

基于黄瓜基因组重测序的 InDel 标记开发及其应用

李斯更, 沈 镒, 刘 博, 邱 杨, 张晓辉, 张忠华, 王海平, 李锡香

(中国农业科学院蔬菜花卉研究所/农业部蔬菜作物基因资源与种质创制北京科学观测实验站, 北京 100081)

摘要: 基于黄瓜基因组重测序结果, 搜索 InDel 位点, 按照每隔 1~3M 个碱基对的距离选择并设计遍布全基因组的代表性 InDel 引物 134 对, 以 16 份黄瓜典型种质检测其有效性。结果显示, 134 对引物均获得扩增产物, 其中具有多态性的引物 116 对, 占引物总数的 86.6%。116 对引物充分揭示出 16 份种质的多样性和特异性。本研究所开发的 InDel 分子标记将为黄瓜种质资源和分子遗传育种研究提供有力的遗传工具。

关键词: 黄瓜; 重测序; InDel 标记; 种质鉴定

Development and Application of Cucumber InDel Markers Based on Genome Re-sequencing

LI Si-geng, SHEN Di, LIU Bo, QIU Yang, ZHANG Xiao-hui, ZHANG Zhong-hua, WANG Hai-ping, LI Xi-xiang

(Beijing Research Station of Vegetable Crop Gene Resource and Germplasm Enhancement, Ministry of Agriculture/Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081)

Abstract: In this study, 134 pairs of primers were designed by screening the InDel loci at a distance of every 1-3M base pairs on all chromosomes of cucumber based on genome re-sequencing. The effectiveness of the InDel markers were tested on 16 typical cucumber germplasms. The results showed that distinct PCR amplification products were obtained from the InDel markers. Among these markers, 116 InDel were polymorphic, accounting for 86.6% of the total and revealing the genetic diversity and specificity of the tested cucumber germplasms. The InDel markers developed in the study would offer powerful tools for cucumber germplasm identification and marker-assisted selection in cucumber breeding.

Key words: Cucumber; re-sequencing; InDel marker; germplasm identification

黄瓜 (*Cucumis sativus* L.) 是世界各国普遍栽培的重要蔬菜作物之一, 因其遗传背景狭窄, 传统育种方法很难满足黄瓜遗传改良发展的需求。随着现代分子育种技术的发展, 分子标记在黄瓜遗传育种研究中发挥了重要作用。RAPD^[1]、AFLP^[2]、SSR^[3] 等分子标记技术被广泛地应用于黄瓜种质资源遗传多样性的评价和亲缘关系鉴定^[4]、遗传图谱的构建^[5]、抗病性(霜霉病^[6]、白粉病^[7]、枯萎病^[8]、黑星病^[9]、炭疽病^[10] 等), 以及黄瓜性型^[11-12]、单性结实^[13]、苦味^[14] 等重要性状的标记和定位。同时, 基

于已知基因序列开发的 InDel 标记在黄瓜品种纯度鉴定^[15]、苦味基因定位^[16] 方面也有应用, 但这种标记的数量非常有限, 只是作为其他分子标记的补充。

基于全基因组重测序的 InDel 标记, 因其具有在基因组内分布广、密度高、变异稳定、多态性强、检测容易等优点, 受到越来越多的关注。目前, 基于全基因组的 InDel 标记在水稻^[17-18]、小麦^[19-20] 中已有应用。但是, 利用重测序技术开发 InDel 标记在黄瓜上尚无报道。黄瓜基因组测序与重测序的完成以及生物信息学技术的发展, 为 InDel 标记的开发提供了便

收稿日期: 2012-04-26 修回日期: 2012-07-19 网络出版日期: 2013-01-31

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20130131.0912.001.html>

基金项目: 国家自然科学基金项目(31171961); 农业部资源保护项目(NB2012-2130135-28); “948”项目(2011-G1-02); 农业部园艺作物生物学与种质创制重点实验室项目

