

DOI:10.11937/bfyy.201701002

葫芦耐热性遗传规律分析

宋 慧, 张 香 琴

(宁波市农业科学研究院 蔬菜研究所, 宁波市瓜菜育种重点实验室, 浙江 宁波 315040)

摘 要:利用耐热葫芦(L1 和 L3)与不耐热葫芦(L6 和 L4)配置 2 组正反杂交 F_1 和 F_2 代,采集相对发芽率(ΔG)、相对发芽指数(ΔGI)和相对电导率(ΔEC)耐热表型数据,通过 SPSS 软件均数比较功能分析葫芦耐热性遗传规律。结果表明:2 个组合的正反杂交 F_1 代耐热性无差异,均表现为不耐热,表明葫芦耐热性遗传不具有母性遗传特质,为隐性遗传。通过卡方检测分析 2 个组合正反杂交 F_2 代群体单株耐热性分离比例,表明葫芦耐热性在 F_2 代符合 1:3 分离比,为 1 对单基因控制。

关键词:葫芦;耐热;遗传规律

中图分类号:S 642.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2017)01-0005-05

小果型西瓜对环境适应性强,发育周期短,深受瓜农青睐,常规露地栽培常常导致小西瓜集中上市,

第一作者简介:宋慧(1979-),女,博士,副研究员,现主要从事蔬菜分子辅助育种与生物工程等研究工作。E-mail: 975281674@qq.com.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31572142);宁波市创新团队资助项目(2014B81002)。

收稿日期:2016-09-26

经济效益年际间变幅较大^[1]。长季节栽培小型西瓜,投工少、采收期延长,可以从 5 月中旬开始直到 8—10 月下旬结束,连续采收 4~5 批西瓜,667 m² 产量达到 7 000 kg,净收入 12 000~145 000 元,经济效益明显^[2]。由于一种多收的长季节栽培会经历一年中气温最高的时段,西瓜本身不耐热,选择耐热葫芦砧木嫁接西瓜,提高植株的耐热性和长势是小西瓜长季节栽培安全越夏的关键措施之一。

[22] 温国胜,田海涛,张明如,等. 叶绿素荧光分析技术在林木培育中的应用[J]. 应用生态学报,2006,17(10):1973-1977.

[23] SUNDBY C, MELIS A, MÄENPÄÄ P, et al. Temperature-de-

pendent changes in the antenna size of photosystem II. Reversible conversion of photosystem II α to photosystem II β [J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics, 1986, 851:475-483.

Influence of Aluminum Stress on Pepper Nutrient Solution and Leaf

LI Zhenxia, LIN Ziyu, FU Yongxian

(College of Horticulture and Landscape Architecture, Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang, Henan 453003)

Abstract: Aluminum stress is the main factor which affects plant growth on acidic soil. Four different concentration of aluminum processing and two controls were set up in this study. The effects of aluminum stress on pepper broth, chlorophyll and chlorophyll fluorescence parameters were studied. More theory of aluminum stress mechanism to hot pepper were expected to provide. The results showed that, under acid and aluminum stress condition, OH^- released by pepper plants could significantly improve the pH of nutrient solution. With the increase of aluminum concentration, the increase degree of pH decline and OH^- emission decrease. Low concentration of aluminum treatment did not affect the synthesis of chlorophyll a, but could affect the synthesis of chlorophyll b. When the aluminum concentration reached $500 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, chlorophyll a+b content and chlorophyll a/b decreased. Chlorophyll fluorescence parameters displayed that F_0 increased with the increase of aluminum concentration, F_m decreased with the increase of aluminum concentration. F_v/F_m and F_v/F_0 decreased with the increase of aluminum concentration. There was no significant difference in the effects of aluminum stress on the aboveground and underground part of pepper plants.

