

# 黄瓜皱叶突变体的表型鉴定及遗传分析

朱高翔<sup>1</sup>, 张美迪<sup>1,2</sup>, 宋晓飞<sup>1</sup>, 崔浩楠<sup>1,2</sup>, 李晓丽<sup>1</sup>, 朱雪云<sup>1</sup>, 闫立英<sup>1</sup>

(1. 河北科技师范学院园艺科技学院 河北秦皇岛 066004;

2. 河北省(秦皇岛)黄瓜产业技术研究院 河北秦皇岛 066004)

**摘要:**以黄瓜皱叶突变体 *lc* 及其野生型自交系乐亭白黄瓜为试材, 研究其主要农艺性状、叶绿素含量、光合特性、表皮细胞形状、叶肉细胞排列和遗传规律。与野生型相比, 突变体 *lc* 表现为叶片皱缩、叶形改变、叶基部沿凹陷处紧靠拢、株型紧凑、植株长势正常。突变体叶绿素 *a* 含量显著高于野生型, 达 15.2%, 而二者之间叶绿素 *b*、类胡萝卜素 *c* 和叶绿素 *a/b* 的含量均无显著差异; 皱叶突变体的  $P_n$  和  $T_s$  显著高于野生型, 分别提高 28.4% 和 30.4%,  $G_s$  极显著高于野生型, 提高 38.6%, 二者间  $C_i$  差异不显著。遗传规律分析表明, 皱叶突变表型由单隐性核基因控制, 命名为 *Cslc*。

**关键词:** 黄瓜; 皱叶; 叶绿素含量; 光合特性; 遗传分析

中图分类号: S642.2

文献标志码: A

文章编号: 1673-2871(2022)03-009-07

## Phenotypic evaluation and genetic analysis of a crinkled leaf mutant (*lc*) in cucumber

ZHU Gaoxiang<sup>1</sup>, ZHANG Meidi<sup>1,2</sup>, SONG Xiaofei<sup>1</sup>, CUI Haonan<sup>1,2</sup>, LI Xiaoli<sup>1</sup>, ZHU Xueyun<sup>1</sup>, YAN Liying<sup>1</sup>

(1. College of Horticulture Science and Technology, Hebei Normal University of Science and Technology, Qinhuangdao 066004, Hebei, China; 2. Hebei Technology Research Institute of Cucumber Industry, Qinhuangdao 066004, Hebei, China)

**Abstract:** In this study, a crinkled leaf mutant *lc* and its wild-type inbred line Laoting White cucumber were used as test materials to evaluate main agronomic traits, chlorophyll content, photosynthetic characteristics, epidermal cell shape, mesophyll cell arrangement and inheritance of the mutant. Compared with wild type, the mutant showed crinkled leaf, changed leaf shape, closed leaf base along the depression, compact plant and normal plant growth. The content of chlorophyll *a* in mutant was 15.2% higher than that in wild-type, but the content of chlorophyll *b*, carotenoid *c* and chlorophyll *a/b* had no significant difference between the mutant and wild type. The net photosynthetic rate ( $P_n$ ) and transpiration rate ( $T_s$ ) of the mutant were 28.4% and 30.4% higher than those of the wild type. The stomatal conductance ( $G_s$ ) of the mutant was 38.6% higher than that of the wild type. Intercellular  $CO_2$  concentration ( $C_i$ ) had no significant difference between the mutant and wild type. Genetic analysis suggests that the mutant phenotype of crinkled leaf is controlled by a single recessive nuclear gene named *Cslc*.

**Key words:** Cucumber; Crinkled leaf; Chlorophyll content; Photosynthetic characteristics; Genetic analysis

黄瓜(*Cucumis sativus* L.)属于葫芦科甜瓜属植物, 是高产高效的世界性蔬菜, 具有食用、保健、美容等功效, 种植地域范围广, 是我国主要栽培的蔬菜作物之一。黄瓜在河北省产业颇具规模, 播种面积大、产量高, 据河北省农业农村厅资料显示, 2018年河北黄瓜播种面积及产量均位于全省蔬菜品类第二, 仅次于大白菜<sup>[1-2]</sup>。株型是与黄瓜产量密切相关的重要性状, 是植物器官生长状态的表型结构。叶形是构成理想株型的重要组成部分<sup>[3-6]</sup>, 直接影响

黄瓜植株的光合效率, 进而影响果实品质和产量<sup>[7]</sup>。

叶片皱缩卷曲是“理想株型”的重要表现之一, 影响植株的光合效率和蒸腾速率。迄今为止, 在棉花、大麦、水稻和玉米等作物中均发现了叶片皱缩突变体, 但是叶片皱缩的原因各不相同。1937年Harland在海岛棉中发现一种“矮皱突变体”(crinkled dwarf), 他认为该性状是叶肉与叶脉延展不平衡所致<sup>[8]</sup>。高阳<sup>[9]</sup>使用高通量测序技术, 以突变体及其近等基因系的棉花茎尖为材料, 进行转录组测序

收稿日期: 2021-10-10; 修回日期: 2022-02-12

基金项目: 河北省自然科学基金资助项目(C2021407036)

