

# 黄瓜发芽期耐热性评价及全基因组关联分析

张 松, 苗 晗, 宋子超, 薄凯亮, 王 烨, 顾兴芳, 张圣平

(中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 北京 100081)

**摘要:** 高温会降低作物种子活力, 减慢或完全抑制发芽, 是制约黄瓜生产的重要非生物胁迫之一。本研究以 96 份黄瓜核心种质为试材, 在 42 °C 下进行发芽试验, 利用相对发芽率、相对发芽势、相对发芽指数和相对胚根长度计算出的综合评价价值, 对核心种质发芽期耐热性进行鉴定评价; 并利用重测序数据, 对核心种质发芽期的耐热性进行全基因组关联分析。通过鉴定, 筛选出了 2 份耐热性极强的材料 CG109 和 CG110, 综合评价价值均大于 0.9。通过全基因组关联分析, 检测到 5 个与相对发芽率关联的位点, 分别是 *GGP4.1*、*GGP4.2*、*GGP5.1*、*GGP5.2* 和 *GGR6.1*; 2 个与相对发芽势关联的位点, 分别是 *GGV4.1* 和 *GGV5.1*; 2 个与相对发芽指数关联的位点, 分别是 *GGI4.1* 和 *GGI5.1*; 2 个与相对胚根长度关联的位点, 分别是 *GRL6.1* 和 *GRL7.1*。在以上位点中, *GGI4.1*、*GGV4.1* 和 *GGP4.1* 均位于 Chr.4 的同一区间; *GGI5.1*、*GGV5.1* 和 *GGP5.2* 均位于 Chr.5 的同一区间。这 2 个区段的关联位点利用相对发芽率、相对发芽指数和相对发芽势 3 个指标均可检测到, 由此推测该区域存在与发芽期耐热性相关的基因。

**关键词:** 黄瓜; 核心种质; 发芽期; 耐热性; GWAS

## Evaluation and Genome-wide Association Study ( GWAS ) of Thermotolerance for Cucumber at the Germination Stage

ZHANG Song, MIAO Han, SONG Zi-chao, BO Kai-liang, WANG Ye, GU Xing-fang, ZHANG Sheng-ping

( The Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081 )

**Abstract:** High temperature, which can reduce crop seed vigor, slow down or completely inhibit germination, is one of the important abiotic stresses that restrict cucumber production. A set of core germplasm including 96 cucumber accessions were used to identify thermotolerance at high temperature 42 °C during the seed germination stage. The thermotolerance was evaluated using a comprehensive index, which include the relative germination percentage, relative germination vigor, relative germination index and relative radicle length. The re-sequencing data of the core germplasm were used to perform the Genome-wide association study ( GWAS ). We identified two accessions, CG109 and CG110, which have a pretty strong thermotolerance, with the comprehensive index of over 0.9. We detected 5 loci for relative germination percentage: *GGP4.1*, *GGP4.2*, *GGP5.1*, *GGP5.2* and *GGR6.1*; 2 for relative germination vigor: *GGV4.1* and *GGV5.1*; 2 for relative germination index: *GGI4.1* and *GGI5.1*; 2 for relative radicle length: *GRL6.1* and *GRL7.1*. Among them, *GGI4.1*, *GGV4.1* and *GGP4.1* are located to the same physical region of Chr.4, and *GGI5.1*, *GGV5.1* and *GGP5.2* are located to the same region of Chr.5. The loci located in these two regions can be detected simultaneously by relative germination percentage, relative germination vigor and relative germination index three different indicators, which suggested that the two regions could include genes related to thermotolerance.

收稿日期: 2018-06-24    修回日期: 2018-08-22    网络出版日期: 2018-11-14

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20181113.1024.003.html>

第一作者研究方向为蔬菜遗传育种, E-mail: zhangsongcaas@163.com

通信作者: 张圣平, 研究方向为黄瓜遗传育种, E-mail: zhangshengping@caas.cn

顾兴芳, 研究方向为黄瓜遗传育种, E-mail: guxingfang@caas.cn

基金项目: 国家重点研发计划 ( 2018YFD0100702 )

Foundation project: National Key R&D Program of China ( 2018YFD0100702 )

**Key words:** cucumber; core germplasm; germination stage; thermotolerance; genome-wide association study

黄瓜原产于喜马拉雅山南麓印度、尼泊尔一带的温暖地区,性喜温不耐热,最适宜生长温度为 25~30 ℃,当温度超过 35 ℃,会导致光合作用不良,温度超过 45 ℃,导致热胁迫<sup>[1]</sup>。在我国,黄瓜的栽培形式主要有露地栽培和保护地栽培两种,在露地栽培中,往往会经历夏季高温天气,并伴随干旱和强日照;在设施栽培的春末和秋初,设施内温度经常超过 35 ℃,最高温度可达 50 ℃,高温热害已成为黄瓜生产中不可避免的非生物胁迫之一,对黄瓜的优质高产造成了严重的影响<sup>[2]</sup>。增强黄瓜耐热性的方式有很多种,选育耐高温的黄瓜品种是解决高温热害最根本的途径,因此对种质资源进行耐热性鉴定,发掘并利用优质耐热种质,已成为育种研究的重要方向之一。

种子萌发是植物生长的起始阶段,其好坏直接影响到幼苗的生长,并最终影响产量。耐热性强的种子在高温下仍能保持较高的种子活力和发芽率,出苗更整齐,幼苗健壮<sup>[3]</sup>。前人研究表明,种子的活力与植物苗期的各项指标均存在相关性<sup>[4-5]</sup>。在低温耐受性研究中,通过种子低温发芽能力鉴定种质的低温耐受性的方法,已成功运用到茄子和辣椒等蔬菜作物中<sup>[6]</sup>,该方法简单快捷,能有效规避成株期和苗期鉴定中的诸多限制因素<sup>[7]</sup>。黄瓜种子萌发的最适温度为 25~30 ℃,42 ℃条件下胚根伸长受到

明显抑制,45 ℃条件下胚根伸长完全受到抑制<sup>[8]</sup>。杨寅桂<sup>[9]</sup>和孟令波<sup>[2]</sup>的研究也表明,42 ℃是黄瓜发芽期高温鉴定的理想温度。因此,在 42 ℃条件下对不同黄瓜种质进行发芽期耐热性鉴定,并寻找与发芽期耐热性相关的基因,对促进耐热性强黄瓜品种的选育有重要意义。本研究以 96 份黄瓜核心种质为试验材料,采用直立平板法,在 42 ℃下进行高温发芽试验,每隔 12 h 记录发芽种子数目,于第 72 小时测量胚根长度,并计算相对发芽率、相对发芽势、相对发芽指数和相对胚根长度,根据 4 个指标的综合评价来判断不同种质的耐热性。结合核心种质重测序数据,对发芽期耐热性进行全基因组关联分析,寻找与耐热性相关的基因和 SNP 位点。以期为黄瓜耐热种质资源的利用和耐热基因的发掘奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本研究试验材料为 96 份黄瓜核心种质,由中国农业科学院蔬菜花卉研究所黄瓜遗传育种课题组提供。黄瓜核心种质是从世界各地 3000 多份材料中筛选出来的<sup>[10]</sup>,能覆盖黄瓜 75% 以上的遗传多样性(表 1),已经完成全基因组重测序,测序信息见黄瓜基因组网站(<http://www.icugi.org/cgi-bin/ICuGI/index.cgi>)。

