

甜瓜属人工异源四倍体与栽培黄瓜渐渗杂交及其后代遗传变异研究

庄飞云^{1,2} 陈劲枫^{1*} Joe Wolucai¹ 娄群峰¹ 钱春桃¹ 罗向东¹

(¹作物遗传与种质创新国家重点实验室, 南京农业大学园艺学院, 南京 210095; ²中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 北京 100081)

摘要: 以甜瓜属人工异源四倍体 (*Cucumis xhytivus* Chen and Kirkbride, $2n=38$) 与华南和华北两种生态型栽培黄瓜 (*C. sativus* L., $2n=14$) 进行杂交, 比较各个杂交组合的坐果率及结籽率情况, 并通过形态学和分子标记的方法研究这些后代群体的遗传变异。结果表明, 各种杂交组合的坐果率达到 83% ~ 100%, 其中以异源四倍体 ×栽培黄瓜获得含有胚的果实比例较高, 为 60% ~ 67%, 平均每个果实中约有 10~20 个胚, 通过胚胎拯救, 成活率接近 100%, 染色体计数为 26 条, 为异源三倍体。在以栽培黄瓜 ×异源四倍体的杂交中, 获得 3 个果实, 其中 1 个果实含有大约 180 个胚, 胚胎拯救成活率接近 80%, 染色体数为 26 条, 为异源三倍体; 另外 2 个果实分别含有 60 粒和 15 粒种子, 植株染色体数为 14 条, 与栽培黄瓜相同。异源三倍体与栽培黄瓜间杂交产生的含有胚或种子的果实极少。选择其中 1 个异源四倍体 ×栽培黄瓜后代含 14 条染色体的群体 (HH1 群体) 深入研究, 有 4 株表现野生种 *C. hystrix* 的多分枝习性, 6 株的果刺颜色表现野生种 *C. hystrix* 的黑色性状, 且其果皮成熟颜色均为橘红色, 不同于两个原始亲本。通过 SSR 和 RAPD 两种标记对 HH1 群体的遗传研究, 19 个 SSR 标记共产生 63 个等位基因, 其中 24 个 (约 38.1%) 表现出变异, 有 7 个等位基因可能来自于野生种 *C. hystrix*。在 400 余条随机引物中, 有 24 条引物产生变异位点, 在统计的 186 个位点中, 有 56 个 (31.7%) 位点出现遗传分离, 其中 8 个位点可能来自于野生种 *C. hystrix*, 这表明通过远缘杂交及渐渗杂交过程可将野生种的基因导入栽培黄瓜中。

关键词: 黄瓜; 异源四倍体; SSR; RAPD; 渐渗杂交; 遗传变异

中图分类号: S 642.2 文献标识码: A 文章编号: 0513-353X (2006) 02-0266-06

Introgressive Hybridization between the Synthetic Allotetraploid in *Cucumis* and Cultivated Cucumber and Assessment of the Genetic Variation in the Progenies

Zhuang Feiyun^{1,2}, Chen Jinfeng^{1*}, Joe Wolucai¹, Lou Qunfeng¹, Qian Chuntao¹, and Luo Xiangdong¹

(¹ State Key Laboratory of Crop Genetics and Germplasm Enhancement, College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; ² Institute of Vegetable Crops and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract: The percentage of fruit set and seed set in the crosses between amphidiploid (*Cucumis xhytivus* Chen and Kirkbride, $2n=38$), and south and north ecotype cucumber cultigens (*C. sativus* L., $2n=14$), and genetic variation in these progenies were investigated. The percentage of fruit set in all crosses was high (83% - 100%). The ratio of fruit with embryo was 60% - 67% in the crosses between *C. xhytivus* and cucumber cultigens. Each fruit had about 10 - 20 embryos, which could survive and develop into plantlets through embryo rescue. The chromosome number of these plantlets was 26, as allotriploid. When cucumber cultigens crossed with amphidiploid *C. xhytivus*, three fruits were obtained. One fruit had about 180 embryos, 80% of which could survive through embryo rescue, and the chromosome number was 26. Others produced 60

