

豌豆卷曲突变基因 *curl* 的染色体定位

刘富中¹ Gostimskii S. A.²

(¹ 中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 北京 100081; ² 俄罗斯莫斯科大学生物系, 莫斯科 119899)

摘要: 利用一套 5 个豌豆染色体易位系和 2 个形态标记基因系 *cht* 7 及 *Viola* 为标记材料, 对豌豆卷曲突变基因 *curl* 进行了染色体定位。结果表明, 突变基因 *curl* 位于豌豆第 3 染色体的长臂上, 处于黄化基因 *chl*-7 和种皮皱纹基因 *r* 之间, 排列顺序为 *r* - *curl* - (*chl* 7), *curl* 与 *chl* 7 之间的交换值为 34.24 % ± 4.57 %, 与 *r* 之间的交换值为 19.79 % ± 3.55 %。

关键词: 豌豆; 突变体; 易位系; 染色体定位
中图分类号: S 643. 3; Q 831. 4 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2002) 05-0447-04

豌豆突变体 Skrchunny 是从品种 Ranny Zelery 中发现的天然突变体。该突变体植株的特点是在第 1 片真叶形成时, 真叶即发生卷曲, 进入抽蔓期, 茎呈扭曲状生长。在突变体植株的整个生育期, 小叶和托叶卷曲, 茎呈扭曲状, 很容易将其与正常品系的植株区别。遗传研究表明, 该卷曲突变体受一对隐性核基因控制, 基因符号用 *curl* 表示。本文报道利用易位系和标记基因系对该突变基因进行染色体定位的结果。

1 材料与方法

突变体 Skrchunny (*curl*) 经多代自交纯化, 已稳定遗传。易位系 L-4 (1-3), M-10 (2-7), L-58 (1-2), L-83 (3-5), L-84 (3-6) 的易位点标记了豌豆基因组全部 7 条染色体中的 6 条染色体^[1,2]。形态标记基因系 *cht* 7 及 *Viola* 具正常形态的茎和叶。易位系和标记基因系的标记性状、基因以及所标记的染色体如表 1。

用易位系和标记基因系同时确定突变基因所在的染色体。将突变体 Skrchunny 分别与 1 套 5 个豌豆易位系和 2 个标记材料杂交, 田间种植亲本、杂种 F₁ 和 F₂。用易位系对突变基因进行染色体定位时, 在杂交后代中, 具有杂合染色体 (易位杂合) 植株的花粉约有一半表现不育, 花粉半不育的这种特征即为易位系易位点的标记性状。在 F₂ 代中出现 4 种不同花粉育性和表型类型的植株: 半不育的正常植株, 半不育的突变植株, 可育的正常植株, 可育的突变植株, 其分离比为 3 1: 3 1。用醋酸洋红染色法鉴定 F₂ 代所有植株的花粉育性。根据 F₂ 代不同基因型可育株和半不育株出现的频率, 用适合性测验 $\chi^2 = [(\alpha - 3br - c + 3d)^2 / 3n]$ ^[3] 分析突变基因与易位点之间的遗传连锁关系, 从而确定突变基因 *curl* 所属的染色体。

采用标记基因系定位突变基因时, 根据 F₂ 代植株突变性状与标记性状表型的分离比, 用适合性测验 $\chi^2 = [(\alpha - 3br - 3c + 9d)^2 / 9n]$ ^[4] 和最大似然法^[5] 分析突变性状与标记性状之间的遗传连锁关系, 确

表 1 豌豆标记系

Table 1 Marker stocks of pea

标记材料 Marker stocks	标记性状 Characters	标记基因 Marker gene	染色体 Chromr osomes
L-4	半不育花粉 Semisterile pollen	<i>T</i> ₁₋₃	1, 3
	子叶绿色 Green cotyledons	<i>i</i>	6
M-10	半不育花粉 Semisterile pollen	<i>T</i> ₂₋₇	2, 7
	子叶绿色 Green cotyledons	<i>i</i>	6
L-58	半不育花粉 Semisterile pollen	<i>T</i> ₁₋₂	1, 2
	无花青素 Anthocyanin inhibition	<i>a</i>	6
L-83	半不育花粉 Semisterile pollen	<i>T</i> ₃₋₅	3, 5
	着花节位少 Low flowering node	<i>ff</i>	6
L-84	半不育花粉 Semisterile pollen	<i>T</i> ₃₋₆	3, 6
	无花青素 Anthocyanin inhibition	<i>a</i>	6
<i>cht</i> 7	叶黄绿色 Yellow green leaf	<i>chl</i> -7	3
<i>Viola</i>	种皮皱纹 Rugose pericarp	<i>r</i>	3
	矮茎 Low stem	<i>le</i>	1

