

西瓜分子育种研究进展

莫言玲, 张 显, 张 勇, 马建祥, 杨瑞平

(西北农林科技大学 园艺学院, 陕西 杨凌 712100)

摘 要:近年来,分子育种技术的应用使得西瓜育种水平得到了快速发展,西瓜分子育种主要包括分子标记育种、转基因育种和分子设计育种。现就前人在西瓜分子育种方面取得的研究成果、西瓜分子育种研究中存在的问题及解决措施进行概况总结,并对其未来的发展趋势作以展望。

关键词:西瓜;分子育种;分子标记;转基因育种;分子设计育种

中图分类号:S 651.603.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)08-0194-06

西瓜(*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. et Nakai.) 为葫芦科(*Cucurbitaceae*)西瓜属(*Citrullus* Schrad.)植物,其果实汁多味甜、营养丰富,被列于世界五大水果之内。我国既是西瓜的生产大国,也是消费大国^[1],其栽培面积占世界总面积的60%以上,产量占70%以上,人均年消费量更是世界平均水平的2~3倍,使之成为当今增加农民收入、促进农村发展的重要经济作物之一。西瓜生产上的一个重要环节就是选育优良品种。传统的选择方法通常是依据表现型而推断基因型,对由寡基因控制的质量性状较为有效^[2],但很难集各种如优质、高产、抗性等多基因控制的数量性状于一体^[3],一定程度上制约了西瓜遗传改良潜力的发挥。近年来,随着拟

南芥基因组测序的完成,世界各国实验室由此而掀起一场植物界领域的革命,从分子水平上对植物进行遗传操作的分子育种时代已经到来。迅猛发展的生物学技术对作物遗传育种产生了深远的影响,其过去在模式植物和重要的其它农作物上应用的同时也带动了西瓜分子育种工作的逐步发展。

目前,一般概念的分子育种大致包括分子标记辅助选择育种(Molecular marker-assisted selection MAS)和转基因育种(Transgenic breeding)^[4]二方面。但由于分子设计育种(Breeding by molecular design)新概念的提出^[5],因而广泛地说,西瓜的分子育种包括分子标记育种、转基因育种和分子设计育种三方面内容。鉴此,现分别从以上三方面对西瓜分子育种的研究进展进行回顾和比较,分析其存在的问题,探讨其未来的发展方向,以期今后的西瓜育种提供参考和指导。

1 西瓜分子标记育种

分子标记辅助选择育种指的是在分子水平上分析与目标基因紧密连锁的分子标记(包括基因内DNA标记或功能基因)的基因型,从而判别杂交后代不同个体

第一作者简介:莫言玲(1987-),女,在读硕士,研究方向为蔬菜遗传育种与生物技术。

责任作者:张显(1961-),男,博士,教授,现主要从事蔬菜遗传育种与生物技术研究工作。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30972013);国家西甜瓜产业技术体系水分管理和旱作栽培岗位资助项目(CARS-26-18)。

收稿日期:2012-02-16

Research Progress of the Diversity and Symbiotic Mechanism of Endophytic Fungi from *Dendrobium*

LI Sheng-qing, YI Yin, ZHANG Chuan-bo, SUN Jiang-shan

(College of Life Science, Guizhou Normal University, Guiyang, Guizhou 550001)

Abstract: *Dendrobium* species are inseparable with endophytic fungi, they form a mutually beneficial relationship. To improve the production of *Dendrobium* species, the researches about diversity of endophytic fungi, the methods of molecular systems and symbiotic mechanism were summarized. The prospect and the field of endophytic fungi research of *Dendrobium* in the future were put forward.

Key words: *Dendrobium*; endophytic fungi; fungi diversity; symbiotic mechanism

目的基因存在与否并进行辅助选择的一种育种方法^[4]。近年来,为实践西瓜的分子标记辅助选择育种,国内外学者对此进行了大量铺垫性研究工作,使分子标记技术在西瓜上得以广泛应用,进而加快其遗传改良步伐。

1.1 西瓜遗传图谱的构建

分子标记育种最基础的工作之一就是利用分子标记构建遗传图谱。它是研究重要农艺性状的遗传,操纵亲本的特定基因或基因组区域向后代遗传以及克隆与目的性状相关基因的强有力工具^[6]。尽管西瓜种质性状丰富,但遗传背景狭窄,为了最大限度地保证双亲之间的多态性,因此在构建西瓜的遗传图谱时主要利用野生种或栽培种中的野生类型与栽培品种杂交产生的后代群体作为试验材料^[7],和大多数作物一样,西瓜的遗传图谱构建也是从 F₂ 群体或回交群体等非永久性群体入手,随着研究的深入与需要,而转向使用永久性群体以获得更为通用的遗传图谱。

