

## 不同产地瓠瓜品种 ITS 序列的遗传多样性分析

赵 芹<sup>①</sup>, 谢大森, 彭庆务, 罗少波, 郭巨先, 邓沙沙

(广东省农业科学院蔬菜研究所, 广东 广州 510640)

**摘要:** 对国产 29 个瓠瓜 [*Lagenaria siceraria* (Molina) Standl.] 品种的 ITS 序列进行了扩增及测序, 并结合引自 GenBank 的国产 9 个瓠瓜品种以及国外 6 个瓠瓜品种和 3 个同属种类的 ITS 序列, 对它们的 ITS 序列长度和 GC 含量以及变异位点进行比较, 在此基础上构建系统发育树并对 47 个样本间的遗传关系进行研究。结果显示: 供试 47 个样本的 ITS 序列均由 ITS1、5.8S rDNA 及 ITS2 组成, 各样本间的 ITS 序列长度、GC 含量以及变异位点差异明显。国产 38 个瓠瓜品种的 ITS 序列(包括 ITS1、5.8S rDNA 及 ITS2)长度为 619~627 bp、GC 含量为 58.00%~63.32%; 国外 9 个样本的 ITS 序列长度为 591~626 bp、GC 含量为 54.17%~63.26%。序列比对结果显示: 国产 38 个瓠瓜品种的 ITS 序列同源率为 84.6%~100.0%, 包含 221 个变异位点; 其中, 来源于山东的品种‘砧木 2’(‘Zhenmu No. 2’)的 ITS 序列包含的变异位点最多, 与其他品种间的同源率也最低。在系统发育树上, 国产 38 个瓠瓜品种可分为 3 个分支, 来源于山东的品种‘砧木 2’和来源于河南的品种‘西瓜砧木 1’(‘Xiguazhenmu No. 1’)各自聚为第 1 和第 2 分支; 其余 36 个品种聚为第 3 分支。而供试的 47 个样本则可分为 2 个分支和 5 个亚组, 第 1 分支可分为 2 个亚组, 包括国产品种‘砧木 2’和产自日本的 2 个品种; 第 2 分支包含的 44 个样本则进一步分为 3 个亚组, 国产品种‘西瓜砧木 1’和产自法国的品种‘白花瓠瓜’(‘White-flowered gourd’)各自聚为第 1 和第 2 亚组, 其余的 42 个样本聚为第 3 亚组。研究结果表明: 供试的不同产地瓠瓜品种间存在丰富的遗传变异和地理分化现象, 其 ITS 序列差异与地理分布有一定关系。

**关键词:** 瓠瓜; ITS 序列; 变异位点; 同源性; 遗传分化; 系统发育

中图分类号: Q946-33; S642.9 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2014)03-0024-12

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2014.03.04

### Genetic diversity analysis on ITS sequence of *Lagenaria siceraria* cultivars from different origins

ZHAO Qin<sup>①</sup>, XIE Dasen, PENG Qingwu, LUO Shaobo, GUO Juxian, DENG Shasha (Vegetable Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2014, 23(3): 24-35

**Abstract:** ITS sequence of 29 cultivars of *Lagenaria siceraria* (Molina) Standl. in China was amplified and sequenced, and combined with that of 9 cultivars of *L. siceraria* in China, 6 cultivars of *L. siceraria* and 3 congeneric species abroad from GenBank, length, GC content and variation site of their ITS sequence were compared. On this basis, phylogenetic tree was constructed and genetic relationship among 47 samples was researched. The results show that ITS sequence of 47 samples all includes ITS1, 5.8S rDNA and ITS2, and there are obvious differences in length, GC content and variation site of ITS sequence among different samples. Length of ITS sequence (including ITS1, 5.8S rDNA and ITS2) of 38 cultivars of *L. siceraria* in China is 619-627 bp, and their GC content is 58.00%-63.32%. While ITS sequence length and GC content of 9 samples abroad are 591-626 bp and 54.17%-63.26%, respectively. The result of sequence alignment shows that homological rate of ITS sequence of 38 cultivars of *L. siceraria* in China is 84.6%-100.0%, which includes 221 variation sites. In which there are the most variation sites of ITS sequence and the smallest homological rate in cultivar ‘Zhenmu No. 2’ from Shandong as compared with other cultivars. According to the phylogenetic tree, 38 cultivars of *L.*

收稿日期: 2013-08-22

基金项目: 广东省自然科学基金博士科研启动基金资助项目(10451064001006063); 广东省农业科学院院长基金资助项目(201007)

作者简介: 赵 芹(1982—), 女, 山东泰安人, 博士, 副研究员, 主要研究方向为蔬菜病理学与抗病育种。

<sup>①</sup>通信作者 E-mail: zhaopin0802@126.com

*siceraria* in China can be divided into 3 branches, cultivar ‘Zhenmu No. 2’ from Shandong and cultivar ‘Xiguazhenmu No. 1’ from He’nan are clustered in the first and second branches, respectively, and other 36 cultivars are clustered in the third branch. While 47 samples tested are divided into 2 branches and 5 subgroups. The first branch can be divided into two subgroups, which includes cultivar ‘Zhenmu No. 2’ in China and two cultivars in Japan; and the second branch includes 44 samples which can be divided into 3 subgroups, in which, cultivar ‘Xiguazhenmu No. 1’ in China and cultivar ‘White-flowered gourd’ in France are clustered in the first and second subgroups, respectively, and other 42 cultivars are clustered in the third subgroup. It is suggested that there are rich genetic variations and geographic divergences among cultivars of *L. siceraria* from different origins, and difference of their ITS sequences is related to geographical distribution.

**Key words:** *Lagenaria siceraria* (Molina) Standl.; ITS sequence; variation site; homology; genetic differentiation; phylogeny

瓠瓜 [*Lagenaria siceraria* (Molina) Standl.] 别名瓠子、扁蒲或蒲瓜, 为葫芦科 (Cucurbitaceae) 葫芦属 (*Lagenaria* Ser.) 植物, 原产非洲<sup>[1]</sup>; 非洲与亚洲的瓠瓜因形态与基因差异明显被分为 2 个亚种<sup>[1-4]</sup>。国外研究者利用 RAPD 标记对非洲瓠瓜遗传多样性进行了研究<sup>[5-6]</sup>, Clarke 等<sup>[7]</sup> 利用 ISSR 分子标记对来自亚洲、美洲及波利尼西亚的 36 份瓠瓜栽培种的传播起源进行了探讨。

中国种植瓠瓜历史悠久, 全国各地均有栽培且品种十分丰富, 但目前国内对瓠瓜种质资源的研究甚少, 而基于分子水平的遗传多样性研究更加鲜见。高山等<sup>[8-9]</sup> 利用 ISSR 与 RAPD 标记分析了 38 份瓠瓜种质资源的遗传多样性; 周先治等<sup>[10]</sup> 基于 ITS 序列对中国、泰国和日本产瓠瓜品种进行了地理分化研究; Xu 等<sup>[11]</sup> 测定了瓠瓜基因组的部分序列, 并采用自主开发的 SSR 标记对国产 44 个瓠瓜品种进行遗传进化分析, 初步揭示了瓠瓜种质资源的遗传多样性及不同品种间的亲缘关系。研究瓠瓜种质资源的地理分化与系统进化, 对于瓠瓜遗传育种意义重大。作者所在的研究室通过十几年的努力收集了丰富的瓠瓜品种资源, 并育成了一些优秀品种。

高等植物核糖体 RNA 是高度重复的串联序列, 编码 18S、5.8S 和 26S rDNA 为 1 个转录单位, ITS (internal transcribed space) 间隔区是位于 18S 和 26S rRNA 片段间的非编码转录区, 被 5.8S rRNA 片段分为 2 个片段, 即 ITS1 和 ITS2。ITS 序列具有进化速率较快、稳定性好和测序方便等特点, 已成为研究植物系统发育及分子进化的有效工具和重要标记, 被广泛应用于近缘属间、种间甚至种下居群间的分类研究<sup>[12-19]</sup>。为了更好地开发利用瓠瓜种质资源, 作者对来源于不同产地的国产 29 个瓠瓜品种的 ITS 序列进

行扩增并分析其亲缘关系, 同时还从 GenBank 上下载了国产的 9 个瓠瓜品种及国外产的 6 个瓠瓜品种和 3 个同属种类的 ITS 序列, 研究不同来源瓠瓜品种的地理分化及系统发育, 为瓠瓜种质资源分类、种质鉴别及杂交育种提供分子生物学依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

