

黄瓜自交系及其 F_1 的 RAPD 分析

云兴福, 齐秀丽, 王茅雁, 马立国, 刘杰才, 陈贵华

(内蒙古农业大学 农学院 内蒙古 呼和浩特 010018)

摘要: 利用 RAPD 标记方法, 从分子水平上探测了黄瓜亲本自交系与其杂种 F_1 的遗传差异。用 30 个引物对 11 个黄瓜基因型进行了扩增, 共检测出 234 个位点, 其中多态性位点 167 个, 占总位点的 71.37%, 每条引物可扩增 2~17 条带, 平均每条引物产生 7.25 条带。根据 RAPD 遗传距离进行分析, 杂种 F_1 偏向母本自交系遗传; 由亲本自交系间遗传距离可见, 黄瓜亲本自交系间的遗传距离为 0.123~0.164, 说明黄瓜是一种遗传变异较小的蔬菜。作为父本, 津研 7 号自交系与宁阳大刺自交系相比, 子代更加继承了津研 7 号自交系的遗传特性。以上结果与田间性状表现相符。RAPD 标记用于黄瓜遗传差异的研究切实可行, 其结果可用于育种过程中的亲本选配和分子标记辅助选择。

关键词: 黄瓜亲本自交系; F_1 杂交种; RAPD 分析

中图分类号: S642.2 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2006)01-0039-07

RAPD Analysis to Genetic Diversity Between Inbred Lines and Its' Hybrid Progenies F_1 in Cucumber (*Cucumis sativus* L.)

YUN Xing-fu, QI Xiu-li, WANG Mao-yan, MA Li-guo, LIU Jie-cai, CHEN Gui-hua

(Agricultural College, Inner Mongolia Agricultural University, Huhhot 010018, China)

Abstract: This study detected genetic differences between cucumber (*Cucumis sativus* L.) inbred lines and its' hybrid progenies F_1 from molecular level by means of RAPD marker combing field experiment. A total of 30 primers were employed for PCR amplification of 11 genotype of cucumbers, from which 167 polymorphic loci were stored, about 71.37% of total loci. The polymorphic products amplified by each primer ranged from 2-7, with an average of 7.25. According to RAPD genetic distance matrix, cluster analysis was carried out by UPGMA method. The result showed that the hybrid progenies F_1 were inclined to female inbred lines in heredity. Genetic distance among parents inbred lines ranges from 0.123 to 0.164. The result showed that the genetic differences of cucumber were small. As male, F_1 inherits more genetic characteristics of Jinyan 7 inbred lines than Ningyangdaci inbred lines. The above results are roughly concordant with field experimental result and actual situation. It is feasible for RAPD to use for studying genetic diversities of cucumber. The research result can act as theoretical basis for parental selection and molecular marker-assisted selection in breeding procedures.

Key words: Cucumber inbred lines; F_1 hybrid progenies; RAPD analysis

RAPD (Random Amplified polymorphic DNA 随机扩增 DNA 多态性标记) 技术是 1990 年由 William 和 Welsh 等人利用 PCR 技术发展的检测 DNA 多态性的方法, 是利用合成的非特异性寡核苷酸引物 (10 bp) 对基因组 DNA 进行 PCR 扩增来获得多态性 DNA

片段。这类 DNA 标记能检测到多个基因位点, 多态信息含量变化大 (0.2~0.9)。随着现代生物技术的发展, RAPD 技术以其操作简单, 成本低等被广泛应用于玉米、小麦、白菜、油菜、番茄等多种农作物的遗传育种研究。如 RAPD 技术在杂种优势研究中的应

用^[1], 质量性状的基因定位^[2~4], 数量性状的基因定位, RAPD 技术在遗传多样性和物种亲缘关系研究中的应用^[5~7], 利用 RAPD 技术构建分子遗传图谱^[8~10], RAPD 技术在品种(杂种)鉴定中的应用^[11,12], RAPD 技术在核心种质资源的保护中的应用^[13]等。

本研究以黄瓜自交系及其杂交种为材料, 利用 RAPD 技术进行分析, 旨在揭示亲本自交系间、杂交种间、亲本自交系与杂交种间的遗传差别, 以便从分子水平上研究黄瓜亲本自交系及其后代的遗传差异, 为杂交优势预测与亲本选配提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