表 1 供试种质及地理来源

Table 1 The code and geographical origin of germplasms

编号 No.	地理来源 Geographical origin	编号 No.	地理来源 Geographical origin	编号 No.	地理来源 Geographical origin	编号 No.	地理来源 Geographical origin
CG1	西班牙,特鲁埃尔	CG13	刚果	CG28	日本	CG44	美国
CG2	印度,拉贾斯坦邦	CG14	赞比亚中部	CG29	日本	CG45	美国
CG3	日本	CG15	赞比亚中部	CG30	日本	CG47	美国
CG4	日本	CG16	赞比亚铜带	CG31	日本	CG50	印度尼西亚
CG5	荷兰	CG17	印度,拉贾斯坦邦	CG32	荷兰	CG51	斯里兰卡
CG6	前苏联	CG19	印度	CG33	NA	CG52	NA
CG7	美国	CG20	印度,中央邦	CG35	荷兰	CG54	中国,西双版纳
CG8	美国	CG21	印度,中央邦	CG36	波兰	CG55	中国,四川
CG9	美国	CG23	印度,拉贾斯坦邦	CG37	俄罗斯联邦	CG56	中国
CG10	伊朗	CG25	NA	CG39	欧洲	CG57	中国
CG11	伊朗	CG26	中国	CG40	NA	CG58	中国
CG12	津巴布韦	CG27	中国	CG43	美国	CG59	中国,金林

表 1( 续 )

编号 No.	地理来源 Geographical origin	编号 No.	地理来源 Geographical origin	编号 No.	地理来源 Geographical origin	编号 No.	地理来源 Geographical origin
CG60	中国	CG86	印度	CG98	中国, 吉林	CG110	匈牙利
CG61	日本	CG87	印度, 北方邦	CG99	中国, 河北	CG111	俄罗斯联邦, 阿尔泰
CG62	中国	CG88	印度	CG100	中国, 山东	CG112	土耳其, 开塞里
CG63	美国, 纽约	CG89	中国, 吉林	CG101	中国, 山东	CG113	土耳其, 马尔丁
CG69	中国, 西双版纳	CG90	中国, 吉林	CG102	中国, 山东	CG114	波多黎各
CG70	中国, 西双版纳	CG91	中国, 吉林	CG103	日本	CG116	叙利亚共和国
CG71	中国, 西双版纳	CG92	巴基斯坦, 旁遮普	CG104	日本, 大阪	CG117	印度
CG72	中国, 西双版纳	CG93	中国, 天津	CG105	中国, 广东	CG118	印度, 北方邦
CG77	中国, 西双版纳	CG94	中国, 辽宁	CG106	中国, 湖南	CG120	中国, 山西
CG78	中国, 西双版纳	CG95	中国, 河北	CG107	中国, 重庆	CG201	中国, 北京
CG84	中国, 西双版纳	CG96	中国, 河北	CG108	中国, 山东		
CG85	中国, 西双版纳	CG97	中国, 四川	CG109	匈牙利		

NA: 材料来源未知  
NA: The origin of germplasms is unknown

1.2 试验方法

1.2.1 发芽期高温处理 参考苏世闻<sup>[11]</sup>的方法, 每份材料选取来源一致、年份相同、籽粒饱满的种子 50 粒为 1 个重复, 3 次重复, 在 42 ℃ 下进行高温发芽, 以在 28 ℃ 下进行常温发芽作为对照, 采用直立平板法。具体处理为: 先将种子置于培养皿中, 用 55 ℃ 温水浸种 4 h, 将滤纸铺在玻璃板上, 滤纸的下端要长于玻璃板。把浸好的种子珠孔朝下, 均匀地放置于铺有滤纸的玻璃板上, 在种子上再盖一块玻璃板, 用夹子将两块玻璃板夹住, 将玻璃板竖立起来放置于盛水的托盘中, 将托盘置于恒温发芽箱内。随机排列, 发芽期间, 每隔 12 h 记录发芽数目, 于发芽后第 3 天测量胚根长度。

1.2.2 指标计算 用 Excel、SAS 9.2 等软件计算发芽率( germination percentage )、发芽势( germination vigor )、发芽指数( germination index )、相对发芽率( RGP, relative germination percentage )、相对发芽势( RGV, relative germination vigor )、相对发芽指数( RGI, relative germination index )、相对胚根长度( RRL, relative radicle length )。指标计算方法如下。

发芽率 = ( 高温或常温处理 7 d 发芽种子粒数 / 供试种子总粒数 ) × 100%<sup>[12]</sup>;

发芽势 = ( 高温或常温处理 3 d 发芽种子粒数 / 供试种子总粒数 ) × 100%<sup>[13]</sup>;

发芽指数 =  $\sum ( \text{日发芽数} / \text{发芽天数} ) \times 100\%$ <sup>[14]</sup>;

相对发芽率 = 高温处理 7 d 发芽率 / 常温处理 7 d 发芽率;

相对发芽势 = 高温处理 3 d 发芽势 / 常温处理 3 d 发芽势;

相对发芽指数 = 高温处理 7 d 发芽指数 / 常温处理 7 d 发芽指数;

相对胚根长度 = 高温处理 3 d 胚根长度 / 常温处理 3 d 胚根长度。

1.2.3 数据处理 使用 Excel、SAS 9.2 软件( SAS Institute Inc., Cary, NC, USA )对所得发芽数据依次进行相关性分析、主成分分析、隶属函数分析及聚类分析。主成分权重  $W_j = I_j / \sum I_j (j=1, 2, \cdots, n)$ <sup>[15-16]</sup>, 其中  $I_j$  表示第 j 主成分的贡献率; 隶属函数值  $U(X_j) = (X_j - X_{\min}) / (X_{\max} - X_{\min}) (j=1, 2, \cdots, n)$ , 其中  $X_j$  表示第 j 主成分值,  $X_{\min}$  和  $X_{\max}$  分别代表不同种质中第 j 主成分的最小值和最大值<sup>[15-16]</sup>; 综合评价值( comprehensive evaluation values )  $D = \sum (U_j \times W_j) (j=1, 2, \cdots, n)$ <sup>[15-16]</sup>, 以 D 值作为综合评价指标来代表各种质的芽期耐热性, 聚类分析采用离差平方和法( Ward )<sup>[17]</sup>。

1.2.4 全基因组关联分析 结合核心种质耐热性鉴定的数据, 对黄瓜芽期耐热性进行全基因组关联分析, 使用 Tassel 3.0 软件进行关联分析, 采用一般线性模型( GLM ), 并绘制曼哈顿图<sup>[18]</sup>。

2 结果与分析

2.1 黄瓜核心种质发芽期耐热性评价

2.1.1 变异分析 常温( 28 ℃ )下, 核心种质材料均可发芽, 且发芽较整齐, 胚根伸长明显。高温( 42 ℃ )下, 不同材料之间的差异较大, 从图 1 可以

看出,CG71 没有发芽,CG91 发芽但是芽长较短,CG117 和 CG109 发芽且芽长较长。对高温下核心种质发芽情况进行变异分析(表 2)可知,相对发芽

率和相对发芽势的分布范围最大,均在 0~1 之间,变异系数分别为 0.36 和 0.46;相对胚根长度的变异系数最大,为 0.51,相对发芽指数的变异系数为 0.43。

