试验研究

黄瓜 Aux/IAA 基因家族的 生物信息学分析

王 垒.陈劲枫.贾 利

(作物遗传与种质资源创新国家重点实验室·南京农业大学园艺学院 南京 210095)

摘 要: Aux/IAA 基因家族是一个典型的被生长素诱导而表达的基因家族,可以被生长素快速诱导表达。采用生物信息学方法在黄瓜基因组中确定了 28 个 Aux/IAA 基因,除 4 号染色体外,其他 6 条染色体均有分布,编码蛋白序列在 70~427 个氨基酸残基之间,22 个黄瓜 Aux/IAA 蛋白具有完整的 4 个保守结构域,进化方式多样化。该研究结果有助于黄瓜生长素信号转导途径的解析。

关键词: 黄瓜; 生长素; Aux/IAA

Bioinformatic Analysis of the Aux/IAA Gene Family in Cucumber

WANG Lei, CHEN Jin-feng, JIA Li

(State Key Laboratory of Crop Genetics and Germplasm Enhancement, College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing, Jiangsu, 210095, China)

Abstract: Aux/IAA genes are typical gene family induced by auxin. Their expression can be induced rapidly by auxin. We identified 28 Aux/IAA genes by using bioinformatics methods in the cucumber genome database. They are distributed on the 6 chromosomes except on the 4th of 7 chromosomes of cucumber, their encoding protein sequences are between the 70-427 amino acid residues and 22 cucumber Aux/IAA proteins have four complete conserved domains, which showed their evolutionary diversification. The study will not only help auxin signal transduction pathway analysis, but also provides a reference for creating germplasm resources of cucumber by genetic engineering.

Key words: Cucumber; Auxin; Aux/IAA

Aux/IAA 基因家族是对生长素诱导做出早期响应的3类基因家族之一[1]。生长素诱导会使 Aux/IAA 基因的表达量瞬时升高,进而对生长素信号网络中其他基因的表达进行调控(正调控/负调控)。Aux/IAA 基因家族是生长素信号转导通路的重要调节因子。

Aux/IAA 蛋白具有 4 个保守结构域,Domain I 具有转录抑制功能,结构域 II 对 Aux/IAA 蛋白的稳定性起作用,Domain III 和 IV 负责蛋白的二聚化^[2]。 Aux/IAA 蛋白和转录因子 ARF(auxin response factor) 家族能形成杂合二聚体,在生长素作用下,Aux/IAA 蛋白被降解,从而调动生长素信号途径下游基因的表达 $[^{12}]$ 。生长素在植物的生长发育过程中起着重要作用,Aux/IAA 基因又是生长素信号传导途径中的重要调控基因,因此,对 Aux/IAA 基因家族的研究 就成为近年来研究的热点。黄瓜是全世界重要的蔬菜之一,但对 Aux/IAA 基因家族的研究却相对滞后,Aux/IAA 是多基因家族,迄今为止在黄瓜作物中

共分离了 $3 \land Aux/IAA$ 基因[-4]。2009 年底黄瓜基因组测序的完成[-7],将会推进黄瓜 Aux/IAA 基因家族研究的深入开展。

笔者利用黄瓜基因组数据库采用生物信息学方法,对黄瓜全基因组的 Aux/IAA 基因序列进行了分离与序列特征及进化分析,旨在为生长素信号传导途径的解析及下一步基因克隆提供参考。

1 材料与方法

1.1 Aux/IAA 基因家族序列的收集

从拟南芥转录因子数据库(http://datf.cbi.pku.edu.cn/browsefamily.php?fn=AUX/IAA)和水稻数据库(http://drtf.cbi.pku.edu.cn/family_view.php?fn=AUX/IAA)下载 Aux/IAA 家族蛋白的序列分别检索黄瓜基因组序列数据库(http://cucumber.genomics.org.cn/page/cucumber/index.jsp)。

1.2 多序列联配序列分析即系统发育树的构建

收稿日期: 2010-09-18; 修回日期: 2010-10-13

基金项目: 国家重点基础研究发展计划"973"项目(2009CB119001-01);国家自然科学基金重点项目(30830079)