从山东、江西、北京、广东、香港、湖北、福建、河南和山西等地收集 29 个瓠瓜品种, 包括来源于山东昌邑的品种‘小籽葫芦砧木’ (‘Xiaozihuluzhenmu’), ‘砧木 2’ (‘Zhenmu No. 2’), ‘砧木 3’ (‘Zhenmu No. 3’) 和 ‘砧木 8’ (‘Zhenmu No. 8’); 江西新余的品种‘玉农启福’ (‘Yunongqifu’); 北京的品种‘砧木 10’ (‘Zhenmu No. 10’); 湖北武汉的品种‘汉龙碧玉’ (‘Hanlongbiyu’) 和 ‘春晓 2 号’ (‘Chunxiao No. 2’), 湖北咸宁的品种‘早春 2 号’ (‘Zaochun No. 2’); 广东汕头的品种‘超早生’ (‘Chaozaosheng’) 和 ‘汕头瓠’ (‘Shantouhu’), 广东东莞的品种‘石滩仙村’ (‘Shitanxiancun’), 广东广州的品种‘利降油绿’ (‘Lijiangyoulv’), ‘遂 1’ (‘Sui No. 1’), ‘金钗头 3’ (‘Jinchaitou No. 3’), ‘超长遂 2’ (‘Chaochangsu No. 2’), ‘绿如意’ (‘Lvruyi’), ‘益家短身’ (‘Yijiaduanshen’), ‘油青二号短瓠’ (‘Youqing No. 2 duanhu’), ‘绿美人’ (‘Lvmeiren’) 和 ‘杂交瓠瓜’ (‘Hybrid bottle gourd’); 香港的品种‘港研甜芋瓠’ (‘Gangyantianyuhu’); 福建福州的品种‘绿龙福州芋瓠’ (‘Lvlongfuzhouyuhu’); 河南郑州的品种‘西瓜砧木 1’ (‘Xiguazhenmu No. 1’), ‘西瓜砧木 3’ (‘Xiguazhenmu No. 3’) 和 ‘西瓜砧木 4’

(‘Xiguazhenmu No. 4’);山西平遥的品种‘大籽葫芦’(‘Dazihulu’),‘特大籽葫芦’(‘Tedazihulu’)和‘小籽葫芦’(‘Xiaozihulu’)。各品种的种子于 2012 年 3 月播种于广东省农业科学院蔬菜研究所温室,待幼苗长至 2~3 片真叶时,采集叶片并保存于-70 °C 冰箱中,备用。

另从 GenBank 上下载国产的 9 个品种及国外产的 6 个品种和 3 个同属种类的 ITS 序列。9 个国产品种包括:产自福建福州的品种‘青圆有柄’(‘Qingyuanyoubing’),‘短柄芦 2’(‘Duanbinglu No. 2’),‘花长葫’(‘Huachanghu’)和‘10 号砧木’(‘Zhenmu No. 10’),产自北京的品种‘8 号瓠瓜’(‘Hugua No. 8’),‘京欣砧霸’(‘Jingxinzhenba’)和‘中引 28’(‘Zhongyin No. 28’),产自海南的品种‘青长葫’(‘Qingchanghu’),产自河南郑州的品种‘超丰新生’(‘Chaofengxinsheng’);它们的 ITS 序列 GenBank 登录号分别为 FJ951139、FJ951148、FJ951150、FJ951154、FJ951137、FJ951146、FJ951151、FJ951143 和 FJ951145。国外 6 个品种和 3 个同属种类为:产自日本的品种‘长葫 1 号’(‘Changhu No. 1’)和‘长葫 3 号’(‘Changhu No. 3’),产自泰国的品种‘19 号砧木’(‘Zhenmu No. 19’),产自几内亚的同属种类 *Lagenaria guineensis* (G. Don) C. Jeffrey 和 *Lagenaria rufa* (Gilg) C. Jeffrey,产自加纳的同属种类 *Lagenaria breviflora* (Benth.) Roberty 和瓠瓜品种‘白花瓠瓜’(‘White-flowered gourd’),产自贝宁的品种‘Atangoue’和产自法国的品种‘白花瓠瓜’(‘White-flowered gourd’);它们的 ITS 序列 GenBank 登录号分别为 FJ951142、FJ951162、FJ951159、AM981088、AM981087、AM981086、HE661303、AM981089 和 AF006812。

克隆宿主菌大肠杆菌 DH5 $\alpha$ 、克隆载体 pMD18-T Vector、凝胶回收试剂盒、*Ex Taq* DNA 聚合酶、Amp 抗生素和 DL2000 DNA marker 等均购自广州瑞真生物技术有限公司。

## 1.2 方法

1.2.1 基因组总 DNA 的提取及检测 取冷冻保存的瓠瓜叶片 0.1 g,采用改良 CTAB 法<sup>[20]</sup>提取基因组总 DNA,并溶解于少量灭菌双蒸水中。用质量体积分数 1% 琼脂糖凝胶电泳,并用 GENEQUANT 纳米紫外分光光度计(德国 Eppendorf 公司)检测 DNA 浓度及纯度,-20 °C 保存备用。

1.2.2 PCR 扩增 采用 White 等<sup>[21]</sup>设计的 ITS 通用引物 ITS4(5’-TCCTCCGCTTATTGAATGC-3’)和 ITS5(5’-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3’)扩增目的片段。以 29 份样品总 DNA 为模板进行 PCR 扩增。反应体系总体积 25  $\mu$ L,包含 2.5  $\mu$ L 10 $\times$ *Ex* buffer(含 MgCl<sub>2</sub>)、1 U *Ex Taq* DNA 聚合酶、0.2 mmol·L<sup>-1</sup> dNTPs、0.4  $\mu$ mol·L<sup>-1</sup> 引物和 50 ng 模板 DNA。反应程序为:94 °C 预变性 3 min;94 °C 变性 30 s、50 °C 退火 30 s、72 °C 延伸 60 s,35 个循环;最后于 72 °C 延伸 10 min。PCR 产物用质量体积分数 1% 琼脂糖凝胶电泳检测,并用 GeneGeniusBio Imaging System 凝胶成像系统(美国 Bio-Rad 公司)观察拍照。

1.2.3 PCR 产物的纯化、克隆与测序 PCR 产物经凝胶回收试剂盒回收纯化,连接至 pMD18-T Vector,并转化 DH5 $\alpha$  感受态细胞,涂布在固体 LB(含 Amp 抗生素、X-Gal 与 IPTG)培养基上,并于 37 °C 倒置培养过夜;挑取白斑菌落进行 PCR 检测,并取 1 mL 阳性克隆菌液,由广州英骏生物技术有限公司进行测序。

1.2.4 目的片段序列及序列同源性分析 利用 BioEdit 软件<sup>[22]</sup>分析 ITS 序列的范围,除去两端非 ITS 部分,进而利用 NCBI 上的 BLASTn 程序(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blastn>)与已登录的葫芦属植物的 ITS 序列进行同源比对,界定出 ITS 序列及其间隔区各部分的序列。对 29 个品种的 ITS 序列以及从 GenBank 下载的 18 个瓠瓜品种或同属种类的 ITS 序列,通过 DNASTar 软件<sup>[23]</sup>和 Clustal X 1.83 软件<sup>[24]</sup>分析序列长度、变异位点、GC 含量、同源率与遗传分歧并进行同源比对;利用 MegAlign 程序构建遗传进化树并进行系统发育分析。

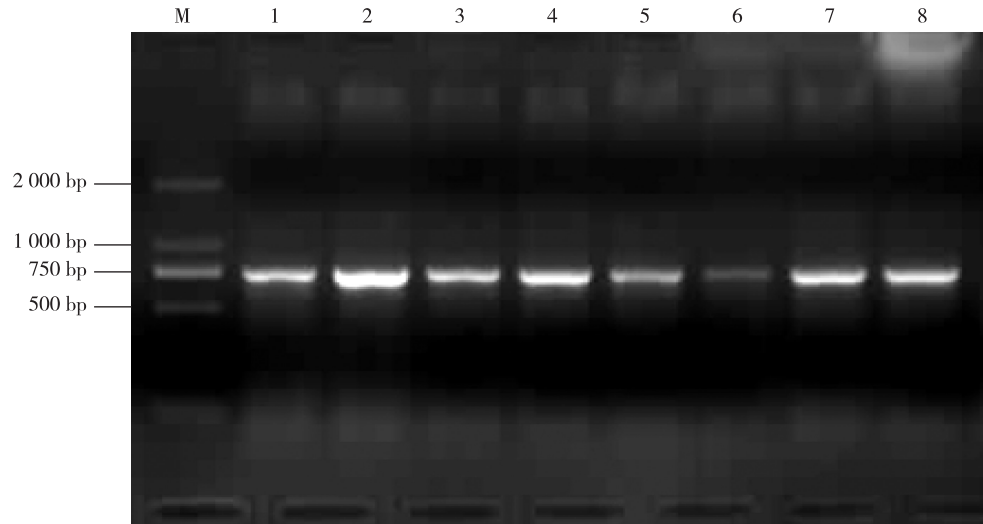
## 2 结果和分析

### 2.1 PCR 扩增结果

利用 ITS 通用引物对国产 29 个瓠瓜品种的基因组总 DNA 进行 PCR 扩增,在 750 bp 附近得到 1 条明亮清晰的条带,与预期的片段长度一致,其中 8 个品种的扩增图谱见图 1。PCR 产物经回收测序后得到瓠瓜的 ITS 序列。