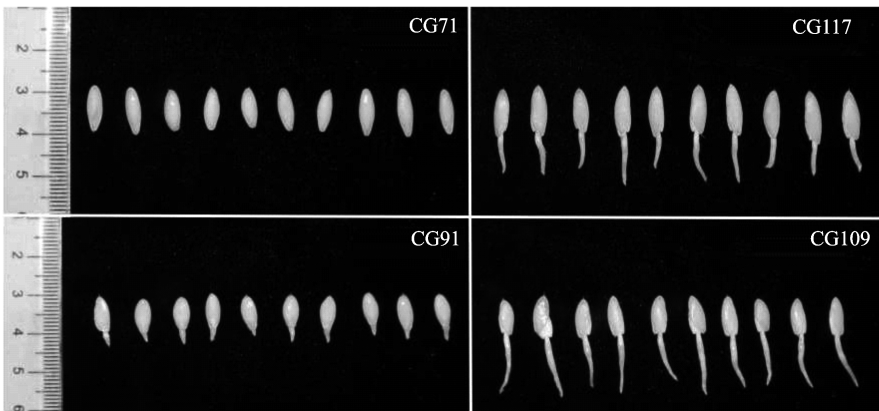


图 1 不同种质材料在 42 °C发芽 3 d 的情况

Fig.1 The germination of different germplasm 3 days post sowing under 42 °C

表 2 核心种质 42 °C发芽变异分析

指标 Index	峰度 Kurtosis	偏度 Skewness	均值 Average	范围 Range	变异 系数 CV
相对发芽率 RGP	0.49	-1.17	0.74 ± 0.27	0~1	0.36
相对发芽势 RGV	-0.43	-0.75	0.62 ± 0.28	0~1	0.46
相对发芽指数 RGI	-0.61	-0.53	0.52 ± 0.23	0~0.98	0.43
相对胚根长度 RRL	0.03	0.02	0.36 ± 0.18	0~0.82	0.51

RGP: Relative germination percentage, RGV: Relative germination vigor, RGI: Relative germination index, RRL: Relative radicle length. The same as below

**2.1.2 相关性分析** 对相对发芽率、相对发芽势、相对发芽指数和相对胚根长度进行相关性分析<sup>[19]</sup>(表 3)。分析结果表明,4 个指标均表现为极显著相关,其中相对发芽率、相对发芽势和相对发芽指数两两之间均为高度相关,两两之间的相关系数均大于 0.9,其中相对发芽势和相对发芽指数的相关系数最高,为 0.9587,相对发芽率和相对发芽势的相关系数次之,为 0.9535,相对发芽率和相对发芽指数的相关系数为 0.9234。相对胚根长度与相对发芽率、相对发芽势和相对发芽指数 3 个指标之间的相关系数在 0.5200~0.5600 之间。

**2.1.3 主成分分析** 通过主成分分析(PCA, principal component analysis)(表 4),得到 4 个主成分。前 2 个主成分的方差贡献率分别为 81.88% 和 15.41%,主成分 1 主要包括相对发芽率、相对发芽势、相对发芽指数和相对胚根长度,主成分 2 主要包

表 3 核心种质 42 °C发芽相关性分析

指标 Index	相对 发芽率 RGP	相对 发芽势 RGV	相对发芽 指数 RGI	相对胚根 长度 RRL
相对发芽率 RGP	1			
相对发芽势 RGV	0.9535**	1		
相对发芽指数 RGI	0.9234**	0.9587**	1	
相对胚根长度 RRL	0.5566**	0.5437**	0.5201**	1

\*\* 表示 0.01 水平下差异显著  
\*\* indicates significant differences under 0.01 level

表 4 核心种质 42 °C发芽主成分矩阵

参数 Parameter	主成分 Principal component			
	1	2	3	4
相对发芽率 RGP	0.5337	-0.1857	-0.7418	0.3612
相对发芽势 RGV	0.5380	-0.2222	0.0474	-0.8118
相对发芽指数 RGI	0.5302	-0.2503	0.6676	0.4589
相对胚根长度 RRL	0.3803	0.9238	0.0432	0.0017
累计贡献率(%) Cumulative	81.88	97.29	99.18	100

括相对发芽势、相对发芽指数和相对胚根长度。这 2 个主成分累计贡献率 97.29%,前 2 个主成分足以

说明数据的变化趋势,符合主成分分析的要求,因此选定前 2 个主成分作为数据分析的有效主成分。选定的 2 个指标代表了之前 4 个指标 97.29% 的信息。

**2.1.4 隶属函数分析** 计算 2 个主成分权重和每份材料的综合评价值  $D$  值,其中,第 1 主成分权

重为 84.16%,第 2 主成分权重为 15.84%。 $D$  值越高说明材料耐高温能力越强。在所有的供试材料中,CG109 和 CG110 的  $D$  值最高(表 5),分别为 0.9577 和 0.9122,说明这两份材料的芽期耐热性能最强;CG54 和 CG86 的  $D$  值最小,为 0.1126 和 0.1061,表明这 2 份材料的芽期耐热性能最弱。

表 5 各材料相对发芽指标及公因子得分、隶属函数、综合评价值

Table 5 Values of germination indicators, principal components, subordinate function, and comprehensive evaluation ( $D$  value) for germplasms

编号 Code	相对发芽 率 RGP	相对发芽 势 RGV	相对发芽指 数 RGI	相对胚根长 度 RRL	公因子得分 Component scores C ( x )		隶属值 Membership value		$D$ 值 $D$ value
					C1	C2	$U_{(x1)}$	$U_{(x2)}$	
CG1	0.9747	0.8857	0.7898	0.2544	1.5122	-0.3405	0.8575	0.3194	0.7723
CG2	0.6568	0.6456	0.5221	0.3095	1.0923	-0.1102	0.6194	0.5564	0.6094
CG3	0.6045	0.4075	0.4090	—	0.7587	-0.3052	0.4302	0.3558	0.4184
CG4	0.4909	0.4559	0.3618	—	0.6991	-0.2830	0.3964	0.3786	0.3936
CG5	0.4883	0.3747	0.3443	—	0.6448	-0.2601	0.3656	0.4021	0.3714
CG6	0.8773	0.8076	0.7110	0.3413	1.4095	-0.2050	0.7993	0.4588	0.7453
CG7	0.6379	0.6180	0.4840	—	0.9295	-0.3769	0.5271	0.2819	0.4883
CG8	0.9606	0.6975	0.7222	0.3235	1.3939	-0.2153	0.7904	0.4483	0.7362
CG9	0.8948	0.7889	0.7265	0.2670	1.3887	-0.2767	0.7875	0.3851	0.7238
CG10	0.7533	0.6667	0.6832	0.3515	1.2566	-0.1343	0.7126	0.5316	0.6839
CG11	0.9156	0.7540	0.6324	0.5388	1.4345	0.0019	0.8135	0.6717	0.7910
CG12	0.9725	0.9447	0.7904	0.5147	1.6421	-0.1129	0.9312	0.5537	0.8714
CG13	0.9000	0.8267	0.7672	0.1863	1.4027	-0.3707	0.7954	0.2883	0.7151
CG14	0.5695	0.5588	0.4192	—	0.8268	-0.3348	0.4689	0.3252	0.4461
CG15	0.8574	0.7044	0.7164	0.3409	1.3460	-0.1801	0.7633	0.4844	0.7191
CG16	0.7801	0.7462	0.6190	0.3573	1.2819	-0.1355	0.7269	0.5304	0.6958
CG17	0.3453	0.3454	0.3389	0.4810	0.7327	0.2186	0.4155	0.8948	0.4914
CG19	0.9741	0.9224	0.8232	0.4147	1.6103	-0.2088	0.9131	0.4549	0.8406
CG20	0.5552	0.5444	0.4643	0.3205	0.9573	-0.0442	0.5428	0.6243	0.5558
CG21	0.9636	0.8206	0.7753	0.4987	1.5565	-0.0947	0.8826	0.5724	0.8335
CG23	0.6233	0.5011	0.4567	0.4911	1.0312	0.1122	0.5847	0.7853	0.6165
CG25	0.8329	0.8111	0.6101	0.2433	1.2969	-0.2628	0.7354	0.3993	0.6822
CG26	0.6601	0.9706	0.7798	0.3933	1.4375	-0.1701	0.8152	0.4947	0.7644
CG27	0.2014	0.1174	0.0865	0.0868	0.2495	-0.0049	0.1415	0.6647	0.2244
CG28	0.5403	0.5173	0.3430	—	0.7485	-0.3011	0.4245	0.3599	0.4142
CG29	0.6275	0.3922	0.3257	—	0.7185	-0.2852	0.4075	0.3763	0.4025
CG30	0.3800	0.2521	0.2286	0.2942	0.5716	0.0880	0.3241	0.7603	0.3932
CG31	0.7258	0.4839	0.5821	—	0.9563	-0.3880	0.5423	0.2705	0.4993
CG32	0.9794	0.9728	0.7650	0.5271	1.6522	-0.1026	0.9369	0.5642	0.8778

