

甜瓜属种间杂交线粒体 DNA 的遗传分析

魏 跃^{1,2}, 赵桂华¹, 杨鹤同¹, 陈劲枫²

(¹江苏农林职业技术学院, 镇江 212400; ²南京农业大学/南方蔬菜遗传改良重点开放实验室, 南京 210095)

摘要:为探讨甜瓜属种间杂交线粒体 DNA 的遗传规律, 对甜瓜属人工杂交合成的异源四倍体 S₅代新种(*Cucumis hytivus* Chen and Kirkbride.)及其杂交母本甜瓜属野生种(*Cucumis hystrix* Chakr.)和父本黄瓜栽培种北京截头(*Cucumis sativus* L.)的线粒体中 *apocytochrome b* (*cob*), *NADH dehydrogenase subunit 1* (*nad 1*), *NADH dehydrogenase subunit 7* (*nad 7*) 基因序列片断进行了测序与分析, 结果显示 3 个种长度为 909 bp *cob*、943 bp *nad 1* 和 880 bp *nad 7* 基因片断序列中分别存在着相应的 1、7 和 17 个多态性核苷酸位点, 其中新种与父本北京截头相同而与母本野生种不同的多态性碱基位点分别有 1、6 和 14 个, *nad 1* 和 *nad 7* 中分别只有 1 和 3 个多态性位点与双亲不相同。结果表明, 甜瓜属 *hystrix* 与 *sativus* 种间杂交后代线粒体 DNA 的多态性碱基位点主要来源于父本而不是母本, 线粒体 DNA 主要表现为父系遗传。

关键词:甜瓜属; 种间杂交; 线粒体; 多态性位点; 父系遗传

Inheritance Analysis of Mitochondrial (mt) DNA in the Interspecific Crossing of Genus *Cucumis*

WEI Yue^{1,2}, ZHAO Gui-hua¹, YANG He-tong¹, CHEN Jin-feng²

(¹ Jiangsu Polytechnic College of Agriculture and Forestry, Zhenjiang 212400;

²Key Laboratory of Southern Vegetable Crop Genetics Improvement/Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095)

Abstract: To investigate the inheritance of the mitochondrial (mt) DNA in the interspecific crossing of Genus *Cucumis*, fragments of the *cob*, *nad 1*, *nad 7* mt gene were amplified and sequenced from S₅ progenies of allotetraploid species (*Cucumis hytivus* Chen and Kirkbride.), cultivated cucumber ‘BeijingJietou’ (*C. sativus* L.) the paternal parents and the wild *Cucumis* species (*C. hystrix* Chakr.) the maternal parents, respectively. One, seven and seventeen polymorphic loci’s in the corresponding 909 bp *cob*, 943 bp *nad 1* and 880 bp *nad 7* gene among three *Cucumis* species were detected, respectively. Among them, one, six and fourteen polymorphic loci’s in the mt gene of allotetraploid were revealed to be identical as the cultivated cucumber, the paternal parents, but different from the wild species, the maternal parents; the rest one and three polymorphic loci’s were found to be different from both parents. This result demonstrated that polymorphic loci’s in the mt DNA of S₅ allotetraploid, the hybrid progeny, were dominantly transmitted from paternal parents but not maternal parents in the *hystrix* × *sativus* interspecific crossing, and the mt DNA was dominantly paternal transmission.

Key words: Genus *Cucumis*; Interspecific crossing; Mitochondrion; Polymorphic locus; Paternal inheritance

线粒体是真核细胞内的主要细胞器, 与细胞的能量生成、脂肪酸及某些活性蛋白质的合成有密切的关系。相关研究还表明, 植物细胞线粒体的遗传也与细胞质雄性不育、远缘杂交中的不亲和性、抗病性基因

等^[1]性状遗传有关, 此外在基因转移、物种亲缘关系分析、系统进化和生物分类等研究中线粒体也常常作为重要的分子标记^[2-3]。开展线粒体遗传规律研究, 无论在基础理论或是生产应用上均具有重要意义。

收稿日期: 2010-09-27 修回日期: 2011-03-05

基金项目: 国家自然基金重点项目(30830079); 教育部“111”项目(B08025)