Keywords: pepper; aluminum stress; pH; chlorophyll; chlorophyll fluorescence parameters

探明葫芦耐热性遗传规律,是有效选育耐热葫芦品种的基础。课题组经过试验摸索“一套鉴定筛选耐热瓠瓜砧木的方法”已获得国家发明专利授权^[3],利用该方法筛选到耐热葫芦材料 L1 和 L3 与不耐热葫芦 L4 和 L6,分别配置 2 组正反杂交 F_1 代组合,包括 $L1 \times L6$ 和 $L6 \times L1$ 及 $L3 \times L4$ 和 $L4 \times L3$,并自交获得 4 个正反杂交 F_2 群体,包括 L16 和 L61 及 L34 和 L43。通过对杂交后代耐热性表型指标测定,分析葫芦耐热性遗传规律,以期后续分子标记筛选和品种选育提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

耐热葫芦材料 L1 和 L3 与不耐热葫芦 L4 和 L6,正反杂交 F_1 代组合 $L1 \times L6$ 、 $L6 \times L1$ 、 $L3 \times L4$ 和 $L4 \times L3$,正反杂交 F_2 代群体 L16、L61、L34 和 L43。

1.2 试验方法

1.2.1 种子发芽试验 选择 4 个亲本和 4 个 F_1 代健康饱满的种子进行常温(25℃)和高温(40℃)下种子发芽试验,每份材料每个发芽温度设置 3 次重复,每个重复包含 30~100 粒种子。种子在温汤浸种后,均匀包裹湿润毛巾,在光照培养箱内黑暗条件下发芽。试验期间,以种子胚芽长达种子一半时作为发芽指标,每天统计当天发芽数目,试验于 2 周后停止。计算发芽率和发芽指数。发芽率 $G(\%) = (\text{种子总发芽数} / \text{供试种子数}) \times 100$;发芽指数 $GI = \sum(GT/DT)$,其中,GT 是在时间 t 日的发芽数,DT 是相应的发芽日数。为了消除供试种子之间成熟度等影响发芽效果的因素,依照公式计算相对发芽率和相对发芽指数。相对发芽率 $\Delta G = \text{发芽率}(40^\circ\text{C}) / \text{发芽率}(25^\circ\text{C})$;相对发芽指数 $\Delta GI = \text{发芽指数}(40^\circ\text{C}) / \text{发芽指数}(25^\circ\text{C})$ 。

1.2.2 苗期电导率试验 利用 4 个亲本、4 个 F_1 代和 4 个 F_2 代群体两叶一心葫芦幼苗进行常温(25℃)和高温(40℃)6 h 电导率测定,其中 4 个亲本和 4 个 F_1 代在常温和高温下分别处理 15 棵苗,单株取样后作为 15 个重复, F_2 代群体每个单株取样 3 次,作为 3 次重复。需在处理前和处理后取样测定电导率,每次取样避开主叶脉用直径为 0.6 cm 打孔器随机取圆片 3 个。首先测定的电导率值记为 EC_0 ;45℃水浴 30 min 后,冷却后测定值为 EC_1 ;100℃水浴 15 min 后,冷却后测定值为 EC_2 。常温(25℃)和高温(40℃)6 h 的电导率依据公式计算:电导率 $EC = (EC_2 - EC_0) / (EC_1 - EC_0)$;为了消除

供试材料之间植株生长差异,计算相对电导率。相对电导率 $\Delta EC = EC(6\text{ h}) / EC(0\text{ h})$ 。

1.3 数据分析

利用 SPSS 软件分析数据。由于相对发芽率(ΔG)、相对发芽指数(ΔGI)和相对电导率(ΔEC)数值介于 0~1,首先利用反正弦转化对数据进行转化,使符合正态分布。利用 Independent T-Test 检测亲本(L1 和 L6, L3 和 L4)之间相对发芽率(ΔG)、相对发芽指数(ΔGI)和相对电导率(ΔEC)是否有差异;再利用 one-sample T test 分别比较 F_1 ($L1 \times L6$, $L6 \times L1$)的 ΔG 、 ΔGI 和 ΔEC 是否与亲本 L1 和 L6 有显著差异, F_1 ($L3 \times L4$ 和 $L4 \times L3$)是否与亲本 L3 和 L4 有显著差异,确定 F_1 代的耐热特性,判断葫芦耐热性是否存在母性遗传。最后对 4 个 F_2 代群体单株 ΔEC 以耐热亲本 ΔEC 为阈值进行分组,计算卡平方值,卡方检验耐热:不耐热分离比例是否符合预期分离比,判断控制耐热性的基因数目。

