.01**	1.08 ± 0.06*	43.5 ± 2.1**	35.6 ± 0.6**	19.8 ± 1.1**
	F ₁	1.65 ± 0.02	1.19 ± 0.13	1.37 ± 0.01	18.7 ± 3.5	28.7 ± 2.3	20.0 ± 3.1
	F ₂	1.60 ± 0.10	1.15 ± 0.07	1.19 ± 0.17	29.5 ± 13.9	25.4 ± 5.6	14.7 ± 5.0

注: * P₁ 与 P₂ 在 0.05 水平差异显著, ** 在 0.01 水平差异显著。
Note: *, **: Significant difference at 0.05 and 0.01 levels, respectively.

F₂ 株系与莲子产量相关的各个性状变异范围较广, 频次分布图均为单峰的近正态分布 (图 1), 表现出典型多对基因控制的数量性状遗传特点, 适合于 QTL 定位分析。

进一步进行相关性分析, 结果 (表 3) 表明: 莲子单粒质量分别与黑子期莲子长、莲子宽呈极显著正相关 ($P < 0.01$); 饱粒数与所有调查的性状均表现出显著或极显著正相关 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 相关性大小依次为心皮数 > 单粒质量 > 莲子宽 > 莲子长 > 开花数。

表 3 莲子产量相关性状的相关性分析
Table 3 Correlation coefficients between seed yield-related traits in F₂ population

性状 Trait	黑子期莲子长 Black seed length	黑子期莲子宽 Black seed width	单粒质量 Single seed weight	开花数 Flower number	心皮数 Carpel number	饱粒数 Seed number
黑子期莲子长 Black seed length	1					
黑子期莲子宽 Black seed width	0.227*	1				
单粒质量 Seed weight	0.524**	0.731**	1			
开花数 Flower number	0.04	0.062	0.051	1		
心皮数 Carpel number	0.047	0.21	0.077	0.16	1	
饱粒数 Seed number	0.289**	0.392**	0.405**	0.229*	0.597**	1

注: 相关系数在 $P < 0.05$ 水平显著, ** 相关系数在 $P < 0.01$ 水平显著。
Note: *, **: Correlation is significant at $P < 0.05$ and $P < 0.01$.

