

攸学松,朱 莉,曾剑波,等. 西甜瓜砧木育种研究进展[J]. 江苏农业科学,2019,47(20):52-56.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.20.012

西甜瓜砧木育种研究进展

攸学松,朱 莉,曾剑波,陈艳利,李云飞,马 超,李 婷,张 莹
(北京市农业技术推广站,北京 100029)

摘要:西甜瓜是一种重要的经济作物。我国是西甜瓜生产大国,面积和产量均位居世界首位。近年来,随着西甜瓜的周年生产,连作障碍、土传病害加剧,限制了西甜瓜的优质生产,采用嫁接育苗是目前克服西甜瓜连作障碍最简单有效的措施,因此西甜瓜砧木育种越来越受到国内外科研单位的重视。本文就近年来国内外西甜瓜砧木发展与现状、主要育种目标、遗传性状以及新型种质资源与育种方法进行了总结和展望,旨在为今后的西甜瓜砧木选育工作提供一些参考。

关键词:西瓜;甜瓜;砧木育种;南瓜;葫芦;研究进展

中图分类号:S650.3 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2019)20-0052-05

西甜瓜是世界上广泛栽培的一种经济作物,原产于非洲,被称为夏季水果之王,在全世界范围内均有种植。我国是西甜瓜大国,产量和面积居世界首位。近年来,北京地区西甜瓜种植面积逐年下降,2017 年种植面积约为 4 000 hm²,但仍然是北京的优势产业之一。大兴庞各庄、魏善庄等是传统的西瓜优势产区,由于常年周年生产,连作障碍,土传病害加剧,西甜瓜嫁接已成为主流,甚至达到了 90% 以上^[1]。目前北京地区小型西瓜主要选择京欣 4 号作为砧木,其次是散装南瓜籽;中型西瓜及薄皮甜瓜砧木均以散装南瓜籽为主;厚皮甜瓜砧木则全部选择散装南瓜籽^[2]。市场上适用于不同类型西甜瓜的专用砧木以及专用抗病砧木还比较少,迫切需要开发选

育一批西甜瓜专用砧木。

因此,西甜瓜砧木材料的搜集、研究和开发利用,越来越受到各科研单位的重视,目前已投入大量人力、物力从事砧木新品种的选育。根据国家现代种业自主创新试验示范区的定位,北京农业即将走到升级转型的关头,为保障北京市西甜瓜产业的持续发展,明确当前国内外砧木育种现状,提出今后砧木选育的方向与技术需求,搜集、研究和开发西甜瓜砧木材料,进而研发各类西瓜、甜瓜专用砧木,将会是北京市西甜瓜创新团队今后的重要工作方向之一^[3]。

1 西甜瓜砧木的发展与现状

1.1 西甜瓜砧木的发展

农业上利用砧木嫁接的历史非常悠久,在古代欧洲,亚里士多德和古罗马学者普利尼都曾提到过嫁接。5 世纪在地中海地区,枝接和芽接技术的应用渐多。我国关于嫁接的早期记载见于西汉晚期的《汜胜之书》,内有有用 10 株瓠苗嫁接成

收稿日期:2018-07-20

基金项目:北京市农业局科技项目(编号:201801003)。

作者简介:攸学松(1992—),男,河北邢台人,助理农艺师,主要从事西甜瓜砧木研究工作。E-mail:xsyou_simon@163.com。

- [49] Grenha A, Rodrigues S. Pullulan - based nanoparticles; future therapeutic applications in transmucosal protein delivery [J]. Therapeutic Delivery, 2013, 4(11):1339-1341.
- [50] Gupta M, Gupta A K. Hydrogel pullulan nanoparticles encapsulating pBUDLacZ plasmid as an efficient gene delivery carrier[J]. Journal of Controlled Release; Official Journal of the Controlled Release Society, 2004, 99(1):157-166.
- [51] 梁劲康,吴志玲,张桂君. 阳离子纳米系统作为非病毒载体递送基因药物的研究进展[J]. 中国新药杂志, 2016(22):2562-2568.
- [52] Wang J, Dou B, Bao Y. Efficient targeted pDNA/siRNA delivery with folate - low - molecular - weight polyethyleneimine - modified pullulan as non - viral carrier[J]. Materials Science & Engineering C, 2014, 34(1):98-109.
- [53] Tabata Y. Tissue regeneration based on drug delivery technology [M]//Ashammakhi N, Ferretti P. Topics in tissue engineering, Vcytokines. 2003:1-32.
- [54] Singh R S, Kaur N, Rana V, et al. Recent insights on applications of pullulan in tissue engineering[J]. Carbohydrate Polymers, 2016,