作者简介: 王垒,男,在读硕士,主要从事蔬菜遗传育种与生物技术研究

通讯作者: 陈劲枫,男,教授,博导,研究方向为蔬菜遗传育种与生物技术。电话: 025-84396279; 电子信箱: jfchen@njau.edu.en

黄瓜 Aux/IAA 基因家族序列比对采用软件 DNAMAN 6.0。利用分子进化遗传分析软件 MEGA 4.0,根据邻接法(Neighbor-joining method)构建系统发育树,并进行 1000 次 Bootstrapp 抽样^[8]。

2 结果与分析

2.1 黄瓜基因组中的 Aux/IAA 基因

以34个拟南芥和46个粳稻 Aux/IAA 蛋白分别检索黄瓜基因组数据库,共得到28个 Aux/IAA 家族成员,这些基因分布于黄瓜7条染色体中的6条染色体以及未定位的11个染色体片段上。4号染色体未发现存在 Aux/IAA 基因,在2号染色体和3号染色体上分布最多,分别有4个和7个,7号染色体上有3个,1号、5号及6号染色体上各有1个。这些基因所编码的蛋白长度在70~427个氨基酸残基内,差异较大。CsaO14661和 CsaO25885的核苷酸序列与氨基酸序列完全一致,说明这2个基因是同一基因拷贝,在功能上可能存在冗余现象;有4对基因在基因组中的位置串联存在,它们是CsaO16714和CsaO16715、CsaO20458和CsaO21313(表1)。

2.2 黄瓜 Aux/IAA 基因家族蛋白特征

在 28 个 Aux/IAA 基因中,有 22 个成员具有典型的 Aux/IAA 基因的 4 个保守结构域,其余 6 个发生了保守结构域丢失。如 Csa021533 和 Csa021313

表 1 黄瓜的 28 个 Aux/IAA 基因			
基因	染色体	基因组位置	编码蛋白 长度
Csa010933	1	23452825-23455337	236
Csa006680	2	1445103-1446156	197
Csa014661	2	10535200-10537651	222
Csa018571	2	17733510-17737848	427
Csa006091	2	18761065-18762111	207
Csa020458	3	16703046-16703528	160
Csa020459	3	16697495-16698429	188
Csa000125	3	8901690-8903648	237
Csa001390	3	17419328-17423939	281
Csa000184	3	8341719-8343715	321
Csa002198	3	33242524-33244917	342
Csa002030	3	31557558-31558653	187
Csa003118	5	18461507-18463184	222
Csa012115	6	22164432-22172966	404
Csa016714	7	12240826-12241987	196
Csa016715	7	12221383-12223605	230
Csa009839	7	17212113-17214464	356
Csa016993	Scaffold000084	448950-450768	285
Csa021532	Scaffold000225	248374-249646	233
Csa021321	Scaffold000210	128735-129710	203
Csa021916	Scaffold000259	36515-39076	326
Csa021533	Scaffold000225	246986-248222	94
Csa020481	Scaffold000163	199313-200597	184
Csa021313	Scaffold000210	102689-103118	70
Csa020973	Scaffold000187	175163-176111	218
Csa021312	Scaffold000210	103133-104212	179
Csa022634	Scaffold000384	6655-8768	144
Csa025885	Scaffold_repeat026846	10776-13227	222

只有第 4 结构域, Csa022634 缺失第 1 保守结构域; Csa021532、Csa021312 和 Csa002030 这 3 个基因缺少第 4 保守域。在 22 个具备 4 个保守结构域的成员中有 20 个在 4 个结构域上比较保守,但是有2 个

