

利用 RAPD 标记预测黄瓜一代杂种的产量优势

陈喜文¹ 陈德富^{1*} 夏立新¹ 刘殿林² 杨瑞环² 哈玉洁² 杜胜利²

(¹南开大学生命科学学院, 天津 300071; ²天津科润农业科技股份有限公司黄瓜研究所, 天津 300192)

摘 要: 应用 RAPD 标记研究 39 个黄瓜自交系间的遗传关系。在供试的 178 条引物中, 49 条引物呈现出多态性, 共扩增出 378 条带, 其中 137 条多态。据此所得的聚类图与形态特征相适应, 遗传距离为 0.0645~0.5992, 平均为 0.2458, 表明自交系间遗传差异较大。选择自交系间遗传距离大、中、小组合各若干, 配制杂交组合 60 个, 其杂种产量及产量构成的优势表现明显, 变异幅度较大 (-39%~136%), 在遗传距离 0.19~0.27 的组合中遗传距离与杂种产量及构成因子优势的相关性达显著水平, 与单株产量、单瓜质量、总瓜数超中优势的相关系数分别为 0.6207、0.5012 和 0.3918。选择遗传距离 0.24~0.27 的组合 58 个, 与随机配制的 60 个组合相比, 产量分别比 '津春 2 号' 与 '津优 10 号' 提高 10% 的入选几率大大提高。

关键词: 黄瓜; RAPD 标记; 遗传距离; 杂种优势; 产量

中图分类号: S 642.2; Q37 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2006) 04-0859-04

Utilization of RAPD Markers to Predict Fruit Yield of Hybrid in Cucumber

Chen Xiwen¹, Chen Defu^{1*}, Xia Lixin¹, Liu Dianlin², Yang Ruihuan², Ha Yujie², and Du Shengli²

(¹College of Life Sciences, Nankai University, Tianjin 300071, China; ²Cucumber Research Institute, Tianjin Kenun Agriculture Co Ltd, Tianjin 300192, China)

Abstract: Random amplified polymorphic DNA markers were used to analyze the genetic relationship among 39 cucumber inbred lines. One hundred and seventy-eight arbitrary primers were selected and 49 primers could amplify 378 bands, among them 137 were polymorphic. Based on these data the resulted dendrogram was coincident with the morphology. The genetic distance (GD) between the inbred lines varied from 0.0645 to 0.5992 with the mean value of 0.2458, which showed a wide genetic diversity existed in these inbred lines. The parental combination with higher, medium and lower genetic distances were selected and 60 crosses were made. Heterosis was found to be significant for yield and its components, which varied from -39% to 136%. The association between genetic distance of parents and heterosis for yield and its components is only significant in the crosses in which the GD of parents varied from 0.19 to 0.27. The correlation coefficient with the total yield, average fruit mass and the total number of fruit was 0.6207, 0.5012 and 0.3918. According to the rule the parental combination with the GD varying from 0.24 to 0.27 were selected and 58 crosses were made. The possibility of hybrids with the yield 10% higher than 'Jinchun 2' and 'Jinyou 10' were significantly increased compared to random crosses.

Key words: *Cucumis sativus* L.; RAPD markers; Genetic distance (GD); Heterosis; Yield

1 目的、材料与方法

目前国内外在水稻^[1,2]、玉米^[3,4]、油菜^[5]、鹰嘴豆^[6]等物种上开展了利用分子标记预测杂种优势的研究, 但取得的结论截然不同。黄瓜是国内外最早推广应用杂种一代的蔬菜作物之一。作者以天津市黄瓜研究所用于育种实践的 39 个自交系为材料, 利用 RAPD 标记分析黄瓜自交系间的遗传关系,

收稿日期: 2005-08-30; 修回日期: 2005-11-15

基金项目: 国家 '863' 计划优质超高产农作物新品种培育重大专项项目 (2003AA207110); 天津市科委重大导向性攻关项目 (993122511-2)

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

寻找分子差异与产量杂种优势的预测规律。

基因组 DNA 的提取、RAPD 分析参照陈德富等^[7]的方法。所用 178 条 10mer 引物由 Sangon 公司合成。按 $GS = 2 N_{ij} / (N_i + N_j)$ 计算自交系间的相似系数, $GD = 1 - GS$ 计算遗传距离, 采用 UPGMA 法进行聚类分析。随机选择遗传距离大、中、小的组合各若干, 共配制 60 个杂交组合。对杂交一代进行营养钵育苗和大棚定植, 调查其单株总产量、单株总瓜数和单瓜质量, 并计算性状平均值、超中优势和超亲优势。根据 RAPD 分析所得遗传距离矩阵和聚类图, 依据不同标准对杂交组合进行分类, 分别计算遗传距离与杂种产量优势的相关系数。根据其结果选择遗传距离 0.24 ~ 0.27 的自交系组合, 同时考虑其它农艺性状和配合力等因素, 另配制 58 个组合, 以原配制的 60 个组合为对照, 调查杂种后代的单株总产量, 以 ‘津春 2 号’ 和 ‘津优 10 号’ 为对照, 比较杂种产量比对照品种产量分别提高 10% 的入选比例。

