

# 甜瓜果肉 $\beta$ -胡萝卜素含量的 QTL 分析

吕丽华, 王怀松, 付秋实, 朱慧芹

(中国农业科学院 蔬菜花卉研究所, 北京 100081)

**摘要:**  $\beta$ -胡萝卜素的 QTL 定位为开展相关基因克隆, 应用分子标记辅助育种培育高品质甜瓜品种奠定基础。应用 2 种果肉颜色差异较大的甜瓜品种 200930 与 200932 杂交得到的  $F_2$  群体构建富含  $\beta$ -胡萝卜素含量特征的遗传图谱。构建的基因图包含 154 对 SSR 标记, 其中 77 对标记是由 EST 序列新开发的 EST-SSR 引物。该图谱包括 17 条连锁群, 覆盖基因组长度 1 663.5 cM, 标记间的平均距离为 10.8 cM。定位到 3 个与  $\beta$ -胡萝卜素含量有关的 QTL 位点, 分别位于第 1 (Chr4), 7 (Chr7) 连锁群上, 2 个 QTL 贡献率超过 15%。位于第 1 连锁群的 QTL  $\beta$ -car1 贡献率最大, 为 26.9%。

**关键词:** 甜瓜; SSR 标记;  $\beta$ -胡萝卜素; 遗传图谱; QTL

中图分类号: S652.03 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2012)05-0080-06

## QTL Analysis of $\beta$ -carotene Content in *Cucumis melo* L. Flesh

LÜ Li-hua, WANG Huai-song, FU Qiu-shi, ZHU Hui-qin

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

**Abstract:** QTL mapping of the  $\beta$ -carotene was useful for relative gene cloning and the molecular assisted breeding to cultivate high-quality melon. A genetic map enriched for  $\beta$ -carotene content was constructed using a  $F_2$  population developed from a cross between two species which have great differences in fruit color: 200930 and 200932. The map included 154 SSR markers, of which 77 were newly developed from fruit EST. The genetic map consisted of 17 linkage groups spanning 1 663.5 cM with an average of 10.8 cM between markers. Total three QTLs for  $\beta$ -carotene content were detected. These QTLs were mapped on linkage groups 1 (Chr4), 7 (Chr7) respectively. Two QTLs explained phenotypic variation more than 15%. The QTL  $\beta$ -car1 which was mapped on the first linkage group explained up to 26.9% of the phenotypic variances.

**Key words:** *Cucumis melo* L.; SSR markers;  $\beta$ -carotene; Genetic map; QTL

甜瓜 (*Cucumis melo* L.) 品种丰富, 在世界各地广泛种植。甜瓜主要食用部分为中、内果皮, 习惯称为果肉, 其营养价值在世界十大著名水果中居第 2 位, 每百克鲜果肉含维生素 A<sub>4</sub>200 mg、维生素 C (抗坏血酸) 13~42 mg<sup>[1]</sup>。 $\beta$ -胡萝卜素在人体体内可以转化为维生素 A, 是一种抗氧化剂, 具有解毒作用, 是维护人体健康不可缺少的营养素, 在抗癌、预防心血管疾病、白内障及抗氧化上有显著的功能, 进而能够防止因老化和衰老引起的多种退化性疾病。 $\beta$ -胡萝卜素的存在令水果和蔬菜拥有了饱满的黄色或橘色。 $\beta$ -胡萝卜素也被用作食物 (例如人造奶油) 的着色剂。另外,  $\beta$ -胡萝卜素在饲料、化妆品等方面也有重要用途。