作者简介: 魏跃, 副教授, 博士, 主要研究方向为园艺植物遗传育种与分子生物学。E-mail:wyue12170059@yahoo.cn

通讯作者: 陈劲枫, 教授, 博导, 主要从事园艺蔬菜遗传育种与分子生物学研究。E-mail:jfchen@njau.edu.cn

葫芦科(*Cucurbita*)是世界重要的食用植物科之一,其包括了许多重要的蔬菜作物如黄瓜、甜瓜、南瓜和西瓜等^[4]。关于葫芦科中不同属植物线粒体的遗传方式已有一些研究报道,如 Matsuura^[5] 和 Havey^[6] 分别采用 RFLP 技术证实了甜瓜属中的黄瓜(*Cucumis sativus* L.)线粒体表现为父系遗传,Havey 等^[7]也研究证实甜瓜属中的甜瓜(*C. melo* L.)线粒体表现为父系遗传,而南瓜属中的西葫芦(*Cucurbita pepo* L.)和西瓜属中的西瓜(*Citrullus lanatus* [Thunb.] Matsam and Nakai.)线粒体则和绝大多数被子植物一样表现为母系遗传^[8-9]。葫芦科甜瓜属植物线粒体 DNA 表现为父系遗传方式,这在被子植物中是少有的,目前只有少数植物如山羊草^[10]、油菜^[11]、黄瓜^[5-6]、甜瓜^[7]报道为父系遗传,而有关甜瓜属不同种间杂交线粒体的遗传规律,至今尚无研究报道。陈劲枫等^[12-13]以甜瓜属野生种(*Cucumis hystrix* Chakr., 2n = 24)为母本,以黄瓜栽培品种‘北京截头’(*Cucumis sativus* L., 2n = 14)为父本进行种间远缘杂交,再通过胚拯救和体细胞无性系变异染色体加倍,获得了人工合成的甜瓜属异源四倍体新种(*Cucumis hytivus* Chen and Kirkbride., 2n = 38)。该新种的合成对将野生种的优良基因导入栽培黄瓜中具有重要的意义,同时也为研究甜瓜属种间杂交线粒体 DNA 遗传方式提供了良好材料。本研究参考前人研究方法^[7,14-16],通过测序、比较分析异缘四倍体新种及其杂交父本黄瓜栽培种北京截头和母本野生种线粒体基因序列片段中的多态性位点,以探明甜瓜属 *hystrix* × *sativus* 种间杂交线粒体 DNA 的遗传方式。该项研究有助于更深入了解甜瓜属植物独特的线粒体遗传机制,并对甜瓜属种间杂交育种实践中正确选择父母本提供理论参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

以南京农业大学黄瓜课题组提供的栽培黄瓜品种北京截头(*Cucumis sativus* L., 2n = 14, CC)、甜瓜属野生种(*Cucumis hystrix* Chakr., 2n = 24, HH)和它们的杂交后代异源四倍体新种(*Cucumis hytivus* Chen and Kirkbride., 2n = 38, HHCC)为试验材料,其中异源四倍体新种为 S₀ 经过 5 代连续自交形成的 S₅, S₀ 为以甜瓜属野生种为母本,‘北京截头’为父本进行远缘杂交,再通过胚拯救和体细胞无性系变异染色体加倍而形成^[12-13]。种子经浸种消毒后播种于灭菌基质,幼苗 4~5 片真叶时 3 个种均分别

随机取 5 株幼苗的嫩叶进行 DNA 提取。PMD19-T 载体、Taq 酶均为 TaKaRa 公司产品,大肠杆菌 TOP₁₀ 为本实验室保存。

1.2 方法

甜瓜属 3 个种基因组 DNA 提取均采用 CTAB 法^[17]。根据 NCBI 公布的黄瓜栽培品种‘Calypso’线粒体 *NADH dehydrogenase subunit 1 (nad 1)* 基因(GenBank 登录号:FJ007641)序列设计一对上下游引物,上游引物 Nad1S: 5'-TTCTTATTGTGCCCTT-GTGA-3',下游引物 Nad1A: 5'-GGGGCTATCCTTG-TACTAAGT-3',分别以上述 3 个种 DNA 为模板,PCR 扩增反应条件为:94℃ 3 min; 94℃ 30 s, 55.4℃ 30 s, 72℃ 1.5 min, 35 个循环; 72℃ 10 min, 4℃ 保存。同样根据 NCBI 公布的线粒体 *apocytochrome b (cob)* 基因(GenBank 登录号:AF288044)序列设计一对上下游引物,上游引物 cobS: 5'-GATTCTCTCTTCTTA-AACAA-3',下游引物 cobA: 5'-CCAAGAGACATATA-AAAATCG-3',PCR 扩增反应中的退火温度设为 51℃,其余同上。根据线粒体 *NADH dehydrogenase subunit 7 (nad 7)* (GenBank 登录号:FJ007643)序列设计一对上下游引物,上游引物 Nad7S: 5'-AT-GAATGATCGAGGATTCAAG-3',下游引物 Nad7A: 5'-GCAGATCTTGCCACTCCA-3',退火温度设为 52℃,其余同上。

回收的目的片段连接到 PMD19-T 载体上,连接产物转化感受态大肠杆菌 TOP₁₀,进行蓝白斑筛选,挑取白斑接种于 1 ml LB(含 100 mg/L 氨苄青霉素)液体培养基中,温度 37℃ 振荡频率 150 r/min 培养过夜。在相同条件下进行 PCR 扩增,琼脂糖凝胶电泳检测插入片段的大小。序列测定由上海英骏生物技术有限公司完成,DNAMAN 软件进行多序列比对及同源性分析。

2 结果与分析

以北京截头、野生种、异源四倍体新种的全基因组 DNA 为模板,分别以上述 3 对引物进行 PCR 扩增都得到相应长度的片段,将片段测序结果在 NCBI 网站进行 Blast 分析,都与 GenBank 中黄瓜相对应的线粒体基因序列相似程度最高,均达到 99%,因此可以确定获得的片段均为目的片段。利用 DNAMAN 软件对 3 个种 *nad1* 的碱基序列进行比对(图 1),对其中的多态性位点(3 个种同一位点上的碱基类型不完全相同)及其碱基类型进行统计分析,结果如图 1 和表 1 所示。

图 1 甜瓜属 3 个种线粒体基因 *nad 1* 序列比较

Fig. 1 Comparison of *nad 1* gene DNA sequences from three *Cucumis*

A:北京截头,Beijingjietou;B:异源四倍体,Allotetraploid;C:野生种,wild Species;

D:一致, Consensus; 下同. The same as below.

