

节瓜及近缘葫芦科作物种质资源 rDNA-ITS 序列分析与系统进化研究

赵 芹¹, 谢大森¹, 何晓明¹, 陈仁芳², 彭庆务¹, 罗少波¹

(¹广东省农业科学院蔬菜研究所, 广州 510640; ²西南大学生物技术学院/农业部蚕桑学重点开放实验室, 重庆 400715)

摘要:通过 PCR 扩增获得了 56 份节瓜种质资源及 7 份相关瓜类种质资源的 rDNA-ITS 序列, 测序后结合 GenBank 中 34 份葫芦科作物的 ITS 序列, 利用生物信息学软件分析序列长度、变异位点、G + C 含量、遗传分歧、同源性百分比差异、系统进化关系。节瓜种质资源 ITS 基本序列全长 612~617 bp, G + C 含量 59.97%~61.07%, 供试材料间共 96 个变异位点, 其中一些变异位点有明显的种性特征, 可作为特异 DNA 指纹鉴别位点。基于 ITS 序列差异, 56 份节瓜材料聚为 5 大类, 其中 12-2-3 材料为单独一个分支, 黑毛节瓜 H2251 为第二分支, H5FA 为第三分支, 剩余节瓜材料聚为第四、五分支。节瓜材料 12-2-3 与其他材料遗传分歧最大, 农艺性状与抗性也差异较大, 可用作节瓜杂交育种的亲本以扩大选择范围。节瓜的系统位置排列在 *Indomelothria blumei* (GU799496) 与 *Dactyliandra welwitschii* (HQ201973) 之间, 与 *Indomelothria blumei* 亲缘关系最近; MrBayes 软件分析表明, 葫芦科作物 *Zehneria thwaitesii* (AM981145)、*Ctenolepis cerasiformis* (AM981142)、*Cucumis melo* (AM36377)、*Dactyliandra welwitschii* (HQ201973)、*Trochomeria macrocarpa* (AM981141) 最原始, 系统进化顺序为甜瓜→南瓜、栝楼、苦瓜、丝瓜、西瓜、蒲瓜→冬瓜、节瓜→黄瓜。本研究通过分析节瓜及近缘葫芦科作物种质资源的 ITS 序列, 为其系统进化、DNA 指纹鉴别、育种亲本选择及比较组学分析等提供了分子生物学依据。

关键词:节瓜; 葫芦科作物; 种质资源; rDNA-ITS; 序列分析; 系统进化

Analysis on the Internal Transcribed Spacers (ITS) Sequences and Phylogenetics of Chieh-qua and its Affinis Cucurbitaceae Germplasm Resources

ZHAO Qin¹, XIE Da-sen¹, HE Xiao-ming¹, CHEN Ren-fang², PENG Qing-wu¹, LUO Shao-bo¹

(¹Vegetable Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640;

²Key Sericultural Laboratory of Ministry of Agriculture/College of Biotechnology, Southwest University, Chongqing 400715)

Abstract: 56 chieh-qua and 7 other cucurbits germplasm resources were collected from south China, subsequently rDNA-ITS amplification and sequencing were performed. Combining ITS sequences of several cucurbitaceous plants downloaded from GenBank, the lengths, variable sites, G + C content, genetic divergences, homologies, phylogenetics, and system position were analyzed by bioinformatic softwares. ITS complete sequences of chieh-qua and its affinis cucurbitaceae germplasm resources were obtained. The full-length of chieh-qua ITS was 612–617 bp, G + C content were 59.97%–61.07%. The sequence alignment results showed that there were 94 variable sites (ITS1:47, ITS2:40, 5.8S:7) among chieh-qua germplasm resources, some of which had significant species-specific characteristics and could be used as DNA fingerprint marker. 56 chieh-qua germplasm materials were clustered into 3 groups based on ITS sequences variance, 12-2-3 was ranked into the first branch, 'Heimaojiegua H2251' and 'H5FA' were classified into the second and third branch respectively, and the rest materials were grouped into the fourth and fifth group. Compared with the other cultivated species, the genetic divergence of chieh-

收稿日期: 2013-11-17 修回日期: 2014-03-17 网络出版日期: 2014-08-07

URL:

基金项目: 国家自然科学基金青年基金(31311643); 广东省自然科学基金博士启动基金(10451064001006063); 广东省农业科学院院长基金(201007)

第一作者研究方向为蔬菜遗传育种与分子生物技术。E-mail: zhaqin0802@126.com

qua material 12-2-3 was the biggest ranging from 3.3 to 4.6, and there are large differences on agronomic traits and resistance between 12-2-3 and others, leading to be used as crossbreeding parent. The system position of chieh-qua was between *Indomelothria blumei* (GU799496) and *Dactyliandra welwitschii* (HQ201973), and had the closest relationship with *Indomelothria blumei*. Mrbayes software analysis showed that *Zehneria thwaitesii* (AM981145), *Ctenolepis cerasiformis* (AM981142), *Cucumis melo* (AM36377), *Dactyliandra welwitschii* (HQ20 1973), *Trochomeria macrocarpa* (AM981141) were the most primordial species, the system evolution order was *Cucumis melo* (AM36377) → *Cucurbita moschata*, *Trichosanthes yunnanensis*, *Momordica charantia*, *Luffa aegyptiaca*, *Citrullus lanatus* (FJ915098), *Lagenaria siceraria* → *Benincasa hispida*, *Benincasa hispida* var. *chieh-qua* → *Cucumis sativus*. The phylogeny of chieh-qua and its affinis cucurbitaceae germplasm resources was investigated by using ITS sequences and it would provide useful information for their breeding, germplasm DNA fingerprint identification, classification and evolution and comparative analysis, etc.

Key words: chieh-qua; cucurbitaceous crops; germplasm resources; rDNA-ITS; sequence analysis; phyletic evolution

节瓜 (*Benincasa hispida* Cogn. var. *chieh-qua* How) 又名毛瓜, 为冬瓜属变种, 是华南重要的特色蔬菜, 主要分布于广东、广西、海南等地, 类型品种丰富。节瓜隶属的葫芦科 (Cucurbitaceae) 是世界上最重要的食用植物科之一, 包括 113 个属 800 个种, 大部分分布于热带地区, 我国有 32 属 154 种 35 变种, 主要分布于西南部 and 南部。我国对节瓜种质资源研究甚少, 基于分子水平的遗传多样性分析鲜有报道。李文嘉^[1]对 27 份节瓜种质资源的成熟期、丰产性、瓜形、抗病性和单瓜重等农艺性状进行了分析, 筛选出 6 份优良种质并培育出新品种; 宋世威等^[2]利用 RAPD 标记对 41 份冬瓜和节瓜种质资源进行了遗传多样性分析, 将供试材料分为 6 大类群 10 个亚类。由于节瓜种质同名异物或同物异名现象非常普遍, 仅利用生物学性状进行区分和鉴定有较大难度; 利用 RAPD 标记进行节瓜遗传多样性分析, 重复性较差, 且多态性水平较低, 限制了该标记的有效利用, 且研究材料类型与数量不足, 代表面较窄, 研究结论具有一定局限性。葫芦科瓜类品种资源十分丰富, 在形态性状等^[3]传统分类基础上, 采用 RAPD、ISSR、SRAP、SSR 等分子标记方法对甜瓜^[4]、黄瓜^[5]、西瓜^[6]等作物进行了分类鉴定和系统学研究, 而利用核糖体内转录间隔区序列 (ITS, internal transcribed spacer) 分析种质资源多样性, 为葫芦科植物分子鉴定研究提供了新的方法。目前黄瓜、西瓜及甜瓜全基因组测序工作已经基本完成, 且可利用高密度饱和遗传连锁图谱将基因组序列锚定到染色体具体位置并确定其在染色体上的方向^[7]; 而节瓜作为冬瓜一个变种, 与其他葫芦科作物的亲缘关系及系统进化顺序尚

