

陆珂,吴则东,李胜男. 黄瓜诱变育种研究进展[J]. 江苏农业科学,2022,50(18):208-214.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2022.18.032

黄瓜诱变育种研究进展

陆珂,吴则东,李胜男

(黑龙江大学现代农业与生态环境学院/黑龙江省普通高校甜菜遗传育种重点实验室,黑龙江哈尔滨 150080)

摘要:黄瓜(*Cucumis sativus* L.)是重要的鲜食类蔬菜之一,是我国保护地生产的第一大蔬菜作物。随着国家经济发展,人们对黄瓜品质、抗性的要求越来越高,然而由于黄瓜的遗传基础趋于单一化,自然变异频率低,以及常规育种的年限长等限制因素,依靠黄瓜自发突变获得优良的遗传材料十分困难,黄瓜遗传育种进程变得愈发缓慢,因此选育高品质、抗性强的黄瓜新品种迫在眉睫。诱变育种技术以其可以提高变异频率、扩大变异谱等特点,近年来在选育新品种方面受到广泛的应用。本文通过对黄瓜诱变育种进行系统性的论述,从诱变方法的作用机理和在黄瓜育种中的应用着手,概述了化学诱变方法、物理诱变方法、航天诱变及插入突变的方法,并分析其优缺点;总结了诱变育种对黄瓜表型性状、生理生化及分子水平的影响以及黄瓜突变体的鉴定方法;重点阐述了突变体在黄瓜新品种选育过程中的应用;最终探讨了黄瓜诱变育种进程中存在的问题及解决办法;为科研工作者后续的研究提供参考与借鉴,对加快黄瓜育种进程具有重要意义。

关键词:黄瓜;诱变育种;诱变技术;突变体库;研究进展

中图分类号: S642.203.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2022)18-0208-07

黄瓜(*Cucumis sativus* L.)是葫芦科甜瓜属的二倍体物种,也是世界主要蔬菜作物之一^[1-2]。黄瓜由于其清香脆甜的口感,深受人们的喜爱,是我国设施农业产量最高的蔬菜之一,一直是人们餐桌上的主要蔬菜。中国的黄瓜栽培历史悠久,面积广泛,2020 年收获面积为 128.02 万 hm^2 ,年产量达 7.283×10^7 t,占世界总量的 56.61% 和 79.81%。尽管黄瓜的栽培面积和产量都很大,但是与葫芦科的其他作物相比,它的基因组只有 367 Mbp,相对较小,遗传基础较狭窄,自然变异频率低,变异率仅有 3%~8%^[3-4]。经过长期的自然和人工选育,黄瓜品种间的遗传差异越来越小,遗传多样性不足^[5]。依靠黄瓜的自发突变获得优良的遗传材料,已无法满足黄瓜功能基因组学研究的需要,导致黄瓜遗传

育种进程缓慢。面对这样的困难和瓶颈,开发新技术,人为地创造优质突变体,构建优异的种质资源,加快黄瓜育种的进程已成必然。

诱变育种技术是指利用不同的物理或化学因素,人为地使植物体的组织发生变异,再通过选择,育成抗性强、产量高的新品种。诱变能引发基因突变,相比常规育种具有提高变异频率、扩大选择谱、产生有益突变的优点,还能打破原有基因的连锁,促进遗传重组,从而能在短时间内获得丰富突变体以育成新品种^[6]。目前在黄瓜诱变育种的研究领域中,国内外学者主要通过物理诱变、化学诱变的方法,使黄瓜产生大量的遗传变异,促进黄瓜功能基因组学的研究。

本研究基于国内外学者对黄瓜的诱变育种的研究,对黄瓜突变体库构建的方法进行归纳总结,包括物理诱变、化学诱变、航天诱变及插入突变的方法,并探讨了诱变技术对黄瓜性状的影响以及鉴定方法,论述了黄瓜突变体在黄瓜育种进程中的应用,为黄瓜重要功能基因的挖掘以及新品种的选育奠定基础,提供重要的理论参考与借鉴。

1 黄瓜突变体库的构建方法

1.1 化学诱变

化学诱变是指利用各种化学诱变剂使植物材

收稿日期:2022-03-31

基金项目:黑龙江省省属高等学校基本科研业务费科研项目(编号:2020-KYYWF-1046);黑龙江省自然科学基金优秀青年项目(编号:YQ2021C032);中国博士后科学基金第 70 批面上资助项目(编号:2021M701127)。

作者简介:陆珂(1999—),女,江苏盐城人,硕士研究生,主要从事蔬菜遗传育种研究。E-mail:1127453553@qq.com。

通信作者:吴则东,博士,副研究员,主要从事作物遗传及分子育种研究,E-mail:331056376@qq.com;李胜男,博士研究生,讲师,主要从事蔬菜遗传育种,E-mail:dbndlsn@163.com。