153;455-462

- [55] Mallick K K, Cox S C. Biomaterial scaffolds for tissue engineering [J]. Frontiers in Bioscience, 2013, 5(1):341-360.
- [56] Kumar D, Saini N, Pandit V, et al. An insight to pullulan: a biopolymer in pharmaceutical approaches[J]. International Journal of Basic & Applied Sciences, 2012, 1(3):202-219.
- [57] Atila D, Keskin D, Tezcaner A. Cellulose acetate based 3 - dimensional electrospun scaffolds for skin tissue engineering applications[J]. Carbohydrate Polymers, 2015, 133:251-261.
- [58] Chen F, Yu S, Liu B, et al. An injectable enzymatically crosslinked carboxymethylated pullulan/chondroitin sulfate hydrogel for cartilage tissue engineering[J]. Scientific Reports, 2016, 6:20014.
- [59] Bonzi G, Salmaso S, Scamporrin A A, et al. Novel pullulan bioconjugate for selective breast cancer bone metastases treatment [J]. Bioconjugate Chemistry, 2015, 26(3):489-501.
- [60] Hashimoto Y, Mukai S A, Sawada S, et al. Nanogel tectonic porous gel loading biologics, nanocarriers, and cells for advanced scaffold [J]. Biomaterials, 2015, 37:107-115.

一蔓而结大瓠的方法。而北魏《齐民要术》中就有了对果树嫁接中砧木、接穗的选择,嫁接的时期以及如何保证嫁接成活的细致描述。

系统的砧木选育是从事嫁接的基础工作,它相比于砧木嫁接起步要晚很多,大约在 20 世纪才有明确记载。在 20 世纪 50 年代一段时间,我国、苏联以及一些东欧国家关于砧木育种还曾受到错误的“米丘林学说”误导,直到 1956 年苏联学界否定了此学说,毛泽东确定了“百花齐放,百家争鸣”的方针,才逐步回到“孟德尔遗传定律”的正轨^[4-5];之后陆续发表了一些砧木嫁接研究和新品种选育研究^[6],起初以果树方面的研究居多。西甜瓜砧木研究以日本、韩国、菲律宾以及我国台湾等地区较多,其中日本研究起步最早,在 20 世纪 80 年代前日本一些机构就培育出了一批影响深远的优良砧木品种,如米可多公司的瓠瓜杂交种——相生、大和农园株式会社育成的西瓜专用品种——新土佐等;其次韩国、菲律宾以及我国台湾等地区也有许多研究,我国大陆在 20 世纪 90 年代中期才有西甜瓜砧木选育的研究报道。

1.2 优良砧木及应用情况

西甜瓜砧木多为同科的野生西瓜类、南瓜类和葫芦类等,他们的嫁接特性各不相同。一般地,野生西瓜、葫芦与西瓜本砧嫁接西瓜的亲性和性最好,嫁接成活率最高,对嫁接后西瓜的品质影响较小,但对枯萎病没有绝对抗性,秧苗中后期容易发生急性凋萎,耐寒性也不如南瓜;南瓜则生长势强,对枯萎病有绝对抗性,耐寒性也很好,但品种间差异比较大,大部分对西瓜品质影响较大,容易造成西瓜皮厚增加、甜度下降等,亲和性也不如野生西瓜和葫芦。