未确定, 进一步远缘杂交应用与比较组学分析尚待研究。

ITS 具有进化速率快、片段长度小、片段在不同重复单元间一致性高^[8]等优点, 近年来被广泛应用于分析较低分类单元层次上的植物系统发育问题^[9-10], 包括近缘属间与属下种间的关系^[11-12]甚至种下居群间的关系^[13]。本研究室通过 20 多年节瓜资源的考察积累, 收集了上百份种质, 针对其中 56 份国内不同来源、不同类型种质资源及 7 份其他瓜类材料, 进行 PCR 扩增及 ITS 序列测序分析, 并结合从 GenBank 下载的 34 份葫芦科作物 ITS 序列, 分析序列长度、G + C 含量及其变异、同源性和遗传分歧, 探讨节瓜及其他葫芦科作物种质资源的系统进化关系, 对于节瓜种质的指纹鉴别、亲缘关系分析、育种亲本选择及比较组学分析均具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 材料

56 份供试节瓜材料收集于广东、广西等地, 部分材料为本研究室杂交转育或离体筛选所得, 其他葫芦科材料 (黄瓜、南瓜、苦瓜、丝瓜、瓠瓜、冬瓜与栝楼) 有 7 份为本研究室收集所得 (表 1); 材料种子均于 2011 年 3 月在广东省农科院蔬菜所温室内播种, 待幼苗长至 2 ~ 3 片真叶时, 采集叶片保存于 -70 °C 冰箱备用。克隆宿主菌为大肠杆菌 DH5 α , 克隆载体为 pMD 18-T Vector (购自 TaKaRa 公司), 纯化试剂盒、Taq DNA 聚合酶和 DNA marker 均购自中晶生物工程有限公司。

表 1 节瓜与其他葫芦科种质材料的来源

Table 1 Sources of chieh-qua and other cucurbit materials

编号 Code	材料类型 Materialtype	种质名称 Specimen name	采集地 Source	拉丁名 Latin name
1	节瓜 chieh-qua	A133-1	广东	<i>B. hispida</i> var. <i>chieh-qua</i> How.
2		A147-1	广东	<i>B. hispida</i> var. <i>chieh-qua</i> How.
3		A102-1	广东	<i>B. hispida</i> var. <i>chieh-qua</i> How.
4		A39-CK	广东	<i>B. hispida</i> var. <i>chieh-qua</i> How.
5		A09FA-2	广东	<i>B. hispida</i> var. <i>chieh-qua</i> How.
6		H2251	广东	<i>B. hispida</i> var. <i>chieh-qua</i> How.
7		A82-1	广东	<i>B. hispida</i> var. <i>chieh-qua</i> How.
8		A111-1	广东	<i>B. hispida</i> var. <i>chieh-qua</i> How.
9		P15-1-1	广东	<i>B. hispida</i> var. <i>chieh-qua</i> How.
10		A90-1	广东	<i>B. hispida</i> var. <i>chieh-qua</i> How.
11		A144-1	广东	<i>B. hispida</i> var. <i>chieh-qua</i> How.
12		A39FA	广东	<i>B. hispida</i> var. <i>chieh-qua</i> How.
13		H5FA	广东	<i>B. hispida</i> var. <i>chieh-qua</i> How.
14		A142-1	广东	<i>B. hispida</i> var. <i>chieh-qua</i> How.
15		H2252	广东	<i>B. hispida</i> var. <i>chieh-qua</i> How.
16		SY3	广东	<i>B. hispida</i> var. <i>chieh-qua</i> How.
17		P9-2	广东	<i>B. hispida</i> var. <i>chieh-qua</i> How.
18		g1-1	广东	<i>B. hispida</i> var. <i>chieh-qua</i> How.
19		D25-6	广东	<i>B. hispida</i> var. <i>chieh-qua</i> How.
20		4-3-1A × 25	广东	<i>B. hispida</i> var. <i>chieh-qua</i> How.
21		5-1-1-3	广东	<i>B. hispida</i> var. <i>chieh-qua</i> How.
22		7-26-2	广东	<i>B. hispida</i> var. <i>chieh-qua</i> How.
23		D003 × 25	广东	<i>B. hispida</i> var. <i>chieh-qua</i> How.
24		3-2 3-d-1-3	广东	<i>B. hispida</i> var. <i>chieh-qua</i> How.
25		冠华 5 号	广东	<i>B. hispida</i> var. <i>chieh-qua</i> How.
26		3-01-1-2	广东	<i>B. hispida</i> var. <i>chieh-qua</i> How.
27		12-2-3	广东	<i>B. hispida</i> var. <i>chieh-qua</i> How.
28		5-b-3 × g1-1	广东	<i>B. hispida</i> var. <i>chieh-qua</i> How.
29		L 小-2-1	广东	<i>B. hispida</i> var. <i>chieh-qua</i> How.
30		P15-1-1	广东	<i>B. hispida</i> var. <i>chieh-qua</i> How.
31		大籽 6-2	广东	<i>B. hispida</i> var. <i>chieh-qua</i> How.
32		g1-3-2	广东	<i>B. hispida</i> var. <i>chieh-qua</i> How.
33		A124-1	广东	<i>B. hispida</i> var. <i>chieh-qua</i> How.
34		H7-1	广东	<i>B. hispida</i> var. <i>chieh-qua</i> How.
35		A134 × 其他	广东	<i>B. hispida</i> var. <i>chieh-qua</i> How.
36		A125-2	广东	<i>B. hispida</i> var. <i>chieh-qua</i> How.
37		A154	广东	<i>B. hispida</i> var. <i>chieh-qua</i> How.
38		A160	广东	<i>B. hispida</i> var. <i>chieh-qua</i> How.
39		A115-3	广西	<i>B. hispida</i> var. <i>chieh-qua</i> How.
40		5H-1 × 17-2	广东	<i>B. hispida</i> var. <i>chieh-qua</i> How.
41		A95-1	广东	<i>B. hispida</i> var. <i>chieh-qua</i> How.
42		3(3)	广东	<i>B. hispida</i> var. <i>chieh-qua</i> How.
43		绿 3	广东	<i>B. hispida</i> var. <i>chieh-qua</i> How.
44		大 × 6	广东	<i>B. hispida</i> var. <i>chieh-qua</i> How.
45		天 1	广东	<i>B. hispida</i> var. <i>chieh-qua</i> How.
46		青 1	广东	<i>B. hispida</i> var. <i>chieh-qua</i> How.
47		A06-12P	广东	<i>B. hispida</i> var. <i>chieh-qua</i> How.
48		A123	广东	<i>B. hispida</i> var. <i>chieh-qua</i> How.
49		612FA	广东	<i>B. hispida</i> var. <i>chieh-qua</i> How.
50		A143	广东	<i>B. hispida</i> var. <i>chieh-qua</i> How.
51		A161	广东	<i>B. hispida</i> var. <i>chieh-qua</i> How.
52		A157	广东	<i>B. hispida</i> var. <i>chieh-qua</i> How.
53		A97-1	广东	<i>B. hispida</i> var. <i>chieh-qua</i> How.
54		A10FA	广西	<i>B. hispida</i> var. <i>chieh-qua</i> How.
55		LT3	广西	<i>B. hispida</i> var. <i>chieh-qua</i> How.
56		A06	广东	<i>B. hispida</i> var. <i>chieh-qua</i> How.