料的遗传物质发生变异,通过选择,对突变体进行培育,选育成新品种的方法^[7]。化学诱变由于高效、使用方法简便并且成本较低,现如今被广泛使用。化学诱变剂是指能够对植物体材料的遗传物质产生作用,使其产生变异的化学物质。目前,常用的化学诱变剂有四大类:

(1)烷化机类,该类化学诱变剂使诱变剂内一至多个活性烷基,通过烷化作用的方式,置换 DNA 分子结构中的氢离子,从而导致复制或转录过程中 DNA 发生改变,进而产生变异。常用的代表试剂有甲基磺酸乙酯(EMS)、乙烯亚胺(EI)、硫酸二乙酯(DES)等。

(2)核酸碱基类似物,因其具有与 DNA 碱基相似的化学结构,在复制时能与 DNA 结合。在 DNA 复制的过程中进入 DNA 结构中充当碱基,从而形成异种 DNA,进而导致碱基在配对时不按互补配对的原则配对,发生错配,从而引起点突变。代表试剂有 5-溴尿嘧啶(5-Bu)、5-氟尿嘧啶、5-溴脱氧尿嘧啶核苷(5-BudR)等。

(3)叠氮化钠(NaN_3),是一种点突变剂,它可使正在进行复制的 DNA 碱基发生替换,从而形成点突变。 NaN_3 具有高效安全、无毒、成本较低的特点。

(4)其他化学诱变剂,如抗菌素、亚硝酸、羟胺等,虽然也能引起基因结构突变,但在诱变育种中使用价值较低。

其中,EMS 以其简单方便、诱变频率高的特点,在黄瓜突变体库的构建中应用较多^[8]。EMS 诱变首先发生在 DNA 鸟嘌呤的 N-7 位置上,烷基取代氢离子后,成为一个带正电荷的季铵基团,烷化的鸟嘌呤与胸腺嘧啶配对,代替胞嘧啶,发生转换型的突变,从而使 GC 碱基对变异为 AT 碱基对,EMS 诱变遗传物质核酸有 99% 的概率是这种情况(图 1),可能产生无义突变、错义突变和沉默突变,这 3 种突变发生的频率对突变体的筛选具有一定的指导意义^[1]。何书强利用 1.6% EMS 诱导华南型黄瓜高代自交系 32X 时间 12 h,筛选出 64 种变异表型,包括植株矮化、3 张子叶、真叶白化等典型突变体,其总变异率为 28.19%^[7]。罗琳等利用 0.5%、1.0%、2.0% EMS 分别处理新泰密刺黄瓜,通过 M0、M1 代的比较分析,发现种子发芽率随 EMS 浓度的升高而下降,子叶叶面积和子叶叶绿素含量与对照相比明显下降,然而真叶叶绿素含量显著上升,分别比对照提高 11.92%、19.13%、15.53%^[6]。

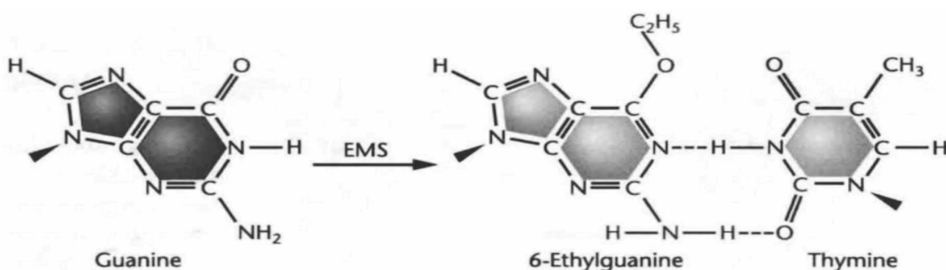


图1 EMS 诱变的原理^[9]

1.2 物理诱变

物理诱变是指利用各种理化因素使植物材料的基因结构发生变异,通过选择优良单株,进而对其进行培育,选育成新品种的方法^[10]。典型的物理诱变剂是不同种类的射线,主要的射线有 X 射线、 α 射线、 β 射线、 γ 射线、紫外线、离子束等。

我国对于辐射诱变育种的研究最早开始于 1957 年,随着我国科技高速发展,辐射诱变的发展也非常迅速,如今已广泛应用于植物遗传育种,其中,X 射线和 γ 射线的应用非常广泛。其原理是电离辐射与植物体内分子、原子核发生碰撞,直接或间接引起植物体内 DNA 结构发生变异,或者使遗传物质 DNA 断裂再修复,导致染色体产生断裂、重排、