作者简介: 朱高翔, 男, 在读硕士研究生, 研究方向为黄瓜遗传育种与分子生物学。E-mail: 15033551320@163.com

通信作者: 李晓丽, 女, 副教授, 研究方向为黄瓜遗传育种与分子生物学。E-mail: lixiaoli3000@126.com

获得 Unigene 序列,以此为参照序列进行数字表达谱分析,筛选差异基因。通过数字表达谱分析、KEGG 分析等途径从中挑选出 10 个相关基因,利用 qRT-PCR 在叶皱小突变体根尖、茎尖中进行验证,其表达量与数字表达谱结果一致。为了验证这 10 个基因与叶皱小突变体的产生是否相关,进一步利用 VIGS 技术抑制其在野生型中的表达,结果发现在野生型中沉默掉 *ABCB19* 基因出现与叶皱小突变体相似的表型。这一结果进一步证实叶皱小突变体的产生与生长素密切相关。

Jarvi 等<sup>[10]</sup>首次报道大麦籽粒皱缩自然突变体,并通过易位试验将大麦皱缩突变体 *seg4* 定位到 1 号染色体上,但迄今为止大麦皱缩突变体 *seg4* 的分子机制尚不清楚;孙敏<sup>[11]</sup>通过对籽粒饱满的 *BM42* (Bowman) 和籽粒皱缩突变体 *BM3* 进行转录组分析,结果发现含有 SNP 数量最多的染色体是 6H,并进一步对花后 3 个不同时期检测到的 2087 个非重复的差异表达基因进行 KEGG 通路富集分析、主成分分析、表达模式聚类分析及蛋白质互作网络预测,筛选出 12 个差异表达基因,推测这些基因可能与大麦皱缩突变有关。粘金蓉<sup>[12]</sup>通过图位克隆技术将水稻叶尖皱缩扭曲突变基因 *LTR1* 初步定位于第 2 条染色体上,位于 RM6318 和 RM1920 标记之间;进一步扩大群体,最终将 *LTR1* 精细定位在两个标记 STS-N12 与 CAPS-N20 之间、物理距离约 12.3 kb 的候选区域内,*LTR1* 基因是一个控制叶片形态发育的新基因,该基因与叶片表型之间的关系及其调控分子机制还有待于进一步验证。李峰利<sup>[13]</sup>在陆地棉中获得一个自然突变的棉花皱叶突变体 *wr3*,通过 BSA 方法和图位克隆将 *wr3* 定位在 21 号染色体的 NAU3740 和 *cgr5428* 两个标记之间,遗传距离分别为 4.8 cM 和 10.4 cM。周练等<sup>[14]</sup>用甲基磺酸乙酯(EMS)处理玉米自交系 Mo17 花粉得到一个叶片皱缩突变体 *wll*;通过分析定位区间候选基因在玉米叶中的表达水平、全基因组测序以及与 7 个不同玉米自交系的序列比对,初步预测 *Zm00001d027266* 基因为玉米皱叶突变体 *wll* 的候选基因,该基因 *Zm00001d027266* CDS 序列第 797 个碱基由 G 转变为 A,导致该位点编码的丝氨酸替换为天冬氨酸,这可能是 *wll* 表型产生的原因。周世奇等<sup>[15]</sup>利用航天诱变方法获得烟草品种 NC89 的突变体 *NC89-M*,与野生型相比,*NC89-M* 叶形呈宽椭圆,叶面褶皱,叶缘呈锯齿状。通过混合集团分离法,确定 SSR 标记 PT60795 与叶形性状连锁。利

用已有的突变体基因组序列信息,开发 InDel 标记最终将突变基因 *nc89m* 定位于标记 PT60795 与 InDel5 之间,遗传距离分别为 2.9 cM 和 4.4 cM。在该区间内发现在叶片中高表达的基因 *Nitab4.50000008g0880.1* 编码区第 1294 个核苷酸发生突变,由腺嘌呤突变为胞嘧啶,其编码氨基酸由酪氨酸突变为天冬氨酸,因此将其作为 *nc89m* 的候选基因。

发掘和鉴定新的皱叶材料,开展皱缩突变基因的定位、克隆等对“理想株型”研究具有重要的理论意义和应用价值。河北科技师范学院黄瓜遗传育种课题组前期在黄瓜地方资源乐亭白黄瓜自交系中发现了一份自然突变的皱叶突变体。与野生型相比,突变体叶片皱缩、叶形改变、叶基部沿凹陷处紧靠拢、株型紧凑、植株长势正常。目前黄瓜叶片皱缩的原因及其分子机制尚不清楚。笔者以 *lc* 突变体及其野生型乐亭白黄瓜自交系为材料,对其苗期和结果期的主要农艺性状、叶绿素含量、光合特性、细胞形态及遗传规律进行了研究,为定位、克隆皱叶突变基因奠定材料基础。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

以黄瓜地方资源乐亭白黄瓜自交系及其皱叶突变体(*lc*)为试验材料。乐亭白黄瓜是河北科技师范学院对唐山地区地方种质资源纯化所得的优良自交系;皱叶突变体是在乐亭白黄瓜自交系中发现的自然突变体。