2 结果与分析

2.1 高温与正常温度下葫芦种子发芽对比

观察亲本(L1、L6、L3 和 L4)及正反交 F_1 代($L1 \times L6$ 、 $L6 \times L1$ 、 $L3 \times L4$ 和 $L4 \times L3$)种子高温条件下发芽情况,发现高温抑制了葫芦种子正常发芽,首先表现在种子发芽时间推迟 3~7 d,其次是发芽种子胚根生长受到抑制,种子出现吸胀、褐化、烂种等情况较常温条件下严重(图 1),最后高温导致种子发芽率和发芽势降低。

2.2 葫芦幼苗高温处理 6 h 后生长情况

观察亲本(L1、L6、L3 和 L4)及正反交 F_1 代($L1 \times L6$ 、 $L6 \times L1$ 、 $L3 \times L4$ 和 $L4 \times L3$)幼苗高温条件下处理 6 h 后生长情况,发现高温严重破坏了植株正常生长,植株因为不同的耐热性,出现不同程度的萎蔫和叶片皱缩干枯(图 2)。耐热亲本 L1 和 L3 高温处理后植株叶片发绿,茎秆轻微倒伏,不耐热亲本 L4 和 L6 高温处理后植株萎蔫。

2.3 利用 L1 和 L6 组合的 ΔG 、 ΔGI 和 ΔEC 表型数据分析葫芦耐热性遗传规律

利用 Independent T-Test 检测比较 L1 和 L6 之间差异显著性的结果见表 1。亲本 L1 的 ΔG 和 ΔGI 分别为 0.97 ± 0.11 和 0.91 ± 0.13 ,显著高于 L6 的 $\Delta G(0.47 \pm 0.05)$ 和 $\Delta GI(0.68 \pm 0.08)$,表明 L1 高温条件下发芽能力显著高于 L6, L1 表现为耐热, L6 表现为不耐热,与前期材料筛选结果一致。同时, ΔEC 的数据显示, L1 的 ΔEC 为 0.32 ± 0.08 ,显著低于 L6

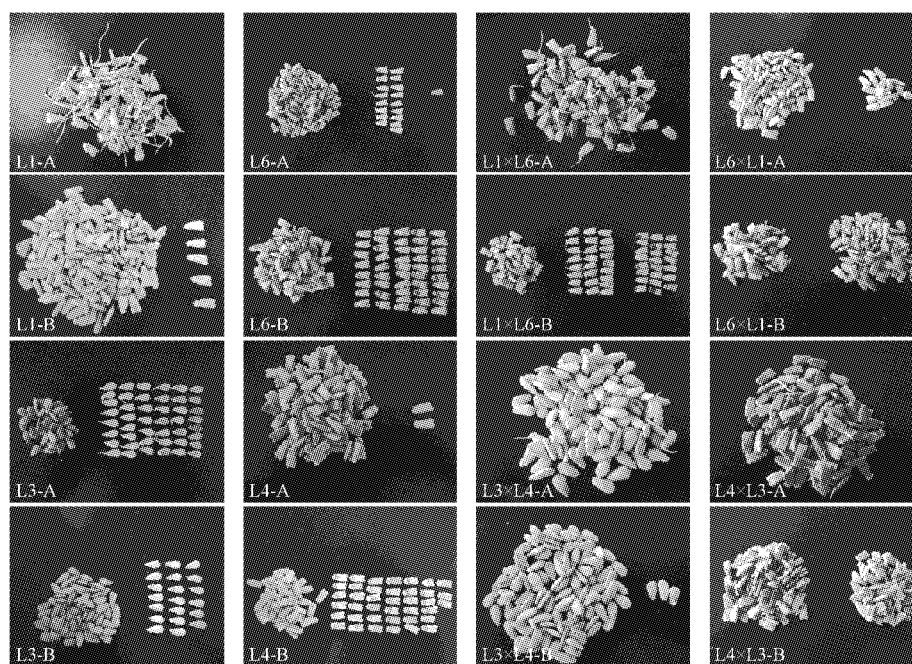


图1 L1、L6、L1×L6 和 L6×L1 及 L3、L4、L3×L4 和 L4×L3 在正常温度(A)和高温条件(B)发芽情况比较

Fig. 1 Seed germination in normal temperature (A) and high temperature (B) of L1, L6, L1×L6, L6×L1, L3, L4, L3×L4 and L4×L3

