

SSR 标记在南瓜亲缘关系分析中的应用

向成钢¹, 王艳玲¹, 张雪梅², 王长林¹, 尹玲¹, 王迎杰¹

(1. 中国农业科学院 蔬菜花卉研究所, 北京 100081; 2. 北京市农业技术推广站, 北京 100029)

摘 要:以 20 份分属 10 个品种群的中国南瓜、印度南瓜和美洲南瓜材料及 1 份印度南瓜和中国南瓜的种间杂交种为试材, 采用 390 对 SSR 引物对 21 份材料进行了多态性及亲缘关系分析。结果表明: 供试材料之间具有丰富的遗传多样性, 美洲南瓜与中国南瓜亲缘关系较近, 二者与印度南瓜的亲缘关系较远; 同一亚种内及同一品种群内材料之间具有更近的亲缘关系; 利用 SSR 分子标记做出的聚类结果基本可以将供试材料按照不同品种群分开。

关键词:南瓜属; SSR; 聚类分析; 遗传距离

中图分类号:S 642.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)15-0104-05

南瓜属(*Cucurbita*)作物起源于美洲大陆, 包含 5 个栽培种和至少 22 个野生种, 是植物界中物种多样性最丰富的一个属^[1-2]。国内外许多学者都曾对栽培种南瓜的种下分类——亚种(ssp)、变种(var)、品种群(cultivar groups)进行过大量的研究和报道^[3-8]。林德佩等^[9]在 Whitaker 等划分的品种群(Cultivar groups)分类基础上, 以果实形状及果形指数为主要指标, 结合其它亲缘关系, 将中国南瓜(*Cucurbita moschata* Duch. ex Poir.)、印度南瓜(*C. maxima* Duch. ex Lam.)和美洲南瓜(*C. pepo* L.) 3 个南瓜属中最重要的栽培种划分为 18 个品种群。近年来, 在分子水平上研究中国南瓜、印度南瓜和美洲南瓜 3 个栽培种间亲缘关系及遗传多样性的报道较多, 但主要采用的是 RAPD、AFLP、SRAP 等分子标记技术^[10-23]。但由于 RAPD 等分子标记技术存在着重复性差、操作复杂、稳定性较差或成本较高等方面的缺陷, 限制了其在南瓜作物分子标记辅助育种上的进一步应用。此外, 将南瓜属作物进一步细分为亚种及品种群后进行亲缘关系的研究在国内尚鲜见报道。

SSR(Simple sequence repeat, 微卫星序列即简单重复序列)分子标记技术, 与 AFLP、RAPD 和 SRAP 等分子标记手段相比, 具有多态性高、操作简单、重复性好、

稳定性高、成本低廉、呈共显性等优点, 已被广泛应用于基因定位及克隆、疾病诊断、亲权分析或品种鉴定、农作物育种、进化研究等领域^[24-25]。但由于微卫星侧翼序列在不同属的物种中具有高度保守性, 即使同为葫芦科的黄瓜和甜瓜 SSR 引物在南瓜属作物上的通用性也较低^[26-27]。长期以来, 由于一直受到可用引物数目的限制^[24, 28], 利用 SSR 分子标记对南瓜属作物进行相关的研究, 在国内外均鲜有报道。Gong 等^[28]通过传统磁珠富集法开发出了 500 对南瓜属 gSSR 引物, Blanca 等^[29]通过对美洲南瓜转录组测序, 获得了 8 000 余个 EST 序列和 9 000 余个 SNPs, 这为采用 SSR 分子标记技术研究南瓜属作物遗传多样性和亲缘关系, 以及进一步开展 SSR 分子标记辅助育种研究提供了便利条件。