表 1 *nad 1*、*nad 7* 和 *cob* 基因中多态性碱基位点的位置及类型Table 1 The polymorphic locus and base types of *nad 1*, *nad 7* and *cob* gene sequences

样品 Sample	多态性碱基位置及类型 Locus number and base type																				
	<i>nad 1</i> 内元 <i>nad1</i> intron							<i>cob</i>	<i>nad 7</i> 内元 <i>nad 7</i> intron												
									5	7	7	2	2	2	2	2	2	2	2	3	3
	7	4	6	7	1	1	1	5	6	6	0	1	7	7	8	8	8	8	9	9	4
	3	2	1	2	6	7	8	3	6	7	3	0	5	7	9	1	3	5	7	8	9
A	A	T	G	T	G	G	C	A	G	A	A	T	C	T	A	T	G	A	G	A	C
B	A	T	G	C	G	G	C	A	G	A	T	-	C	T	A	T	G	A	G	A	T
C	C	C	A	T	T	A	A	C	T	C	A	T	T	A	T	G	G	A	G	T	C

根据图 1 和表 1 所示结果,甜瓜属 3 个种的 *nad 1* 基因片断序列长度都为 951 bp,有 7 个多态性位点占碱基总数比率为 0.74%,全部分布在内含子中,且都为碱基替代类型。7 个多态性位点中有 6 个位点碱基新种与父本北京截头相同而与母本野生种不同,占多态位点总数的 85.7%;另 1 个第 772 位多态性位点 C 碱基与双亲的 T 都不同,占多态位点总数 14.3%。

3 个种的 *cob* 基因片断序列长度都为 909 bp,其中只有第 353 位 1 个多态性位点存在,占碱基总数比率为 0.11%,该位点新种与父本北京截头碱基都为 A,不同于母本野生种的 C(图 2、表 1)。

3 个种的 *nad 7* 基因片断序列长度为 879~880 bp,其中北京截头和甜瓜属野生种均为 880 bp,新种为 879 bp,有 17 个多态性位点存在,占碱基总数比率为 1.93%,且都分布在内含子中。其中新种有 14 个多态性位点与父本相同而与母本不同,占多态位点总数的 82.4%;余下 3 个多态性位点与双亲都不同,占多态位点总数的 17.6%,其中第 210 位点为碱基缺失类型,而第 203、330 位点为碱基替换类型(图 3、表 1)。

新种与父本黄瓜栽培种北京截头相同而与母本甜瓜属野生种不同的多态性位点,占线粒体 *nad 1*、*nad 7* 和 *cob* 多态性位点总数比率为 85.7%、82.4%、100%,没有与母本野生种相同的多态性位点,表明新种的多态性位点主要来自父本黄瓜栽培种北京截头而不是母本野生甜瓜,甜瓜属 *C. sativus* × *C. hystrix* 种间杂交线粒体 DNA 主要表现为父系遗传。其次,由表 1 可见,新种含有与双亲均不相同的多态性位点碱基,这可能是由于新种 *S₀* 无性系变异和经过 5 代连续自交积累的 DNA 发生随机突变而产生。

3 个基因的多态性位点数目相差较大,而且多态性位点主要集中在内含子,表明线粒体 *nad 1*、*nad 7* 和 *cob* 基因保守性相差很大和内含子相对于外显子具有进化选择压力小、进化速率较快和多态性程度高的特点。

3 讨论

对于动植物细胞器基因的遗传方式,前人的研究方法主要采用超微结构观察和 DAPI 荧光分析^[18-20]及酶切限制性片段长度多态性(RFLP)^[5-7,21]。随着生物技术的发展,通过分析比较亲代与子代间线粒体基因碱基序列的差异以探明线粒体 DNA 遗传方式是一种十分简洁而有效的方法,避免了之前研究方法中诸多缺点与不足。如在动物研究中,Guo 等^[22]通过分析比较线粒体 *AT-Pase8* 和 *ATPase6* 基因序列推断出人工杂交多倍体异源四倍体鲫鲤的线粒体遵循母系遗传;徐晖等^[23]以线粒体 16S rRNA 基因部分片段序列比较分析,推断鱼类中褐牙鲆与夏鲆杂交线粒体 DNA 遵循母系遗传规律。植物也有类似研究,Ferris 等^[24]基于禾本科植物米草属 *Spartina* 叶绿体为严格母系遗传,通过比较 *tRNA^{Leu}* 内含子片断中碱基序列差异,判断 *Spartina alterniflora* 为 *S. anglica* 的杂交母本;袁长春等^[25]通过对自然杂交种 *Meconopsis* × *cookei* 及其亲本红花绿绒蒿和五脉绿绒蒿的叶绿体 DNA *trnL-trnF* 区域进行序列测定和差异比较,根据叶绿体为严格母系遗传,推测红花绿绒蒿为该杂交种的母本、五脉绿绒蒿为其父本。

本研究借鉴上述研究方法,通过对 3 个种的线粒体 *cob*、*nad 1* 和 *nad 7* 基因片断序列的分析比较,推断甜瓜属 *C. sativus* × *C. hystrix* 种间杂交线粒体 DNA 表现为父系遗传,这与前人报道的甜瓜属黄瓜