关于西甜瓜砧木方面的研究日本起步较早,20 世纪 80 年代之前日本米可多公司就培育出了瓠瓜杂交种——相生,大和农园株式会社则培育出西瓜专用品种——新土佐系列,并很快引入中国,在很长一段时间,甚至至今都是一些地区西甜瓜嫁接的常用砧木;其次韩国、菲律宾以及我国台湾等地区也对西甜瓜砧木资源做过许多研究,获得一批西甜瓜专用砧木,例如韩国神砧、甜香砧、力娃系列;台湾友农种苗的勇士、壮士等。国内关于西甜瓜砧木可查的研究报道见于 20 世纪 90 年代以后,也推出了一系列的精品砧木,其中包括中国农业科学院郑州果树研究所的超丰 F₁^[7]、西嫁强生,北京农林科学院京欣系列砧木^[8-9],宁波市农业科学研究所的甬砧系列砧木^[10-13],青岛市农业科学研究所的青研砧木系列^[14],武汉市农业科学研究所的鄂砧系列^[15],甘肃省农业科学院的 GKY 野生西瓜砧木^[16],商丘市睢阳区农业技术推广中心的雪金龙^[17]等。

当今市场上已有的西甜瓜砧木比较多,有普通小白籽南瓜、大白籽南瓜、葫芦等。从区域分布来看,南方葫芦类型砧木多占有优势,北方因为部分种植户春抢早,考虑耐寒的因素,南瓜类型砧木应用较多。在北京地区,散装南瓜籽是应用最多的西甜瓜砧木,约占 54.88%;京欣砧 4 号占 29.27%,京欣砧 2 号占 15.85%,雪铁王子占 9.76%,其余砧木品种所占比例很小。从种植对象来看,小型西瓜主要选择京欣 4 号作砧木,其次是散装南瓜籽;中型西瓜及薄皮甜瓜砧木均以散装南瓜籽为主;厚皮甜瓜砧木则全部选择散装南瓜籽^[2]。

2 砧木育种的主要目标研究

2.1 嫁接亲和性

不同砧木对应不同接穗嫁接的亲性和性不同。杨冬艳等通过对华铃西瓜嫁接的研究,认为白籽南瓜类型砧木嫁接的西瓜苗期整体生长势强于葫芦、野生西瓜和籽用西瓜砧木,其中接穗茎粗度、地上部干质量、壮苗指数方面的差异最为显著^[18];葫芦砧木嫁接西瓜的根冠比高于其他砧木和自根苗。尚建立等分别用厚皮和薄皮甜瓜做接穗,用南瓜、葫芦和野生西瓜作砧木,通过嫁接成活率、植株长势、单株果实平均质量等 8 个指标研究不同砧木与甜瓜嫁接亲和性,结果显示,南瓜类型砧木与甜瓜嫁接亲和性最好,其次为葫芦,野生西瓜亲和性最差^[19]。

2.2 品质影响

大多数南瓜砧木嫁接往往会对西瓜品质产生不利影响,如使果皮变厚,果实肉质变硬,可溶性糖含量降低,口感和风味变差等。而葫芦、野生西瓜类砧木通常对品质影响较小。陈晖等利用南瓜类、葫芦类以及野生西瓜类砧木作物分别做西瓜嫁接试验,测量西瓜可溶性糖含量以及维生素 C 含量,结果显示用葫芦、野生西瓜为砧木嫁接的西瓜对其风味品质无影响,而用南瓜砧木嫁接的西瓜表现稍次,有少许纤维,口感也略有差异^[20]。

2.3 抗枯萎病

西瓜枯萎病由镰刀菌引起的,是一种维管束病害,一般南瓜砧木对其具有绝对抗性。张红浩利用形态学分析对 35 个砧木南瓜种质资源进行抗南方根结线虫和抗枯萎病砧木资源评价的研究中发现,质量性状中,叶面白斑的变异系数最大;数量性状中,雄花始花天数、果形指数、种型指数的变异系数较小,单果重的变异系数最大;进行遗传学分类时,应首先考虑叶片大小、种子特征,其次是始花时间和花萼大小,最后是果形^[21]。