供试材料选用连续自交 4 年的黄瓜自交系及其 F₁ 共 21 份(表 1)。

表 1 供试材料编号、名称及性状

Tab. 1 The code number, name and characteristic of plant materials

编 号 Code number	名 称 Name	性 状 Characteristics
1, 2	山东密刺×津研 7 号	早熟, 较抗霜霉病
3, 4	新泰密刺×津研 7 号	早熟, 较抗霜霉病
5, 6	长春密刺×津研 7 号	早熟, 较抗霜霉病
7, 8	山东密刺×宁阳大刺	早熟, 较抗霜霉病
9, 10	长春密刺×宁阳大刺	早熟, 较抗霜霉病
11, 12	新泰密刺×宁阳大刺	早熟, 较抗霜霉病
13, 14	长春密刺自交系	早熟, 不抗霜霉病
15, 16, 17	山东密刺自交系	早熟, 不抗霜霉病
18, 19	新泰密刺自交系	早熟, 不抗霜霉病
20	津研 7 号自交系	晚熟, 抗霜霉病
21	宁阳大刺自交系	晚熟, 抗霜霉病

1.2 DNA 的提取

将种子用清水清洗后, 晾干, 再用 HgCl₂ 消毒灭菌 10 min, 灭菌水冲洗 3 次后, 在灭菌后的放有滤纸的培养皿加入灭菌水, 将供试种子放入。在光照箱中培养 2~3 d, 待出苗。苗高约 5 cm 时, 置于黑暗处 24 h, 去淀粉处理。每一个品种建一个 DNA 池。基因组 DNA 的提取采用 CTAB 法(Sagehai-Naroff 等)^[14]。

1.3 基因组 DNA 的质量及浓度检测

1.3.1 OD 值及 DNA 含量的计算 将原液稀释 200 倍, 即使 DNA 原液 5 μL 加入 995 μL 灭菌三蒸水, 混匀后转入石英比色皿中。分光光度计用 2 mL 水校正后, 在 260 nm 分别读取光密度值 DNA 样品浓度

(ng/μL)=OD₂₆₀×核酸稀释倍数(200)×50 ng/μL。

1.3.2 DNA 含量的检测 取 3 μL DNA 原液加入 7 μL 三蒸水和 2 μL 溴酚蓝, 用 0.7% 的琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 浓度, 电压为 3 V。用 Lambda DNA/HindIII/EcoRI 作为标准分子量(Marker), 在紫外检测仪上估测其浓度及完整性。

1.4 RAPD-PCR 扩增反应及反应条件的优化

1.4.1 RAPD-PCR 扩增反应体系 反应所需试剂均购自上海生工生物工程技术有限公司。反应总体积为 25 μL, 扩增反应在 PCR 仪(eppendorf5331 型)内进行, 反应体系为: 50 ng DNA 模板, 1.0 U TaqDNA 聚合酶, 8 mmol/L 随机引物, 2.0 mmol/L MgCl₂, 2.5 mmol/L dNTPs, 2.5 μL 10× Buffer 缓冲液, 用无菌三蒸水补平至 25 μL, 最后加一滴石蜡油, 防止蒸发, 反应程序为: 94℃预变性 1 min, 37℃复性 1 min, 72℃延伸 1.5 min, 45 个循环, 最后 72℃延伸 5 min。

1.4.2 反应条件的优化 为了确定黄瓜基因组 DNA 最佳的扩增条件, 以基本体系为基础, 对 RAPD 的影响因素, 如 MgCl₂、Taq 酶、NTPs、引物浓度、DNA 浓度进行了一系列单因子正交实验(表 2), 选择最佳组合, 确定最终的 RAPD-PCR 反应条件。

表 2 RAPD 反应条件优化设计

Tab. 2 The design of RAPD reation condition

项目 Item	反应的浓度梯度 Concentration							
	1	2	3	4	5	6	7	8
(10 mmol/L)MgCl ₂ (μL)	0.1	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	4.0
(2.5 mmol/L)DNTps(μL)	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	—	—
(5μL)Taq 酶(μL)	0.1	0.5	0.75	1.0	1.25	2.0	2.5	3.0
(5μL)Tap enzyme(μL)	0.1	0.5	0.75	1.0	1.25	2.0	2.5	3.0
(8mmol/L)引物(μL)	0.05	0.1	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0
(8mmol/L)Primer (μL)	0.05	0.1	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0
(ng/μL)模板 DNA(ng)	1	5	10	20	50	80	100	200
(ng/μL)Template DNA (ng)	1	5	10	20	50	80	100	200