A	GATTCTCTCTTAAACACCTATATCCTCCACACTGAATCAGCATTGATAGATTATCCAACCCCGAG	70
B	GATTCTCTCTTAAACACCTATATCCTCCACACTGAATCAGCATTGATAGATTATCCAACCCCGAG	70
C	GATTCTCTCTTAAACACCTATATCCTCCACACTGAATCAGCATTGATAGATTATCCAACCCCGAG	70
D	gattctcttttaaacaaacccatatacctccacactgaatcagcattgtatagattatccaaccccgag	
A	CAATCTTAGTTATTGGTGGGGTTCGGTCGGTTAGCAGGTCTTGTTAGTCATTAGCATAGTGACTGGC	140
B	CAATCTTAGTTATTGGTGGGGTTCGGTCGGTTAGCAGGTCTTGTTAGTCATTAGCATAGTGACTGGC	140
C	CAATCTTAGTTATTGGTGGGGTTCGGTCGGTTAGCAGGTCTTGTTAGTCATTAGCATAGTGACTGGC	140
D	caatcttagttattgggggttcggcgttagcaggctttgttagtcattcagatgtgactg	
A	CTTTTTTAGCTATGCATTACACACCTCATGGATCTAGCTTCAACAGCGTAGAACACATTATGAGAG	210
B	CTTTTTTAGCTATGCATTACACACCTCATGGATCTAGCTTCAACAGCGTAGAACACATTATGAGAG	210
C	CTTTTTTAGCTATGCATTACACACCTCATGGATCTAGCTTCAACAGCGTAGAACACATTATGAGAG	210
D	cttttttagctatgcattacacacccatgtggatctagcttcaacacgctagaacacattatgagag	
A	ATGTTTCAGGGGGCTGGTTGCTCGTTATATGCATGCTAATGGGCAAGTATGTTCTCATTGTGGTTCA	280
B	ATGTTTCAGGGGGCTGGTTGCTCGTTATATGCATGCTAATGGGCAAGTATGTTCTCATTGTGGTTCA	280
C	ATGTTTCAGGGGGCTGGTTGCTCGTTATATGCATGCTAATGGGCAAGTATGTTCTCATTGTGGTTCA	280
D	atgttcagggggctgggtcgttatgcattatgcattatggcaagtatgttctattgtgggtca	
A	CCTTCATATTTCTGGTCTATATCATGCGAGTTATAGCAGTCCTAGGGAAATTGTTCTCGGTGTCTCGGA	350
B	CCTTCATATTTCTGGTCTATATCATGCGAGTTATAGCAGTCCTAGGGAAATTGTTCTCGGTGTCTCGGA	350
C	CCTTCATATTTCTGGTCTATATCATGCGAGTTATAGCAGTCCTAGGGAAATTGTTCTCGGTGTCTCGGA	350
D	ccttcatatttctgttatcatgcattatggcaagtatgttctattgtgggtcgttatgcattatggcaagtatgttctattgtgggtca	
A	GTTATCATCTCCTATTAATGATTGACAGCTTACAGGATACTACCTGGGGTCAGATGAGCT	420
B	GTTATCATCTCCTATTAATGATTGACAGCTTACAGGATACTACCTGGGGTCAGATGAGCT	420
C	GTTATCATCTCCTATTAATGATTGACAGCTTACAGGATACTACCTGGGGTCAGATGAGCT	420
D	gttcatctcctatataatgttgacagctttacaggatactacgtactacctggggtcagatgact	
A	TTTGGGAGCAACTGTAATTACAAGCTTAGCTAGCGCCATACCCGTACTAGGAGATACCATAGTGACTTG	490
B	TTTGGGAGCAACTGTAATTACAAGCTTAGCTAGCGCCATACCCGTACTAGGAGATACCATAGTGACTTG	490
C	TTTGGGAGCAACTGTAATTACAAGCTTAGCTAGCGCCATACCCGTACTAGGAGATACCATAGTGACTTG	490
D	tttggggagcaactgtatataagcttagctagcgcctaccctgttagtaggagataccatgtgacttg	
A	GCTTTGGGGTGGTTCTCGTGGACAATGCCACCTTAAATCGTTTTAGTCATGCTCATATTAACCTCCCT	560
B	GCTTTGGGGTGGTTCTCGTGGACAATGCCACCTTAAATCGTTTTAGTCATGCTCATATTAACCTCCCT	560
C	GCTTTGGGGTGGTTCTCGTGGACAATGCCACCTTAAATCGTTTTAGTCATGCTCATATTAACCTCCCT	560
D	gctttgggggtggttctccgtggacaatgccaccttaatcgccccatgtctcatatccatctccct	
A	TTTCTTTAGCAGGCGCCAGTCTCATCTGGCCGATTGCTCATATAATGGATCAAATAATCCATTGG	630
B	TTTCTTTAGCAGGCGCCAGTCTCATCTGGCCGATTGCTCATATAATGGATCAAATAATCCATTGG	630
C	TTTCTTTAGCAGGCGCCAGTCTCATCTGGCCGATTGCTCATATAATGGATCAAATAATCCATTGG	630
D	tttcttttagcaggcccgacttccatctggccgattgtcatcaatatggatcaaataatccattgg	
A	GTGTACATTCAAGAGATGGAAAAATCGTTTTACCTTATTTTATGTCAGGATCTAGTGGGGTGGGT	700
B	GTGTACATTCAAGAGATGGAAAAATCGTTTTACCTTATTTTATGTCAGGATCTAGTGGGGTGGGT	700
C	GTGTACATTCAAGAGATGGAAAAATCGTTTTACCTTATTTTATGTCAGGATCTAGTGGGGTGGGT	700
D	gtgtacattcagagatggaaaaatcgccccatgttgcattatgtcaaggatctagtgggtgggt	
A	AGCTTTGCTATCTTTTCAGTGTGGATTTTATGCTCTAACGTTGGGGCATCCGACAATTAT	770
B	AGCTTTGCTATCTTTTCAGTGTGGATTTTATGCTCTAACGTTGGGGCATCCGACAATTAT	770
C	AGCTTTGCTATCTTTTCAGTGTGGATTTTATGCTCTAACGTTGGGGCATCCGACAATTAT	770
D	agctttgtatatcttttcagtggtttatgtctcaatgtttggggatcccgacaattat	
A	ATACCTGCTAACCGATGCCACCCCGCCTCATATTGTGCCGAATGGTATTCTACCGATCCATGCCA	840
B	ATACCTGCTAACCGATGCCACCCCGCCTCATATTGTGCCGAATGGTATTCTACCGATCCATGCCA	840
C	ATACCTGCTAACCGATGCCACCCCGCCTCATATTGTGCCGAATGGTATTCTACCGATCCATGCCA	840
D	atacctgctaattccatgtccatcccgatccatgtgtccgaatgttgcattaccatccatgcca	
A	TTCTCGTAGTATACCTGACAAAGCGGGAGGTGTAGCCGAATAGCACCAGTTTATGTCCTTGG	909
B	TTCTCGTAGTATACCTGACAAAGCGGGAGGTGTAGCCGAATAGCACCAGTTTATGTCCTTGG	909
C	TTCTCGTAGTATACCTGACAAAGCGGGAGGTGTAGCCGAATAGCACCAGTTTATGTCCTTGG	909
D	ttcttcgtatatactqacaaacgcggggatgttagcccaatagcaccagtttataatgtcttttg	