2 结果分析与讨论

2.1 自交系间 RAPD 标记的多态性及遗传关系

178 条 10mer 引物均能扩增出 DNA 条带, 各引物扩增的带数 4 ~ 12 条, 其中 49 条引物呈现出多态性, 占试验总引物数的 27.5%。49 条多态性引物共扩增出 137 条多态性条带, 多态性比率占 36.2%。聚类分析结果 (图 1) 表明, 在遗传距离 0.23 处, 39 个自交系材料可分为 I、II、III 与 IV 类。I 类中的 206 单独为一类, 这与其接近野生型的形态特征相吻合。II 类中的 A35、207 与 180 聚为一类, 从来源看基本取自荷兰型或多亲后代分离。III 类中的 A5、A16 刺与 A7 聚为一类, 基本表现为光滑型或小刺瘤特点。在遗传距离 0.21 处, II 类又可分为 2 个亚类。II-1 亚类只有 A33 自交系, 为多亲后代分离。在遗传距离 0.19 处, II-2 亚类又可分为 II-2-1 和 II-2-2 两个亚亚类。II-2-1 亚亚类表现为较强耐低温类型。在 II-2-2 亚亚类中, 又可分为 4 个亚亚类: II-2-2-1 亚亚类包括 B20 及 172, 基本表现为日本型品系的特征; II-2-2-2 亚亚类包括 8231 等密刺类型; II-2-2-3 亚亚类包括 213 等 14 个自交系, 为光滑型或少刺溜, 接近日本型, 或表现为较强耐热性; II-2-2-4 亚亚类包括 A16 光、A36 及 48 等多亲分离后代。本研究自交系间的平均遗传距离 (为 0.2458) 与张海英等^[8]用 RAPD 标记所得的遗传距离相似, 这对于遗传基础狭窄的黄瓜来说已相对宽广, 因此进一步开展黄瓜自交系间的遗传距离与杂种产量相关性的研究很有必要。

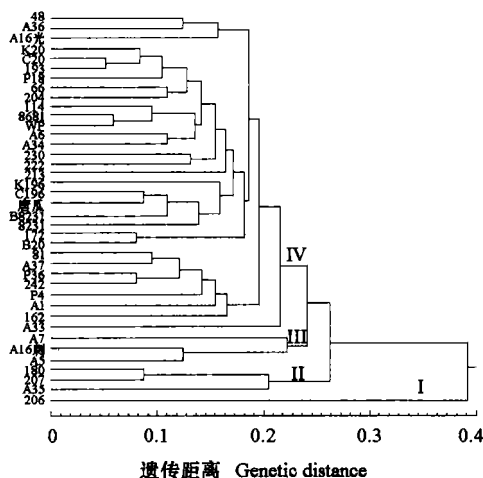


图 1 根据遗传距离对 39 个黄瓜自交系进行聚类

Fig. 1 Dendrogram for 39 cucumber inbred lines based on a cluster analysis of genetic distance

2.2 黄瓜杂种产量及其与遗传距离的相关性

2.2.1 F_1 杂种优势分析 F_1 产量及其构成因子的杂种优势结果见表 1。单株总产的杂种优势在不同自交系组合间变异最大, 最高为 136%, 最低为 -39%。除 1 个组合外, 所有组合的单株产量的超中优势均为正值, 其中超中优势在 20% 以上的组合占 63.4%, 而超亲优势却有 14.6% 组合为负值。对于单株总瓜数来说, 杂种优势变异幅度仍较大, 最高值为 75%, 最低值在 -27%。10% 组合的超中优势为负值, 超中优势度在 20% 以上的优势组合占 51.2%。对于单瓜质量来说, 杂种优势变异幅度较小, 最高值为 36%, 最低值为 -19%, 20% 组合的超中优势为负值, 超中优势度在 20% 以上的优势组合占 17%。这说明本研究的杂交组合中存在着较强的杂种优势, 而且杂种产量的优势比产量构成因子 (瓜数和单瓜质量) 的优势更明显, 这与 Sant 等^[6]在鹰嘴豆上观察结果一致。这种结果是因