表 5(续)

编号 Code	相对发芽 率 RGP	相对发芽 势 RGV	相对发芽指 数 RGI	相对胚根长 度 RRL	公因子得分 Component scores C ( x )		隶属值 Membership value		D 值 D value
					C1	C2	U <sub>(X1)</sub>	U <sub>(X2)</sub>	
CG33	0.3318	0.2652	0.1920	0.2836	0.5294	0.0934	0.3002	0.7659	0.3740
CG35	0.9133	0.7133	0.7312	0.3915	1.4078	-0.1495	0.7983	0.5160	0.7536
CG36	0.6581	0.6410	0.4975	—	0.9599	-0.3892	0.5443	0.2693	0.5007
CG37	0.8667	1.0000	0.8440	0.3745	1.5904	-0.2484	0.9019	0.4142	0.8246
CG39	0.9177	0.6718	0.3953	0.3070	1.1776	-0.1350	0.6677	0.5308	0.6461
CG40	0.3407	0.2528	0.1926	—	0.4200	-0.1677	0.2382	0.4973	0.2792
CG43	0.9102	0.8435	0.7324	—	1.3279	-0.5398	0.7530	0.1143	0.6518
CG44	0.9559	0.9337	0.8288	0.4176	1.6107	-0.2067	0.9134	0.4571	0.8411
CG45	0.9086	0.8881	0.7909	0.2336	1.4709	-0.3482	0.8341	0.3115	0.7513
CG47	0.9889	0.9889	0.9889	—	1.5841	-0.6509	0.8983	0.0000	0.7560
CG49	0.4100	0.2797	0.2645	0.2673	0.6112	0.0424	0.3466	0.7134	0.4047
CG50	0.3736	0.1771	0.1814	0.1215	0.4371	-0.0419	0.2478	0.6267	0.3079
CG51	0.7500	0.6959	0.5874	0.2700	1.1888	-0.1916	0.6741	0.4727	0.6422
CG52	0.0999	0.1113	0.0999	0.1040	0.2057	0.0278	0.1167	0.6984	0.2088
CG54	0.0175	0.0000	0.0075	0.0030	0.0145	-0.0024	0.0082	0.6674	0.1126
CG55	0.8534	0.7367	0.7264	0.4001	1.3891	-0.1344	0.7877	0.5315	0.7471
CG56	0.5241	0.3204	0.3547	—	0.6401	-0.2573	0.3630	0.4050	0.3696
CG57	1.0000	1.0000	0.9838	0.3761	1.7363	-0.3067	0.9846	0.3541	0.8848
CG58	0.7392	0.7088	0.6549	0.6894	1.3853	0.1782	0.7855	0.8531	0.7962
CG59	0.8570	0.6597	0.6859	0.4301	1.3395	-0.0801	0.7596	0.5874	0.7323
CG60	0.8896	0.8479	0.7995	0.4439	1.5237	-0.1437	0.8640	0.5219	0.8098
CG61	0.9204	0.7139	0.7040	0.6063	1.4791	0.0543	0.8388	0.7257	0.8208
CG62	0.9253	0.8165	0.7495	0.4895	1.5167	-0.0886	0.8601	0.5786	0.8155
CG63	0.9067	0.7333	0.7349	0.4523	1.4400	-0.0975	0.8166	0.5695	0.7775
CG66	0.4026	0.2971	0.2127	0.3133	0.6066	0.0954	0.3440	0.7680	0.4111
CG68	0.3430	0.3031	0.2485	0.4468	0.6478	0.2195	0.3673	0.8957	0.4510
CG69	0.5600	0.4400	0.4191	0.6793	1.0162	0.3209	0.5762	1.0000	0.6434
CG70	0.6687	0.2604	0.2879	0.2437	0.7423	-0.0290	0.4210	0.6400	0.4556
CG71	0.7270	0.5566	0.3498	0.3762	1.0160	0.0013	0.5761	0.6711	0.5912
CG72	0.7333	0.6133	0.3827	0.5321	1.1266	0.1233	0.6389	0.7967	0.6639
CG77	0.6662	0.4814	0.3307	0.4118	0.9465	0.0670	0.5367	0.7387	0.5687
CG78	0.7940	0.7041	0.5907	0.8193	1.4273	0.3051	0.8094	0.9837	0.8370
CG81	0.0660	0.0220	0.0346	0.0122	0.0700	-0.0145	0.0397	0.6548	0.1372
CG84	0.9244	0.7203	0.5703	0.6095	1.4150	0.0886	0.8024	0.7609	0.7958
CG85	0.9188	0.7690	0.5839	0.6757	1.4707	0.1366	0.8340	0.8104	0.8302
CG86	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.6698	0.1061
CG87	0.9954	0.9707	0.7442	0.4739	1.6283	-0.1491	0.9234	0.5164	0.8589

表 5(续)