1.5 PCR 扩增产物的检测

1.5% 琼脂糖凝胶电泳, EB 染色。电泳液为 0.5×TBE 缓冲液, 电压 110V 1.5~2 h 后, 凝胶成像系统观察结果并存盘。

1.6 数据分析

只统计那些比较清晰的谱带。每个样品的扩增条带按有或无记录。有带记 1, 无带记为 0。根据 Nei's 方法计算样品间的遗传一致度, 计算公式为

$$I=2N_{xy}/(N_x+N_y)$$

式中 I 为遗传一致度; N_x 为样品 X 的总带数; N_y 为样品 Y 的总带数; N_{xy} 为样品 X 和 Y 的总带数。

2 结果与分析

2.1 黄瓜亲本自交系及其 F₁ 的 RAPD 标记多态性

在筛选的 52 条引物中, 共有 30 条引物有扩增产物, 占全部引物的 57. 7%。扩增条带总计 234 条, 不同引物扩增条带变幅为 2~17 条。各引物条带数变化幅度为 1~11 条, RAPD 片段为 200~4 361 bp, 234 条带中多态条带有 167 条, 占全部条带数的 71. 37%。扩增产物中条带数量少的引物是 S35 和 S7, 只产生 2 条带, 分别是 475~625 bp 和 465~1375 bp(图 1, 2), 最多的 S458 共产生 17 条带在 252~2027 bp(图 3, 4), 平均每条引物产生 7. 25 条带。其中 5 个亲本自交系: 长春密刺自交系、山东密刺自交系、新泰密刺自交系、津研 7 号自交系、宁阳大刺自交系分别扩增出 154, 153, 150, 138 和 131 条带, 平均每个自交系扩增出 145. 2 条带。6 个杂交种: 山×津、新×津、长×津、山×宁、长×宁、新×宁分别扩增出 138, 143, 151, 158, 149 和 146 条带, 平均每个杂交种扩增出 147. 5 条带。11 个基因型的黄瓜平均扩增出 146. 35 条带。

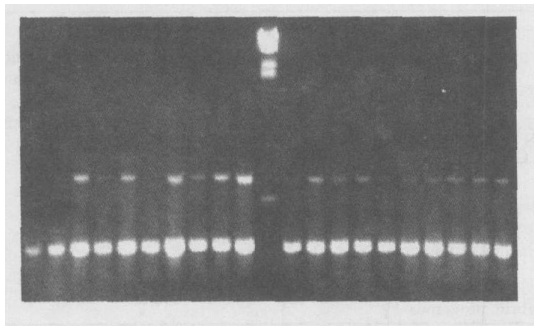


图 1 引物 S35 扩增产物电泳结果
Fig 1 The eletrophoretic patter of PCR products following amplification with primes S35

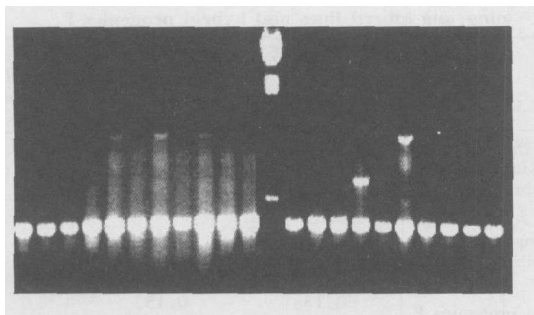


图 2 引物 S7 扩增产物电泳结果
Fig 2 The eletrophoretic patter of PCR products following amplification with primes S7

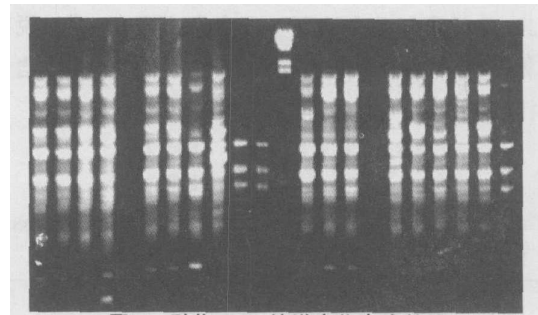


图 3 引物 S458 扩增产物电泳结果
Fig 3 The eletrophoretic patter of PCR products following amplification with primes S458

