

中国南瓜无蔓性状种间遗传研究

马海龙, 智海英, 岳青, 梁燕平, 苗如意
(山西省农业科学院园艺研究所, 太原 030031)

摘要:为探讨向印度南瓜及美洲南瓜中转育中国南瓜无蔓性状的意义及可行性,进行了无蔓中国南瓜种间杂交试验,采用田间调查结合RAPD分子标记鉴定的方法研究中国南瓜无蔓性状种间遗传规律。通过比较中国南瓜无蔓性状在南瓜属3个种中的遗传表现发现:中国南瓜无蔓性状在种间杂种 F_1 、 F_2 及 BC_1F_1 中的分离比例符合孟德尔遗传规律;与种内杂交不同,无蔓中国南瓜与蔓生异种南瓜材料的种间杂交一代表现出节间变长的倾向,表现为不完全显性遗传;通过种间杂交,可将中国南瓜特有的无蔓性状转育到美洲南瓜及印度南瓜中,创造全新的种质资源。

关键词:中国南瓜;美洲南瓜;印度南瓜;无蔓南瓜;种间杂交

中图分类号:S642.1

文献标志码:A

论文编号:2010-3417

Genetic Study on the Vineless Characters of *Cucurbita moschata* among Species

Ma Hailong, Zhi Haiying, Yue Qing, Liang Yanping, Miao Ruyi

(Institute of Horticulture, Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Taiyuan 030031)

Abstract: In order to inquire the meaning and feasibility on transfer the vineless character from *C. moschata* into *C. maxima* and *C. pepo*, the interspecific crossing between *C. moschata* materials with vineless character and *C. maxima* materials or *C. pepo* materials was conducted, we studied the interspecific genetic development on vineless character by the RAPD molecular marker and field investigation. Genetic performance of the vineless character of *Cucurbita moschata* in three mainly cultivated species in *Cucurbita* was studied in this paper. The results showed that the segregation ratios of the vineless character in F_1 group, F_2 group and BC_1F_1 group of the interspecific hybrids fit the Mendelian law. It was different from intraspecific hybridization that the first filial generation between vineless *C. moschata* and the other vine pumpkin species showed that the internode elongated and the inheritance belonged to incomplete dominant inheritance. The unique vineless character of *C. moschata* was transferred to *C. pepo* and *C. maxima* by the means of interspecific hybridization and the brand-new germplasm resources were created.

Key words: *Cucurbita moschata* Duch.; *C. pepo* L.; *C. maxima* Duch.; vineless pumpkin; interspecific hybridization

0 引言

南瓜属(*Cucurbita*)共有30个种,拥有十分丰富的基因库^[1]。1983年,王甲生^[2]在山西省首次发现中国南瓜(*C. moschata* Duch.)无蔓变异株,山西省农业科学

院蔬菜研究所以此为基础育成首个无蔓南瓜新品种‘无蔓1号’和‘无蔓4号’。研究证明,南瓜的矮生与蔓生是一对相对性状,中国南瓜矮生突变体的矮生性状由显性矮生单基因*Bu*控制^[3-4]。李云龙、李海真等^[4]获

基金项目:山西省科技攻关项目“优质抗病西葫芦新品种选育”(2006031031-2);山西省农业科学院青年基金项目“美洲南瓜抗病性改良和RAPD标记分析”(YQN0606)。

第一作者简介:马海龙,男,1976年出生,山西人,助理研究员,主要从事南瓜育种及南瓜属种质资源研究。通信地址:030031 山西省农业科学院园艺研究所 太原市许坦东街21号, E-mail: mahl76@163.com。

通讯作者:岳青,女,1963年出生,山西人,副研究员,主要从事蔬菜育种研究。通信地址:030031 山西省农业科学院园艺研究所 太原市许坦东街21号, Tel: 0351-3689094, E-mail: haiyingzhi@163.com。

收稿日期:2010-11-25, **修回日期:**2011-02-06。

得与该矮生基因 *Bu* 连锁的 SCAR 标记。王深浩等^[5]研究发现喷施赤霉素(GA₃)、生长素(IAA)、腐胺和细胞分裂素均不能使矮生南瓜(‘无蔓4号’)的主蔓由矮生型恢复至野生型,认为中国南瓜矮生突变体不属于激素缺陷型。

无蔓中国南瓜营养面积小,栽培密度为长蔓南瓜的3倍,单位面积产量高,且具有早熟、管理简便、无需压蔓整枝、不误换茬等优点^[6]。印度南瓜(*C. maxima* Duch.)具有品质优良、营养丰富的优点,美洲南瓜(*C. pepo* L.)具有早熟、耐低温的优势,然而,在现有的印度南瓜及美洲南瓜种质资源材料中均缺少无蔓资源。