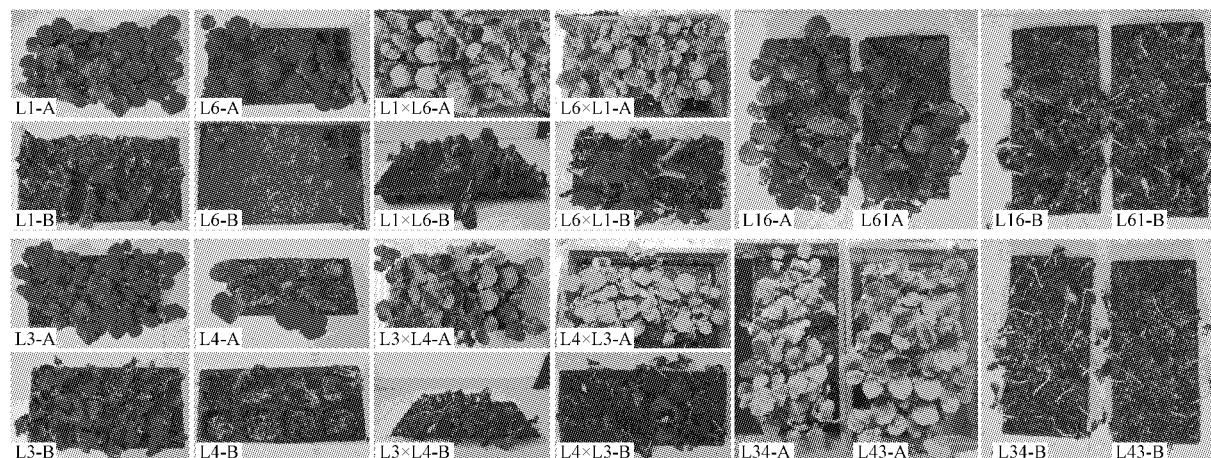


图2 L1、L6、L1×L6、L6×L1、L16 和 L61 及 L3、L4、L3×L4、L4×L3、L34 和 L43 在高温处理前(A)和处理后(B)植株对比

Fig. 2 Seedling of L1, L6, L1×L6, L6×L1, L16, L61, L3, L4, L3×L4, L4×L3, L34 and L43 treated in normal temperature (A) and high temperature (B)

的 $\Delta EC(0.86 \pm 0.18)$, 表明 L1 在高温处理过程中, 叶片组织细胞完整性好, 释放的内容物少, 电导率值低, L1 抵抗热胁迫能力强, 表现为耐热; L6 的 ΔEC 值高, 表现为不耐热。 ΔEC 对 L1 和 L6 耐热特性的判断结果与 ΔG 和 ΔGI 的一致。

通过 One-sample T test 比较 L1 和 L6 正反交 F_1 代与亲本的差异性, 由表 1 可以看出, 正反交 F_1

代(L1×L6 和 L6×L1)的 ΔG 、 ΔGI 和 ΔEC 介于 L1 和 L6 之间, 与亲本无显著性差异; 正反交 F_1 代的 ΔG 值 $((0.58 \pm 0.06)/(0.42 \pm 0.00))$ 和 ΔGI 值 $((0.62 \pm 0.12)/(0.68 \pm 0.06))$ 均小于双亲 ΔG 中值(0.72)和 ΔGI 中值(0.78), 更偏向不耐热亲本 L6; 正反交 F_1 代的 ΔEC 数值 $((0.56 \pm 0.09)/(0.64 \pm 0.07))$ 大于双亲 ΔEC 中值(0.56), 也偏向不耐热亲