缺失、倒位等变异,从而引起基因突变^[1]。蔡世娟等利用 $^{12}\text{C}^{6+}$ 辐射对自交系黄瓜 18C-1 进行辐射诱变试验,低剂量(60 Gy)辐射减弱幼苗的光合作用和抗逆性,中、高剂量(80~120 Gy)辐射增强幼苗光合作用和抗逆性, $^{12}\text{C}^{6+}$ 辐射对黄瓜光合色素各组分含量和光合基因表达量均产生影响^[11]。Palma 等利用单色蓝光、绿光、红光和宽带白光联合紫外线辐射对黄瓜 Lausanna RZ F₁ 种子进行处理,发现紫外线辐射通过基因依赖的方式来抵抗蓝、红、绿、白光对转录物积累的影响^[12]。胡尊瑞等利用冷等离子体模拟真空状态处理黄瓜玉玺一号种子,发现最佳处理功率是 80 W,种子的发芽势、发芽率均有提高,并且可以促进黄瓜种子生根发芽,提早开花

结实^[13]。但由于物理和化学诱变产生的突变密度较高,包含多个突变位点,往往需要构建突变表型分离群体,利用图位克隆、定向诱导基因组局部突变技术(TILLING)等精确的筛选技术来筛选突变位点,确定突变基因^[14]。

1.3 太空诱变育种

太空诱变育种,又称太空育种、航天育种,是指通过返回式卫星搭载植物种子或其他植物组织材料,利用太空环境中微重力、宇宙射线、高真空和交变磁场等物理因子,诱变植物材料发生变异,返回后通过栽培,从后代选择优良单株,进而对其进行培育,选育成新品种的方法。西部航天育种基地和甘肃省天水市农业科学院研究所通过航天搭载,选育出了优良变异白黄瓜品系 05-33-6-1-2-49^[15]。潘连公等通过对航遗 1 号黄瓜进行分子生物学分析,发现航天诱变后的黄瓜种子变异丰富、稳定快,发生了产量提高、口感好及耐储存等有益变异^[16]。

1.4 插入突变

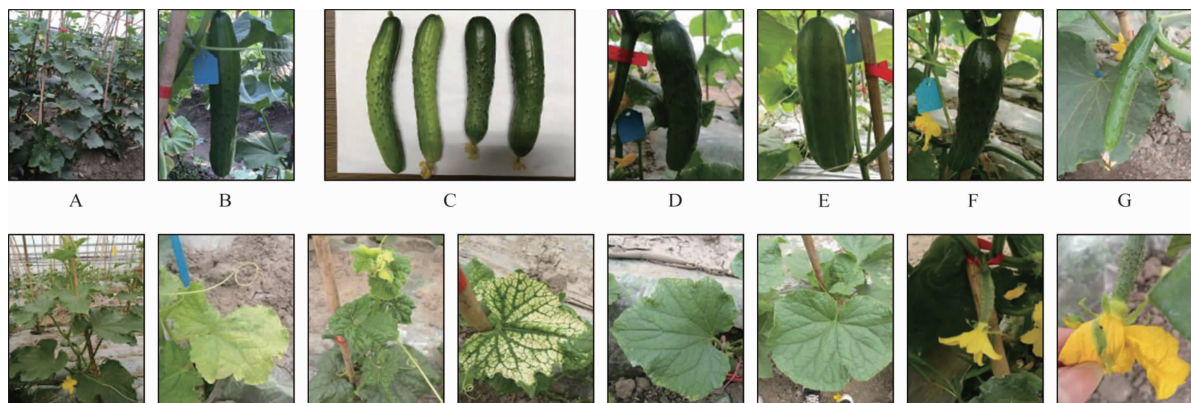
插入突变是指在植物基因组中随机插入 T-DNA、转座子和逆转录转座子等已知序列的元件,使其能够影响或破坏原有的基因结构,从而抑制插入位点基因功能的正常表达来创制突变体^[17]。T-DNA 插入通常为 1~2 个拷贝插入,虽然在受体基因组中的整合位置是随机的,但插入位点的侧翼序列是唯一的,不会在基因组整合后发生转座,具有高效表达和稳定遗传的特点^[18-19]。因此,T-DNA 常被用作插入诱变剂来分离和克隆因插入而失活突变的基因^[20]。随着农杆菌介导的遗传转化技术愈发成熟,T-DNA 插入突变技术广泛应用于拟南芥和水稻突变体库的构建。

1986 年,Trulson 等首次利用农杆菌介导的遗传转化技术得到黄瓜转基因材料,在过去的几十年里,国内外学者对黄瓜遗传转化体系做了大量研究,为 T-DNA 插入突变技术在黄瓜功能基因组学的应用奠定基础^[21]。冯路路等利用 *GFP* 基因作为黄瓜长春密刺 T-DNA 插入片段创制突变体,并通过荧光显微镜与 TAIL-PCR 技术最终确定插入位点^[22]。李蕾等以黄瓜长春密刺为植物材料,采用农杆菌介导法,利用 T-DNA 插入突变体构建转化植株,并采用 PCR 和斑点杂交检测的方法得到插入突变体 14S1^[23]。但目前黄瓜遗传转化体系仍然存在效率低和遗传稳定性差的问题,从而影响黄瓜 T-DNA 插入突变体的获得^[23]。