收稿日期: 2005 - 05 - 09; 修回日期: 2005 - 09 - 07

基金项目: 国家高技术研究发展计划专项资助项目 (2002AA241251, 2002AA207012, 2004AA241120); 国家自然科学基金资助项目 (30170644); 教育部跨世纪优秀人才培养计划资助项目

* 通讯作者 Author for correspondence (E-mail: jfchen@njau.edu.cn)

seeds (as HH1 population) and 15 ones with 14 chromosomes similar to that of cucumber cultigens, respectively. Few fruits with embryos or seeds were obtained in the crosses between allotriploid and cucumber cultigens. HH1 population was selected to investigate the genetic variation from morphology and molecular markers. Four plants showed the original parent *C. hystrix* traits such as black spines on fruit, while six plants had multiple branching habits and unique morphological characteristics such as orange skin of fruit. Nineteen SSR primer pairs produced 63 alleles in HH1 and 24 alleles (38.1%) were segregated, and seven of them might come from *C. hystrix*. From 400 arbitrary primers screened, twenty-four produced varied primed sites and among the 186 primed sites 31.7% were segregated. The results suggested that the genes of *C. hystrix* could be introduced into cucumber through interspecific hybridization and introgression.

Key words: Cucumber; *C. xhytivus*; SSR; RAPD; Introgressive hybridization; Genetic variation

远缘杂交在植物遗传与育种研究中占有重要地位,既是探讨物种起源和进化等基础理论问题不可缺少的课题,又是人工合成新物种、新类型等的重要手段。远缘杂交成功与否,一方面取决于亲本间杂交亲和性,另一方面还在于能否将外源染色体或有益片段转移给栽培品种^[1]。因而在实际应用过程中,易位系的选育是育种的重要目标,而异源四倍体却是易位、代换、附加系的源泉^[2,3]。

亲本染色体组间的亲缘关系对于种间杂种及异源四倍体的再生产再利用具有重要影响^[2,4-6]。通过渐渗杂交(Introgression)将有用的基因从野生种或近缘种导入栽培品种的效率,很大程度上取决于染色体组间部分同源染色体间的重组交换频率^[7]。细胞学研究表明异源四倍体 *C. xhytivus* 的花粉母细胞(PMC)在减数分裂过程中存在多价染色体,并获得了其特征性分子标记^[8],这表明栽培黄瓜和野生种 *C. hystrix* 染色体组间的确存在部分同源染色体配对重组过程。本研究将在此基础上,通过异源四倍体 *C. xhytivus* 与华南和华北两种生态型栽培黄瓜杂交试验,观察不同杂交组合后代染色体数变异,探讨异源四倍体和异源三倍体不同倍性配子遗传情况,通过形态学和分子标记研究杂交后代群体的遗传变异,为通过渐渗杂交扩大黄瓜遗传基础、创造新型黄瓜育种材料奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

试验采用的材料是3个异源四倍体(*C. xhytivus*)株系(H1-2、C1-33、C1-77),1个异源三倍体株系(C1-56),4个栽培黄瓜(*C. sativus*)品种分别是华南型‘二早子’(CC1)、“白丝条”(CC2),华北型‘北京截头’(CC3)、“津研4号”(CC4)。

1.2 方法

分别以各试材作为父母本,进行杂交或自交(表1)。雌雄花先进行人工隔离,再人工授粉。授粉5 d后,统计坐果率。30~40 d后采收果实,预先将果实用75%的酒精擦洗一遍,再在超净台上剖开果实,统计种胚数(指未能发育成种子的数量)和结籽数。以异源四倍体和异源三倍体作为母本的杂交组合,以及栽培黄瓜与异源四倍体杂交组合获得的种胚或种子,先进行组培繁殖,长成植株后再进行染色体计数。以栽培黄瓜作为母本的杂交组合获得的饱满种子,直接置于28℃恒温箱中催芽育苗。待子叶展平时,测定子叶形状变异及大小。3月下旬定植于南京农业大学蔬菜实验田,6月上旬观测各单株的分枝数、果刺颜色、子房、果把、果柄、果形及成熟果皮色等形态指标^[9]。