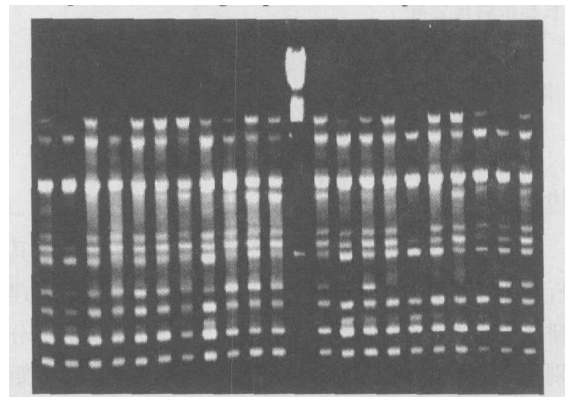


图 4 引物 S206 扩增产物电泳结果
Fig 4 The eletrophoretic patter of PCR products following amplification with primes S206

2.2 黄瓜自交系与其 F₁ 的遗传差异

表 3 列出了山东密刺自交系、津研 7 号自交系及其 F₁ 群体间的遗传距离。遗传距离介于 0. 152 和 0. 171 之间。两亲本的遗传距离较近, 只有 0. 152, F₁ 与父母本自交系遗传距离分别为 0. 171 和 0. 164, 说明 F₁ 偏向母本山东密刺自交系遗传。

表 3 山东密刺自交系、津研 7 号自交系
及 F₁ 间的遗传距离

Tab. 3 The genetic distance among Shangdongmici inbred lines, Jinyanqihao inbred lines and hybrid progenies F₁

	山东密刺自交系 Shandongmici inbred lines	津研 7 号自交系 Jinyanqihao inbred linea	F ₁ Hybrid progenies F ₁
山东密刺自交系 Shandongmici inbred lines	0		
津研 7 号自交系 Jinyanqihao inbred lines	0. 152	0	
F ₁ Hybrid progenies F ₁	0. 164	0. 171	0

由表 4 可以看出, F₁ 与母本长春密刺自交系的遗传距离是 0. 134, F₁ 与父本津研 7 号自交系的遗传距离是 0. 194, F₁ 与母本长春密刺自交系先聚在

一起,然后再与父本津研 7 号自交系聚在一起,说明 F₁ 偏向母本长春密刺自交系遗传,具有偏母性遗传的特性。

表 4 长春密刺自交系、津研 7 号
自交系及其 F₁ 遗传距离

Tab. 4 The genetic distance among Changchunmici inbred lines Jinyanqihao inbred lines and hybrid progenies F ₁			
	长春密刺 自交系 Changchunmici inbred lines	津研 7 号 自交系 Jjinyanqihao inbred lines	F ₁ Hybrid progenies F ₁
长春密刺自交系 Changchunmici inbred lines	0		
津研 7 号自交系 jinyanqihao inbred lines	0.154	0	
F ₁	0.134	0.194	0
Hybrid progenies F ₁			

表 5 是新泰密刺自交系、津研 7 号自交系及其 F₁ 的遗传距离。由表 5 看出新泰密刺自交系和津研 7 号自交系遗传距离为 0.144, 与 F₁ 遗传距离分别为 0.151, 0.178, 由父母本自交系与 F₁ 的遗传距离差异可以看出 F₁ 与母本的遗传距离较小,说明 F₁ 应更多地继承母本新泰密刺自交系的遗传特性。

表 5 新泰密刺自交系、津研 7 号
自交系及其 F₁ 的遗传距离

Tab. 5 The genetic distance among Xintaimici inbred lines, Jinyanqihao inbred lines and hybrid progenies F ₁			
	新泰密 刺自交系 Xintaimici inbred lines	津研 7 号 自交系 Jinyanqihao inbred lines	F ₁ Hybrid progenies F ₁
新泰密刺自交系 Xintaimici inbred lines	0		
津研 7 号自交系 Jinyanqihao inbred lines	0.144	0	
F ₁	0.151	0.178	0
Hybrid progenies F ₁			