2 诱变技术对黄瓜性状的影响

2.1 表型性状的影响

通过物理和化学等技术诱导使黄瓜部分基因发生突变,有许多突变性状会直接表现在表型上。薛存宝利用 1.5% 和 2.0% EMS 诱变欧洲温室型黄瓜 649 品系,发现有 64 个表型有变化的突变体单株,突变频率为 15.2%,其突变性状有矮化、短瓜、无花、叶缘失绿、叶片皱缩等^[1]。齐晓花等利用 EMS 诱导华北类型黄瓜 YZ-01 品系,得到了植株矮化、皱缩、圆叶、花瓣和花萼连体、少果刺等突变性状(图 2)^[24]。Qian 等利用 UV-A 和 UV-B 2 种紫外线辐射对黄瓜 Hi Jack 进行辐照,发现 UV-A 的辐射可以使植株株型更加矮小、强壮^[25]。因此,表型鉴定是筛选差异性性状突变体最直观的方法,可以利用表型突变的优势,丰富突变体库,从而为黄瓜基因功能分析和新品种的选育奠定基础。



A—植株矮化; B—正常果; C—果皮黄化,果实细长; D—果瘤少; E—短果; F—果把粗; G—果皮光亮; H—正常叶片; I—黄化叶片; J—皱缩叶片; K—花叶; L—叶缘黄化; M—圆叶; N—正常花瓣; O—花萼与花瓣连体

图2 M2 家系单株突变表型

2.2 生理生化的影响

不同的诱变技术不仅对黄瓜有表型性状上的影响,在生理生化方面也会表现出与野生种不同的性状。张玉霞等利用 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线辐照黄瓜新品种新津春 4 号干种子,发现当辐射剂量为 100 ~ 1 000 Gy 时,辐射处理对种子萌发和幼苗生长抑制明显,并且黄瓜种子辐射诱变的半致死剂量是 795 Gy^[26]。Volkova 等利用 50、100、150、200 Gy 剂量的 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线辐照黄瓜种子,发现 50 Gy 的低剂量辐射对黄瓜第 4 天的发芽状况和苗长影响最明显,所以低剂量的 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 辐射能提高黄瓜种子早期的发芽率和幼苗生长^[27]。Liu 等利用不同剂量的紫外线辐射 UV-B 对黄瓜 9930 进行辐射,发现 UV-B 辐射可以有效抑制黄瓜幼苗的伸长和降低黄瓜叶片可溶性蛋白质含量,其中 $3.33 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 的 UV-B 有利于黄瓜幼苗在人工气候箱中生长,还提高了黄瓜幼苗的抗氧化酶活性和抗坏血酸含量,从而提高黄瓜幼苗的抗逆性^[28]。因此,分析诱变后黄瓜生理生化水平的变化,可为黄瓜生长提供理论依据,为黄瓜突变体库的构建提供参考。

2.3 分子水平的影响

通过人为诱变技术对黄瓜幼苗代谢、光合作用、植物激素信号转导等产生影响,可提高黄瓜的抗性。亓飞等通过对黄瓜 EMS 突变体库中的长春密刺进行抗白粉病材料初筛,然后进行苗期生理鉴定和 PCR 分析,最终筛选出 2 份突变体材料 Mu-86-2 和 Mu-58-9^[29]。独角金内酯(SLs 类似物)可提高黄瓜对盐胁迫的抗性,张小花对景润 35 号黄瓜品系外源喷施 GR24(SLs 类似物),发现外源 GR24 可以提高盐胁迫下黄瓜幼苗的光合作用,增强抗氧化酶活性和抗逆基因表达,从而减轻黄瓜幼苗膜损伤,并通过转录组学分析,探究了 SLs 诱导黄瓜幼苗耐盐性的分子机制,为黄瓜温室种植提供理论指导^[30]。蒋景龙等通过对春夏秋王黄瓜根系施加外源 H_2S ,发现 H_2S 能调节组织细胞在盐胁迫下的氧化还原和离子平衡过程,减轻黄瓜膜损伤,从而缓解盐胁迫引起的损伤,并利用高通量测序和转录组学分析技术,探究了 H_2S 诱导黄瓜幼苗耐盐性的机理^[31]。因此,分析诱变黄瓜产生抗性的分子机制,有助于研究抗性相关基因,为后续筛选抗性基因奠定基础。