编号 Code	相对发芽 率 RGP	相对发芽 势 RGV	相对发芽指 数 RGI	相对胚根长 度 RRL	公因子得分		隶属值		<i>D</i> 值 <i>D</i> value
					Component scores C ( x )		Membership value		
					C1	C2	U <sub>(x1)</sub>	U <sub>(x2)</sub>	
CG88	0.0285	0.0083	0.0113	0.0011	0.0261	-0.0089	0.0148	0.6606	0.1171
CG89	0.9303	0.7958	0.6639	0.5570	1.4884	-0.0012	0.8440	0.6685	0.8162
CG90	0.7299	0.5766	0.5176	0.6079	1.2054	0.1683	0.6835	0.8430	0.7088
CG91	0.9556	0.7889	0.6432	0.3457	1.4069	-0.1944	0.7978	0.4697	0.7458
CG93	0.9039	0.8391	0.7072	0.3039	1.4244	-0.2505	0.8077	0.4120	0.7450
CG94	0.7478	0.6702	0.5006	0.2337	1.1140	-0.1972	0.6317	0.4668	0.6056
CG95	0.7837	0.7346	0.5566	0.5069	1.3014	0.0202	0.7380	0.6905	0.7305
CG96	0.9428	0.8847	0.7770	0.2564	1.4886	-0.3292	0.8441	0.3310	0.7628
CG98	0.8337	0.8205	0.8216	0.3287	1.4470	-0.2391	0.8205	0.4238	0.7577
CG99	0.9592	0.9388	0.6983	0.3537	1.5217	-0.2347	0.8629	0.4283	0.7941
CG100	0.0597	0.0132	0.1376	0.0013	0.1124	-0.0473	0.0637	0.6211	0.1520
CG101	0.9709	0.9306	0.7040	0.6427	1.6365	0.0305	0.9280	0.7011	0.8921
CG102	0.9924	0.9583	0.7491	0.4784	1.6243	-0.1428	0.9211	0.5228	0.8580
CG103	0.9566	0.9247	0.7025	0.4717	1.5598	-0.1232	0.8845	0.5430	0.8304
CG104	0.8600	0.6667	0.4666	0.4237	1.2262	-0.0332	0.6953	0.6356	0.6859
CG105	0.8914	0.7595	0.5733	0.1454	1.2436	-0.3435	0.7052	0.3163	0.6436
CG106	0.8797	0.7408	0.4544	0.3490	1.2417	-0.1194	0.7041	0.5470	0.6792
CG107	0.8116	0.8048	0.5531	0.2087	1.2388	-0.2752	0.7025	0.3866	0.6524
CG108	0.8688	0.8620	0.7847	0.3163	1.4637	-0.2571	0.8300	0.4053	0.7628
CG109	0.9405	0.9405	0.7993	0.7934	1.7335	0.1492	0.9830	0.8234	0.9577
CG110	0.9733	0.9533	0.8047	0.6222	1.6957	-0.0192	0.9616	0.6500	0.9122
CG111	0.7466	0.4963	0.5007	0.4357	1.0966	0.0282	0.6219	0.6988	0.6340
CG112	0.9149	0.8657	0.7845	0.3271	1.4943	-0.2564	0.8474	0.4059	0.7775
CG113	0.5111	0.2000	0.1597	0.0527	0.4851	-0.1307	0.2751	0.5353	0.3163
CG114	0.9146	0.8557	0.6789	0.3523	1.4424	-0.2045	0.8179	0.4593	0.7611
CG116	0.8375	0.8055	0.7208	0.2956	1.3749	-0.2418	0.7797	0.4209	0.7228
CG117	0.8267	0.6400	0.5022	0.2808	1.1585	-0.1620	0.6570	0.5030	0.6326
CG118	0.3040	0.2134	0.1689	0.3973	0.5177	0.2209	0.2936	0.8971	0.3892
CG120	0.3557	0.1611	0.1707	0.0157	0.3730	-0.1301	0.2115	0.5359	0.2629
CG201	0.9004	0.7662	0.5613	0.1255	1.2381	-0.3620	0.7021	0.2972	0.6379

“—”表示数据缺失

“—” indicates data missing

**2.1.5 聚类分析** 在欧氏距离为 5 时,可将核心种质分为 3 类(图 2),分别为强耐热种质(类群 I)、中等耐热种质(类群 II)和不耐热种质(类群 III)。三大类之间不同种质的各项指标差异较大。在强耐

热材料中,以 CG109 和 CG110 两份材料耐热性最强,两份材料的 *D* 值均在 0.9 以上;在热敏材料中,CG54、CG81、CG86、CG88 和 CG100 5 份材料的耐热性较弱,其 *D* 值均在 0.20 以下。