表 6 是山东密刺自交系和宁阳大刺自交系及其 F₁ 的遗传距离。由表 6 看出, 山东密刺自交系和宁阳大刺自交系遗传距离为 0.164, 与 F₁ 遗传距离分别为 0.182, 0.213, 由父母本自交系与 F₁ 的遗传距离差异可以看出, F₁ 与母本的遗传距离较小, 说明 F₁ 有偏向母本山东密刺自交系遗传的趋势。

表 7 是长春密刺自交系和宁阳大刺自交系及其 F₁ 的遗传距离。由表 7 可见, 父母本自交系之间的遗传距离为 0.134, F₁ 与父母本自交系的遗传距离

分别为 0.153 和 0.213, 可以看出, F₁ 偏向母本长春密刺自交系遗传。母本长春密刺自交系和父本宁阳大刺自交系先聚在一起, 然后才与 F₁ 聚在一起, 说明父母本自交系间的遗传距离较近。

表 6 山东密刺自交系、宁阳大刺
自交系及其 F₁ 的遗传距离

Tab. 6 The genetic distance among shandongmici inbred lines ningyang inbred lines and hybrid progenies F ₁			
	山东密刺 自交系 Shandongmici inbred lines	宁阳大刺 自交系 Ningyangdaci inbred lines	F ₁ Hybrid progenies F ₁
山东密刺自交系 Shandongmici inbred lines	0		
宁阳大刺自交系 Ningyangdaci inbred lines	0.164	0	
F ₁	0.182	0.213	0
Hybrid progenies F ₁			

表 7 长春密刺自交系、宁阳大刺
自交系及其 F₁ 的遗传距离

Tab. 7 The genetic distance among Changchunmici inbred lines Ningyang inbred lines and hybrid progenies F ₁			
	长春密刺 自交系 Changchunmici inbred lines	宁阳大刺 自交系 Ningyangdaci inbred lines	F ₁ Hybrid progenies F ₁
长春密刺自交系 Changchunmici inbred lines	0		
宁阳大刺自交系 Ningyangdaci inbred lines	0.134	0	
F ₁	0.153	0.213	0
Hybrid progenies F ₁			

表 8 新泰密刺自交系、宁阳大刺
自交系及其 F₁ 的遗传距离

Tab. 8 The genetic distance among xintaimici inbred lines ningyang inbred lines and hybrid progenies F ₁			
	新泰密刺 自交系 Xintaimici inbred lines	宁阳大刺 自交系 Ningyangdaci inbred lines	F ₁ Hybrid progenies F ₁
新泰密刺自交系 Xintaimici inbred lines	0		
宁阳大刺自交系 Ningyangdaci inbred lines	0.134	0	
F ₁	0.138	0.152	0
Hybrid progenies F ₁			

表 8 是新泰密刺自交系、宁阳大刺自交系及其 F₁ 的遗传距离。F₁ 先与母本新泰密刺自交系聚在

一起,然后再和父本宁阳大刺自交系聚在一起,这说明 F₁ 与母本新泰密刺自交系亲缘关系较近,由表 8 可见, F₁ 与母本新泰密刺自交系的遗传距离为 0.138,与父本宁阳大刺自交系的遗传距离为 0.152,说明 F₁ 有偏向母本自交系遗传的趋势。

由表 8 还可以看出,杂种 F₁ 的 DNA 带型具有明显偏向母本遗传趋势,即 F₁ 与母本遗传差异较小,而与父本遗传差异较大,F₁ 在遗传上应更多的保留母本自交系遗传特性。由遗传距离可看出,两亲本间遗传差异也不大,在 0.123~0.164 之间,这说明亲本自交系间的遗传距离较近。综合上述,RAPD 作为分子标记,能直观反应出各亲本自交系

及其杂交后代的遗传差异。

2.3 供试亲本自交系与 F₁ 基因组 DNA 的 RAPD 带型相似率比较

由于 RAPD 标记属于显性遗传,可以统计亲本自交系及杂交后代间相同或不同位置的 RAPD 带数,进而来推断某两种材料间的遗传差异性。由表 9 可以看出, F₁ 与母本自交系共有的条带数多于与父本自交系共有的条带数。说明 F₁ 中较多地保留了母本自交系的遗传特征。由带型相似率可以看出, F₁ 有偏母本自交系遗传的趋势,同时也具有父本自交系的多数带型。

