

弱光下黄瓜幼苗叶片叶绿素含量的遗传分析

李丹丹,司龙亭,李 季,金正爱,牛海臣

(沈阳农业大学 园艺学院,辽宁 沈阳 110161)

摘要:采用两种不同的遗传方法,分析弱光下黄瓜自交系 M_{22} 、 M_{14} 及其 6 个世代幼苗叶片总叶绿素含量的遗传效应,以期能从基因作用方面阐明黄瓜耐弱光遗传机制。6 个世代联合遗传分析方法研究结果表明,弱光下总叶绿素含量遗传符合加性-显性-上位性多基因遗传模型, B_1 、 B_2 、 F_2 多基因遗传率分别为 41.60%、43.68% 和 68.13%。应用世代平均数分析方法进行遗传效应估计,结果表明,叶绿素含量遗传符合加性-显性-上位性遗传模型,其中平均显性度为 2.001,为超显性遗传。研究结果表明,控制黄瓜总叶绿素含量性状基因间为加性-显性-上位性作用,以微效多基因为主,受环境影响较大,不宜进行早代选择。

关键词:黄瓜;弱光;叶绿素;遗传分析;微效多基因

中图分类号:S642.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-7091(2009)01-0133-05

Genetic Analysis on Chlorophyll Contents of Cucumber Seedling under Low Light

LI Dan-dan, SI Long-ting, LI Ji, JIN Zheng-ai, NIU Hai-chen

(College of Horticulture, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161, China)

Abstract: The genetic effects of chlorophyll contents of cucumber inbred lines (M_{22} , M_{14}) and their six generations seedling under low light was analyzed by using tow different genetic methods. The principle of genetics was studied with joint analysis of six generations and the results indicated that the chlorophyll contents of B_1 , B_2 , F_2 under low light fit to a major gene plus additive-dominance-epistasis polygene model, and the polygene heritability are 41.60%, 43.68% and 68.13% respectively. The genetic effect was studied by the generation average method, the result indicated that the chlorophyll contents also fit to additive-dominance-epistasis model, the degree of mean dominance is 2.001, which indicated the exceed inheritance. This study indicated that the genes which control the whole chlorophyll contents are additive-dominance-epistasis and most are min-effect polygene, so this is affected by environment easily, does not fit to the earlier choice.

Key words: Cucumber; Low light; Chlorophyll contents; Genetic analysis; Min-polygene

弱光已成为北方黄瓜保护地栽培的主要限制因子,弱光使黄瓜生长速度变慢,化瓜率升高,产量下降,而且黄瓜遇单一弱光和亚适温弱光后叶片光合色素含量、光合速率等都受到影响^[1,2]。叶绿体光合膜上色素及其色素蛋白复合体的形成、含量和分布均受光强弱的影响^[3,4]。叶绿素是植物吸收、传递、转换光能的主要色素,在一定范围内叶片的叶绿素含量与光合速率呈正相关关系^[5]。弱光下总叶绿素含量增加,且叶绿素 b 含量增加较多,叶绿素 a/b

比值下降^[6],这是植物对弱光逆境的一种适应性反应^[7,8]。叶绿素含量可作为植物叶片衰老开始的标志和逆境条件下生理反应的重要参数^[9]。可以利用叶绿素含量来衡量植物受逆境胁迫程度,叶绿素含量可作为衡量植物耐弱光性强弱的指标之一。有关弱光胁迫对植物影响的研究,国内外已有许多报道^[10-12],但对弱光条件下黄瓜叶绿素含量的遗传研究少见报道。为进一步明确黄瓜耐弱光性的遗传规律,本研究应用两种遗传分析方法,继续深入探讨

收稿日期:2008-12-21

基金项目:辽宁省“十五”科技攻关课题(2002215004)