截止到 2011 年 11 月,国内外已构建的西瓜遗传图谱共计 13 张。Navot 等^[8]于 1986 年利用同工酶首次构建了 1 张包含 4 个连锁群的连锁图谱,确定了 19 种蛋白编码基因的连锁关系。但早期的这种形态学标记、细胞学标记和蛋白质标记效率有限,随着 20 世纪 70 年代发展起来的 DNA 分子标记技术出现,日本学者 Hashizume 等^[9-10]利用[(H-7×SA-1)×SA-1]形成的包含 78 个个体的 BC₁ 群体,绘制了第 1 张有真正意义的西瓜分子遗传骨架图谱,该图谱包括 73 个位点(标记类型分别有

RAPD、RFLP、同工酶及形态学标记),分布在 11 个连锁群上,图谱长度为 524 cM;2003 年又将其完善为全长 2 384 cM,标记数量也增加至 477 个 RAPD 标记、23 个 ISSR 标记、53 个 RFLP 标记及 1 个同工酶标记,同时还对部分果皮硬度、果肉颜色等农艺性状进行了 QTL 定位和分析。随后又有很多关于利用 BC₁ 或 F₂ 等非永久群体构建的遗传图谱的报道。然而,由于利用非永久群体构建的图谱难以继续得到饱和,同时也无法与其它实验室合作进行比较研究。于是张仁兵等^[7]首次尝试利用重组自交系群体为试材,获得了世界上第 1 张西瓜永久性分子遗传图谱,对于提高其饱和度、通用度以及开展相关基因的图位克隆工作具有重要意义。除此之外,邹明学^[11]还完成了另一起有重大创新意义的图谱绘制工作,该项研究是世界上第一次通过查找国际共享西瓜 EST 数据库而筛选可用的 SSR 序列,根据选定的 SSR 序列设计引物开发 EST-SSR 标记并进行西瓜遗传图谱绘制,与此同时,他还将构建的框架遗传图与前期同一实验室利用同一作图群体获得的图谱^[12]进行了有效整合,整合后的遗传图谱涵盖的 194 个标记位点分布在 17 个连锁群上,其中 RAPD 标记 81 个, AFLP 标记 65 个, SSR 标记 30 个, ISSR 标记 5 个, EST-SSR 标记 9 个, SCAR 标记 2 个, 2 个农艺性状基因 Su^{bi}(苦味基因)和 Wⁱ(果肉颜色基因)位点,图谱长度变为 763.47 cM。所有图谱构建的详细情况请见表 1。

表 1 西瓜遗传图谱构建详细情况

所配组合	标记类型及数目	群体类型	群体大小	连锁群数	长度(cM)	参考文献
(H-7×SA-1)×SA-1	69 个 RAPD、1 个 RFLP、1 个同工酶和 3 个形态学标记	BC ₁	78	11	524.0	[9]
97103 × PI296341	85 个 RAPD、3 个 SSR、4 个形态学、3 个同工酶标记和 1 个抗枯萎病生理小种基因	F ₂	118	11	1 203.2	[13]
97103 × PI296341	87 个 RAPD、13 个 ISSR 和 4 个 SCAR 标记	RIL	117	15	1 027.5	[7]
97103 × PI296341	150 个 AFLP 标记	RIL	117	17	1 240.2	[12]
97103 × PI296341	16 个 SSR 和 9 个 EST-SSR 标记	RIL	117	5	174.4	[11]
97103 × PI296341	38 个 SSR 和 10 个 ISSR 标记	RIL	117	11	558.1	[14]
NHM × PI 296341-FR	26 个标记(同工酶、RAPD、SSR)	F ₂		2	112.9	[15]
NHM × PI 296341-FR	13 个标记(同工酶、RAPD、SSR)	F ₃		5	139.0	[15]
(PI 296341-FR×NHM)×NHM	155 个 RAPD 和 1 个 SCAR 标记	BC ₁		17	1 295.0	[16]
[Griffin 14113 × NHM]×(PI) 386015	141 个 RAPD、27 个 ISSR 和 1 个 SCAR 标记	TC ₁	88	25	1 166.2	[17]
[Griffin 14113 × NHM]×(PI) 386015	71 个 AFLP、93 个 SRAP、14 个 SSR、151 个 RAPD、30 个 ISSR 标记和 1 个基因位点	TC ₁	88	19	1 976.0	[18]
H-7 × SA-1	477 个 RAPD、23 个 ISSR、53 个 RFLP 和 1 个同工酶标记	F ₂	120	11	2 384.0	[10]
BG1 × 900134	4 个 RAPD、140 个 AFLP、6 个 SSR 标记和 1 个强雌性位点(subgy)	F ₂	189	17	1 073.1	[19]

尽管图谱构建的报道很多,但总得来看,西瓜遗传图谱上的分子标记数量相对还较少,标记间的平均距离较大,不能满足育种家需求;另一方面,由于这些图谱分别使用了不同的作图群体,缺乏共同的标记信息,因而图谱通用性较低,不利于各实验室的图谱整合。另外,图谱构建所利用的永久性群体都为重组自交系,至今尚未见到关于采用 DH 群体构建图谱的报道,其原因是西瓜花粉与小孢子培养十分困难。