现以 20 份分属 10 个品种群的中国南瓜、印度南瓜和美洲南瓜材料及 1 份印度南瓜和中国南瓜的种间杂交种为试材, 采用 Gong 等^[28]开发的 gSSR 引物进行多态性及亲缘关系分析, 以期检验 SSR 分子标记在南瓜属 3 个栽培种间、栽培种内不同亚种及品种群之间亲缘关系研究中的应用效果, 为 SSR 分子标记技术在南瓜分子标记辅助育种中的进一步应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试 21 份南瓜品种(系)分别由中国农业科学院蔬菜花卉研究所南瓜遗传育种课题组、北京市农业技术推广站、北京市农林科学院蔬菜研究中心和黑龙江梅亚种业有限公司提供。供试材料在果实外观、用途及品种群上具有典型的代表性(表 1), 全部于 2011 年春季种植于中国农业科学院蔬菜花卉研究所廊坊试验农场。果实性状观察于果实充分成熟时进行, 取样于果实充分膨大时, 选果实具有该品种典型性状、健壮无病虫害的植株,

第一作者简介:向成钢(1987-), 男, 硕士研究生, 研究方向为蔬菜育种。E-mail: z0501080535@126.com

责任作者:王长林(1969-), 男, 本科, 副研究员, 现主要从事南瓜遗传育种及相关技术研究工作。

基金项目:国家科技支撑计划资助项目(2012BAD02B03); 中国农业科学院作物科学研究所中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资助项目(2060302-2-12); 农业部园艺作物生物学与种质创制重点实验室资助项目。

收稿日期:2013-04-15

表 1 21 个供试材料及其分类

Table 1 21 accessions in this study and cultival-groups

编号	材料名称	类型	果形	植物学分类	品种群
Z1	“黄茎南瓜”	中国南瓜	扁圆形	<i>C. moschata</i>	扁圆瓜品种群 Cheese group
Z2	“大粒裸仁”	中国南瓜	扁圆形	<i>C. moschata</i>	扁圆瓜品种群 Cheese group
Z3	“绿色裸仁”	中国南瓜	扁圆形	<i>C. moschata</i>	扁圆瓜品种群 Cheese group
Z4	“奶油南瓜”	中国南瓜	梨形	<i>C. moschata</i>	铃铛形瓜品种群 Bell group
Z5	“无蔓南瓜”	中国南瓜	扁圆形	<i>C. moschata</i>	扁圆瓜品种群 Cheese group
M1	“极早优美”	美洲南瓜	长棒形	<i>C. pepo</i> ssp. <i>pepo</i>	葫芦瓜品种群 Zucchini group
M2	“玉珠”	美洲南瓜	高圆形	<i>C. pepo</i> ssp. <i>pepo</i>	球形瓜品种群 Pumpkin group
M3	“京葫 5 号”	美洲南瓜	长棒形	<i>C. pepo</i> ssp. <i>pepo</i>	葫芦瓜品种群 Zucchini group
M4	“佛手”	美洲南瓜	皇冠型	<i>C. pepo</i> ssp. <i>texana</i>	观赏瓜品种群 Ornamental gourd group
M5	“鸳鸯梨”	美洲南瓜	梨形	<i>C. pepo</i> ssp. <i>texana</i>	观赏瓜品种群 Ornamental gourd group
M6	“金童”	美洲南瓜	扁圆形	<i>C. pepo</i> ssp. <i>texana</i>	观赏瓜品种群 Ornamental gourd group
M7	“玉莹”父本	美洲南瓜	长棒形	<i>C. pepo</i> ssp. <i>pepo</i>	长筒菜瓜品种群 Cocozelle group
M8	“玉莹”母本	美洲南瓜	长棒形	<i>C. pepo</i> ssp. <i>pepo</i>	葫芦瓜品种群 Zucchini group
M9	“玉莹”	美洲南瓜	长棒形	<i>C. pepo</i> ssp. <i>pepo</i>	葫芦瓜品种群 Zucchini group
Y1	“香炉瓜”	印度南瓜	香炉形	<i>C. maxima</i>	香炉瓜品种群 Turban group
Y2	“吊瓜”	印度南瓜	长圆形	<i>C. maxima</i>	香蕉瓜品种群 Banana group
Y3	“中栗五号”母本	印度南瓜	卵圆形	<i>C. maxima</i>	胡巴德瓜品种群 Hubbard group
Y4	“雪城二号”	印度南瓜	扁圆形	<i>C. maxima</i>	板栗瓜品种群 Kabocha group
Y5	“新土佐”	印度南瓜×中国南瓜	椭圆形	<i>C. maxima</i> × <i>C. moschata</i>	
Y6	“中栗二号”父本	印度南瓜	扁圆形	<i>C. maxima</i>	板栗瓜品种群 Kabocha group
Y7	“中栗四号”母本	印度南瓜	扁圆形	<i>C. maxima</i>	板栗瓜品种群 Kabocha group