作者简介: 李斯更, 硕士, 从事蔬菜种质资源研究。E-mail: sigengli@gmail.com

通信作者: 李锡香, 研究员, 博士生导师, 从事蔬菜种质资源研究。E-mail: lee0612@sina.com.cn

捷平台。本研究基于黄瓜基因组测序及重测序结果,尝试开发遍布全基因组的 InDel 标记,为黄瓜种质资源鉴定和遗传育种研究提供有力的遗传工具。

1 材料与方法

1.1 InDel 标记的鉴定及引物的设计

使用 Microsoft Excel 2007 软件从 120 多份黄瓜核心种质基因组重测序预测得到的 391173 个 InDel 位点中,筛选插入/缺失碱基数为 4~5 bp、插入/缺失变异率(变异率=同类插入/缺失占重测序总样品量的百分比)为 40%~60% 的 InDel 位点,以染色体为单位,每隔 1~3M 对碱基选取 1 个变异位点作

表 1 16 份黄瓜种质的基本信息

Table 1 The information of 16 cucumber germplasms

序号 Serial	品种编号 Code	种质来源 Origin	品种名称 Name	序号 Serial	品种编号 Code	种质来源 Origin	品种名称 Name
1	QT8	印度	-	9	QT212	湖北保康县	官斗黄瓜
2	QT53	甘肃成县	白皮黄瓜	10	QT251	江苏扬州市	扬州乳黄瓜
3	QT84	湖北武汉市	一串连黄瓜	11	QT264	辽宁丹东市	叶三秋黄瓜
4	QT94	四川会理县	大刺黄瓜	12	QT302	北京	EF1613
5	QT143	吉林舒兰县	棒黄瓜	13	QT250	辽宁锦州市	锦州小黄瓜
6	QT160	河北无极县	无极地黄瓜	14	BN28	云南西双版纳	版纳黄瓜
7	QT165	山东滕县	滕县黄瓜	15	9930	北京	育种自交系
8	QT172	日本	常盘	16	QT19	以色列	IV05A0028

1.3 DNA 的提取

在黄瓜生长的幼苗期取叶片,混合取样。试验材料基因组 DNA 提取采用改良 CTAB 法。

1.4 PCR 扩增和电泳

PCR 反应体系为 15 μL,其中 DNA 模板(15 ng/μL)2 μL,10×Buffer 1.5 μL,Mg²⁺(25 mmol/L)1.2 μL,dNTP(2.5 mmol/L)0.2 μL,上游引物(10 μmol/L)0.2 μL,下游引物(10 μmol/L)0.2 μL,Taq 酶(2.5 U/μL)0.2 μL,ddH₂O 9.5 μL。

PCR 反应程序为:94℃ 5 min;94℃ 30 s,56℃ 30 s,72℃ 1 min,25 个循环;72℃ 7 min;4℃ 保存。

8% 聚丙烯酰胺凝胶电泳,电压 120 V,电泳时间 1.5 h。银染显色后照相保存。

1.5 数据分析

根据每对引物对 16 个样本扩增获得的清晰可见且能重现的条带的位置确定基因型,有带记为 1,无带记为 0,形成一个由 0 和 1 组成的矩阵。利用 NTSYSpc 2.10e 软件中的 SAHN 程序和 UPGMA 方法进行聚类分析,计算遗传距离,生成聚类图。利用

为设计位点。

基于黄瓜全基因组序列,将选取的 InDel 位点定位在基因组上,取 InDel 位点两翼各 150 bp 碱基长度,共 301 bp 片段长度进行引物设计。

引物设计使用 Primer 3.0,上游设计范围在 1~145 bp,下游设计范围在 145~301 bp,产物大小在 80~200 bp 之间,退火温度 52~58℃。

1.2 试验材料的选取

检测引物有效性的材料为从国家蔬菜种质资源中期库中选取的 16 份遗传背景差异大的国内外黄瓜种质,其中包括西双版纳黄瓜 BN28 和黄瓜测序材料 9930。黄瓜种质的基本信息见表 1。

POPGENE 软件计算等位基因数、Shannon's 多样性信息指数 $I(I = \sum P_i \ln P_i, P_i$ 为第 i 个位点出现的频率)、基因多样性指数 H (Nei's gene diversity)。

