

# 黄瓜叶色突变体遗传机制的研究

国艳梅<sup>1,2</sup> 顾兴芳<sup>1</sup> 张春震<sup>1</sup> 方秀娟<sup>1</sup> 张圣平<sup>1</sup> 徐彩清<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 北京 100081; <sup>2</sup> 东北农业大学园艺学院, 哈尔滨 150030)

**摘 要:** 从黄瓜雌性系 9110G 中发现能稳定遗传的叶色突变体。该突变体子叶和第 1~2 片真叶最初为金黄色, 叶绿素含量约为正常株的 3/5, 但随着叶片的生长这些叶片逐渐转绿。该突变体叶色黄主要是由叶绿素降低引起的, 与类胡萝卜素无关。通过对亲本、F<sub>1</sub>、BC 及 F<sub>2</sub> 后代观察和叶绿素测定, 证明该突变体是细胞核遗传, 由单一隐性基因控制, 并且绿色对黄色为不完全显性。该突变性状是研究光合系统和基因定位的好材料, 同时也可用来作为指示性状鉴定杂种纯度。

**关键词:** 黄瓜; 叶色突变; 叶绿素; 遗传

**中图分类号:** S 642.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2003) 04-0409-04

叶色突变是自然界比较普遍的一种突变。叶绿素缺失突变的研究开始较早, 20 世纪 30 年代就有报道。植物叶色基因突变的类型已有不少报道, 尤其是“芽黄”突变, 在棉花<sup>[1]</sup>、水稻<sup>[2]</sup>、大豆<sup>[3]</sup>、小麦<sup>[4]</sup>、西瓜<sup>[5]</sup>上早有报道, 并已用在育种中。在黄瓜上也有芽黄<sup>[6,7]</sup>和叶色突变<sup>[8]</sup>等方面的报道, 但对黄瓜叶色突变遗传机制的研究报道不多。2000 年春季, 作者发现本所育成的 9110G 雌性系的 1 个株系, 所有幼苗子叶和第 1~2 片真叶最初均为金黄色, 随着叶片的充分展开定型, 叶色逐渐转绿; 此后出现的叶片开始虽比正常株系的叶色浅, 但差别不大。为进一步弄清该突变体的遗传规律及转色机制, 作者以正常株与突变株及它们的回交后代、杂交后代为试材, 通过肉眼观察和叶绿素测定分析相结合的方法进行系统研究, 旨在为今后该性状的利用提供理论依据。

## 1 材料与方法

试验于 2001~2002 年在中国农业科学院蔬菜花卉研究所日光温室进行。供试黄瓜材料为中国农业科学院蔬菜花卉所育成的 9110G 雌性系 (正常株) 及其突变株系。为研究该突变体的遗传规律, 于 2001 年配制突变体与正常株系的 F<sub>1</sub>、BC 及 F<sub>2</sub>, 2002 年春分两批 (不同播期) 播种, 采用肉眼和叶绿素测定方法详细观察记载各分离后代叶色的分离情况, 通过 X<sup>2</sup> 测定法验证遗传规律。

以突变和正常株系为试材, 研究叶色变化规律, 设正常株和突变体两个处理, 每处理 12 株, 3 次重复, 随机区组排列。从破土开始对整个生长期的性状进行细致观察记载。同时分别于子叶期、第 1 真叶期、第 2 真叶期、成株期测定叶绿素 a、叶绿素 b、总叶绿素和类胡萝卜素含量, 重复 3~4 次。

叶绿素和类胡萝卜素的测定与计算参照白宝璋等<sup>[9]</sup>的方法: 取 0.05~0.25 g 的新鲜黄瓜叶片剪碎, 放入 50 mL 试管中, 加入 20 mL 1:1 乙醇丙酮混合液, 摇动, 黑暗中避光 24 h 浸提, 将提取液 (或稀释后) 在分光光度计上测定 663、645 和 440 nm 波长的光密度, 计算叶绿素 a、叶绿素 b 和类胡萝卜素含量。