基因图是了解基因连锁及特性的一个强有力的

工具。目前已经开发了多个甜瓜基因图谱<sup>[2-4]</sup>。在构建的甜瓜基因图谱中已将可溶性固形物含量、果实大小、形状、直径、横径、成熟期、网纹、果肉颜色等果实性状以及糖分、有机酸等多种代谢物的 QTL 位点标记出来<sup>[3-18]</sup>。Cuevas 等<sup>[3]</sup>以具有不同品质的甜瓜品种为材料, 利用分子标记构建甜瓜遗传图谱, 定位了 44 个果实相关性状的 QTL 位点, 包括果实糖含量, 尤其是对甜瓜糖度影响最大的蔗糖含量的 QTL 位点以及可溶性固形物、网纹、坚固性、重量等性状的 QTL 位点。路绪强等<sup>[4]</sup>以  $F_2$  群体为材料构建了甜瓜的遗传图谱, 找到了遗传距离分别为 42.8, 26.0 cM 的与控制甜瓜雄花分化基因连锁的分子标记 MU4182-2 和 MU5028-1, 并将这一基因定位在第 2 条连锁群上。王贤磊等<sup>[5]</sup>利用  $F_2$  群体为

收稿日期: 2012-07-18

基金项目: 现代农业产业技术体系建设专项资金 (CARS-26-07)

作者简介: 吕丽华 (1986-), 女, 山东莱芜人, 硕士研究生, 主要从事甜瓜遗传育种研究。

通讯作者: 王怀松 (1972-), 男, 北京人, 副研究员, 主要从事甜瓜遗传育种研究。

材料,构建遗传图谱,定位了甜瓜果实的大小、长宽比、糖度、硬度及甜瓜种子的长、宽、质量等性状。

在甜瓜  $\beta$ -胡萝卜素基因定位方面,Cuevas 等<sup>[6]</sup>应用 USDA846-1  $\times$  Top Mark 得到的 RILs 群体将  $\beta$ -胡萝卜素定位在第 1、2、4、6 条连锁群上; Cuevas 等<sup>[3]</sup>应用 Top Mark(桔红色果肉)  $\times$  Q 3-2-2(白色果肉)得到的  $F_{2:3}$  群体为材料(种植于 2006 及 2007 年)将  $\beta$ -胡萝卜素定位在第 1、2、4、6、8、9 条连锁群上; Harel-Beja 等<sup>[7]</sup>应用 414  $\times$  Dul 构建的 RILs 群体将  $\beta$ -胡萝卜素定位在第 2、6 条连锁群上。但由于选择的亲本材料等方面的不同,Cueva 与 Harel-Beja 并没有得到相同的连锁标记,仅 Cuevas 由于 2 次试验中都应用到 Top Mark 作为亲本,得到一些相同的标记<sup>[3,6]</sup>。甜瓜果肉  $\beta$ -胡萝卜素含量属于数量性状,遗传规律仍不明确,由于试验材料的不同对此性状定位的 QTL 位置与数目也会有所差别。前面学者定位甜瓜  $\beta$ -胡萝卜素含量采用的品种是在美国市场受欢迎的品种,与中国市场畅销的甜瓜品种,在口感要求等方面存在差别,因此,选用中国市场上比较受欢迎的甜瓜品种来进行  $\beta$ -胡萝卜素含量 QTL 定位,是非常必要的。通过对  $\beta$ -胡萝卜素含量进行 QTL 定位,找到连锁的分子标记,为接下来的分子标记辅助育种提供科学依据是非常必要的。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验材料

200930: 厚皮甜瓜,果皮深绿色,细网纹,果皮无沟,易感染白粉病,果肉绿黄色, $\beta$ -胡萝卜素含量约为 0.42 mg/kg; 200932: 厚皮甜瓜,果皮深绿色,细网纹,果皮有沟,抗白粉病,果肉橙红色, $\beta$ -胡萝卜素含量约为 60.25 mg/kg。200930 与 200932 杂交得到  $F_1$  群体,通过自交得到  $F_2$  群体,共 117 株。

200930 与 200932 及  $F_2$  群体于中国农业科学院蔬菜花卉所大棚内种植。株距 0.4 m,行距 0.7 m,吊蔓栽培,单蔓整枝,第 10~13 节子蔓留单果;灌水、施肥及病虫害防治等管理按常规生产要求进行。