本 L6。综合高温发芽和高温电导率结果分析表明, L1 和 L6 正反交 F_1 代表型指标表现无差异, 葫芦耐热性遗传不具有母性遗传特质, 且正反交 F_1 代表型指标偏向 L6, 表现为不耐热, 初步判断葫芦耐热性状为隐性遗传。

表 1

L1 和 L6 组合亲本、 F_1 和 F_2 代 ΔG 、 ΔGI 和 ΔEC 表型数据

Table 1

The phenetic data of ΔG , ΔGI and ΔEC of L1, L6, L1×L6, L6×L1, L16 and L61

类型 Type	编号 Code	ΔG	ΔGI	ΔEC	特性 Characteristic
亲本 Parent	L1	0.97±0.11a	0.91±0.13a	0.32±0.08a	耐热 T
亲本 Parent	L6	0.47±0.05b	0.68±0.08b	0.86±0.18b	不耐热 S
亲本中值 Median		0.72	0.78	0.56	
正交 F_1 Self F_1	L1×L6	0.58±0.06ab	0.62±0.12ab	0.56±0.09ab	不耐热 S
反交 F_1 Reciprocal F_1	L6×L1	0.42±0.00ab	0.68±0.06ab	0.64±0.07ab	不耐热 S
正交 F_2 Self F_2	L16	—	—	耐: 不耐=4: 17 T: S=4: 17	符合 1: 3 Fit to 1: 3
反交 F_2 Reciprocal F_2	L61	—	—	耐: 不耐=9: 17 T: S=9: 17	符合 1: 3 Fit to 1: 3

2.4 L3×L4 组合的 ΔG 、 ΔGI 和 ΔEC 表型数据分析葫芦耐热性遗传规律

利用 Independent T-Test 检测比较 L3 和 L4 之间差异显著性的结果见表 2。亲本 L3 的 ΔG 和 ΔGI 分别为 0.83±0.06 和 0.65±0.16, 显著高于 L4 的 ΔG (0.34±0.11) 和 ΔGI (0.24±0.10), 表明 L3 高温条件下发芽能力显著高于 L4, L3 表现为耐热, L4 表现为不耐热, 与前期材料筛选结果一致。同时, ΔEC 的数据显示, L3 的 ΔEC 为 0.72±0.11, 显著低于 L4 的 ΔEC (1.26±0.08), 表明 L3 在高温处理过程中, 叶片组织细胞完整性好, 释放的内容物少, 电导率值低, L3 抵抗热胁迫能力强, 表现为耐热; L4 的 ΔEC 值高, 表现为不耐热。 ΔEC 对 L3 和 L4 耐热特性的判断结果与 ΔG 和 ΔGI 的一致。

通过 One-sample T test 比较 L3 和 L4 正反交 F_1 与亲本的差异性, 由表 2 可以看出, 正反交 F_1 代 (L3×L4 和 L4×L3) 的 ΔG 、 ΔGI 和 ΔEC 介于 L3 和

以 L1 的 ΔEC 值 0.20(0.32~0.08) 为阈值, 将正反交 F_2 代 (L16 和 L61) 群体单株分作 2 组, $\Delta EC \leq 0.20$ 确定为耐热, $\Delta EC > 0.20$ 确定为不耐热, 统计耐热和不耐热单株数目, 卡方检测结果显示符合 1: 3 分离比, 表明葫芦耐热性为 1 对单基因控制。

L4 之间, 与亲本无显著性差异; 正反交 F_1 代的 ΔG 值((0.57±0.05)/(0.41±0.00)) 和 ΔGI 值((0.46±0.08)/(0.38±0.00)) 小于双亲 ΔG 中值(0.58) 和 ΔGI 中值(0.44), 更偏向不耐热亲本 L4; 正反交 F_1 代的 ΔEC 数值((0.93±0.04)/(1.03±0.11)) 大于双亲 ΔEC 中值(0.89), 偏向不耐热亲本 L4。综合 L3 和 L4 组合的 ΔG 、 ΔGI 和 ΔEC 结果, 得出与 L1 和 L6 组合相同的结论: L3 和 L4 正反交 F_1 代表型指标表现无差异, 葫芦耐热性遗传不具有母性遗传特质, 且正反交 F_1 代表型指标偏向 L4, 表现为不耐热, 初步判断葫芦耐热性状为隐性遗传。