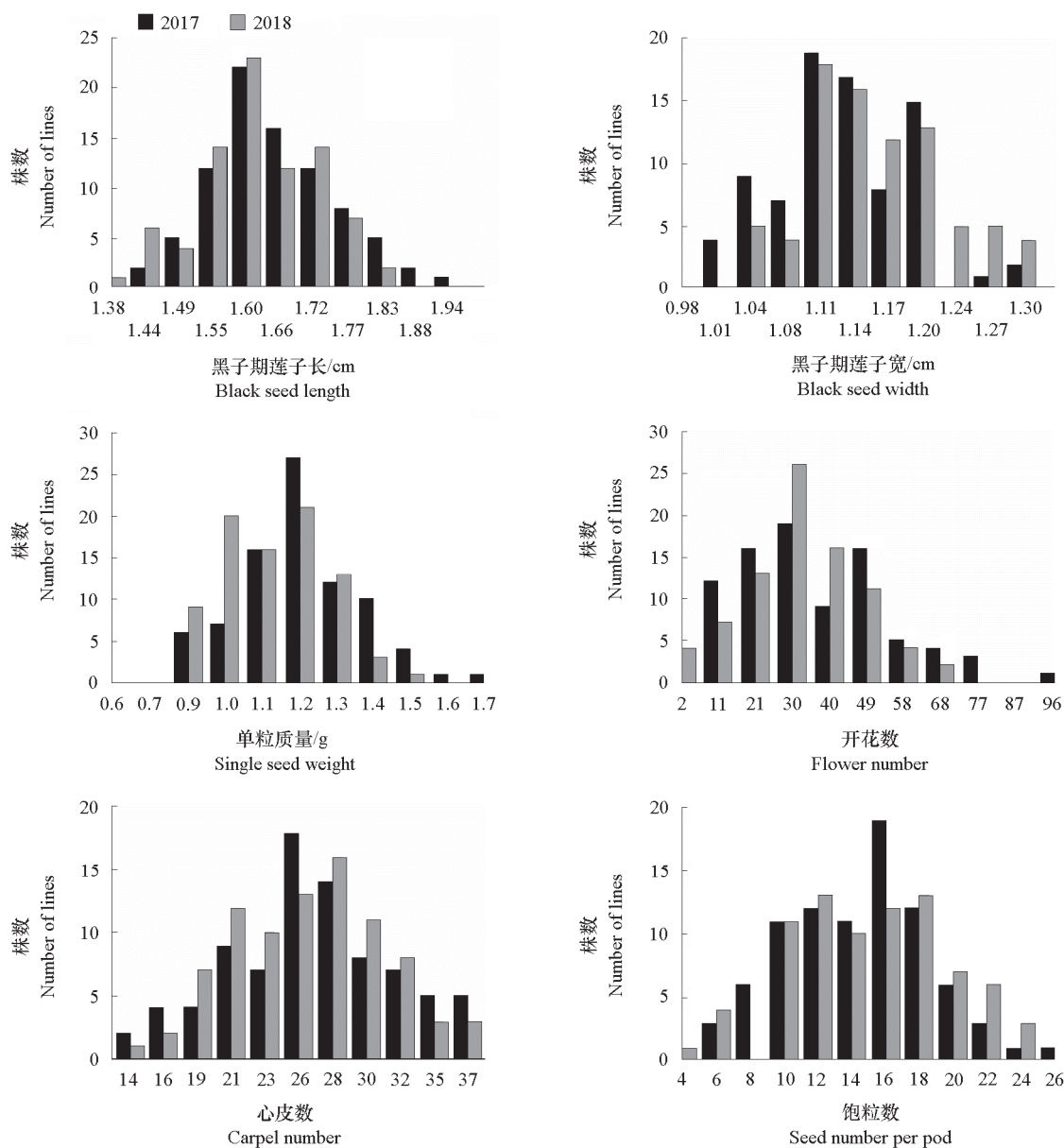


图1 F₂群体莲子产量相关性状频次分布图

Fig. 1 Phenotypic variation of seed yield related-traits for F₂ population in two years

2.2 SSR 遗传图谱构建

将群体基因型数据输入 QTL IciMapping 软件, 利用最大似然法计算标记间重组率和 *LOD* 值, 构建了包含 197 个 SSR 标记的遗传图谱。遗传图谱总图距长 1 073.18 cM, 标记间平均图距为 5.45 cM, 由 8 个连锁群构成(LG1 ~ LG8), 连锁群平均长度为 134.15 cM。最大的连锁群为 LG3, 长 419.97 cM, 含 74 个 SSR 标记, 最小的连锁群为 LG8, 长 5.99 cM, 仅含 3 个 SSR 标记。遗传图谱如图 2 所示。