表 9 供试亲本自交系与 F₁ 基因组 DNA 的 RAPD 带型相似率比较

Tab. 9 The comparition of bond similar rate of genomic DNA between parants inbred lines and hybrid progenies F ₁									
	山×津 Shan×jin	山×F ₁ Shan×F ₁	津×F ₁ Jin×F ₁	新×津 Xin×jin	新×-F ₁ Xin×F ₁	津×F ₁ Jin×F ₁	长×津 Chang×jin	长×F ₁ Chang×F ₁	津×F ₁ Jin×F ₁
两材料共有条带 Same lines existed in two material	123	122	115	123	127	116	126	132	123
两材料均总条带 Average total lines existed in two material	145	141	138	149	149	141	147	153	147
带型相似率 Bend similar rate	84.8	86.5	83.3	82.6	85.2	82.3	85.7	86.3	83.7
	山×宁 Shan×ning	山×F ₁ Shan×F ₁	宁×F ₁ Ning×F ₁	长×宁 Chang×ning	长×F ₁ Chang×F ₁	宁×F ₁ Ning×F	新×宁 Xin×ning	新×F ₁ Xin×F ₁	宁×F ₁ Ning×F ₁
两材料共有条带 Same lines existed in two material	119	123	110	124	128	112	121	130	118
两材料均总条带 Average total lines existed in two material	148	151	143	146	152	143	147	151	141
带型相似率 Bend similar rate	80.4	81.5	76.9	84.9	84.2	78.3	82.3	86.1	83.6

2.4 自交系间的遗传差异

5 个亲本山东密刺自交系(母本)、津研 7 号自交系(父本)、新泰密刺自交系(母本)、宁阳大刺自交系(父本)和长春密刺自交系(母本)之间的遗传距离见表 10。若阈值 T=0.130,可将 5 个自交系分为 3 类: I 类为 2 个父本津研 7 号自交系和宁阳大刺自交系; II 类为新泰密刺自交系(母本)、长春密刺自交系(母本); III 类为山东密刺自交系(母本)。若阈值 T=0.132,则将 5 个自交系分为 2 类: I 类为津研 7 号自交系、宁阳大刺自交系(2 个父本); II 类为 3 个母本新泰密刺自交系、长春密刺自交系和山东密刺

自交系。由以上分析可以看出,无论取阈值为何,2 父本与 3 母本之间的遗传距离相比较而言还是较远的。

2.5 F₁ 杂交种间的遗传差异

6 个 F₁ 杂交种的遗传距离见表 11。由表 11 可见,山东密刺自交系×津研 7 号自交系所得 F₁ 与新泰密刺自交系×津研 7 号自交系所得 F₁ 的遗传距离最小,仅为 0.098,说明两者遗传距离很小。取阈值 T=0.135,可将 6 个杂交种分为 4 类: I 类为山×津、新×津和长×津; II 类为新×宁; III 类为长×宁; IV 类为山×宁。

表 10 5 个自交系间的遗传距离

Tab 10 The genetic distance among five inbred lines

	山东密刺自交系 Shandongmici inbred lines	津研 7 号自交系 Jinyanqihao inbred lines	新泰密刺自交系 Xintaimici inbred lines	宁阳大刺自交系 Ningyangdaci inbred lines	长春密刺自交系 Changchun inbred lines
山东密刺自交系 Shandongmici inbred lines	0				
津研 7 号自交系 Jinyanmici inbred lines	0.152	0			
新泰密刺自交系 Xintaimici inbred lines	0.134	0.144	0		
宁阳大刺自交系 Ningyangdaci inbred lines	0.164	0.123	0.154	0	
长春密刺自交系 Changchunmici inbred lines	0.131	0.154	0.129	0.134	0

表 11 F₁ 杂交种间的遗传距离

Tab 11 The genetic distance among hybrid progenies F₁

	山×津 Shan×jin	新×津 Xin×jin	长×津 Chang×jin	山×宁 Shan×ning	长×宁 Chang×ning	新×宁 Xin×ning
山×津 Shan×jin	0					
新×津 Xin×jin	0.098	0				
长×津 Chang×jin	0.118	0.102	0			
山×宁 Shan×ning	0.138	0.156	0.142	0		
长×宁 Chang×ning	0.165	0.144	0.160	0.165	0	
新×宁 Xin×ning	0.122	0.123	0.128	0.149	0.130	0