定突变基因所在染色体。

2 结果与分析

2.1 突变基因 *curl* 与易位点的遗传关系

将突变体 *Skruchnny* 与一套 5 个相互易位材料进行杂交, 其 F₂ 代不同表型植株的育性分离和性状分离情况列于表 2。在分析的 5 个组合中, 突变基因 *curl* 与易位系 L-4, M-10, L-58, L-83 和 L-84 的易位断点都表现独立遗传, χ^2 测验不显著, 表明突变基因 *curl* 与这 5 个易位系的易位断点没有联系。但在组合 L-84 \times *curl* 中, 突变基因 *curl* 与标记基因 *a* 的分离明显不符合两对基因独立遗传的分离比 (9 3 3 1)。 χ^2 测验达到极显著水平, 说明 *curl* 基因与无花青素基因 *a* 之间存在连锁。同时, 在该杂交组合中, 无花青素基因 *a* 和易位系 L-84 的易位断点也不符合独立遗传, χ^2 测验达到极显著水平, 说明基因 *a* 和易位系 L-84 的易位断点之间有连锁关系。

表 2 突变体 *curl* 与易位系的杂交结果
Table 2 The testing results of the cross between the mutant *curl* and the translocations

组合 Cross	基因 Marker gene	F ₂ 代的育性和性状分离 Plant No. of segregation of fertile and semisterile or of different phenotypes in F ₂				x ²
		AB	Ab	aB	ab	
L-4× curl	T ₁₃ curl	59	23	44	5	3. 87
	T ₁₃ i	60	22	39	10	0. 57
	curl i	79	24	20	8	0. 31
M-10× curl	T ₂₇ curl	51	13	45	10	0. 03
	T ₂₇ i	40	24	40	15	2. 04
	curl i	67	29	13	10	0. 90
L-58× curl	T ₁₂ curl	48	8	36	6	0. 12
	T ₁₂ a	45	11	35	7	0. 01
	curl a	69	15	11	3	0. 37
L-83× curl	T ₃₅ curl	64	15	44	18	1. 99
	T ₃₅ lf	37	10	21	13	2. 57
	curl lf	44	18	14	5	0. 07
L-84× curl	T ₃₆ curl	72	15	55	12	0. 14
	T ₃₆ a	76	11	41	26	13. 85* *
	curl a	105	22	12	15	13. 74* *

注: A, a. 半不育和可育表现型或第 1 基因的显性和隐性表现型; B, b. 第 2 基因的显性和隐性表现型; * * 在 0. 01 水平上差异显著。
Note: A, a. Semisterile and fertile phenotypes of translocation or dominant and recessive phenotypes of the first gene; B, b. Dominant and recessive phenotypes of the second gene. * * 0. 01 significant level.

已经知道基因 *a* 位于第 I 连锁群, 即第 6 染色体上^[6], 在易位系 L-84 中, 第 3 和第 6 染色体 (即第 V 和第 I 连锁群) 发生了相互易位, 因此, 我们的遗传分析结果进一步证实了易位系 L-84 的一个易位断点发生在第 6 染色体上, 且接近 *a* 基因座位的推论^[6, 7]。从以上连锁测定结果可以认为基因 *curl* 位于第 6 染色体上。但在其余 4 个组合中, 突变基因与第 6 染色体 (第 I 连锁群) 上的标记基因 *a*, *i* 和 *lf* 之间 4 种表型后代的分离比例, 均符合 9: 3: 3: 1 的双基因独立分离的理论比例, χ^2 测验均不显著 (表 2), 这说明突变基因与上述标记基因均彼此独立, 不存在连锁关系, 即突变基因不位于第 6 染色体上。

利用相互易位系确定基因与易位点的遗传连锁关系时, Persson^[3]认为应根据基因与易位点之间是否存在连锁关系, 如果某基因与易位点之间表现连锁遗传, 则该基因位于发生易位的染色体上, 并且在易位点和着丝点之间的片段上; 如果某基因与易位点之间表现非连锁遗传, 则该基因应位于易位点至末端的易位染色体片段上, 即位于来自另一易位染色体的易位片段上。

在组合 L-84 × *curl* 中, 突变基因 *curl* 与易位断点没有连锁关系, 而与易位染色体上 (第 6 染色体) 的 *a* 基因连锁, 说明基因 *curl* 应位于易位点至末端的易位染色体片段上, 即位于来自于第 3 染色体的易位片段上, 也即突变基因位于第 3 染色体上。因此, 在组合 L-84 × *curl* 中, 易位点 (T_{L-84}) 与基因 *curl* 和基因 *a* 在发生了易位的第 6 染色体和正常的第 3 染色体上的可能排列顺序如图 1 所示。