表 1(续)

编号 Code	材料类型 Material type	种质名称 Specimen name	采集地 Source	拉丁名 Latin name
57	西瓜 watermelon	FJ915098	福建	<i>Citrullus lanatus</i>
58		AM981142	马里	<i>Ctenolepis cerasiformis</i>
59	甜瓜 muskmelon	M36377	爱尔兰	<i>Cucumis melo</i>
60		Z48807	西班牙	<i>Cucumis myriocarpus</i>
61	冬瓜 wax gourd	B214	广东	<i>Benincasa hispida</i>
62		HQ201973	纳米比亚	<i>Dactyliandra welwitschii</i>
63 [#]	薯蓣 yam	DQ267930	江苏	<i>Dioscorea nipponica</i>
64		GQ183041	印度	<i>Diplocyclos palmatus</i>
65		JN560183	墨西哥	<i>Echinopepon paniculatus</i>
66		JN560187	哥斯达黎加	<i>Frantzia talamancensis</i>
67	黄瓜 cucumber	P19	广东	<i>Cucumis sativus</i>
68		GU799496	泰国	<i>Indomelothria. blumei</i>
69	苦瓜 bitter gourd	LCP90	广东	<i>Momordica charantia</i>
70		GU799500	哥斯达黎加	<i>Melothria scabra</i>
71		EF174484	中国	<i>Mukia javanica</i>
72	南瓜 pumpkin	81	广东	<i>Cucurbita moschata</i>
73	葫芦 bottle gourd	绿-1-2-新	广东	<i>Lagenaria siceraria</i>
74 [#]	露兜树 thatch pandanus	EU816709	比利时	<i>Pandanus tectorius</i>
75		AM981090	贝宁	<i>Peponium vogelii</i>
76		GU799502	哥伦比亚	<i>Posadaea sphaerocarpa</i>
77		GU799504	塞隆	<i>Ruthalicia eglandulosa</i>
78	丝瓜 luffa	05502	广东	<i>Luffa aegyptiaca</i>
79		JN560261	美国	<i>Sicyos pachycarpus</i>
80		JN560276	墨西哥	<i>Sicyosperma. gracile</i>
81		AM981141	布基纳法索	<i>Trochomeria. macrocarpa</i>
82	栝楼 gualou	GL	云南	<i>Trichosanthes yunnanensis</i>
83		AM981145	布基纳法索	<i>Zehneria. thwaitesii</i>
84	冬瓜 wax gourd	JX073041	广东	<i>B. hispida</i>
85		JX073045	广东	<i>B. hispida</i>
86		JX073049	广东	<i>B. hispida</i>
87		JX073052	广东	<i>B. hispida</i>
88		JX073055	广东	<i>B. hispida</i>
89		JX073058	广东	<i>B. hispida</i>
90		JX073062	广东	<i>B. hispida</i>
91		JX073066	广东	<i>B. hispida</i>
92		JX073070	广东	<i>B. hispida</i>
93		JX073073	广东	<i>B. hispida</i>
94		JX073075	广东	<i>B. hispida</i>
95		JX073078	广东	<i>B. hispida</i>
96		JX073081	广东	<i>B. hispida</i>
97		GQ183037	印度	<i>B. hispida</i>
98		FJ980302	北京	<i>B. hispida</i>

#设置为外类群材料;20、23、28、35、40、44 为杂交节瓜材料,5、12、13、49、54、55 为节瓜离体筛选材料;61、67、69、72、73、78、82 为采集的 7 份其他葫芦科材料;标示有登录号的为 GenBank 下载序列材料

designed as outgroup materials. 20、23、28、35、40、44 were hybrid chieh-qua materials,5、12、13、49、54、55 were screened chieh-qua materials in vivo with Fusaric acid 61、67、69、72、73、78、82 were 7 other curcubit plants collected;sequences of materials with GenBank accession numbers were loaded from GenBank

1.2 DNA 提取及质量检测

取冷冻保存的植物叶片 0.1 g, 采用改良 CTAB 法^[14]提取叶片总 DNA, 并利用 1% 琼脂糖凝胶电泳及紫外分光光度计 (GENEQUANT, Eppendorf, Germany) 检测 DNA 浓度与纯度, -20 °C 保存备用。

1.3 ITS 区的 PCR 扩增

根据 GenBank 提供的序列设计扩增引物, 由广州英骏生物工程有限公司合成扩增 ITS 序列的通用引物 ITS4: 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3' 和 ITS5: 5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3'^[15]。以 56 份节瓜及 7 份其他瓜类材料 (黄瓜、冬瓜、苦瓜、丝瓜、南瓜、蒲瓜及栝楼) 总 DNA 为模板进行 PCR 扩增, 反应体系为 25 μ L, 包括 2.5 μ L 10 $\times$ Exbuffer (含 $MgCl_2$)、1 U *ExTaq* DNA 聚合酶 (购自 TaKaRa 公司)、0.16 mmol/L dNTPs、0.4 μ mol/L 引物和 40 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, 共 35 个循环, 最后于 72 °C 延伸 10 min。采用 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物, 并利用 GeneGeniusBio Imaging System (Bio-Rad) 凝胶成像系统观察和拍照记录。

1.4 PCR 产物的纯化、克隆与测序

PCR 产物经凝胶回收试剂盒纯化回收后, 连接 pMD18-T 载体并转化至 DH5 α 感受态细胞内, 涂布在固体 LB (含 Amp) 培养基上, 37 °C 倒置培养过夜, 挑菌斑进行 PCR 检测, 鉴定正确后取 1 mL 菌液送至广州英骏生物技术有限公司进行测序。

1.5 目的片段序列测定及序列同源性分析

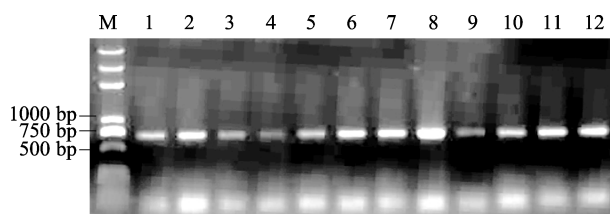
测序结果用 Bioedit 软件分析 ITS 序列范围, 除去两端非 ITS 序列部分, 用 NCBI BLAST 方法进行同源比对。利用 DNASTAR 软件分析各序列长度、G + C 含量、变异位点、同源性、遗传分歧, 构建遗传进化树。根据克隆获得的瓜类 ITS 序列及 GenBank 下载的部分葫芦科作物 ITS 序列, 用 PAUP Version 4.0 b10 软件进行 MP 分析, 确定以节瓜为代表的冬瓜属系统位置。用 Modeltest Version 3.06^[16] 和 PAUP Version 4.0 b10 软件进行碱基替换模型计算, 用 PAUP Version 4.0 b10 和 Mrbayes 软件分析系统进化关系。

2 结果与分析

2.1 ITS 区 PCR 扩增及测序

由引物 ITS4 和 ITS5 对 56 份节瓜样品及 7 份其他瓜类作物 rDNA-ITS 区 (包括部分 18S rDNA、ITS1、5.8S rDNA、ITS2 和部分 26S rDNA) 进行 PCR

扩增, 获得单一明亮特异条带, 略小于 750 bp (图 1), 与预期片段大小符合。PCR 产物回收后测序, 获得 63 份样品 ITS 序列。



M: DNA marker; 1 ~ 12: 节瓜样品

M: DNA marker, 1 ~ 12: Chieh-qua samples

图 1 部分节瓜样品 ITS 区 PCR 扩增结果

Fig. 1 PCR amplification result of ITS region from some chieh-qua samples

2.2 节瓜 ITS 序列长度、G + C 含量及其变异

所有样品序列包括部分 18S rDNA、ITS1、5.8S rDNA、ITS2 和部分 26S rDNA。根据 GenBank 公布的冬瓜 (*Benincasa hispida*, JX073079) 18S rRNA 基因 3' 端、26S rRNA 基因 5' 端、5.8S rRNA 基因碱基序列, 确定各材料 ITS 序列范围 (包括 ITS1、5.8S 和 ITS2)。软件分析表明, 节瓜材料 ITS 基本序列全长 612 ~ 617 bp, G + C 含量 59.97% ~ 61.07% (ITS1: 218 ~ 219 bp, G + C 含量 59.17% ~ 60.09%; ITS2: 230 ~ 232 bp, G + C 含量 61.30% ~ 64.22%; 5.8S: 163 bp, G + C 含量 58.28% ~ 59.51%), 与 GenBank 上登录的冬瓜 ITS 序列同源性达 91% ~ 100%。