### 1.2 试验方法

1.2.1  $\beta$ -胡萝卜素含量分析  $\beta$ -胡萝卜素的提取采用有机溶剂提取法:以 1 丙酮:1 石油醚为提取液,加入 0.1% BHT(2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚)防止色素氧化。取 5 g 果实匀浆置于研钵中加入少许提取液及石英砂,快速研磨后全量转移至抽滤漏斗进行抽滤,收集提取液,重复进行,少量多次抽滤,直至残渣无色。合并提取液,转移至分液漏斗,静止片刻后,收集下层水相于烧杯中,上层有机相直接收集

于圆底烧瓶中。加入 0.1% BHT 的石油醚为萃取液,对收集的下层水相进行萃取,反复多次直至下层水相无色,与有机相合并,用旋转蒸发仪蒸干,最后用 5 mL 的 1 丙酮:1 乙腈溶解,经 0.45  $\mu$ m 的微孔滤膜过滤后待测。

$\beta$ -胡萝卜素含量分析采用高效液相色谱法(HPLC)。液相色谱分析条件:超高效液相色谱仪 ACQUITY UPLC; 分离柱: 2.1  $\times$  100 mm; 流动相: 1 丙酮:1 乙腈; 流速: 0.25 mL/min; 紫外检测波长: 450 nm; 进样量: 2  $\mu$ L。

1.2.2 DNA 的准备 根据准备程序分别由父母本及  $F_2$  群体的幼嫩叶片组织中提取 DNA,方法采用改良 CTAB 法。得到的 DNA 溶液经紫外分光光度法检测其浓度与纯度,  $-20^\circ\text{C}$  保存备用。

1.2.3 统计分析 应用 SAS 进行数据统计,得到  $\beta$ -胡萝卜素含量的盒须图及频率分布柱状图; 应用 Joinmap 4.0 及 Map QTL 4.0 软件进行遗传图谱的绘制及 QTL 的定位。

1.2.4 标记分析、图谱的构建及 QTL 分析 SSR 引物: SSR 引物序列来自公开发表的文献及黄焕焕(中国农业科学院蔬菜花卉研究所辣椒组)根据 ICUGI 数据库(<http://www.icugi.org>)设计得到的 EST-SSR 引物。引物由北京三博远志公司合成。共计 1 968 对 SSR 引物,具有多态性的有 178 对。在图谱上定位了 154 对 SSR 标记,其中 76 对是新开发的 EST-SSR 引物。

PCR 的混合液包括:正向引物(10  $\mu$ mol/L) 0.6  $\mu$ L、反向引物(10  $\mu$ mol/L) 0.6  $\mu$ L、10  $\times$  Buffer 2  $\mu$ L、dNTP(10 mmol/L each) 0.4  $\mu$ L、Taqase(5 U/ $\mu$ L) 0.3  $\mu$ L、模板(50 ng/ $\mu$ L) 1  $\mu$ L、ddH<sub>2</sub>O: 15.1  $\mu$ L。PCR 反应程序为: 94 $^\circ\text{C}$  3 min; 94 $^\circ\text{C}$  30 s, 52~58 $^\circ\text{C}$  30 s, 72 $^\circ\text{C}$  1 min; 72 $^\circ\text{C}$  5 min, 16 $^\circ\text{C}$  保存。SSR 扩增的引物通过聚丙烯酰胺凝胶来分离。应用 JoinMap 4.0 软件来完成图谱, LOD 值为 3 的作为一组。利用构建的图谱,再根据  $\beta$ -胡萝卜素含量的性状结果应用 Map QTL 4.0 软件利用复合区间作图法进行 QTL 分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 $F_2$ 群体 $\beta$ -胡萝卜素含量的分布

从图 1 可以看出,  $F_2$  群体  $\beta$ -胡萝卜素含量的分离范围为: 0.12~92.2 mg/kg(鲜质量),中位数为 27.46 mg/kg(鲜质量),平均值为 28.66 mg/kg(鲜质量)。  $F_2$  群体  $\beta$ -胡萝卜素含量在 0~12 mg/kg(鲜质量)范围内植株数量最大,其次为 24~36 mg/kg