1.2 西瓜重要性状的连锁标记与定位研究现状

加快西瓜品种选育、开展西瓜重要农艺性状标记辅助选择的关键是获得与之紧密连锁的标记。直接以 DNA 形式出现的分子标记不受植株发育时期、组织特异性等因素影响,可以实现早期选择、缩短育种周期并提高选择的准确度。目前标记目标性状基因常用的方法有近等基因系法(Near Isogenic Lines NIL)、群体分离分析法(Bulked Segregation Analysis BSA)和作图法。

1.2.1 质量性状的标记与定位 质量性状指的是由 1 对或几对基因控制、不易受环境影响、表现为不连续变异的性状。抗病抗逆性:西瓜有多种病害,尤以西瓜枯萎病、花叶病毒病危害最严重^[20]。国际上公认的西瓜枯萎病菌 [*Fusarium oxysporum* f. sp. *niveurn* (E. F. Smith) Synder & Hensen] 存在 3 个生理小种 0、1、2。许勇等^[21-22]运用 RAPD 技术,从抗病的野生种质 PI296341 中找到 1 个与抗枯萎病菌生理小种 1 的抗性基因 (FR-1) 遗传距离为 3.0 cM 的标记 OPPOL/700;随后对其克隆与测序并将此标记转化为了 SCAR 标记。这是国内外在西瓜上首次将抗枯萎病的抗病基因定位在遗传图谱上并成功借助找到的标记进行辅助抗病选择育种。Hawkins 等^[15]对抗西瓜枯萎病小种 1 基因 (FON1)、抗西瓜枯萎病小种 2 基因 (FON2) 进行了 RAPD 标记,但这些标记与抗病基因的遗传距离较大,不能应用于育种工作。马少芹等^[23]利用 RAPD 标记技术找到 1 个距小西葫芦黄化花叶病毒抗性基因 (*Zym-CH*) 8 cM 的 RAPD 标记,并成功将其转化为 SCAR 标记。在抗逆性方面,许勇等^[24]以耐冷和冷敏种质为试材,同样采用 RAPD 技术结合 BSA 法确认了与耐冷基因 (*slv*⁺) 连锁的 RAPD 标记 OPG12/1950。育性相关性状:西瓜的第 1 棵雄性不育株是 1962 年 Watts 通过人工方法而得到的^[25],后有关西瓜雄性不育的研究成为热点。刘海河等^[26]首先利用 RAPD 技术对西瓜雄性不育育性基因进行标记,获得了 1 个与可育基因的连锁标记 A12_{3K}。而首次获得的与不育基因连锁的标记是 S1167^[25]。之后又有一些与雄性不育育性基因连锁的 AFLP 标记的报道^[27-28]。姜向涛等^[29]报道了关于全雌性基因 *gy* 的发现,指出西瓜全雌性是来自于强雌性系的突变类型。随后,张秦英等^[30]对强雌性状进行了遗传分析并找到 1 个与强雌性状相关的 RAPD 标记。朱小茜等则^[31]采用 SRAP 技术获得 2 个与全雌位点连锁距离分别为 18.4 cM 和 11.4 cM 的标记。刘莉等^[19]为该性状进行了遗传图谱的定位,并将得到的标记转化为了 SCAR 标记,为该性状的分子标记辅助育种技术体系的建立奠定了基础。其它相关性状:王日升等^[32]利用 RAPD 技术结合 BSA 法,获得 1 个与黄皮性状连锁的 RAPD 标记 AIO91500,重组率为 17.2%。King 等^[33]鉴定出了 3 个番茄红素 β -环化酶基因 (*LCYB*) 的单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism SNPs),根据其中的 1 个 SNPs 突变体,获得了 1 个与该基因连锁的分子标记 CAPS。马双武和张莉^[34]报道称在田间发现 1 株携带西瓜白化致死基因的突变体,并证明该致死基因为不完全显性,受 1 对等位基因控制遗传。于是包文凤等^[35]以该课题组发现的西瓜白化致死近等基因系 F₂ 代群体及亲本为试材,分别利用 SRAP 和 EST-SSR 进行分子标记,虽然没有找到与西瓜白化致死基因存在连锁关系的标

记,但实现了引导西瓜新型标记的使用。

1.2.2 数量性状的 QTL 分析 数量性状是指在一个群体内的各个体间表现为连续变异的性状。西瓜的数量性状研究不够充分,很多复杂的性状遗传关系尚不能鉴定为质量性状还是数量性状^[36]。关于西瓜数量性状的 QTL 分析主要集中在对果实性状的研究。我国学者范敏等^[13]利用区间作图法对果实性状进行 QTL 定位及遗传效应分析时检测到共 20 个 QTL 分布在不同连锁群上,分别控制可溶性固形物含量、果皮硬度、果皮厚度等在内的不同性状表达。日本学者 Hashizume 等^[10]则利用构建的图谱对西瓜果皮硬度、果肉糖度、果肉颜色及外皮颜色等性状进行了 QTL 分析,将果皮硬度定位于第 4 连锁群上,果实糖度定位到第 8 连锁群,2 个红色果肉 QTL 定位到第 2 和 8 连锁群,而控制外皮颜色的 QTL 定位到第 3 连锁群上。而郭绍贵等^[37]在对不同环境条件下西瓜果实可溶性固形物含量的 QTL 分析时,累计检测到 18 个 QTL,分布在第 1、2、3、5、14、15 和 19 连锁群上,并认为 2 个不受环境影响、表现稳定的 qSSC-1a 和 qSSC-1b 可能是控制可溶性固形物含量性状表达的主效 QTL 位点。