### 2.2 ITS 序列长度和 GC 含量及变异分析

供试的国产 29 个瓠瓜品种的 ITS 序列均包括部分 18S rDNA、ITS1、5.8S rDNA、ITS2 和部分 26S rDNA 片段。根据 GenBank 上已报道的瓠瓜品种‘福州短柄



M; DL2000 DNA marker; 1: 品种‘小籽葫芦砧木’ Cultivar ‘Xiaozihuluzhenmu’; 2: 品种‘砧木 2’ Cultivar ‘Zhenmu No. 2’; 3: 品种‘砧木 3’ Cultivar ‘Zhenmu No. 3’; 4: 品种‘砧木 8’ Cultivar ‘Zhenmu No. 8’; 5: 品种‘玉农启福’ Cultivar ‘Yunongqifu’; 6: 品种‘砧木 10’ Cultivar ‘Zhenmu No. 10’; 7: 品种‘汉龙碧玉’ Cultivar ‘Hanlongbiyu’; 8: 品种‘超早生’ Cultivar ‘Chaozaosheng’.

图 1 8 个瓠瓜品种 ITS 序列的 PCR 扩增图谱  
Fig. 1 PCR amplification pattern of ITS sequence from eight cultivars of *Lagenaria siceraria* (Molina) Standl.

瓠’(FJ951139)的 18S rRNA 片段的 3’端、5.8S rDNA 片段以及 26S rRNA 片段的 5’端序列,确定供试 29 个瓠瓜品种的 ITS 序列范围(包括 ITS1、5.8S rDNA 和 ITS2),供试 29 个瓠瓜品种的 ITS 序列全长序列已提交至 GenBank。供试 29 个瓠瓜品种及引自 GenBank

的国产 9 个瓠瓜品种(序号 30~38)及国外 6 个瓠瓜品种和 3 个同属种类(序号 39~47)的 ITS 序列的登录号、长度和 GC 含量见表 1。

国产 38 个瓠瓜品种的 ITS 序列总长度为 619~627 bp,GC 含量为 58.00%~63.32%;其中,ITS1 片

表 1 供试瓠瓜品种及葫芦属其他种类的 ITS 序列 GenBank 登录号、片段长度及 GC 含量  
Table 1 GenBank accession number, fragment length and GC content of ITS sequence from cultivars of *Lagenaria siceraria* (Molina) Standl. and other species in *Lagenaria* Ser.

序号 No.	品种或种类 Cultivar or species	登录号 Accession number	各片段的长度/bp Length of each fragment				各片段的 GC 含量/% GC content of each fragment			
			ITS	ITS1	5.8S rDNA	ITS2	ITS	ITS1	5.8S rDNA	ITS2
1	小籽葫芦砧木 Xiaozihuluzhenmu	KJ026930	625	218	162	245	63.20	61.47	58.64	67.76
2	砧木 2 Zhenmu No. 2	KJ026931	619	195	162	261	58.00	54.36	58.64	60.15
3	砧木 3 Zhenmu No. 3	KJ026932	625	218	162	245	63.04	61.93	58.64	66.94
4	砧木 8 Zhenmu No. 8	KJ026933	625	218	162	249	63.20	61.47	58.64	68.87
5	玉农启福 Yunongqifu	KJ026934	625	218	162	245	63.20	61.47	58.64	67.76
6	砧木 10 Zhenmu No. 10	KJ026935	625	218	162	245	63.04	61.47	58.64	67.35
7	汉龙碧玉 Hanlongbiyu	KJ026936	626	219	162	245	62.78	60.73	59.26	66.94
8	超早生 Chaozaosheng	KJ026937	625	218	162	245	63.20	61.47	58.64	67.35
9	春晓 2 号 Chunxiao No. 2	KJ026909	625	218	162	245	63.20	61.47	58.64	67.76
10	石滩仙村 Shitanxiancun	KJ026910	625	218	162	245	63.20	61.01	58.64	68.16
11	利降油绿 Lijiangyoulv	KJ026911	625	218	162	245	63.20	61.47	58.64	67.76
12	遂 1 Sui No. 1	KJ026912	624	217	162	245	62.96	61.29	58.64	67.35
13	金钗头 3 Jinchaitou No. 3	KJ026913	625	218	162	245	63.04	61.47	58.64	67.35
14	超长遂 2 Chaochangsui No. 2	KJ026914	625	218	162	245	63.04	61.47	58.64	67.35
15	汕头瓠 Shantouhu	KJ026915	625	218	162	245	63.20	61.47	58.64	67.76
16	早春 2 号 Zaochun No. 2	KJ026916	625	218	162	245	63.04	61.47	58.64	67.35



续表 1 Table 1 (Continued)

序号 No.	品种或种类 Cultivar or species	登录号 Accession number	各片段的长度/bp Length of each fragment				各片段的 GC 含量/% GC content of each fragment			
			ITS	ITS1	5.8S rDNA	ITS2	ITS	ITS1	5.8S rDNA	ITS2
17	港研甜芋瓠 Gangyantianyuhu	KJ026917	625	218	162	245	62.88	61.01	58.64	67.35
18	绿龙福州芋瓠 Lvlongfuzhouyuhu	KJ026918	625	218	162	245	63.04	61.47	58.64	67.35
19	西瓜砧木 1 Xiguazhenmu No. 1	KJ026919	625	218	162	245	61.44	60.55	58.64	64.08
20	西瓜砧木 3 Xiguazhenmu No. 3	KJ026920	625	218	162	245	63.04	61.47	58.64	67.35
21	西瓜砧木 4 Xiguazhenmu No. 4	KJ026921	625	218	162	245	63.20	61.47	58.64	67.76
22	绿如意 Lvruyi	KJ026922	625	218	162	245	63.04	61.47	58.64	67.35
23	益家短身 Yijiaduanshen	KJ026923	625	218	162	245	63.04	61.47	58.64	67.35
24	油青二号短瓠 Youqing No. 2 duanhu	KJ026924	625	218	162	245	63.04	61.47	58.64	67.35
25	绿美人 Lvmeiren	KJ026925	625	218	162	245	63.04	61.47	58.64	67.35
26	杂交瓠瓜 Hybrid bottle gourd	KJ026926	625	218	162	245	63.04	61.47	58.64	67.35
27	大籽葫芦 Dazihulu	KJ026927	625	218	162	245	63.20	61.47	58.64	67.76
28	特大籽葫芦 Tedazihulu	KJ026928	625	218	162	245	63.04	61.47	58.64	67.35
29	小籽葫芦 Xiaozihulu	KJ026929	625	218	162	245	63.20	61.47	58.64	67.76
30	短柄芦 2 Duanbinglu No. 2	FJ951139	625	218	162	245	63.02	61.47	58.64	67.35
31	青圆有柄 Qingyuanyoubing	FJ951148	627	220	162	245	63.32	61.82	58.64	67.76
32	花长葫 Huachanghu	FJ951150	627	219	162	246	63.00	61.19	58.64	67.48
33	10 号砧木 Zhenmu No. 10	FJ951154	627	219	162	246	62.68	60.73	58.64	67.07
34	8 号瓠瓜 Hugu No. 8	FJ951137	625	218	162	245	63.20	61.47	58.64	67.76
35	京欣砧霸 Jingxinzhenba	FJ951146	625	218	162	245	63.04	61.47	58.64	67.35
36	中引 28 Zhongyin No. 28	FJ951151	625	218	162	245	63.20	61.47	58.64	67.76
37	青长葫 Qingchanghu	FJ951143	626	219	162	245	63.26	61.64	58.64	67.76
38	超丰新生 Chaofengxinsheng	FJ951145	625	218	162	245	63.20	61.47	58.64	67.76
39	长葫 1 号 Changhu No. 1	FJ951142	611	190	162	259	54.17	52.63	54.94	54.83
40	长葫 3 号 Changhu No. 3	FJ951162	616	195	162	259	57.79	54.87	58.64	59.46
41	19 号砧木 Zhenmu No. 19	FJ951159	625	219	162	244	63.04	61.19	58.64	67.62
42	<i>Lagenaria guineensis</i>	AM981088	625	218	162	245	63.20	61.47	58.64	67.76
43	<i>Lagenaria rufa</i>	AM981087	625	218	162	245	63.20	58.64	58.64	67.35
44	<i>Lagenaria breviflora</i>	AM981086	625	218	162	245	62.72	61.47	58.64	66.53
45	白花瓠瓜 White-flowered gourd	HE661303	591	192	162	237	61.93	60.42	58.64	65.40
46	Atangoue	AM981089	626	219	161	246	63.26	61.64	58.39	67.89
47	白花瓠瓜 White-flowered gourd	AF006812	595	201	162	232	59.16	55.72	58.64	62.50