(鲜质量) 范围内  $F_2$  群体  $\beta$ -胡萝卜素含量偏向含量 高的亲本。

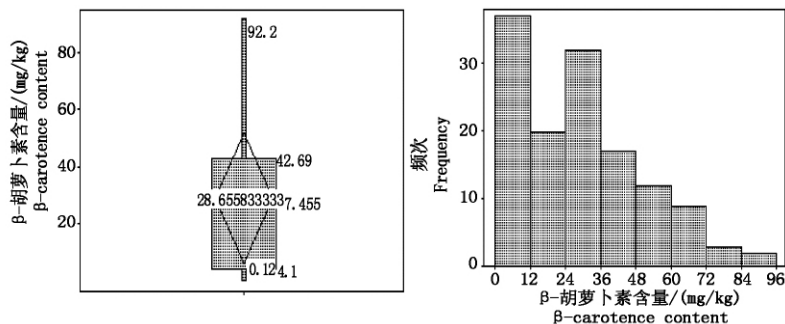


图1  $F_2$  群体  $\beta$ -胡萝卜素含量的分布图

Fig.1 The distribution of the  $\beta$ -carotene content on  $F_2$

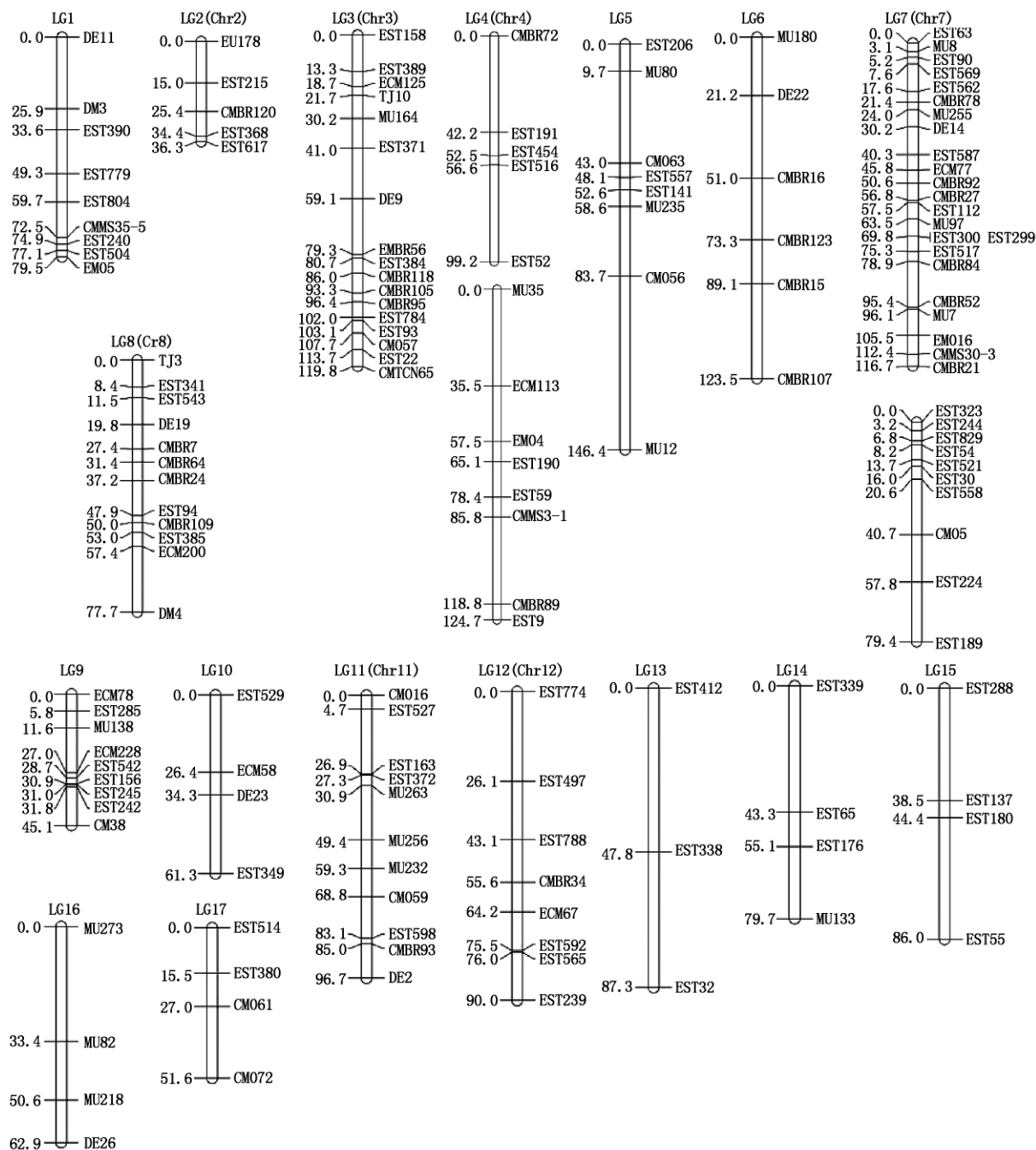


图2 甜瓜 SSR 标记的遗传连锁图谱

Fig.2 The genetic linkage map of melon based on the SSR makers

2.2 甜瓜遗传图谱的构建

1 968 对 SSR 引物 ,通过筛选有 178 对引物有多态性 ,多态率为 9.04%。将在父母本间对具有多态性的 178 对 SSR 标记进行群体分析 ,构建甜瓜遗传图谱 ,得到的图谱由 17 个连锁群组成( 图 2) 。该

图谱覆盖基因组长度 1 663.5 cM ,标记间的平均距离为 10.8 cM。每个连锁群上的标记数为 3 ~33 个 ( 表 1) ,连锁群长度在 36.3 ~223.9 cM 范围内。在 178 个多态性位点中 ,有 23 个 SSR 标记未进入连锁群。

表 1 SSR 标记在连锁群上的分布

Tab.1 The distribution of the SSR markers on the linkage-groups					
连锁群	SSR 标记数	长度 /cM	连锁群	SSR 标记数	长度 /cM
Linkage group	Number of SSR markers	Length	Linkage group	Number of SSR markers	Length