节瓜材料中有 39 份材料 ITS 序列有不同程度变异 (表 2), 其中 A125-2 材料 ITS 最长 (617 bp), A82-1 最短 (612 bp); H2251 与 g1-3-2 的 G + C 含量最高 (61.24%), A82-1 最低 (59.97%); 节瓜 ITS2 G + C 含量略高于 ITS1; 部分材料如 A147-1、A39-CK、A111-1、P15-1-1、A144-1、A39FA、A142-1、SY3、g1-1、3-01-1-2、A129-1、A124-1、H7-1、5H-7 $\times$ 17-2、A97-1、A161 和 A157 共 17 份材料, ITS 序列完全相同, 同源性高达 100%, 遗传分歧 0。

ITS 长度、G + C 含量发生变异, 预示碱基位点发生了某种程度的变化。用 DNASTAR 软件查看各序列变异位点, 分析结果表明, 供试的节瓜种质材料间有 96 个变异位点, 其中 ITS1 有 47 个变异位点, ITS2 有 42 个变异位点, 5.8S 有 7 个变异位点, 其中 12-2-3 材料有 22 个, 占 22.92%, 其次是 A125-2 有 9 个, 占 9.38%, A82-1 有 8 个, 占 8.33%, 其他材料碱基变异有 57 个。大多数材料变异比较分散, 无一定规律。

表 2 节瓜及 7 份其他瓜类材料 ITS 长度及 G + C 含量变异

Table 2 ITS sequence lengths and G + C contents of chieh-quua and 7 other cucurbit plants

编号 Code	材料名称 Material name	ITS1 (bp)/G + C (%)	5. 8S (bp)/G + C (%)	ITS2 (bp)/G + C (%)	ITS (bp)/G + C (%)
1	A133-1	218/59.63	163/58.90	232/63.36	613/60.85
2	A147-1	219/59.82	163/58.90	232/63.79	614/61.07
3	A102-1	218/59.63	163/58.90	232/63.79	613/61.01
4	A39-CK	219/59.82	163/58.90	232/63.79	614/61.07
5	A09FA-2	219/59.82	163/58.90	232/63.36	614/60.91
6	H2251	219/59.36	163/59.51	232/64.22	614/61.24
7	A82-1	219/59.36	163/58.90	230/61.30	612/59.97
8	A111-1	219/59.82	163/58.90	232/63.79	614/61.07
9	P15-1-1	219/59.82	163/58.90	232/63.79	614/61.07
10	A90-1	219/59.82	163/58.90	232/63.79	613/61.03
11	A144-1	219/59.82	163/58.90	232/63.79	614/61.07
12	A39FA	219/59.82	163/58.90	232/63.79	614/61.07
13	H5FA	219/59.36	163/58.90	232/63.79	614/60.91
14	A142-1	219/59.82	163/58.90	232/63.79	614/61.07
15	H2252	219/59.82	163/58.28	232/63.79	614/60.91
16	SY3	219/59.82	163/58.90	232/63.79	614/61.07
17	P9-2	219/59.36	163/58.28	232/63.79	614/60.91
18	g1-1	219/59.82	163/58.90	232/63.79	614/61.07
19	D25-6	218/60.09	163/58.90	232/63.36	613/61.01
20	4-3-1A × 25	219/59.36	163/58.90	232/63.79	614/60.91
21	5-1-1-3	219/59.36	163/58.90	232/63.79	614/60.91
22	7-26-2	218/59.63	163/58.90	232/63.79	613/61.01
23	D003 × 25	219/59.36	163/58.90	232/63.36	614/60.75
24	3-2 3-d-1-3	219/59.36	163/58.90	232/63.79	614/60.91
25	冠华 5 号	218/59.63	163/58.90	232/63.79	613/61.01
26	3-01-1-2	219/59.82	163/58.90	232/63.79	614/61.07
27	12-2-3	218/59.63	163/58.90	232/62.50	613/60.52
28	5-b-3 × g1-1	218/59.63	163/58.90	232/63.79	613/61.01
29	L 小-2-1	218/59.63	163/58.90	232/63.36	613/60.85
30	P15-1-1	219/59.36	163/58.90	232/63.79	614/60.91
31	大籽 6-2	219/59.36	163/58.90	232/63.79	614/60.91
32	g1-3-2	219/59.82	163/59.51	232/63.79	614/61.24
33	A124-1	219/59.82	163/58.90	232/63.79	614/61.07
34	H7-1	218/59.17	163/59.51	232/63.79	613/61.01
35	A134 × 其他	219/59.82	163/58.90	232/63.79	614/61.07
36	A125-2	222/59.91	163/58.90	232/62.93	617/60.78
37	A154	219/59.36	163/58.90	232/64.22	614/61.07
38	A160	218/59.63	163/58.90	232/63.79	613/61.01
39	A115-3	219/59.36	163/58.90	232/63.79	614/60.91
40	5H-1 × 17-2	219/59.82	163/58.90	232/63.79	614/60.91
41	A95-1	219/59.82	163/58.90	232/63.79	614/61.07
42	3(3)	219/59.82	163/58.90	232/63.79	614/61.07
43	绿 3	218/60.09	163/58.90	232/63.79	613/61.17
44	大 × 6	219/59.36	163/58.90	232/63.79	614/60.91
45	天 1	218/59.63	163/58.90	232/63.79	613/61.01
46	青 1	219/59.36	163/58.90	232/63.79	614/60.91
47	A06-12P	219/59.82	163/58.90	232/63.36	614/60.91
48	A123	219/59.36	163/58.90	232/63.79	614/60.91
49	612FA	218/59.63	163/58.90	232/63.79	613/61.01
50	A143	218/59.63	163/58.90	232/63.79	613/61.01
51	A161	219/59.36	163/58.28	232/63.79	614/60.75
52	A157	218/59.63	163/58.90	232/64.22	613/61.17
53	A97-1	218/59.63	163/58.90	232/63.36	613/60.85
54	A10FA	219/59.82	163/58.90	232/63.79	614/61.07
55	LT3	219/59.82	163/58.90	232/63.79	614/61.07
56	A06	219/59.82	163/58.90	232/63.79	614/61.07
61	D1	219/59.82	163/58.90	232/63.79	614/61.07
67	H1	232/59.91	163/58.28	254/66.54	649/62.10
69	K1	235/64.68	163/59.51	276/68.12	674/64.84
72	N1	190/52.11	163/58.90	258/54.26	611/54.83
73	P1	217/61.29	163/58.90	245/67.35	625/63.04
78	S1	202/61.88	163/58.90	257/66.15	622/62.86
82	YD	201/60.70	163/58.90	258/66.67	622/62.70

2.3 ITS 序列遗传分歧及同源性分析

用 DNASTar 软件计算遗传分歧及同源性百分比差异,结果表明,节瓜材料间 ITS 序列同源性为

95.6% ~ 100.0%,遗传分歧为 0 ~ 4.6。节瓜 12-2-3 与其他材料遗传分歧较大,为 3.3 ~ 4.6,与 A82-1 的遗传分歧最大,达 4.6;A82-1 与其他材料的遗传分

歧次之,为 1.0~4.6,与 12-2-3 的遗传分歧最大,为 4.6,再次为 A125-2 与其他材料的遗传分歧仅为 1.0~4.5,与 12-2-3 的遗传分歧最大,为 4.5。节瓜与冬瓜材料 ITS 序列同源率为 91.0%~100%,与冬瓜 FJ980302 遗传分歧最大,为 8.6~12.3,其次与冬瓜 JX073045 遗传分歧为 0~4.0,节瓜 12-2-3 与冬瓜 FJ980302 遗传分歧最高达到 12.3,其次与 A82-1 的遗传分歧最高达到 9.7。对 56 份节瓜材料同源比对构建进化树分析发现,节瓜 12-2-3 单独为分支 I, H2251 为分支 II, H5FA 为分支 III, 剩余材料为分支 IV, 后又分为 9 个亚类(图 2)。将 56 份节瓜与 15 份冬瓜材料(B214 及 GenBank 下载的冬瓜序列) ITS 序列构建遗传进化树, 分析发现分为 5 个分支, 冬瓜与节瓜材料相互交叉在一起。分支图首先将冬