1.6 种质特异性分析及分子身份证构建

基于 MATLAB 7.8.0 软件编写子程序,利用该程序首先确认是否有完全相同的种质,然后根据最少引物代表最多种质的原则,挑选最具代表性的引物。将每个引物扩增的各种质 1 和 0 二进制代码编码转换成十进制代码,固定引物和谱带类型的顺序并赋值,编码身份证。

2 结果与分析

2.1 黄瓜 InDel 标记的鉴定

通过搜索 InDel 位点,根据其在基因组上的分布,筛选并设计 134 对代表性 InDel 引物。这些引物在染色体上的分布为:1 号染色体 19 对,2 号染色体 18 对,3 号染色体 27 对,4 号染色体 15 对,5 号染色体 18 对,6 号染色体 23 对,7 号染色体 14 条。InDel 标记信息见表 2^[21]。

表 2 本研究开发的黄瓜 InDel 标记信息

Table 2 Information of cucumber InDel markers developed in the study

标记	染色体	产物大小(bp)	条带	<i>I</i>	<i>H</i>	标记	染色体	产物大小(bp)	条带	<i>I</i>	<i>H</i>
InDel marker	Chromosome	Size	Band			InDel marker	Chromosome	Size	Band		
CuIn101	Chr1	152	2	0.66	0.47	CuIn317	Chr3	101	2	0.64	0.45
CuIn102	Chr1	105	2	0.62	0.43	CuIn318	Chr3	140	2	0.69	0.49
CuIn103	Chr1	157	2	0.62	0.43	CuIn319	Chr3	155	3	0.74	0.43
CuIn104	Chr1	160	2	0.69	0.49	CuIn320	Chr3	148	2	0.48	0.30
CuIn105	Chr1	143	2	0.48	0.30	CuIn321	Chr3	149	2	0.66	0.47
CuIn106	Chr1	152	1	0	0	CuIn322	Chr3	159	2	0.56	0.38
CuIn107	Chr1	130	2	0.64	0.45	CuIn323	Chr3	115	2	0.56	0.38
CuIn108	Chr1	106	2	0.64	0.45	CuIn324	Chr3	97	2	0.69	0.50
CuIn109	Chr1	111	1	0	0	CuIn325	Chr3	121	2	0.68	0.48
CuIn110	Chr1	144	2	0.48	0.30	CuIn326	Chr3	160	2	0.64	0.45
CuIn111	Chr1	107	2	0.48	0.30	CuIn327	Chr3	113	2	0.48	0.30
CuIn112	Chr1	157	1	0	0	CuIn401	Chr4	118	2	0.56	0.38
CuIn113	Chr1	149	2	0.68	0.48	CuIn402	Chr4	130	2	0.66	0.47
CuIn114	Chr1	97	2	0.64	0.45	CuIn403	Chr4	118	2	0.48	0.30
CuIn115	Chr1	159	2	0.53	0.34	CuIn404	Chr4	132	2	0.56	0.38
CuIn116	Chr1	114	2	0.56	0.38	CuIn405	Chr4	154	2	0.48	0.30
CuIn117	Chr1	81	2	0.38	0.22	CuIn406	Chr4	122	2	0.48	0.30
CuIn118	Chr1	151	2	0.48	0.30	CuIn407	Chr4	73	2	0.48	0.30
CuIn119	Chr1	156	2	0.68	0.48	CuIn408	Chr4	145	2	0.64	0.45
CuIn201	Chr2	148	2	0.69	0.49	CuIn409	Chr4	139	2	0.68	0.48
CuIn202	Chr2	115	2	0.68	0.48	CuIn410	Chr4	138	1	0	0
CuIn203	Chr2	94	2	0.56	0.38	CuIn411	Chr4	128	2	0.62	0.43
CuIn204	Chr2	107	2	0.48	0.30	CuIn412	Chr4	87	2	0.64	0.45
CuIn205	Chr2	155	2	0.48	0.30	CuIn413	Chr4	105	1	0	0
CuIn206	Chr2	136	2	0.48	0.30	CuIn414	Chr4	83	2	0.48	0.30
CuIn207	Chr2	126	2	0.69	0.49	CuIn415	Chr4	138	2	0.48	0.30
CuIn208	Chr2	159	2	0.66	0.47	CuIn501	Chr5	135	1	0	0
CuIn209	Chr2	152	2	0.43	0.26	CuIn502	Chr5	149	2	0.64	0.45
CuIn210	Chr2	122	2	0.69	0.49	CuIn503	Chr5	133	2	0.69	0.50