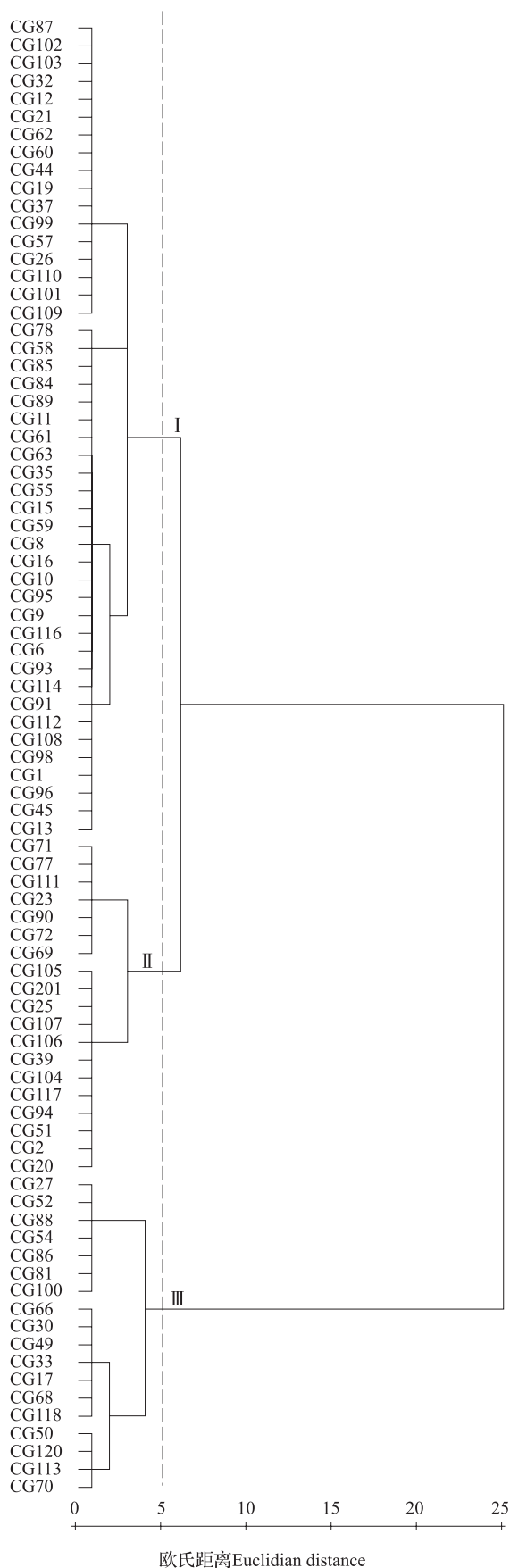


图2 核心种质聚类分析图

Fig.2 Cluster analysis for core germplasm

## 2.2 黄瓜核心种质发芽期耐热性全基因组关联分析

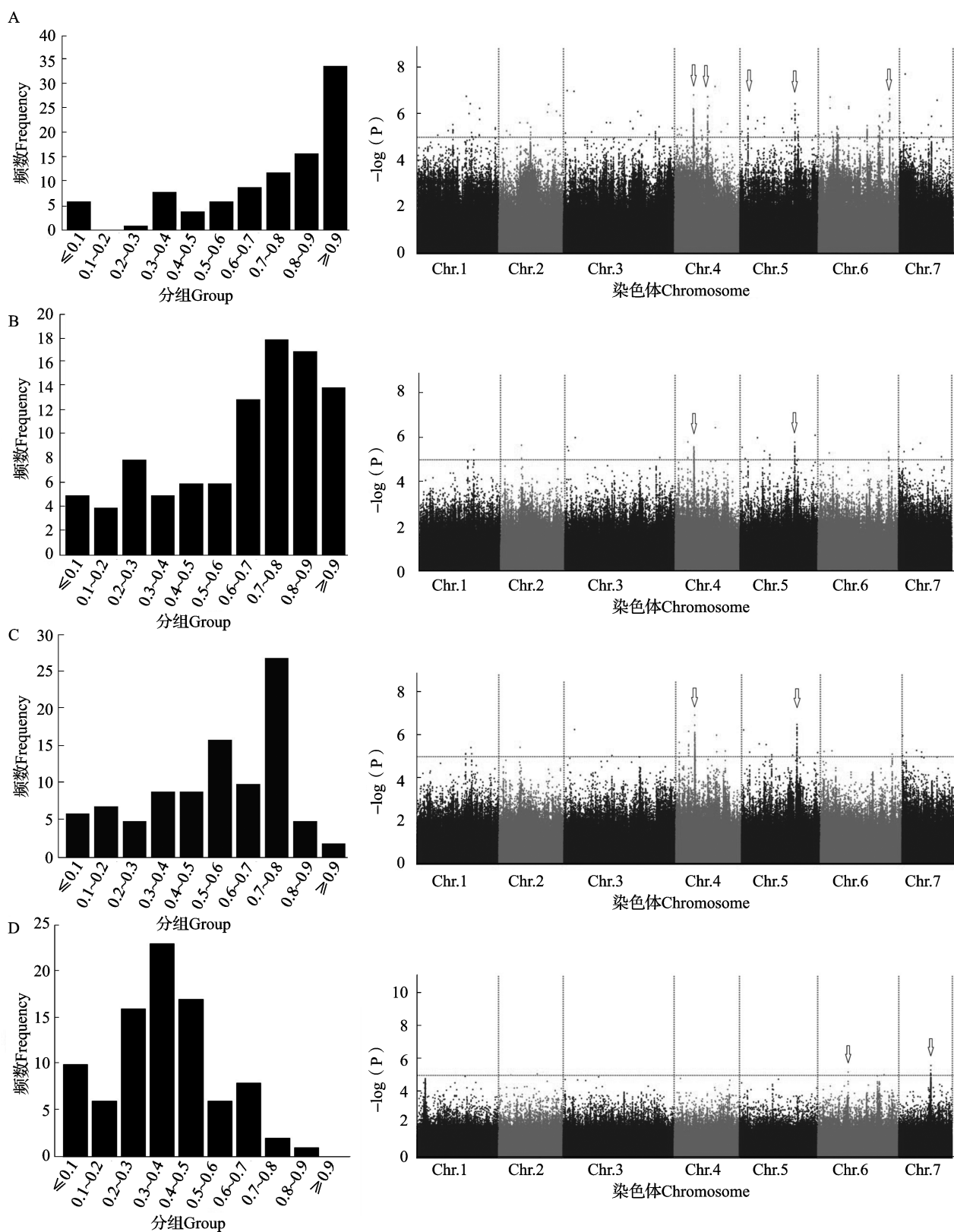
在全基因组关联分析中(图3,表6),相对发芽势和相对发芽指数各检测到2个位点,*GGI4.1*和*GGV4.1*位于Chr.4同一区段,*GGI5.1*和*GGV5.1*位于Chr.5同一区段。相对发芽率检测到5个位点,其中*GGP4.1*和*GGP5.2*与相对发芽势和相对发芽指数检测到的位点位于同一区域。相对胚根长度则检测到2个位点*GRL6.1*和*GRL7.1*,2个位点分别位于Chr.6和Chr.7上。在检测到的所有位点中,*GGI4.1*和*GGI5.1*在相对发芽率、相对发芽势和相对发芽指数中均能检测到。

## 2.3 发芽期耐热性关联位点的候选基因分析

在检测到的7个位点中,有2个位点在相对发芽率、相对发芽势和相对发芽指数3个指标中均检测到,2个位点分别为*GGI4.1*和*GGI5.1*,根据重测序数据可知,这2个位点分别位于Chr.4上6743160和Chr.5上19721974,根据黄瓜基因组提供的基因预测和基因注释信息,对这2个位点两侧各500 kb的区域内进行候选基因分析。其中*GGI4.1*位点两侧基因中,主要有锌指结构、细胞色素c氧化酶、磷脂酶、RNA解旋酶、果胶酯酶抑制剂、wrky转录因子、DUF231蛋白家族结构域、乙烯响应因子、DNA J分子伴侣蛋白以及纤维素合酶等多种蛋白;在*GGI5.1*位点两侧的基因中,主要有果胶酯酶抑制剂、果胶酯酶、高机动蛋白家族、IFA结合蛋白、Bcp1蛋白、NADPH氧化还原酶亚基、DELLA蛋白、C2结构蛋白、生长素运输蛋白和锌指蛋白等多种蛋白。

## 3 讨论

耐热性种质资源的全面评价是耐热性育种的基础,也是深入开展耐热性机理研究和分子标记开发的前提。本试验在人工控制的条件下进行发芽期耐热性鉴定,通过计算相对发芽率、相对发芽势和相对发芽指数3个指标来评价不同材料的耐热性。前人研究表明,单一指标来判定种质的耐热性可靠性不高<sup>[20]</sup>,因此本试验根据不同指标计算一个综合评价价值,以此作为材料耐热性鉴定的综合指标。聚类分析是以多个指标对不同种质进行分类的有效方法,许端祥等<sup>[21]</sup>以6个生理指标对瓠瓜材料的耐热性进行分析,筛选出了1份耐热种质资源。吴欣明等<sup>[22]</sup>以21个性状为指标对紫花苜蓿进行遗传多样性分析,将75份材料分为5类。冯晶晶等<sup>[23]</sup>以表



A: 相对发芽率; B: 相对发芽势; C: 相对发芽指数; D: 相对胚根长

A: Relative germination percentage, B: Relative germination vigor,

C: Relative germination index, D: Relative radicle length

图3 4个指标的GWAS曼哈顿图

Fig.3 Manhadan plot of four index

表 6 GWAS 检测到的信号位点  
Table 6 Loci detected by GWAS

指标 Index	GWAS 位点 GWAS locus	SNP	染色体 Chr.	位置 (bp) Position	-log ( P )	贡献率 R <sup>2</sup>
相对发芽率 RGP	<i>GGP4.1</i>	SNP1822898	4	6743160	6.71	0.23
	<i>GGP4.2</i>	SNP1966300	4	14510847	6.93	0.24
	<i>GGP5.1</i>	SNP2193225	5	2883242	6.43	0.24
	<i>GGP5.2</i>	SNP2478574	5	19721974	7.09	0.25
	<i>GGP6.1</i>	SNP3109545	6	25585278	6.99	0.31
相对发芽势 RGV	<i>GGV4.1</i>	SNP1822898	4	6743160	6.30	0.21
	<i>GGV5.1</i>	SNP2478574	5	19721974	5.96	0.20
相对发芽指数 RGI	<i>GGI4.1</i>	SNP1822879	4	6741213	7.05	0.22
	<i>GGI5.1</i>	SNP2478781	5	19731762	7.12	0.22
相对胚根长度 RRL	<i>GRL6.1</i>	SNP2846654	6	10927599	5.23	0.29
	<i>GRL7.1</i>	SNP3386640	7	11489490	5.81	0.25

型和基因型的数据对野生种醋栗番茄进行聚类分析,将 433 份材料分为两大类。本研究以 4 个芽期耐热性指标对黄瓜核心种质进行聚类分析,聚类结果与综合评价值 *D* 值对应较好,结果基本一致。因此,以 42 ℃相对发芽率、相对发芽势、相对发芽指数和相对胚根长度计算的综合评价值 *D* 值可作为材料发芽期耐热性评价的依据。