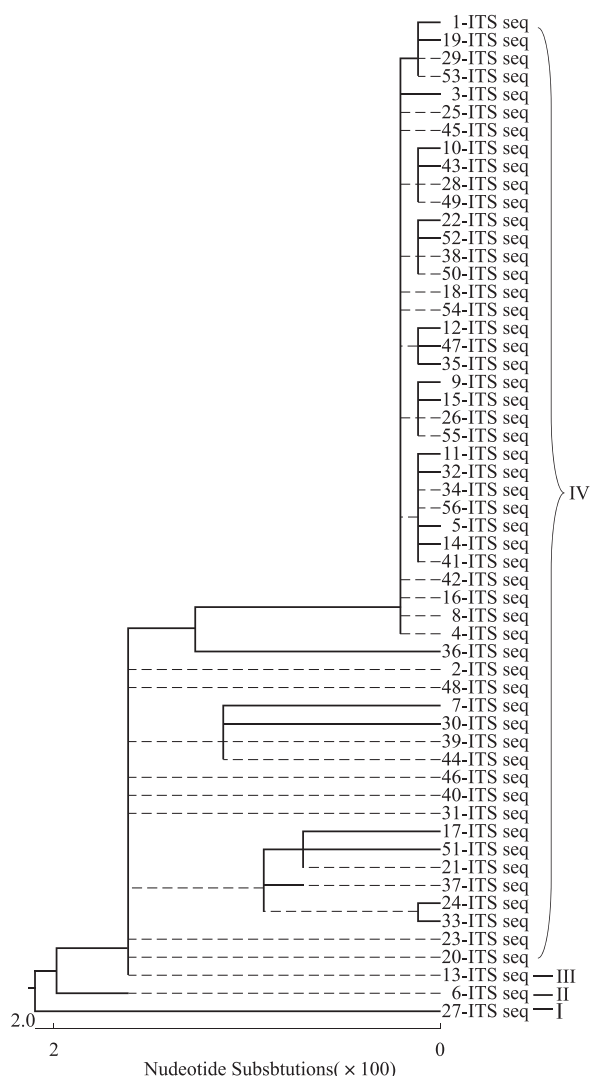


图2 基于 rDNA ITS 序列构建的 56 份节瓜种质资源系统进化树

Fig.2 The phylogenetic tree of 56 chieh-qua germplasm resources based on the rDNA

瓜材料(FJ980302)单独分为一支(分支 I), 节瓜 A157 为分支 II, 冬瓜材料(JX073045)与节瓜材料 A97-1、L 小-2-1、A133-1 与 D25-6 为分支 III, 分支 IV 包括 A125-2、JX073075、D003 × 25、A82-1、A147-1、JX073062、JX073058、JX073055、JX073052、JX073049、JX073041、A123、青 1、大 × 6、A115-3、A161、P15-1-1、5H-1 × 17-2、大籽 6-2、3-23-d-1-3、5-1-1-3、4-3-1A × 25、A154、H7-1、P9-2、H5FA、12-2-3、H2251, 剩余 37 份冬瓜节瓜材料为分支 V(图 3)。

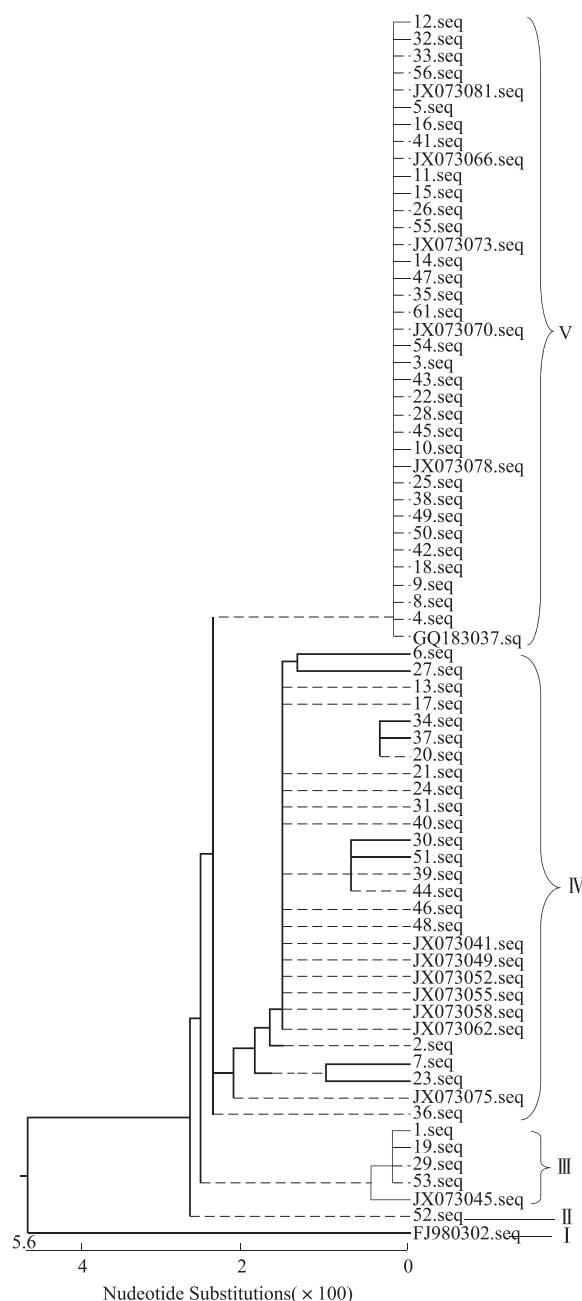


图3 基于 rDNA ITS 序列构建的 71 份节瓜冬瓜种质资源系统进化树

Fig.3 The phylogenetic tree of chieh-qua and wax gourd germplasm resources based on the rDNA ITS sequences

2.4 节瓜系统位置及外类群确定

将节瓜材料通过预分析,删除同种内 ITS 无变异材料,仅保留一个作为种的代表,加上测定的其他瓜类包括丝瓜、冬瓜(B214 为代表)、苦瓜、蒲瓜、黄瓜、南瓜、栝楼的 ITS 序列,结合 GenBank 公布的西瓜(*Citrullus lanatus*, AM981110)、甜瓜(*Cucumis melo*, M36377)、*Ctenolepis cerasiformis* (AM981142)、*Dactyliandra welwitschii* (HQ201973)、*Diplocyclos palmatus* (GQ183041)、*Cucumis myriocarpus* (Z48807)、*Echinopepon paniculatus* (JN560183)、*Frantzia talamancensis* (JN560187)、*Indomelothria blumei* (GU799496)、*Melothria scabra* (GU799500)、*Mukia javanica* (EF174484)、*Peponium vogelii* (AM981090)、*Posadaea sphaerocarpa* (GU799502)、*Ruthalicia eglandulosa* (GU799504)、*Sicyos pachycarpus* (JN56 0261)、*Sicyosperma gracile* (JN560276)、*Zehneria thwaitesii*