1.3 西瓜的分子标记辅助选择

如前所述,西瓜上关于重要性状的标记与定位的研究报道较多,但真正得以在育种上辅助选择的却很少。国内的实例有许勇等研究员将抗病基因和耐冷基因的标记应用于实际育种工作当中。另据黄洁^[38]的报道,美国科学家日前已经开发出快速鉴定抗西瓜黄化花叶病毒基因的 2 个新标记 CAPS-1 和 CAPS-2,并准备通过标记辅助选择开展抗病西瓜育种。

2 西瓜转基因育种

自 1983 年第 1 株转基因植物(烟草)的获得,便开始了利用转基因技术改良植物种性的时代。西瓜遗传转化不仅是鉴定基因功能的重要手段,也是西瓜种质创新、农艺性状改良的重要途径之一。Choi 等^[39]首次于 1994 年报道了应用农杆菌介导法,将构建的由花椰菜花叶病毒 (CaMV) 35S 启动子驱动的 β -葡萄糖苷酶 (GUS) 基因植物表达载体对西瓜子叶进行遗传转化,获得表达 GUS 报告基因的阳性植株。

2.1 转基因的方法

西瓜转基因所用的方法包括农杆菌介导法、花粉管通道法、基因枪法、DNA 浸胚法、子房注射法和离子束介导法等,其中农杆菌介导法是西瓜转基因研究中应用最广泛的方法,同时也是最有效的方法。而在这些方法中,基因导入的方式主要有 2 种,第 1 种是通过构建载体使目的 DNA 随载体共同转入受体植株,第 2 种是直接转入基因组总 DNA。农杆菌介导法为最常用的载体转化系统,而花粉管通道法可用于基因表达载体和总 DNA 等多种形态的遗传物质的转化,但这种在国内使用较多

的方法在国外鲜见报道。

2.2 外源基因的类型

总的说来,已用于西瓜遗传转化的常用外源基因主要有以下 3 类^[40]:第 1 类是标记基因,如 GUS 基因^[39,41]、新霉素磷酸转移酶基因(NPT-II)^[41-42];第 2 类是抗病基因,包括西瓜花叶病毒(WMV)外壳蛋白(CP)基因^[42-44]、西葫芦黄化花叶病毒(ZYMV)复制酶基因(NIP)^[43]及外壳蛋白基因^[45]、黄瓜花叶病毒(CMV)复制酶基因^[43]等;第 3 类是总 DNA,包括南瓜总 DNA^[46-47]、瓠瓜总 DNA^[48]、银杏总 DNA^[49-50]和质粒 pBll21 DNA^[41]。对此,艾呈祥^[40]和陈磊^[51]各自按照不同的归类方式绘制出表格,进行了很好的总结,此处不再赘述。除此之外,还相继出现有延长果实贮藏的 ACC 合成酶及其反义基因^[52]、抗真菌的几丁质酶基因^[53-54]、酵母耐盐基因 HAL1^[55]、雄性不育基因 *barnase*^[56]等对西瓜的遗传转化研究工作。

2.3 转基因对西瓜的遗传改良

西瓜早期的转基因研究工作主要是为了建立有效的遗传转化体系。而随着转化体系的不断改进与优化,研究的主要目的开始侧重西瓜的遗传改良工程,其中抗病基因工程进展最快,取得的成果也最多。王慧中等^[42,44,57]利用西瓜组织培养和农杆菌转化技术把将 WMV-1CP 基因导入西瓜,获得转化材料,并于次年进行了攻毒测试,随后又将 WMV-2CP 基因导入“浙蜜 2 号”西瓜,并报道了 WMV-2CP 基因在转基因西瓜植株中的遗传、分离、表达以及转基因植株对病毒病的抗性实验结果,选育出高抗 WMV-2 的转基因高代纯合株系 R4T32-7。此外,牛胜鸟等^[43]利用 WMV-CP 基因、ZYMV-NiB 基因和 CMV-NiB 基因构建的三价植物表达载体转化西瓜子叶外植体,也获得了转基因抗病毒植株。刘丽锋等^[45]则实现了 ZYMV-CP 基因导入西瓜的遗传转化。利用含有双元载体的农杆菌转化子叶外植体,张志忠等^[58]、张明方等^[59]都将葡聚糖酶基因和几丁质酶基因导入了西瓜植株,在抗真菌的转基因工作上奠定了基础。台湾的 Yeh 等^[60]报道了当前最新的西瓜抗病毒遗传转化研究,该实验室成功获得共 27 个转入了 ZYMV-CP 基因及番木瓜环斑病毒 PRSV W-CP 基因的株系。而秦新民等^[61]对西瓜进行了植物广谱抗病基因 NPR1 遗传转化研究,首次做出了提高西瓜系统性抗性的尝试。利用总 DNA 导入的方式,也获得了很多抗枯萎病的株系^[46-48,54]。在品质改良方面,仅见用 ACC 合成酶基因及其反义基^[52]因和甜瓜反义酸性转化酶基因^[62]对西瓜的遗传转化。在抗逆性转基因研究中,Ellul 等^[55]转入酵母耐盐基因 HAL1 获得了高耐盐植株;孙治图^[63]对农杆菌介导的甜菜碱基因转化做了初步探索,不过仅在 PCR 检测水平上证实获得了转基因植株。