1.3 细胞学观察

选取各植株上1~3 cm大小的幼嫩卷须,置于冰水混合物中预处理12 h以上,然后于18℃下用8-羟基喹啉遮光处理3~4 h,用改良的Camoy's固定液(无水酒精:氯仿:冰醋酸=5:2:3)固定24 h,转到70%酒精中低温下保存备用,镜检时首先经1 mol·L⁻¹ HCl于严格65℃下解离10~20 min后,切取卷须顶部1.5~3.0 mm的分生区,于阴凉处用Schiff试剂染色1 h,再用1%醋酸洋红滴染后微烤、敲片、压片、镜检并照相^[10]。

1.4 分子标记研究

以栽培黄瓜与异源四倍体 *C. xhytivus* 杂交获得的 1 个果实中产生 60 粒种子，其中 29 粒能发芽，记为 HH1 群体（表 1）。HH1 群体以单株取样，CTAB 法提取 DNA。采用 19 对 SSR 标记引物和 400 余条上海生工公司合成的随机引物进行扩增分析，反应体系、反应条件及产物检测均同文献 [11]。

1.5 数据统计

用卡平方 (χ^2) 分析法对 HH1 群体形态性状和分子标记分离进行测验 [12]，观察其遗传分离规律。

2 结果与分析

2.1 回交后代的结实情况

从表 1 可看出，异源四倍体、三倍体与两种生态型栽培黄瓜相互杂交的坐果率达到 83% ~ 100%。以异源四倍体 \times 栽培黄瓜杂交组合获得含有胚的果实比例较高（60% ~ 67%），平均每个果实中含有 10 ~ 20 个胚，通过胚胎拯救成活率接近 100%。相反，栽培黄瓜 \times 异源四倍体杂交，仅获得 3 个含有成熟胚或种子的果实，分别是 CC1 \times C1-33 杂交果实中含有大约 180 个成熟胚，胚胎拯救成活率接近 80%，CC3 \times H1-2 杂交果实产生 60 粒种子（记为 HH1 群体），CC4 \times C1-77 杂交果实产生 15 粒种子（记为 HH2 群体）。异源三倍体 \times 栽培黄瓜杂交果实中含有的胚或种子极少，有 4 个果实中分别产生 1 粒饱满种子 [(CC1 \times C1-33) \times CC3、(C1-33 \times CC3) \times CC3 和 C1-56 \times CC1]，1 个果实中产生 2 粒饱满种子 (C1-56 \times CC4)，另 1 个果实中产生 23 粒种子 (CC3 \times C1-56，记为 HH3 群体)。异源三倍体的自交坐果率比杂交坐果率低，为 48% ~ 75%，果实中没有任何成熟胚或饱满种子。