注:Z1-Z5, M7-M9, Y2, Y3, Y6, Y7 来源于中国农业科学院蔬菜花卉研究所;M1, M4-M6, Y1, Y5 来源于北京市农业技术推广站;M2, M3 来源于北京市农林科学院蔬菜研究中心;Y4 来源于黑龙江海亚种业有限公司。

采集新鲜幼嫩的叶片,置于带冰块的保温桶中带回实验室,经冷冻干燥磨制成干样后保存备用。

1.2 试验方法

1.2.1 DNA 提取 采用 CTAB 法提取 DNA,通过 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 提取效果,利用紫外分光光度计法测定其浓度和纯度。

1.2.2 PCR 反应体系 引物包含 251 对中国南瓜引物和 139 对美洲南瓜引物^[28],全部由上海生工合成。扩增反应在 AB-veritiPCR 仪(AB,美国)上进行,总反应体系为 20 μL。其中 DNA 模板 25 ng, dNTP 2 mM, 1× reaction Buffer(包含 1.5 mM MgCl₂), Taq 聚合酶 0.4 U, SSR 正、反向引物各 6 μM。扩增程序为:95℃ 5 min;94℃ 15 s, 55~62℃ 15 s(根据不同引物 T_m 不同),72℃, 30 s;30 个循环;72℃, 10 min;4℃ 保存。扩增产物用 6% 变性聚丙烯酰胺凝胶电泳,银染显色。

1.3 数据分析

使用 PowerMarker 计算多态信息量值(PIC),根据 Reynolds₁₉₈₃ 公式计算遗传距离并作出遗传距离矩阵。设定自检值(Boot strap)为 1 000,使用 UPGMA 算法进行聚类分析,最终采用 MEGA5.0 构建聚类图^[30]。

$$\theta = 1 - f; D = -\ln(1 - \theta),$$
$$\theta = \frac{\sum_{j=1}^m \sum_{i=1}^{q_j} (p_{ij} - q_{ij})^2}{2 \sum_{j=1}^m (1 - \sum_{i=1}^{q_j} p_{ij} q_{ij})}.$$

f 代表 *X* 和 *Y* 2 份材料具有共同祖先的概率,*D* 表示二者之间的 Reynolds₁₉₈₃ 遗传距离,*p_{ij}* 和 *q_{ij}* 分别代表 *X* 和 *Y* 2 份材料在第 *j* 个位点具有第 *i* 个等位基因的频率,*a_j* 表示第 *j* 个位点的等位基因数目,*m* 则表示该试验中供试 SSR 引物对数。

2 结果与分析

2.1 供试引物的扩增

选用 390 对 SSR 引物对供试材料进行筛选,其中,302 对引物在 21 份供试材料中具有多态性,29 对引物虽有扩增条带但扩增条带表现均一,没有多态性,59 对引物在 21 个供试品种上均无扩增条带。

从图 1 可以看出,其中 5 份中国南瓜材料条带均一无多态性,而 9 份美洲南瓜材料和 7 份印度南瓜材料则表现出多态性。该位点检测到 3 个等位基因,其中 Y5 在该位点上表现为杂合。

302 对多态性引物在 21 份供试材料中可检测到等位基因数目为 2~9 个,平均每个位点可检测到等位基因 3.4 个。最小 PIC 值为 0.05,最大 PIC 值达到 0.81,平均 PIC 值为 0.49。

