

西双版纳黄瓜 RIL 群体叶绿素含量的遗传分析

马 政, 薄凯亮, 冀 刚, 钱春桃, 陈劲枫

(作物遗传与种质创新国家重点实验室·南京农业大学 南京 210095)

摘要: 西双版纳黄瓜 (*Cucumis sativus* L. var. *xishuangbannanensis* Qi et Yuan) 是我国特有的一个黄瓜变种。以其与北京截头黄瓜为亲本构建的重组自交系群体 (RIL) 为材料, 通过测定 RIL 群体中叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素总量含量以及叶绿素 a/b 值, 分析其叶绿素含量的遗传规律。结果表明: 在 RIL 群体中, 叶绿素 a、叶绿素 b 以及叶绿素总量含量均为连续变异, 而且分布频率符合正态分布, 存在明显的双向超亲分离现象。此外, 对 RIL 群体与亲本进行叶绿素含量分析比较, 选出了 6 个叶绿素 b 含量和叶绿素 a/b 值均优于亲本的株系, 为进一步研究黄瓜耐弱光机制奠定了一定的基础。

关键词: 西双版纳黄瓜; 叶绿素; 重组自交系

Genetic Analysis of Chlorophyll Content in A RIL Population Derived from Xishuangbanna Cucumber

MA Zheng, BO Kai-liang, JI Gang, QIAN Chun-tao, CHEN Jin-feng

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

Abstract: Xishuangbanna cucumber (*Cucumis sativus* L. var. *xishuangbannanensis* Qi et Yuan) is an unique variety of cucumber. In this experiment, chlorophyll a, chlorophyll b, chlorophyll a/b and total chlorophyll content were measured to study inheritance of chlorophyll content in the recombinant inbred lines (RIL) derived from Beijingjietou crossed with Xishuangbanna cucumber. Continuous variation in the RIL population was observed for chlorophyll a, chlorophyll b, chlorophyll a/b and total chlorophyll content. The frequency of chlorophyll content was normal distributed with apparent transgressive segregation. Six lines with higher chlorophyll b and a/b than their parents were selected. These researches laid the foundation for further investigating genetics of low light tolerance in cucumber.

Key words: Xishuangbanna cucumber; Chlorophyll; Recombinant inbred line

按照目前的分类, 黄瓜 (*Cucumis sativus* L.) 由 3 个变种组成, 其中西双版纳黄瓜 (*C. sativus* L. var. *xishuangbannanensis* Qi et Yuan) 是我国特有的一个黄瓜变种^[1], 具有耐低温弱光、果形大、果实富含 β 胡萝卜素等特点, 是黄瓜品种改良的重要资源。陈劲枫等于 1994 年对西双版纳黄瓜进行了报道, 并相继对其细胞学、系统发育学以及多项生理指标对环境胁迫的反应等方面进行了研究^[2-7]。宋慧^[8]对西双版纳黄瓜果实营养分析表明其含有大量 β 胡萝卜素、叶黄素、维生素 C 以及可溶性糖等。本文课题组在 2005 年春季, 以西双版纳黄瓜作父本、北京截头黄瓜作母本杂交获得 F_1 代, 后经过单粒传方式构建了一套含 124 个株系的 F_8 代重组自交系 (RILs), 这为测定和分析重组自交系 (recombinant inbred line, RIL) 群体中主要农艺性状遗传规律提供了试材。

叶绿素含量是判断植物光合作用特性的重要参

数, 是植物受各种逆境胁迫程度的衡量指标之一^[9]。李丹丹等^[10]曾通过对弱光下黄瓜苗期叶片叶绿素含量研究探讨黄瓜耐弱光的遗传机制。此外, 叶绿素 b 含量多少和叶绿素 a/b 的大小是判断植物耐弱光适应性的重要指标之一^[11]。本文课题组曾对该 RIL 群体中一些重要农艺性状进行了初步探讨^[12-13], 但并未对其叶绿素含量进行研究。本试验以西双版纳黄瓜、北京截头黄瓜以及以两者为亲本构建的 RIL 群体为材料, 通过测定其叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素总量含量和叶绿素 a/b 值, 分析叶绿素含量的遗传规律, 为进一步了解西双版纳黄瓜叶绿素含量分布, 进而为选育耐弱光、优质高产黄瓜品种提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为西双版纳黄瓜、北京截头黄瓜和以