LG1	9	79.5	LG10	4	61.3
LG2( Chr2)	5	36.3	LG11( Chr11)	11	96.7
LG3( Chr3)	17	119.8	LG12( Chr12)	8	90.0
LG4( Chr4)	13	223.9	LG13	3	87.3
LG5	8	146.4	LG14	4	79.7
LG6	6	123.5	LG15	5	86.0
LG7( Chr7)	33	195.8	LG16	4	62.9
LG8( Chr8)	12	77.7	LG17	4	51.6
LG9	9	45.1			

据 Diaz 等<sup>[8]</sup>的试验结果 ,ECM113 与 CMBR72 位于同一连锁群上( LG4) ;据 Cuevas 等<sup>[3]</sup>的试验结果 ,CM05 与 CMBR92、CMBR27、CMBR21 位于同一连锁群上( LG7) 。将试验所得到的连锁群与 Li 等<sup>[19]</sup>得到的甜瓜染色体相比较 ,连锁群 2 3 4 7 8 , 11 ,12 分别对应第 2 3 4 7 8 ,11 ,12 条染色体。其余连锁群由于缺少相同的分子标记 ,无法确定与染

色体的对应关系。

2.3 果实 β-胡萝卜素含量的 QTL 分析

利用复合区间作图法( MQM) 将利用 F<sub>2</sub> 群体构建的遗传连锁图谱 ,结合 F<sub>2</sub> 果实 β-胡萝卜素含量进行 QTL 分析。共检测到 3 个 QTL 位点 ,根据连锁群不同分别命名为 β-car1、β-car4、β-car7 ,其表型贡献率分别为 26.9% 24.7% ,13.2%( 图 3 表 2) 。