## 2 结果与分析

### 2.1 突变体的叶色遗传分析

观察结果表明: 9110G 突变株子叶为黄色, 正常株为绿色。随着苗龄延长, 突变株子叶颜色慢慢转绿。第 1 真叶叶绿素含量变化如表 1。第 1 真叶在展平时, 叶色的区别特别明显, 正常株为绿色,

收稿日期: 2002-11-10; 修回日期: 2003-05-27

突变株为金黄色, 突变株以叶脉附近叶肉先变黄, 向叶缘扩展, 最后整个叶片均匀一致的变黄。随着第 2 真叶抽出, 突变株第 1 真叶叶色在慢慢转绿, 以叶脉附近叶肉先变绿, 向叶缘扩展, 最后整个叶片均匀一致的浅绿, 随着苗龄的增长, 叶色慢慢接近正常株。第 2 真叶叶色也为金黄色, 叶色转换同第 1 真叶,  $F_1$  的颜色居于两者之间。

表 1 第 1 真叶不同时期总叶绿素含量

Table 1 Chlorophyll content of the first true leaf under different stages

(mg/g FM)

材料 Materials	展叶前 1 天 1 day before the leaf spreads out	完全展叶 The leaf spreads out	展叶后 1 天 1 day after the leaf spreads out	展叶后 2 天 2 days after the leaf spreads out	展叶后 3 天 3 days after the leaf spreads out	展叶后 4 天 4 days after the leaf spreads out	展叶后 5 天 5 days after the leaf spreads out
突变株 Mutant	1.45	1.41	1.57	1.68	1.63	1.64	1.65
正常株 Normal	2.07	2.41	2.38	2.33	2.05	1.85	1.88
$F_1$	1.76	2.32	2.07	1.96	1.81	1.79	1.77

叶绿素测定与叶色观察均证明正交与反交的  $F_1$  代叶色均为中间色,  $F_1$  与正常株的回交后代分离为绿色和中间色, 分离比例接近 1:1;  $F_1$  与突变株的回交后代分离为黄色与中间色, 分离比例也接近 1:1。  $F_2$  代分离为绿色、中间色、黄色, 分离比例接近 1:2:1, 经卡平方测验差异均不显著。以上结果表明, 该突变体是细胞核遗传, 由隐性基因控制, 并且绿色对黄色为不完全显性 (表 2)。

表 2 黄瓜正常株系与金黄色突变株系杂交后代分离表现

Table 2 Separation proportion of hybrid of mutant plant and normal plant

试验批次 Experiment times	后代 Progeny	组合 Combination	黄色 Yellow	中间色 Intermediate	绿色 Green	总株数 Total	期望比 Theoretical ratio	$\chi^2$	$\chi^2_{0.05}$	$P$
第 1 批 The first group	$F_1$	$P \times T$	0	24	0	24				
	$F_1$	$T \times P$	0	24	0	24				
	BC	$(P \times T) \times T$	16	22	0	38	1:1	0.658	3.841	<0.05
		$(P \times T) \times P$	0	19	17	36	1:1	0.028	3.841	<0.05
	$F_2$		32	77	36	145	1:2:1	0.777	5.991	<0.05
第 2 批 The second group	$F_1$	$P \times T$		24		24				
	$F_1$	$T \times P$		24		24				
	BC	$(P \times T) \times T$	47	51		98	1:1	0.092	3.841	<0.05
		$(P \times T) \times P$		18	18	36	1:1	0	3.841	<0.05
	$F_2$		35	82	39	156	1:2:1	0.615	5.991	<0.05

注: T. 突变株; P. 正常株;  $F_1$ . 杂种一代; BC. 回交;  $F_2$ . 杂交二代。黄色、中间色、绿色叶片的叶绿素含量范围分别为: 1.23 ~ 1.67 mg/g, 1.68 ~ 1.98 mg/g, 1.99 ~ 2.25 mg/g。

Note: T. Mutant plant; P. Normal plant;  $F_1$ . First hybrid progeny; BC. Back cross;  $F_2$ . Second hybrid progeny. Range of the chlorophyll content in yellow leaf, intermediate leaf and green leaf is 1.23 ~ 1.67 mg/g, 1.68 ~ 1.98 mg/g and 1.99 ~ 2.25 mg/g respectively.