3 西瓜分子设计育种

2003 年荷兰科学家 Peleman 和 van der Voort^[5]最

早提出了分子设计育种的概念并对这一名词进行了商标注册。它是以基因组学、蛋白质组学和生物信息学等为基础而发展起来的新兴研究领域^[4],在预先设定育种目标的基础上,通过模拟及预测而选择符合育种目标的基因型、亲本组配方式及后代个体而实现定向、高校的精确育种。关于作物分子设计育种需要满足的条件、具体步骤、研究现状及发展趋势等内容,万建民、顾铭洪、王建康等^[4,64-65]已做了全面的阐述。虽然西瓜上关于基因组学、蛋白质组学等的研究起步较晚,但在不同的层面也已经取得了一些成果(包括上面已经阐述的分子图谱的构建、重要基因/QTLs 的定位、转基因等方面的成果),这些成果的不断积淀都将有望推动着科研工作者做出西瓜分子设计育种的尝试。

首先,在西瓜的基因组学研究方面,自 1995 年起,我国国家蔬菜工程技术研究中心便开始开展工作并取得相应的阶段性成果,构建了优良西瓜种质 97103 的 BAC 文库、西瓜果实发育 cDNA 全长文库、枯萎病病菌诱导 cDNA 全长和 SSH 文库以及干旱胁迫果实发育 cDNA 全长文库^[66]。2008 年,国家蔬菜工程技术研究中心、中国农业科学院以及国际种苗公司联手启动了国际西瓜基因组计划,开展西瓜全基因组测序。该次测序以新一代高通量测序技术 Solexa 为主,以 Sanger 技术进行 BAC 大片段测序为辅,所用的西瓜材料是高品质西瓜 97103 和 90-4304^[67]。目前已获得 46.18Gb 的西瓜材料 97103 全基因组数据量,测序深度达到 107.4 倍,预测的基因数约为 23 440 个。张志忠等^[68]成功分离了西瓜的第 1 条染色体并构建了其特异文库。韩国学者 OK 等^[69]通过构建西瓜营养生长期叶片 cDNA 文库,获得了 704 条 cDNA 序列,其中有 399 条与其它物种已知功能基因相似,这些 EST 序列丰富了西瓜的 EST 数据库资源。截止目前,来自于西瓜的 EST 已超过 50 万条。此外,2004 年国际上发布的一份西瓜基因目录上登陆了 163 个基因^[70],我国学者刘文革^[71]对其进行了全文翻译并将新增加的 10 个基因列出,供读者参考。然而,对于西瓜的功能基因组学研究,通过比较基因组学、筛选文库等方法,分离得到的大多数只是片段或 EST,比起以番茄、马铃薯和辣椒为代表的发展较迅速的茄科蔬菜,还有一定差距。

虽然西瓜的分子设计育种方面还是空白,但随着西瓜全基因组测序工作的完成,将为西瓜的分子设计育种提供前所未有的信息和高通量的筛选平台,各种功能基因组学研究技术也将更好地得以发挥作用,从而为分子设计育种创造条件、奠定基础,使其成为西瓜分子育种的重要内容。

4 西瓜分子育种需要解决的问题及建议

西瓜的分子育种研究虽然取得了很多进展,但由于其起步较晚,原始创新型研究较少,因而仍存在不少问

题需要解决,同时相关关键技术也亟待突破。

一是分子标记技术水平相对较低,发表的关于分子标记的研究论文主要还是基于 RAPD 或 AFLP,少见 SSR 或 CAPS 标记。因此在未来的研究中,应当加快引进并开展新型标记的应用,如基因芯片标记、SNP 标记等,建设具有高通量的分子标记检测平台,从而缩短差距。二是构建的图谱标记分布不均匀,标记间平均距离较大,因此应该充分利用不同分子标记技术,加强国际国内交流,加快遗传图谱的整合工作,获得高密度分子标记连锁图谱,从而提高选择效率,同时方便利用图位克隆技术分离克隆重要基因。三是西瓜的遗传转化效率较低,高效再生体系的建立研究是西瓜转基因成功的重要环节,因而需进一步优化再生体系。另外,迄今为止,导入西瓜中的基因大多是病毒外壳蛋白基因,下一步应加强关于品质改良、抗逆性的基因的遗传转化研究。与此同时,由单基因转化向多基因转化的转变正代表着未来西瓜转基因发展的方向。四是西瓜分子育种发展的关键是基因发掘与利用,然而西瓜上缺乏有重大利用价值的新基因报道。针对这点,建议应该建设规模化基因发掘的技术平台,系统地、高效地开展西瓜与其它葫芦科植物(尤其是甜瓜)间比较基因组学研究,分离西瓜的重要功能基因。