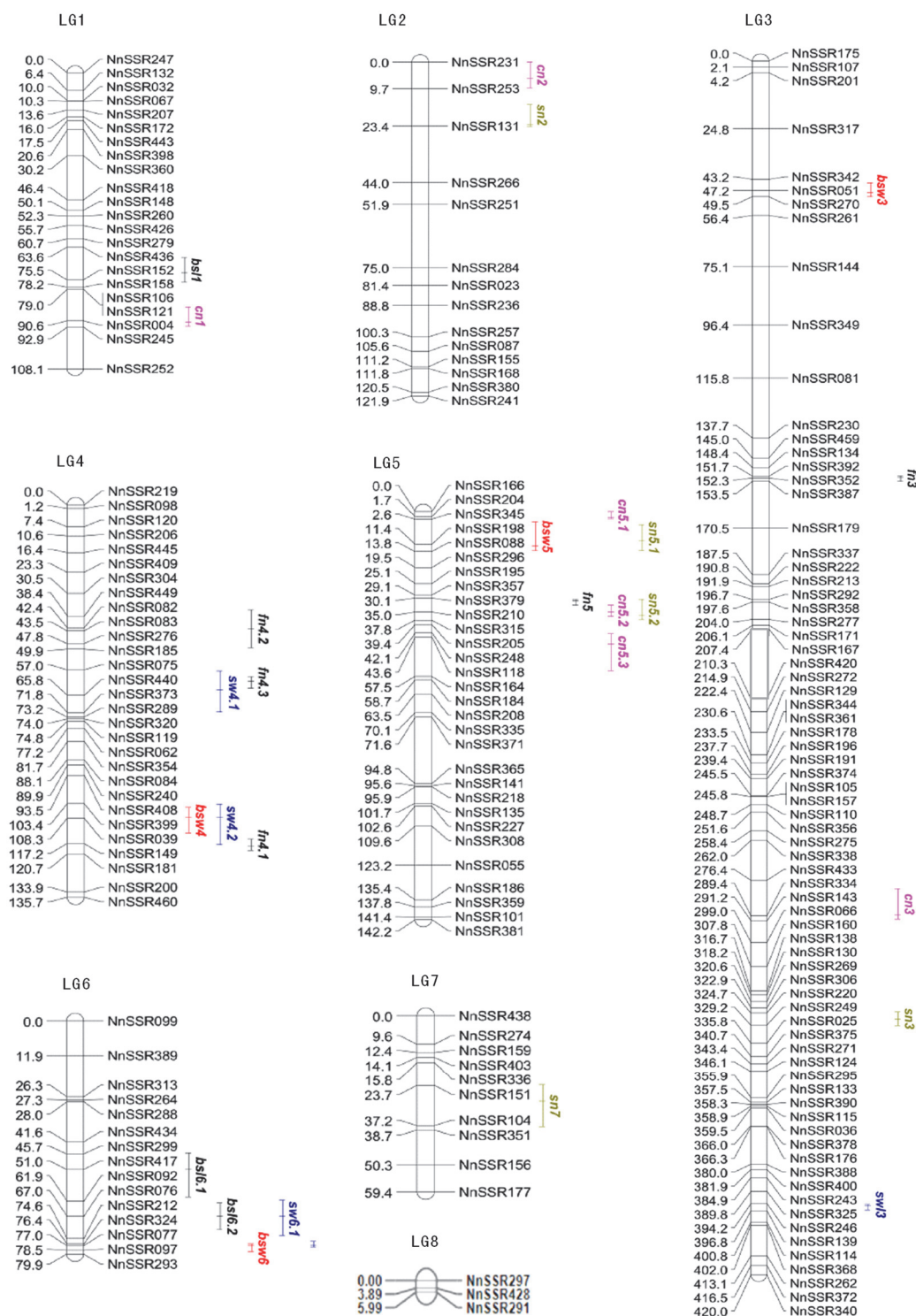


图 2 莲子产量相关性状 QTL 在连锁群上的分布
 Fig. 2 Distributions of seed yield-related traits QTLs on linkage map

2.3 莲子产量相关性状的 QTL 定位

调查了 F₂ 群体 2017、2018 年莲子产量性状, 利用 QTL ICIMapping 软件对黑子期莲子长、莲子宽、单粒质量、开花数、心皮数、饱粒数等性状进行了 QTL 定位和分析 (表 4, 图 2)。共检测到 28 个与莲子产量相关 QTL, 分布在 7 条连锁群上, LOD 值介于 2.55 ~ 12.34 之间, 可解释 5.5% ~ 27.4% 的表型变异率。其中, 贡献率 ≥ 10 的 QTL 位点 25 个, 占 QTL 位点总数 89.29%; 两年可重复检测的稳定 QTL 位点 4 个, 占 QTL 总数的 14.29%。在这些 QTL 位点中, 14 个位点加性效应为正值, 表现为增效加性效应; 其他为负值, 表现为减效加性效应。