李云龙等^[4]、刘小俊等^[7]进行了无蔓中国南瓜与印度南瓜种间杂交研究;智海英等^[8]进行了中国南瓜与

美洲南瓜种间杂交,并获得了可育的种间杂种后代。南瓜属作物种间杂交的成功,为利用有性杂交方法将中国南瓜的无蔓性状基因向印度南瓜及美洲南瓜转育创造了条件。本试验进行了中国南瓜无蔓性状的种间转育及种间遗传规律研究,目的是为在南瓜属作物中充分利用中国南瓜的无蔓变异基因,创造无蔓印度南瓜及无蔓美洲南瓜新型种质资源提供材料基础及理论参考。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试材料为南瓜属3个种的6个稳定自交系材料,均来自山西省农业科学院园艺研究所,植株形态特征见表1。

表1 供试材料

种	编号	材料名称	株态	植株形态特征
中国南瓜 (<i>C. moschata</i>)	Z ₁	W403	无蔓	无明显主茎、分枝多、节间极度短缩、生长点弯曲、顶端优势缺失、卷须退化、茎长<50 cm
	Z ₂	TG03	蔓生	蔓生、茎长>150 cm
美洲南瓜 (<i>C. pepo</i>)	M ₁	DW25	矮生	节间较短、株形直立、生长点正常、顶端优势正常、茎长<50 cm
	M ₂	Mini	蔓生	蔓生、茎长>150 cm
印度南瓜 (<i>C. maxima</i>)	Y ₁	DP101	半蔓生	前期矮生、后期蔓生
	Y ₂	QM01	蔓生	蔓生、茎长>150 cm

1.2 试验方法

1.2.1 田间试验 试验于2005—2008年在山西省农业科学院园艺研究所试验基地(太原)进行。亲本及杂交后代均采用网室大棚直播栽培。蔓生植株吊蔓、单蔓整枝;无蔓植株不整枝。生长前期及后期分别调查与茎蔓性状相关的植株形态数据。茎长为地面至生长点的长度,节间长取整条茎中段部分5节长度的平均值,无蔓株选取各株的最长枝为样本。

1.2.2 统计分析 田间调查数据均随机测量10株取平均值,卡平方检测分析无蔓性状的分离比例。用Excel

软件进行数据计算,公式为:
$$\chi^2 = \frac{\left(|A - ra| - \frac{r+1}{2}\right)^2}{rn}$$

1.2.3 DNA分子标记鉴定 2008年在山西省农业科学院园艺研究所分子实验室进行DNA分子标记试验。总DNA的提取采用改良的CTAB法^[9-10],用紫外-可见分光光度计(Ultrospec 1100 pro)在260 nm和280 nm下测定OD值,检测DNA的质量和浓度,稀释到30 ng/μL作为PCR扩增的模板。

在对南瓜RAPD-PCR反应体系优化后,确定的PCR扩增总体积为25 μL,其中包括:1×Buffer, 1.5 mmol/L MgCl₂, 100 μmol/L dNTP, 1.0 μmol/L引

物,1 U Taq DNA Polymerase, 30 ng 模板DNA, ddH₂O 补足25 μL。随机引物、Taq DNA Polymerase 和 dNTP 均购自上海生工生物工程有限公司。

PCR扩增反应在PCR仪(Eppendorf Mastercycler Gradient)上进行,扩增程序为:94℃预变性5 min; 94℃变性30 s, 36℃退火40 s, 72℃延伸80 s, 40个循环; 72℃延伸7 min; 4℃保存。用DYY-6B型稳压稳流电泳仪(北京六一仪器厂)对扩增产物进行电泳,使用0.5×TBE缓冲液,在1.4%琼脂糖凝胶(含0.5 μL/mL的溴化乙锭)中,以5 V/cm电压下在水平电泳槽中电泳1~2 h, Marker为DL2000(分子量范围100~2000 bp)。电泳结束后在Bio-rad凝胶成像仪下观察并照相。