CuIn211	Chr2	160	2	0.68	0.48	CuIn504	Chr5	114	2	0.69	0.49
CuIn212	Chr2	146	1	0	0	CuIn505	Chr5	105	2	0.69	0.49
CuIn213	Chr2	155	1	0	0	CuIn506	Chr5	135	2	0.56	0.38
CuIn214	Chr2	88	2	0.69	0.50	CuIn507	Chr5	148	1	0	0
CuIn215	Chr2	123	2	0.68	0.48	CuIn508	Chr5	128	1	0	0
CuIn216	Chr2	144	2	0.66	0.47	CuIn509	Chr5	137	1	0	0
CuIn217	Chr2	106	2	0.48	0.30	CuIn510	Chr5	98	1	0	0
CuIn218	Chr2	123	2	0.56	0.38	CuIn511	Chr5	159	2	0.38	0.22
CuIn301	Chr3	117	2	0.69	0.49	CuIn512	Chr5	131	1	0	0
CuIn302	Chr3	146	2	0.64	0.45	CuIn513	Chr5	122	1	0	0
CuIn303	Chr3	137	2	0.62	0.43	CuIn514	Chr5	159	2	0.69	0.49
CuIn304	Chr3	160	2	0.38	0.22	CuIn515	Chr5	144	2	0.69	0.50
CuIn305	Chr3	159	1	0	0	CuIn516	Chr5	112	2	0.66	0.47
CuIn306	Chr3	121	2	0.66	0.47	CuIn517	Chr5	145	2	0.69	0.49
CuIn307	Chr3	154	2	0.59	0.40	CuIn518	Chr5	159	2	0.43	0.26
CuIn308	Chr3	106	2	0.59	0.40	CuIn601	Chr6	144	2	0.69	0.49
CuIn309	Chr3	149	2	0.69	0.50	CuIn602	Chr6	126	2	0.43	0.26
CuIn310	Chr3	126	2	0.59	0.40	CuIn603	Chr6	147	2	0.69	0.50
CuIn311	Chr3	91	2	0.64	0.45	CuIn604	Chr6	120	2	0.69	0.49
CuIn312	Chr3	145	2	0.68	0.48	CuIn605	Chr6	141	2	0.69	0.50
CuIn313	Chr3	159	1	0	0	CuIn606	Chr6	141	2	0.23	0.12
CuIn314	Chr3	120	2	0.38	0.22	CuIn607	Chr6	153	2	0.69	0.49
CuIn315	Chr3	140	2	0.62	0.43	CuIn608	Chr6	107	2	0.68	0.48
CuIn316	Chr3	155	2	0.59	0.40	CuIn609	Chr6	134	2	0.66	0.47

表 2(续)

标记	染色体	产物大小(bp)	条带			标记	染色体	产物大小(bp)	条带		
InDel marker	Chromosome	Size	Band	I	H	InDel marker	Chromosome	Size	Band	I	H
CuIn610	Chr6	93	2	0.59	0.40	CuIn701	Chr7	82	2	0.68	0.48
CuIn611	Chr6	155	2	0.69	0.50	CuIn702	Chr7	151	2	0.62	0.43
CuIn612	Chr6	158	2	0.31	0.17	CuIn703	Chr7	158	2	0.69	0.49
CuIn613	Chr6	124	2	0.66	0.47	CuIn704	Chr7	109	2	0.69	0.50
CuIn614	Chr6	125	2	0.48	0.30	CuIn705	Chr7	160	1	0	0
CuIn615	Chr6	147	2	0.69	0.49	CuIn706	Chr7	117	2	0.56	0.38
CuIn616	Chr6	102	2	0.53	0.34	CuIn707	Chr7	139	2	0.38	0.22
CuIn617	Chr6	159	2	0.56	0.38	CuIn708	Chr7	160	2	0.38	0.22
CuIn618	Chr6	146	2	0.69	0.50	CuIn709	Chr7	122	1	0	0
CuIn619	Chr6	78	2	0.64	0.45	CuIn710	Chr7	153	2	0.69	0.49
CuIn620	Chr6	160	2	0.48	0.30	CuIn711	Chr7	112	2	0.38	0.22
CuIn621	Chr6	119	2	0.69	0.50	CuIn712	Chr7	100	2	0.66	0.47
CuIn622	Chr6	95	2	0.43	0.26	CuIn713	Chr7	147	2	0.66	0.47
CuIn623	Chr6	140	2	0.56	0.38	CuIn714	Chr7	98	2	0.66	0.47