本试验中,不同来源的黄瓜耐热性存在一定差异。来自匈牙利、新西兰、津巴布韦、赞比亚、刚果民主共和国、土耳其、新西兰等国家的黄瓜材料耐热性普遍较强;来自波兰、印度和日本的黄瓜中,除 CG19、CG21 和 CG103 耐热性较强以外,其余材料耐热性均一般或者较弱;来自中国和美国的材料变异较大,在耐热材料、中等耐热材料和不耐热材料 3 个类群中均有分布;来自中国西双版纳的黄瓜共有 12 份,CG78、CG85 和 CG84 耐热性较强,其余 9 份材料耐热性普遍较弱。耐热性最强的 2 份材料 CG109 和 CG110 均来自匈牙利,而耐热性最弱的 2 份材料来源于印度和中国的西双版纳。中国的黄瓜按栽培季节可分为冬黄瓜、春黄瓜、夏黄瓜和秋黄瓜,其中冬黄瓜和春黄瓜较耐低温弱光,耐热性较弱;夏黄瓜和秋黄瓜普遍耐热性强<sup>[24]</sup>,这是造成来自中国的种质材料变异最大的主要原因。另一方面,核心种质中有 1/3 种质材料来自中国。来自日本的黄瓜属于华南型黄瓜,该类黄瓜茎蔓粗短,叶片厚而大,耐低温弱光,但是耐热性较弱<sup>[24]</sup>,这与发芽期的鉴定结果相符,大部分的日本黄瓜种质材料均不耐热。来自欧洲和美国的黄瓜中,欧美露地型黄

瓜由于露地栽培,长势旺盛,普遍耐热;而欧洲温室型黄瓜则普遍不耐热<sup>[25]</sup>,所以在发芽期耐热材料中有较多来自美国的材料。

GWAS 是一种以连锁不平衡为基础,利用分布于全基因组的 SNP,借助统计学工具计算特定群体内部目标性状遗传变异的方法<sup>[26]</sup>,该技术已应用在植物抗病基因挖掘、花期、籽粒形状等基因的定位中<sup>[27-31]</sup>。本试验中,结合核心种质发芽期耐热性鉴定的结果,以相对发芽率、相对发芽势、相对发芽指数和相对胚根长度为指标,对核心种质分别进行全基因组关联分析。4 个指标均检测到与高温耐受性相关的信号位点,相对发芽率检测到 5 个关联位点,相对发芽势、相对发芽指数和相对胚根长度各检测到 2 个位点,其中, *GGI4.1* 和 *GGI5.1* 在相对发芽率、相对发芽势和相对发芽指数 3 个指标中均能检测到。相关性分析中,相对发芽率、相对发芽势和相对发芽指数 3 个指标两两之间呈极显著相关,相关系数均在 0.9 以上,说明 3 个指标两两之间存在极强的相关性;而相对胚根长度跟相对发芽率、相对发芽势和相对发芽指数之间的相关系数均在 0.5200~0.5600 之间,说明相对胚根长度与另外 3 个指标的相关性要弱于 3 个指标两两之间的相关性。这也与关联分析的结果相对应,关联分析中,相对发芽率、相对发芽势和相对发芽指数检测到 2 个相同的位点 *GGI4.1* 和 *GGI5.1*,而这 2 个位点在以相对胚根长度为指标的关联分析中则未检测到,以相对胚根长度为指标检测到的 2 个关联位点在以相对发芽率、相对发芽势和相对发芽指数为指标的关联分

析中也未检测到。

在全基因组关联分析中,与表型显著相关的 SNP 位点很可能与引起表型差异的基因或突变位点相邻近,通过对 *GGI4.1* 和 *GGI5.1* 两个位点候选基因的分析发现,在两位点附近有多个基因,其中有两个基因是与植物抗逆性直接相关的,这两个预测基因是乙烯响应因子和 DELLA 蛋白。杨迪菲<sup>[32]</sup>和庄影<sup>[33]</sup>对黄瓜苗期的耐热性进行了 QTL 定位,但是定位区间较大,无法确定具体的基因;黄瓜发芽期耐热性 QTL 定位则未见相关报道。本研究找到了 7 个与发芽期耐热性相关联的位点,但发芽期耐热性到底由关联位点区域的哪些基因起作用,还需要进一步的深入研究。

#### 参考文献

- [1] 蒋先明. 蔬菜栽培学各论(北方本). 北京: 中国农业出版社, 1990: 185-209  
Jiang X M. Vegetable Cultural (Northern version). Beijing: China Agricultural Press, 1990: 185-209
- [2] 孟令波. 黄瓜 (*Cucumis sativus* L.) 耐高温种质资源筛选及耐高温特性的研究. 哈尔滨: 东北农业大学, 2002  
Meng L B. Studies on high temperature tolerance character and selection of high temperature tolerance germplasm in cucumber (*Cucumis sativus* L.). Harbin: Northeast Agricultural University, 2002
- [3] Leprince O, Pellizzaro A, Berriri S, Buitink J. Late seed maturation: drying without dying. *Journal of Experimental Botany*, 2017, 68 (4): 827-841
- [4] 尚庆茂, 王光耀. 蔬菜抗热性鉴定方法. 中国蔬菜, 1996 (5): 49-51  
Shang Q M, Wang G Y. Method for identifying heat resistance of vegetables. *China Vegetables*, 1996 (5): 49-51
- [5] 孙光玲, 王海军, 李海峰, 蒋文修, 李刚. 烤烟种子活力测定方法的相关分析. 烟草科技, 2004 (1): 10  
Sun G L, Wang H J, Li H F, Jiang W X, Li G. Correlation analysis in seed vigour-testing methods of flue-cured tobacco. *Tobacco Science & Technology*, 2004 (1): 10
- [6] 王红飞. 黄瓜种质资源低温耐受性的鉴定评价及 QTL 初步定位研究. 北京: 中国农业科学院, 2014  
Wang H F. Germplasm identification of tolerance to low temperature and QTL mapping for low temperature adaptability in cucumber. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2014
- [7] 聂文娟. 黄瓜耐热性形态学鉴定技术研究. 杨凌: 西北农林科技大学, 2010  
Nie W J. Research on technique of hot tolerance identification by morphology in cucumber. Yangling: Northwest A&F University, 2010
- [8] 孟焕文, 张彦峰, 程智慧, 苏菁, 崔鸿文. 黄瓜幼苗对热胁迫的生理反应及耐热鉴定指标筛选. 西北农业学报, 2000, 9 (1): 96-99  
Meng H W, Zhang Y F, Cheng Z H, Su J, Cui H W. The physiological reaction to hot stress and screening of hot tolerance index in cucumber. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 2000, 9 (1): 96-99
- [9] 杨寅桂. 黄瓜耐热性及热胁迫响应基因研究. 南京: 南京农业大学, 2007  
Yang Y G. Study on the heat tolerance and gene of heat stress response related in cucumber. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2007
- [10] Qi J J, Liu X, Shen D, Miao H, Xie B Y, Li X X, Zeng P, Wang S H, Shang Y, Gu X F, Du Y C, Li Y, Lin T, Yuan J H, Yang X Y, Chen J F, Chen H M, Xiong X Y, Huang K, Fei Z J, Mao L Y, Tian L, Städler T, Renner S S, Kamoun S, Lucas W J, Zhang Z H, Huang S W. A genomic variation map provides insights into the genetic basis of cucumber domestication and diversity. *Nature Genetics*, 2013, 45 (12): 1510-1515
- [11] 苏世闻. 黄瓜种子萌发和幼苗生长的耐热性差异及其产量和生理特性. 南京: 南京农业大学, 2014  
Su S W. Yield and physiological characters of cucumber varieties and heat resistant difference on its seed germination and seedling growth. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2014
- [12] Ruan S, Xue Q, Thlkowska K. Effect of priming on germination and health of rice (*Oryza sativa* L.) seeds. *Seed Science and Technology*, 2002, 30 (2): 451-458
- [13] Ruan S, Xue Q, Thlkowska K. The influence of priming on germination of rice (*Oryza sativa* L.) seeds and seedling emergence and performance in flooded soil. *Seed Science and Technology*, 2002, 30 (1): 61-67
- [14] Esehie H. Interaction of salinity and temperature on the germination of sorghum. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 1994, 172: 194-199
- [15] 何延治. 农业研究中常用的几种模糊数学方法. 长春: 吉林大学, 2006  
He Y Z. Some usual kinds of methods of fuzzy mathematics in agriculture research. Changchun: Jilin University, 2006
- [16] 谢志坚. 农业科学中的模糊数学方法. 武汉: 华中理工大学出版社, 1983: 99-193  
Xie Z J. Fuzzy mathematics method in agricultural science. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology Press, 1983: 99-193
- [17] 李青, 秦玉芝, 胡新喜, 丁红映, 熊兴耀, 王万兴. 马铃薯耐盐性离体鉴定方法的建立及 52 份种质资源耐盐性评价. 植物遗传资源学报, 2018, 19 (4): 587-597  
Li Q, Qin Y Z, Hu X X, Ding H Y, Xiong X Y, Wang W X. Establishment of an optimized bioassay being valuable for determining salt tolerance in 152 potato germplasm accessions. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2018, 19 (4): 587-597
- [18] 鲁宏伟. 黄瓜白粉病抗性基因挖掘. 北京: 中国农业科学院, 2015  
Lu H W. Mining of the resistance gene for powdery mildew in cucumber. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2015
- [19] 张朝阳, 许桂芳. 利用隶属函数法对 4 种地被植物的耐热性综合评价. 草业科学, 2009, 26 (2): 57-60  
Zhang C Y, Xu G F. Comprehensive evaluation of heat tolerance of four ground cover plants by membership function method. *Pratacultural Science*, 2009, 26 (2): 57-60
- [20] Romesburg H C. Cluster analysis for researchers. NC Raleigh.