5 西瓜分子育种的展望

西瓜的分子育种代表着未来育种的发展方向,国内外科研工作者对于西瓜图谱构建、重要性状及基因的标记与定位、基因的挖掘与分离、重要基因的遗传转化等研究工作做了实质性铺垫探索,取得了可喜的成果,解决了西瓜病害危害问题、耐贮藏问题、品质改良、生长发育控制及抗逆性等问题,无一不展示出西瓜分子育种的广泛应用前景。不过,分子育种的发展离不开常规育种,未来很长一段时间里,常规育种仍将占据着它不变的主导地位。因此,实现各种生物技术的辅助运用、把分子育种与常规育种技术有机结合,必然为西瓜的遗传育种带来新的机遇和新的突破。

参考文献

- [1] 邹明学,许勇,张海英,等. 葫芦科瓜类作物分子标记辅助育种研究进展[J]. 生物技术通报,2007(4):72-78.
- [2] 戴瑞强,张林,扈东青,等. 植物分子育种研究进展[J]. 安徽农业科学,2009,37(32):15725-15727.
- [3] 易克. 西瓜遗传图谱的构建及其重要农艺性状的基因定位[D]. 长沙:湖南农业大学,2002.
- [4] 顾铭洪,刘巧泉. 作物分子设计育种及其发展前景分析[J]. 扬州大学学报,2009,32(3):455-462.
- [5] Peleman J D, van der Voort J R. Breeding by design[J]. Trends in Plant Science,2003(7):330-334.
- [6] 原玉香,张晓伟,蒋武生,等. 芸薹属蔬菜分子育种研究进展[J]. 河南农业科学,2009,9(6):155-158.
- [7] 张仁兵. 用重组自交系构建西瓜分子遗传图谱[D]. 杭州:浙江大学,2003.
- [8] Navot N, Zamir D. Linkage relationships of 19 protein coding genes in watermelon[J]. Theor Appl Genet,1986(76):274-278.
- [9] Hashizume T, Shimamoto I, Harushima Y, et al. Construction of a linkage map for watermelon (*Citrullus lanatus* (Thunb) Matsum and Nakai) using random amplified polymorphic DNA (RAPD)[J]. Euphytica,1996 (3):265-273.
- [10] Hashizume T H, Shimamoto I S, Hirai M H. Construction of a linkage map and QTL analysis of horticultural traits for watermelon [< SMALL > Citrullus lanatus < /SMALL > (THUNB.) MATSUM & NAKAI] using RAPD, RFLP and ISSR markers[J]. TAG Theoretical and Applied Genetics,2003(5):779-785.
- [11] 邹明学. 西瓜 EST-SSR 标记的开发及遗传图谱的构件与整合 [D]. 北京:首都师范大学,2007.
- [12] 易克,许勇,卢向阳,等. 西瓜重组自交系群体的 AFLP 分子图谱构建[J]. 园艺学报,2004,31(1):53-58.
- [13] 范敏,许勇,张海英,等. 西瓜果实性状 QTL 定位及其遗传效应分析[J]. 遗传学报,2000,27(10):902-910.
- [14] 易克,徐卢,许肖. 利用 SSR 和 ISSR 标记技术构建西瓜分子遗传图谱[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版),2003,29(4):333-337.
- [15] Hawkins L K, Dane F, Kubisiak T L, et al. Linkage mapping in a watermelon population segregating for fusarium wilt resistance[J]. J Am Soc Hortic Sci,2001(3):344-350.
- [16] Levi A, Thomas C E, Zhang X P, et al. A genetic linkage map for watermelon based on randomly amplified polymorphic DNA markers[J]. J Am Soc Hortic Sci,2001,126(6):730-737.
- [17] Levi A, Thomas C E, Joobeur T, et al. A genetic linkage map for watermelon derived from a testcross population: (*Citrullus lanatus* var. citroides x *C. lanatus* var. lanatus) x *Citrullus colocynthis* [J]. Theor Appl Genet,2002,105(4):555-563.
- [18] Levi A, Thomas C E, Trebitsh T, et al. An extended linkage map for watermelon based on SRAP, AFLP, SSR, ISSR, and RAPD markers [J]. J Am Soc Hortic Sci,2006,131(3):393-402.
- [19] 刘莉,焦定量,郭敏,等. 西瓜遗传图谱构建及其强雌性性状定位研究[J]. 果树学报,2010,27(1):50-56.
- [20] 柳李旺,陈崇顺,陈锋,等. 生物技术在西瓜遗传育种研究中的应用[J]. 果树学报,2004,21(5):472-476.
- [21] 许勇,张康,王陈. 与西瓜野生种质抗枯萎病基因连锁的 RAPD 标记[J]. 植物学报,1999,41(9):952-955.
- [22] 许勇,张康,王陈. 西瓜抗枯萎病育种分子标记辅助选择的研究[J]. 遗传学报,2000,27(2):151-157.
- [23] 马少芹,许勇,张海英,等. 西瓜抗小西葫芦黄花叶病毒基因的连锁分子标记研究[J]. 植物病理学报,2006,36(1):68-73.
- [24] 许勇,欧阳新星,张海英,等. 西瓜野生种质耐冷性基因连锁的 RAPD 标记[J]. 园艺学报,1998,25(4):86-87.
- [25] 张显,王鸣,张进升,等. 西瓜隐性核雄性不育基因的 RAPD 标记[J]. 园艺学报,2005,32(3):438-442.
- [26] 刘海河,侯喜林,张彦萍. 西瓜核雄性不育育性基因的 RAPD 标记[J]. 果树学报,2004,21(5):491-493.
- [27] 郭守鹏,刘海河,张彦萍,等. 西瓜核雄性不育两用系个 G17AB 育性基因的 AFLP 分子标记[J]. 园艺学报,2009,36(3):427-430.
- [28] 刘海河,张彦萍,郭守鹏,等. 一个与西瓜核不育育性基因连锁的 AFLP 分子标记的获得[J]. 河北农业大学学报,2009,32(1):23-25.
- [29] 姜向涛,林德佩. 西瓜全雌基因 gy 的发现[J]. 园艺学报,2007,34(1):141-142.
- [30] 张秦英,刘军伟,刘莉,等. 西瓜强雌性性状的遗传分析及分子标记研究[J]. 华北农学报,2009,24(1):138-142.
- [31] 朱小茜,孙治强,李晓慧,等. 西瓜全雌基因连锁的 SRAP 分子标记[J]. 河南农业科学,2011,40(3):208-212.