2.2 遗传距离矩阵和聚类结果

根据 SSR 分析结果,基于 Reynolds₁₉₈₃ 算法,构建了 21 份供试材料的遗传距离矩阵(表 2)。

Reynolds₁₉₈₃ 公式以共祖系数的角度来考察遗传距离,表 2 中所示的遗传距离值 *D* 越大,则共祖系数 *f* 越小,表示二者之间的亲缘关系越远。

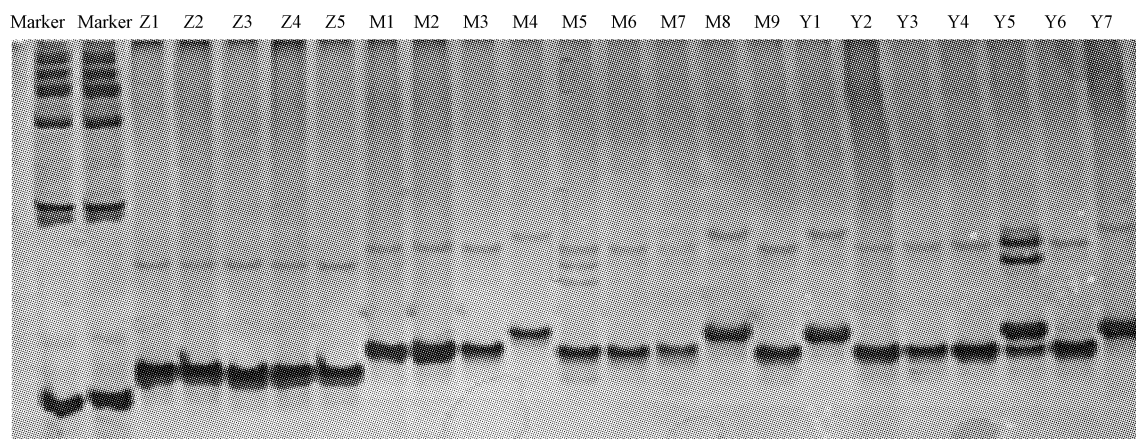


图 1 中国南瓜引物 CMTp209 在 21 份供试材料上的扩增情况

Fig. 1 The SSR pattern amplified by primer CMTp209

表 2

21 份供试材料的遗传距离矩阵

Table 2

Genetic distance among different materials

	Z1	Z2	Z3	Z4	Z5	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	Y1	Y2	Y3	Y4	Y5	Y6
Z2	0.865																			
Z3	0.766	0.702																		
Z4	0.974	0.909	0.867																	
Z5	0.963	0.877	0.786	0.972																
M1	0.968	0.951	0.934	0.964	0.968															
M2	0.969	0.952	0.935	0.966	0.969	0.789														
M3	0.974	0.958	0.940	0.971	0.974	0.789	0.821													
M4	0.980	0.965	0.947	0.977	0.980	0.922	0.917	0.925												
M5	0.936	0.920	0.903	0.934	0.935	0.834	0.847	0.839	0.754											
M6	0.984	0.968	0.950	0.982	0.984	0.929	0.930	0.935	0.911	0.791										
M7	0.991	0.975	0.956	0.989	0.991	0.876	0.900	0.914	0.962	0.883	0.969									
M8	0.991	0.975	0.957	0.989	0.991	0.866	0.885	0.893	0.959	0.879	0.966	0.950								
M9	0.974	0.958	0.939	0.972	0.974	0.819	0.838	0.858	0.936	0.857	0.941	0.848	0.728							
Y1	0.987	0.971	0.954	0.985	0.987	0.959	0.961	0.965	0.971	0.923	0.975	0.984	0.984	0.965						
Y2	0.990	0.974	0.957	0.988	0.990	0.964	0.965	0.970	0.975	0.929	0.979	0.988	0.988	0.970	0.914					
Y3	0.989	0.973	0.956	0.987	0.989	0.962	0.963	0.968	0.974	0.927	0.978	0.986	0.986	0.968	0.918	0.921				
Y4	0.977	0.960	0.943	0.974	0.977	0.949	0.950	0.954	0.960	0.913	0.964	0.974	0.973	0.955	0.869	0.871	0.884			
Y5	0.859	0.828	0.805	0.863	0.853	0.888	0.890	0.895	0.900	0.854	0.904	0.913	0.913	0.895	0.860	0.863	0.862	0.839		
Y6	0.987	0.970	0.953	0.984	0.987	0.959	0.960	0.965	0.971	0.923	0.975	0.984	0.984	0.965	0.904	0.899	0.906	0.824	0.858	
Y7	0.990	0.973	0.956	0.987	0.990	0.963	0.964	0.968	0.974	0.927	0.979	0.988	0.987	0.969	0.917	0.912	0.936	0.863	0.855	0.883