收稿日期: 2011-08-30; 修回日期: 2011-10-11

作者简介: 马政, 男, 在读硕士研究生, 研究方向为蔬菜遗传育种与生物技术。电子信箱: myz162@163.com

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.cn

钱春桃, 男, 副教授, 硕导, 研究方向为瓜类蔬菜遗传育种。电话: 025-84396279; 电子信箱: chuntaoq@njau.edu.cn

两者为亲本构建的 F₈ 代重组自交系群体。其中, 西双版纳黄瓜是原产于我国云南省西双版纳地区的珍贵黄瓜变种, 原始种子由陈劲枫先生采集, 实验室高代自交保存; 北京截头黄瓜是华北型黄瓜, 由中国农业科学院蔬菜花卉研究所提供, 实验室高代自交留种。

1.2 试验设计

叶绿素含量测定: 将西双版纳黄瓜、北京截头黄瓜和 RIL 群体均于 2011 年 4 月 8 日定植于南京农业大学江浦试验站塑料大棚内。试验采用随机区组设计, 2 次重复, 小区长 3.0 m、宽 0.8 m、株距 25 cm, 统一滴灌浇水、施肥的田间栽培管理措施, 保证植株在均匀一致的环境条件下生长。

1.3 测定方法

叶绿素含量测定: 测定方法按照改进的 Arnon 分光光度计法^[14]。待植株长到始花期时, 用直径 1 cm 打孔器打取植株从上往下数第 4 片展开叶放于 10 mL 95% 乙醇离心管中, 3 次重复。用遮光布将离心管遮光后放于暗处 20 h 左右, 中间摇晃几次离心管, 保证叶片中叶绿素的溶解。待叶片由绿色变白时, 将浸取液摇匀, 使用 Spectrum752 型分光光度计测定。测定 470、649、665 nm 3 个波段下的 OD 数据, 根据公式求出相应的叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素总量含量和叶绿素 a/b 值。

叶绿素含量计算公式:

$$Ca = 13.95 \times OD_{665} - 6.88 \times OD_{649}$$

$$Cb = 24.96 \times OD_{649} - 7.32 \times OD_{665}$$

叶绿素含量 (mg·cm⁻²) = (叶绿素浓度 × 提取液体积 × 稀释倍数) / 叶面积

数据采用 SPSS17.0 软件进行处理和统计分析。

2 结果与分析

2.1 亲本及 RIL 群体叶绿素含量的表现

亲本和 RIL 群体叶绿素含量的表现见表 1。可以看出, RIL 群体叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素 a/b 和叶绿素总量均出现超双亲的个体, 但是 RIL 群体平均值与西双版纳黄瓜的含量值很接近; 亲本中, 西双版纳黄瓜的叶绿素 a、叶绿素 b 和叶绿素总量均高于北京截头黄瓜。

RIL 群体中叶绿素含量的频率分布见图 1。可以看出, 所测叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素 a/b 和叶绿素总量均表现连续的变异, 表明被调查的性状为多基因控制的数量性状。它们的偏度与峰度值见表 1, 除叶绿素 a/b 的峰度值大于 1 外, 其他的偏度和峰度值的绝对值均小于 1; 叶绿素 a/b 的偏度值小于 1, 峰度值大于 1, 表现为较正态分布向右扩展且尾部较细; 其他的偏度和峰度值的绝对值均小于 1, 其表现符合正态分布, 且存在明显的双向超亲分离。

表 1 RIL 群体及其亲本叶绿素含量

性状	亲本		重组自交系			
	西双版纳黄瓜	北京截头黄瓜	均值±标准差	变异范围	偏度	峰度
叶绿素 a/(mg·cm ⁻²)	41.663	36.767	41.051±0.536	25.422~58.389	0.370	0.275
叶绿素 b/(mg·cm ⁻²)	16.726	14.461	16.373±0.173	8.865~25.159	0.485	-0.023
叶绿素 a/b 值	2.492	2.539	2.543±0.017	2.162~3.496	0.967	4.138
叶绿素总量/(mg·cm ⁻²)	58.392	51.229	57.550±0.799	34.356~83.349	0.420	0.192