表 1 双二倍体、回交三倍体与栽培黄瓜相互杂交结实情况

Table 1 The fruiting of crosses between amphidiploid, allotriploid and cucumber

| 杂交方式 Cross | 雌花授粉数 Number of flowers pollinated | 坐果数 Number of fruit set | 坐果率 Ratio of fruit set (%) | 产生胚或种子的果实数 Number of fruit with embryo or seeds | 种胚数 Number of embryo | 结籽数 Number of seeds |
|-----------------------------------|--|-------------------------------|----------------------------------|---|----------------------------|---------------------------|
| CC3 \times H1-2 | 10 | 9 | 90 | 1 | > 60 | 60 |
| C1-33 \times CC1 | 15 | 12 | 80 | 8 | 120 | 0 |
| CC1 \times C1-33 | 28 | 28 | 100 | 1 | 180 | 0 |
| C1-33 \times CC3 | 30 | 25 | 83 | 15 | 260 | 0 |
| CC4 \times C1-77 | 20 | 18 | 90 | 1 | > 15 | 15 |
| (CC1 \times C1-33) \odot | 25 | 12 | 48 | 0 | 0 | 0 |
| (CC1 \times C1-33) \times CC1 | 8 | 8 | 100 | 0 | 0 | 0 |
| (CC1 \times C1-33) \times CC2 | 12 | 12 | 100 | 0 | 0 | 0 |
| (CC1 \times C1-33) \times CC3 | 50 | 45 | 90 | 2 | > 2 | 2 |
| (CC1 \times C1-33) \times CC4 | 5 | 5 | 100 | 0 | 0 | 0 |
| (C1-33 \times CC1) \odot | 4 | 3 | 75 | 0 | 0 | 0 |
| (C1-33 \times CC1) \times CC2 | 5 | 5 | 100 | 0 | 0 | 0 |
| (C1-33 \times CC3) \times CC3 | 18 | 18 | 100 | 1 | > 1 | 1 |
| (C1-33 \times CC3) \odot | 7 | 5 | 71 | 0 | 0 | 0 |
| C1-56 \odot | 200 | 130 | 65 | 0 | 0 | 0 |
| C1-56 \times CC1 | 14 | 14 | 100 | 1 | > 1 | 1 |
| C1-56 \times CC2 | 11 | 11 | 100 | 0 | 0 | 0 |
| C1-56 \times CC3 | 24 | 24 | 100 | 0 | 0 | 0 |
| C1-56 \times CC4 | 12 | 10 | 83 | 1 | > 2 | 2 |
| CC3 \times C1-56 | 24 | 22 | 92 | 1 | > 23 | 23 |
| 总计 Total | 522 | 416 | 80 | 32 | > 664 | 104 |

2.2 染色体倍性观察

以 C1-33 \times CC1、CC1 \times C1-33 和 C1-33 \times CC3 产生的胚，经胚胎拯救获得的植株，形态趋近于异源四倍体，长势旺盛，通过对染色体数统计，均为 26 条，没有发现非整倍体植株。以 (CC1 \times C1-33) \times CC3、(C1-33 \times CC3) \times CC3、C1-56 \times CC1 和 CC3 \times C1-56 获得 6 棵单株，形态偏向于栽培黄瓜，染色体数为 14 条。对 HH1 群体 29 个单株染色体数的观察，均为 14 条，没有发现三倍体 ($2n =$

3x=26) 或非整倍体现象。HH2和 HH3群体发芽率分别是 87%和 100%，HH2群体幼苗子叶卷曲，大小不一致，HH3群体子叶平展，一致性好。通过对两群体各单株染色体数观察，均为 14条。

2.3 HH1群体形态变异观察

HH1群体的 29个单株子叶变异较大，部分子叶平展，且面积较大（5.5 cm ×2.3 cm），而部分子叶弯曲，面积较小（2.7 cm ×0.8 cm），叶色深绿，甚至有的子叶呈直立状。由于植株子叶发育程度不同，植株早期长势差异较大，但在 8~10片真叶期，这种差异逐渐减小。

在 HH1群体中，有 6株的果刺颜色表现出原始亲本野生种的黑刺性状，与白刺的分离比为 1:3（表 2），表现出隐性性状，这不同于前人的结果^[13,14]。有 4株的分枝偏向于野生种的多分枝习性。子房、果把、果柄及果型等性状呈现 1:3分离。6株果实成熟颜色为橘红色，不同于两原始亲本的成熟果色，但表现出与黑刺紧密连锁关系^[15]。

表 2 HH1群体的部分性状分离分析

Table 2 The segregation of partial morphological traits about HH1 population

| 形态性状 | 表型表达 | 表型比 |
|--------------------------------|---|-----------------|
| Morphology characters | Phenotype expression | Phenotype ratio |
| 分枝数 Branch number | 强分枝 Strong branching(8) /单分枝或寡分枝 Single or weak branching(<8) | 4:25* |
| 果刺颜色 Spine color | 黑 Black/白 White | 6:23* |
| 子房长 Ovary length | 短 Short(<3 cm) /长 Long(3 cm) | 6:23* |
| 果把长 Fruit end length | 短 Short(<1.5 cm) /长 Long(1.5 cm) | 8:21* |
| 果柄长 Pedicel length | 短 Short(<1.5 cm) /长 Long(1.5 cm) | 4:25* |
| 果形 Shape of fruit | 短 Short(<20 cm) /长 Long(20 cm) | 6:23* |
| 成熟果皮色 Color of mature pericarp | 橘红 Orange/黄 Yellow | 6:23* |

* ²测验符合 1:3理论比例， $P>0.05$ 。* Fitted into the theoretical ratio (1:3) by chi-square test, $P>0.05$.