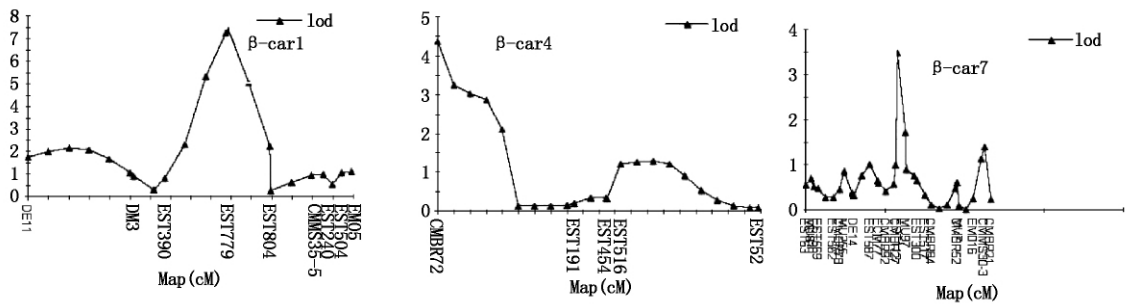


图 3 复合区间作图法得到的 QTL 位点

Fig.3 The QTL locations by MQM

表 2 β-胡萝卜素含量的 QTL 分析

Tab.2 QTL analysis of β-carotene content					
QTL 名称	距离 /cM	LOD	加性效应	连锁标记	贡献率 /%
Name of QTL	Distance		Additive effect	Linked marker	Explained variance
β-car1	49.3	7.35	9.782 2	EST779 ~ EST804	26.9
β-car4	0	4.36	-0.448 8	CMBR72 ~ EST191	24.7
β-car7	57.5	3.48	-0.185 4	EST112 ~ CMBR27	13.2

3 结论与讨论

3.1 遗传图谱的构建与分析

PCR 标记都有各自的优缺点。具有大量的等位差异、多态性丰富、实验程序简单是 SSR 标记最大的优点。但 SSR 标记必须依赖建立、筛选基因组

文库和克隆测序 ,从而使其工作量大 ,开发成本较高<sup>[20]</sup>。构建遗传图谱都期望标记之间的距离尽可能小并在染色体上均匀分布 ,分子标记在本试验所构建的遗传图谱中分布并不均匀。造成连锁群上分子标记分布不均匀 ,产生较大的空隙 ,出现小片段的连锁群将一条完整染色体分割为若干小连锁片段有

很多原因,主要原因是由于分子标记在染色体上分布的随机性及染色体不同区段交换值异质性的存在<sup>[21]</sup>。研究结果表明,理想的甜瓜连锁图谱应该包括 12 条连锁群,且覆盖基因长度在 1 500 ~ 2 000 cM 之间<sup>[22]</sup>。本试验构建的甜瓜遗传图谱并没有达到高度饱和,在以后的试验中需要通过一种简单易行的方法,改变现在试验工作量大且费用高的缺点来加入尽可能多的分子标记。

本试验构建的甜瓜遗传图谱包括 17 条连锁群,说明至少有 5 条染色体中存在频繁交换或标记空缺区段。与国内外已经发表的甜瓜遗传图谱相比较,由于本试验选用的 SSR 标记大部分是 EST-SSR 标记,尤其是有些连锁群上只存在 EST-SSR 标记,因此与其他遗传图谱没有共同的标记,从而不确定与染色体的对应关系。此外,由于受试验群体大小、群体类型、标记类型及标记数量等因素的影响,本试验构建的图谱在某些染色体上间隙较大。在本试验中,SSR 标记数量较少,不够密集,理论上同一条染色体上的连锁群有可能因为某一部分的标记未能连锁而被打断,因此有必要进行更深的研究和探索。