而瓠瓜由于其良好的嫁接亲和性以及对其品质的较小影响,在砧木研究中越来越重要。陈文明等对来自我国和日本的 32 份砧用瓠瓜种质资源进行西瓜枯萎病抗性鉴定,并配制杂交组合分析抗性杂种优势;通过比较研究砧用瓠瓜种质资源的幼苗性状及其与西瓜的嫁接亲和性、不同砧木对西瓜嫁接苗生长及果实性状的影响,对砧用瓠瓜的嫁接适用性进行了鉴定;最后筛选出了 4 份高抗西瓜枯萎病砧用瓠瓜种质资源,用其配制出的 F₁ 表现出抗性杂种优势,且与西瓜接穗具有良好的嫁接亲和性及共生亲和性,嫁接西瓜的单果质量增加,果实品质保持不变,抗病性和嫁接适用性综合表现优良,可作为抗西瓜枯萎病的砧用瓠瓜育种资源^[22-24]。

2.4 抗根结线虫

随着保护地栽培面积的不断扩大以及连年重茬,南方根结线虫在西甜瓜生产中表现出越来越高发的态势,给西甜瓜生产带来了严重损失。我国、日本以及韩国许多科研单位都开展了抗根结线虫砧木机理、砧木资源的研究工作。李可通过对 4 种葫芦科种质的不同材料鉴定,发现 4 种种质材料的平均病级指数从小到大依次为甜瓜野生近缘种、西瓜、南瓜、笋瓜;鉴定得到了 4 份中抗南方根结线虫的野生西瓜种质,其中 PI189225、PI482324 与之前报道的研究结果一致,

PI606135、PI482298 之前未见报道,属首次发现^[25]。研究还发现转录因子 *AP2* 可能与角瓜抗南方根结线虫基因密切相关。茉莉酸代谢、苯丙素合成和苯丙氨酸代谢等代谢途径可能共同参与了角瓜的抗线虫反应。

Thies 等则开发了一种新型高抗根结线虫 (RKNs) 的野生西瓜遗传资源——RKVL-318,通过在饱受根结线虫侵染的田间进行嫁接试验,与新土佐、葫芦砧木 *Emphasis* 以及未嫁接的 Tri-X313 无籽西瓜相比,表现出更少的根瘤^[26]。在西瓜砧木中,已经鉴定出根部纤维性作为与 RKN 抗性相关的性状。总体而言,RKVL-318 砧木与三倍体无籽 Tri-X313 接穗具有较高的嫁接亲和性,并且比商品葫芦砧产生更高的西瓜果实产量 ($P < 0.05$)。在被 RKN 侵染的田间,在 RKVL-318 砧木上嫁接的 Tri-X313 无籽西瓜的产量比新土佐和 *Emphasis* 砧木平均高出 73% 和 53%。

RKVL-318 具有中等叶片类型的转轮生长习性,植株雌雄异花,有雄花和雌雄同花。果实扁圆形,果实平均大小为 20.9 cm × 18.0 cm。成熟果实的外皮颜色为浅绿色,深绿色条纹,边缘不规则;平均外皮厚度为 2.7 cm,肉色浅绿至黄色,质地坚硬,不会出现空心。RKVL-318 每株产生 1.3 个果实(每个果实 6.8 kg)。在种植后 90 d,水果已经准备好收获。种子大小适中,红色。

2.5 耐寒性

由于北方西甜瓜种植“春抢早”,往往需要砧木具有一定的耐寒能力。有研究发现,在葫芦砧木嫁接西瓜过程中与 15 ℃ 和 12 ℃ 相比,在 18 ℃ 的夜间温度下发生的愈合最快,在嫁接 5 d 后接穗与砧木在嫁接面处形成贯通的维管组织桥,夜间温度下降,愈合速度减慢^[27],即葫芦砧木嫁接苗最适夜温应大于 18 ℃。而对于南瓜砧木,耐低温能力普遍较好,且对三叶一心幼苗进行 5 ℃ 低温处理 24 h,结果显示中国南瓜与印度南瓜杂交 F₁ 代的耐寒性最强,印度南瓜次之,中国南瓜最弱^[28]。