设定自检值为 1 000(Boot Strap=1 000),分枝树总长度 SBL=9.0052,采用 MEGA5.0 基于 UPGMA 聚类法对遗传距离进行聚类(图 2)。

在分枝距离为 0.4815 处,可将供试材料分为两大类,一类包含印度南瓜,另一类包含美洲南瓜和中国南瓜。在分枝距离为 0.4754 处,则可将美洲南瓜与中国南瓜完全分开。同一种群内遗传距离均值明显小于种群间均值。3 个种群内平均遗传距离值相似,中国南瓜为 0.868,印度南瓜和美洲南瓜分别为 0.884 和 0.879。种群间来看,印度南瓜与中国南瓜之间平均遗传距离值最大,达到 0.976,而美洲南瓜与印度南瓜和中国南瓜之间平均遗传距离值相似,分别为 0.965 和 0.963。

9 个美洲南瓜材料遗传距离值为 0.728~0.969,在分枝距离为 0.4563 处又分为 2 类,1 类包含 *ssp. texana* 的 3 个材料(M4、M5、M6),而另 1 类包含 *ssp. pepo* 的 6 份材料。第 1 类中 M6(“金童”)又被单独分出,而 M4

(“佛手”)和 M5(“鸳鸯梨”)被聚为 1 类;第 2 类中属于西葫芦长筒菜瓜品种群(Cocozelle group)的 M7(“玉莹”父本)与其它西葫芦材料的遗传关系相对较远,M8(“玉莹”母本)和 M9(“玉莹”)从遗传距离来看在 9 份美洲南瓜材料中具有最小的遗传距离(0.728),表明 M9(“玉莹”)遗传了母本(M8,“玉莹”母本)更多的性状。M2(“玉珠”)属于西葫芦球形瓜品种群(Pumpkin group),在聚类图中也与 M1(“极早优美”)和 M3(“京葫五号”)2 个葫芦瓜品种群(Zucchini group)的材料聚在一起。

5 份中国南瓜材料和 Y5 在聚类图上聚为 1 类。Y5 属于印度南瓜与中国南瓜的种间杂交种,与 6 份印度南瓜材料平均遗传距离为 0.856,与 5 份中国南瓜材料平均遗传距离为 0.842,表明 Y5 遗传了父本(中国南瓜)的更多性状。Z2(“大粒裸仁”)和 Z3(“绿色裸仁”)均为裸仁南瓜,同属于扁圆瓜品种群(Cheese group)相互之间距离值仅为 0.702,是所有材料中遗传距离最小的一对。

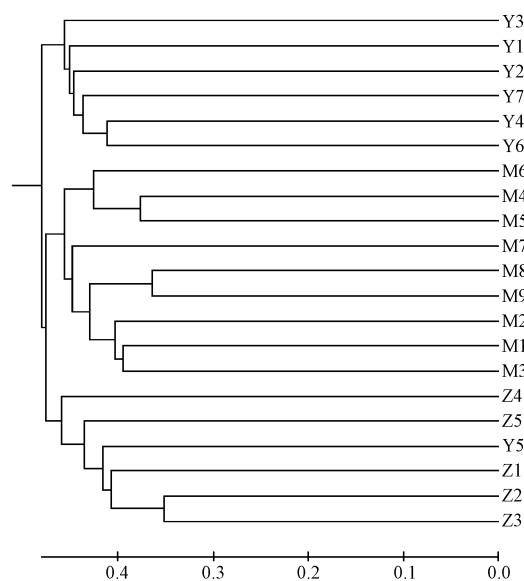


图2 基于 SSR 标记的 21 份材料的聚类图

Fig. 2 The clustering dendrogram of 21 *Cucurbita* ssp. based on SSR markers

中国南瓜中 Z4(“奶油南瓜”)是近年从国外引进的材料,在外形上与其它几份材料明显不一致,属于铃铛形品种群(Bell group),与其它几份材料的平均遗传距离达到 0.931,在中国南瓜亚群中被单独聚为 1 类。