图 2 甜瓜属 3 个种线粒体基因 *cob* 序列比较

Fig. 2 Comparison of *cob* gene DNA sequences from three *Cucumis* species

A	ATGAATGATCGAGGATTCAAGTCCATAAATCAGTCCAAGGCTAAAGAGGTTAATATGGAAGGTGAAA	70
B	ATGAATGATCGAGGATTCAAGTCCATAAATCAGTCCAAGGCTAAAGAGGTTAATATGGAAGGTGAAAAA	70
C	ATGAATGATCGAGGATTCAAGTCCATAAATCAGTCCAAGGCTAAAGAGGTTAATATGGAAGGTGAAA	70
D	ataaatgatcgaggattcaagttccataaatcagtccaaaggctaaagaggttaatatggaaggt aaa	
A	GTGGTTTCAAAGTCAGAGCTATCCCTTATTATTGAGGGCTTGACCACCTGGACACTCGCCTACTCAGT	140
B	GTGGTTTCAAAGTCAGAGCTATCCCTTATTATTGAGGGCTTGACCACCTGGACACTCGCCTACTCAGT	140
C	GTGGTTTCAAAGTCAGAGCTATCCCTTATTATTGAGGGCTTGACCACCTGGACACTCGCCTACTCAGT	140
D	gtggtttcaaagttagactatcccttattattgaggcittgaccacctggacactcgctactcagt	
A	CGCAAGGATCAAAGAATTGATTGACAAAGAATTGCGATTTACAGACTCAAGAGGATCAAGAAATT	210
B	CGCAAGGATCAAAGAATTGATTGACAAAGAATTGCGATTTACAGACTCAAGAGGATCAAGAAATT	209
C	CGCAAGGATCAAAGAATTGATTGACAAAGAATTGCGATTTACAGACTCAAGAGGATCAAGAAATT	210
D	cgcaggatcaaagaatttgattgacaaagaatttgcgatttacagactcaagaggatca agaatt	
A	GAGAAATAGGCAGTCATAAGGCTCAGTTAACGTTGATAAAGGACTCCTCGCCCATCCATAAAACATAAA	280
B	GAGAAATAGGCAGTCATAAGGCTCAGTTAACGTTGATAAAGGACTCCTCGCCCATCCATAAAACATAAA	279
C	GAGAAATAGGCAGTCATAAGGCTCAGTTAACGTTGATAAAGGACTCCTCGCCCATCCATAAAACATAAA	280
D	gagaaataggcagtcataaaaggctcagttagcttgcataaaggactccctcgcccatccataaa a a a	
A	AAATAGAGAGGGCTCAAAGAATTGAGAAAGCCTACCATAAATCAGTCCGACTATCCTGGGAAGTCGC	350
B	AAATAGAGAGGGCTCAAAGAATTGAGAAAGCCTACCATAAATCAGTCCGACTATCCTGGGAAGTCGC	349
C	AAATAGCTGGGGCTCAAAGAATTGAGAAAGCCTACCATAAATCAGTCCGACTATCCTGGGAAGTCGC	350
D	a a a g ggctcaaagaatttgagaaaggctaccataatcagt cgactatcctggaaagt gc	
A	GCTTGCCTACCGGCTCAGGCTTCAAAGGCGACCAGCTGAAATACCTTCTACGTTACGCTGCCAT	420
B	GCTTGCCTACCGGCTCAGGCTTCAAAGGCGACCAGCTGAAATACCTTCTACGTTACGCTGCCAT	419
C	GCTTGCCTACCGGCTCAGGCTTCAAAGGCGACCAGCTGAAATACCTTCTACGTTACGCTGCCAT	420
D	gcttgcctaccggctcaggctccaaaggcaccagcttgcataatcccttctacgttacgcgtccat	
A	TGATTTCCAATCTCATTGAATAGCATGGCTGGGTAACCTAACGTTAAGTGGGAGAGCCGTGTTATGGGTGAC	490
B	TGATTTCCAATCTCATTGAATAGCATGGCTGGGTAACCTAACGTTAAGTGGGAGAGCCGTGTTATGGGTGAC	489
C	TGATTTCCAATCTCATTGAATAGCATGGCTGGGTAACCTAACGTTAAGTGGGAGAGCCGTGTTATGGGTGAC	490
D	tgatttccaatctcattgaatagcatggctgggtaacttaagtggagagccgtgttatgggtgac	
