

# 黄瓜复雌花等 6 对基因间连锁遗传关系的研究

刘进生<sup>1</sup>, T. C. Wehner<sup>2</sup>

(1. 江苏省农垦集团公司农业处, 南京 210008; 2. 美国北卡罗莱纳州立大学园艺系, NC 27695, USA)

**摘要:** 为探索黄瓜复雌花基因 *mp*、有限生长基因 *de*、叶片皱缩基因 *cr*、叶片无毛基因 *gl-2*、果皮多刺基因 *ns* 和果实有棱基因 *Tu* 间的独立或连锁遗传关系, 试验选用了带上述 6 对基因的黄瓜纯合亲本 NCG128、NCG 157、WI 2757 和 NCG 042, 以这些亲本配制 4 个杂交组合, 获得 F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>, BC<sub>1</sub> 和 BC<sub>1</sub> 代群体, 采用孟德尔遗传公式和计算机程序分析参试性状在各杂交后代中的基因型分离情况。结果表明: 基因 *mp* 和 *de*, *cr* 和 *gl-2*, *cr* 和 *Tu*, *Tu* 和 *gl-2*, *Tu* 和 *ns* 间存在连锁遗传关系, 它们的基因间距离分别为 0.21, 0.12, 0.38, 0.24, 0.32 cM (厘摩)。

**关键词:** 基因连锁; 黄瓜; 复雌花型; 有限生长型

中图分类号: Q943; S642.2

文献标识码: A

文章编号: 0253-9772(2000)03-0137-04

## Linkage Inheritance among 6 Genes in Cucumber

LIU, Jin-sheng<sup>1</sup>, T. C. Wehner<sup>2</sup>

(1. Jiangsu State Farms Group Corporation, Nanjing 210008, China;

2. Dept. of Horticulture, North Carolina State University, Raleigh, NC 27695, USA)

**Abstract:** To study the linkage inheritance among gene *mp* for multi-pistillate flowering, *de* for determinate growth type, *cr* for crinkled leaf, *gl-2* for glabrous leaf, *ns* for numerous spine, and *Tu* for tuberculate fruit in cucumber, the inbred NCG128, NCG 157, WI 2757 and NCG 042 were used as parents for 4 combinations in the experiment. The traits of these genes were measured in field and the data was analyzed with a computer program SAS-GENE. The result indicated that the gene *mp* and *de*, *cr* and *gl-2*, *cr* and *Tu*, *Tu* and *gl-2*, *Tu* and *ns* had linkage relationship, and the distance between them was 0.21, 0.12, 0.38, 0.24, 0.32 cM, respectively.

**Key words:** gene linkage; cucumber; multi-pistillate flowering; determinate growth

黄瓜基因间连锁遗传关系的遗传研究对黄瓜品种选育工作十分重要。据 Pierce 等报道<sup>[1]</sup>, 黄瓜上已有 44 个基因定位在 6 个基因连锁群组上, 但黄瓜的大多数基因的连锁遗传关系尚未被了解。黄瓜复雌花性状为植株单个节位上开有 2 个以上的雌花, 具有这一特性的黄瓜植株, 比普通的单雌花型植株雌花数多, 结果数多, 早熟性强。在黄瓜杂交制种中, 较多的雌花数有利于提高杂交授粉的效果和提高种子产量。有关该性状的遗传, 据 Nandgaonkar 等<sup>[2]</sup>报道, 黄瓜复雌花性状由 1 对隐性主基因 *mpmp* 和一些修饰基因所支配。有限生长性状也是黄瓜的重要园艺性状之一, 其特点为植株主蔓生长到一定长度后自行停止生长, 顶端生长点变为花芽而自封顶。

有限生长型的较之无限生长型的黄瓜植株, 开花节位较低, 花期和结果期提早, 早期产量较高。有限生长型的黄瓜还适于采用无支架或简易支架的栽培方式, 可节约生产成本。其性状遗传方面, 据 Geoge<sup>[3]</sup>报道, 黄瓜有限生长性状由隐性基因 *de* 所控制。