### 1.2 方 法

1.2.1 形态特征和主要农艺性状调查 试验于 2021 年春季在河北科技师范学院施各庄试验基地进行。在日光温室中育苗,于 1 月 20 日播种,2 月 16 日定植。双行定植,株距 25 cm,大行距 80 cm,小行距 50 cm。野生型亲本(P<sub>1</sub>)定植 29 株,突变体 *lc* 亲本(P<sub>2</sub>)定植 10 株,F<sub>1</sub> 定植 13 株,F<sub>2</sub> 定植 180 株,常规田间栽培管理。在结果盛期对突变体 *lc* 及其野生型亲本乐亭白黄瓜各选择长势基本一致的 6 株植株进行主要农艺性状的调查。主要农艺性状的调查参照李锡香等<sup>[16]</sup>编著的《黄瓜种质资源描述规范和数据标准》,并稍作改动。

叶片长:结果盛期,主蔓中部最大叶片基部到叶先端的长度,单位 cm。

叶片宽:结果盛期,主蔓中部最大叶片最宽处的宽度,单位 cm。

叶面积:透明方格板法,单位  $\text{cm}^2$ 。

叶柄长:结果盛期,主蔓中部最大叶叶柄的长度,单位  $\text{cm}$ 。

叶柄着生角度:结果盛期,最大叶叶柄与主蔓自然夹角的角度,单位( $^\circ$ )。

株高:结果盛期,地面至植株最高点的高度,单位  $\text{cm}$ 。

株幅:结果盛期,植株叶片伸展的最大距离,单位  $\text{cm}$ 。

节间长:结果盛期,植株主蔓中部最大叶所在节的节间长度。单位  $\text{cm}$ 。

节数:可见叶片,节间长大于  $1\text{ cm}$  的节数。

雄花花冠直径:盛开当天上午,雄花花冠的直径,单位  $\text{cm}$ 。

雄花花瓣长:盛开当天上午,雄花花瓣的长度,单位  $\text{cm}$ 。

雄花花瓣宽:盛开当天上午,雄花花瓣的宽度,单位  $\text{cm}$ 。

瓜长:结果盛期,正常商品瓜瓜蒂至瓜顶的长度,单位  $\text{cm}$ 。

瓜横径:结果盛期,正常商品瓜距瓜顶  $1/3$  处的横径,单位  $\text{cm}$ 。

把瓜比:结果盛期,正常商品瓜瓜把长/瓜长。

腔径比:结果盛期,正常商品瓜中心腔直径/瓜横径。

可溶性固形物含量:  $100\text{ g}$  新鲜商品瓜瓜肉所含可溶性固形物的克数,单位 $\%$ 。

**1.2.2 遗传分析** 试验于2019年春季在河北科技师范学院施各庄试验基地进行。在日光温室中育苗,于3月22日播种,4月9日定植。双行定植,株距  $25\text{ cm}$ ,大行距  $80\text{ cm}$ ,小行距  $50\text{ cm}$ 。野生型亲本( $P_1$ )、突变体  $lc$  亲本( $P_2$ )、 $F_1$  和  $F_{1反}$  各定植  $38$  株, $F_2$  定植  $226$  株,常规管理。苗期分别观察统计野生型亲本、突变体亲本、 $F_1$ 、 $F_{1反}$  和  $F_2$  植株的叶片皱缩分离情况,并采用 SAS 统计分析软件对调查结果进行卡平方测验( $\chi^2$ )检测分离比适合度,分析黄瓜叶片皱缩性状的遗传规律。

**1.2.3 叶绿素含量的测定** 结果盛期,分别取皱叶突变体  $lc$  和野生型乐亭白黄瓜生长点以下第4片成熟新鲜叶,采用乙醇浸提法提取叶绿素<sup>[17]</sup>。双亲各选3株,每株设3次生物学重复,每次重复称取  $0.1\text{ g}$  叶片放入  $10\text{ mL}$  离心管中,加入  $5\text{ mL}95\%$  的乙醇溶液  $5\text{ mL}$ ,避光浸泡  $96\text{ h}$ ,浸泡过程中每天颠倒混匀2次,叶片完全脱色后使用上海仪电分析仪

器有限公司生产的 INESA765 型分光光度计测定消光度值,计算叶绿素 a、叶绿素 b 和类胡萝卜素 c 的含量;以  $95\%$  乙醇溶液作为空白对照,溶液分别于波长为  $665\text{ nm}$ 、 $649\text{ nm}$  和  $470\text{ nm}$  下进行比色,所测的吸光度(OD)代入下列公式,得到叶绿素 a( $Chla$ )、叶绿素 b( $Chlb$ )、类胡萝卜素 c( $Caro$ )含量( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )。

公式如下:

$$Ca=(13.95 \times OD_{665}-6.88 \times OD_{649}) \times V/(W \times 1000); \quad (1)$$

$$Cb=(24.96 \times OD_{649}-7.32 \times OD_{665}) \times V/(W \times 1000); \quad (2)$$

$$Ccaro=(1000 \times OD_{470}-2.05 \times Ca-114 \times Cb) \times V/(245 \times W \times 1000); \quad (3)$$

$$Cchl=Ca+Cb. \quad (4)$$

( $V$  为定容体积; $W$  为称取叶片质量)