表 4 莲子产量相关性状在 F₂ 遗传群体中的 QTL 定位
Table 4 QTL analysis of lotus seed yield related-traits in F₂ population

性状 Trait	QTL	年份 Year	连锁群 LG	位置/cM Position	左侧标记 Left	右侧标记 Right	染色 体 Chr.	染色体区间 /Mbp Location	LOD	贡献率/% PVE	加性 效应 Add.
黑子期	<i>bsl1</i>	2017, 2018	1	73	NnSSR436	NnSSR152	6	37.43 ~ 28.58	8.17	13.10	0.02
莲子长	<i>bsl6.1</i>	2017	6	51	NnSSR299	NnSSR417	7	35.18 ~ 36.49	3.77	12.00	0.06
Black seed length	<i>bsl6.2</i>	2018	6	67	NnSSR092	NnSSR076	7	41.23 ~ 46.41	4.42	12.20	0.05
黑子期	<i>bsw3</i>	2018	3	48	NnSSR051	NnSSR270	8	11.28 ~ 09.65	3.66	18.10	- 0.04
莲子宽	<i>bsw4</i>	2018	4	108	NnSSR399	NnSSR039	2	36.46 ~ 24.34	3.28	13.50	0.02
Black seed width	<i>bsw5</i>	2017	5	12	NnSSR198	NnSSR088	3	94.98 ~ 93.89	3.24	12.70	- 0.04
单粒质量	<i>bsw6</i>	2017, 2018	6	77	NnSSR324	NnSSR077	7	55.26 ~ 55.89	4.97	7.33	0.02
Single seed weight	<i>sw3</i>	2018	3	395	NnSSR246	NnSSR139	1	179.76 ~ 181.43	2.76	13.30	- 1.75
	<i>sw4.1</i>	2018	4	64	NnSSR075	NnSSR440	2	68.68 ~ 67.64	2.62	12.30	2.07
	<i>sw4.2</i>	2018	4	108	NnSSR399	NnSSR039	2	36.46 ~ 24.34	3.32	15.10	6.61
	<i>sw6.1</i>	2017	6	67	NnSSR092	NnSSR076	7	41.23 ~ 46.41	4.09	20.50	10.75
	<i>sw6.2</i>	2018	6	77	NnSSR324	NnSSR077	7	55.26 ~ 55.89	4.76	21.90	8.84
开花数	<i>fn3</i>	2018	3	152	NnSSR392	NnSSR352	1	24.07 ~ 23.46	4.98	13.00	7.64
Flower number	<i>fn4.1</i>	2017, 2018	4	118	NnSSR149	NnSSR181	2	17.17 ~ 14.71	12.3	17.60	- 0.96
	<i>fn4.2</i>	2018	4	57	NnSSR075	NnSSR440	2	68.68 ~ 67.64	2.55	5.50	- 2.88
	<i>fn4.3</i>	2017	4	75	NnSSR119	NnSSR062	2	56.58 ~ 55.89	4.06	13.10	- 8.88
	<i>fn5</i>	2017, 2018	5	31	NnSSR379	NnSSR210	3	84.87 ~ 86.38	5.97	7.88	0.57
心皮数	<i>cn1</i>	2017	1	91	NnSSR004	NnSSR245	6	4.27 ~ 6.11	3.37	12.00	- 2.44
Carpel number	<i>cn2</i>	2018	2	6	NnSSR231	NnSSR253	4	82.49 ~ 75.71	3.44	16.50	2.72
	<i>cn3</i>	2018	3	289	NnSSR433	NnSSR334	1	90.99 ~ 94.73	2.59	10.00	1.47
	<i>cn5.1</i>	2017	5	2	NnSSR204	NnSSR345	3	102.39 ~ 101.19	6.37	24.40	- 3.02
	<i>cn5.2</i>	2018	5	35	NnSSR379	NnSSR210	3	84.87 ~ 86.38	5.73	27.40	- 3.67
	<i>cn5.3</i>	2017	5	46	NnSSR118	NnSSR164	3	76.69 ~ 68.92	4.95	19.60	- 2.86
饱粒数	<i>sn2</i>	2017	2	23	NnSSR253	NnSSR131	4	75.71 ~ 69.09	4.53	15.50	- 1.43
Seed number	<i>sn3</i>	2017	3	327	NnSSR220	NnSSR249	1	129.37 ~ 131.12	3.33	12.70	1.01
	<i>sn5.1</i>	2017	5	10	NnSSR345	NnSSR198	3	101.19 ~ 94.98	5.87	23.00	- 2.83
	<i>sn5.2</i>	2018	5	36	NnSSR210	NnSSR315	1	86.38 ~ 78.88	4.17	19.20	- 3.18
	<i>sn7</i>	2018	7	29	NnSSR151	NnSSR104	5	22.15 ~ 12.82	2.57	13.60	- 0.05