3 砧木的遗传性状研究

砧木的遗传性状与嫁接适应性直接相关,同时也是砧木初步分类筛选过程中的重要依据,通过研究其遗传性状与嫁接适应性的关系,对特定性状材料进行抗性、适应性鉴定,可以更好地辅助人们进行育种。

3.1 茎蔓长短

南瓜栽培种可根据茎蔓长短分为蔓生和矮生。矮生品种因其高产、管理方便、节省土地等优势越来越受到人们的青睐,砧木南瓜育种同样如此。已知南瓜有短蔓 (*Bu*) 习性,节间短,幼苗阶段对长蔓 *bu* 显性。在美洲南瓜中,*Bu* 存在于 Giant Yellow Straightneck 近等基因系 Table Queen 中,*bu* 存在于圆锥南瓜 (*acorn*) Table Queen 中;在印度南瓜中,*Bu* 来自于育种单系,*bu* 来自于 *delicious*;在中国南瓜中,*Bu* 来自于自交系,最早由山西农业科学院周祥麟等报道,*bu* 来自于未公开的亲本材料^[29]。

王瑞等利用 SSR 标记技术对南瓜长蔓自交系和无蔓自交系的 F₂ 代分离群体进行遗传分析,测得纯合无蔓群体与杂合无蔓群体遗传距离为 7.269 3 cm,纯合无蔓群体与长蔓群体遗传距离为 10.142 6 cm,杂合无蔓群体与长蔓群体遗传距

离为 8.084 7 cm,求出 *LOD* 值大于 3 时有 5 个标记可以有效连锁。供试材料相似系数在阈值为 0.63 处正好可把 F₂ 代群体划分为 2 个类群。第一类群为无蔓性状南瓜,第二类群为长蔓性状南瓜。第一类群包含了 134 份无蔓性状群体,第二类群包含了 24 份长蔓性状群体,从而印证了南瓜无蔓性状是由显性基因控制的,南瓜无蔓矮化突变体是由隐性逆转显性突变^[30]。

3.2 叶片性状

有的品种具有白斑,被茸毛,有的少白斑或者没有白斑,这是南瓜种间分类的重要特征之一。叶片白斑由基因 *M* 控制,叶脉轴线附近银灰色区域,对无白斑呈隐性。在印度南瓜中,*M* 存在于 Zuni,*m* 存在于 *Buttercup* 和 *Golden Hubbard*;在美洲南瓜中,*M* 存在于 Caserta 和 *Striatod'Italia* 的自交系中,*m* 存在于 Early Prolific Straightneck 和 Early Yellow Crookneck;在中国南瓜中,*M* 存在于 *Hercules* 和 *Golden Cushaw* 中,*m* 存在于 *Butternut* 类型品种中,与 *Wt* 弱连锁。裂叶-1 (*lobed leaves - 1*) 对全缘叶 *Lo - 1* 隐性。

3.3 果实性状

南瓜果实形状可分为圆南瓜、长南瓜、椭圆形南瓜和长筒型南瓜等。幼果多为暗绿色、绿色、白绿色或白绿间色,老熟果灰绿色、橘红色或者橘黄色等。其中,绿色果皮 (*Gr*) 对成熟果皮浅黄色 (*gr*) 显性;*Gr* 来自于 Long Neapolitan,*gr* 来自于 *Butternut*。李鹤等在研究中发现砧木南瓜的嫩瓜皮色等 8 个质量性状,可作为形态学性状,辅助砧木南瓜的种质评价及新品种的选育^[31]。

3.4 种子性状

种子性状包括百粒质量、种皮颜色、种皮表面光滑粗糙情况、种缘大小、种子长度和宽度等性状,种子根据有无种皮可分为有皮南瓜和裸仁南瓜,其中裸仁南瓜受 1 对隐性基因 *n* 及一些修饰基因控制,多用作籽用南瓜^[32];根据大小和种皮颜色有大白籽南瓜、小白籽南瓜、黑籽南瓜、裸仁南瓜等^[33]。