作者简介:李丹丹(1981-),女,黑龙江泰来人,在读博士,主要从事蔬菜遗传育种研究工作。

通讯作者:司龙亭(1955-),男,辽宁沈阳人,教授,博士,博士生导师,主要从事蔬菜遗传育种研究工作。

此性状的遗传效应及其表现,以期能够从基因作用方面阐明黄瓜耐弱光遗传机制。

1 材料和方法

1.1 供试品系

试验材料为高代纯合的黄瓜自交系(自交 7 代以上),由沈阳农业大学黄瓜育种课题组提供,前期通过耐弱光指数和形态指标筛选,选择耐弱光品系 M₂₂(P₁)和不耐弱光品系 M₁₄(P₂)。杂交获得 F₁,F₁ 自交,并与其亲本进行回交,分别获得 F₂,B₁,B₂ 群体。

1.2 试验设计

2007 年 6 月在沈阳农业大学试验基地温室内以组合为单位播种 6 个世代的种子,3 次重复,随机区组设计。P₁,P₂,F₁ 每小区种植 10 株,B₁,B₂ 每小区种植 20 株,F₂ 每小区种植 40 株,单株播种于 8 cm × 8 cm 营养钵中,营养钵间距 5 cm,设置保护行。待一叶一心时用双层黑色遮阳网进行遮光处理,日平均光强为 100 μmol/(m²·s),处理 30 d 后除去边株,随机取样,以单株为单位测定叶绿素含量。

1.3 试验方法

叶绿素测定采用 SPAD-504 便携式叶绿素仪(日本)于黄瓜四叶一心时,活体测定第一片真叶主脉之间叶片的叶绿素含量,3 次重复。数据分析采用主基因-多基因混合遗传分离分析^[13],与世代平均数遗传分析^[14]两种方法。数据处理采用 DPS 统计软件。

2 结果与分析

2.1 亲本自交系间叶绿素含量差异显著性分析

经方差分析,亲本 M₂₂与 M₁₄总叶绿素含量达到极显著差异(表 1),说明亲本的叶绿素含量存在显

著差异,可以做进一步的遗传分析。

表 1 亲本自交系叶绿素含量方差分析

Tab. 1 Variance analyses of chlorophyll contents for parent lines

变异来源 Source of variance	自由度 Degree of freedom	平方和 Sum. of squares	均方 Mean square	F 值 F value
区组 Block	28	689.059 2	24.609 3	1.015 0
处理 Treatment	1	1 284.983 0	1 284.983 0	52.99 **
误差 Error	28	678.991 9	24.249 7	
总变异 Total variance	57	2 653.034 0		

2.2 亲本自交系间叶绿素含量正反效应分析

将亲本 M₂₂与 M₁₄自交系的正交和反交叶绿素含量进行差异显著性分析列于表 2,结果表明:正反交叶绿素含量差异不显著,说明黄瓜叶片叶绿素含量主要受核基因控制,细胞质影响较小。

表 2 正反交叶绿素含量方差分析

Tab. 2 Variance analyses of chlorophyll contents for reciprocal crosses

变异来源 Source of variance	自由度 Degree of freedom	平方和 Sum. of squares	均方 Mean square	F 值 F value
区组 Block	27	1 661.122 0	61.523 0	0.005 2
处理 Treatment	1	7.627 0	7.627 0	0.563 3
误差 Error	27	601.364 5	22.272 8	
总变异 Total divergence	55	2 270.113 0		

2.3 主基因-多基因混合遗传分析

2.3.1 6 世代叶绿素含量的次数分布 表 3 表明,P₁ 平均叶绿素含量为 47.90(SPAD 值),亲本 P₂ 平均叶绿素含量为 57.20,为高值亲本,F₁ 群体平均数为 55.87,介于两亲本之间,且偏向于大值亲本,表型分布呈正态分布。而且,两组合分离群体叶绿素含量变幅为 35~72.5,远远超出双亲值范围,表明控制叶绿素含量的增效和减效基因在双亲中呈分散分布,通过基因重组可产生正向和负向两个方向的超亲家系。