2.2 黄瓜 InDel 标记的有效性检测

以 16 份典型黄瓜材料基因组 DNA 为模板,用 PCR 方法检测 134 对引物有效性。134 对引物均能扩增出特异的目标产物。CuIn317 的扩增带型见图 1。

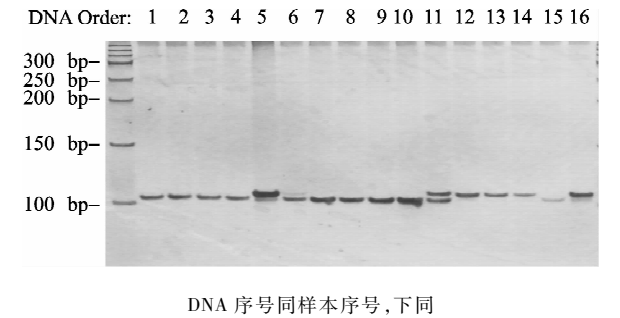


图 1 引物 CuIn317 对 16 份种质资源的扩增结果

Fig.1 Electrophoresis profile of the amplified products from 16 germplasm DNA by primers CuIn317

经统计,134 对引物在 16 份种质中共扩增获得 251 个清晰可辨的位点,平均每对引物 1.87 个位点。多态性引物 116 对,占总设计数比例为 86.6%;扩增出的多态性位点 233 个,占总位点数的 92.8%。其中,CuIn319 扩增出 3 条多态性带,其他标记都扩增出了 2 条多态性带。可见,本研究设计的 InDel 引物不仅对基因组的覆盖度高,而且多态性强。

2.3 引物在鉴定种质资源遗传多样性和特异性中的应用

对 116 对引物扩增 16 份种质结果进行统计分析,由每对引物反映的基因多样性指数分布在 0.12~0.50 之间,Shannon's 多样性信息指数 *I* 分布在 0.23~0.69 之间(表 2)。可见,本研究开发的引物

能够较好地显示种质资源遗传多样性。

使用 UPGMA 方法做聚类分析,从聚类结果可以看出(图 2),在遗传相似系数 0.61 处,将 16 份材料分为 2 大类群,一类为印度、以色列等国外短圆筒种质和国内 1 份华南型黄瓜以及西双版纳黄瓜;另一类是以国内品种为主的华南型、华北型黄瓜。