**1.2.4 光合作用参数测定** 在结果盛期利用德国 Walz 公司生产的便携式光合荧光测量系统——GFS-3000 于晴天  $9:00-11:00$ ,测定突变体  $lc$  及野生型乐亭白黄瓜的叶片净光合速率( $P_n$ )、气孔导度( $G_s$ )、蒸腾速率( $T_r$ )与细胞间隙  $\text{CO}_2$  浓度( $C_i$ )等指标。测定时仪器使用开放式气路,测定光源为 LED 红蓝光源,光强设为  $1000\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。皱叶突变体和野生型各选3株,每株在生长点下第5片真叶测定光合作用参数。

**1.2.5 表皮细胞扫描电镜观察** 选取突变体  $lc$  和野生型乐亭白黄瓜植株生长点下第5片叶片观察表皮细胞形态。切取双亲相同部位的叶片(面积为  $3\text{ mm} \times 3\text{ mm}$ ),放入青霉素小瓶中加入戊二醛固定液固定,抽真空处理, $4\text{ }^\circ\text{C}$  过夜,脱水,喷金处理,通过扫描电镜观察叶片表皮细胞形态<sup>[18]</sup>。

**1.2.6 石蜡切片观察叶肉细胞** 参照高东菊<sup>[8]</sup>的方法并作修改。选取黄瓜皱叶突变体  $lc$  和野生型乐亭白黄瓜植株新鲜叶片观察叶肉细胞形态。切取相同部位的叶片,FAA 固定液固定,抽真空处理, $4\text{ }^\circ\text{C}$  过夜,用不同浓度乙醇:二甲苯进行脱水处理,石蜡:二甲苯  $60\text{ }^\circ\text{C}$  孵育, $100\%$  石蜡继续孵育。脱蜡、包埋、切片、染色、显微镜观察叶肉细胞。

### 1.3 数据统计分析

应用 Excel 2007 进行数据计算和作图,用 DPS 9.01 软件进行差异显著性检验。

## 2 结果与分析

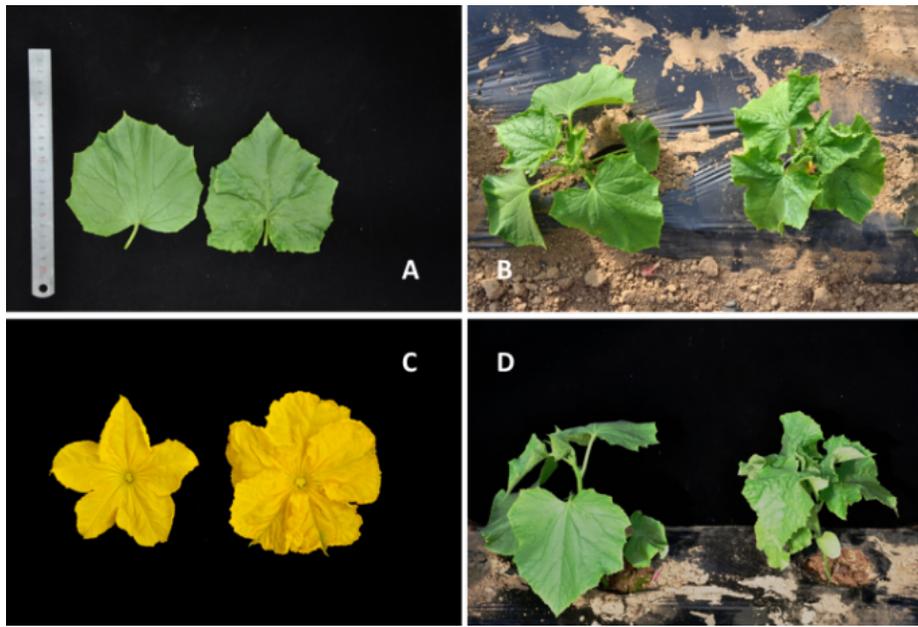
### 2.1 黄瓜皱叶突变体形态学调查

由图1可以看出,与野生型植株相比,黄瓜皱

叶突变体表现为叶片皱缩、叶基部沿凹陷处紧靠拢,花器官皱缩、株型紧凑,植株长势正常且表型稳定。

由表 1 可以看出,在结果盛期,突变体与野生型相比,叶长、叶宽差异不显著,但叶面积差异显著,突变体叶面积显著大于野生型,达 21.10%。突变体与野生型节间长、叶柄长、节数差异不显著,但

株高差异显著,突变体株高显著低于野生型,达 11.0%。突变体株幅、叶柄着生角度均极显著小于野生型,分别达 16.0%和 60.10%。突变体雄花花冠直径、雄花花瓣长、雄花花瓣宽极显著大于野生型,分别达 14.80%、13.30%和 33.30%。野生型与突变体相比,把瓜比差异极显著,瓜长、瓜横径、腔径比和可溶性固形物含量差异均不显著。



注: A. 突变体(右)和野生型(左)的叶片;B. 苗期突变体(右)和野生型(左)的株幅;C. 突变体(右)和野生型(左)的雄花;D. 苗期突变体(右)和野生型(左)的株高。