以 L3 的 ΔEC 值 0.60(0.72~0.11) 为阈值, 将正反交 F_2 代 (L34 和 L43) 群体单株分作 2 组, $\Delta EC \leq 0.60$ 确定为耐热, $\Delta EC > 0.60$ 确定为不耐热, 统计耐热和不耐热单株数目, 卡方检测结果显示符合 1: 3 分离比, 表明葫芦耐热性为 1 对单基因控制。

表 2

L3 和 L4 组合亲本、 F_1 和 F_2 代 ΔG 、 ΔGI 和 ΔEC 表型数据

Table 2

The phenetic data of ΔG , ΔGI and ΔEC of L3, L4, L3×L4, L4×L3, L34 and L43

类型 Type	编号 Code	ΔG	ΔGI	ΔEC	特性 Characteristic
亲本 Parent	L3	0.83±0.06a	0.65±0.16a	0.72±0.11a	耐热 T
亲本 Parent	L4	0.34±0.11b	0.24±0.10b	1.26±0.08b	不耐热 S
亲本中值 Median		0.58	0.44	0.89	
正交 F_1 Self F_1	L3×L4	0.57±0.05ab	0.46±0.08ab	0.93±0.04ab	不耐热 S
反交 F_1 Reciprocal F_1	L4×L3	0.41±0.00ab	0.38±0.00ab	1.03±0.11ab	不耐热 S
正交 F_2 Self F_2	L34	—	—	耐: 不耐=8: 24	符合 1: 3
反交 F_2 Reciprocal F_2	L43	—	—	耐: 不耐=5: 19	符合 1: 3

3 结论与讨论

利用耐热葫芦 (L1 和 L3) 与不耐热葫芦 (L6 和 L4) 配置 2 组正反杂交 F_1 和 F_2 代, 采集相对发芽率 (ΔG)、相对发芽指数 (ΔGI) 和相对电导率 (ΔEC) 等耐热表型数据, 通过 SPSS 软件均数比较功能分析葫芦耐热性遗传规律。2 个杂交组合正反交 F_1 代表表现无

差异, 均为不耐热, 表明葫芦耐热性遗传不具有母性遗传特质, 为隐性遗传。通过卡方检测分析 2 个杂交组合正反交 F_2 代群体单株耐热性分离比例, 结果表明葫芦耐热性在 F_2 代符合 1: 3 分离比, 为 1 对单基因控制, 应利用耐热亲本配组, 在杂交早期世代进行筛选。

作物耐热性的研究主要集中在耐热性鉴定方法

和材料筛选^[4-6],相比较而言,作物耐热性遗传规律的研究报道较少^[7];而有关葫芦耐热性遗传规律的研究几乎空白。于拴仓等^[8]以耐热和热敏黄瓜自交系及其杂交回交世代为试材研究了黄瓜耐热性遗传模型,结果表明,黄瓜耐热性表现为数量遗传,符合加性-显性模型,以加性效应为主,显性效应不显著,耐热性的早期世代选择效果好。庄影^[9]利用耐热品系 GY2 和热敏品系 BY3 通过数量性状遗传体系分析得到类似结果。茄子耐热性为不完全显性,受 2 对以上基因控制,符合加性-显性模型,加性效应占主要成分^[10-11]。甘蓝耐热性符合加性-显性-上位性遗传模型,以加性效应为主,兼有上位性效应,显性效应不显著,广义遗传力和狭义遗传力均较高;除主效等位基因外,尚有数量较多的非等位微效基因控制其性状^[12];有研究报道,大白菜耐热性的遗传是由多对基因控制,呈现数量遗传特点,遗传力较高,以加性遗传效应为主,兼有上位效应,显性效应不明显,认为单纯利用杂种优势难以收到显著提高耐热性的效果^[13-14];也有报道指出大白菜耐热性可能由少数基因控制,但遗传力很高($H_n=68\%$)^[15]。综合以上研究结果得出相同结论,作物耐热性表现为数量遗传,主效基因呈加性-显性作用,其中加性效应明显,显性效应不显著,建议选择耐热材料为亲本,并尽量在早期世代进行选育。