段长度 195 ~ 220 bp, GC 含量 54.36% ~ 61.93%; ITS2 片段长度为 245 ~ 261 bp, GC 含量为 60.15% ~ 68.87%; ITS 序列长度与 GC 含量发生变异, 预示碱基位点发生某种程度的变异。

在 38 个品种中, 品种‘砧木 2’的 ITS 序列最短(仅 619 bp), 品种‘青圆有柄’、‘花长葫’和‘10 号砧木’的 ITS 序列最长(627 bp); 在其余的 34 个品种中, 除品种‘遂 1’的 ITS 序列长度为 624 bp、品种‘汉龙碧玉’和‘青长葫’的 ITS 序列长度为 626 bp 外, 其他品种的 ITS 序列长度均为 625 bp。在 38 个品种中, 品种‘青圆有柄’ITS 序列 GC 含量最高, 为 63.32%; 品种‘砧木 2’ITS 序列 GC 含量最低, 仅为 58.00%。国产 38 个瓠瓜品种的 5.8S rDNA 的长度均为 162 bp, 仅存在 1 次 A 与 G 转换, 表明瓠瓜品种的核糖体

DNA 序列具有高度保守性。

产自国外的 6 个品种及 3 个同属种类的 ITS 序列长度为 591 ~ 626 bp, GC 含量为 54.17% ~ 63.26%。其中, ITS1 片段长度 190 ~ 219 bp, GC 含量 52.63% ~ 61.64%; ITS2 片段长度为 232 ~ 259 bp, GC 含量为 54.83% ~ 67.89%; 除产自贝宁的品种‘Atangoue’的 5.8S rDNA 片段长度为 161 bp 外, 其他品种或种类的 5.8S rDNA 片段长度均为 162 bp。来源于法国和加纳的 2 个瓠瓜品种的 ITS 序列长度明显小于其他品种或种类, 分别仅为 591 和 595 bp; 产自日本的品种‘长葫 1 号’和‘长葫 3 号’的 ITS 序列也较短, 长度分别为 611 和 616 bp。从 GC 含量看, ‘长葫 1 号’和‘长葫 3 号’ITS 片段的 GC 含量最低, 分别为 54.17% 和 57.79%; 产自法国和加纳的 2 个瓠瓜品种的 GC

含量也较低;而产自贝宁的品种‘Atangoue’的片段长度及 GC 含量均最高。

DNA 序列见图 2;国产 38 个瓠瓜品种的 ITS 序列中变异位点的比对结果见表 2。

2.3 ITS 序列变异位点及同源性分析

比对结果显示:不同品种的 ITS 序列间有变异位

国产瓠瓜品种‘小籽葫芦砧木’的 ITS 片段的

点 221 个,其中 ITS1 包含变异位点 108 个、ITS2 包含

1 TCGATGCCTA AACATCAAAC GACCCGCGAA CGCGTTTACA AACCAATTGT TCGCGCCGG- GGGCGGGG-G GAAGCATGCT CTTTGCCTGC
91 TCCCTCCCC C--TCGGCGC GCCTAAACCA AACCCGCGC CAGTTCGGC CAAGGAATT TAAATGAATT CGCTGCCCC TGGCCCCGC
181 CTCGGCGTGC GGGGGG-CAG AGCATCTCTG TCGTATTACT ----CACAAAC GACTCTCGGC AACGGATATC TCGGCTCTCG CATCGATGAA
271 GAACGTAGCC AAATGCGATA CTTGCTGTGA ATTGCAGGAT CCCGCGAACC ACCGAGTCTT TGAACGCAAG TGGCGCCCGG AGCCTTCTGG
361 CCGAGGGCAC GTCTGCCTGG CGCTACGCA TCGCTGCCCC CC-CACGCAA CCCC--CCAT GTGGGCTCGT TGGCGGGCGG GGGCCACACG
451 CTGGCCTCCC CTGCGCACCG TCGCGCGGAT GGCTTAAATT CGAGTCTCG GC-GCCCCTC GTCGCGACAC TACGGTGGTT GATCCAACCT
541 CGGTACCGCG TCGCGAATTT GAC-----G CGCCTCCTT GTGAC-----TCCT ACACCGACCC TCTGAACGCC GTCTCCAAA
631 GGACGACG-C TCTCGACCG ACCCC

“-”为优化联配而产生的缺口“-” is gaps used for optimal alignment.

图 2 瓠瓜品种‘小籽葫芦砧木’的 ITS 序列
Fig. 2 ITS sequence of Lagenaria siceraria ‘Xiaozihuluzhenmu’

表 2 国产 38 个瓠瓜品种 ITS 序列的变异位点对比
Table 2 Comparison on variation site in ITS sequence from 38 cultivars of Lagenaria siceraria (Molina) Standl. in China

Table with 3 columns: No., Cultivar, and Variation site and gap. It lists 12 cultivars and their corresponding variation sites and gaps in the ITS sequence.

续表2 Table 2 (Continued)