图 1 突变体 *lc* 和野生型的形态学表现

表 1 黄瓜皱叶突变体与野生型主要农艺性状比较

| 表型         | 株高/cm        | 株幅/cm       | 节间长/cm    | 叶长/cm     | 叶宽/cm      | 叶面积/cm <sup>2</sup> | 叶柄长/cm      | 叶柄着生角度/°    | 节数/节      |
|------------|--------------|-------------|-----------|-----------|------------|---------------------|-------------|-------------|-----------|
| 野生型        | 169.3±10.10* | 56.8±5.50** | 12.4±2.20 | 26.1±2.30 | 25.1±2.30  | 412.1±67.20         | 14.5±2.40   | 74.1±8.10** | 20.0±1.20 |
| 突变体        | 150.7±19.40  | 47.7±6.80   | 12.3±2.80 | 27.4±3.10 | 27.0±3.00  | 498.9±105.60*       | 15.2±1.90   | 29.6±6.30   | 20.9±2.60 |
| 雄花花冠直径/cm  | 雄花花瓣长/cm     | 雄花花瓣宽/cm    | 商品瓜瓜长/cm  | 瓜横径/cm    | 把瓜比        | 腔径比                 | w(可溶性固形物)/% |             |           |
| 6.1±0.36** | 3.0±0.19     | 2.7±0.22    | 28.9±0.96 | 3.6±0.08  | 0.1±0.01   | 0.6±0.03            | 4.4±0.17    |             |           |
| 7.0±0.64   | 3.4±0.39**   | 3.6±0.31**  | 28.8±0.99 | 3.8±0.16  | 0.2±0.01** | 0.6±0.03            | 4.3±0.14    |             |           |

注:\*表示在 0.05 水平差异显著,\*\*表示在 0.01 水平差异显著。下同。

### 2.2 黄瓜皱叶突变体叶绿素含量测定

由表 2 可以看出,与野生型相比,皱叶突变体植株叶绿素 a 含量显著增加,比野生型提高了 15.2%,而叶绿素 b、类胡萝卜素 c 和叶绿素 a/b 的含量差异不显著,突变体叶绿素 b 和类胡萝卜素 c 含量较野生型分别提高 14.6%和 15.6%,叶绿素 a/b 较野生型提高 0.32%。

### 2.3 黄瓜皱叶突变体光合参数测定

由表 3 可以看出,黄瓜皱叶突变体 *lc* 的  $P_n$  和  $T_r$  均显著高于乐亭白黄瓜,分别提高 28.40%和

表 2 黄瓜皱叶突变体 *lc* 与其野生型叶绿素含量的比较

| 表型          | w(叶绿素 a)/(mg·g <sup>-1</sup> ) | w(叶绿素 b)/(mg·g <sup>-1</sup> ) | w(类胡萝卜素 c)/(mg·g <sup>-1</sup> ) | 叶绿素 a/b   |
|-------------|--------------------------------|--------------------------------|----------------------------------|-----------|
| 野生型         | 1.25±0.05                      | 0.41±0.02                      | 0.32±0.02                        | 3.09±0.05 |
| 突变体         | 1.44±0.05*                     | 0.47±0.03                      | 0.37±0.04                        | 3.10±0.13 |
| 突变体比野生型提高/% | 15.20                          | 14.60                          | 15.60                            | 0.320     |

30.40%,表明突变体光合能力强、叶片蒸腾速度快;突变体  $G_s$  极显著的高于乐亭白黄瓜,高达 38.60%;  $C_i$  差异不显著,表明突变体和野生型对 CO<sub>2</sub> 的利用率差异不大。

2.4 表皮细胞扫描电镜观察结果

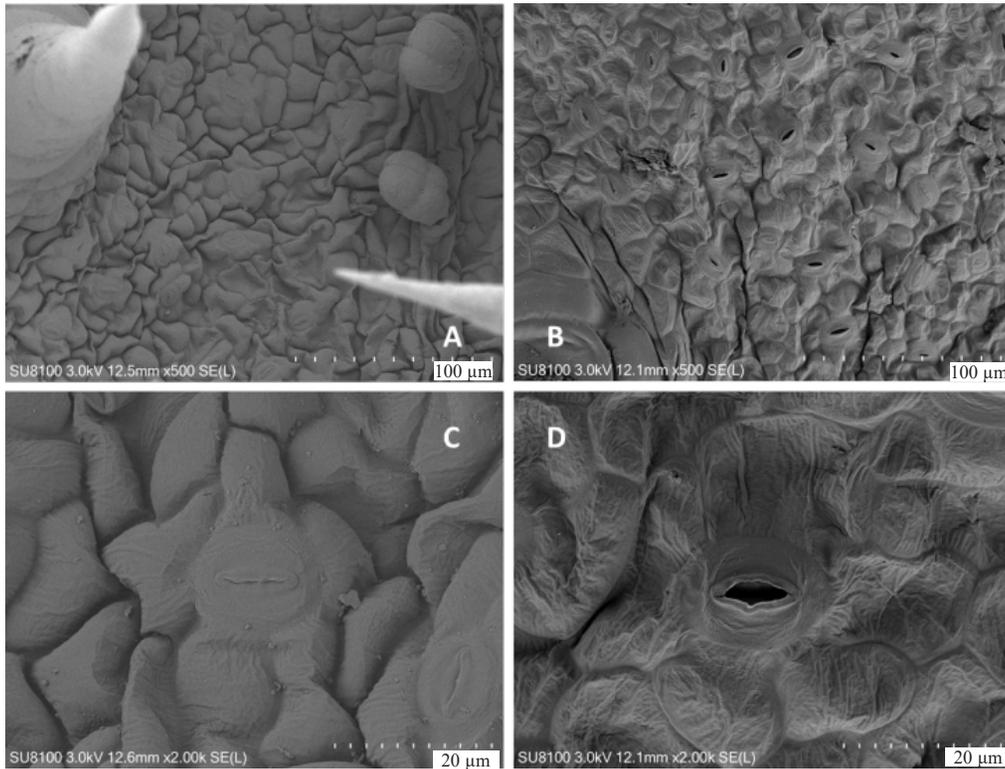
由图2可以看出,皱叶突变体的表皮细胞与野生型相比也呈现皱缩状态,野生型叶表皮气孔处于闭合状态,突变体叶表皮气孔部分处于开放状态,相同视野下突变体的气孔开放数目比野生型多。