3 结论与讨论

植物育种的基础是遗传差异。传统的育种方法主要集中在从分离群体后代中进行优化选择,而这种选择主要是建立在表现型的基础上。尽管现代遗传学和统计学能减少环境因素对性状的影响,但环境条件对性状的影响是十分复杂而且难于避免的。利用 RAPD 技术就可以克服环境因素的影响,更加真实地从 DNA 分子水平上确定杂种优势的存在。

目前,在黄瓜生产上使用的栽培品种,大致上可以分为华北系统和华南系统。从亲缘关系上说,两大系统只不过是近缘关系,南北两系间互相杂交,是属于种内品种间杂交,育种材料亲缘关系过分单一,造成育种工作很难取得突破。现代黄瓜育种总的趋势是培育具有综合性能的新产品,如抗病育种、丰产性育种、早熟性育种、品质选育等。黄瓜育种上另一个趋势是选育 F₁ 杂种。因此需要黄瓜亲本之间的

遗传差异及亲本与 F₁ 之间、F₁ 之间的遗传关系,进而研究适宜的遗传控制辅助育种系统,对提高育种效率,加快培育出更能满足社会需要的品种有重要意义。

有学者研究发现黄瓜的遗传变异幅度较小,遗传基础狭窄,用同功酶谱研究其亲缘关系十分困难^[15, 16]。RAPD 标记直接研究控制物种生长发育的遗传物质 DNA,抓住了生命最本质的物质基础,它标记的性状数目不受限制,不受生长发育时期和环境的影响,因而能更可靠真实地反应出亲本自交系及其杂交种后代的遗传差异,在今后的育种亲缘鉴定及其基因定位中有着重要的实际应用价值。

试验结果表明,71.37%的扩增产物具有多态性,30 个引物共扩增出 234 条 DNA 片段,长度为 200~4 361 bp。其中多态性条带有 167 条,占全部条带数的 71.37%。11 个基因型的黄瓜平均扩增出 146.35 条带。由亲本自交系及其杂种 F₁ 的遗传差异可见,杂种 F₁ 有偏向母本自交系遗传的趋势,这与他们在田间的性状表现是一致的:母本自交系均为早熟但不抗霜霉病;父本自交系均为晚熟,抗霜霉病;F₁ 继承了母本自交系早熟的性状,并超出了双亲,具有较强的杂种优势,抗霜霉病能力强于母本,但不及父本。可见, F₁ 更多的保留了母本自交系的遗传特征。根据遗传距离可以看出,亲本自交系间的遗传距离为 0.123~0.164,杂种 F₁ 的遗传距离为 0.098~0.165,这与张海英等提出的:“黄瓜是一种遗传变异较小的材料”相一致。无论取阈值为 0.130 还是 0.132,2 个父本与 3 个母本之间的遗传距离相比较而言还是较远的,从分子水平上证明了我们的育种方向上还是正确的。对杂种的遗传差异分析表

明, 山东密刺自交系 \times 津研 7 号自交系所得的 F_1 与新泰密刺自交系 \times 津研七号自交系所得的 F_1 的遗传距离最小, 仅为 0.098, 说明两者遗传基础几乎相同, 田间观察他们的性状表现也无明显差异, 这可能与他们具有同一父本有关。作为父本, 津研 7 号自交系与宁阳大刺自交系相比, 子代更多继承了津研 7 号自交系的遗传特性, 这与他们田间表现的性状是一致的, 即以津研 7 号自交系作父本的 F_1 的抗霜霉病能力, 要比以宁阳大刺自交系为父本的 F_1 的抗霜霉病能力强。可见, 同样作为父本, 津研 7 号自交系与宁阳大刺自交系相比, 子代更多继承了津研 7 号自交系的遗传特性。