Csa020458 TELRLGLPG	RNQVVGWPPVCSHRRP	YVKISMDGAPYLRKVDL
Csa020459 TELRLGLPG	PROMIGWPPVCSYRRP	YVKVSFEGTPFLRKVDL
Csa006680 TELELGLPS	KAOUV GWPPVRSF RKN	FIKUSMDGAPFLRKUDL
Csa003118 TELELGLPC	KTOWWGWPPVRSY RKN	YVKVSLDGAPYLRKIDL
Csa016714 TELRLGLPG	WAGINGWPPVRSYRKN	YVKVSMDGAFYLRKIDL
Csa016715 TELRLGLPG	WARDENGWPPVRSF RKN	FUKUSMDGAPYLRKUDL
Csa014661 TELRLGLPG	KEEUVGWPPISCC RKK	FVKVSLDGAPYLRKVDL
Csa000125 TDLCLGLPG	KAOUWGWPPVRSY RKN	FUKUCMDGAPYLRKUDL
Csa012115 TELRLGLPG	KAOUWGWPPIKSF RKN	FUKUSMEGAPYLRKUDL
Csa018571 TELPLGLPG	KAOUUGWPPIRSF RKN	FIKUSMDGAPYLRKVDL
Csa001390 IELGLGLCI	SSOUWGWPPIRASRISTLVNQA	YUKUNMDGULIGRKUNL
Csa000184 LELGLGL 31	USOUUGWPPIRAYRINSLINQA	FUKUYMDGULIGRKUDL
Csa009839 AIDGSSAKW	KAQUUGWPPIRSF RKN	YUKUSMEGAPYLRKUDL
Csa016993 LELGLGLAI	SSOUVEWPPIRTYRMNSLVNQA	FVKUNVDGVVIGRKVDL
Csa025885 TELRLGLPG	KEEUUGWPPISCC RKK	FUKUSLDGAPYLRKVDL
Csa021533		
Csa020973 NP ISLUF DS	ENGLUGWPPLKKR RKS	YVKVKMEGVGIARKVDL
Csa021532 TELRLGLPG	KAQUVGWPPIRSF RKN	YVKVSMDGAPYLRKVDL
Csa022634	YFKMTRWADRRUS PPC	. VTVVLEGRAICQRISL
Csa021321 TELRLGLPG	KAQVVGWPPIRSF RKN	YVKVSMDGAPYLRKIDL
Csa002198 LELRLGLPG	KATELGSVPAESSETKHHDKRK	FUKUCMDGUPIGRKLNL
Csa021312 TELCLGLPG	KAQVVGWPPVRSYRKN	FUKUCMDGAPYLRKUDL
Csa020481 TELTLGLPG	KRAUMGWPPVRSYRKP	YVKUGADGA PYLR
Csa006091 AGGREGDHS	KKQAVGWPPIESWRKK	FUKUKMEGUAIARKLDL
Csa021313 · ·		
Csa010933 TELRLGLPG	KAQVVGWPPVKSLRRN	FIKUSMDGAPYLRKUDL
Csa021916 LELRLGLPG	PAPUVGWPPIRSSRRNIASS	FVKINMDGVPIGRKIDL
Csa002030 KDVFGSDPF	ENKAVGWPPIASWRKRH	YVKVKMEGVPIARKIDV
→ Domain I	Domain [[Domain III

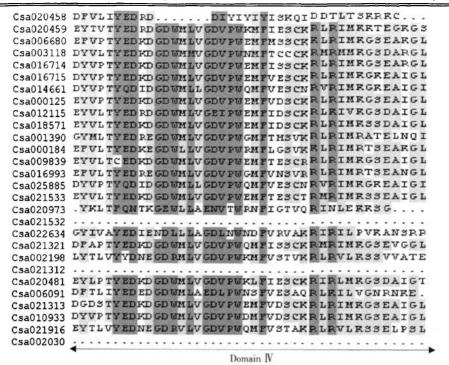


图 1 黄瓜 28 个 Aux/IAA 基因的 4 个保守结构域分析

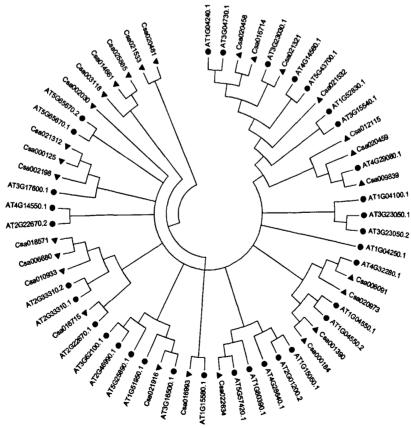


图 2 黄瓜和拟南芥 Aux/IAA 基因家族的进化分析 ▲代表黄瓜:●表示拟南芥。

基因如 Csa009839 的第 1 结构域及 Csa020973 的第 1 结构域和第 4 结构域有些序列发生了替代。丢失结构域的 6 个 Aux/IAA 基因可能只具有 Aux/IAA 蛋白的部分功能,或者获得了新功能,或者可能是假基因。保守结构域有小部分序列被替代的 2 个基因或者有新功能或者只具备部分典型 Aux/IAA 蛋白的功能(图 1)。