3 黄瓜突变体鉴定方法

3.1 表型鉴定

通过对植株表型进行观察识别,对照野生型植

株,直观选择出具有显著变异的植株的方法。已经获得矮化植株、白化苗、株型矮凑等重要黄瓜突变体类型。薛红霞等通过对华南型高代自交系 6457 进行 1.5% EMS 处理 10 h,构建了黄瓜突变体库,在 M2 代 221 个单株中发现了叶片卷曲、超级子房、花萼叶片化、矮化植株等性状^[4]。贺栎劲芝等以 EMS 诱变华南型黄瓜高代自交系 6457 得到的突变体 M4 代群体作为试验材料,通过表型观察,发现了果实变长、果实短筒等果实性状突变体,总变异率达 31.0%^[32]。Chen 等利用 1.6% EMS 诱变黄瓜自交系 WD1,获得 1 个花和卷须突变体 *uft*^[33]。Chen 等利用 1.5% EMS 诱变北方生态型黄瓜自交系 406 种子 12 h,通过表型观察,发现了叶片、花器官和果实(图 3)等性状的突变体,总变异率分别为 33.6%、17.0%、26.9%^[34]。

3.2 生物化学鉴定

虽然表型性状鉴定在黄瓜鉴定突变体方面被广泛利用,但仍有点突变无法被鉴定出来,所以须要通过精确的筛选技术筛选出肉眼无法识别的变异类型。随着黄瓜基因组测序的完成,TILLING 技术已经广泛应用在黄瓜育种研究中。TILLING 技术是定向诱导基因组局部突变技术,最早由美国 Fred Hutchinson 癌症研究中心所创建,利用单核苷酸多态性(SNP)进行突变体的筛选,获得目标基因的突变体^[35],现主要用于鉴定突变株,在黄瓜突变体库的鉴定、优质种质资源构建、遗传育种等方面都有广泛的应用。Berg 等应用 TILLING 技术在黄瓜突变群体中筛选出 7 个由 EMS 诱变的 *CsAAP2A* 基因的突变植株,还通过化学方法进行生理指标分析,鉴定出无法明确通过表型性状鉴定的突变体^[36]。陈皓炜等利用聚乙二醇 6000 模拟干旱环境,通过氮蓝四唑(NBT)还原法、硫代巴比妥酸法、酸性茚三酮法等方法进行形态和生理指标分析,筛选出 11 个耐旱突变植株^[37]。

3.3 分子鉴定方法

分子检测技术是通过检测基因存在、缺陷或表达,对基因突变进行遗传差异鉴定和定向改进。DNA 分子标记辅助育种技术是应用于黄瓜遗传多样性最广泛的方法,具有快速、高效和准确等优点,主要有限制性内切酶片段长度多态性(RFLP)、随机扩增多态性 DNA 标记(RAPD)、ISSR(一种微卫星基础上的分子标记)、目标起始密码子多态性(SCoT)等。其中 ISSR、SCoT 操作简单、成本低廉^[38]。牛玉倩等通过 EMS 诱变得得到黄瓜叶片白化



A—野生型果实；B—短果；C—细长果；D—细长果柄；E—浅黄色果皮；F—深绿色果皮的短果；G—浅绿色果皮的短果；H—果皮无刺(左边为野生型，右边为突变体)；I—椭圆形果实；J—两性花果实(左边为突变体，右边为野生型)；K—果实表皮有光泽(左边为突变体，右边为野生型)；L—果肉黄色(上方是突变体，下方是野生型)

图3 EMS 诱变 M2 代果实表型突变体^[34]

al 突变体,通过简单重复序列标记(SSR)标记法结合重测序结果开发的 SNP 和 InDel 标记对其目标基因进行定位,发现其位于黄瓜第 7 号染色体上约 66 kb 区间内^[39]。赵子瑶利用 CRISPR/Cas9 技术构建了 2 个靶序列,通过农杆菌介导 sgDNA - Cas9 - CsPID 在黄瓜中进行遗传转化,PCR 检测出遗传转化率为 1.7%、0.95%,但是并没有发现突变体^[40]。韩杜斌利用蓝光每天照射黄瓜津优 35 号 8 h,发现黄瓜体内与烟粉虱抗性相关挥发物比对照上升,利用分子生物技术,通过筛选和基因沉默处理,鉴定出 *HPL-9/13* 基因调控脂过氧化氢裂解酶,从而影响反式-2-己烯醛的合成,影响反式-2-己烯醛在黄瓜驱避烟粉虱中的作用^[41]。郭嘉华等通过层析和田间诱导抗性试验筛选西芹腐根二次酮层物,利用筛选出的最强流分 RRA102 诱导处理黄瓜津春 4 号幼苗,并进行转录组学分析,结果发现,西芹腐根二次酮层物诱导后能激发黄瓜幼苗的防御系统,提高对枯萎病的抗性^[42]。