(AM981145)、*Trochomeria macrocarpa* (AM981141), 18 份葫芦科作物与薯蓣(*Dioscorea nipponica*, DQ267930)、露兜树(*Pandanus tectorius*, EU816709)的 ITS 序列,以薯蓣与露兜树作外类群,MP 法分析结果显示,分支图树长为 865,一致性指数(CI, consistency index)为 0.5399,保持性指数(RI, retention index)为 0.6711,调整后的一致性指数(RC, rescaled consistency index)为 0.3623,比对序列共 697 个位点,其中包含 377 个不变位点、125 个变异非信息位点、195 个信息位点。分支图以 58% 靴带(bootstrap)支持率将节瓜分为一支。系统位置排列在 *Indomelothria blumei* (GU799496) 与 *Dactyliandra welwitschii* (HQ201973) 之间,与 *Indomelothria blumei* 亲缘关系最近(图 4)。用 NJ 法、ML 法、Bayesian 法也得到类似结果。

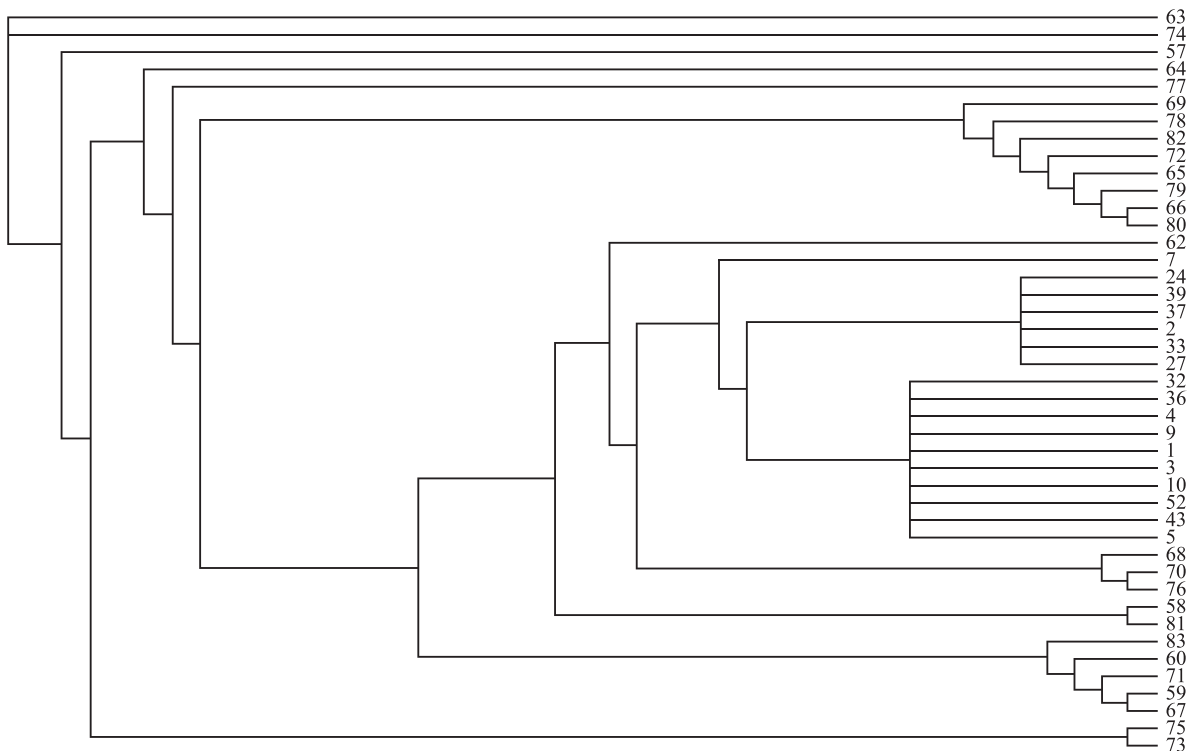


图 4 基于 ITS 序列 Mrbayes 软件确定节瓜在葫芦科中的系统位置

Fig. 4 The systematic position of chieh-qua in Cucurbitaceae based on ITS by Mrbayes software

2.5 节瓜及其他葫芦科作物系统进化关系

为确定节瓜在葫芦科的系统位置,利用 Genbank 下载的其他葫芦科作物序列,通过预分析,用有变异的材料,加上即使无变异、但前人已经命名为种的材料,用薯蓣(DQ267930)、露兜树(EU816709)作外类群,用 Modeltest V3.06 软件计算碱基替换模

型为 GTR + G。基于此模型进行 Mrbayes 分析,并用 MP 法计算分支图的一致性指数、信息位点等。分析结果表明,分支图显示树长为 866,一致性指数(CI)为 0.5323,保持性指数(RI)为 0.6723,调整后一致性指数(RC)为 0.3579,比对序列共 697 个位点,375 个不变位点,127 个变异非信息位点,195 个

信息位点。

分支图首先将 *Zehneria thwaitesii* (AM981145)、*Ctenolepis cerasiformis* (AM981142)、*Cucumis melo* (AM36377)、*Dactyliandra welwitschii* (HQ201973)、*Trochomeria macrocarpa* (AM981141) 分出;第I支包括西瓜 (*Citrullus lanatus*, FJ915098)、*Dioscorea nipponica* (DQ267930)、*Pandanus tectorius* (EU816709)、蒲瓜、*Peponium vogelii* (AM981090)、*Diplocyclos palmatus* (GQ183041)、*Echinopepon paniculatus* (JN560183)、*Sicyos pachycarpus* (JN56

0261)、*Sicyosperma gracile* (JN560276)、*Frantzia talamancensis* (JN560187)、苦瓜、丝瓜、栝楼、南瓜及 *Ruthalicia eglandulosa* (GU799504), 靴带支持率为 54%;所有节瓜及冬瓜序列与 *Indomelothria blumei* (GU799496)、*Melothria scabra* (GU799500)、*Posadaea sphaerocarpa* (GU799502) 聚为分支 II, 靴带支持率为 52%;黄瓜与 *Mukia javanica* (EF174484) 亲缘关系较近, 聚为分支 III, 靴带支持率为 97% (图 5)。