2.3 黄瓜与拟南芥 Aux/IAA 基因家族进化分析

为了避免长枝吸引把编码氨基酸最少只有70个的基因 Csa021313 排除在外,用 27个黄瓜 Aux/IAA 基因与34个拟南芥 Aux/IAA 基因家族的氨基酸作聚类分析。结果发现这些基因被划为多个进化枝,表明 Aux/IAA 基因是高度分化的,同时也存在着黄瓜专属类群(三角形标注)和拟南芥专属类群(圆形标注),表明这些 Aux/IAA 基因在进化过程中以物种特异的方式进行扩展(图 2)。

3 讨论与结论

生长素是一种非常重要的激素,在植物的生长和发育过程中发挥着十分重要的作用,主要包括细胞伸长、分裂,向地性和向光性的形成,维管组织的发育,根毛发育,花的形成,果实成熟等生长发育过程起作用。Aux/IAA 基因,是一种转录抑制因子,所编码的蛋白已经被证明在生长素信号转导途径中起着极其重要的作用。在拟南芥和水稻转录因子数据库中拟南芥和粳稻分别有 34 个和 46 个 Aux/IAA 基因,杨树和高梁分别有 35 个和 25 个 Aux/IAA 基因被分离^{p-101}。在黄瓜中,仅有 3 个 Aux/IAA 基因被分离。2009 年底黄瓜基因组测序完成及其数据库的建立,为从全基因组范围内研究与分离黄瓜 Aux/IAA 基因提供了参考。

本研究发现在确定的 28 个黄瓜 Aux/IAA 基因中,22 个具有完整的 4 个保守结构域,6 个 Aux/IAA 蛋白有不同程度的保守结构域缺失。利用 Clustal X 1.83 软件对黄瓜、拟南芥和水稻 Aux/IAA 蛋白进行多序列联配(结果未列出),序列联配显示出这 3 种作物的 Aux/IAA 家族成员序列高度相似表明 Aux/IAA 这个基因家族具有高度保守性。缺失蛋白功能域的 Aux/IAA 基因,一种可能是只具有 Aux/IAA 蛋白的部分功能,另外一种可能是功能域部分缺失的 Aux/IAA 蛋白具有了新功能或者是假基因。

基因家族起源于一个共同的祖先基因,在植物 (特别是被子植物)进化过程中发生了大量的基因重

复事件,从而形成了一个多基因家族。在水稻和拟南芥的基因组中 Aux/IAA 基因家族的扩增主要是节段重复所致[II-I2]。在黄瓜中 Aux/IAA 家族是以串连重复、节段重复、随机插入等方式来扩增的,Aux/IAA 基因在进化过程中可能存在功能冗余现象。

本研究利用生物信息学方法在黄瓜基因组数据库中检索确定了 28 个 Aux/IAA 基因,编码氨基酸大小为 70~427,其中有 22 个具有完整的 4 个保守结构域,并与拟南芥 Aux/IAA 家族成员做了聚类分析,基因重复、基因缺失可能是黄瓜 Aux/IAA 基因家族的主要进化模式。这为下一步 Aux/IAA 基因克隆及用基因工程创造黄瓜新种质资源提供了重要参考。