为黄瓜单株总产是两种产量构成因子（单株总瓜数和单瓜质量）的乘积，产量构成因子的优势相乘放大成产量优势。

表 1 F₁产量性状的杂种优势表现
Table 1 Fruit yield heterosis in F₁

| 性状 Trait | F ₁ 产量 F ₁ fruit yield | | | 超亲优势 High parent heterosis | | | 超中优势 Middle parent heterosis | | |
|------------------------------------|---|---------|---------|-------------------------------|---------|---------|---------------------------------|---------|---------|
| | 平均值 | 最高值 | 最低值 | 平均值 | 最高值 | 最低值 | 平均值 | 最高值 | 最低值 |
| | Average | Maximum | Minimum | Average | Maximum | Minimum | Average | Maximum | Minimum |
| 单株总产 Fruit yield per plant(g) | 1668.65 | 2219.62 | 1024.38 | 0.18 | 0.86 | -0.39 | 0.35 | 1.36 | -0.34 |
| 瓜数 Number of fruit per plant | 11.06 | 13.91 | 7.97 | 0.09 | 0.58 | -0.27 | 0.23 | 0.75 | -0.26 |
| 单瓜质量 Average mass per fruit (g) | 149.81 | 167.89 | 122.50 | 0.01 | 0.27 | -0.19 | 0.09 | 0.36 | -0.12 |

2.2.2 分子标记遗传距离与 F₁超中优势的相关性 自交系间遗传距离与 F₁产量及其构成因子超中优势之间的相关系数结果见表 2。首先计算 60 个杂交组合遗传距离与超中优势的相关性，发现两者不相关。然后根据自交系间平均遗传距离 0.2458，将 60 个组合分成 GD > 0.2458 和 GD < 0.2458 两组，分别计算各组自交系间遗传距离与产量构成因子超中优势的相关性，结果发现：当自交系间亲缘关系较远（GD > 0.2458）时，遗传距离与产量杂种优势不相关；当自交系间亲缘关系较近（GD < 0.2458）时，则表现出相关，但只在 0.05 水平上显著。选择聚类图中遗传距离的关键节点 0.27 和 0.19，去除遗传距离过大和过小的组合，即当 0.19 < GD < 0.27 时，自交系间遗传距离与产量构成因子的超中优势之间的相关系数均达到显著水平，其中与单株总产、单瓜质量超中优势的相关系数分别为 0.6207^{**}、0.5012^{**}，均达极显著水平；与瓜数超中优势的相关系数为 0.3918^{*}，达到显著水平。与单株总产、瓜数、单瓜质量的相关方程分别为 y = 3.63x - 0.57、y = 1.28x - 0.14 和 y = 1.92x - 0.35。从相关方程不难看出，在特定的遗传距离范围内，黄瓜产量及其构成因子的超中优势与自交系间遗传距离均呈正相关。这与 Sant 等^[6]的结果相吻合。产生这种现象的主要原因可能是遗传上差异很大的亲本间杂交由于基因位点间的协调被破坏，生理作用得不到有效发挥，从而产生低的杂种优势。

表 2 自交系间遗传距离与产量及其构成因子超中优势的相关性
Table 2 The correlation coefficient between the genetic distance of inbred lines and middle parent heterosis (MPH) of yield and yield components

| 自交系群 Inbred line group | 杂交组合数 Number of crosses | F 值 F value | 与产量超中优势 的相关系数 Correlation with MPH for fruit yield | 与瓜数超中优势 的相关系数 Correlation with MPH for number of fruit | 与单瓜质量超中优势 的相关系数 Correlation with MPH for fruit mass |
|---------------------------|----------------------------|---------------------|---|---|--|
| 总体 Overall | 60 | 2.12 | 0.2345 | 0.1652 | 0.2168 |
| GD > 0.2458 | 28 | 3.52 | 0.2512 | 0.1806 | 0.2212 |
| GD < 0.2458 | 32 | 4.26 | 0.3408 [*] | 0.2225 | 0.2803 |
| 0.19 < GD < 0.27 | 31 | 12.56 ^{**} | 0.6207 ^{**} | 0.3918 [*] | 0.5012 ^{**} |

*表示 0.05 水平的显著性，**表示 0.01 水平上的显著性。
* indicated significant level at P < 0.05, ** indicated significance level at P < 0.01.