4 转录组技术在黄瓜突变体库中的应用

诱变育种的应用主要体现在目标性状关键基因的定位与克隆和基因功能的解析,潘明等利用由 EMS 诱变的一个黄叶突变体 *yl*,并通过图位克隆方法与重测数据比对,发现了一个控制黄叶的突变基因 *Csa4G297530*,该突变基因通过调控植物的光合作用从而导致黄叶形成^[43]。Yang 等利用 EMS 诱变得多个黄瓜毛状体突变体 *Mt*,利用图位克隆和 BSA-seq 相结合的方法将突变位点定位于 6 号染色体末端 135.6 kb 的区域内,通过遗传分析发现无毛性状是由隐性基因 *csgl3* 引起的^[44]。Chen 等利用经 EMS 诱导形成的黄瓜突变体库中的花和卷须突变体 *uft*,通过图位克隆和 MutMap⁺ 法结合将 *uft* 基因定位于 WD9Indel10 和 WD9SNP2 之间 124 kb 的物理距离内,经过转录组分析表明 *CsUFO* 参与黄瓜卷须和花器官原基的发育^[33]。遇瑶等从黄瓜突变体 Tnt1 突变体库中发现 *yl-5* 黄叶突变体,利用

图位克隆法发现 *CsLPE2* 突变是影响 *yl-5* 黄叶的候选基因^[45]。Rong 等利用 EMS 诱变得到 2 个卷叶突变体 *cul-1* 和 *cul-2*, 通过图位克隆的方法发现 *CsPHB* 基因是导致卷叶突变的基因^[46]。Hao 等利用 EMS 诱变得到黄瓜黄绿色果皮突变体 *ygp*, 通过 MutMap 和 KASP 基因分型的方法, 发现 *CsMYB36* 是黄瓜突变体的致病基因^[47]。Song 等利用 EMS 诱变得到黄瓜突变体 *vyl*, 利用精细的遗传作图将突变位点定位在 Indel53 和 Indel56 之间大约 86.3 kb 的物理距离内, 通过遗传分析的方法鉴定出 *CsVYL* 是致病基因^[48]。

数量性状易受外界环境影响, 常有多微效基因控制, 所以数量性状的基因的定位与克隆较质量性状相对较难, 相关性状的研究也不及质量性状深入^[49]。Wang 等利用 EMS 诱变黄瓜 CMCC 得到 1 个种子萌发异常突变体 *Csleth*, 通过 MutMap⁺ 和 KASP 技术鉴定 *CsKDO* 基因在黄瓜的萌发过程中具有一定的致死率^[50]。Hu 等利用 EMS 诱变黄瓜自交系 CMCC 得到长下胚轴突变体 *elh1*, 该突变是由 *CsHY2* 突变引起的, *CsHY2* 对黄瓜下胚轴长度的调控起重要的作用^[51]。王琛通过前期的 EMS 突变体库构建了根发育异常突变体 *Csrod*, 利用 MutMap⁺ 和 KASP 基因分型技术, 鉴定 *Csa3G104930* 为黄瓜根发育异常的致病基因^[52]。黄瓜数量形状的定位与克隆由于受多基因控制, 构建和鉴定过程困难, 因此数量性状的研究和解决这个问题的方法有待深入。

5 问题及展望

随着研究的不断深入, 黄瓜诱变育种方面已经取得了很大的进步。但仍存在很多问题, 如理化诱变产生的突变密度较高, 筛选突变位点困难, 并且在筛选突变体的过程中, 由于表型观察鉴定时效长, 工作量大, 易受外界环境影响, 因此, 容易遗漏一些非表型突变的性状。黄瓜遗传转化体系仍然存在效率低、稳定性差的问题, 从而影响黄瓜 T-DNA 插入突变体的获得, 阻碍黄瓜插入突变研究的进展。

如今, 分子鉴定方法的应用越来越广泛, 在基因定位与克隆等方面发挥重要的作用。然而由于数量性状受环境影响大, 鉴定较困难, 所以在数量性状方面的基因定位与克隆不够深入。在今后的育种过程中, 应加强分子鉴定在诱变育种中的研究

和应用, 加快技术创新以获得更多的突变材料, 不断提高效率, 为培育高品质、抗性强的黄瓜新品种以及构建种质资源奠定基础。

参考文献:

- [1] 薛存宝. 黄瓜 EMS 诱变突变体库及 TILLING 平台的初步构建 [D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2016.
- [2] 李伟, 袁学平, 杨迺然, 等. 弱光对两品种黄瓜光合特性和生长发育的影响 [J]. 东北农业大学学报, 2012, 43(1): 97-103.
- [3] 周倩. 基于基因组测序的黄瓜高密度遗传图谱构建和果皮浅绿突变体基因定位 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2015.
- [4] 薛红霞, 蒋举卫, 李晓丽, 等. 黄瓜突变体库的构建及表型变异的初步研究 [J]. 核农学报, 2019, 33(3): 432-439.
- [5] 卢霞, 刘梦华, 邓志军, 等. 基于 InDel 标记的黄瓜种质资源遗传多样性分析 [J]. 江苏农业科学, 2021, 49(1): 49-54.
- [6] 罗琳, 刘鉴, 孙小程, 等. 盐酸羟胺诱变黄瓜的生长及光合特征 [J]. 中国瓜菜, 2019, 32(11): 13-18.
- [7] 何书强. 黄瓜 EMS 突变体库的构建及表型分析 [D]. 秦皇岛: 河北科技师范学院, 2019.
- [8] 王学征, 朱娜娜, 高清宇, 等. EMS 诱变西瓜种子条件分析 [J]. 东北农业大学学报, 2015, 46(7): 35-39.
- [9] Klug W S, Cummings M R, Spencer C A, et al. Essentials of genetics [M]. Beijing: Higher Education Press, 2016: 286-287.
- [10] 王安邦, 龚德勇, 许奕, 等. 物理诱变技术及其在香蕉育种中的研究进展 [J]. 激光生物学报, 2020, 29(1): 11-17, 33.
- [11] 蔡世娟, 秦垒, 曹天光, 等. ¹²C⁶⁺ 辐射对黄瓜光合色素含量及光合基因表达的影响 [J]. 安徽农业科学, 2020, 48(18): 59-62.
- [12] Palma C F F, Castro - Alves V, Morales L O, et al. Spectral composition of light affects sensitivity to UV - B and photoinhibition in cucumber [J]. Frontiers in Plant Science, 2021, 11: 610011.
- [13] 胡尊瑞, 李志强, 吴晓云, 等. 冷等离子体处理对黄瓜幼苗特性的影响 [J]. 西南农业学报, 2016, 29(12): 2935-2938.
- [14] 赵冬生, 刘金钰, 刘巧泉. 水稻突变体库构建方法的新发展: CRISPR/Cas9 系统 [J]. 扬州大学学报 (农业与生命科学版), 2021, 42(4): 71-77.
- [15] 李鹏奎, 王萍, 王福全, 等. 航天诱变白黄瓜品系 05-33-6-1-2-49 的选育 [J]. 甘肃农业科技, 2016(8): 27-29.
- [16] 潘连公, 陈彩能, 包文生, 等. 航天育种遗传机理与选育成效分析 [J]. 中国农村小康科技, 2007(1): 33-35.
- [17] 冯路路. 农杆菌介导的黄瓜遗传转化体系优化及 T-DNA 插入突变体的创制与鉴定 [D]. 南京: 南京农业大学, 2020.
- [18] 冯翠莲, 万玥, 冯小艳, 等. 转基因甘蔗 Big-2 的 T-DNA 侧翼序列分析及其转化事件特异性检测 [J]. 热带作物学报, 2021, 42(9): 2468-2477.
- [19] Krysan P J, Young J C, Sussman M R. T-DNA as an insertional mutagen in *Arabidopsis* [J]. The Plant Cell, 1999, 11(12): 2283-2290.
- [20] Feldmann K A. T-DNA insertion mutagenesis in *Arabidopsis*: mutational spectrum [J]. The Plant Journal, 1991, 1(1): 71-82.