序号 No.	品种 Cultivar	变异位点和空位 <sup>1)</sup> Variation site and gap <sup>1)</sup>
13	金钗头3 Jinchaitou No. 3	T(449); 其他位点同品种‘小籽葫芦砧木’一致 Other loci are the same as cultivar ‘Xiaozihuluzhenmu’
14	超长遂2 Chaochangshui No. 2	T(449); 其他位点同品种‘小籽葫芦砧木’一致 Other loci are the same as cultivar ‘Xiaozihuluzhenmu’
15	汕头瓠 Shantouhu	序列同品种‘小籽葫芦砧木’一致 The sequence is the same as cultivar ‘Xiaozihuluzhenmu’
16	早春2号 Zaochun No. 2	T(449); 其他位点同品种‘小籽葫芦砧木’一致 Other loci are the same as cultivar ‘Xiaozihuluzhenmu’
17	港研甜芋瓠 Gangyantianyuhu	A(139), T(449); 其他位点同品种‘小籽葫芦砧木’一致 Other loci are the same as cultivar ‘Xiaozihuluzhenmu’
18	绿龙福州芋瓠 Lvlongfuzhouyuhu	T(449); 其他位点同品种‘小籽葫芦砧木’一致 Other loci are the same as cultivar ‘Xiaozihuluzhenmu’
19	西瓜砧木1 Xiguazhenmu No. 1	A(44), C(47), C(51), T(54), T(60), C(83), G(87), C(91), TC(95, 96), gap(101), T(112), G(151), T(161), A(191), TG(198,199), T(219), T(404), A(407), A(412), C(419), C(422), TA(435, 436), A(440), T(474), A(506), A(548), TC(557, 558), T(571), T(605), T(620), C(624), T(634); 其他位点同品种‘小籽葫芦砧木’一致 Other loci are the same as cultivar ‘Xiaozihuluzhenmu’
20	西瓜砧木3 Xiguazhenmu No. 3	T(449); 其他位点同品种‘小籽葫芦砧木’一致 Other loci are the same as cultivar ‘Xiaozihuluzhenmu’
21	西瓜砧木4 Xiguazhenmu No. 4	C(186); 其他位点同品种‘小籽葫芦砧木’一致 Other loci are the same as cultivar ‘Xiaozihuluzhenmu’
22	绿如意 Lvryui	T(449); 其他位点同品种‘小籽葫芦砧木’一致 Other loci are the same as cultivar ‘Xiaozihuluzhenmu’
23	益家短身 Yijiaduanshen	T(449); 其他位点同品种‘小籽葫芦砧木’一致 Other loci are the same as cultivar ‘Xiaozihuluzhenmu’
24	油青二号短瓠 Youqing No. 2 duanhu	T(449); 其他位点同品种‘小籽葫芦砧木’一致 Other loci are the same as cultivar ‘Xiaozihuluzhenmu’
25	绿美人 Lvmeiren	T(449); 其他位点同品种‘小籽葫芦砧木’一致 Other loci are the same as cultivar ‘Xiaozihuluzhenmu’
26	杂交瓠瓜 Hybrid bottle gourd	T(449); 其他位点同品种‘小籽葫芦砧木’一致 Other loci are the same as cultivar ‘Xiaozihuluzhenmu’
27	大籽葫芦 Dazihulu	序列同品种‘小籽葫芦砧木’一致 The sequence is the same as cultivar ‘Xiaozihuluzhenmu’
28	特大籽葫芦 Tedazihulu	A(444); 其他位点同品种‘小籽葫芦砧木’一致 Other loci are the same as cultivar ‘Xiaozihuluzhenmu’
29	小籽葫芦 Xiaozihulu	序列同品种‘小籽葫芦砧木’一致 The sequence is the same as cultivar ‘Xiaozihuluzhenmu’
30	短柄芦2 Duanbinglu No. 2	T(449); 其他位点同品种‘小籽葫芦砧木’一致 Other loci are the same as cultivar ‘Xiaozihuluzhenmu’
31	青圆有柄 Qingyuanyoubing	CT(96, 97), CC(102,103); 其他位点同品种‘小籽葫芦砧木’一致 Other loci are the same as cultivar ‘Xiaozihuluzhenmu’
32	花长葫 Huachanghu	A(61), G(197), G(497), A(504), G(639); 其他位点同品种‘小籽葫芦砧木’一致 Other loci are the same as cultivar ‘Xiaozihuluzhenmu’
33	10号砧木 Zhenmu No. 10	T(29), T(33), G(197), A(499), A(503); 其他位点同品种‘小籽葫芦砧木’一致 Other loci are the same as cultivar ‘Xiaozihuluzhenmu’
34	8号瓠瓜 Hugua No. 8	序列同品种‘小籽葫芦砧木’一致 The sequence is the same as cultivar ‘Xiaozihuluzhenmu’
35	京欣砧霸 Jingxinzhenba	CT(96, 97), CT(104,105), T(449); 其他位点同品种‘小籽葫芦砧木’一致 Other loci are the same as cultivar ‘Xiaozihuluzhenmu’
36	中引28 Zhongyin No. 28	序列同品种‘小籽葫芦砧木’一致 The sequence is the same as cultivar ‘Xiaozihuluzhenmu’
37	青长葫 Qingchanghu	G(197); 其他位点同品种‘小籽葫芦砧木’一致 Other loci are the same as cultivar ‘Xiaozihuluzhenmu’
38	超丰新生 Chaofengxinsheng	序列同品种‘小籽葫芦砧木’一致 The sequence is the same as cultivar ‘Xiaozihuluzhenmu’

<sup>1)</sup> 括号中的数字表示位点序号 Numbers in brackets indicate the codes of sites.

含变异位点112个, 5.8S rDNA 包含变异位点1个, 多数变异集中在33~114与399~475 bp之间。国产38个品种的ITS序列同源率为84.6%~100.0%, 遗

传分歧为0.0~16.7, 其中品种‘砧木2’与其他品种的同源率均较低, 为84.6%~86.1%, 且与品种‘西瓜砧木1’的同源率最低, 变异位点最多(132个), 占全

部变异位点的 59.73%。

与国产的瓠瓜品种 ITS 序列相比,产自日本的 2 个瓠瓜品种在第 89 至第 109 位点处缺失 21 个碱基,而在第 555 至第 559 及第 580 至第 589 位点处分别插入 5 和 10 个碱基;产自加纳的品种‘白花瓠瓜’在第 89 至第 113 位点处缺失 25 个碱基;产自法国的品种‘白花瓠瓜’在第 96 至第 98 及第 103 至第 105 位点处均缺失 3 个碱基。总体上看,产自国外的 9 个品种及 3 个同属种类的 ITS 序列中还零星分散着无规律的变异位点,尤以产自日本的品种变异位点最多,产自法国和加纳的 2 个瓠瓜品种的 ITS 序列的变异位点也较多。

同源率分析结果显示:供试的 44 个瓠瓜品种及 3 个同属种类的 ITS 序列同源率为 82.4% ~ 100.0%, 遗传分歧为 0.0 ~ 19.6。其中,产自日本的品种‘长葫 1 号’与国产品种‘砧木 2’和产自日本的品种‘长葫 3 号’的同源率分别为 92.3% 与 91.3%;与其他品种或种类的同源率也很低,为 83.0% ~ 84.7%,与产自法国的品种‘白花瓠瓜’的同源率最低(仅 83.0%)。而另一个产自日本的品种‘长葫 3 号’与国产品种‘砧木 2’的同源率高达 97.9%,与其他品种或种类(除品种‘长葫 1 号’外)同源率为 82.4% ~ 85.0%,其中与产自法国的品种‘白花瓠瓜’的同源率最低。国产品种‘小籽葫芦砧木’、‘砧木 8’、‘玉农启福’、‘春晓 2 号’、‘利降油绿’、‘汕头瓠’、‘大籽葫芦’、‘小籽葫芦’、‘8 号瓠瓜’、‘中引 28’、‘青长葫’、‘超丰新生’与产自几内亚的 *L. guineensis* 和产自贝宁的品种‘Atangoue’的同源率均为 100.0%。

国产品种‘砧木 10’、‘超早生’、‘金钗头 3’、‘超长遂 2’、‘早春 2 号’、‘绿龙福州芋瓠’、‘西瓜砧木 3’、‘绿如意’、‘益家短身’、‘油青二号短瓠’、‘绿美人’、‘杂交瓠瓜’与‘短柄芦 2’的 ITS 序列也完全一致,同源率为 100.0%。

#### 2.4 基于 ITS 序列变异的瓠瓜品种的遗传关系分析

利用 DNASTar 软件中的 MegAlign 程序,基于 ITS 序列的比对结果构建供试 44 个瓠瓜品种和 3 个同属种类的系统树,结果见图 3。47 个样本可分为 2 个分支 5 个亚组。第 1 分支包括国产品种‘砧木 2’与产自日本的品种‘长葫 1 号’和‘长葫 3 号’,其中‘长葫 1 号’单独聚为第 1 亚组,‘砧木 2’与‘长葫 3 号’聚为第 2 亚组,显示后二者亲缘关系更近。第 2 分支包括 3 个亚组:国产品种‘西瓜砧木 1’和来源于法国的

品种‘白花瓠瓜’分别单独聚为第 1 和第 2 亚组;其他 42 个品种(包括剩余的 36 个国产品种与产自泰国、几内亚、加纳和贝宁的 3 个品种和 3 个同属种类)聚为第 3 亚组,其中产自加纳的同属种类 *Lagenaria breviflora* 和品种‘白花瓠瓜’与产自几内亚的同属种类 *L. rufa* 聚为第 1 小分支,国产品种‘遂 1’、‘青圆有柄’与‘京欣砧霸’聚为第 2 小分支,其余 29 个品种及产自几内亚的同属种类 *L. guineensis* 聚为第 3 小分支。