我们于 1994 年在进行黄瓜复雌花和有限生长性状的基因研究时, 发现这 2 个性状间存在一定的连锁遗传关系, 另外, 根据有关的种质资源的收集资料 and 文献报道, 我们研究的黄瓜品系除带有上述 2 对基因外, 还带有其他对遗传研究有价值的突变型基因, 如叶片皱缩基因 *cr* (Odland 等, 1993<sup>[4]</sup>)、叶片无毛基因 *gl-2* (Inggamer 等, 1980<sup>[5]</sup>)、果皮多刺基因 *ns* (Fanourakis 等, 1987<sup>[6]</sup>)、果实有棱基因 *Tu* (Poole,

收稿日期: 1999-06-17; 修回日期: 1999-09-24

作者简介: 刘进生, 47 岁, 男, 硕士学位, 高级农艺师, 专业方向: 园艺作物遗传育种, 曾赴美国威斯康星等大学学习和合作研究 5 年。

1944<sup>[7]</sup>)。关于基因 *mp*、*cr*、*gl-2* 相互间,或它们与 *de*、*ns*、*Tu* 基因间是否存在连锁遗传关系,目前尚无文献报道。据 Fanourakis 报道<sup>[6]</sup>,基因 *ns* 和 *Tu* 间存在连锁遗传关系,但其基因间距离长度的参数,报道中尚不明确。

为确定黄瓜复雌花、有限生长等 6 对基因间独立或连锁遗传关系,以便进一步完善黄瓜基因连锁遗传图,为黄瓜杂交育种提供依据,特进行了这一试验。

## 1 材料与方法

### 1.1 亲本选择

试验于 1995~1996 年在北卡罗莱纳州立大学园艺系试验站进行。采用 2 个黄瓜纯合亲本 NCG 128 和 NCG 157,它们皆带有双隐性复雌花基因 *mpmp* 和双隐性有限生长基因 *dede*,同时选用 2 个纯合亲本 WI 2757 和 NCG 042,带有与之相对应的显性基因 *MpMp* 和 *DeDe*。同时,这些亲本还携有另外 4 个突变基因,即基因 *gl-2*、*cr*、*ns*、*Tu*。上述参试亲本有关 6 对性状的基因型情况如表 1。

表 1 参试的黄瓜亲本有关复雌花、有限生长等 6 对性状的基因型

基因名称	基因符号	表现型		参试亲本的基因型			
		显性	隐性	WI 2757	NCG 042	NCG 128	NCG 157
复雌花	<i>mp</i>	单雌花	复雌花	+	+	-	-
有限生长	<i>de</i>	无限生长	有限生长	+	+	-	-
叶片皱缩	<i>cr</i>	叶片平展	叶片皱缩	+	-	+	+
叶片无毛	<i>gl-2</i>	叶片有毛	叶片无毛	+	-	+	+
果皮多刺	<i>ns</i>	果皮光滑	果皮多刺	-	+	+	+
果实有棱	<i>Tu</i>	果实有棱	果实圆滑	-	+	+	+

注:“+”为双显性基因型,“-”为双隐性基因型。

### 1.2 杂交组合的配制

根据亲本的基因型,试验配制了 3 个杂交组合: NCG 128 × WI 2757, NCG 157 × WI 2757, 和 NCG 042 × WI 2757。此外还增加了 1 个杂交组合 NCG 128 × NCG 157,用以检查这 6 对基因在这 2 个亲本中各自是否属同一个基因。如果后代中这些性状没有分离,则可确定它们基因的唯一性。

1995 年春将 4 个参试亲本的种子播于温室,在植株开花时,按试验设计进行人工杂交,获得 4 个杂交组合的  $F_1$  代。秋季对  $F_1$  代和亲本进行自交和回交,获得 4 个杂交组合的杂交二代  $F_2$ ,及  $F_1$  与父、母

本 Pa、Pb 的回交一代  $BC_{1a}$  和  $BC_{1b}$ 。第二年春将 4 个杂交组合的 6 个世代的种子播于露地小区内,亲本 Pa、Pb 和  $F_1$  代各种植 18 株, $F_2$  代种植 144 株, $BC_{1a}$  和  $BC_{1b}$  代各种植 72 株。