表 3 6 个世代叶绿素含量的次数分布

世代 Gener- ation	叶绿素含量 (SPAD 值) Chlorophyll contents (SPAD value)													总株数 / 株 Numbers	平均值 Average value
	< 40	~ 42.5	~ 45	~ 47.5	~ 50	~ 52.5	~ 55	~ 57.5	~ 60	~ 62.5	~ 65	~ 67.5	> 70		
P ₁	1	2	6	6	6	6	3							29	47.90
P ₂					3	2	5	5	3	6	4	2		30	57.20
F ₁		1		1	2	2	3	6	4	5	3	3		30	55.87
F ₂		2	3	3	14	13	14	24	27	10	6	4	1	121	54.18
B ₁	1		3	2	3	7	9	16	3	8	4	3	1	60	55.03
B ₂	1		1	3	7	3	7	14	8	5	6	2	3	60	56.68

2.3.2 F₂,B₁,B₂ 世代叶绿素含量的分离分析 分离群体叶绿素含量的表型分布见图 1,图 1 表明,F₂ 群体分离比较明显,呈偏态分布,峰值不明显说明多基因对分布有较大影响。B₁,B₂ 群体分别呈 3 峰和

2 峰分布,有明显的主基因 + 多基因存在特征,可以应用主基因-多基因遗传模型进行分析。并且各平均值相对差异较大,说明微效多基因起主要作用。

2.3.3 遗传模型选择 应用主基因 + 多基因遗传

模型分析方法得 5 类 24 种遗传模型的极大似然函数值和 AIC 值,并将其中 AIC 值较小的 4 个候选模型列于表 4 ,结果表明 ,C-0模型的 AIC 值最小 ,C-1、D-0、D-2 次之 ,初步确定 C-0 为最适模型。

表 5 表明 ,6 个世代 30 个统计量中 ,C-0 模型的所有统计量经适合性检验后 ,6 世代群体的叶绿素含量的分布与理论分布基本一致 ($P > 0.05$) ,同时结合图 1 分离世代群体的表型分布 ,选择 C-0 为最优遗传模型。

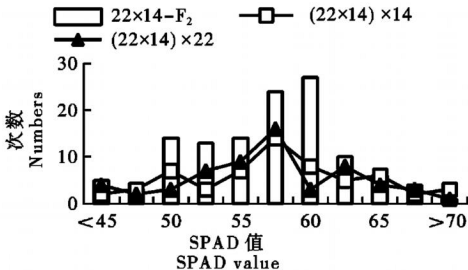


图 1 叶绿素含量次数分布

Fig.1 Frequency of chlorophyll contents

表 4 不同模型的极大似然函数值和 AIC 值

Tab.4 The AIC value and Max-likelihood-value of different models					
模型 Models	极大似然函数值 Max-likelihood-value	AIC 值 AIC value	模型 Models	极大似然函数值 Max-likelihood-value	AIC 值 AIC value
C-0	- 1 030.917	2 081.835	D-0	- 1 030.932	2 085.865
C-1	- 1 035.273	2 116.438	D-2	- 1 050.803	2 117.606

表 5 备选模型适合性检验

Tab.5 Test for fitness of candidate models						
模型 Model	世代 Generation	统计量 Statistics				
		U_1^2	U_2^2	U_3^2	nW^2	Dn
C-0	P ₁	0.000(0.999 4)	0.018(0.893 9)	0.281(0.595 8)	0.025 4	0.161 8
	P ₂	0.090(0.764 3)	0.052(0.819 4)	0.061(0.804 3)	0.026 2	0.119 5
	F ₁	0.009(0.924 1)	0.008(0.928 6)	0.000(0.991 3)	0.023 9	0.081 6
	B ₁	0.000(0.985 5)	0.001(0.977 8)	0.033(0.855 8)	0.029 2	0.171 8
	B ₂	0.001(0.980 4)	0.008(0.928 3)	0.070(0.791 2)	0.046 0	0.081 6
	F ₂	0.009(0.925 6)	0.000(0.993 7)	0.154(0.694 3)	0.043 3	0.051 5
D-0	P ₁	1.840(0.174 9)	1.942(0.163 5)	0.102(0.748 9)	0.207 5	0.161 9
	P ₂	0.860(0.353 9)	0.934(0.333 8)	0.076(0.783 0)	0.096 4	0.119 5
	F ₁	0.033(0.856 1)	0.024(0.876 1)	0.006(0.937 3)	0.026 9	0.084 7
	B ₁	4.901 *	4.586 *	0.000(0.993 2)	0.530 7 *	0.171 8
	B ₂	0.174(0.676 4)	0.112(0.738 0)	0.078(0.780 6)	0.065 7	0.081 6
	F ₂	0.160(0.688 8)	0.087(0.768 6)	0.140(0.708 2)	0.061 7	0.051 5

注：* .在 0.05 水平上差异显著。
Note：* .Difference at 5 %level.