### 3.2 $\beta$ -胡萝卜素含量的 QTL 定位

本试验采用复合区间作图法对  $F_2$  群体的  $\beta$ -胡萝卜素含量进行 QTL 定位。一般认为,贡献率 < 5% 的为效应微小的 QTL, > 15% 的为效应较大的 QTL<sup>[19]</sup>。在 17 条连锁群上共检测到 3 个 QTL 位点。其中第 1 条连锁群上的 QTL 位点  $\beta$ -car1 对表型贡献率最大,为 26.9%, $\beta$ -car4 的贡献率为 24.7%,这些 QTL 位点可作为效应较大的 QTL; $\beta$ -car7 位点贡献率 < 15%,可解释的遗传变异率较低。

Cuevas 等<sup>[3,6]</sup>将  $\beta$ -胡萝卜素定位在第 1 2 4 6, 8 9 条连锁群上;Harel-Beja 等<sup>[7]</sup>将  $\beta$ -胡萝卜素定位在第 2 6 条连锁群上。本试验将  $\beta$ -胡萝卜素定位在第 1 4 7 条连锁群上,与 Cuevas 的试验均在第 4 条染色体上定位了  $\beta$ -胡萝卜素含量的 QTL 位点。Cuevas 与 Harel-Beja 均将  $\beta$ -胡萝卜素含量的 QTL 位点定位在第 2 条染色体上,本试验由于第 2 条染色体分子标记较少,未能检测到有效的 QTL 位点。

在第 4 条连锁群上检测到的 QTL 位点位于连锁群的端点处,虽然利用软件在此位点能检测到 QTL 位点,但是此处的 QTL 位点假阳性的可能性较大,因此要确定此位点存在 QTL 位点,需要进一步增加标记。因此推测  $\beta$ -car1 可能为控制果实  $\beta$ -胡萝卜素含量效应值较大的主效 QTL 位点。

### 3.3 数量性状基因遗传效益

本试验确定了 3 个与  $\beta$ -胡萝卜素含量相关的

QTL 位点,其中有 1 个 QTL 位点为正加性效应,遗传正效应等位基因来自  $\beta$ -胡萝卜素含量较高的亲本,可以提高果实  $\beta$ -胡萝卜素含量。理论上,可以通过遗传交换和重组,采用标记辅助选择技术,选择 QTL 位点均为正效应的品系,获得超亲品系。

综上所述,甜瓜  $\beta$ -胡萝卜素含量受多个数量性状位点控制,与此同时,环境也会对果实  $\beta$ -胡萝卜素含量产生影响,因此,甜瓜果实  $\beta$ -胡萝卜素含量是基因型与环境互作的结果。 $\beta$ -car1、 $\beta$ -car4 的贡献率均高于 15%,对  $\beta$ -胡萝卜素含量贡献率较大。在接下来的研究中,要进一步寻找一种简便易行的方法来增加图谱密度,为  $\beta$ -胡萝卜素含量 QTL 的精细定位奠定理论基础。

### 参考文献:

- [1] 朱德蔚,李锡香,王德楦. 中国作物及其野生近缘植物 [M]. 1 版. 北京: 中国农业出版社, 2008.
- [2] Baudracco-Arnas S, Pitrat M. A genetic map of melon (*Cucumis melo* L.) with RFLP, RAPD, isozyme, disease resistance and morphological markers [J]. Theor Appl Genet, 1996, 93: 57 - 64.
- [3] Cuevas H E, Staub J E, Simon P W, et al. A consensus linkage map identifies genomic regions controlling fruit maturity and beta-carotene-associated fresh color in melon (*Cucumis melo* L.) [J]. Theor Appl Genet, 2009, 119: 741 - 756.
- [4] 路绪强, 马鸿艳, 刘宏宇, 等. 控制甜瓜雄花分化基因的遗传分析及初步定位 [J]. 东北农业大学学报, 2010, 41(7): 51 - 55.
- [5] 王贤磊, 高兴旺, 李冠, 等. 甜瓜遗传图谱的构建及果实与种子 QTL 分析 [J]. 遗传, 2011, 33(12): 1398 - 1408.
- [6] Cuevas H E, Staub J E, Simon P W, et al. Mapping of genetic loci that regulate quantity of beta-carotene in fruit of US Western Shipping melon (*Cucumis melo* L.) [J]. Theor Appl Genet, 2008, 117: 1345 - 1359.
- [7] Harel-Beja R, Tzuri G, Portnoy V, et al. A genetic map of melon highly enriched with fruit quality QTLs and EST markers including sugar and carotenoid metabolism genes [J]. Theor Appl Genet, 2010, 121: 511 - 533.
- [8] Diaz A, Fergany M, Formisano G, et al. A consensus linkage map for molecular markers and quantitative trait loci associated with economically important traits in melon (*Cucumis melo* L.) [J]. BMC Plant Biology, 2011, 11: 111.
- [9] Moreno E, Obando J M, Dos-Santos N, et al. Candidate genes and QTLs for fruit ripening and softening in melon [J]. Theor Appl Genet, 2008, 116: 589 - 602.