2 结果与分析

2.1 南瓜属6个亲本材料的茎节生长状况

调查发现,Z₁、M₁全生育期及Y₁生长前期均表现矮生特征,Y₂、Z₂、M₂全生育期及Y₁生长后期均表现蔓生特征。详见表2。

2.2 无蔓中国南瓜种内及种间杂交F₁无蔓性状遗传

由表3可知。中国南瓜无蔓性状在种内表现为完全显性,这与前人研究结果一致。Z₂×Z₁ F₁植株株态与无蔓亲本Z₁完全一致,茎长略长于Z₁可理解为杂种优势效应。

表2 6个亲本材料的茎节生长状况 cm

编号	株态	前期(45天)		后期(90天)	
		茎长	节间长	茎长	节间长
Z ₁	无蔓	11.6	1.63	23.5	1.71
Z ₂	蔓生	74.0	10.83	172.3	12.07
M ₁	矮生	16.2	1.42	26.4	2.33
M ₂	蔓生	64.9	6.87	158.6	10.56
Y ₁	半蔓生	19.1	1.80	214.5	16.62
Y ₂	蔓生	103.5	13.73	233.7	14.83

无蔓亲本与矮生美洲南瓜及半蔓生印度南瓜杂交, Z₁×M₁ F₁及 Y₁×Z₁ F₁植株株态也与无蔓中国南瓜亲本 Z₁一致。与在中国南瓜种内杂交的遗传表现相同, 中国南瓜的无蔓性状在与矮生及半蔓生异种南瓜的种间杂交一代中表现为完全显性。

无蔓亲本与蔓生美洲南瓜及蔓生印度南瓜杂交, Z₁×M₂ F₁及 Y₂×Z₁ F₁植株在从第1至第10节左右出现节间伸长的现象, 单个最长节间甚至可达22 cm左右。与此同时, 在每条茎的顶端仍保留着无蔓中国南瓜的节间极度短缩、生长点弯曲、卷须退化的特征。与在中国南瓜种内杂交的遗传表现不同, 中国南瓜的无蔓性状在与蔓生异种南瓜的种间杂交一代中表现为不完全显性。

表3 Z₁与5个材料杂交 F₁植株茎节生长状况 cm

杂交组合	株态	前期(45天)		后期(90天)	
		茎长	节间长	茎长	节间长
Z ₁	无蔓	11.6	1.63	23.5	1.71
Z ₂ ×Z ₁	无蔓	15.2	1.66	27.2	1.68
Z ₁ ×M ₁	无蔓	14.7	1.55	19.6	1.59
Z ₁ ×M ₂	无蔓(具伸长节)	29.6	5.45	39.3	6.00
Y ₁ ×Z ₁	无蔓	17.3	1.68	21.2	1.88
Y ₂ ×Z ₁	无蔓(具伸长节)	83.7	10.20	165.4	9.83

2.3 印度南瓜×无蔓中国南瓜后代无蔓性状遗传

中国南瓜无蔓性状在印度南瓜 Y₁×中国南瓜 Z₁组合中表现为完全显性遗传, 其 F₂及 BC₁F₁的性状分离比例符合孟德尔遗传规律, 如表4。

笔者对印度南瓜×无蔓中国南瓜杂交后代进行了进一步的自交、回交及复合杂交, 经过逐代筛选, 现已选育出具有中国南瓜无蔓性状的印度南瓜自交系材料多个, 表现为优质、早熟、无蔓, 单株可坐果3~4个, 可用于无蔓印度南瓜杂交一代新品种的选育。

2.4 无蔓中国南瓜×美洲南瓜后代无蔓性状遗传

中国南瓜无蔓性状在中国南瓜 Z₁×美洲南瓜 M₁组

表4 Y₁×Z₁组合 F₂及 BC₁F₁无蔓性状分离比例

代数	组合	无蔓株:蔓生株	理论分离比例 (X ² _{0.05,1} =3.841)
F ₂	(Y ₁ ×Z ₁) F ₂	25:7	3:1(0.042)
BC ₁ F ₁	(Y ₁ ×Z ₁)×Z ₁	18:0	1:0
BC ₁ F ₁	(Y ₁ ×Z ₁)×Y ₁	43:39	1:1(0.110)

合中表现为完全显性遗传, 其 F₂及 BC₁F₁的性状分离比例符合孟德尔遗传规律, 如表5。由于中国南瓜的无蔓性状在美洲南瓜中表现出的生产性能不及美洲南瓜固有的矮生性状, 故未对无蔓中国南瓜×美洲南瓜后代中的无蔓性状进行进一步的转育利用。

表5 Z₁×M₁组合 F₂及 BC₁F₁无蔓性状分离比例

代数	组合	无蔓株:蔓生株	理论分离比例 (X ² _{0.05,1} =3.841)
F ₂	(Z ₁ ×M ₁) F ₂	254:79	3:1(0.225)
BC ₁ F ₁	(Z ₁ ×M ₁)×Z ₁	63:0	1:0
BC ₁ F ₁	(Z ₁ ×M ₁)×M ₁	87:97	1:1(0.440)