2.4 SSR标记分析

19对 SSR 标记引物在 HH1群体中共产生 63个等位基因位点，其中 7个位点来自于原始亲本野生种 *C. hystrix* (CMTC160 a+b/210 bp, CSAT425/75 bp, CS-ACS1/83 bp, CSLHCPA/62 bp, CSHPRAG/130 bp, 63 bp, 61 bp)，5个为野生种 *C. hystrix*与栽培黄瓜共同形成的杂合位点，另有 5个位点是 HH1群体新生位点 (CMTA170 a/242 bp, CSAT214/130 bp, CS-ACC1/145 bp, CSLHCPA/64 bp, CSHPRAG/115 bp)，在两个原始亲本内都没有。在 63个等位基因位点中，共有 24个位点发生分离，其中 4个位点表现为偏分离。图 1，A为野生种 *C. hystrix*的等位基因 CSLHCPA/62 bp 导入到了 HH1群体中，但 1号单株并没有出现该位点，而出现了一个新位点 b。图 1，B为 CSHPRAG标记在 HH1群体形成的新等位基因位点 a、b。

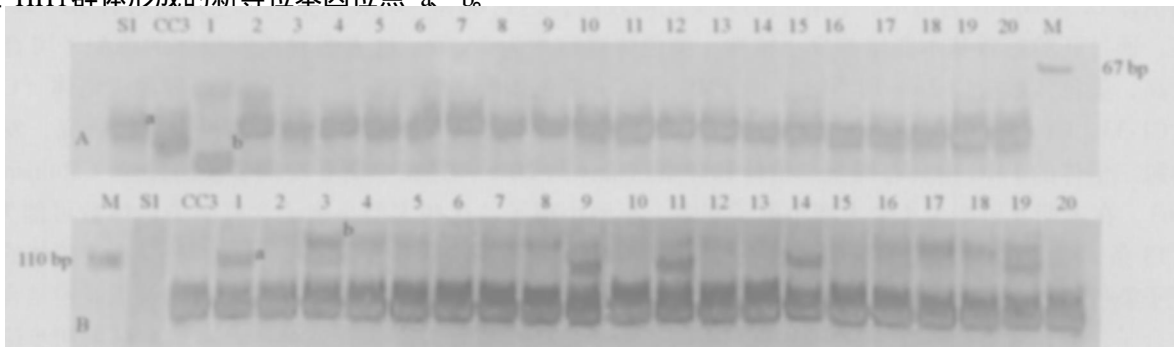


图 1 HH1群体部分单株扩增的 SSR标记图谱

A: CSLHCPA标记，野生种 *C. hystrix*的等位基因 a 导入了 HH1群体，但 1号单株产生了新的位点 b；B: CSHPRAG标记，等位基因 a、b 为 HH1群体形成的新变异位点。S1为野生种 *C. hystrix*，CC3为‘北京截头’*C. sativus*，1~20为 HH1群体各单株；M: marker

Fig 1 The pattern of SSR makers amplified with part of HH1 population

A: CSLHCPA marker The allele ‘a’ was transferred from *C. hystrix* to HH1 population while No. 1 plant produced the new allele ‘b’.