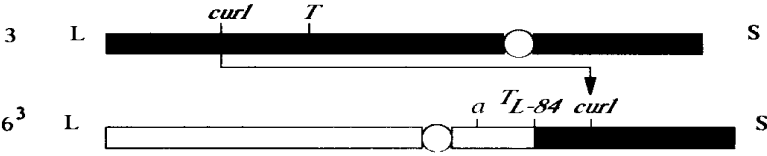


图 1 易位系 L-84 中易位染色体 6³ 和正常的第 3 染色体上易位点与基因 *curl* 和 *a* 的排列顺序

Fig. 1 The order of the translocation point, gene *curl* and *a* on the translocation chromosome 6³ in L-84 and normal chromosome 3

2.2 突变基因 *curl* 与标记基因的遗传关系

为证实上述结论的正确性, 我们将突变体 *curl* 与标记基因系 *chl-7* 和 *Viola* 杂交, 根据杂种 F₂ 代的数据, 对卷曲突变基因 *curl* 与第 3 染色体上各个标记性状基因进行了遗传连锁测验 (表 3)。突变体与矮茎性状 (*le*) 的分离符合两对基因独立遗传的分离比 (9: 3: 3: 1), χ^2 测验不显著, 表明突变基因与矮茎基因彼此独立遗传, 不存在连锁关系。但突变基因与第 3 染色体上的标记基因 *chl-7* 和 *r* 控制的 4 种表型后代的分离比例, 均明显偏离 9: 3: 3: 1 的两对基因独立遗传的理论比例。 χ^2 测验达到极显著水平, 表明卷曲基因 *curl* 与标记基因 *chl-7* 和 *r* 之间存在遗传连锁, 由于黄化突变基因 *chl-7* 和种皮皱纹基因 *r* 位于第 3 染色体长臂上^[8, 9], 因此, 卷曲基因 *curl* 位于第 3 染色体长臂上 (图 1), 从而证明了上述易位分析中推论的正确性。根据表 3 的资料, 以最大似然法计算出 *curl* 基因与 *chl-7* 基因和 *r* 基因的重组值分别为 34. 24% ± 4. 57%、19. 79% ± 3. 55 %, 而基因 *chl-7* 和基因 *r* 独立遗传^[8], 故基因 *curl*、*chl-7* 和 *r* 在第 3 条染色体上的线形排列顺序为 *r-curl-chl-7*。

表 3 豌豆突变体 *curl* 与标记基因系杂交后代的性状分离

Table 3 Segregation in F₂ of crosses between *curl* and marker stocks of pea

组合	基因	F ₂ 代的性状分离 Plant No. of different phenotypes in F ₂				χ^2 测验
		AB	Ab	aB	ab	
Cht 7 × <i>curl</i>	<i>chl-7 curl</i>	202	89	63	9	9. 16* *
<i>Viola</i> × <i>curl</i>	<i>r curl</i>	386	177	152	6	46. 11* *
	<i>le curl</i>	374	130	164	53	0. 15
	<i>le r</i>	387	117	176	41	2. 33

注: A, a. 第 1 基因的显性和隐性表现型; B, b. 第 2 基因的显性和隐性表现型; * * 表示在 0.01 水平上差异显著。

Note: A, a. Dominant and recessive phenotypes of the first gene; B, b. Dominant and recessive phenotypes of the second gene; * * 0.01 significant level.

3 讨论

已知无花青素基因 *a* 定位于第 6 染色体上, 在本研究中证实 *curl* 位于第 3 染色体上, 即基因 *a* 和基因 *curl* 位于不同的染色体上。组合 L-58 × *curl* 的遗传分析也表明, 基因 *a* 和基因 *curl* 独立遗传 (表 2), 但在组合 L-84 × *curl* 中无花青素基因 *a* 和卷曲基因 *curl* 表现连锁遗传, 其原因可能是由于 L-84 中的第 3 染色体长臂和第 6 染色体短臂发生了相互易位, 使第 3 染色体上的基因 *curl* 转移至第 6 染色体, 导致了遗传分析中 *a* 和 *curl* 的假连锁现象。这种基因 *curl* 和基因 *a* 在不同的组合中表现出相反遗传关系的现象, 在其他研究中也有类似的情况^[3, 10]。在易位分析中, 易位系 L-112 的易位断点与无卷须基因 *tl* 紧密连锁, 与无蜡粉基因 *wsp* 没有连锁关系, 而在该组合中, 基因 *tl* 与基因 *wsp* 间表现出紧密的假连锁关系^[10]。因为在没有利用易位系作标记材料的遗传分析中, 基因 *tl* 与基因 *wsp* 间无连