- [32] 王日升,李立志,方锋学,等.西瓜黄皮性状 RAPD 标记的研究[J].华北农学报,2007,22(2):107-109.
- [33] King S, Bang H, Kim S, et al. Development of a codominant CAPS marker for allelic selection between canary yellow and red watermelon based on SNP in lycopene beta-cyclase (LCYB) gene[J]. Mol Breeding, 2007, 20(1):63-72.
- [34] 马双武,张莉.携带西瓜白化致死基因突变株的发现[J].中国西瓜甜瓜,1999(4):22.
- [35] 包文凤,王吉明,尚建立,等.基于公共数据库的西瓜 EST-SSR 信息分析与标记开发[J].华北农学报,2011,26(2):85-89.
- [36] 包文凤.西瓜白化致死基因的分子标记和遗传分析[D].北京:中国农业科学院,2010.
- [37] 郭绍贵,许勇,张海英,等.不同环境条件下西瓜果实可溶性固形物含量的 QTL 分析[J].分子植物育种,2006,4(3):393-398.
- [38] 黄洁.美国科学家研制出快速鉴定西瓜抗病毒基因的新标记[J].分子植物育种,2010,8(1):66.
- [39] Choi P S, Soh W Y, Kim Y S, et al. Genetic Transformation and Plant-Regeneration of Watermelon Using Agrobacterium-Tumefaciens [J]. Plant Cell Rep, 1994, 13(6):344-348.
- [40] 艾呈祥,刘志昕.西瓜遗传转化的研究进展与展望[J].分子植物育种,2004,2(3):436-442.
- [41] 任春梅,董洪赵.基因枪介导的西瓜遗传转化研究[J].湖南农业大学学报(自然科学版),2000,26(6):433-435.
- [42] 王慧中,周晓云,张西宁.西瓜基因转化及其转基因植株再生的研究[J].实验生物学报,1997,30(4):454-455.
- [43] 牛胜鸟,黄学森,王锡民,等.三价转基因抗病毒西瓜的培育[J].农业生物技术学报,2005,13(1):10-15.
- [44] 王慧中,赵培洁,周晓云.农杆菌法转化获得转基因西瓜植株[J].浙江大学学报(农业与生命科学版),2000,26(1):111-113.
- [45] 刘丽锋,古勤生,胡京昂,等.小西葫芦黄花叶病毒外壳蛋白基因导入西瓜的遗传转化[J].果树学报,2007,24(4):496-501.
- [46] 王浩波,林茂,杨坤,等.导入南瓜 DNA 选育抗枯萎病西瓜新种质的研究[J].西北农业学报,2002,11(1):24-27.
- [47] 李涛,谢伟军,杨晚霞,等.黑籽南瓜 DNA 导入西瓜后代 RAPD 标记的变化[J].果树科学,1996,13(3):175-177.
- [48] 肖光辉,吴肖,郑陶.外源瓢瓜 DNA 导入西瓜引起后代性状变异[J].园艺学报,1997,24(3):295-297.
- [49] 宋道军,王杨,尹吴余.离子束处理将外源基因导入西瓜研究初报[J].中国西瓜甜瓜,2001(2):2-3.
- [50] Udupa K S, Ocain P A, Mattimore V, et al. Novel Ionizing Radiation-Sensitive Mutants of Deinococcus Radiodurans [J]. J Bacteriol, 1994, 176(24):7439-7446.
- [51] 陈磊,庞晓虹,刘宏宇.西瓜组织培养及遗传转化的研究进展[J].北方园艺,2009(2):136-140.
- [52] 王春霞,简刘,邹白毛. Acc 合成酶基因及其反义基因对西瓜的遗传转化[J].植物学报,1997,39(5):445-450.
- [53] 张志忠.几丁质酶基因和几丁质酶-葡聚糖酶双价基因导入西瓜的研究[D].福州:福建农林大学,2004.
- [54] 王果萍,王景雪,孙毅,等.几丁质酶基因导入西瓜植株及其抗病性鉴定研究[J].植物遗传资源学报,2003,4(2):104-109.
- [55] Ellul P, Rios G, Amares A, et al. The expression of the Saccharomyces cerevisiae HAL1 gene increases salt tolerance in transgenic watermelon *Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai. [J]. Theor Appl Genet, 2003, 107(3):462-469.