2.3.4 遗传参数的估计 由表 6 可知 ,C-0 模型即加性 - 显性 - 上位多基因模型无主基因存在 ,无关主基因的分析。B₁ ,B₂ ,F₂ 环境方差占表型方差比率分别为 58.4 % ,56.3 % ,98.9 % ,说明环境对黄瓜叶片总叶绿素含量影响很大 ,弱光严重影响黄瓜幼苗

叶片总叶绿素含量。分离世代多基因遗传率为 41.60 % ~ 68.13 % ,F₂ 高达 68.13 % ,弱光下黄瓜幼苗叶片总叶绿素含量受微效多基因控制 ,同时受环境影响很大 ,不适宜早代选择。

表 6 弱光下黄瓜幼苗叶片中叶绿素含量的遗传参数估计

Tab.6 Estimates of genetic parameters of chlorophyll contents in the seeding leaf for cucumber					
一阶参数 1st parameter	估计值 Estimate	二阶参数 2nd parameter	估计值 Estimate		
			B ₁	B ₂	F ₂
m ₁	49.898 6	$\frac{2}{p}$	42.950 2	44.550 7	25.363 1
m ₂	55.872 3	$\frac{2}{e}$	25.083 6	25.083 6	25.083 6
m ₃	57.202 3	$\frac{2}{pg}$	17.866 6	19.460 7	17.279 5
m ₄	55.029 8	h_{pg}^2 / %	41.60	43.68	68.13
m ₅	55.029 8				
m ₆	56.666 1				

注： $\frac{2}{p}$. 表型方差； $\frac{2}{pg}$. 多基因方差； $\frac{2}{e}$. 环境方差； h_{pg}^2 . 多基因遗传率。
Note： $\frac{2}{p}$. Phenotypic variance； $\frac{2}{pg}$. Major gene variance； $\frac{2}{e}$. Environmental variance , h_{pg}^2 . Polygene heritability value.

2.4 叶绿素含量世代平均数遗传分析

2.4.1 叶绿素含量遗传效应分析 由表 3 可知 ,

F₁ ,F₂ 和 B₁ ,B₂ 的叶绿素含量介于双亲之间 ,F₁ 均接近于大值亲本 ,说明叶绿素含量的遗传受含量高的

亲本影响较大。根据 6 个世代的均值、方差、标准误进行遗传参数的估算,结果列于表 7。适合度检验结果为 $\chi^2 = 610.431 > \chi^2_{0.01}$,说明叶绿素含量遗传不

符合加性 - 显性模型。进行 6 参数模型检验,同时计算各基因效应值。

表 7 叶绿素含量的 3 参数联合尺度检验

Tab. 7 Three parameters unite scale test of chlorophyll contents

世代 Generation	样本数 Numbers	标准差 Standard error	平均值 Mean		差异 O-E contrast	加权 n/ Vx Weighting	$\chi^2 = (O - E)^2 \times n / Vx$
			观察值 Deserved value	期望 Expected value			
P ₁	29	0.886	47.90	49.70	- 1.804	36.971	30.757
P ₃	30	0.923	57.20	55.86	1.341	35.191	5.205
F ₁	30	0.990	55.87	56.85	- 0.981	30.584	14.901
F ₂	120	0.536	54.18	54.82	- 0.634	418.556	108.504
B ₁	60	0.853	55.03	53.28	1.752	82.418	451.054
B ₂	60	0.869	56.68	56.36	0.326	79.692	0.010
总数 Total			$\chi^2_{(3)} = 610.431$				

6 参数模型检验结果表明,加性互作效应不显著,需要重新拟合。将结果列于表 8,结果表明: $\chi^2 = 6.728E - 10 < \chi^2_{0.05}$, χ^2 统计值小于对应的临界