### 1.3 性状的田间测定方法

在植株的生长期和结果期进行试验性状的测定和记载,其测定方法如下:(1)复雌花性状:通常被测植株的单个节位上同时开有 2 朵及 2 朵以上雌花的,可定为隐性型的复雌花植株,但显性型的单雌花植株上少数节位也会出复雌花现象,为此,参照亲本和  $F_1$  代的花型表现,测定时把植株上有复雌花的节位数占该植株总节位的 10% 以下的作为单雌花植株,把复雌花节位数占 10% 至 100% 的为复雌花植株。(2)有限生长性状:各世代个体在播种 50 天后,测定其植株的主蔓长度,主蔓小于 80cm 的为有限生长型植株,大于 80cm 的为无限生长型植株。(3)叶片无毛性状:叶片有毛的为普通型植株。(4)叶片皱缩性状:叶片平展的为普通型植株。(5)果皮多刺性状:果皮光滑的为普通型植株。(6)果实有棱性状:果实无棱圆滑的为普通型植株。

### 1.4 试验数据的分析方法

试验数据的分析,按孟得尔的基因独立分配与连锁遗传规律的原理和公式进行(Sinnott 等,1939<sup>[9]</sup>, Weir,1994<sup>[10]</sup>)。首先用  $\chi^2$  测验逐一分析参试性状在杂交组合的后代(即  $F_1$ 、 $F_2$ 、 $BC_{1a}$ 、 $BC_{1b}$  各代群体)中的显隐性情况,以确认这些性状是否符合显隐性单基因的遗传特点。再统计每 2 对基因在杂交组合后代中各基因型的植株数分离比率,用  $\chi^2$  测验确定它们之间是否符合独立遗传,若推断其存在连锁遗传关系,则进一步计算每 2 对基因间的重组率。计算基因重组率  $R$  和标准误  $SE$  的公式如下: $F_2$ (相斥相):

$$R = p = \frac{\sqrt{[(bc + ad)^2 + ad(bc - ad)]} - (bc + ad)}{(bc - ad)}$$

$$SE = \sqrt{(1-p^2)(2+p^2)/2n(1+2p^2)}$$

$$F_2(\text{相引相}): R = 1 - p$$

$$BC_1(\text{仅相引相}): R = (b + c)/n$$

$$SE = \sqrt{R(1-R)/n}$$

公式中  $a$ 、 $b$ 、 $c$ 、 $d$  分别为基因型  $A \cdot B \cdot$ 、 $A \cdot bb$ 、 $aaB \cdot$  和  $aabb$  在  $F_2$  和  $BC_1$  代的分离比率。

为完成上述分析与计算,本试验应用了可分析基因独立与连锁遗传关系的计算机程序 SASGENE(刘进生等,1997<sup>[8]</sup>)。

## 2 结果与分析

### 2.1 单基因测验结果

以 $\chi^2$ 值测验这些性状属显隐性单基因还是多基因遗传的结果(数据较多,此略)表明,6个参试性状在各杂交后代群体中的表现皆符合显隐性单基因所支配的遗传特点。这与前人的文献报道一致。其中,复雌花性状虽然是由1对隐性主基因 $mpmp$ 和一些修饰基因共同支配,但按本试验的测定方法(即如前所述的以10%的复雌花节位作为显、隐性性状的分界)所得的测定结果来分析,其杂交后代的基因型分离基本符合单基因的遗传特点,不会影响到下一步的基因独立与连锁的遗传分析。