## 2.2 叶绿素含量分析

由图 1 可见叶绿素 a、叶绿素 b、总叶绿素的变化规律基本一致, 子叶和第 1、2 片真叶突变株的叶绿素 a、叶绿素 b、总叶绿素含量均极显著低于正常株。正常株的子叶总叶绿素含量为 1.07 mg/g, 突变株仅为正常株的 61%; 正常株第 1 片真叶总叶绿素含量为 2.41 g/mg, 突变株为正常株的 69%; 正常株第 2 片真叶的总叶绿素含量为 2.18 mg/g, 突变株为正常株的 63%。突变株与正常株总叶绿素含量, 在第 3 片真叶到第 5 片真叶的差异也均达到 1% 显著水平; 第 6 片真叶达 5% 显著水平; 第 7 片真叶到 11 片真叶差异不显著, 并逐渐趋与一致, 长大后叶色有差异但不明显。叶绿素 a 含量在第 5 片真叶达 1% 显著水平, 第 2、3、4 片真叶均达 5% 显著水平, 第 6 ~ 11 片真叶差异不显著。叶绿素 b 含量在第 2 ~ 5 片真叶均达到 1% 显著水平, 第 6 片真叶达 5% 显著水平, 第 7 ~ 11 片真叶差异不显著。据图 1 可知, 整个生长期突变株与正常株的 chl. a/b 值无差异, 均在 3 ~ 4 之间。

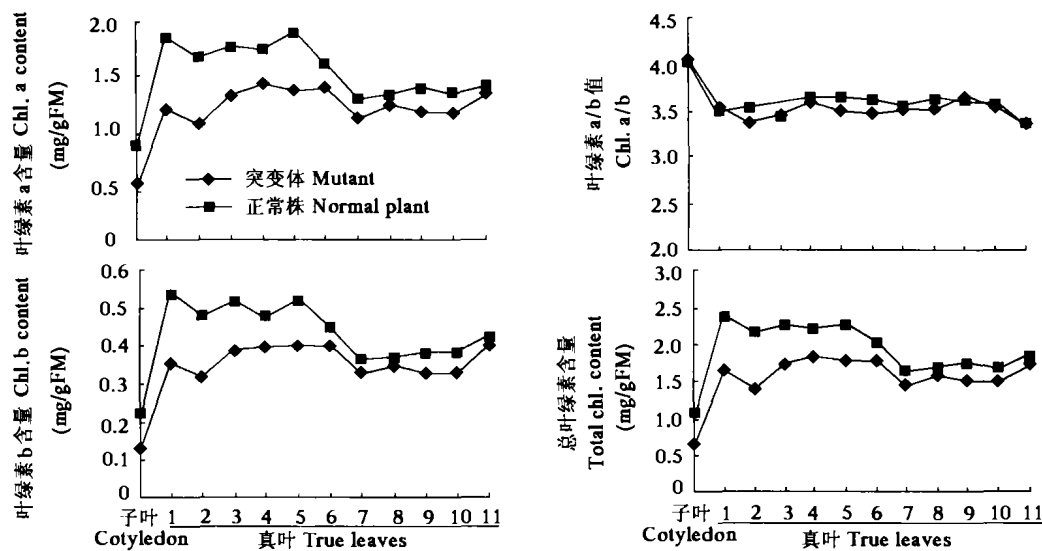


图1 黄瓜正常株与叶色突变体叶片叶绿素 a、b、a/b 值及总叶绿素含量

Fig. 1 Chl. a, Chl. b, Chl. a/b, total chlorophyll content in the leaves of mutant and normal plant

图2表明, 黄瓜叶色突变株与正常株类胡萝卜素的含量无一定规律, 两者之间无显著差异。此外, 通过对正常系, 突变系果实的果皮、果肉叶绿素含量测定表明, 二者之间无差异, 与肉眼观察一致。