值,达到极显著水平,总叶绿素含量遗传符合加性 - 显性 - 上位性模型。

表 8 叶绿素含量的 6 参数模型检验

Tab. 8 Six parameters model verify of chlorophyll contents

世代 Generation	平均值 Mean		差异 O-E contrast	加权 n/ Vx Weighting	$\chi^2 = (O - E)^2 \times n / Vx$
	观察值 Deserved value	期望值 Expectation value			
P ₁	47.90	47.90	0.000 0	36.971	0.000
P ₃	57.20	57.20	- 1E- 04	35.191	2.842E- 10
F ₁	55.87	55.87	- 0.000 1	30.584	3.290E- 10
F ₂	54.18	54.18	0.000 0	418.557	0.000
B ₁	55.03	55.03	- 5E- 05	82.418	3.033E- 10
B ₂	56.68	56.68	- 5E- 05	79.692	3.137E- 10
总数 Total			$\chi^2_{(1)} = 6.728E - 10$		

由表 9 知,显性效应值较大,说明以显性效应为主,兼有加性效应、显性互作和加显互作。其中,显性效应较高为 23.289,显性效应标准误差达 11.084,表明叶绿素含量遗传存在显性正效应,倾向于含量高的亲本,且控制叶绿素含量的各基因显性程度差异较大。加性效应达到负向极显著,加性互作效应为正向显著,显性互作效应为负向显著,说明叶绿素含量高低不同的两个自交系的 F₁ 杂交种有降低性状平均数的作用,控制叶绿素含量的各基因座的加性效应符号不一致,显性程度差异很大。

表 9 叶绿素含量各基因效应

Tab. 9 Genetic effects of chlorophyll contents

基因效应 Genetic effect	估计值 Estimated value	标准误 Standard error	T 值 T value
[m]	45.857	8.119	5.648
[d]	- 4.652	0.782	- 5.949
[h]	23.289	11.084	2.100
[i]	6.694	8.162	0.820
[j]	5.998	3.001	1.999
[l]	- 13.274	6.274	- 2.116

遗传参数估计表明(表 10),平均显性度大于 1,叶绿素含量具有超显性作用。叶绿素含量广义遗传

力为 63.71%,狭义遗传力为 38.83%,广义遗传力较低,受环境影响较大。

表 10 叶绿素含量遗传估计值

Tab. 10 Estimate of inheritance parameter of chlorophyll contents

遗传参数 Genetic parameter	估计值 Estimated value
平均显性度 (H/D) ^{1/2} Mean dominance degree	2.001
广义遗传力 h _B ² / %	63.71
狭义遗传力 h _N ² / %	38.83

3 讨论

利用世代平均数分析方法可以估算出控制叶绿素含量基因的遗传组成、平均显性度、遗传力及各种基因效应,从整体上知道控制弱光下黄瓜幼苗叶片总叶绿素含量的作用主要为显性作用,加性部分占很少的一部分。但不能判断主基因与多基因的存在,而 6 世代联合尺度可以对世代平均数分析方法进行补充,不但可以判断主基因、多基因的存在,还能够获得主基因和微效基因的遗传率、遗传组成等更多遗传信息。

弱光胁迫下黄瓜性状研究十分重要,顾兴芳等^[15]认为黄瓜苗期各性状的遗传基本符合加性-显性模型。本研究应用两种遗传分析方法,结果均表明,弱光下总叶绿素含量为加性-显性-上位性遗传。应用主基因+多基因混合遗传模型分析方法研究结果显示,控制总叶绿素含量的最优模型是C-0模型,分离世代多基因遗传率为41.60%~68.13%, F_2 高达68.13%,弱光下黄瓜幼苗叶片总叶绿素含量受微效多基因控制。分离世代环境方差较大,环境对黄瓜叶片叶绿素含量影响很大。世代平均数分析方法表明,控制总叶绿素含量的基因间为加性-显性-上位性作用,平均显性度大于1,具有超显性作用;广义遗传力为63.71%,狭义遗传力为38.83%。