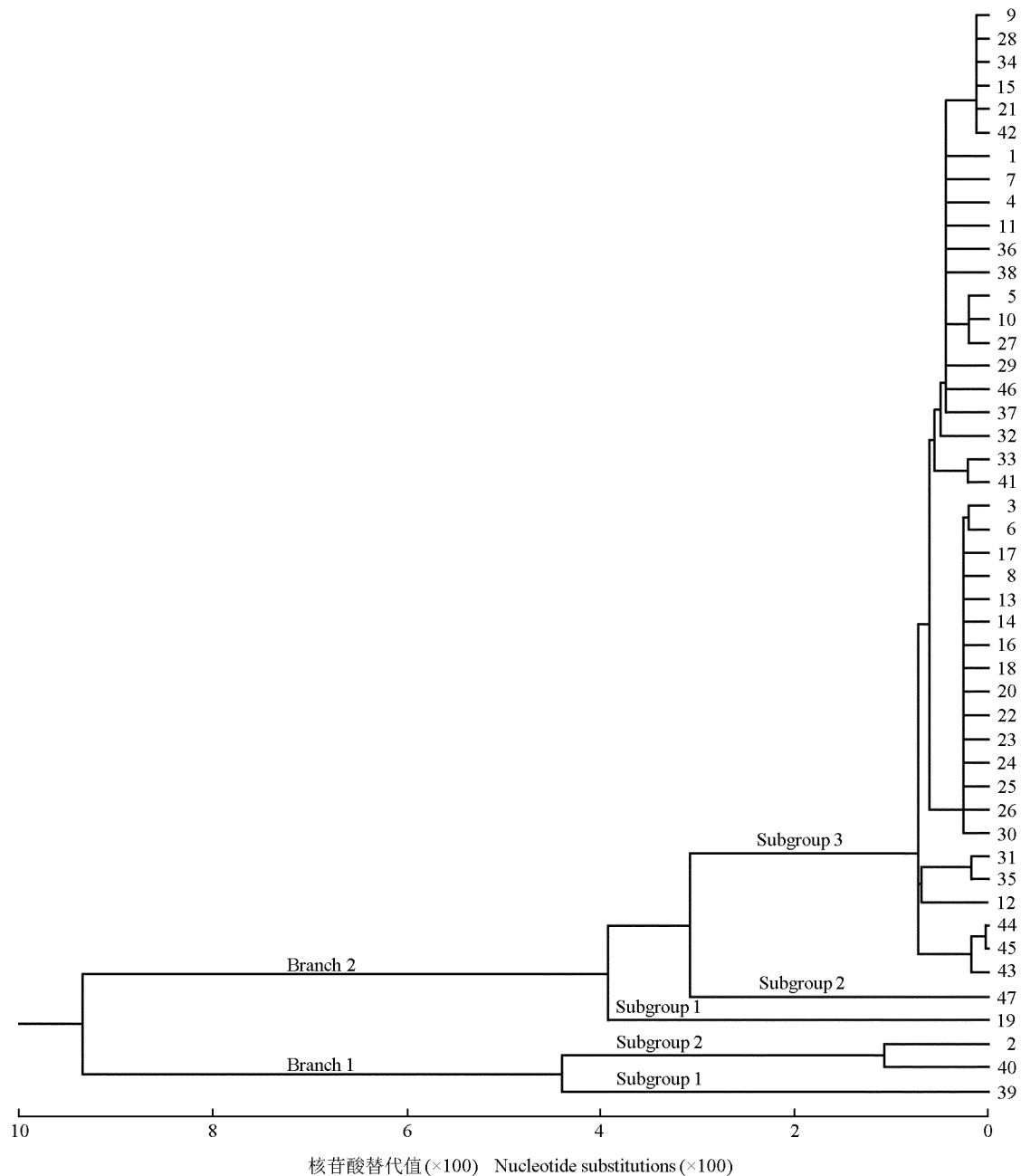
由图 3 还可见:国产品种‘春晓 2 号’、‘特大籽葫芦’、‘8 号瓠瓜’、‘汕头瓠’和‘西瓜砧木 4’与产自几内亚的同属种类 *L. guineensis* 的亲缘关系最近。大多数国产品种与产自日本的品种遗传关系最远,与产自法国的品种较远,与产自非洲的样本(产自几内亚的同属种类 *L. rufa* 以及产自加纳的同属种类 *L. breviflora* 和品种‘白花瓠瓜’)较近;而来源于不同国家的样本中,产自几内亚的同属种类 *L. guineensis* 与产自贝宁的品种‘Atangoue’遗传关系最近。

基于 ITS 序列的比对结果构建国产 38 个瓠瓜品种的系统树,结果见图 4。根据图 4,国产 38 个瓠瓜品种分为 3 个分支,品种‘砧木 2’和‘西瓜砧木 1’分别单独聚为第 1 和第 2 分支,其余 36 个品种聚为第 3 分支。第 3 分支还可分为 4 个亚组:品种‘京欣砧霸’与品种‘青圆有柄’分别为第 1 和第 2 亚组;品种‘超早生’、‘金钗头 3’、‘超长遂 2’、‘绿如意’、‘益家短身’、‘油青二号短瓠’、‘绿美人’、‘杂交瓠瓜’、‘砧木 3’、‘砧木 10’、‘港研甜芋瓠’、‘短柄芦 2’、‘绿龙福州芋瓠’、‘早春 2 号’以及‘西瓜砧木 3’15 个品种为第 3 亚组;其余 19 个品种为第 4 亚组。

### 3 讨论和结论

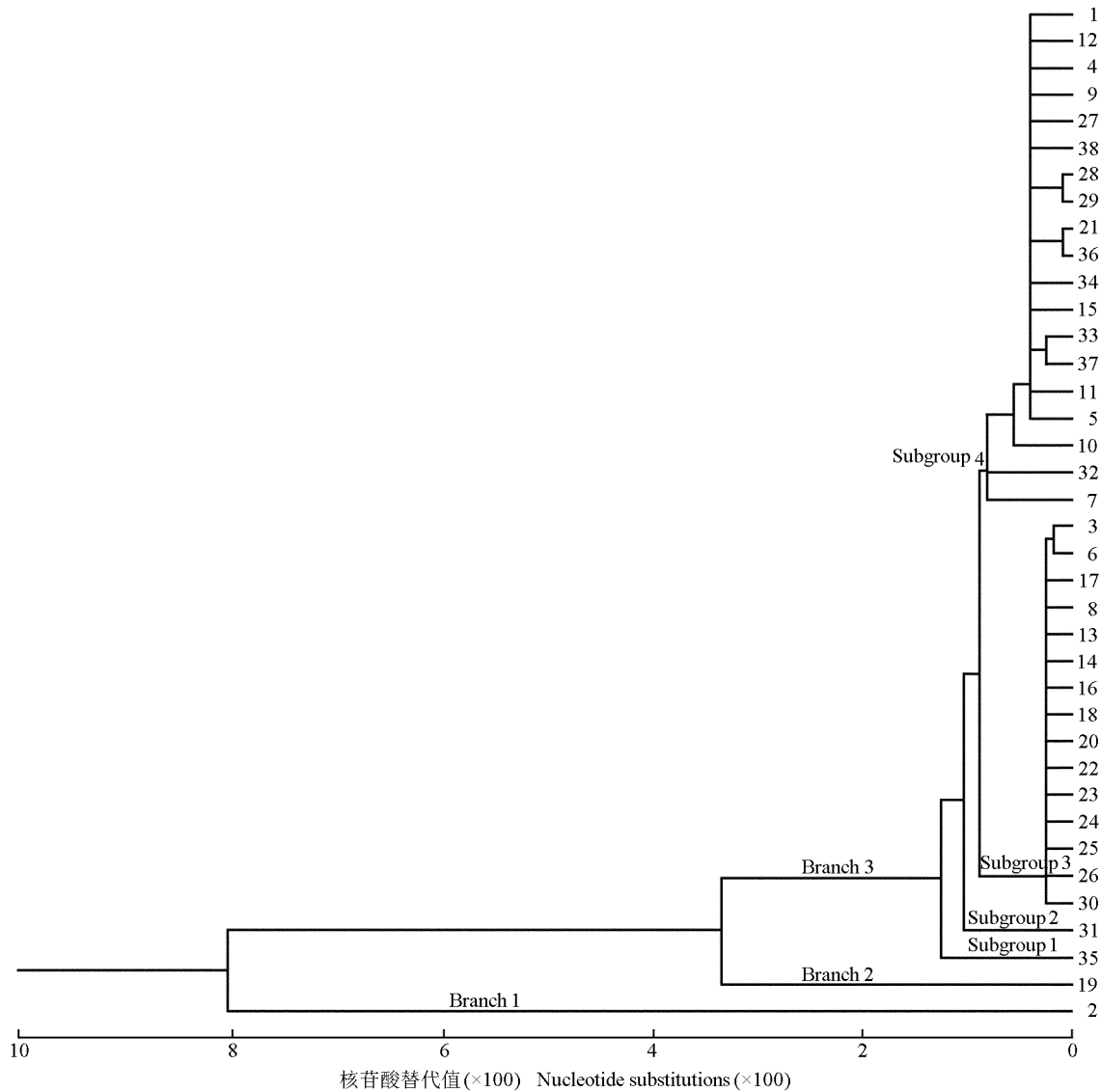
植物在长期的迁移和演化过程中为了适应不同地域的生态环境形成了不同的地理生态类群,这些生态类群间具有明显的遗传分化,因此,植物的遗传多样性研究是作物育种过程中重要的环节之一,通过对品种间遗传关系的分析可以有效进行亲本选配和保护特殊种质。ITS 序列的长度较保守,但其序列变异速率较快,可以提供较丰富的变异位点和信息位点,是许多被子植物类群系统与进化研究的重要分子标记,广泛应用于解决科、亚科、族、属、组等不同等级类群的系统发育和分类问题,在农作物近缘种及品种的