- [10] Obando-Ulloa J M ,Eduardo I ,Monforte A J *et al.* Identification of QTLs related to sugar and organic acid composition in melon using near-isogenic lines [J]. *Sci Hort* 2009 ,121: 425 – 433.
- [11] Paris M K ,Zalapa J E ,McCreight J D *et al.* Genetic dissection of fruit quality components in melon ( *Cucumis melo* L.) using a RIL population derived from exotic& elite US Western Shipping germplasm [J]. *Mol Breed* , 2008 22( 3) : 405 – 419.
- [12] Park S O ,Hwang H Y ,Crosby K M. A genetic linkage map including loci for male sterility ,sugars ,and ascorbic acid in melon[J]. *J Am Soc Hort Sci* 2009 ,134: 67 – 76.
- [13] Sinclair J W ,Park S O ,Lester G E *et al.* Identification and confirmation of RAPD markers and andromonoecious associated with quantitative trait loci for sugars in melon [J]. *J Am Soc Hort Sci* 2009 ,131: 360 – 371.
- [14] Zalapa J E ,Staub J E ,McCreight J D *et al.* Detection of QTL for yield-related traits using recombinant inbred lines derived from exotic and elite US Western Shipping melon germplasm [J]. *Theor Appl Genet* ,2007 ,114: 1185 – 1201.
- [15] Monforte A J ,Oliver M ,Gonzalo M J *et al.* Identification of quantitative trait loci involved in fruit quality traits in melon ( *Cucumis melo* L.) [J]. *Theor Appl Genet* , 2004 ,108: 750 – 758.
- [16] Perin C ,Hagen L S ,Giovinazzo N *et al.* Genetic control of fruit shape acts prior to anthesis in melon ( *Cucumis melo* L.) [J]. *Mol Genet Genomics* ,2002b ,266: 933 – 941.
- [17] Danin-Poleg Y ,Tadmor Y ,Tzuri G *et al.* Construction of a genetic map of melon with molecular markers and horticultural traits and localization of genes associated with ZYMV resistance [J]. *Euphytica* 2002 ,125: 373 – 384.
- [18] Eduardo I ,Arus P ,Monforte A J *et al.* Estimating the genetic architecture of fruit quality traits in melon using a genomic library of near isogenic lines [J]. *J Am Soc Hort Sci* 2007 ,132: 80 – 89.
- [19] Dawei Li ,Hugo E Cuevas ,Luming Yang *et al.* Syntetic relationships between cucumber ( *Cucumis sativus* L.) and melon ( *Cucumis melo* L.) choromosomes as revealed by comparative genetic mapping [J]. *BMC Genomics* 2011 ,12: 396.
- [20] 熊立仲 ,王石平 ,刘克德 等. 微卫星 DNA 和 AFLP 标记在水稻分子标记连锁图上的分布 [J]. *植物学报* , 1998 ,40( 7) : 605 – 614.
- [21] 盛云燕. 甜瓜遗传图谱的构建及雌雄异花同株基因定位 [D]. 哈尔滨: 东北农业大学 2009.
- [22] Staub J E ,Meglic V. Molecular genetic markers and their legal relevance for cultigen discrimination: a case study in cucumber [J]. *Hort Technology* ,1993 3: 291 – 300.