2.5 表皮细胞石蜡切片观察结果

由图3可以看出,皱叶突变体叶片未皱缩部位

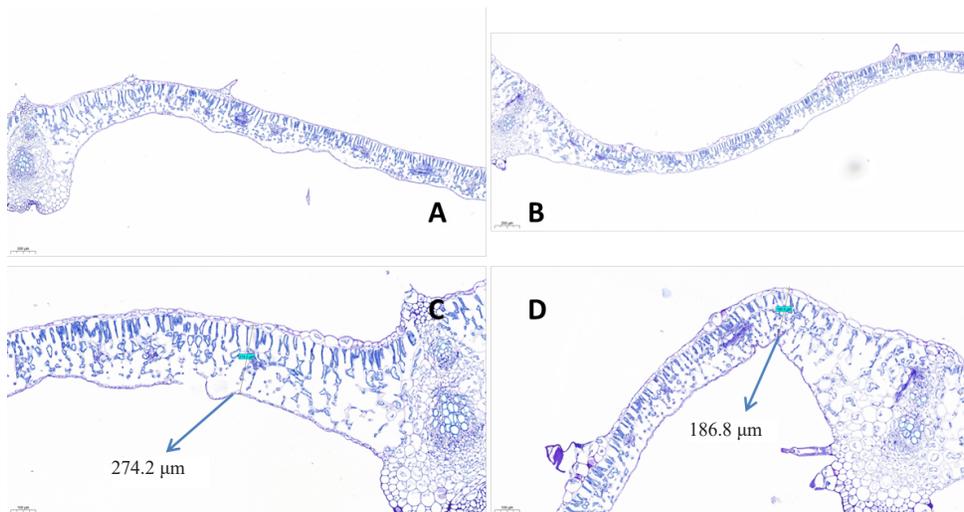
表3 黄瓜皱叶突变体与野生型叶片光合能力比较

| 表型          | $P_n/$<br>( $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) | $T_i/$<br>( $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) | $C_i/$<br>( $\mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$ ) | $G_s/$<br>( $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) |
|-------------|---|---|---|---|
| 野生型         | 11.91±0.5   | 3.88±0.38   | 306.29±4.87   | 220.30±22.52  |
| 突变体         | 15.30±1.27*   | 5.06±0.26*  | 315.77±5.90   | 305.39±16.17**  |
| 突变体比野生型提高/% | 28.40   | 30.40   | 3.10  | 38.60   |



注:A. 野生型叶片在 100 μm 视野下的表皮细胞;B. 突变体 *lc* 在 100 μm 视野下的表皮细胞;C. 野生型叶片在 20 μm 视野下的表皮细胞;D. 突变体 *lc* 在 20 μm 视野下的表皮细胞。

图2 突变体 *lc* 和野生型表皮细胞观察



注:A. 200 μm 视野下野生型的叶肉细胞;B. 200 μm 视野下突变体的叶肉细胞;C. 100 μm 视野下野生型的叶肉细胞;D. 100 μm 视野下突变体的叶肉细胞。

图3 突变体 *lc* 和野生型叶片的叶肉细胞观察

的叶肉细胞较野生型叶肉细胞相近。突变体皱缩部位叶肉细胞较野生型叶肉细胞相比,海绵细胞变少,表皮细胞数目不变,叶片变薄,其中突变体叶肉厚度约为 186.8 μm,野生型叶肉厚度约为 274.2 μm。

### 2.6 黄瓜皱叶突变体的遗传规律分析

为了分析黄瓜皱叶突变体的遗传规律,以皱叶突变体 *lc* 和野生型乐亭白黄瓜为亲本,杂交获得  $F_1$  和  $F_{1反}$ ,  $F_1$  和  $F_{1反}$  植株均表现为野生型表型,表明突变性状由隐性核基因调控。 $F_1$  代自交构建的  $F_2$  代分离群体中,突变表型植株 52 株,野生型表型植株 174 株,其分离比率为 3.35:1 ( $\chi^2=0.377 < \chi^2_{(0.05, 1)}=3.84$ ),基本符合孟德尔遗传规律的理想分离比 3:1 (表 4),因此黄瓜皱叶突变基因为单隐性核基因,命名 *Cslc*。