A	CTTATTGCACGGTTCAGAGAGCACTTGTGTATGTGATGCAGTGAACCTGTACGAAAAAGCTGTAGGAAA	560
B	CTTATTGCACGGTTCAGAGAGCACTTGTGTATGTGATGCAGTGAACCTGTACGAAAAAGCTGTAGGAAA	559
C	CTTATTGCACGGTTCAGAGAGCACTTGTGTATGTGATGCAGTGAACCTGTACGAAAAAGCTGTAGGAAA	560
D	cttattgcacggttcagagagcaacttgttatgtgatgcacgtgtacgaaaaagctgttaggaaa	
A	GTGAGTTCTCGTCCGTCGACCCCTATCTATGTTTACGATGGCCCAAAGAACACGCTCATTCTCA	630
B	GTGAGTTCTCGTCCGTCGACCCCTATCTATGTTTACGATGGCCCAAAGAACACGCTCATTCTCA	629
C	GTGAGTTCTCGTCCGTCGACCCCTATCTATGTTTACGATGGCCCAAAGAACACGCTCATTCTCA	630
D	gtgagttctcgccgtcgaccctatctatgtttacgatggcccaaagaacacgctcattctca	
A	GCTGTAGAGAGACTTTGAATTGGAGGTACCATACGAGCTCAATATATACGAGTCCTATTCCGTAAA	700
B	GCTGTAGAGAGACTTTGAATTGGAGGTACCATACGAGCTCAATATATACGAGTCCTATTCCGTAAA	699
C	GCTGTAGAGAGACTTTGAATTGGAGGTACCATACGAGCTCAATATATACGAGTCCTATTCCGTAAA	700
D	gctgttagagagactttgaattggcgaggattaccattacgacgtcaatatacgtttttccgtgaaa	
A	TCACTCGAATTTCAAATCATTCACTTGCTTAACTACTCATGCTATGGATGTGGGAGCATCAACTCCGTT	770
B	TCACTCGAATTTCAAATCATTCACTTGCTTAACTACTCATGCTATGGATGTGGGAGCATCAACTCCGTT	769
C	TCACTCGAATTTCAAATCATTCACTTGCTTAACTACTCATGCTATGGATGTGGGAGCATCAACTCCGTT	770
D	tcaactcgaaatttcaatcattcattacttgcttaactactcatgctatggatgtggagcatcaactccg	
A	CCTGTGGGCTTTGAGGAGCGGGAGAAATTATTGAAATTCTATGAAAGAGTCCTGGGAGCCAGGATGCAT	840
B	CCTGTGGGCTTTGAGGAGCGGGAGAAATTATTGAAATTCTATGAAAGAGTCCTGGGAGCCAGGATGCAT	839
C	CCTGTGGGCTTTGAGGAGCGGGAGAAATTATTGAAATTCTATGAAAGAGTCCTGGGAGCCAGGATGCAT	840
D	cctgtggctttgaggagcggagaaattttgaaattctatgaaagagtctcgaggccaggatcat	
A	GCCAGTTCATACGACCAGGTGGAGTGGCACAGATCTGC	880
B	GCCAGTTCATACGACCAGGTGGAGTGGCACAGATCTGC	879
C	GCCAGTTCATACGACCAGGTGGAGTGGCACAGATCTGC	880
D	gccagttcatacgaccagggtggactggcacaagatctgc	

图3 甜瓜属3个种线粒体基因nad7序列比较

Fig. 3 Comparison of nad7 gene DNA sequences from three *Cucumis* species

种^[5-7]和甜瓜属甜瓜种^[7]线粒体DNA遗传方式一致,而与葫芦科南瓜属和西瓜属^[7]不同,再次证明甜瓜属线粒体的遗传方式十分独特,有关形成机制尚有待进一步研究。在种间远缘杂交中人们通常习惯选用优良性状较多的栽培种作为母本,因为绝大多数被子植物细胞器DNA表现为母系遗传^[8-9],由其控制的优良性状能够通过母本传递给后代。本研究结果显示,甜瓜属作物不同种进行杂交时,用优良性状较多如栽培种作父本对杂交后代选育可能会更加有利,尤其当一些重要性状由线粒体基因控制,此外还可以避免有害的质核互作引起的稔性降低^[6,26]。这在 *C. sativus* × *C. hystrix* 杂交实践中也得到了验证,在陈劲枫等^[27]的正反交试验中当以栽培种黄瓜作为母本,甜瓜属野生种为父本时,杂交后代F₁植株几乎不能形成花粉,加倍后形成的双二倍体植株也只能形成少量花粉但可染率极低且含有结晶体,植株坐果率极低而无法继续繁衍得到后代;而当以野生种为母本、栽培种为父本时,获得的双二倍体新种植株的花粉平均可染率达到25.4%,自然坐果率高,且可获得较多具有育性的种子,后代可以正常繁衍。