表2 黄瓜6对基因中具有连锁关系的在各杂交后代群体中的基因型分离情况、独立遗传的 $\chi^2$ 测验值和基因重组率

基因组	世代	组相	各基因型的植株数					总数	卡方值 $\chi^2$	概率 $P$	重组率 $R(\%)$	标准误 $SE$
			$A-B-$	$A-bb$	$aaB-$	$aabb$	缺失					
$mp, de$	$F_2$	相引	81	16	14	29	4	144	56.6	<0.01*	21.9	0.032
$mp, de$	$BC_1$	相引	27	3	11	23	8	72	22.8	<0.01*	21.7	0.052
$mp, de$	$F_2$	相引	86	13	9	24	12	144	47.5	<0.01*	17.6	0.029
$mp, de$	$BC_1$	相引	16	5	6	22	23	72	16.4	<0.01*	22.4	0.06
$cr, gl-2$	$F_2$	相引	76	10	11	32	15	144	52.1	<0.01*	9.8	0.03
$cr, gl-2$	$BC_1$	相引	28	3	5	20	16	72	16.6	<0.01*	14.3	0.07
$cr, Tu$	$F_2$	相斥	46	39	35	12	12	144	25.2	<0.01*	37.5	0.056
$Tu, gl-2$	$F_2$	相斥	41	31	34	5	33	144	14.1	<0.01*	24.9	0.09
$Tu, ns$	$F_2$	相引	66	48	8	20	2	144	23.3	<0.01*	33.6	0.055
$Tu, ns$	$F_2$	相引	59	26	14	27	18	144	46.1	<0.01*	30.6	0.04

在杂交组合 NCG 128 × NCG 157 的后代中,6个参试性状都没有分离,可以确定这些性状在这2个亲本中各自为同一基因控制。

### 2.2 独立遗传的分析

基因独立遗传的分析结果(数据略)表明,基因 $mp$ 与 $cr, gl-2, ns, Tu$ 间,基因 $de$ 与 $cr, gl-2, ns, Tu$ 间,基因 $ns$ 与 $cr, gl-2$ 间分别为独立遗传关系,它们在各杂交后代群体中的基因型分离比率,符合独立遗传的9:3:3:1或1:1:1:1的比率。

### 2.3 基因连锁遗传分析

黄瓜6对基因中具有连锁关系的在各杂交后代群体中的基因型分离情况、独立遗传的 $\chi^2$ 测验值和基因重组率见表2。由表可见, $\chi^2$ 测验表明第一组基因 $mp-de$ (复雌花与有限生长基因)在4个世代中的各基因型的植株数,亲型植株数偏多,重组型植株数偏少,它们的基因型分离比率皆不符合基因独立

遗传的分离比率。按基因重组率的计算公式,算得基因 $mp$ 和 $de$ 间在4个世代的重组率 $R$ ,取平均数为 $21\% \pm 3\%$ 。同样,其他几组基因 $cr-gl-2$ (叶片皱缩基因与叶片无毛基因)、 $cr-Tu$ (叶片皱缩与果实有棱基因)、 $Tu-gl-2$ (果实有棱与叶片无毛基因)、 $Tu-ns$ (叶片皱缩与果实有棱基因),其基因间皆属连锁遗传关系,基因重组率分别为 $12.1\% \pm 5\%$ ,  $37.5\% \pm 6\%$ ,  $24.9\% \pm 9\%$ ,  $32.1\% \pm 5\%$ 。

### 2.4 基因连锁遗传图

根据试验所算得的重组率,作黄瓜6对基因的连锁遗传图如图1。图中基因 $cr$ 的排序位于 $gl-2$ 和 $Tu$ 之外,是根据基因重组率 $cr$ 与 $Tu$ 间(37.5%)大于 $cr$ 与 $gl-2$ (12%)和 $gl-2$ 与 $Tu$ (25%)间来确定的,

而基因 $gl-2$ 的排序位于 $Tu$ 和 $ns$ 之外,是基于基因 $gl-2$ 与 $ns$ 间呈独立遗传关系。图中,将重组率转换为图距单位cM(厘摩)(1%重组率=0.01cM)。

(下转第140页)

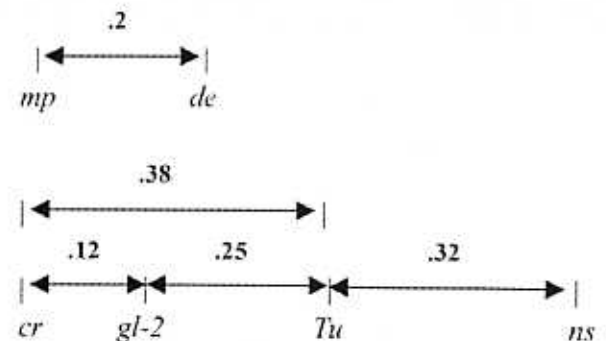


图1 黄瓜6对基因的连锁遗传图

图中基因间距离的单位为cM。

# 遗传工程微生物细胞间发生的自然遗传转化

陈 琪, 陈向东, 谢志雄, 沈 萍

(武汉大学生命科学院, 武汉 430072)