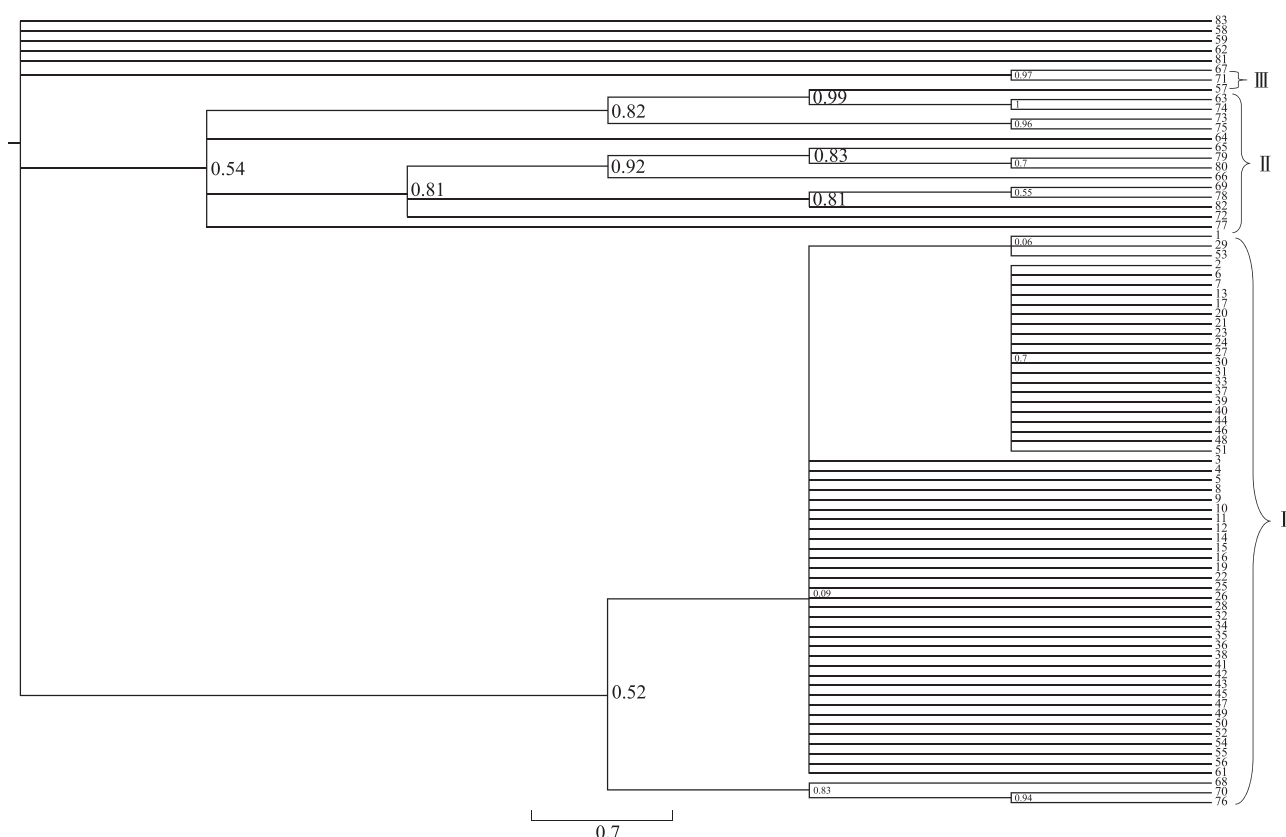


图 5 基于 ITS 序列构建的节瓜及其他葫芦科种质资源的 MrBayes 分支图

Fig. 5 The MrBayes branch map of chieh-qu and other germplasm materials based on ITS sequences

由此可见, *Zehneria thwaitesii* (AM981145)、*Ctenolepis cerasiformis* (AM981142)、*Cucumis melo* (AM36377)、*Dactyliandra welwitschii* (HQ201973)、*Trochomeria macrocarpa* (AM981141) 最原始, 系统进化顺序依次为: *Zehneria thwaitesii* (AM981145)、*Ctenolepis cerasiformis* (AM981142)、*Cucumis melo* (AM36377)、*Dactyliandra welwitschii* (HQ201973)、*Trochomeria macrocarpa* (AM981141) → *Diplocyclos palmatus* (GQ183041)、*Ruthalicia eglandulosa* (GU799 504)、南瓜、*Frantzia talamancensis* (JN560187)、*Echinopepon paniculatus* (JN560183)、*Sicyos pachycarpus* (JN56 0261)、*Sicyosperma gracile* (JN560276)、栝楼、苦瓜、丝瓜 → 西瓜

(*Citrullus lanatus*)、*Dioscorea nipponica* (DQ267930)、*Pandanus tectorius* (EU816709)、蒲瓜、*Peponium vogelii* (AM981090) → *Indomelothria blumei* (GU799496)、*Melothria scabra* (GU799500)、*Posadaea sphaerocarpa* (GU799502)、冬瓜、节瓜 → 黄瓜、*Mukia javanica* (GU799502)。MP 法、NJ 法、ML 法均得到基本相同结果。

3 讨论

3.1 节瓜 ITS 序列分析及遗传进化关系

用 ITS 序列分析种群的系统进化关系, 已有不少报道, 但节瓜的遗传进化关系分析尚未见报道。

G. B. Bruce 等^[17]研究表明,有花植物 ITS 序列大小通常比其他生物短,在 187~298 bp 之间,5.8S 亚基长度几乎不变,整个 ITS 区似乎均少于 700 bp。大多数被子植物 ITS1 和 ITS2 序列 G+C 含量基本一致,反映出协同进化现象。G+C 含量太高或太低的序列说明置换概率具倾向性,与置换率平均的序列相比,其同源性的可检测性有所降低^[18]。大多数被子植物基因组 ITS 区 G+C 含量约占 50%,禾本科为 77%,槲寄生科为 31%^[19],而本研究中 56 个节瓜样品 ITS1 和 ITS2 序列变幅为 218~232 bp,整个 ITS 序列为 612~614 bp,均在有花植物 ITS 序列长度变化范围内。G+C 含量平均 60.97%,ITS1 和 ITS2 之间有差异;节瓜 5.8S rDNA G+C 含量平均 57.85%,低于 ITS 区 G+C 含量,这与 ITS 区选择压力小、进化速率快特征一致。

71 份节瓜冬瓜材料构建遗传进化树发现,节瓜与冬瓜互有穿插分散到 2 大分支中,并没有聚成 2 大类,这表明冬瓜和节瓜亲缘关系很近,从分子水平上进一步证明节瓜冬瓜属于同一个种的不同变种,与宋世威等^[2]的研究结果一致;另外通过 ITS 序列分析未能反映出地域分布特性,需结合其他方法进一步研究。

节瓜主要分布在华南地区,遗传背景狭窄。遗传进化树中 12-2-3 与黑毛节瓜 H2251、H5FA 各为一分支,与其主要农艺形状基本对应,其中 12-2-3 材料颜色浅绿,果实长圆柱形,星点大而多,分布密集,籽小,肉质致密,分布于广东各地。H2251 黑毛节瓜颜色深绿,果实长粗圆柱形,果形指数大,星点中而少,分布于瓜底部,主要分布于广东鹤山、清远等地;H5FA 为黑毛节瓜类型,经镰刀菌酸离体筛选得到的抗枯萎病突变体;A160、A161、A157 采自广西地区,与广东材料相互交叉,分布于第 IV 分支,未发现存在明显的地域分布特性,进一步说明节瓜遗传背景狭窄。

本研究中有 17 份节瓜材料的 ITS 序列完全相同,同源性高达 100%,说明节瓜 ITS 序列具有一定保守性。此外,节瓜材料 A39CK、A111-1、P15-1-1、A144-1、A39FA、A142-1 等颜色深绿,籽大,星点较少,果实近圆柱形,瓜型指数为中长,而材料 SY3 为颜色青绿或浅绿,籽小,星点较多较大,分布浓密,果实长棒形,两类材料在农艺性状方面存在较大差异,但其 ITS 序列却完全相同,且未发现 ITS 种内地理迁移的变化规律,这说明节瓜 ITS 序列具有一定的保守性,种性比较稳定,为非近期分化类群,其形态差异可能与适生环境不同有关;因此如需进一步对

节瓜进行系谱地理分析,需另择片段或与其他片段、分子标记方法联合分析,但本研究方法对节瓜种质的系统进化分析是适合的。

3.2 ITS 变异位点与遗传分歧对节瓜种质指纹鉴别及杂交育种亲本选择的启示

本研究报道了节瓜种质材料间的变异位点、遗传分歧,序列比对显示,56 份节瓜种质材料间共有 96 个变异位点,其中一些变异位点有明显的种性变异规律,如 A125-2 材料 91 位插入 TGC,12-2-3 材料 95 位 C 缺失、140 位 A 变 C、220 位 A 变 G、299 位 A 变 G、338 位 G 变 T、415 与 417-418 位 G 变 C、A82-1 材料 460 位 C 变 T、501 位 C 变 T、530 位 C 变 T、552 位 CG 缺失等。这些变异位点,通过重复测序发现重现性好,可作为节瓜种质 DNA 指纹特异鉴别位点。第 2 位 C 变 T、90 位 C 缺失、447 位 C 变 T,每个位点均使大多数节瓜种质分为 2 类,说明这些位点可能是节瓜种质 DNA 指纹鉴别的关键位点。

通过 ITS 序列同源比对研究发现,材料 12-2-3、A82-1、H225 及 H5FA 与其他栽培种在农艺性状及抗性能力方面差异较大。因此认为选择这些种质作为节瓜杂交育种亲本,可以扩大选择范围,便于杂交优势的利用。另外本研究证实节瓜与冬瓜亲缘关系较近,但又存在一定的遗传分歧,节瓜作为冬瓜一变种,完全可以进行冬瓜节瓜间的杂交,整合冬瓜与节瓜各方面优势,扩大选择范围,进行育种改良及遗传机理等各方面的研究。