参考文献

- Abel S, Theologis A. Early genes and auxin action[J]. Plant Physiol, 1996, 111(1): 9-17.
- [2] Kim J, Theologis A, Harter K. Protein-Protein in interactions among the Aux/IAA proteins[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1997, 94(22): 11786– 11791.
- [3] Dharmosiri N, Estelle M. Auxin signaling and regulated protein degradation[J]. Trends Plant Sci, 2004, 9(6): 302-308.
- [4] Leyser O. Dynamic integration of auxin transport and signaling [J]. Current Biology, 2006, 16(11): 424-433.
- [5] Fujii N, Kamada M, Yamasaki S, et al. Differential accumulation of Aux/IAA mRNA during seedling development and gravity response in cucumber (Cucumis sativus L.)[J]. Plant Molecular Biology, 2000, 42(5): 731-740.
- [6] Shimizu M, Miyazawa Y, Fujii N, et al. p-Chlorophenoxyisobutyric acid impairs auxin response for gravity-regulated peg formation in cucumber (*Cucumis sativus*) seedlings[J]. Journal of plant research, 2008, 121(1): 107-114.
- [7] Huang San-wen, Li Rui-qiang, Zhang Zhong-hua, et al. The genome of the cucumber, Cucumis sativus L.[J]. Nature Genetics, 2009, 41 (12): 1275-1281.
- [8] Tamura K, Dudley J, Nei M, et al. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0 [J]. Mol Biol Evol, 2007, 24(8): 1596-1599.
- [9] Kalluri U C, Difazio S P, Brunner A M, et al. Genome-wide analysis of Aux/IAA and ARF gene families in Populus trichocarpa [J]. BMC Plant Biol, 2007, 7: 59.
- [10] 王益军, 吕燕萍, 谢秦, 等. 高粱全基因组生长素原初响应基因 Aux/IAA 的序列特征分析[J]. 作物学报, 2010, 36(4): 688-694.
- [11] Remington D L, Vision T J, Guilfoyle T J, et al. Contrasting modes of diversification in the Aux/IAA and ARF gene families[J]. Plant Physiology, 2004, 135: 1738–1752.
- [12] Jain M, Kaur N, Garg R, et al. Structure and expression analysis of early auxin-responsive Aux/IAA gene family in rice (Oryza sativa)
 [J]. Funct Integr Genomics, 2006, 6(1): 47-59.

黄瓜Aux/IAA基因家族的生物信息学分析



作者: 王垒,陈劲枫,贾利,WANG Lei,CHEN Jin-feng,JIA Li

作者单位: 作物遗传与种质资源创新国家重点实验室。南京农业大学园艺学院,南京,210095

刊名: 中国瓜菜 ISTIC

英文刊名: CHINA CUCURBITS AND VEGETABLES

年,卷(期): 2010,23(6)

被引用次数: 0次

参考文献(12条)

1. Kalluri U C;Difazio S P;Brunner A M Genome-wide analysis of Aux/IAA and ARF gene families in Populus trichocarpa 2007

- 2. Tamura K; Dudley J; Nei M MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0 2007 (08)
- 3. Huang San-wen; Li Rui-qiang; Zhang Zhong-hua The genome of the cucumber, Cucumis setivus L 2009(12)
- 4. Shimizu M; Miyazawa Y; Fujii N p-Chlorophenoxyisobutyric acid impairs auxin response for gravity-regulated peg formation in cucumber (Cucumis sativus) seedlings 2008(01)
- 5. Fujii N; Kamada M; Yamasaki S Differential accumulation of Aux/IAA mRNA during seedling development and gravity response in cucumber (Cucumis sativus L.) 2000(05)
- 6. Leyser O Dynamic integration of auxin transport and signaling 2006(11)
- 7. Jain M; Kaur N; Garg R Structure and expression analysis of early auxin-responsive Aux/IAA gene family in rice (Oryza sativa) 2006(01)
- 8. Remington D L; Vision T J; Guilfoyle T J Contrasting modes of diversification in the Aux/IAA and ARF gene families 2004(3)
- 9. 王益军; 吕燕萍; 谢秦 高粱全基因组生长素原初响应基因Aux/IAA的序列特征分析 2010(04)
- 10. Dharmosiri N; Estelle M Auxin signaling and regulated protein degradation 2004(06)
- 11. Kim J; Theologis A; Hatter K Protein-Protein in interactions among the Aux/IAA proteins 1997(22)
- 12. Abel S; Theologis A Early genes and auxin action 1996(01)

相似文献(10条)

1. 学位论文 白吉刚 生长素结合蛋白基因的分离和转化研究 2002

该项目首次分离黄瓜中的生长素结合蛋白cDNA片段,研究该基因在黄瓜基因组中的拷贝数和发育阶段的特异性等特性,探讨其在黄瓜果实发育中的作用,可为ABP1受体功能的研究打下基础,为其它激素受体的研究提供借鉴,还可为单性结实黄瓜品种的开发和利用提供理论依据.该项目将拟南芥内质网ABP1基因导入黄瓜中,增加植株体内ABP1的含量,增强子房对自身含生长素的敏感性,提高转基因植株的单性结实率,能为生长素结合蛋白的受体功能论证提供直接的证据,为黄瓜育种提供单性结实能力增强了的新材料,还能为分子水平上的黄瓜果实发育研究打下基础,为茄子、番茄等其它园艺作物的单性结实研究提供参考.