B: CSHPRAG marker HH1 population produced two new alleles ‘a’ and ‘b’. S1 was *C. hystrix*, CC3 was *C. sativus*, and 1~20 was the single plant of HH1 population; M: marker

2.5 RAPD 标记分析

先用 6 个模板 DNA (S1、CC3、1、2、14、27) 对 400 余条随机引物进行初选, 再用 HH1 群体对所选引物进行重复扩增, 最终确定有 24 条引物产生变异位点 (A-02, 03, 09, 11, B-01, 10, C-05, D-07, E-03, 07, 09, 14, 19, 20, G-04, 09, 11, I-01, N-12, 20, A I-02, 04, A J-12)。其中有 7 条引物产生的 8 条带可能来自于野生种 *C. hystrix*, 分别是 A-03/480 bp, A-11/350 bp, B-10/760 bp, E-20/1200 bp, E-20/200 bp, G-11/1100 bp, A I-02/420 bp, A I-04/1130 bp。在统计的 186 个位点中, 有 56 个发生遗传分离, 其中 24 个位点表现为偏分离遗传。图 2 所示为野生种 *C. hystrix* 的 A I-04/1130 bp 位点导入到了 HH1 群体部分单株中, 分别是第 2、8、14、16、19 及 21 号。

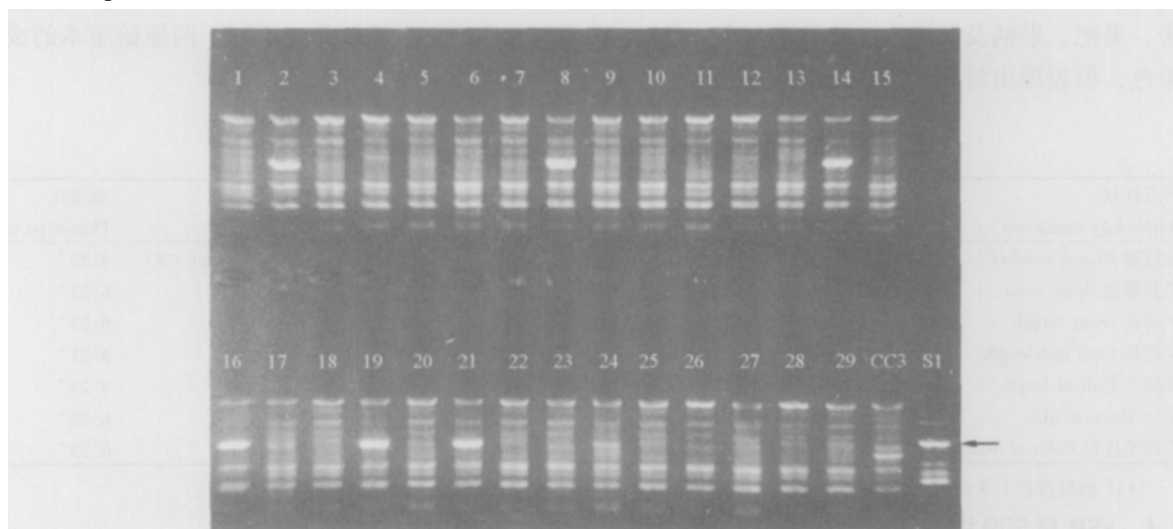


图 2 随机引物 A I-04 扩增的图谱

箭头所指的位点可能导入 HH1 群体。CC3 为 ‘北京截头’ *C. sativus*, S1 为野生种 *C. hystrix*, 1~29 为 HH1 群体各单株。

Fig. 2 RAPD profiles generated by primer A I-04 in HH1 and parents

The arrow showed the band was transferred from *C. hystrix* to part of HH1. CC3 was *C. sativus*, S1 was *C. hystrix*. 1 - 29 were the single plant of HH1 population

3 讨论

作者通过对异源四倍体、异源三倍体与两种生态型栽培黄瓜进行正反杂交试验, 结果表明不同杂交组合的平均坐果率达到 80% 以上, 但在统计的 416 个果实中仅有 32 个具有胚或种子。其中以异源四倍体 *C. ×hytivus* 为母本, 含有胚的果实比例较高, 达到 60% ~ 67%, 平均每个果实含有 10 ~ 20 个胚, 通过胚胎拯救基本能培养成小植株, 染色体观察均为 26 条。这表明异源四倍体的雌配子可育程度高, 染色体数应以 $2n = 19$ 为主, 与 FMC 中二价染色体居多的结果^[10]一致。而以异源三倍体 (CC1 × C1-33、C1-33 × CC1、C1-33 × CC3 及 C1-56) 作为母本, 具有胚或种子的果实极少。经研究, 发现异源三倍体的 FMC 中具有同型二价体和异型三价体约 20%, 并在中期发现多极纺锤丝 (Multispindle), 在末期后产生 4 个大型小孢子和多个小型小孢子, 这些大型小孢子含有的染色体数可能为 7 ~ 13 条^[16]。植物雌雄配子发育过程虽然不同, 但都经过相同的减数分裂过程^[17], 因此异源三倍体的雌配子染色体数也可能在 7 ~ 13 条之间。通过人工授粉, 异源三倍体的卵细胞虽能与栽培黄瓜花粉结合产生合子, 但异常染色体数 (14 ~ 21 条) 阻碍了合子进一步发育, 产生胚或种子, 本试验结果初步论证了这一观点。目前关于种间杂种后代雌配子的发育过程报道少, 有待于深入研究。