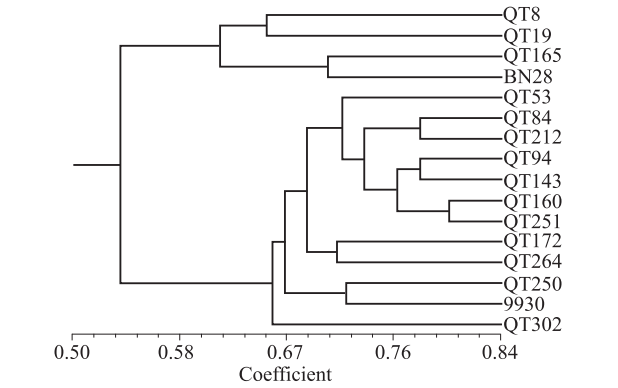


图 2 基于 Nei's 遗传距离的 16 份黄瓜种质的 UPGMA 聚类图

Fig.2 UPGMA dendrogram of 16 cucumber germplasm based on Nei's genetic distance

研究同时发现,某些引物能扩增出某种质自身的特异带或某些种质共有的特殊带,如引物 CuIn319(图 3)、CuIn606 能够检测出印度黄瓜特异的带型;引物 CuIn304(图 4)、CuIn117 能检测出印度黄瓜与以色列黄瓜的特异带型;引物 CuIn314、CuIn612 能扩增出 BN28 与 QT165 的特有带型;CuIn707、CuIn711 能扩增出 QT8、BN28 的特有带型;CuIn511 能扩增出 QT8、QT165 的特有带型;CuIn320 能扩增出 QT251、BN28、QT19 的特

有带型;CuIn406 能扩增出 QT172、BN28、QT19 的特有带型;CuIn414 能扩增出 QT250、BN28、QT19 的特有带型;CuIn415 能扩增出 QT143、BN28、QT19 的特有带型;CuIn620 能扩增出 QT165、BN28、QT19 的特有带型。

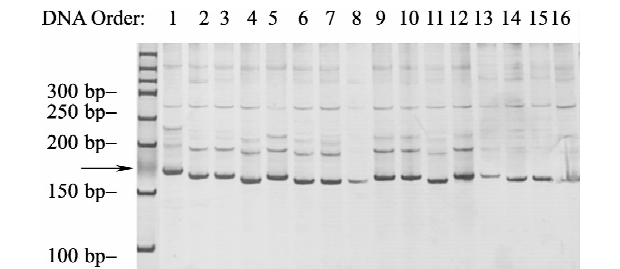


图3 引物 CuIn319 显示的印度黄瓜 QT8 的特异带
Fig.3 The specific band of India cucumber QT8 amplified by primer CuIn319

表 3 7 对引物扩增结果

Table 3 The original matrix of the molecular data by 7 pairs of primers

引物名称 Primer	PCR 产物大小 (bp) Size	品种序号 Sample serial															
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
CuIn614	140	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	1
	135	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
CuIn623	150	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	0	1
	145	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0
CuIn703	160	1	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	1	1	0	1	0
	155	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	1	0	0	1	0	1
CuIn707	145	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1
	140	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
CuIn712	150	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1	1	0
	145	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	0	1	0	0	0	1
CuIn713	160	1	0	0	1	1	1	0	0	1	1	0	1	1	0	1	1
	155	0	1	1	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0
CuIn714	105	0	1	1	1	0	0	0	1	1	0	1	1	1	0	1	1
	100	1	0	0	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0

统计各引物在单份种质中的扩增结果,将单一条带有、无的二进制代码,按照带型“1”“0”组合记为 1,“0”“1”组合记为 2,转换成十进制代码(表

表 4 黄瓜 16 份种质分子身份证号码

Table 4 ID of 16 cucumber germplasm

品种编号 Code		分子身份证号码 Molecular ID								品种编号 Code		分子身份证号码 Molecular ID							
QT8	1	1	1	2	2	1	2			QT212	2	1	2	1	1	1	1		
QT53	1	1	1	1	2	2	1			QT251	1	2	2	1	2	1	2		
QT84	2	1	1	1	1	2	1			QT264	1	1	2	1	1	2	1		
QT94	1	2	1	1	2	1	1			QT302	2	2	1	1	2	1	1		
QT143	1	1	2	1	2	1	2			QT250	1	1	1	1	1	1	1		
QT160	1	1	1	1	2	1	2			BN28	1	1	2	2	1	2	2		
QT165	1	1	1	1	2	2	2			9930	1	2	1	1	1	1	1		
QT172	1	1	2	1	2	2	1			QT19	1	1	2	1	2	1	1		