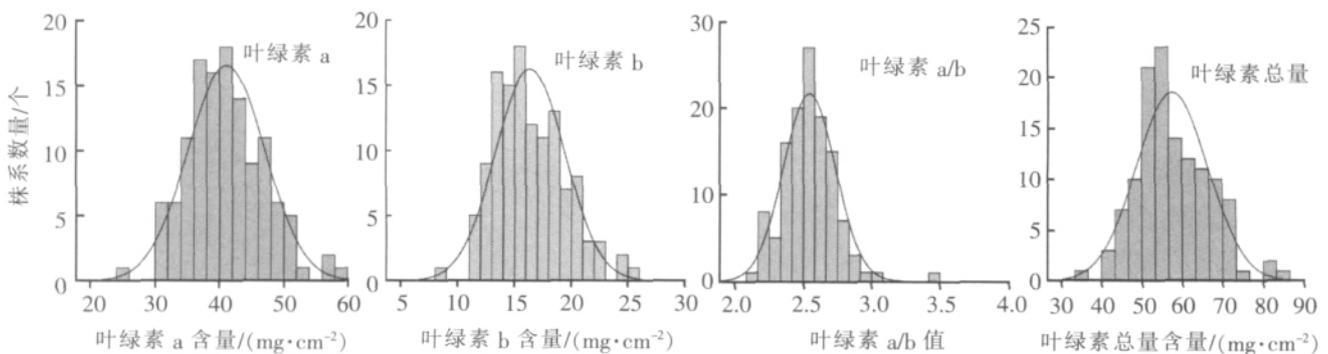


图 1 RIL 群体叶绿素含量的分布

2.2 RIL 群体遗传变异分析

RIL 群体中, 叶绿素 a 含量均值为 41.051 mg·cm⁻², 大于北京截头黄瓜, 但小于且接近于西双版纳黄瓜, 变异范围为 25.422~58.389 mg·cm⁻²; 叶绿素 b 含量均值为 16.373 mg·cm⁻², 大于北京截头黄瓜, 但

小于且接近于西双版纳黄瓜, 变异范围为 8.865~25.159 mg·cm⁻²; 叶绿素总量均值为 57.550 mg·cm⁻², 同样大于北京截头黄瓜, 但小于西双版纳黄瓜, 变异范围为 34.356~83.349 mg·cm⁻²; 叶绿素 a/b 均值大于双亲, 变异范围为 2.162~3.496(表 1)。

2.3 亲本与 RIL 群体叶绿素含量比较

试验结果显示,RIL 群体中叶绿素 a 含量小于双亲的株系最多,占 41.946%;叶绿素 b 含量超双亲的最多,占 40.323%;叶绿素 a/b 小于双亲的占 37.903%;叶绿素总量超双亲的占 39.516%(表 2)。在对 RIL 群体叶绿素含量进一步分析发现:在 RIL 群体中,叶绿素 b 含量超双亲的 50 个株系中有 34 个是大于西双版纳黄瓜叶绿素 b 含量的 10%,17 个大于 20%;叶绿素 a/b 值小于西双版纳黄瓜的 47 个株系中有 9 个小于其比值的 10%。其中,叶绿素 b 含量既大于西双版纳黄瓜 20%,而且叶绿素 a/b 值又小于西双版纳黄瓜 10% 的株系有 6 个,即 RIL67、RIL85、RIL 87、RIL 94、RIL 95 和 RIL 97(表 3)。

表 2 RIL 群体与双亲叶绿素含量比较

性状	超双亲株系		介于双亲之间株系		小于双亲株系	
	数量 /个	比率 /%	数量 /个	比率 /%	数量 /个	比率 /%
叶绿素 a	29	23.387	43	34.677	52	41.946
叶绿素 b	50	40.323	35	28.226	39	31.451
叶绿素 a/b	61	49.194	16	12.903	47	37.903
叶绿素总量	49	39.516	44	35.484	31	25.000

表 3 RIL 群体中优于亲本的株系
叶绿素 b 含量及 a/b 值

株系编号	叶绿素 b 含量 /(mg·cm ⁻²)	叶绿素 a/b 值
RIL67	21.595 9	2.162 2
RIL85	20.250 8	2.240 7
RIL87	22.401 3	2.194 7
RIL94	21.500 9	2.241 2
RIL95	22.421 2	2.236 5
RIL97	21.606 9	2.223 4