1. 小籽葫芦砧木 Xiaozihuluzhenmu; 2. 砧木2 Zhenmu No. 2; 3. 砧木3 Zhenmu No. 3; 4. 砧木8 Zhenmu No. 8; 5. 玉农启福 Yunongqifu; 6. 砧木10 Zhenmu No. 10; 7. 汉龙碧玉 Hanlongbiyu; 8. 超早生 Chaozaosheng; 9. 春晓2号 Chunxiao No. 2; 10. 石滩仙村 Shitanxiancun; 11. 利降油绿 Lijiangyoulv; 12. 遂1 Sui No. 1; 13. 金钗头3 Jinchaitou No. 3; 14. 超长遂2 Chaochangshui No. 2; 15. 汕头瓠 Shantouhu; 16. 早春2号 Zaochun No. 2; 17. 港研甜芋瓠 Gangyantianyuhu; 18. 绿龙福州芋瓠 Lvlongfuzhouyuhu; 19. 西瓜砧木1 Xiguazhenmu No. 1; 20. 西瓜砧木3 Xiguazhenmu No. 3; 21. 西瓜砧木4 Xiguazhenmu No. 4; 22. 绿如意 Lvruyi; 23. 益家短身 Yijiaduanshen; 24. 油青二号短瓠 Youqing No. 2 duanhu; 25. 绿美人 Lvmeiren; 26. 杂交瓠瓜 Hybrid bottle gourd; 27. 大籽葫芦 Dazihulu; 28. 特大籽葫芦 Tedazihulu; 29. 小籽葫芦 Xiaozihulu; 30. 短柄芦2 Duanbinglu No. 2; 31. 青圆有柄 Qingyuanyoubing; 32. 花长葫 Huachanghu; 33. 10号砧木 Zhenmu No. 10; 34. 8号瓠瓜 Hugua No. 8; 35. 京欣砧霸 Jingxinzhenba; 36. 中引28 Zhongyin No. 28; 37. 青长葫 Qingchanghu; 38. 超丰新生 Chaofengxinsheng; 39. 长葫1号 Changhu No. 1; 40. 长葫3号 Changhu No. 3; 41. 19号砧木 Zhenmu No. 19; 42. *Lagenaria guineensis* (G. Don) C. Jeffrey; 43. *Lagenaria rufa* (Gilg) C. Jeffrey; 44. *Lagenaria breviflora* (Benth.) Roberty; 45. 白花瓠瓜 White-flowered gourd; 46. Atangoue; 47. 白花瓠瓜 White-flowered gourd.

图3 基于ITS序列比对结果的44个瓠瓜品种及3个同属种类的系统进化树  
Fig. 3 Phylogenetic tree of 44 cultivars of *Lagenaria siceraria* (Molina) Standl. and 3 species in the same genus based on comparison result of ITS sequence



1. 小籽葫芦砧木 Xiaozihuluzhenmu; 2. 砧木 2 Zhenmu No. 2; 3. 砧木 3 Zhenmu No. 3; 4. 砧木 8 Zhenmu No. 8; 5. 玉农启福 Yunongqifu; 6. 砧木 10 Zhenmu No. 10; 7. 汉龙碧玉 Hanlongbiyu; 8. 超早生 Chaozaosheng; 9. 春晓 2 号 Chunxiao No. 2; 10. 石滩仙村 Shitanxiancun; 11. 利降油绿 Lijiangyoulv; 12. 遂 1 Sui No. 1; 13. 金钗头 3 Jinchaitou No. 3; 14. 超长遂 2 Chaochangsu 2; 15. 汕头瓠 Shantouhu; 16. 早春 2 号 Zaochun No. 2; 17. 港研甜芋瓠 Gangyantianyuhu; 18. 绿龙福州芋瓠 Lvlongfuzhouyuhu; 19. 西瓜砧木 1 Xiguazhenmu No. 1; 20. 西瓜砧木 3 Xiguazhenmu No. 3; 21. 西瓜砧木 4 Xiguazhenmu No. 4; 22. 绿如意 Lvruyi; 23. 益家短身 Yijiaduanshen; 24. 油青二号短瓠 Youqing No. 2 duanhu; 25. 绿美人 Lvmeiren; 26. 杂交瓠瓜 Hybrid bottle gourd; 27. 大籽葫芦 Dazihulu; 28. 特大籽葫芦 Tedazihulu; 29. 小籽葫芦 Xiaozihulu; 30. 短柄芦 2 Duanbinglu No. 2; 31. 青圆有柄 Qingyanyoubing; 32. 花长葫 Huachanghu; 33. 10 号砧木 Zhenmu No. 10; 34. 8 号瓠瓜 Hugua No. 8; 35. 京欣砧霸 Jingxinzhenba; 36. 中引 28 Zhongyin No. 28; 37. 青长葫 Qingchanghu; 38. 超丰新生 Chaofengxinsheng.

图 4 基于 ITS 序列比对结果的国产 38 个瓠瓜品种的系统进化树  
 Fig. 4 Phylogenetic tree of 38 cultivars of *Lagenaria siceraria* (Molina) Standl. in China based on comparison result of ITS sequence

亲缘关系分析中也有较为广泛的应用,如番茄属 (*Lycopersicon* Mill.) 野生种与栽培种的亲缘关系分析<sup>[25]</sup>、核果类果树的进化与系统发育研究<sup>[26]</sup>、南瓜属 (*Cucurbita* Linn.) 植物系统发育关系研究<sup>[27]</sup>、甘蔗 (*Saccharum officinarum* Linn.) 近缘属种系统进化关系

探讨<sup>[28]</sup>等。本研究结果显示:国产不同瓠瓜品种具有一定地理分化特性。在系统进化树上,产自山东的品种‘砧木 2’与产自河南的品种‘西瓜砧木 1’分别单独聚为第 1 和第 2 分支;其他品种聚为第 3 分支,而第 3 分支又分为 4 个亚组:产自北京的品种‘京欣砧

霸’和产自福建的品种‘青圆有柄’独立为第1和第2亚组,产自广东的大部分品种与产自福建和香港的品种(南方地区)聚为第3亚组,而产自河南的大部分品种与产自山西、山东、北京、江西和湖北(北方地区)以及产自广东的少部分品种聚为第4亚组,说明瓠瓜品种在北方地区与南方地区存在一定差异。来源于山东、河南和北京的瓠瓜品种分布在系统进化树上的多个分支和亚组中,说明这些地区的瓠瓜品种遗传多样性变异丰富;而来源于湖北和广东的瓠瓜品种分布在系统进化树第3分支的第3和第4亚组中,表明这些品种的遗传变异也较为丰富,可能与这些地区瓠瓜种质资源交流频繁有关。瓠瓜种质资源遗传多样性的 ISSR<sup>[8]</sup>、RAPD<sup>[9]</sup>及 EST-SSR<sup>[11]</sup>分子标记研究结果表明:瓠瓜品种的农艺性状和地理分布与分子标记存在一定的相关性,江浙地区长线形、早熟类型的瓠瓜品种和福建地区的瓠瓜品种在瓜型和熟性上存在明显差异,分属于2个不同的品种群;来源于湖北的瓠瓜品种遗传多样性较丰富,在2个不同的品种群均有分布,这一现象与本研究结果相似,表明瓠瓜品种资源的遗传变异与其地理分化存在相关性。

屈良鸽等<sup>[29]</sup>认为:被子植物大多数科属 ITS 序列的种间差异值仅为 1.2% ~ 10.2%。在本研究中,国产大多数瓠瓜品种与来源于日本的瓠瓜品种亲缘关系最远,与来源于泰国的品种‘19号砧木’亲缘关系最近。周先治等<sup>[10]</sup>的研究结果也表明:国产瓠瓜品种与产自泰国的瓠瓜品种亲缘关系较近,而与产自日本的品种亲缘关系较远,说明地理分化是瓠瓜种质资源遗传进化的重要影响因子之一。而前人报道<sup>[1-4]</sup>由于非洲和亚洲种植的瓠瓜在形态上和基因上存在明显差异,因而可分为2个亚种。本研究中,国产瓠瓜品种与产自非洲的种类 *L. guineensis* 和品种‘Atangouse’亲缘关系最近,说明国内各地种植的瓠瓜品种可能均起源于非洲,也可能由于种质资源的频繁交流引起了品种间遗传进化相近的现象。虽然中日两国都有悠久的瓠瓜种植历史,但由于存在地理隔离以及人工育种选择目标不同和气候差异等因素,导致供试的国产瓠瓜品种与来源于日本的瓠瓜品种间存在一定的遗传差异。但国产品种‘西瓜砧木1’单独聚为1个亚组,并与来源于法国的品种亲缘关系较近;而产自日本的品种‘长葫1号’和‘长葫3号’与国产品种‘砧木2’聚在同一分支中,说明它们之间具有较近的遗传关系,表明随着经贸的扩大与频繁交往,