2.5 无蔓中国南瓜×美洲南瓜 RAPD 分子标记

由于中国南瓜×美洲南瓜种间杂交亲和性差, 为验证 Z₁×M₁种间杂交的真实性, 避免假杂种影响试验结果, 进行了 RAPD 分子标记鉴定。引物 S1299 序列 (5' -3') 为 CTCGATCACC, S376 序列 (5' -3') 为 GAGCGTCGAA。

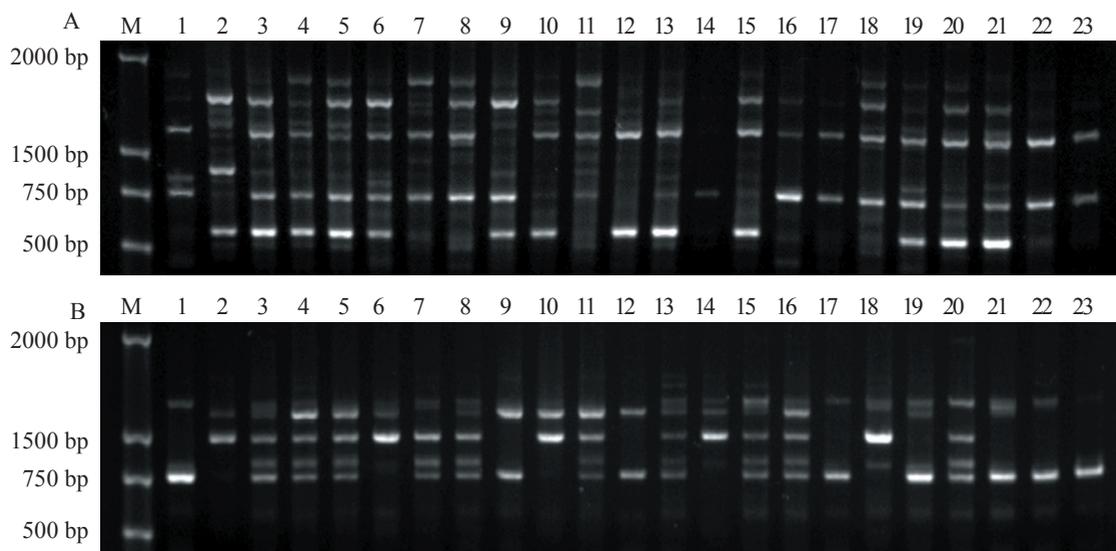
如图1所示, Z₁×M₁ F₁的扩增条带同时包含母本中国南瓜 Z₁及父本美洲南瓜 M₁的特征条带, 可以证明 Z₁×M₁ F₁为真杂种, 其自交及回交后代的特征条带也可以进一步证明其杂交的真实性。

3 结论与讨论

3.1 中国南瓜无蔓性状种间杂交遗传表现与种内杂交时的异同点

无蔓中国南瓜与美洲南瓜或印度南瓜进行种间杂交, 中国南瓜无蔓性状的遗传表现与中国南瓜种内杂交时不完全相同: (1)种间杂交时, 无论异种亲本(美洲南瓜或印度南瓜)为矮生或蔓生, 种间杂种 F₁均保留了无蔓中国南瓜具有极度短缩节间、生长点弯曲、卷须退化的特征, 这些方面与无蔓性状在中国南瓜种内杂交时的遗传表现相同。(2)无蔓性状在中国南瓜种内杂交时, F₁植株的株态不受长蔓亲本蔓长的影响而均为无蔓, 表现为完全显性, 这一结果与周祥麟等^[3]相同; 与种内杂交不同, 种间杂交时无蔓性状受到异种亲本蔓长影响的倾向, 表现为不完全显性: a、异种亲本为矮生及半蔓生材料时, 种间杂种 F₁株态完全为无蔓状态, b、异种亲本为蔓生材料时, 种间杂种 F₁茎节从植株的第1节至第10节左右出现了节间伸长的现象。