黑子期莲子长鉴定到 3 个 QTL, 分布于 1 和 6 连锁群, 贡献率均在 10% 以上, 均表现为增效加性效应。其中 *bsl1* 连续两年均检测到, 介于标记 NnSSR436 ~ NnSSR152 之间, 可解释 13.10% 的表型变异率。

黑子期莲子宽鉴定到 4 个 QTL, 分布于 3、4、5 和 6 连锁群, 贡献率在 7.33% ~ 18.10% 之间, 含 2 个增效位点, 2 个减效位点。其中 *bsw6* 连续两年被重复检测, 介于标记 NnSSR324 ~ NnSSR077 之间, 可解释 7.33% 的表型变异率。

单粒质量鉴定到 5 个 QTL, 分布于 3、4 和 6 连锁群, 贡献率均在 10% 以上, 含 4 个增效位点, 1 个减效位点。其中, *sw4.2* 和 *sw6.2* 分别与黑子期莲子宽 QTL *bsw4* 和 *bsw6* 位置相同, 分别可解释

15.10%和 21.90%的表型变异率; *sw6.1* 与黑子期莲子长 *bsl6.2* 位置相同, 可解释 20.50%的表型变异率。

莲子开花数鉴定到 5 个 QTL, 分布于 3、4 和 5 连锁群, 贡献率在 5.50% ~ 17.60%, 含 2 个增效位点, 3 个减效位点。其中 *fn4.1* 和 *fn5* 在两年被重复检测, 分别介于标记 NnSSR149 ~ NnSSR181 和 NnSSR379 ~ NnSSR210 之间, 贡献率分别为 17.60%和 7.88%。

心皮数、饱粒数分别鉴定到 6 个和 5 个 QTL, QTL 位点贡献率均在 10.0%以上。这两个性状未能检测到稳定 QTL, 可能与遗传力较低有关。

3 讨论

虽然莲在中国南方地区广泛种植, 但由于其为多年生大型水生植物, 以地下茎无性繁殖为主, 其单株年扩展面积可达 66 m² 以上。因此, 对自然群体或遗传群体的性状考察需大量水泥池等隔离设施, 成本高昂。因此, 目前仅有利用基因组、转录组、蛋白组或代谢组等方法研究莲地下茎、莲子、花色等发育过程或调控机制进行研究的报道(程立宝 等, 2012; Deng et al., 2015; Yang et al., 2015; Hu et al., 2016; Wang et al., 2016)。本研究中首次尝试了利用正向遗传学对莲农艺性状进行 QTL 定位。