2. 期刊论文 白吉刚. 王秀娟. 尹谦逊. 徐玉珍. 赵瑞雪 生长素结合蛋白基因在黄瓜果实发育中的功能研究 -实验生物学报2004, 37(6)

应用逆转录-聚合酶链式反应(RT-PCR),从黄瓜子房(幼果)中扩增出生长素结合蛋白(ABP1)cDNA片段.该基因在开花前1天的子房中表达信号较弱,在授粉后2、4和6天的幼果中表达较强;在开花后2天有单性结实能力的子房中表达信号较强,不能形成果实的子房中信号较弱,所以ABP1基因可能参与黄瓜果实的生长发育过程.将拟南芥ABP1基因转入黄瓜中,转基因黄瓜的单性结实率平均为31.7%,高于对照(19.9%).由于黄瓜的单性结实主要与生长素有关,所以,转基因植株单性结实率的提高可能是由于子房增强了对自身所含生长素的敏感性所致,说明生长素结合蛋白参与生长素在黄瓜果实生长发育中的生理作用.

- 3. 学位论文 赵竹青 硼与生长素、乙烯及其它激素相互作用机理的研究 1998
 - 该文以棉花、黄瓜和油菜等对硼敏感的作物为研究材料,通过土壤培养和溶液培养的方法,研究了硼与生素、乙烯及其它激素相互关系及其作用机理。
- 4. 期刊论文 白吉刚. 刘佩瑛. 宋明. 张盛林. 王中凤 黄瓜生长素结合蛋白cDNA片段的克隆及其表达 -植物生理与分子生物学学报2002, 28(3)

以黄瓜子房(幼果)RNA为模板,应用逆转录-聚合酶链式反应(RT-PCR),首次扩增出黄瓜生长素结合蛋白基因(ABP1)cDNA片段,并进行测序和同源性分析.对ABP1基因在黄瓜子房(幼果)中的mRNA表达水平作了初步探讨,结果表明,该基因在开花前1d的子房中表达信号较弱,在授粉后2、4和6d的幼果中表达

增强;开花后2 d未经授粉的子房中,绿而膨大、能形成单性结实果者信号较强,黄而萎蔫、不能形成果实者信号较弱. Southern 杂交结果表明,黄瓜生长素结合蛋白为小基因家族编码.

- 5. 学位论文 宣伟 血红素加氧酶/一氧化碳信号系统参与生长素调控的黄瓜不定根发生 2009

7. 学位论文 叶波平 雌性系黄瓜特异的ACC合酶基因与黄瓜的性别表达 1999

利用一对引物(Primer I& Primer II),通过PCR方法,从雌性系黄瓜品种"DALEVE"中扩增到一个雌性系特异的ACC合酶基因(CS-ACSG). 序列分析表明:该基因序列与已发表的序列间仅存在四个碱基的不同,其中只有一个碱基的改变导致其表达的蛋白序列中一个氨基酸的改变. 以CS-ACSG基因为探针,对十九种不同性别表型黄瓜基因组DNA的Southern分析表明:CS-ACSG基因与黄瓜的雌性表达存在着明显的相关性,即在雌性系黄瓜品种中能检测到该基因,而在普通品系黄瓜品种中未检测到该基因,但对另一雌性品种"CORONA"的分析则表明:CS-ACSG基因在黄瓜基因组中的拷贝数多少与雌性表达强弱则并无直接的联系. 比较了黄瓜普通品系品种"秋棚一号"和雌性系品种"欧洲八号"植株中不同节位的内源生长素含量. 对雌性系品种的不同发育阶段茎尖中的内源乙烯释放以及EFE活性进行了测定. 进一步比较了外源GA、3》处理后,不同发育阶段雌性系黄瓜品种中的内源生长素和赤霉素含量的变化情况.利用黄瓜茎尖离体培养系统结合生物切片技术观察了黄瓜早期发育阶段中成花分生组织的发生及发育情况. 综上所说,黄瓜的性别表达过程应该是多激素共同作用的结果,并且每一种内源植物生长物质对黄瓜性别表达的作用应该有一定的阈值.