根据 RAPD 遗传距离, 若以阈值 $T=0.130$ 时, 可将 5 个自交系分为 3 类, 分别是: 类群 I, 津研 7 号自交系($\hat{\sigma}$)和宁阳大刺自交系($\hat{\sigma}$), 均为父本; 类群 II, 新泰密刺自交系($\hat{\sigma}$)和长春密刺自交系($\hat{\sigma}$); 类群 III 山东密刺自交系($\hat{\sigma}$)。从分子水平上说明了我们育种方向还是正确的。对 6 个杂交种可取阈值 $T=0.135$, 则将他们分为 4 类, I 类为山东密刺自交系 \times 津研 7 号自交系的杂交种、新泰密刺自交系 \times 津研 7 号自交系的杂交种和长春密刺自交系 \times 津研 7 号自交系的杂交种; II 类为新泰密刺自交系 \times 宁阳大刺自交系的杂交种; III 类为长春密刺自交系 \times 宁阳大刺自交系的杂交种; IV 类为山东密刺自交系 \times 宁阳大刺自交系的杂交种。结合田间试验以上划分基本符合实际。

RAPD 标记用于黄瓜亲本自交系及其 F_1 的研究切实可行。在黄瓜育种过程中, 可以根据标记分析结果进行亲本选配, 以产生出分离类型多的后代或强杂交种优势组合。另外, 一些特异的 RAPD 扩增条带, 可进一步重复并结合田间试验, 找到他们与某一性状的连锁关系, 可用于分子标记辅助选择。

参考文献:

- [1] 吕雪梅, 杨关福. 蛋鸡品系 RAPD 变异及其与杂种优势关系的分析[J]. 南京农业大学学报, 1999, 21(2): 24—28
- [2] 王晓武, 方致远, 孙培田, 等. 一个与甘蓝显性雄性不育

基因连锁的 RAPD 标记[J]. 园艺学报, 1998, 25(2): 197—198

- [3] ZHANG Bao-xi, HUANG San-wen, YAN Gui-mei, *et al* Two RAPD markers linked to a major fertility restorer gene in pepper[J]. Euphytica, 2000, 113: 115—116
- [4] 田苗英, 冯兰香, 杨翠荣, 等. 应用 RAPD 方法获得与番茄 T_0MV 抗性基因 $Tm2^m$ 连锁的分子标记[J]. 植物病理学报, 2000, 30(2): 158—161.
- [5] 漆小泉, 朱德蔚, 沈 镐, 等. 大白菜和紫菜苔自交染色体组 DNA 的 RAPD 分析[J]. 园艺学报, 1995, 22(3): 256—262
- [6] 张海英, 王永健, 许 勇, 等. 黄瓜种质资源遗传亲缘关系的 RAPD 分析[J]. 园艺学报, 1998, 25(4): 345—349
- [7] 张海英, 王永健, 许 勇, 等. 黄瓜育种中“血缘”遗传关系分析研究[J]. 华北农学报, 2002, 29(3): 229—232
- [8] 陈书霞, 王晓武, 方致远, 等. RAPD 标记构建芥蓝 \times 甘蓝分子标记连锁图[J]. 园艺学报, 2002, 29(3): 229—232
- [9] 黄三文, 王晓武, 张宝玺. 蔬菜作物分子标记研究进展与我国的发展策略[J]. 中国蔬菜, 1999, 1: 50—53
- [10] 黄三文, 张宝玺, 郭家珍, 等. 辣椒 RAPD 系统的建立及在杂种纯度鉴定中的应用[J]. 园艺学报, 2001, 28(1): 77—79
- [11] 邓义才, 王得元, 李乃坚, 等. 利用 RAPD 技术鉴定早青 3 号黄瓜种子纯度的研究[J]. 广东农业科学, 1999, (3): 17—18
- [12] 栾雨时, 苏 乔, 李海涛. 利用 RAPD 技术鉴定番茄杂种纯度[J]. 园艺学报, 1998, 25(3): 247—251.
- [13] 陈若雷. RAPD 标记及其在作物育种中的应用[J]. 生物学杂志, 2000, 27(4): 33
- [14] Saghai-Maroo M A. Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: mendelian inheritance chromosomal location, and population dynamics[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1984, 81: 8014—8018
- [15] Staub J E, Kupper R S, Schuman D, *et al* Electrophoretic variation and enzyme storage stability in cucumber[J]. J Am Soc Hortic Sci, 1985, 110: 426—431
- [16] Staub J E, Box J, Meglic V, *et al*. Comparison of isozyme and random amplified polymorphic DNA data for determining inter-specific variation in cucumber[J]. Genetic Resources and Crop Evolution, 1997, 44(3): 257—269.