2.3 利用分子标记遗传距离预测黄瓜杂种产量

对于 39 个自交系材料，除原配制的 60 个组合外，另选择遗传距离较大（0.24 ~ 0.27）、农艺性状优良、配合力强的 58 个组合进行田间检验，以‘津春 2 号’和‘津优 10 号’为对照考察产量分别提高 10% 组合入选几率。结果（表 3）显示，在 58 个组合中，产量比‘津春 2 号’高 10% 的组合

有 17 个 (占 29.3%), 产量比 ‘津优 10 号’ 高 10% 的组合有 9 个 (占 15.5%), 与原来随机配制的 60 个组合相比, 入选几率都大大提高。

表 3 利用分子标记遗传距离预测黄瓜 F_1 产量

Table 3 Utilization of genetic distance to predict F_1 fruit yield in cucumber

| 亲本选择方法 Selection criterion | 杂交组合数 Number of crosses | 比津春 2 号高 10% 的组合百分比 Percentage of crosses with the fruit yield 10% higher than Jinchun 2 (%) | 比津优 10 号高 10% 的组合百分比 Percentage of crosses with the fruit yield 10% higher than Jinyou 10 (%) |
|-------------------------------|----------------------------|--|---|
| GD 0.24 ~ 0.27 | 58 | 29.3 a | 15.5 a |
| 随机 Random | 60 | 12.3 b | 6.8 b |

注: 处理间数据经新复极差检验 ($P=0.05$ 水平)。

Note: Statistic difference presented by different letters using Duncan's multiple range test at $P=0.05$.

迄今为止, 更多的研究集中在杂种优势预测上, 而对杂种性状表现的预测则较少。利用杂种优势是增加作物产量的重要途径, 在生产和育种中, 更重要的是提高杂种的绝对产量。本研究在参照多年亲本配合力经验基础上, 根据分子遗传距离与杂种产量关系进一步预测了杂种产量, 选配自交系本身产量高, 而遗传差异又相对较大的杂交组合, 更容易获得高产杂交种, 符合育种的目的。

参考文献:

- 1 Kwon S J, Ahn S N, Jeong E G, Jeon Y H, Hwang H G, Choi H C, Moon H P. Relationship between genetic divergence and hybrid performance in japonica rice grown in a cold water-irrigated field. *Euphytica*, 2002, 128: 389 ~ 396
- 2 Xiao J, Li J, Yuan L, McCouch S R, Tanksley S D. Genetic diversity and its relationship to hybrid performance and heterosis in rice as revealed by PCR-based markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 1996, 92: 637 ~ 643
- 3 Marsan P A, Castiglione P, Fusari F, Kuiper M, Motto M. Genetic diversity and its relationship to hybrid performance in maize as revealed by RFLP and AFLP markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 1998, 96: 219 ~ 227
- 4 Melchinger A E, Boppenmaier J, Dhillon B S. Genetic diversity for RFLPs in European maize inbreds. *Theoretical and Applied Genetics*, 1992, 84: 672 ~ 681
- 5 Diers B W, Mcvetty P B E, Osborn T C. Relationship between heterosis and genetic distance based on restriction fragment length polymorphism markers in oilseed rape. *Crop Science*, 1996, 36: 79 ~ 83
- 6 Sant V J, Patankar A G, Sarode N D, Mhase L B, Sainani M N, Deshmukh R B, Ranjekar P K, Gupta V S. Potential of DNA markers in detecting divergence and in analyzing heterosis in Indian elite chickpea cultivars. *Theoretical and Applied Genetics*, 1999, 98: 1217 ~ 1225
- 7 陈德富, 陈喜文, 侯志波, 王洁华, 李修庆. 黄瓜随机扩增多态 DNA (RAPD) 研究初报. *南开大学学报 (自然科学版)*, 1999, 32 (4): 47 ~ 50
- 8 Chen D F, Chen X W, Hou Z B, Wang J H, Li X Q. The preliminary study on random amplified polymorphic DNA of cucumber (*Cucumis sativus*). *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Nankaiensis*, 1999, 32 (4): 47 ~ 50 (in Chinese)
- 9 张海英, 王永健, 许 勇, 欧阳新星, 康国斌. 黄瓜种质资源遗传亲缘关系的 RAPD 分析. *园艺学报*, 1998, 25 (4): 345 ~ 349
- 10 Zhang H Y, Wang Y J, Xu Y, Ouyang X X, Kang G B. RAPD used in analysis of genetic relationships of cucumber (*Cucumis sativus* L.) germplasm. *Acta Horticulturae Sinica*, 1998, 25 (4): 345 ~ 349 (in Chinese)