3 讨 论

本试验测定了亲本及 RIL 群体叶绿素含量,通过比较发现,西双版纳黄瓜叶绿素 a、b 以及叶绿素总量含量均高于北京截头黄瓜,而叶绿素 a/b 值小于后者。崔继林等^[11]认为叶绿素 b 含量多的植物吸收弱光的能力强,对弱光条件有更好的适应性。在不同光照条件下测定西双版纳黄瓜和北京截头黄瓜的主要光合参数,发现西双版纳黄瓜的净光合速率均高于北京截头黄瓜(待发表)。这说明了西双版纳黄瓜光合性能潜力相对较大,更加适合在光照不足的设施条件下进行栽培,但是对弱光的适应程度还需要进一步研究。

从表 1 可以看出,RIL 群体中的叶绿素含量均表现出了明显的双向超亲分离现象,而变异范围越大则表示其蕴含的遗传基础越广泛,在育种中进行资源筛选的潜力就越大。与亲本比较选出 6 个叶绿

素 b 含量高于西双版纳黄瓜 20%,而且叶绿素 a/b 值小于西双版纳黄瓜 10% 的株系。这些株系具备了叶绿素 b 含量高和叶绿素 a/b 值低的特点,说明其可以适合一定的弱光条件。这为以后选育耐弱光材料,解决温室栽培光照弱等因素奠定了基础。但是,为了更广泛的选育品种,还需构建西双版纳黄瓜的遗传图谱,确定其叶绿素含量的 QTLs。

4 结 论

西双版纳黄瓜中叶绿素 a、b 以及叶绿素总量均高于北京截头黄瓜,以两者为亲本构建的 RIL 群体叶绿素含量均符合正态分布,且出现超亲分离现象,属于多基因控制的数量遗传;西双版纳黄瓜的高叶绿素含量性状已经导入其后代,且从 RIL 群体中筛选获得了 6 个叶绿素 b 含量和叶绿素 a/b 值均优于亲本的株系。

参考文献

- [1] 戚春章,袁珍珍,李玉湘,等. 黄瓜新类型——西双版纳黄瓜[J]. 园艺学报,1983, 10(4): 259-263.
- [2] Chen J F, Zhang S L, Zhang X G. The xishuangbanna gourd (*C. sativus* L. var. *xishuangbannanensis* Qi et Yuan), a traditionally cultivated plant of the Hanai people, Xishuangbanna, Yunnan, China[C]. Cucurbit Genetics Cooperative Report, 1994, 17: 18-20.
- [3] 钱春桃,陈劲枫,娄群峰,等. 黄瓜花粉母细胞减数分裂行为的研究[J]. 武汉植物学研究, 2003, 21(3): 193-197.
- [4] 陈劲枫,庄飞云,透明辉,等. 采用 SSR 和 RAPD 标记研究黄瓜属(葫芦科)的系统发育关系[J]. 植物分类学报, 2003, 41(5): 427-435.
- [5] Zhuang F Y, Chen J F, Staub J E, et al. Assessment of genetic relationship among *Cucumis* spp. by SSR and RAPD marker analysis [J]. Plant Breeding, 2004, 123(2): 167-172.
- [6] 杨寅桂,娄群峰,庄勇,等. 黄瓜幼苗热胁迫响应基因的分离[J]. 生态学杂志, 2007, 26(7): 1034-1037.
- [7] 庄飞云,陈劲枫. 黄瓜栽培种、近缘野生种、种间杂种及其回交后代的 RAPD 分析[J]. 园艺学报,2003, 30(1): 47-50.
- [8] 宋慧. 黄瓜花药培养及橙色果肉 QTL 分析和类胡萝卜素合成酶基因定位研究[D]. 南京: 南京农业大学,2009.
- [9] 许大全. 光合作用效率[J]. 植物生理学通讯, 1988(5): 1-7.
- [10] 李丹丹,司龙亭,李季,等. 弱光下黄瓜幼苗叶片叶绿素含量的遗传分析[J]. 华北农学报,2009,24(1): 133-137.
- [11] 崔继林. 光合作用与生产力[M]. 南京: 江苏科学技术出版社, 2000.
- [12] 薄凯亮,沈佳,钱春桃,等. ‘北京截头’×西双版纳黄瓜重组自交系群体重要农艺性状的遗传分析[J]. 南京农业大学学报,2011, 34(3): 20-24.
- [13] 薄凯亮,陈龙正,钱春桃,等. 短日处理诱导西双版纳黄瓜开花试验[J]. 中国瓜菜, 2010, 23(4): 1-3.
- [14] Arnon D I. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*[J]. Plant Physiol, 1949, 24(1): 1-15.