该试验利用 2 组耐热差异亲本、及其 F_1 和 F_2 世代进行葫芦耐热性遗传规律分析,初步明确葫芦耐热性为 1 对单基因隐性遗传,应利用耐热亲本配组,并在杂交早期世代进行筛选。这与其它作物耐热性遗传加性效应明显,显性效应不显著的结论相

吻合。课题组将根据 F_2 代耐热表型数据分离结果,构建基因池,采用 BSA 法筛选耐热性相关分子标记,简化耐热性鉴定方法。

参考文献

- [1] 章鸥,甘小虎,胡静,等. 小型西瓜长季节栽培技术[J]. 蔬菜, 2012(3):13-15.
- [2] 肖光辉. 西瓜长季节栽培育苗技术及其应用[J]. 湖南农业科学, 2015(12):14-17.
- [3] 王毓洪,宋慧,应泉盛,等. 一套鉴定筛选耐热瓠瓜砧木的方法: 201210093995. 1[P]. 2014-05-14.
- [4] 张志忠,吴菁华,黄碧琦,等. 茄子耐热性苗期筛选指标的研究[J]. 中国蔬菜, 2004(2):4-7.
- [5] 初敏,庄志群,王秀峰,等. 不同耐热性萝卜幼苗对高温胁迫的生理响应[J]. 山东农业大学学报(自然科学版), 2014(3):334-339.
- [6] 查中萍,殷得所,万丙良,等. 水稻种质资源开花期耐热性分析[J]. 湖北农业科学, 2016(1):17-19.
- [7] 吴攀建,袁波,陈清华,等. 黄瓜耐热性研究进展[J]. 中国瓜菜, 2015,28(1):5-9.
- [8] 于拴仓,王永健. 黄瓜耐热性遗传规律的研究[J]. 华北农学报, 2003,18(3):87-89.
- [9] 庄影. 黄瓜耐热性遗传及 QTL 初步定位[D]. 扬州:扬州大学, 2014.
- [10] 易金鑫,侯喜林. 茄子耐热性遗传表现[J]. 园艺学报, 2002, 29(6):529-532.
- [11] 樊绍霖,谷晓华,安凤霞. 茄子耐热性性状正态性遗传测验分析[J]. 北方园艺, 2013(17):37-39.
- [12] 康俊根,翟依仁. 甘蓝耐热性遗传效应分析[J]. 华北农学报, 2003,18(3):93-95.
- [13] 吴国胜,王永健,姜亦巍,等. 大白菜耐热性遗传效应研究[J]. 园艺学报, 1997, 24(2):141-144.
- [14] 于拴仓,王永健,郑晓鹰. 大白菜耐热性 QTL 定位与分析[J]. 园艺学报, 2003, 30(4):417-420.
- [15] 郑晓鹰,王永建,宋顺华,等. 大白菜耐热性分子标记的研究[J]. 中国农业科学, 2002, 35(3):309-313.

Inheritance Analysis of Heat Tolerance in Bottle Gourd

SONG Hui, ZHANG Xiangqin

(Institute of Vegetable, Ningbo Academy of Agricultural Sciences/Ningbo Key Laboratory of Cucurbitaceous Vegetable Breeding, Ningbo, Zhejiang 315040)

Abstract: The heat tolerant parents (L1 and L3), susceptible parents (L6 and L4) and their reciprocal crosses F_1 and F_2 generations were used to analysis of the inheritance of heat tolerance in bottle gourd. The phenetic data of relative germination rate (ΔG), relative germination index (ΔGI) and relative conductivity of seedling (ΔEC) were collected and analyzed by 'Compare Means' function of SPSS software. The results showed that the inheritance of heat tolerance of bottle gourd was controlled by the recessive gene and the maternal hereditary was not detected. The 'Chi-square test' of F_2 generations results fit to the expected chi-square value of 1 : 3, which suggested the heat tolerance of bottle gourd was controlled by one pare single gene.

Keywords: bottle gourd; heat tolerance; inheritance law