聚在同一个亚群的 6 份印度南瓜材料具有相似的分枝长度,其中 Y3(“胡巴德瓜”品种群 Hubbard group)与 Y7(“板栗瓜”品种群 Kabocha group)遗传距离最大达到 0.936, Y4(“雪城二号”)、Y6(“中栗二号”父本)和 Y7(“中栗四号”母本)同属“板栗瓜”品种群(Kabocha group),聚类在一起。属于不同品种群的 Y1(“香炉瓜”品种群 Turban group)及 Y2(“香蕉瓜”品种群 Banana group)均被单独聚为 1 类。

3 讨论

该试验结果表明,美洲南瓜和中国南瓜间的亲缘关系较近,而印度南瓜与美洲南瓜和中国南瓜间的亲缘关系相对较远,这与其它采用不同标记手段得出的分类结论一致^[11,18,23,31-32]。从地理起源的角度来说也支持此结论:印度南瓜起源于南美洲阿根廷北部至秘鲁南部以及巴拉圭中部的低海拔热带潮湿地区^[33-34],而中国南瓜目前虽然未找到祖先,但一般认为中国南瓜起源于中美洲哥伦比亚北部至墨西哥南部一带,而且中国南瓜很有可能就是南瓜属的共同祖先^[33,35],而美洲南瓜则存在 2 个起源驯化中心,分别位于墨西哥中部和美国东北部^[36]。

从美洲南瓜的聚类结果来看,可以将美洲南瓜不同亚种完全分开,在亚种 *C. pepo* ssp. *texana* 中,聚类结果与肖祖梅^[37]使用 SRAP 和 ISSR 的聚类结果一致,将 M6(“金童”)单独聚出。而在亚种 *C. pepo* ssp. *pepo* 中,聚

类结果则与 Paris 等^[38]使用 AFLP 做出的聚类结果有一定差别:Paris 等^[38]认为葫芦瓜品种群(Zucchini group)应该单独归为 1 类,长筒菜瓜品种群(Cocozelle group)和球形瓜品种群(Pumpkin group)应聚为一另类,而该试验中则将长筒菜瓜品种群(Cocozelle group)单独归为 1 类,将葫芦瓜品种群(Zucchini group)与球形瓜品种群(Pumpkin group)聚为 1 类,这可能是与所用材料不同有关。至于将球形瓜品种群列为一个单独的品种群是否合理,还有待于进一步试验验证。但无论哪种结论,从相互之间遗传距离的差值来看,这 3 个种群之间的遗传距离值都很小,可见这 3 个种群之间具有很近的亲缘关系。

印度南瓜和中国南瓜的聚类结果显示,属于不同品种群的材料被完全分开,而同一品种群的材料则聚在一起(如板栗瓜品种群的 Y7 和 Y4、Y6,扁圆瓜品种群的 Z1、Z2、Z3 和 Z5)。在中国南瓜中,Z1~Z3 和 Z5 均为在中国长期栽培的材料,尽管 Z5 是 20 世纪 80 年代在中国发现的矮生突变材料,但其与其它材料的遗传距离仍相对较近,而 Z4 是近年来才从国外引进的新材料,属于铃铛形瓜品种群,因而与其它几份材料间的遗传距离就相对较远,但这种亲缘关系上的差异,也可能是由长期栽培地域的不同而导致的。此外,由该试验结果可知,生长习性(矮生/蔓生)、种皮性状(有种皮/裸仁)等这些在外观形态上差异极为明显的性状对亲缘关系的影响非常有限。

该试验中美洲南瓜种内杂交种“玉莹”与母本的亲缘关系较近,而印度南瓜(母本)与中国南瓜(父本)的种间杂交种 Y5,其在亲缘关系上却与父本(中国南瓜)的关系更近,其原因还有待于进一步深入研究。

目前南瓜属除美洲南瓜外,未见有将印度南瓜和中国南瓜按照不同品种群进行亲缘关系研究的报道。该试验首次将不同的中国南瓜和印度南瓜材料归入相应品种群进行了亲缘关系研究。该试验结果表明,对于供试的分属 10 个品种群的材料,利用 SSR 分子标记做出的聚类结果基本可以将供试材料按照不同品种群分开,这与人按照植物化学分类法(主要是同工酶及等位酶)进行种内分类的结果是相符的^[38]。该试验结果从分子水平上支持了在南瓜属 3 个栽培种内按照品种群进行分类的合理性,即同一品种群内的材料间亲缘关系较近,不同品种群间的材料亲缘关系相对较远。该试验中只选用了分属 10 个品种群的材料,如果对全部 18 个品种群进行分析,是否也能获得相同的结论,还有待于进一步试验验证。