### 3 讨论

据已有的报道, 黄瓜幼苗非致死颜色突变体有5种, 即 v, vvi, yc-1, yc-2, yp<sup>[10,11]</sup>。其中 v: 芽黄突变体, 是 Strong 在 1931 年和 Tkachenko 在 1935 年发现的, 该突变体苗期芽黄随生长期延长黄叶转绿, 目前该突变体已经丢失; vvi: 斑驳芽黄, 是 Abul-Hayia Williams 于 1976 年发现的, 黄色子叶慢慢转绿成斑驳的叶片, 目前该突变体已经丢失; yp: 黄色植物, 淡黄绿色叶片生长缓慢, 该突变体存在与否不明; yc-1: 黄子叶 1, 子叶是黄色的, 然后转绿, 该突变体是从 Ohio MR25 中得到的; yc-2: 黄子叶 2, 子叶黄色, 来自突变体 BurplessHybrid。其中 vvi, yc-1, yc-2, yp 与本试验发现的突变体在表型上不同, 突变体 v 描述的表型与本突变体相近, 但 v 已经丢失<sup>[8]</sup>。黄瓜中其它的叶色突变体, lg-2 与本试验发现的突变体在表型上不一致, 突变体 g 描述的表型与本突变体相近, 但 g 存在与否不明, 因此无法得知本试验突变体与 g、v 是否属于同一个突变体。关于黄瓜“芽黄”突变体的报道目前在国内也只有两例, 一个是人工诱变得到的黄色子叶突变体<sup>[7]</sup>, 另一例是新疆石河子蔬菜研究所发现的一个黄瓜真叶叶色自然突变体<sup>[6]</sup>, 但未进行叶绿素测定分析。

从黄瓜 9110G 雌性系中发现能稳定遗传的叶色突变体, 与以往报道有所不同。突变株开始子叶和第 1、2 真叶为金黄色, 叶色变化主要在幼苗期, 叶绿素测定也表明, 突变株与正常株的子叶、第 1、2 真叶叶绿素含量差异均达到 1% 显著水平。该突变体除叶色与正常株有差异外, 通过肉眼观察其它方面并无差异。只是突变体黄化影响光合作用导致植株始终比正常株生长稍迟缓, 而其它农艺性状并不受影响。

通过对亲本、F<sub>1</sub>、BC 及 F<sub>2</sub> 代观察和叶绿素测定, 证明该突变体是细胞核遗传, 由单一隐性基因控制, 并且绿色对黄色为不完全显性。

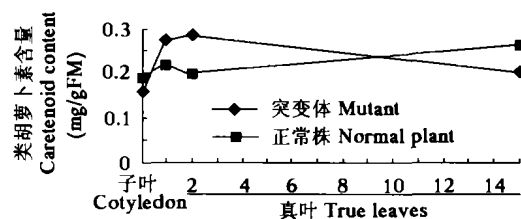


图2 黄瓜正常株与叶色突变株叶片类胡萝卜素含量

Fig. 2 Carotenoid content in different leaves of mutant and normal plant

经详细研究认为该突变体叶色浅的主要原因是由叶绿素含量降低引起的,与类胡萝卜素无关,叶绿素 a、b 和总叶绿素的变化规律一致。通过整个生长期的叶绿素含量测定表明突变株与正常株的 chl. a/b 比值无差异,均在 3~4 之间。

在颜色差别最明显的时期,通过对群体的叶绿素含量测定表明,肉眼观察叶色分离比例与测定结果几乎是一致的,说明肉眼观察的结果还是很准确的。因此该突变性状在黄瓜杂交制种中可作为指示性状来鉴定杂交纯度,也是基因定位的好材料,目前正在着手寻找与该突变体连锁的分子标记。