刘小俊等^[7]认为无蔓中国南瓜与印度南瓜杂交,



1: Z_1 ; 2: M_1 ; 3: $Z_1 \times M_1 F_1$; 4~8: $Z_1 \times M_1 F_2$; 9~12: $Z_1 \times M_1 F_3$; 13~15: $(Z_1 \times M_1 F_1) \times M_1 BC_1 F_1$;
16~17: $Z_1 \times (Z_1 \times M_1 F_1) BC_1 F_1$; 18: $Z_1 \times (Z_1 \times M_1 F_1) BC_1 F_2$; 19~20: $(Z_1 \times M_1 F_1) \times Z_1 BC_1 F_1$;
21: $(Z_1 \times M_1 F_1) \times Z_1 BC_1 F_2$; 22~23: $Z_1 \times [(Z_1 \times M_1 F_1) \times Z_1 BC_1 F_1] BC_1 F_1$

图1 引物S1299(A)与S376(B)对 $Z_1 \times M_1$ 亲本及其后代的RAPD扩增结果

无蔓性状的种间遗传与中国南瓜种内遗传相同,为完全显性遗传,本研究结果与之有所不同,可能因为选用杂交亲本试材的不同所致,有待增加试材种类进一步研究验证。

3.2 中国南瓜无蔓基因跨种转育对于南瓜属作物育种研究的意义

印度南瓜在口感品质及营养成分方面均优于中国南瓜^[11-12]。本次研究将中国南瓜特有的无蔓性状通过印度南瓜 \times 无蔓中国南瓜种间杂交手段转育到印度南瓜,经过多代定向选育,创造出一批无蔓印度南瓜种质资源新材料。以此为基础,进一步选育无蔓印度南瓜新品种,就可以在提高南瓜品质的同时增加单位面积株数和产量。

美洲南瓜(含西葫芦)早熟、耐低温,本试验成功进行了无蔓中国南瓜 \times 美洲南瓜种间杂交并获得了可育的无蔓种间杂种后代,为创造无蔓美洲南瓜种质资源新材料,丰富美洲南瓜的基因库,选育西葫芦新品种提供一条新路。

3.3 无蔓中国南瓜种间杂交对无蔓基因研究的意义

近等基因系材料常被用于农作物基因定位及表达研究的试材^[13-16],以经多代回交获得的无蔓美洲南瓜或无蔓印度南瓜作为其回交亲本构建近等基因系,可以为中国南瓜无蔓基因的准确定位及其表达机理等方面的研究提供理想试材。

参考文献

[1] 王鸣,南瓜属一多样性(diversity)之最[J].中国西瓜甜瓜,2002(3):

42-45.
[2] 王甲生,矮生中国南瓜的发现与选育简报[J].中国蔬菜,1986(3):17.
[3] 周祥麟,李海真,中国南瓜无蔓性状的遗传性及其生产利用的研究[J].山西农业科学,1991(1):1-6.
[4] 李云龙,李海真,崔崇士,等,与南瓜矮生基因连锁的分子标记[J].农业生物技术学报,2007,15(2):279-282.
[5] 王深浩,中国南瓜矮生基因 *Bu* 的比较定位及其矮生性状的生理研究[D].北京:中国农业科学院,2010:24.
[6] 贾长才,李海真,中国南瓜无蔓性状发现及利用[J].北方园艺,1997(4):52-53.
[7] 刘小俊,李跃建,张知仪,等,南瓜丛生性状的种间转育研究初报[J].西南农业学报,2009,22(1):130-132.
[8] 智海英,马海龙,韩红艳,等,美洲南瓜远缘杂交亲和性研究[J].中国农学通报,2006,22(9):307-310.
[9] Clark M S 主编,顾红雅,瞿礼嘉主译.植物分子生物学-实验手册[M].北京:高等教育出版社,1998:6-9.
[10] 褚盼盼.中国南瓜种质资源遗传多样性研究[D].武汉:华中农业大学,2007:23.
[11] 林德佩,华启衡,房超,印度南瓜及其杂种一代[J].长江蔬菜,1997(10):30-33.
[12] 王萍,刘杰才,赵清岩,等,南瓜果实营养成分分析及其利用研究[J].内蒙古农业大学学报,2002,23(3):52-54.
[13] 惠麦侠,王晗,张鲁刚,等,白菜叶缘裂刻近等基因系的cDNA-AFLP分析及 SCAR 标记的转化[J].中国农业科学,2010,43(21):4447-4454.
[14] 姚国新,张强,吴建涛,等,利用近等基因系对水稻芒基因 *A WN3-1* 的遗传定位[J].中国农业大学学报,2010,15(5):1-5.
[15] 王文霞,宋志强,杨文香,等,小麦抗叶锈近等基因系 TcLr38 RGAs 分析[J].中国农学通报,2009,25(19):222-227.
[16] 徐宁,王明海,包淑英,等,小豆远缘杂交研究进展[J].植物遗传资源学报,2010,11(6):666-670.