8. 期刊论文 白吉刚. 宋明. 刘佩瑛. 张盛林. 王中凤 生长素结合蛋白cDNA的克隆及其在黄瓜中的表达 -植物学通报 2002, 19(6)

利用RT-PCR方法从拟南芥(Arabidopsis thaliana (L.) Heynh.)中克隆了生长素结合蛋白(auxin binding protein 1)cDNA,进行了全序列测定.将该基因克隆在pBI121的35 S启动子和Nos终止子之间,得到植物表达载体p35EZ.通过根癌农杆菌(Agrobacterium tumefaciens (Smith et Townsend) Conn)介导的方法转化黄瓜(Cucumis sativus L.).对转基因植株进行了PCR和Southern检测.所得到的转基因黄瓜植株单性结实能力增强.

9. 学位论文 陈惠明 黄瓜性别决定基因遗传规律、分子标记及应用 2006

本研究以不同性别类型的黄瓜高代自交系、近等基因系、重组自交系及不同性别类型的黄瓜高代自交系为亲本6个世代杂交组合为材料,较详细研究了黄瓜性别决定基因的遗传规律、黄瓜EIN3基因的SNP、RFLP-Bfm I 分析及与性别表达关系、黄瓜性别决定基因的分子标记及分子机理、不同药剂处理对强雌性基因型黄瓜性别表达的影响、强雌性材料的选育及应用。结果分述如下:

1、黄瓜性别决定基因遗传规律的研究黄瓜两性花基因的研究:选取雌性系与两性花系的性型之间的杂交组合及F1、F2、BC1P1和BC1P2代性型观察,统计分析表明黄瓜的两性花性状由单隐性基因控制,与前人的研究结果相同。

黄瓜雌性基因的研究:选取雌性系与雌雄同株系的性型之间的杂交组合及F1、F2、BC1P1和BC1P2代性型观察,统计分析表明黄瓜的雌性性状由单显性基因控制,与前人的研究结果相同。

两个新发现的黄瓜性别决定基因的遗传规律的研究:选取黄瓜两个雌雄同株型的强雌性高代自交系材料与普通雌雄同株、两性花株、纯雌株高代自交系材料杂交,通过对F1、F2、BCIP1和BCIP2代性型观察,统计分析表明:两个雌雄同株型的强雌性分别由一对不完全显性和一对隐性基因控制,暂定名为Mod-F1和mod-F2、它们是新发现的黄瓜性别表达的两个基因,能增强黄瓜植株雌性的表达,与FAM基因独立遗传。

2、不同药剂处理对强雌性基因型黄瓜性别表达的影响。

以两种诱維剂赤霉素(GA3)、硝酸银(AgN03)和两种诱維剂乙烯利(Ethylene)、生长素(IAA)在3叶苗期涂抹黄瓜植株幼叶,处理三次,每次处理相隔7天,观察其花的性别表达及着生位置的变化。结果表明:诱维剂硝酸银和赤霉素显著地或极显著提高等一雌花节位、雌花数、雌花簇生性及连续雌花起始节位,显著增加了雄花数和雄花节位数。诱维剂乙烯利与对照比显著提高第一雌花节位,雄花簇生性和连续雌花起始节位,而对雌花数和20节内雌花节位数无显著影响,极显著提高了第一雄花节位,降低了雄花数和雄花节位数;诱维剂生长素对该基因材料不但没有很明显的诱雌效果,反而提高了植株的连续雌花的昆统节位、雄花数、雄花节位数。诱维剂处理没有污变此基因的性别表达的基本特性。

3、黄瓜EIN3基因的SNP、RFLP-Bfm I 分析及与性别表达的关系。

不同性型黄瓜CsEIN3基因的725bp编码区有14个SNPs,平均51bp发现一个SNP。检出率为1.96%。其中酶切位点突变有3个,且发现编码区的SNPs有八个突变导致了氨基酸改变,黄瓜WI1983H品种的基因序列被命名为CsEIN3,核苷酸序列长725bp,分别编码241个氨基酸残基,已成功登录GenBank,登陆号如下:CsEIN3为AY973275。建立了一个RFLP-Bfm I 的酶切体系,发现其只有在两性花株WI1983H中出现特异的酶切条带。