表 4 黄瓜皱叶突变体遗传规律分析

| 世代                            | 总计  | 正常叶 | 皱叶 | 分离比率   | $\chi^2$ |
|-------------------------------|-----|-----|----|--------|----------|
| $P_1$ (乐亭白黄瓜)                 | 38  | 38  | 0  |        |          |
| $P_2$ ( <i>lc</i> )           | 38  | 0   | 38 |        |          |
| $F_1$ ( $P_1 \times P_2$ )    | 38  | 38  | 0  |        |          |
| $F_{1反}$ ( $P_2 \times P_1$ ) | 38  | 38  | 0  |        |          |
| $F_2$                         | 226 | 174 | 52 | 3.35:1 | 0        |

## 3 讨论与结论

近年来,与植物叶片皱缩突变体相关的研究相继被报道,目前已在多种高等植物中发现了叶片皱缩突变体,如烟草<sup>[15]</sup>、水稻<sup>[19-20]</sup>、膏桐<sup>[21]</sup>、大豆<sup>[22]</sup>、甘蓝<sup>[23]</sup>、棉花<sup>[13,24]</sup>。

目前,黄瓜中皱叶突变体未见报道,但黄瓜超级紧凑或矮化突变体<sup>[25-26]</sup>、大豆叶片黄化新突变体<sup>[27]</sup>等均伴随叶片皱缩表型。在本试验中,黄瓜皱叶突变体为自然突变材料,该突变体表现为叶片皱缩、株型紧凑且植株长势正常。笔者发现了一份新的皱叶突变体材料,在生产上可以利用其株型紧凑的优点进行合理密植。同时,突变体 *lc* 的发现丰富了叶形突变体的种质资源,也为黄瓜株型的改良提供了重要的材料。

叶片中叶绿素含量与净光合速率密切相关<sup>[28]</sup>。在本试验中,皱叶突变体植株叶绿素 a 含量显著高于野生型植株,突变体的叶绿素 a 含量比野生型提高了 15.20%,而叶绿素 b、类胡萝卜素 c 的含量和叶绿素 a/b 的值在两亲本间无显著差异,但突变体叶绿素 b 和类胡萝卜 c 含量较野生型分别提高 14.60%和 15.60%。叶绿素含量测定结果与光合指

标测定结果一致,黄瓜皱叶突变体 *lc* 的  $P_n$  显著高于野生型,提高了 28.40%。可以利用突变体株型紧凑和光合速率高的优点配制杂交组合,为后期进行新品种选育奠定材料基础。

不同物种中皱叶突变体已被广泛研究,产生皱叶的原因也各不相同。本试验通过扫描电镜和石蜡切片观察野生型和突变体的叶片变化,发现皱叶突变体的表皮细胞与野生型相比也呈现皱缩状态,野生型叶表皮气孔处于闭合状态,突变体叶表皮气孔部分处于开放状态;皱叶突变体叶片未皱缩部位的叶肉细胞与野生型叶肉细胞,细胞形态相似,差异不大,但是皱叶突变体叶片的皱缩部位叶肉细胞比野生型薄,皱叶突变体的海绵层细胞数目比野生型少。突变体 *lc* 的叶片皱缩表型是海绵细胞数目变少导致的,这一研究结果与其他物种产生皱缩的原因不同<sup>[14,29-30]</sup>。

目前,国内外尚未见到关于黄瓜皱叶突变体商品瓜性状研究的相关报道,突变体 *Cslc* 的发现为研究黄瓜商品瓜性状提供了良好的种质材料。在本试验中,野生型与突变体相比,把瓜比差异极显著,瓜长、瓜横径、腔径比和可溶性固形物含量差异不显著。但由于试验前期笔者关注更多的是生理指标和光合指标,因而没有对商品瓜进行测产。将在今后的试验中关注商品瓜产量,以期获得更丰富的数据,进而进一步阐释两者间的差距。

现有研究表明,大部分作物中皱叶突变体是受一对隐性核基因控制的,如水稻<sup>[12]</sup>、玉米<sup>[14]</sup>、白菜<sup>[30]</sup>、棉花<sup>[13,31]</sup>等;但也有受不完全显性核基因<sup>[32]</sup>、显性基因控制的<sup>[9,33-34]</sup>。本试验中的黄瓜皱叶突变体为自然突变,遗传分析表明,突变体受一对隐性核基因控制,这与大多数皱叶突变体的遗传规律相一致。黄瓜基因组测序和相关功能基因注释已完成,有助于推动该基因的定位、克隆及其突变机制的进一步研究。

### 参考文献

- [1] 高一丹,孙健,王勃颖,等.河北省黄瓜产业概况及特色优势区调查[J].中国瓜菜,2020,33(2):72-75.
- [2] 于娅,李艳军,王飞,等.北方地区黄瓜种质资源农艺性状的主成分和聚类分析[J].中国瓜菜,2020,33(12):29-34.
- [3] TSUKAYA H. Mechanism of leaf-shape determination[J]. Annual Review of Plant Biology, 2006, 57:477-496.
- [4] DKHAR J, PAREEK A. What determines a leaf's shape?[J]. EvoDevo, 2014, 5(1):47.
- [5] ZHANG M D, HUANG S N, GAO Y, et al. Fine mapping of a leaf flattening gene *Bralcm* through BSR-Seq in Chinese cabbage (*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis*) [J]. Scientific Reports,