- [21] Trulson A J, Simpson R B, Shahin E A. Transformation of cucumber (*Cucumis sativus* L.) plants with *Agrobacterium rhizogenes* [J]. Theoretical and Applied Genetics, 1986, 73(1): 11–15.
- [22] 冯路路, 王雪艳, 夏磊, 等. 利用 *GFP* 基因的黄瓜 T-DNA 插入突变体构建与快速鉴定[J]. 核农学报, 2021, 35(7): 1540–1547.
- [23] 李蕾, 李季, 孟永娇, 等. 黄瓜 T-DNA 插入突变体库的构建[J]. 南京农业大学学报, 2016, 39(1): 40–47.
- [24] 齐晓花, 李倩倩, 叶思佳, 等. 黄瓜 EMS 诱变突变体库的构建[J]. 分子植物育种, 2019, 17(18): 6066–6072.
- [25] Qian M J, Rosenqvist E, Flygare A M, et al. UV-A light induces a robust and dwarfed phenotype in cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) without affecting fruit yield[J]. Scientia Horticulturae, 2020, 263: 109–110.
- [26] 陈玉霞, 鉏晓艳, 邱建辉, 等. $^{60}\text{Co}-\gamma$ 辐射对黄瓜种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 江苏农业科学, 2020, 48(1): 146–150.
- [27] Volkova P Y, Bondarenko E V, Kazakova E A. Radiation hormesis in plants[J]. Current Opinion in Toxicology, 2022, 30: 100334.
- [28] Liu P, Li Q, Li Y Y, et al. Effect of UV-B radiation treatments on growth, physiology and antioxidant systems of cucumber seedlings in artificial climate chamber[J]. 农业工程学报, 2017, 33(17): 181–186.
- [29] 亓飞, 林姝, 宋蒙飞, 等. 黄瓜抗白粉病突变体筛选与鉴定[J]. 中国农业科学, 2020, 53(1): 172–182.
- [30] 张小花. 外源独脚金内酯对黄瓜盐胁迫耐受性的影响[D]. 兰州: 西北师范大学, 2021.
- [31] 蒋景龙, 李丽. 转录组学分析外源 H_2S 调控黄瓜响应盐胁迫的机理[J]. 华北农学报, 2020, 35(5): 17–25.
- [32] 贺桢劲芝, 宋晓飞, 李晓丽, 等. 黄瓜果实性状突变体的筛选与评价[J]. 北方园艺, 2020(2): 8–14.
- [33] Chen Y, Wen H F, Pan J, et al. *CsUFO* is involved in the formation of flowers and tendrils in cucumber[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2021, 134(7): 2141–2150.
- [34] Chen C, Cui Q Z, Huang S W, et al. An EMS mutant library for cucumber[J]. Journal of Integrative Agriculture, 2018, 17(7): 1612–1619.
- [35] 吴海滨, 朱汝财, 赵德刚. TILLING 技术的原理与方法述评[J]. 分子植物育种, 2004, 2(4): 574–580.
- [36] Berg J A, Hermans F W K, Beenders F, et al. The amino acid permease (*AAP*) genes *CsAAP2A* and *SLAAP5A/B* are required for oomycete susceptibility in cucumber and tomato[J]. Molecular Plant Pathology, 2021, 22(6): 658–672.
- [37] 陈皓炜, 刘志宇, 安宇宁, 等. 黄瓜发育早期耐旱突变体筛选与鉴定[J]. 江苏农业科学, 2021, 49(1): 112–118.
- [38] 许兰杰, 余永亮, 杨红旗, 等. 基于表型和 DNA 分子标记的菊花种质研究进展[J/OL]. 分子植物育种. (2021-09-29)[2022-01-02]. <https://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20210928.1743.035.html>.
- [39] 牛玉倩, 李征. 黄瓜白化突变体分析与突变基因 *al* 的精细定位[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2021, 49(5): 88–95, 122.
- [40] 赵子瑶. 与黄瓜株型性状相关的两个候选基因(长下胚轴 *CsNABP* 和圆叶 *CsPID*)的功能初步分析[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2018.
- [41] 韩杜斌. 蓝光对烟粉虱的驱避作用及对黄瓜抗虫性诱导机制研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2021.
- [42] 郭嘉华, 武兆昕, 李蕾, 等. 西芹腐根二次酮层物对黄瓜枯萎病的诱导抗性及其转录组学分析[J/OL]. 植物病理学报. (2021-11-22)[2022-01-05]. <https://doi.org/10.13926/j.cnki.apps.000495>.
- [43] 潘明, 熊良荣, 张克岩, 等. 黄瓜黄叶基因 *YL* 的精细定位及候选基因预测[J]. 上海农业学报, 2021, 37(4): 7–12.
- [44] Yang Z G, Song M F, Cheng F, et al. A SNP mutation in homeodomain-DDT (HD-DDT) transcription factor results in multiple trichomes (mt) in cucumber (*Cucumis sativus* L.) [J]. Genes, 2021, 12(10): 1478.
- [45] 遇瑶, 潘健, 温海帆, 等. 黄瓜黄叶突变基因 *yl-5* 的鉴定与分析[J/OL]. 分子植物育种. (2021-01-18)[2021-12-26]. <https://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20210118.1715.012.html>.
- [46] Rong F X, Chen F F, Huang L, et al. A mutation in class III homeodomain-leucine zipper (HD-ZIP III) transcription factor results in curly leaf (cul) in cucumber (*Cucumis sativus* L.) [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2019, 132(1): 113–123.
- [47] Hao N, Du Y L, Li H Y, et al. *CsMYB36* is involved in the formation of yellow green peel in cucumber (*Cucumis sativus* L.) [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2018, 131(8): 1659–1669.
- [48] Song M F, Wei Q Z, Wang J, et al. Fine mapping of *CsVYL*, conferring virescent leaf through the regulation of chloroplast development in cucumber[J]. Frontiers in Plant Science, 2018, 9: 432.
- [49] 潘玉朋. 黄瓜圆形果的 QTL 定位及无表皮毛(果刺)基因 *csgl3* 的图位克隆[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2016.
- [50] Wang C, Hao N, Xia Y T, et al. *CsKDO* is a candidate gene regulating seed germination lethality in cucumber[J]. Breeding Science, 2021, 71(4): 417–425.
- [51] Hu L L, Liu P, Jin Z S, et al. A mutation in *CsHY2* encoding a phytochromobilin (PΦB) synthase leads to an elongated hypocotyl 1 (*elh1*) phenotype in cucumber (*Cucumis sativus* L.) [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2021, 134(8): 2639–2652.
- [52] 王琛. 黄瓜根发育异常突变体及其候选基因的鉴定[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2019.