叶绿素是与光合密切相关的一个重要数量性状,其遗传非常复杂。因此有关不同环境下叶绿素的遗传研究结果不尽相同。一些试验表明叶绿素a、叶绿素b、总叶绿素含量受微效多基因控制^[16],杨国华等^[17]对水稻剑叶叶绿素含量相关性状QTL分析结果也表明,控制叶绿素含量基因为微效多基因,这与本试验研究结果一致。还有研究者认为黄瓜叶绿素a/b含量广义遗传力较高,受环境的影响较小,能稳定的表达,可进行早代选择,黄瓜叶绿素a/b含量遗传不符合加性-显性模型^[18]。而本试验研究结果表明黄瓜幼苗叶片总叶绿素含量为加性-显性-上位性遗传,出现不同的结果,可能是试验条件不同所致。本试验是在田间进行遮阳处理,李健吾等^[18]的试验是在光照培养箱中处理,不排除其他环境条件的影响,具体原因有待进一步研究和分析。

参考文献:

- [1] 韩建会,徐淑贞,张 塏. 日光温室不同季节生态环境对黄瓜光合作用的影响[J]. 华北农学报,2003,18(院庆专辑):24-126.
- [2] 艾希珍,马兴庄,于立明,等. 弱光下长期亚适温和短期低温对黄瓜生长及光合作用的影响[J]. 应用生态学报,2004,5(11):2091-2094.
- [3] 许春辉,赵福洪,王可玢,等. 光逆境对叶绿体叶绿素蛋白质复合物的影响[J]. 植物学通报,1994,11(4):8-11.
- [4] Leong T Y. Adaptation of the thylakoid membranes of pea chloroplasts to light intensity. I. Study on the distribution of chlorophyll protein complexes[J]. Photosyn Res,1984,5:105-115.
- [5] 潘瑞炽,董愚得. 植物生理学[M]. 北京:高等教育出版社,1995:67-78.
- [6] 李 伟,黄金丽,睦晓雷,等. 黄瓜幼苗光合及荧光特性对弱光的响应[J]. 园艺学报,2008,35(1):119-122.
- [7] 睦晓雷,张振贤,张宝玺,等. 不同品种辣椒幼苗光合作用及弱光耐受性的差异[J]. 2005,园艺学报,32(2):222-227.
- [8] 睦晓雷,毛胜利,王立浩,等. 光条件下辣椒幼苗叶片的气体交换和叶绿素荧光特性[J]. 园艺学报,2007,34(3):615-622.
- [9] 沈成国. 植物衰老生理与分子生物学[M]. 北京:中国农业出版社,2001:30-41.
- [10] 张吉旺,董树亭,王空军,等. 遮光对夏玉米生长发育和产量性状的影响[J]. 应用生态学报,2006,17(4):657-662.
- [11] 唐中华,郭晓瑞,于景华,等. 弱光对长春花(*Catharanthus roseus*)幼苗中可溶性糖、生物碱及激素含量的影响[J]. 生态学报,2007,27(11):4419-4424.
- [12] 芦晓磊,宁 伟,汤 贺,等. 光照强度对马齿苋生长及光合特性的影响[J]. 华北农学报,2008,23(2):41-44.
- [13] 章元明,盖钧镒,王建康. 利用回交 B_1 和 B_2 及 F_2 群体鉴定数量性状两对主基因-多基因混合遗传模型[J]. 生物数学学报,2000,15(3):358-366.
- [14] 刘来福,毛盛贤,黄远樟. 作物数量遗传[J]. 北京:农业出版社,1984:80-97.
- [15] 顾兴芳,张春霞,封林林,等. 保护地黄瓜苗期性状遗传分析[J]. 园艺学报,2002,29(5):443-446.
- [16] Dennijs A P M, Smeets L. Analysis of differences in growth of cucumber genotypes under low light conditions in relation to night temperature [J]. Euphytica,1987,36:19-31.
- [17] 杨国华,李绍清,冯玲玲,等. 水稻剑叶叶绿素含量相关性QTL分析[J]. 武汉大学学报,2006,52(6):751-756.
- [18] 李建吾,安红伟,余纪柱,等. 弱光下黄瓜苗期几个生理指标的遗传分析[J]. 上海农业学报,2006,22(1):25-30.