- [56] 陈银华,张广平.雄性不育基因 barnase 对西瓜的遗传转化 [J]. 湖南农业大学学报(自然科学版),2006,32(2):129-130.
- [57] 王慧中,赵培洁,周晓云.转基因西瓜(*Citrullus vulgaris* Schrad)抗病性试验[J].实验生物学报,1998,31(4):424-425.
- [58] 张志忠,吴菁华,吕柳新,等.双价抗真菌基因表达载体的构建及转基因西瓜的研究[J].热带亚热带植物学报,2005,13(5):369-374.
- [59] 张明方,于天祥,杨景华,等.农杆菌介导西瓜转葡聚糖酶及几丁质酶双基因[J].果树学报,2006,23(3):475-478.
- [60] Yeh S D, Yu T A, Chiang C H, et al. Generation of transgenic watermelon resistant to Zucchini yellow mosaic virus and Papaya ringspot virus type W[J]. Plant Cell Rep, 2011, 30(3):359-371.
- [61] 秦新民,张丽珍,李文兰,等.西瓜 NPR1 抗病基因的遗传转化[J].广西师范大学学报(自然科学版),2006,24(2):81-84.
- [62] 常尚连.西瓜糖代谢及甜瓜酸性转化酶反义基因的西瓜遗传转化[D].泰安:山东农业大学,2006.
- [63] 孙治图.农杆菌介导的甜菜碱基因转化西瓜的初步研究[D].重庆:西南大学,2008.
- [64] 万建民.作物分子设计育种[J].作物学报,2006,32(3):455-462.
- [65] 王建康,李慧慧,张学才,等.中国作物分子设计育种[J].作物学报,2011,37(2):191-201.
- [66] 许勇,张海英,郭绍贵,等.西瓜基因组学研究与全基因组测序计划[C].全国植物分子育种研讨会摘要集,2009.
- [67] 许勇,郭绍贵,张海英,等.国际西瓜基因组计划最新研究进展[J].园艺学报,2009,36(增刊):2034.
- [68] 张志忠,吕柳新.西瓜第一染色体显微分离及其特异文库的构建[J].热带作物学报,2009,30(12):1803-1806.
- [69] Ok S, Chung Y S, Um B Y, et al. Identification of expressed sequence tags of watermelon (*Citrullus lanatus*) leaf at the vegetative stage [J]. Plant Cell Rep, 2000, 19(9):932-937.
- [70] Guner N, Wehner T C. The genes of watermelon [J]. Hortscience, 2004, 39(6):1175-1182.
- [71] 刘文革.西瓜基因目录(续)[J].中国瓜菜,2006(4):29.

Research Progress on Molecular Breeding of Watermelon

MO Yan-ling, ZHANG Xian, ZHANG Yong, MA Jian-xiang, YANG Rui-ping

(College of Horticulture, Northwest Agricultural and Forestry University, Yangling, Shaanxi 712100)

Abstract: With the utilization of high-efficiency molecular breeding technique, many achievements have been obtained on watermelon breeding in recent years. The research advance on molecular breeding of watermelon (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. et Nakai.), which covered marker-assisted selection breeding (MAS), transgenic breeding and breeding by molecular design were summarized. Some problems towarded it and the corresponding solutions were pointed out. And its developing trend was indicated as well.

Key words: watermelon; molecular breeding; molecular marker; transgenic breeding; breeding by molecular design