新种测序结果中出现少部分碱基序列与双亲均不同的现象,且多发生在线粒体基因的内含子中,在袁长春等^[25]的研究中也有相似的报道,究其原因可能是新种随着繁衍世代的增加,后代细胞器基因出现了一定数目碱基随机突变,这也表明线粒体基因中的内含子相对于外显子具有进化选择压力小和突变频率高的特点。

参考文献

- [1] Quenzar B, Bouachrine B, Hartmann C, et al. A mitochondrial molecular marker of resistance to Bayoud disease in date palm[J]. *Theor Appl Genet*, 2001, 103: 366-370
- [2] Dumolin-Lapègue S, Demesure B, Fineschi S, et al. Phylogeographic structure of white oaks throughout the European continent [J]. *Genetics*, 1997, 146: 1475-1487
- [3] Carreel F, Gonzalez de Leon D, Lagoda P, et al. Ascertaining maternal and paternal lineage within *Musa* by chloroplast and mitochondrial DNA RFLP analyses[J]. *Genome*, 2002, 45: 679-692
- [4] 沈锦,李锡香,冯兰香,等.葫芦科蔬菜种质资源对南方根结线虫的抗性评价.植物遗传资源学报,2007,8(3):340-342
- [5] Matsuura S. Paternal inheritance of mitochondrial DNA in cucumber (*Cucumis sativus* L.) [J]. *Rep Cucurbit Genet Coop*, 1995, 18, 31-33
- [6] Havey M J. Predominant paternal transmission of the Mitochondrial Genome in cucumber [J]. *J hered*, 1997, 88(3): 232-235
- [7] Havey M J, McCraight J D, Rhodes B, et al. Differential transmission of the *Cucumis* Organellar genomes [J]. *Theor Appl Genet*, 1998, 97: 122-128
- [8] Gillham N W. Organelle Heredity [M]. New York: Raven Press, 1978
- [9] Harris S A, Ingram R. Chloroplast DNA and biosystematics: The effects of intraspecific diversity and plastid transmission [J]. *Taxon*, 1991, 40: 393-412
- [10] Tsukamoto N, Asakura N, Hattori N, et al. Identification of paternal mitochondrial DNA sequences in the nucleus-cytoplasm hybrids of tetraploid and hexaploid wheat with D and D2 plasmoids from *Aegilops* species [J]. *Curr Genet*, 2000, 38: 208-217
- [11] Erickson L, Kemble R. Paternal inheritance of mitochondria in rape-seed (*Brassica napus*) [J]. *Mol Gen Genet*, 1990, 222: 135-139
- [12] Chen J F, Staub J E, Tashiro Y. Successful interspecific hybridization between *Cucumis sativus* L. and *C. hystrix* Chakr [J]. *Euphytica*, 1997, 96: 413-419
- [13] Chen J F, Joseph H, Kirkbride J. A new synthetic species *Cucumis* (Cucurbitaceae) from interspecific hybridization and chromosome doubling [J]. *Brittonia*, 2000, 52: 315-319
- [14] Chat J, Chalak L, Petrie R J. Strict paternal inheritance of chloroplast DNA and maternal inheritance of mitochondrial DNA in intraspecific crosses of kiwifruit [J]. *Theor Appl Genet*, 1999, 99: 314-322
- [15] 郭亚龙,葛颂.线粒体 nad1 基因内含子在稻族系统学研究中的价值—兼论 Porteresia 的系统位置 [J]. 植物分类学报, 2004, 42 (4): 333-344
- [16] Vaillancourt R E, Petty A, McKinnon G E. Maternal inheritance of mitochondria in *Eucalyptus globulus* [J]. *J Heredit*, 2004, 95 (4): 353-355
- [17] Murray H G, Thompson W F. Rapid isolation of higher weight DNA [J]. *Nucl Acids Res*, 1980, 8: 4321
- [18] 胡适宜,国凤利,罗玉英.天竺葵质体和线粒体双亲遗传的细胞学机理—雄性和雌性配子超微结构和DNA荧光的研究 [J]. 植物学报, 1994, 36(4): 245-250
- [19] 胡适宜.被子植物质体遗传的细胞学研究 [J]. 植物学报, 1997, 39(4): 363-371
- [20] 国凤利,胡适宜.杜鹃精细胞的超微结构及DNA荧光的观察—着重阐明质体双亲遗传的细胞学基础 [J]. 植物学报, 1996, 38(7): 548-552
- [21] Hu Z M, Hu S Y. Paternal inheritance of plastid DNA in genus *Pharbitis* [J]. *Acta Bot Sin*, 1996, 38(4): 253-256
- [22] Guo X H, Liu S J, Liu Y. Evidence for maternal inheritance of mitochondrial DNA in polyploid fish of crosses by ATPase8 and ATPase6 genes [J]. *Acta Zoologica Sinic*, 2004, 50(3): 408-413
- [23] 徐晖,肖忠志,孔晓瑜,等.褐牙鲆(♀)、夏鲆(♂)及其杂交子一代线粒体16S rRNA序列遗传特性的初步研究 [J]. 热带海洋学报, 2007, 26(5): 60-63
- [24] Ferris C, King R A, Gray A J. Molecular evidence for the maternal parentage in the hybrid origin of *Spartina anglica* C. E. Hubbard [J]. *Molec Ecolo*, 1997, 6: 185-187
- [25] 袁长春,何雪宝,袁秋梅,等.绿绒蒿自然杂交种及其亲本 cp-DNA trnL-trnF 基因的遗传学分析 [J]. 云南植物研究, 2007, 29(1): 103-108
- [26] Allen J O, Emenheiser C K, Kermicle J L. Miniature kernel and plant: interaction between teosinte cytoplasmic genomes and maize nuclear genomes [J]. *Maydica*, 1989, 34: 277-290
- [27] 陈劲枫,庄飞云,娄群峰,等. *Cucumis* 属植物种间正反杂交差异的研究 [J]. 园艺学报, 2002, 29 (5): 483-485