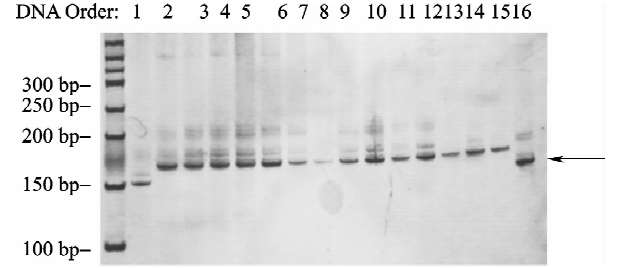


图4 引物 CuIn304 显示的印度黄瓜 QT8 与以色列黄瓜 QT19 的特异带
Fig.4 The specific band of India cucumber QT8 and Isreal cucumber QT19 amplified by primer CuIn304

使用 MATLAB 7.8.0 软件筛选多态性好、鉴别效率高的核心引物,发现通过 7 对引物 CuIn614、CuIn623、CuIn703、CuIn707、CuIn712、CuIn713、CuIn714 扩增条带的组合能够将 16 份种质完全区分开来(表 3)。

4)。依据十进制代码,便可构建每份种质独有的分子身份证,以实现种质的有效鉴定。

3 讨论

InDel 标记是一种分布范围广、密度高、变异稳定性强的分子标记。但目前 InDel 标记的开发多根据已知基因序列的比对分析得到的少量插入/缺失位点^[14-16,19]进行引物设计。此法得到的引物数量少,应用范围有限。

本研究基于黄瓜基因组测序及 120 份黄瓜核心种质的重测序,根据发现的 InDel 位点的插入/缺失信息,筛选设计分布全基因组的 134 对 InDel。用 16 份遗传背景差异大的国内外黄瓜种质对其有效性的检测结果显示,基于高通量测序结果设计 InDel 引物,扩增产物清晰,获得有效多态性引物 116 对,占总数的 86.6%。这是在黄瓜第 1 代和第 2 代分子标记开发应用中未曾达到的水平,如张海英等^[5]利用 RAPD、AFLP 和 SSR 标记方法构建黄瓜遗传图谱,各种标记显示的多态性比例仅为 12.7%、34.2% 和 16.7%;嵇怡等^[22]利用 ISSR 和 SRAP 标记对黄瓜株高进行 QTL 定位,从 80 条 ISSR 引物中获得 32 条多态性引物,从 14 对 378 个组合的 SRAP 引物中获得多态性引物 60 对;J. B. Hu 等^[23]开发应用于黄瓜的 EST-SSR 标记,在 35 对设计引物中,28 对获得了有效扩增产物,多态性引物比率为 74.28%。

在 16 份种质中,134 对 InDel 引物扩增出的多态性位点 233 个,多态性条带比例达到 92.8%,多态性比例高,另因平均每对引物多态性位点 1.87 个,较之 AFLP、SSR 等标记更易于检测。而李锡香等^[2]采用 AFLP 方法分别对 70 份不同来源黄瓜进行分析,多态性条带比率仅占 66%;并使用 29 个 RAPD 引物对 66 份黄瓜进行遗传多样性分析,多态性条带比率达到 77.08%;王佳^[24]等通过 ISSR 标记分析 46 份黄瓜种质资源遗传多样性,8 个 ISSR 扩增获得的多态性带比例达到 85.71%。

InDel 标记显示了 16 份种质的较丰富的遗传多样性和特异性,经过特异位点的筛选和组合,在本研究中仅用 7 对引物便能区分所有 16 份种质,并尝试了基于 7 对引物的扩增数据进行种质分子身份证的构建,结果显示基于全基因组开发的 InDel 标记能有效检测出遗传背景狭窄的黄瓜种质之间丰富的遗传变异,有望应用于黄瓜分子身份证的构建,为进一步开展黄瓜种质资源的鉴定和新品种选育提供了高

效的工具。

参考文献

[1] Dawei L, Hugo E C, Luming Y, et al. Syntenic relationships between cucumber(*Cucumis sativus* L.) and melon(*C. melo* L.) chromosomes as revealed by comparative genetic mapping[J]. BMC Genomics, 2011, 12: 396