- USA: Lulu.com, 2004
- [ 21 ] 许端祥,高山,林碧英,傅睿清. 高温胁迫下 11 份瓠瓜材料的耐热性分析. 福建农业学报, 2011, 26(4): 587-590  
Xu D X, Gao S, Lin B Y, Fu R Q. Heat resistance of 11 *Lagenaria siceraria* var. *hispida* stand germplasms. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2011, 26(4): 587-590
- [ 22 ] 吴欣明,郭璞,池惠武,方志红,石永红,王运琦,刘建宁,王赞,王学敏. 国外紫花苜蓿种质资源表型性状与品质多样性分析. 植物遗传资源学报, 2018(1): 103-111  
Wu X M, Guo P, Chi H W, Fang Z H, Shi Y H, Wang Y Q, Liu J N, Wang Z, Wang X M. Diversity analysis of phenotypic traits and quality characteristics of alfalfa (*Medicago sativa*) introduced from abroad Germplasm resources. Journal of Plant Genetic Resources, 2018(1): 103-111
- [ 23 ] 冯晶晶,刘磊,郑峥,邓学斌,刘希艳,白金瑞,舒金帅,宋燕,李君明. 醋栗番茄 *Solanum pimpinellifolium* 遗传多样性分析. 植物遗传资源学报, 2017, 18(4): 611-619  
Feng J J, Liu L, Zheng Z, Deng X B, Liu X Y, Bai J R, Shu J S, Song Y, Li J M. Genetic diversity of wild tomato species *Solanum pimpinellifolium*. Journal of Plant Genetic Resources, 2017, 18(4): 611-619
- [ 24 ] 吕婧. 黄瓜种质资源群体结构分析与核心种质集筛选. 北京: 中国农业科学院, 2011  
Lv J. Germplasm population structure analysis and core collection of cucumber (*Cucumis sativus* L.). Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2011
- [ 25 ] 侯锋. 黄瓜. 天津: 天津科学技术出版社, 1999: 90-91  
Hou F. Cucumber. Tianjin: Tianjin Science and Technology Press, 1999: 90-91
- [ 26 ] 张焕欣,翁建峰,张晓聪,刘昌林,雍洪军,郝转芳,李新海. 玉米穗行数全基因组关联分析. 作物学报, 2014, 40(1): 1-6  
Zhang H X, Weng J F, Zhang X C, Liu C L, Yong H J, Hao Z F, Li X H. Genome-wide association analysis of kernel row number in maize. Acta Agronomica Sinica, 2014, 40(1): 1-6
- [ 27 ] Yu J M, Buckler E S. Genetic association mapping and genome organization of maize. Current Opinion in Biotechnology, 2006, 17(2): 155-160
- [ 28 ] Zhu C S, Gore, M, Buckler, E S, Yu J M. Status and prospects of association mapping in plants. Plant Genome, 2008, 1(1): 5-20
- [ 29 ] Huang X H, Zhao Y, Wei X H, Li C Y, Wang A H, Zhao Q, Li W J, Guo Y L, Deng L W, Zhu C R, Fan D L, Lu Y Q, Weng Q J, Liu K Y, Zhou T Y, Jing Y F, Si L Z, Dong G J, Huang T, Lu T T, Feng Q, Qian Q, Li J Y, Han B. Genome-wide association study of flowering time and grain yield traits in a worldwide collection of rice germplasm. Nature Genetics, 2011, 44(1): 32
- [ 30 ] Buckler E S, Holland J B, Bradbury P J, Acharya C B, Brown P J, Browne C, Ersoz E, Flint-Garcia S, Garcia A, Glaubitz J C, Goodman M M, Harjes C, Guill K, Kroon D E, Larsson S, Lepak N K, Li H, Mitchell S E, Pressoir G, Peiffer J A, Rosas M O, Rocheford T R, Romay M C, Romero S, Salvo S, Sanchez V H, da Silva H S, Sun Q, Tian F, Upadaya N, Ware D, Yates H, Yu J, Zhang Z, Kresovich S, McMullen M D. The genetic architecture of maize flowering time. Science, 2009, 325(5941): 714
- [ 31 ] Kump K L, Bradbury P J, Wissner R J, Buckler E S, Belcher A R, Oropeza-Rosas M A, Zwonitzer J C, Kresovich S, McMullen M D, Ware D, Balint-Kurti P J, Holland J B. Genome-wide association study of quantitative resistance to southern leaf blight in the maize nested association mapping population. Nature Genetics, 2011, 43(2): 163-168
- [ 32 ] 杨迪菲. 黄瓜耐热性 QTL 定位的研究. 哈尔滨: 东北农业大学, 2006  
Yang D F. Mapping quantitative traits loci for the heat tolerance in cucumber. Harbin: Northeast Agricultural University, 2006
- [ 33 ] 庄影. 黄瓜耐热性遗传及 QTL 初步定位. 扬州: 扬州大学, 2014  
Zhuang Y. Genetic analysis and preliminary QTL mapping of heat tolerance in cucumber (*Cucumis sativus* L.). Yangzhou: Yangzhou University, 2014