甜瓜属种间杂交线粒体DNA的遗传分析

作者: 魏跃, 赵桂华, 杨鹤同, 陈劲枫, WEI Yue, ZHAO Gui-hua, YANG He-tong, CHEN Jin-feng
 作者单位: 魏跃, WEI Yue(江苏农林职业技术学院, 镇江212400;南京农业大学/南方蔬菜遗传改良重点开放实验室, 南京210095), 赵桂华, 杨鹤同, ZHAO Gui-hua, YANG He-tong(江苏农林职业技术学院, 镇江, 212400), 陈劲枫, CHEN Jin-feng(南京农业大学/南方蔬菜遗传改良重点开放实验室, 南京, 210095)
 刊名: 植物遗传资源学报 [ISTC PKU]
 英文刊名: Journal of Plant Genetic Resources
 年, 卷(期): 2011, 12(4)

参考文献(27条)

1. 陈劲枫;庄飞云;娄群峰 Cucumis属植物种间正反杂交差异的研究 2002(05)
2. Allen J O;Emenhiser G K;Kermicle J L Miniature kernel and plant:interaction between teosinte cytoplasmic genomes and maize nuclear genomes 1989
3. 袁长春;何雪宝;袁秋梅 绿绒蒿自然杂交种及其亲本cpDNA trnL-trnF基因的遗传学分析 2007(01)
4. Ferris C;King R A;Gray A J Molecular evidence for the maternal parentage in the hybrid origin of Spartina anglica C. E. Hubbard 1997
5. 徐晖;肖志忠;孔晓瑜 褐牙鲆(♀)、夏鲆(♂)及其杂交子一代线粒体16S rDNA序列遗传特性的初步研究 2007(05)
6. Guo X H;Liu S J;Liu Y Evidence for maternal inheritance of mitochondrial DNA in polyploid fish of crosses by ATPase8 and ATPase6 genes 2004(03)
7. Hu Z M;Hu S Y Paternal inheritance of plastid DNA in genus Pharbitis 1996(04)
8. 国凤利;胡适宜 杜鹃精细胞的超微结构及DNA荧光的观察-着重阐明质体双亲遗传的细胞学基础 1996(07)
9. 胡适宜 被子植物质体遗传的细胞学研究 1997(04)
10. 胡适宜;国凤利;罗玉英 天竺葵质体和线粒体双亲遗传的细胞学机理-雄性和雌性配子超微结构和DNA荧光的研究 1994(04)
11. Murray H G;Thompson W F Rapid isolation of higher weight DNA 1980
12. Vaillancourt R E;Petty A;Mckinnon G E Maternal inheritance of mitochondria in Eucalyptus globulus 2004(04)
13. 郭亚龙;葛颂 线粒体nad1基因内含子在稻族系统学研究中的价值-兼论Porteresia的系统位置 2004(04)
14. Chat J;Chalak L;Petie R J Strict paternal inheritance of chloroplast DNA and maternal inheritance of mitochondrial DNA in intraspecific crosses of kiwifruit 1999
15. Chen J F;Joseph H;Kirkbride J A new synthetic species Cucumis (Cucurbitaceae) from interspecific hybridization and chromosome doubling 2000
16. Chen J F;Staub J E;Tashiro Y Successful interspecific hybridization between Cucumis sativus L. and C. hystrix Chakr 1997
17. Erickson L;Kemble R Paternal inheritance of mitochondria in rape seed (Brassica napus) 1990
18. Tsukamoto N;Asakura N;Hattori N Identification of paternal mitochondrial DNA sequences in the nucleus-cytoplasm hybrids of tetraploid and hexaploid wheat with D and D2 plasmids from Aegilops species 2000
19. Harris S A;Ingram R Chloroplast DNA and biosystematics:The effects of intraspecific diversity and plastid transmission 1991
20. Gillham N W Organelle Heredity 1978
21. Havey M J;McCreight J D;Rhodes B Differential transmission of the Cucumis Organellar genomes 1998
22. Havey M. J Predominant paternal transmission of the Mitochondrial Genome in cucumber 1997(03)
23. Matsuura S Paternal inheritance of mitochondrial DNA in cucumber (Cucumis sativus L.) 1995
24. 沈镝;李锡香;冯兰香 葫芦科蔬菜种质资源对南方根结线虫的抗性评价 2007(03)
25. Carreel F;Gonzalez de Leon D;Lagoda P Ascertaining maternal and paternal lineage within Musa by chloroplast and mitochondrial DNA RFLP analyses 2002

26. Dumolin-Lapegue S; Demesure B; Fineschi S Phylogeo graphic structure of white oaks throughout the European continent 1997

27. Quenzar B; Bouachrine B; Hartmann C A mitochondrial molecular marker of resistance to Bayoud disease in date palm 2001

本文链接: http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zwyczxb201104021.aspx