[2] 李锡香, 朱德蔚, 杜永臣, 等. 黄瓜种质资源遗传多样性及其亲缘关系的 AFLP 分析[J]. 园艺学报, 2004, 31(3): 309-314

[3] Pablo F C, Douglas A S, Luming Y, et al. Genome-wide characterization of simple sequence repeats in cucumber(*Cucumis sativus* L.) [J]. Genomics, 2010, 11: 569

[4] 李锡香, 朱德蔚, 杜永臣, 等. 黄瓜种质资源遗传多样性的 RAPD 鉴定与分类研究[J]. 植物遗传资源学报, 2004, 5(2): 147-152

[5] 张海英, 葛风伟, 王永健, 等. 黄瓜分子遗传图谱的构建[J]. 园艺学报, 2004, 31(5): 617-622

[6] 张素勤, 顾兴芳, 张圣平, 等. 黄瓜霜霉病抗性相关基因的 AFLP 标记[J]. 西北植物学报, 2010, 30(7): 1320-1324

[7] 杜胜利, 张桂华, 李淑菊, 等. 黄瓜抗白粉病基因 AFLP 标记的 SCAR 转换[J]. 园艺学报, 2005, 32(6): 1095-1097

[8] 张海霞. 黄瓜抗枯萎病基因连锁分子标记的研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2006

[9] 张桂华, 韩毅科, 孙小红, 等. 与黄瓜抗黑星病基因连锁的分子标记研究[J]. 中国农业科学, 2006, 39(11): 2250-2254

[10] 王惠哲, 李淑菊, 刘秀峰, 等. 与黄瓜抗炭疽病相关基因连锁的 AFLP 标记的筛选[J]. 园艺学报, 2007, 34(1): 213-216

[11] 姜群峰, 陈劲枫, Molly Jahn, 等. 黄瓜全雌性基因连锁的 AFLP 和 SCAR 分子标记[J]. 园艺学报, 2005, 32(2): 256-261

[12] 潘俊松. 黄瓜性型的遗传分析与基因定位[D]. 上海: 上海交通大学, 2006

[13] 王佳. 黄瓜单性结实和种质资源遗传多样性的 ISSR 分析[D]. 扬州: 扬州大学, 2007

[14] 张圣平, 苗晗, 程周超, 等. 黄瓜果实苦味基因 *Bt* 的初步定位[J]. 园艺学报, 2011, 38(4): 709-716

[15] 兰青阔, 张桂华, 王永, 等. 基于 InDel 标记快速检测黄瓜津优 38 种子纯度[J]. 种子, 2011, 30(6): 19-23

[16] 张圣平, 苗晗, 程周超, 等. 黄瓜果实苦味(*Bt*) 基因的插入缺失(InDel) 标记[J]. 农业生物技术学报, 2011, 19(4): 649-653

[17] 冯芳君, 罗利军, 李荧, 等. 水稻 InDel 和 SSR 标记多态性的比较分析[J]. 分子植物育种, 2005, 3(5): 725-730

[18] 杨德卫, 曾美娟, 卢礼斌, 等. 一个水稻矮秆突变体的遗传分析及基因定位[J]. 植物学报, 2011, 46(6): 617-624

[19] 陈吉宝, 景蕊莲, 员海燕, 等. 小麦 *TaDREB1* 基因的单核苷酸多态性分析[J]. 中国农业科学, 2005, 38(12): 2387-2394

[20] 尚世界. 小麦抗病基因类似序列(RGA) 标记开发及其利用[D]. 北京: 中国农业科学院, 2009

[21] 李斯更. 黄瓜性型分化相关基因关联分析及性型稳定性的 DNA 甲基化研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2012

[22] 嵇怡, 徐强, 缪珉, 等. 黄瓜遗传图谱构建及株高相关性状的 QTL 定位[J]. 园艺学报, 2009, 36(10): 1450-1456

[23] Hu J B, Zhou X Y, Li J W. Development of novel EST-SSR markers for cucumber(*Cucumis sativus* L.) and their transferability to related species[J]. Sci Hort, 2010, 125(3): 534-538

[24] 王佳, 徐强, 缪珉, 等. 黄瓜种质资源遗传多样性的 ISSR 分析[J]. 分子植物育种, 2007, 5(5): 677-682