以栽培黄瓜作为母本, 虽然坐果率很高, 但结籽率很低 (表 1), 这主要是由于异源四倍体的育性虽然恢复, 但具有育性花粉比例仍较低 (25.4%)^[18], 而异源三倍体具有育性的花粉则更低。在本试验中, 以栽培黄瓜作为母本, 仅获得 4 个 (还包括 1 个栽培黄瓜与异源三倍体 C1-56 杂交组合) 具有胚或种子的果实。但通过染色体数观察, 胚胎拯救产生的植株 (CC1 × C1-33) 染色体数均为 26 条, 而由种

子萌发长成的植株染色体数均为 14 条, 没有发现非整倍体植株。通过对 HH1 群体的形态观察, 在后代中发现具有原始亲本野生种 *C. hystrix* 特异性状 (黑刺、多分枝) 的单株, 还有两亲本都没有的性状, 如橘红色的成熟果皮。通过 SSR 和 RAPD 两种分子标记对 HH1 群体深入研究, 发现有 7 个 SSR 等位基因和 8 个 RAPD 位点可能来自于野生种 *C. hystrix*, 这表明栽培黄瓜和野生种染色体组间不仅存在染色体交换重组过程, 而且通过渐渗杂交可将野生种的一些基因导入到栽培黄瓜中, 但还需结合分子标记及原位杂交技术 (GISH 和 FISH) 做进一步分析。

参考文献:

- 1 刘大钧, 齐莉莉, 陈佩度, 周波, 张守中. 导入小麦的外源染色体片段的准确鉴定及外源抗性基因的稳定性分析. 遗传学报, 1996, 23 (1): 18~23
Liu D J, Qi L L, Chen P D, Zhou B, Zhang S Z. Precise identification of alien chromosome segment introduced in wheat and the stability of its resistance gene. Acta Genetica Sinica, 1996, 23 (1): 18~23 (in Chinese)
- 2 傅体华, 任正隆. 小麦遗传背景对普通小麦 $\times 6x$ 小簇麦杂种 F_1 减数分裂行为的影响及育性. 遗传学报, 1999, 26 (4): 363~369
Fu T H, Ren Z L. Effect of wheat background on the meiotic behavior and fertility of F_1 hybrid between common wheat and $6x$ *T. durum* \times *T. villosum* amphiploid. Acta Genetica Sinica, 1999, 26 (4): 363~369 (in Chinese)
- 3 Chen J F, Luo X D, Qian C T, Jahn M M, Staub J E, Zhuang F Y, Lou Q F, Ren G. *Cucumis* is monosomic alien addition lines: morphological, cytological, and genotypic analysis. Theor Appl Genet, 2004, 108: 1343~1348
- 4 Li Z, Wu J G, Liu Y, Liu H L, Heneen W K. Production and cytogenetics of the intergeneric hybrids *B. russica juncea* \times *O. nymphaeoides* *violaceus* and *B. carinata* \times *O. violaceus*. Theor Appl Genet, 1998, 96: 251~265
- 5 Kamstra S A, Ramanna M S, de Jeu M J, Kuipers G J, Jacobsen E. Homoeologous chromosome pairing in the distant hybrid *A. stolonifera* \times *A. inodora* and the genome composition of its backcross derivatives determined by fluorescent in situ hybridization with species-specific probes. Heredity, 1999, 82: 69~78
- 6 de Jong J H, Wolters A M A, Kok J M, Verhaar H, van Eden J. Chromosome pairing and potential for intergeneric recombination in some hypotetraploid somatic hybrids of *Lycopersicon esculentum* (+) *Solanum tuberosum*. Genome, 1993, 36: 1032~1041
- 7 Barone A, Li J, Sebastiano A, Cardi T, Frusciante L. Evidence for tetrasomic inheritance in a tetraploid *Solanum commersonii* (+) *S. tuberosum* somatic hybrid through the use of molecular markers. Theor Appl Genet, 2002, 104: 539~546
- 8 庄飞云, 陈劲枫, 钱春桃, 罗向东, 雷春. 甜瓜属人工异源四倍体 (*Cucumis hytivus*) 染色体组间重组的细胞学及分子标记研究. 中国农业科学, 2005, 38 (3): 582~588
Zhuang F Y, Chen J F, Qian C T, Luo X D, Lei C. Cytological and molecular studies on genomic exchange and reconstitution in the synthetic allotetraploid *Cucumis hytivus*. Scientia Agricultura Sinica, 2005, 38 (3): 582~588 (in Chinese)
- 9 Staub J E, Knerr L D, Hopen H J. Effects of plant density and herbicides on cucumber productivity. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 1992, 117: 48~53
- 10 Chen J F, Staub J E, Qian C T, Jiang J, Luo X D, Zhuang F Y. Reproduction and cytogenetic characterization of interspecific hybrids derived from *Cucumis hystrix* Chakr. \times *C. sativus* L. Theor Appl Genet, 2003, 106: 688~695
- 11 庄飞云. 黄瓜属种间杂种 (*Cucumis hytivus* Chen and Kirkbride) 的细胞分子遗传及其系统亲缘关系研究: [博士学位论文]. 南京: 南京农业大学, 2003. 47~58
Zhuang F Y. Studies on cyto- and molecular genetics in *Cucumis* interspecific hybrid (*C. hytivus* Chen and Kirkbride) and the phylogenetic relationships in *Cucumis* species. [Ph. D. Dissertation]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2003. 47~58 (in Chinese)
- 12 马育华. 试验统计. 北京: 农业出版社, 1982. 326~332
Ma Y H. Experiments and statistics. Beijing: Agricultural Press, 1982. 326~332 (in Chinese)
- 13 Pierce L K, Wehner T C. Review of genes and linkage groups in cucumber. HortScience, 1990, 25: 605~615
- 14 Xie J H, Wehner T C. Gene list 2001 for cucumber. Cucurbit Genet. Coop. Rep., 2001, 24: 110~136
- 15 Robinson R W, Munger H M, Whitaker T W, Bohn G W. Genes of the cucurbitaceae. HortScience, 1976, 11: 554~568
- 16 钱春桃. 甜瓜属种间杂交新种 *Cucumis hytivus* Chen & Kirkbride 的细胞遗传学研究: [硕士论文]. 南京: 南京农业大学, 2002. 36~43
Qian C T. Cytogenetic Studies on the novel interspecific hybrid species *Cucumis hytivus* Chen & Kirkbride. [Master Dissertation]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2002. 36~43 (in Chinese)
- 17 许智宏, 刘春明. 植物发育的分子机理. 北京: 科学出版社, 1999. 1~16
Xu Z H, Liu C M. Molecular mechanism of plant development. Beijing: Science Press, 1999. 1~16 (in Chinese)
- 18 陈劲枫, 庄飞云, 娄群峰, 徐玉波, 钱春桃, 任刚, 罗向东. *Cucumis* 属植物种间正反杂交差异的研究. 园艺学报, 2002, 29 (5): 483~485
Chen J F, Zhuang F Y, Lou Q F, Xu Y B, Qian C T, Ren G, Luo X D. Studies on reciprocal differences in interspecific hybridization in *Cucumis*. Acta Horticulturae Sinica, 2002, 29 (5): 483~485 (in Chinese)