参考文献

- [1] 林德佩. 南瓜植物的遗传基因及种间杂交[J]. 中国西瓜甜瓜, 2000(3): 41-44.
- [2] 王鸣. 南瓜属—多样性之最[J]. 中国西瓜甜瓜, 2002(3): 42-45.
- [3] Whitaker T W, Davis G N. Cucurbits[M]. London: Leonard Hill, 1962:

37-60.

- [4] Paris H S. A proposed subspecific classification for *Cucurbita pepo* [J]. Phytologia, 1986, 61(3): 133-138.
- [5] Decker D S. Origin(s), Evolution, and Systematics of *Cucurbita pepo* (Cucurbitaceae) [J]. Economic Botany, 1988, 42(1): 4-15.
- [6] Robinson R W, Decker-Walters D S. Cucurbits [M]. Wallingford: CAB International, 1995: 3-83.
- [7] Lira Saade R. Cucurbitaceae [M]. Rome: IPGRI, 1995: 1-46.
- [8] 林德佩. 南瓜植物的起源和分类 [J]. 中国西瓜甜瓜, 2000(1): 36-38.
- [9] 林德佩, 刘小俊. 栽培种南瓜的品种群研究 [J]. 中国瓜菜, 2011, 24(6): 14-16.
- [10] Gwanama C, Labuschagne M T, Botha A M. Analysis of genetic variation in *Cucurbita moschata* by random amplified polymorphic DNA (RAPD) [J]. Euphytica, 2000, 113(1): 19-24.
- [11] 李海真, 许勇, 武峻新, 等. 南瓜属三个种的亲缘关系与品种的分子鉴定研究 [J]. 农业生物技术学报, 2000, 8(2): 161-164.
- [12] Brown R N, Myers J R. A genetic map of squash (*Cucurbita* ssp.) with randomly amplified polymorphic DNA markers and morphological markers [J]. J Amer Soc Hort Sci, 2002, 127(4): 568-575.
- [13] Decker D S, Staub J E, Chung S M. Diversity in free-living Populations of *Cucurbita pepo* (Cucurbitaceae) as assessed by random amplified polymorphic DNA [J]. Systematic botany, 2002, 27(1): 19-28.
- [14] Ferriol M, Pico M B, Nuez F. Genetic diversity of some accessions of *Cucurbita maxima* from Spain using RAPD and SRAP markers [J]. Genetic Resources and Crop Evolution, 2003, 50(3): 227-238.
- [15] Ferriol M. Genetic diversity of a germplasm collection of *Cucurbita pepo* using SRAP and AFLP markers [J]. Theor Appl Genet, 2003, 107(2): 271-282.
- [16] Paris H S, Yonash N, Portnoy V. Assessment of genetic relationships in *Cucurbita pepo* (Cucurbitaceae) using DNA markers [J]. Theor Appl Genet, 2003, 106(6): 971-978.
- [17] 李俊丽, 向长萍, 张宏荣. 南瓜种质资源遗传多样性的 RAPD 分析 [J]. 园艺学报, 2005, 32(5): 834-839.
- [18] 张天明, 屈冬玉, 王长林, 等. 南瓜属 4 个栽培种 AFLP 分析 [J]. 中国蔬菜, 2006(1): 11-14.
- [19] 赵福宽, 李海英, 赵晓萌. 南瓜种质资源亲缘关系的 RAPD 分析 [J]. 分子植物育种, 2006, 4(3S): 45-50.
- [20] 褚盼盼. 中国南瓜种质资源农艺性状与 RAPD 标记分析 [J]. 核农学报, 2007, 21(5): 441-446.
- [21] 陈凤珍. 西葫芦农艺性状的遗传、遗传图谱的构建及遗传多样性的研究 [D]. 济南: 山东农业大学, 2008.
- [22] 刘小俊, 李跃进, 赵云, 等. 中国部分栽培南瓜种质资源遗传多态性 RAPD 分析 [J]. 西南农业学报, 2004, 7(5): 567-571.
- [23] 刘小俊, 李跃进, 梁根云, 等. 南瓜遗传多样性的 SRAP 分析 [J]. 四川大学学报 (自然科学版), 2010, 47(5): 1195-1200.
- [24] 罗文永, 胡骏, 李晓方. 微卫星序列及其应用 [J]. 遗传, 2003, 25(5): 615-619.
- [25] Ellegren H. Microsatellites: Simple sequences with complex evolution [J]. Nat Rev Genet, 2004(5): 435-445.
- [26] Katzir N, Poleg Y D, Tzuri G, et al. Length polymorphism and homologies of microsatellites in several Cucurbitaceae species [J]. Theor Appl Genet, 1996(93): 1282-1290.