**摘 要:** 将两株具有不同遗传标记的枯草芽孢杆菌在基本培养基中分别培养至对数生长期后期后进行短时间混合静置培养, 经选择平板筛选、DNaseI 敏感性试验、质粒检测和产蛋白酶活性检测, 发现两菌株之间可通过自然遗传转化进行染色体 DNA 和质粒 DNA 的交换。研究表明, 自然遗传转化可在细胞间进行, 这对揭示微生物群居的自然环境中可能存在的细胞间的 DNA 转移, 以及正确评估遗传工程微生物(GEMs)的安全使用具有重要意义。

**关键词:** 遗传工程微生物; 细胞间自然遗传转化; 重组质粒; 枯草芽孢杆菌

中图分类号: Q933

文献标识码: A

文章编号: 0253-9772(2000)03-0140-04

## Intercellular Natural Genetic Transformation of Genetically Engineered Microorganisms

CHEN Qi, CHEN Xiang-dong, XIE Zhi-xiong, SHEN Ping

(College of Life Sciences, Wuhan University, Wuhan 430072, China)

**Abstract:** The culture fluids of two genetically distinct *Bacillus subtilis* strains were mixed and coinoculated for a short time after they reached post-exponentially growth phase in minimal media. The steadily bidirectional gene transfer involving chromosomal DNA and plasmid DNA by natural genetic transformation between these two strains has been demonstrated by the methods of selective medium screening, DNaseI sensitivity test, plasmid detection and the detection of the capability of producing protease. This result indicates that natural genetic transformation occurs not only between "naked" DNA and cells but also between cells. This conclusion is significant in the assessment of both the possibility of intercellular DNA transfer in natural habitats of microorganisms and the risk of the application of genetically engineered microorganisms (GEMs).

**Key words:** genetically engineered microorganisms (GEMs); intercellular natural genetic transformation; recombinant plasmid; *Bacillus subtilis*

收稿日期: 1999-04-15; 修回日期: 2000-02-23

基金项目: 国家自然科学基金(39670397)资助项目

作者简介: 陈 琪, (1970-)男, 1998年在武汉大学获硕士学位, 现在北京农业科学研究所生物工程中心工作。

沈 萍(1940-), 女, 教授, 博导, 从事微生物遗传学研究, 通讯作者。

(上接第 139 页)

### 参 考 文 献:

- [1] Pierce LK and TC Wehner. Review of genes and linkage groups in cucumber[J]. HortScience, 1990, 25: 605-615.
- [2] Nandgaonkar, AK, and Baker LR. Inheritance of multi-pistillate flowering habit in gynoeceous pickling cucumber[J]. J Amer Soc Hort, 1981, 106: 755-757.
- [3] Geoge WL. Genetic and environmental modification of determinate plant habit in cucumbers[J]. J Amer Soc Hort, 1970, 95: 583-586.
- [4] Odland ML, and DW Groff. Inheritance of crinkled-leaf cucumber [J]. Proc Amer Soc Hort Sci, 1963, 83: 536-537.
- [5] Ingamer H, and OMB de Ponti. The identity of genes for glabrousness in *Cucumis sativus* L. [J]. Cucurbit Genet Coop Rpt, 1980, 3: 14.
- [6] Fanourakis N E, and P W Simon. Analysis of genetic linkage in cucumber[J]. Journal of Heredity, 1987, 78: 238-242.
- [7] Poole CF. Genetics of cultivated cucurbits[J]. Journal of Heredity, 1944, 35: 122-128.
- [8] Liu JS(刘进生), TC Wehner, and SB Donaghy. SASGENE: a SAS computer program for genetic analysis of gene segregation and linkage [J]. Journal of Heredity, 1997, 88(3): 253-254.
- [9] Sinnott EW and LC. Dunn Principles of genetics[M]. 1939, New York: McGraw-Hill.
- [10] Weir BC. Genetic data analysis: methods for discrete population data[M]. Sunderland, 1994, Massachusetts: Sinauer.