#### 参考文献:

- 1 肖松花,张天真,潘家驹. 陆地棉芽黄突变体的遗传及在杂种优势上的利用. 南京农业大学学报, 1995, 18 (3): 28~33
- 2 舒庆饶,刘贵付,夏英武,等. 温敏水稻叶色突变体的研究. 核农学报, 1996, 10 (1): 6~10
- 3 马国荣,刘佑斌,盖钧镒,等. 大豆细胞质遗传芽黄突变体的发现. 作物学报, 1994, 20 (3): 334~337
- 4 苏小静,汪沛洪,陈毓荃,等. 小麦突变体反白系反白机理的研究. 西北农业大学学报, 1990, 18 (3): 80~83
- 5 王凤辰,王浩波. 西瓜“芽黄”新突变体简报. 中国西瓜甜瓜, 1997, (3): 14~15
- 6 陈远良,刘新宇,李树贤. 黄瓜“芽黄”突变体的发现及其遗传分析. 中国蔬菜, 2000, (3): 35~36
- 7 王玉怀. 黄瓜子叶颜色遗传规律的研究. 东北农学院学报, 1990, 2 (12): 196~197
- 8 Todd C W. Gene list for cucumber. Cucurbit Genetics Cooperative Report, 1997, 20: 66~88
- 9 白宝璋,田文郎,赵景阳. 大田作物叶绿素提取方法的比较. 吉林农业科学, 1987, (4): 77~80
- 10 Lawrence K P, Todd C W. Review of genes and linkage groups in cucumber. HortScience, 1990, 25 (6): 605~615
- 11 Abul Hayja Z, Williams P H. Inheritance of two seeding markers in cucumber. Hortscience, 1976, 11 (2): 145

## Genetic Mechanism of the Cucumber Leaf Mutant

Guo Yanmei<sup>1,2</sup>, Gu Xingfang<sup>1</sup>, Zhang Chunzhen<sup>1</sup>, Fang Xiujuan<sup>1</sup>, Zhang Shengping<sup>1</sup>, and Xu Caiqing<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China; <sup>2</sup> Department of Horticulture, Northeast Agriculture University, Harbin 150030, China)

**Abstract:** The leaf color mutant found in the gynocious line 9110G can be inherited stably and was different from the other mutants reported before. The cotyledon, first and second true leaf is golden at first. The chlorophyll content is about 60% of the normal line. With the growth of the mutant, the color of the leaf turn into green slowly and was same to the normal plants. By observing the phenotype of F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>, BC, testing the content of chlorophyll and analyzing genetic regulation, we can concluded that the mutant is nucleolus inheritance and is controlled by one pair of recessive gene, and green color is incomplete dominance to yellow color. The yellow color is due to the decreasing of the chlorophyll. The mutant is a good material to research on photosynthetic system and gene position. And the mutant is also a useful marker to identify purity of F<sub>1</sub> hybrids.

**Key words:** Cucumber; Leaf color mutant; Chlorophyll; Genetic

## 分子标记辅助育种技术培训班通知

中国农业科学院蔬菜花卉研究所将于 2003 年 9 月 14 日~19 日举办分子标记辅助育种技术培训班。

具体内容: 1. 分子标记辅助育种原理与方法及常用技术讲解; 2. AFLP 及 SSR 实验技术培训。学员将进行以下实验: DNA 快速提取、酶切连接、PCR 扩增、琼脂糖凝胶电泳检测、聚丙烯酰胺凝胶电泳检测、DNA 银染技术等; DNA 高通量提取方法 (QIAGEN RETCH 仪器使用); 荧光 AFLP 标记技术 (Licor DNA Analyzer IR2 4200-02G 使用)。

报名日期: 2003 年 9 月 5 日前, 9 月 14 日报到, 住中国农科院蔬菜花卉所中蔬卉园宾馆。培训费 1500 元/人, 可提前汇款或报名时交款。交通费和食宿费自理。联系人: 张延国, 王晓武; 地址: 北京市海淀区中关村南大街 12 号中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 邮编: 100081, 电话: 010-62146163, 010-68919541; 传真: 010-62174123, 010-62146160; 电子邮箱: zhangyg@mail.caas.net.cn wangxcw@mail.caas.net.cn