- 2020,10(1):13924.
- [6] ZHANG C W, CHEN F F, ZHAO Z Y, et al. Mutations in *CsPID* encoding a Ser/Thr protein kinase are responsible for round leaf shape in cucumber (*Cucumis sativus* L.)[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2018, 131(6):1379-1389.
- [7] GAO D L, ZHANG C Z, ZHANG S, et al. Mutation in a novel gene *SMALL AND CORDATE LEAF 1* affects leaf morphology in cucumber[J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2017, 59(10):736-741.
- [8] 高东菊, 鲍文敏, 陈岳, 等. 黄瓜果瘤石蜡切片制片技术[J]. *分子植物育种*, 2020, 18(21):7143-7148.
- [9] 高阳. 棉花叶皱小突变体遗传特性及相关基因表达分析[D]. 济南: 山东大学, 2015.
- [10] JARVI A J, ESLICK R F. Shrunken endosperm mutants in barley[J]. *Crop Science*, 1975, 15(3):363-366.
- [11] 孙敏. 大麦籽粒皱缩突变体 *seg4* 的转录组分析[D]. 四川雅安: 四川农业大学, 2018.
- [12] 粘金岩. 一个水稻叶尖皱缩突变体的遗传分析与基因克隆[D]. 四川雅安: 四川农业大学, 2012.
- [13] 李峰利. 陆地棉皱缩叶突变体基因 *wr3* 的初步定位[D]. 南京: 南京农业大学, 2014.
- [14] 周练, 白洋, 董二飞, 等. 玉米皱叶突变体 *w11* 表型分析与基因定位[J]. *农业生物技术学报*, 2021, 29(3):413-423.
- [15] 周世奇, 罗琳, 程立锐, 等. 烟草航天诱变突变体叶形遗传分析及基因定位[J]. *分子植物育种*, 2021, 19(2):584-590.
- [16] 李锡香, 朱德蔚. 黄瓜种质资源描述规范和数据标准[M]. 北京: 中国农业出版社, 2005.
- [17] 李合生, 孙群, 赵世杰, 等. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000:195-197.
- [18] 邹良平, 张治国, 起登凤, 等. 一份水稻叶片反卷突变体的遗传分析及电镜显微观察[J]. *植物学报*, 2015, 50(2):191-197.
- [19] 张志. 水稻“9311”突变体库扩建及部分突变性状分析[D]. 杭州: 浙江大学, 2007.
- [20] 宋修娟. 水稻皱曲叶突变体 *rtl2* 的表型分析与基因定位[D]. 杭州: 杭州师范大学, 2012.
- [21] 肖枫. 皱叶膏桐成花相关基因的克隆及分析[D]. 贵阳: 贵州大学, 2019.
- [22] 宋晓峰. 大豆叶形突变体的遗传和功能分析[D]. 济南: 山东大学, 2016.
- [23] 任雪松. 甘蓝叶片卷曲关联基因 *BoHB12* 和 *BoHB7* 的克隆与功能研究[D]. 重庆: 西南大学, 2015.
- [24] 狄佳春, 赵亮, 陈旭升. 棉花叶片突变体的研究进展[J]. *中国农学通报*, 2016, 32(36):78-86.
- [25] WANG H, LI W Q, QIN Y G, et al. The cytochrome P450 gene *CsCYP85A1* is a putative candidate for *super compact-1* (*Scp-1*) plant architecture mutation in cucumber (*Cucumis sativus* L.)[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8:266.
- [26] HOU S S, NIU H H, TAO Q Y, et al. A mutant in the *CsDET2* gene leads to a systemic brassinosteroid deficiency and super compact phenotype in cucumber (*Cucumis sativus* L.)[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2017, 130(8):1693-1703.
- [27] 陈薇. 大豆叶片黄化新突变体的表现特点与遗传研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2014.
- [28] 王美军, 聂松青, 刘昆玉, 等. 野生刺葡萄资源高接后光合特性的研究[J]. *江西农业大学学报*, 2016, 38(5):836-845.
- [29] 聂智星, 代金英, 吉家正, 等. 大豆叶突变体 *abl-CT* 的发掘与特性分析[J]. *江苏农业科学*, 2013, 41(1):86-88.
- [30] 张美迪. 大白菜三种叶片表型相关突变体的鉴定[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2020.
- [31] 陈旭升, 狄佳春, 马晓杰. 陆地棉皱缩叶突变性状质量遗传规律分析[J]. *江西农业学报*, 2012, 24(4):7-9.
- [32] 张超. 棉花矮化突变体 *AS98* 的遗传及基因表达差异研究[D]. 四川雅安: 四川农业大学, 2009.
- [33] 孙冉, 刘国栋, 宫永超, 等. 棉花叶皱小突变体的遗传分析及激素含量研究[J]. *植物遗传资源学报*, 2012, 13(2):278-282.
- [34] 周世奇. 烟草航天诱变突变体叶部性状遗传分析及基因定位[D]. 北京: 中国农业科学院, 2019.