4、黄瓜雌性性状主控基因CsACS1G基因的分析及其定位。

以不同性别类型的黄瓜为研究材料,通过针对CsACSIG基因设计的特异SCAR引物分析了CsACSIG基因与F基因以及雌性性状之间的关系,并对CsACSIG进行了定位。结果表明:CsACSIG基因对具有F基因的不同性型植株的特异性的确存在,CsACSIG与CsACSI基因的差异主要在启动子区。利用北京蔬菜研究中心的重组自交系构建的黄瓜连锁图谱,成功将CsACSIG基因特异的SCAR标记定位(CsACSIG-SCAR_430)在第10连锁群上。

5、与黄瓜性别基因相关的分子标记的研究。

以不同性别类型的黄瓜高代自交系为材料,根据Genbank中提供的乙烯合成、信号转导有关基因序列、花器官发育相关的黄瓜性别决定蛋白基因、AGMOUS同源异型基因、前人报道的与性别表达相关的RAPD和ISSR引物,采用PrimerPremier5.00专业引物设计软件设计可能与性别表达有关特异引物,结果表明:仅有ACS1号引物对(引物序列1为:ACS-F1,5'-ATTCACATGGGT-3';ACCS-R1,5'-GCCAAAGCTCCACAT-3')、CsACS1G-SCAR引物(引物序列1为:ACS-F1,5'-TTAACTACTTCGGACGGGCGCATAG-3';ACCS-R1,5'-AGCTGTTCAGCAAACATAGGGTG-3')及RAPD引物S12的对不同性别类型的黄瓜DNA的PC对增产物表现出明显的多态性。F基因和性别表达有关的ACS280、CsACS1G-SCAR_430两个分子标记在一个连锁群上,与S12280标记不在一个连锁群上,与ACS_280、CsACSIG-SCAR_430连锁距离分别为31.4、10.0cM,在不同的群体上进一步证明了F基因与CsACSIG基因连锁,同时从分子水平间接证实强雌性基因Mod-F1,mod-F2不是F基因的等价基因。

6、强雌性材料选育及白黄瓜Xy2品种选育。

Xy2品种是以株洲攸县地方白黄瓜中系统选育的97-17强雌性系为母本,以浏阳白黄瓜自交系为父本配制而成的一代杂交种。早熟,植株生长势旺盛,叶色浓绿,第一雌花节位平均5~6节,雌花节率高,瓜条白色或白色缀绿条纹,瓜长28~35cm,单瓜重250~350g,园柱形,果型整齐,瓜条顺直,腔小肉厚,商品性佳。耐贮藏,运输,贮藏中不会出现大头瓜现象,货架期长。抗霜霉病、疫病、枯萎病,适宜湖南、湖北、四川、江西、浙江春大棚和春露地栽培。

10. 期刊论文 杨佳明. 司龙亭. 闫世江. 马志国 黄瓜叶片内源激素含量与耐低温性的关系研究 -安徽农业科学

2009, 37 (11)

[目的] 探讨黄瓜叶片内源激素含量与耐低温性的关系. [方法] 选取耐低温性不同的6份黄瓜材料,置于人工光照培养箱中培养14 d, 日间温度12 ℃,晚间温度8 ℃,光照8 h,光照强度为30 μmol/(m²2・s)(约合2 000 1x),对黄瓜叶片的脱落酸(ABA)、生长素(IAA)和赤霉素(GA_3)进行提取与测定. [结果] 各黄瓜材料叶片中ABA和GA_3含量均有不同程度增加,耐低温性材料越强,其增加的幅度越大,而叶片中IAA含量变化则不同,其中耐低温较强的材料增加的幅度较大,而耐低温较弱的材料有所降低,耐低温性中等的材料略有增加. [结论] 内源激素含量与耐低温性的关系密切,可作为黄瓜耐低温性的间接鉴定指标之一.

授权使用: 南京农业大学图书馆(wfnjny),授权号: 0f2b8e37-b13f-43d9-95de-9efa01101b31

下载时间: 2011年6月6日