- [27] Zraidi A, Stift G, Pachner M, et al. A consensus map for *Cucurbita pepo* [J]. Mol Breeding, 2007(20): 375-388.
- [28] Gong L, Stift G, Kofler R, et al. Microsatellites for the genus *Cucurbita* and SSR-based genetic linkage map of *Cucurbita pepo* L [J]. Theor Appl Genet, 2008, 117: 37-48.
- [29] Blanca J, Canizares J, Roig C, et al. Transcriptome characterization and high throughput SSRs and SNPs discovery in *Cucurbita pepo* (Cucurbitaceae) [J]. BMC Genomics, 2011(12): 1575-1590.
- [30] Liu K, Muse S V. Power Marker: Integrated analysis environment for genetic marker data [J]. Bioinformatics, 2005, 21(9): 2128-2129.
- [31] Sanjurjo O L, Piperno D R, Andres T C, et al. Phylogenetic relationships among domesticated and wild species of *Cucurbita* (Cucurbitaceae) inferred from a mitochondrial gene: Implications for crop plant evolution and areas of origin [J]. Proc Natl Acad Sci, 2002, 99(1): 535-540.
- [32] 孙正海, 李跃进, 宋明, 等. 南瓜属三个种种质的遗传多样性 [J]. 西南农业学报, 2004, 17(1): 71-73.
- [33] Nee M. The Domestication of *Cucurbita* (Cucurbitaceae) [J]. Economic Botany, 1990, 44(3): 55-68.
- [34] Lema V S. The possible influence of post-harvest objectives on *Cucurbita maxima* and subspecies *andrena* evolution under cultivation at the Argentinean Northwest: an archaeological example [J]. Archaeol Anthropol Sci, 2011(3): 113-139.
- [35] Wilson H D. Gene Flow in Squash Species [J]. BioScience, 1990, 40(6): 449-455.
- [36] Smith B D. The Initial Domestication of *Cucurbita pepo* in the Americas 10 000 Years Ago [J]. Science, 1997, 276(9): 932-934.
- [37] 肖祖梅. 观赏南瓜种质资源遗传多样性的 RAPD 和 ISSR 分析 [D]. 重庆: 西南大学, 2008.
- [38] Paris H S, Yonash N, Portnoy V, et al. Assessment of genetic relationships in *Cucurbita pepo* (Cucurbitaceae) using DNA markers [J]. Theor Appl Genet, 2002, 106: 971-978.

Application of SSR Markers in Genetic Relationships Analysis of *Cucurbita*

XIANG Cheng-gang¹, WANG Yan-ling¹, ZHANG Xue-mei², WANG Chang-lin¹, YIN Ling¹, WANG Ying-jie¹

(1. Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081; 2. Beijing Agro-Tech Extension Station, Beijing 100029)

Abstract: Taking twenty cucurbita materials including *C. moschata*, *C. maxima* and *C. pepo* belonging to 10 cultivar groups and one interspecific hybrid between *C. maxima* and *C. moschata*, their polymorphism and genetic relationships were studied using 390 SSR markers. The results showed that the level of polymorphism within cultivars was very high, there were general similarity between the cultivar-groups methods and molecular methods. The relation between *C. pepo* and *C. moschata* was closer than that between *C. moschata* and *C. maxima* by clustering.

Key words: *Cucurbita*; SSR; clustering analysis; genetic distance