锁遗传关系^[10,11], 且位于不同的染色体上^[11]。

这表明, 利用易位系作标记材料进行遗传分析时, 须注意易位染色体上基因间的假连锁现象, 由于有易位染色体存在及易位点的位置效应, 可能导致位于易位点附近的基因之间产生假连锁遗传现象, 从而导致遗传分析结果不正确。一个典型的例子就是长期以来, 研究者一直认为豌豆 *r* 基因和 *wsp* 突变基因相互连锁, 均位于豌豆的第 7 染色体上^[12], 就是因为存在着染色体易位, 使 *r* 和 *wsp* 产生假连锁现象。这已被后来的研究证实, 并将 *r* 和 *wsp* 定位于不同的染色体上^[10,11]。假连锁现象也发生在利用易位系定位大麦突变基因的遗传连锁检测中^[13]。

在易位系 L-4 和 L-83 中有一条共同的染色体, 即第 3 条染色体发生了易位, 但易位断点发生在短臂上^[2], 上述遗传分析证实基因 *curl* 位于第 3 染色体长臂上, 由于易位断点和基因 *curl* 位于不同的染色体臂上, 遗传距离较远, 因此, 在组合 L-4 × *curl* 和 L-83 × *curl* 中, 易位断点和突变基因 *curl* 表现独立遗传。

我们进行的易位分析和遗传分析表明, 卷曲突变基因 *curl* 位于第 V 连锁群, 并与基因 *r* 和基因 *chl-7* 紧密连锁 (表 3); 基因 *chl-7* 与基因 *gp* 连锁遗传, 而基因 *chl-7* 与基因 *r*、基因 *r* 与 *gp* 独立遗传^[8], 因此, 这 4 个基因均位于第 V 连锁群, 其线性排列为 *r-curly-chl-7-gp*。前人的研究表明基因 *chl-7* 与易位系 L-84 第 3 条染色体上的易位点连锁遗传^[8], 因此, 我们的研究进一步证实了 Folkesson^[9]提出的第 3 染色体对应于第 V 连锁群的假设。

参考文献:

- 1 Лю Фучжун, Марченко А. Н., Гостимский С. А. Идентификация новой транслокации у гороха. Доклады Академии Наук, 1997, 357 (5): 713~716
- 2 Liu Fuzhong, Gostimsky S. A. Investigation of reciprocal translocations in the pea. Russian Journal of Genetics, 1998, 34 (9): 1069~1076
- 3 Persson G. An attempt to find suitable genetic markers for dense ear loci in barley. Hereditas, 1969, 62 (3): 25~29
- 4 Орлова Н. Н. Генетический анализ. М. Изд-во МГУ. 1991. 318
- 5 莫惠栋. 最大似然法及其应用. 遗传, 1984, 6 (5): 42~48
- 6 Lamm R. Comments on the chromosome map *Pisum sativum*. The Pisum Newslett, 1987, 19: 20~24
- 7 Lamm R. The relationship among some interchange lines in *Pisum sativum*. The Pisum Newslett, 1974, 6: 29~30
- 8 Ежова Т. А., Гостимский С. А. Локализация хромосомных мутаций гороха. Генетика, 1981, 17 (7): 1259~1265
- 9 Folkesson D. A revised genetic map of *Pisum sativum*. Sweden: Department of Genetic. University of Lund, 1990. 1~33
- 10 Folkesson D. Assignment of linkage segments to the satellite chromosomes 4 and 7 in *Pisum sativum*. Hereditas, 1990, 112 (3): 257~263
- 11 Marx G. A. Sinuate leaf (sil) linked with *wsp*. The Pisum Newslett, 1987, 19: 33~34
- 12 Lamprecht H. Die koppelung des gens *wsp* and die genenkarte von chromosom VII von *pisum*. Agri. Hort. Genet., 1954, 12: 115~120
- 13 Бияшев Р. М., Нещетаев В. П., Соинзов А. А. Генетический контроль некоторых качественных морфологических и биохимических признаков и локализация трех генетических факторов в хромосомах 1 и 5 ячменя *Hordeum vulgare* L. Генетика, 1986, 22 (2): 296~303

Chromosome Location of the Mutant Gene *curl* in Pea

Liu Fuzhong¹ and Gostimskii S. A.²

(¹Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China; ²Biology Faculty, Moscow State University, Moscow 119899, Russia)

Abstract: A set of 5 chromosome translocation lines and two marker gene line *chl-7* and *Viola* were used in testing the chromosome location of *curl* mutant gene in pea. The results indicated that mutant gene *curl* was located on the long arm of the chromosome 3 in pea, between the known yellow-green leaf gene *chl-7* and the rugose pericarp gene *r*, their order is *r-curly-chl-7*. The interchange values of *curl* to *chl-7* and *r* are 34.24% ± 4.57% and 19.79% ± 3.55%.

Key words: Pea; Mutant; Translocation lines; Chromosome location