子莲产量由开花数、单莲蓬饱粒数和百粒质量三要素决定(陈舒启 等, 1994; 朱红莲 等, 2014), 莲子形状是决定子莲品质的重要性状。利用莲子圆柱形、短花期的‘中间湖野莲’和莲子圆球形、长花期的‘清迈野莲’构建的 F₂ 遗传群体, 成功鉴定到了 4 个可重复检测的稳定 QTL 位点, 其中莲子长、莲子宽各 1 个, 开花数 2 个。说明采用该遗传群体开展莲子形状和开花数性状的 QTL 定位是可行的。这些 QTL 位点将应用于子莲相关性状的分子标记开发。

本研究中检测到了 3 个与单粒质量相关的多效性 QTL 位点, 其中同时控制莲子宽和单粒质量性状 2 个, 分别位于第 4 和 6 连锁群 NnSSR399 ~ NnSSR039 和 NnSSR077 ~ NnSSR324 区间; 同时控制莲子长与单粒质量性状 1 个, 位于第 6 连锁群 NnSSR076 ~ NnSSR092 区间。相关性分析也表明单粒质量与莲子长、莲子宽在 F₂ 群体中表现为极显著正相关, 该结果从 QTL 水平进一步证实了莲子形状与单粒质量的相关性。

需要指出的是, 由于目前水泥池等研究条件的限制, 尚不具备大规模、多年多点开展群体性状调查的条件, 因此本研究的遗传群体数量较少, 且仅开展了两年性状定点调查。由于子莲相关性状主要受多基因控制, 遗传力较低, 导致一些 QTL 位点的稳定性较差, 如心皮数、饱粒数未能检测到重复性 QTL 位点。此外, 本研究利用了较低密度的 SSR 标记进行了 QTL 定位, 虽然 SSR 标记可靠性高且易于检测, 但随着测序技术发展和试验条件的改善, 构建更大规模遗传群体, 并采用高通量测序策略开发高密度分子标记, 开展相关性状精细定位将是下一步的研究方向。

References

- Cheng Li-bao, Li Shu-yan, Li Yan, Yin Jing-jing, Chen Xue-hao, Li Liang-jun. 2012. Isolation and expressing profile analysis of enlarging related genes in lotus root rhizome. *Acta Agronomica Sinica*, 45 (16): 3330 – 3336. (in Chinese)
- 程立宝, 李淑艳, 李 岩, 尹静静, 陈学好, 李良俊. 2012. 莲藕根状茎膨大过程中淀粉合成相关基因的表达. *中国农业科学*, 45 (16): 3330 – 3336.
- Cheng Shu-qi, Zhou Ming-quan, Hu Zhong-li, Fu Cong-yi. 1994. Analysis of yield components of seed lotus. *Tillage and Cultivation*, (2): 17 – 18. (in Chinese)