3.3 节瓜与其他葫芦科作物的分子系统进化分析

本研究对节瓜 ITS 序列采用 MP 法分析其系统位置,分支图以 58% 靴带支持率将节瓜分为一支,系统位置排列在 *Indomelothria blumei* (GU799496) 与 *Dactyliandra welwitschii* (HQ201973) 之间,与 *Indomelothria blumei* 亲缘关系最近。节瓜、冬瓜与 *Indomelothria blumei*、*Melothria scabra*、*Posadaea sphaerocarpa* 聚为第一类,较黄瓜原始,但比西瓜、蒲瓜、苦瓜、南瓜等进化较早;其他葫芦科作物中,甜瓜最原始,依次为南瓜、栝楼、苦瓜、丝瓜、西瓜、蒲瓜→冬瓜、节瓜→黄瓜,与这些作物在葫芦科中的系统进化顺序基本一致。截止目前,西瓜、黄瓜与甜瓜的全基因组测序工作已经基本完成,南瓜^[20]、西葫芦^[21]、西瓜^[22]、黄瓜^[23]及甜瓜^[24]等瓜类作物遗传连锁图谱的构建工作取得了较大进展,利用高密度饱和遗传连锁图谱将基因组序列锚定到染色体的具体位置并确定其在染色体上的方向,这为进一步开展葫芦科植物基因组分析研究奠定了基础^[14]。节瓜作为冬瓜的一个变种,

其代表的冬瓜属与其他葫芦科作物亲缘关系及系统进化顺序的确定,为进一步研究这些作物的远缘杂交应用、比较组学分析及系统分类等奠定基础。

参考文献

- [1] 李文嘉. 广西节瓜种质资源研究及评价[J]. 长江蔬菜, 2003 (9): 42-43
- [2] 宋世威, 李珍, 刘厚诚, 等. 冬瓜和节瓜种质资源遗传多样性的 RAPD 分析[J]. 中国蔬菜, 2010(22): 47-53
- [3] 胡建斌, 马双武, 李建吾, 等. 国外甜瓜种质资源形态性状遗传多样性分析[J]. 植物学报, 2013, 48(1): 42-51
- [4] Fernandez-Silva I, Eduardo I, Blanca J, et al. Bin mapping of genomic and EST-derived SSRs in melon (*Cucumis melo* L.) [J]. Theor Appl Genet, 2008, 118: 139-150
- [5] 穆生奇, 顾兴芳, 张圣平, 等. 栽培黄瓜种质遗传多样性的 SSR 鉴定[J]. 园艺学报, 2008, 35(9): 1323-1330
- [6] Che K P, Xu Y, Liang C Y, et al. AFLP fingerprint and SCAR marker of watermelon core collection[J]. Acta Bot Sin, 2003, 45: 731-735
- [7] 刘子记, 杨衍, 詹园凤. 瓜类遗传连锁图谱构建的研究现状及比较分析[J]. 园艺学报, 2012, 39(9): 1757-1766
- [8] Tumer B J, Elder J R. Concerted evolution of repetitive DNA sequences in eukaryotes[J]. Quart Rev Biol, 1995, 70: 297-317
- [9] 王建波, 张文驹, 陈家宽. 核 rDNA 的 ITS 序列在被子植物系统与进化研究中的应用[J]. 植物分类学报, 1999, 37(4): 407-416
- [10] Hsiao C, Chatterton N L, Asay K H. Phylogenetic relationship of 10 grass species: An assessment of phylogenetic utility of the internal transcribed spacer region in monocots[J]. Genome, 1994, 37: 112-120
- [11] 葛颂, Schaal B A, 洪德元. 用核糖体 DNA 的 ITS 序列探讨裂叶沙参的系统学位置—兼论 ITS 片段在沙参属系统学研究中的价值[J]. 植物分类学报, 1997, 35(5): 385-395
- [12] Ronsted N, Law S, Thomson H, et al. Molecular phylogenetic evidence for the monophyly of *Fritillaria* and *Lilium* (Liliaceae; Liliales) and the infrageneric classification of *Fritillaria* [J]. Mol Phylogenet Evol, 2005, 35: 509-527
- [13] 沈洁, 丁小余, 贺佳, 等. 泽泻 rDNA-ITS 区序列特征及其居群鉴别研究[J]. 南京师范大学学报: 自然科学版, 2005, 28(3): 86-88
- [14] Doyle J J, Doyle J L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue [J]. Phytochem Bull, 1987, 19: 11-15
- [15] White T J, Bruns T, Lee S, et al. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics [M]// Innes M, Gelfand D, Sninsky J, et al. eds. PCR protocols: A guide to methods and applications. San Diego: Academic Press, 1990: 315-322
- [16] Posada D, Crandall K A. Modeltest: testing the model of DNA substitution [J]. Bioinformatics, 1998, 14: 817-818
- [17] Bruce G B, Michael J S, Mark J P, et al. The ITS region of nuclear ribosomal DNA: a valuable source of evidence on angiosperm phylogeny [J]. Ann Miss Bot Garden, 1995, 82: 247-277
- [18] 史全良, 赵卫国. 桑树 ITS 序列测定及特点的初步分析[J]. 蚕业科学, 2001, 27(2): 140-141
- [19] Elina L, Cecilia A R. Molecular phylogeny of Salicaceae and closely related Flacourtiaceae: evidence from 5.8S, ITS1 and ITS2 of the Rdna [J]. Pl Syst Evol, 1999, 215: 209-227
- [20] Brown R N, Myers J R. A genetic map of squash (*Cucurbita* sp.) with randomly amplified polymorphic DNA markers and morphological markers [J]. J Am Soc Hort Sci, 2002, 127: 568-575
- [21] Gong L, Stift G, Kofler R, et al. Microsatellites for the genus *Cucurbita* and an SSR-based genetic linkage map of *Cucurbita pepo* L [J]. Theor Appl Genet, 2008, 117: 37-48
- [22] Ren Y, Zhao H, Kou Q H, et al. A high resolution genetic map anchoring scaffolds of the sequenced watermelon genome [J]. PLoS One, 2012, 7: e29453
- [23] Miao H, Zhang S P, Wang X W, et al. A linkage map of cultivated cucumber (*Cucumis sativus* L.) with 248 microsatellite marker loci and seven genes for horticulturally important traits [J]. Euphytica, 2011, 182: 167-176
- [24] Palomares-Rius F J, Viruel M A, Yuste-Lisbona F J, et al. Simple sequence repeat markers linked to QTL for resistance to Watermelon mosaic virus in melon [J]. Theor Appl Genet, 2011, 123: 1207-1214

欢迎订阅 2015 年《西北农林科技大学学报(自然科学版)》

《西北农林科技大学学报(自然科学版)》创刊于 1936 年,是西北地区创办最早的综合性农业科学学术期刊,其前身是《西北农业大学学报》。本刊立足国际科学发展前沿,兼顾理论探索与应用开发研究,面向社会,主要刊登农林科学、植物保护、资源环境科学、园艺科学、动物科学与医学、食品科学、生命科学、农田水利与建筑工程、机械与电子工程等方面的原创性学术研究成果。读者对象为国内外农林科技工作者、高等院校教师、研究生和农林管理干部。

本刊现为中国自然科学核心期刊、全国综合性农业科学核心期刊、中国科学引文数据库核心期刊和中国科技核心期刊,论文被国内外多家权威性数据库和文摘期刊固定转载和收录。

月刊,每月 10 日出版,国内外公开发行。每期定价 15 元,全年 180 元。邮发代号为 52-82,全国各地邮局均可订阅,亦可直接向本刊编辑部订阅。国外总发行为中国国际图书贸易总公司(北京 399 信箱)。

地址:(712100)陕西杨凌西北农林科技大学北校区 40 号信箱

电话:029-87092511

E-mail: xnxbz@nwsuaf.edu.cn

网址: <http://www.xnxbz.net>