中国与其他国家间频繁的种质交换可使品种间亲缘关系趋近;另外,也从另一方面说明了瓠瓜品种存在明显的地域分化,具有丰富的遗传多样性。由于本研究涉及的瓠瓜品种及产地以及同属近缘种存在一定的局限性,因而,有关瓠瓜品种及近缘种间系统发育及地理分化关系的研究还有待进一步完善。

#### 参考文献:

- [1] HEISER C B. Variation in the bottle gourd [M] // MEGGERS B J, AYENSU E S, DUCKWORTH W D. Tropical Forest Ecosystems in Africa and South America: A Comparative Review. Washington D C: Smithsonian Institution Press, 1973: 121-128.
- [2] HEISER C B. The Gourd Book [M]. Norman: University of Oklahoma Press, 1979.
- [3] DECKER-WALTERS D S. Cucurbits, Sanskrit, and the Indo-Aryans [J]. Economic Botany, 1999, 53: 98-112.
- [4] DECKER-WALTERS D S, WILKINS-ELLERT M, CHUNG S M, et al. Discovery and genetic assessment of wild bottle gourd (*Lagenaria siceraria* (Mol.) Standley; Cucurbitaceae) from Zimbabwe [J]. Economic Botany, 2004, 58: 501-508.
- [5] DECKER-WALTERS D, STAUB J, LÓPEZ-SESÉ A, et al. Diversity in landraces and cultivars of bottle gourd (*Lagenaria siceraria*; Cucurbitaceae) as assessed by random amplified polymorphic DNA [J]. Genetic Resources and Crop Evolution, 2001, 48: 369-380.
- [6] MORIMOTO Y, MAUNDU P, KAWASE M, et al. RAPD polymorphism of the white-flowered gourd [*Lagenaria siceraria* (Molina) Standl.] landraces and its wild relatives in Kenya [J]. Genetic Resources and Crop Evolution, 2006, 53: 963-974.
- [7] CLARKE A C, BURTENSHAW M K, McLENACHAN P A, et al. Reconstructing the origins and dispersal of the Polynesian bottle gourd (*Lagenaria siceraria*) [J]. Molecular Biology and Evolution, 2006, 23: 893-900.
- [8] 高山, 许端祥, 林碧英, 等. 38份瓠瓜种质资源遗传多样性的 ISSR 分析 [J]. 植物遗传资源学报, 2007, 8(4): 396-400.
- [9] 高山, 许端祥, 林碧英, 等. 瓠瓜种质资源遗传多样性的 RAPD 分析 [J]. 分子植物育种, 2007, 5(4): 502-506.
- [10] 周先治, 陈阳, 陈晟, 等. 基于 5.8S rDNA 和 ITS 序列探讨亚洲瓠瓜的地理分化 [J]. 中国蔬菜, 2011(6): 49-53.
- [11] XU P, WU X H, LUO J, et al. Partial sequencing of the bottle gourd genome reveals markers useful for phylogenetic analysis and breeding [J]. BMC Genomics, 2011, 12: 467.
- [12] 汪小全, 洪德元. 植物分子系统学近五年的研究进展概况 [J]. 植物分类学报, 1997, 35(5): 465-480.
- [13] 马玉花, 杨吉安, 贾万忠, 等. 中国不同地区杜仲 rDNA 的 ITS 序列分析 [J]. 西北林学院学报, 2004, 19(4): 16-19.
- [14] 赵志礼, 徐珞珊, 董辉, 等. 核糖体 DNA ITS 区序列在植物分子系统学研究中的价值 [J]. 植物资源与环境学报, 2000, 9(2): 50-54.
- [15] SANG T, CRAWFORD D J, STUESSY T F. Documentation of

- reticulate evolution in peonies (*Paeonia*) using internal transcribed spacer sequences of nuclear ribosomal DNA: implications for biogeography and concerted evolution [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1995, 92: 6813–6817.
- [16] BALDWIN B G, SANDERSON M J, MARK PORTER J, et al. The ITS region of nuclear ribosomal DNA: a valuable source of evidence on angiosperm phylogeny [J]. Annals of the Missouri Botanical Garden, 1995, 82: 247–277.
- [17] CAMPBELL C S, DONOGHUE M J, BALDWIN B G, et al. Phylogenetic relationships in Maloideae (Rosaceae): evidence from sequences of internal transcribed spacers of nuclear ribosomal DNA and its congruence with morphology [J]. American Journal of Botany, 1995, 82: 903–918.
- [18] 田欣,李德铎. DNA 序列在植物系统学研究中的应用[J]. 云南植物研究, 2002, 24(2): 170–184.
- [19] 黄晨阳,陈强,邓旺秋,等. 中国栽培白灵菇学名的订正[J]. 植物遗传资源学报, 2011, 12(5): 825–827.
- [20] DOYLE J J, DOYLE J L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf material[J]. Phytochemical Bulletin, 1987, 19: 11–15.
- [21] WHITE T J, BRUNS T, LEE S, et al. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics[M]// INNIS M A, GELFAND D H, SNINSKY J J, et al. PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications. New York: Academic Press, 1990: 315–322.
- [22] HALL T A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT[J]. Nuclear Acids Symposium Series, 1999, 41: 95–98.
- [23] THOMPSON J D, HIGGINS D G, GIBSON T J. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, positions specific gap penalties and weight matrix choice [J]. Nucleic Acids Research, 1994, 22: 4673–4680.
- [24] THOMPSON J D, GIBSON T J, PLEWNIAC F, et al. The Clustal\_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools [J]. Nucleic Acids Research, 1997, 25: 4876–4882.
- [25] 蒋向辉,余朝文,许栋,等. ITS 序列在西红柿种质资源鉴定中的应用研究[J]. 中国农学通报, 2010, 26(5): 63–67.
- [26] 王化坤,陶建敏,渠慎春,等. 核果类果树 ITS 序列分子进化及系统发育关系研究[J]. 园艺学报, 2010, 37(3): 363–374.
- [27] 吴宇芬,周先治,陈晟,等. 基于 ITS 序列探讨南瓜属植物系统发育[J]. 福建农业学报, 2010, 25(2): 170–175.
- [28] 刘新龙,苏火生,马丽,等. 基于 rDNA-ITS 序列探讨甘蔗近缘属种的系统进化关系[J]. 作物学报, 2010, 36(11): 1853–1863.
- [29] 屈良鸽,陈月琴. 生物分子分类检索表——原理与方法[J]. 中山大学学报:自然科学版, 1999, 38(1): 1–6.

(责任编辑:张明霞)

## 2015 年《林产化学与工业》征订启事

《林产化学与工业》由中国林业科学研究院林产化学工业研究所、中国林学会林产化学化工分会共同主办,为全国林产化工行业的学术类期刊。报道范围:可再生的木质和非木质生物质资源的化学加工与利用,包括生物质能源、生物质化学品、生物质新材料、生物质天然活性成分和制浆造纸等,主要包括松脂化学、生物质能源化学、生物质炭材料、生物基功能高分子材料、胶黏剂化学、森林植物资源提取物化学利用、环境保护工程、木材制浆造纸为主的林纸一体化和林产化学工业设备研究设计等方面的最新研究成果。

本刊现被 EI、CA、Scopus、Ulrich's、CAB Abstracts、英国《全球健康》、RSC、PKJ 等收录;为中国科学引文数据库核心期刊、

中文核心期刊、中国科技核心期刊、RCCSE 中国核心学术期刊(A)和中国农业核心期刊,并被中国期刊全文数据库、中国学术期刊综合评价数据库、万方数据——数字化期刊群、中文科技期刊数据库、中国核心期刊(遴选)数据库和《中国学术期刊文摘》等收录;2008 年和 2011 年被评为“中国精品科技期刊”。

双月刊,大 16 开本,国内外公开发行。国内邮发代号 28–59,每期定价 15.00 元;国外发行代号 Q5941,每期定价 15.00 美元。地址:江苏省南京市锁金五村 16 号 林化所内(邮编 210042);电话及传真:025–85482493;E-mail: cifp@vip.163.com;网址: http://www.cifp.ac.cn。