- 陈舒启, 周明全, 胡中立, 富从意. 1994. 子莲产量构成因素分析. 耕作与栽培, (2): 17 – 18.
- Deng J, Fu Z Y, Chen S, Damaris R N, Wang K, Li T T, Yang P F. 2015. Proteomic and epigenetic analyses of lotus (*Nelumbo nucifera*) petals between red and white cultivars. Plant and Cell Physiology, 56 (8): 1546 – 1555.
- Gui S T, Peng J, Wang X L, Wu Z H, Cao R, Salse J, Zhang H Y, Zhu Z X, Xia Q J, Quan Z W, Shu L P, Ke W D, Ding Y. 2018. Improving *Nelumbo nucifera* genome assemblies using high-resolution genetic maps and BioNano genome mapping reveals ancient chromosome rearrangements. Plant Journal, 94 (4): 721 – 734.
- Hu J H, Jin J, Qian Q, Huang K K, Ding Y. 2016. Small RNA and degradome profiling reveals miRNA regulation in the seed germination of ancient eudicot *Nelumbo nucifera*. BMC Genomics, 17 (1): 684.
- Ke Wei-dong, Li Feng. 2005. Descriptors and data standard for lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) . Beijing: China Agriculture Press. (in Chinese)
- 柯卫东, 李 峰. 2005. 莲种质资源描述规范和数据标准. 北京: 中国农业出版社.
- Liu Z W, Zhu H L, Liu Y P, Kuang J, Zhou K, Liang F, Liu Z H, Wang D P, Ke W D. 2016. Construction of a high-density, high-quality genetic map of cultivated lotus (*Nelumbo nucifera*) using next-generation sequencing. BMC Genomics, 17 (1): 466.
- Meng L, Li H, Zhang L, Wang J. 2015. QTL IciMapping: integrated software for genetic linkage map construction and quantitative trait locus mapping in biparental populations. The Crop Journal, 3 (3): 269 – 283.
- Ming R, VanBuren R, Liu Y, Yang M, Han Y, Li L-T, Zhang Q, Kim M-J, Schatz M C, Campbell M, Li J, Bowers J E, Tang H, Lyons E, Ferguson A A, Narzisi G, Nelson D R, Crysten B E, Gschwend A R, Jiao Y, Der J P, Zeng F, Han J, Min X, Hudson K A, Singh R, Grennan A K, Karpowicz S J, Watling J R, Ito K, Robinson S A, Hudson M E, Yu Q, Mockler T C, Carroll A, Zheng Y, Sunkar R, Jia R, Chen N, Arro J, Wai C M, Wafula E, Spence A, Han Y, Xu L, Zhang J, Peery R, Haus M J, Xiong W, Walsh J A, Wu J, Wang M, Zhu Y J, Paull R E, Britt A B, Du C, Downie S R, Schuler M A, Michael T P, Long S P, Ort D R, Schopf J W, Gang D R, Jiang N, Yandell M, dePamphilis C W, Merchant S S, Paterson A H, Buchanan B B, Li S, Shen-Miller J. 2013. Genome of the long-living sacred lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) . Genome Biology, 14: R41.
- Wang L, Fu J, Li M, Fragner L, Weckwerth W, Yang P. 2016. Metabolomic and proteomic profiles reveal the dynamics of primary metabolism during seed development of lotus (*Nelumbo nucifera*) . Frontiers in Plant Science, 7: 750.
- Wang Y, Fan G, Liu Y, Sun F, Shi C, Liu X, Peng J, Chen W, Huang X, Cheng S, Liu Y, Liang X, Zhu H, Bian C, Zhong L, Lv T, Dong H, Liu W, Zhong X, Chen J, Quan Z, Wang Z, Tan B, Lin C, Mu F, Xu X, Ding Y, Guo A, Wang J, Ke W. 2013. The sacred lotus genome provides insights into the evolution of flowering plants. The Plant Journal, 76 (4): 557 – 567.
- Yang M, Han Y, VanBuren R, Ming R, Xu L, Han Y, Liu Y. 2012. Genetic linkage maps for Asian and American lotus constructed using novel SSR markers derived from the genome of sequenced cultivar. BMC Genomics, 13 (1): 653.
- Yang M, Zhu L, Pan C, Xu Li, Liu Y, Ke W, Yang P. 2015. Transcriptomic analysis of the regulation of rhizome formation in temperate and tropical lotus (*Nelumbo nucifera*) . Scientific Reports, 5: 13059.
- Zhang Q, Li L, Van Buren R, Liu Y, Yang M, Xu L, Bowers J E, Zhong C, Han Y, Li S. 2014. Optimization of linkage mapping strategy and construction of a high-density American lotus linkage map. BMC Genomics, 15 (1): 372.
- Zhu Hong-lian, Ke Wei-dong, Liu Yu-ping, Peng Jing, Huang Lai-chun, Zhou Kai. 2014. Correlation and path analysis of main agronomic characters and yield of seed lotus. Chinese Vegetables, (3): 41 – 46. (in Chinese)
- 朱红莲, 柯卫东, 刘玉平, 彭 静, 黄来春, 周 凯. 2014. 子莲主要农艺性状与产量的相关及通径分析. 中国蔬菜, (3): 41 – 46.