4 砧木种质资源与方法研究

4.1 种质资源的评价与利用

种质是指能从亲代传递给子代的遗传物质。携带种质的载体可以是群体、个体,也可以是部分器官、组织、细胞等。种质主要包括一些主栽品种、地方品种、近源野生种群、野生种质资源以及育种材料等。种质资源评价是育种的基础工作,评价内容包括抗病性、抗逆性、嫁接亲和性、丰产性、对品质影响的程度等。

砧木南瓜常见的栽培种有中国南瓜、印度南瓜、美洲南瓜、灰籽南瓜和黑籽南瓜 5 种;根据《南瓜基因目录》,南瓜中含有 3 个雄性不育基因,分别是 *ms - 1*、*ms - 2*、*ms - 3*。其中印度南瓜类型南瓜 *Golden Hubbard* 与 *ms - 1* 有关,杂交后代表现为雄花开花前败育,无粉,且 *ms - 1* 对雄性可育 *Ms - 1* 隐性;另一种印度南瓜类型则含有 *ms - 3* 雄性不育基因;美洲南瓜 *Eskandarany* (PI228241) 则与 *ms - 2* 有关,表现为雄花败育,特点是开放前雄蕊就褐化。

野生西瓜嫁接可以降低对嫁接西瓜品质的影响,Cohen 等通过对 22 份野生西瓜利用盆栽试验研究了由尖孢镰刀菌引起的枯萎病,由黄瓜根肿镰刀菌、爪哇根结线虫、南方根结

线虫引起的镰刀菌素冠腐病以及对试验田中壳孢菌和黑点根腐病菌的反应进行了评价,结果表明,选育高抗多种病害和对果实品质无不良影响的西瓜砧木具有可能性,最有前途的种质为 PI457916、PI459075 和 BDA^[34]。2015 年,美国农业部农业研究局的 Thies 等开发了一种新型高抗根结线虫 (RKNs) 的野生西瓜遗传资源^[35]。

4.2 杂交育种

杂交育种是当前砧木育种最主要的育种手段,市场上很多成果都是种内杂种一代,南瓜种间杂交种作为西瓜砧木在韩国已经很成熟,它在耐盐碱、抗疫病和枯萎病方面更有优势,而在我国种间杂交种作砧木应用还不多^[36]。

4.3 单倍体育种

单倍体材料具有重要的遗传研究价值和育种实践意义。单倍体育种避免了育种工作中繁琐的多代自交程序,单倍体技术的研究和应用将会提高配子体的选择效率(尤其适于数量性状的选择),缩小育种群体,极大地缩短了育种周期,提高了育种效率。瓜类单倍体获得途径包括离体雄核发育-花药培养及小孢子培养、离体雌核发育-辐射花粉诱导及未受精子房培养、活体雌核发育-外源正常花粉诱导及辐射花粉诱导和未成熟胚培养等,近年来,离体雄核发育途径生产单倍体技术逐渐受到重视,离体雄核发育途径有花药离体培养和游离小孢子培养,其效果可以媲美辐射花粉授粉技术^[37]。目前,小孢子培养技术在十字花科、茄科、禾本科作物上已得到实际应用,在葫芦科作物上仍处于实验室试验阶段^[38]。黄瓜、西瓜、甜瓜、西葫芦、丝瓜等瓜类作物已经利用花药培养、游离小孢子培养技术和未授粉子房培养技术等获得了单倍体植株^[39-40]。

4.4 分子标记辅助育种

分子标记主要应用在资源亲缘关系分析,构建遗传图谱、对具有特定性状试材的筛选、杂种纯度鉴定等方面。近年来在西甜瓜砧木育种中应用越来越广泛。目前我国已经开发出瓜类多种病害的抗病标记、雌性性状标记以及一些品质性状标记,为分子标记辅助新品种选育奠定了基础。

王迎儿等通过利用 SSR-BAS 法和 RAPD-BAS 法,筛选到了 1 个与南瓜耐盐相关的 RAPD 标记,李鹤等^[31]在研究中发现所收集到的 47 份南瓜砧木中,SSR 标记 *CMTm11* 具有极高的多态性,可用于今后砧木南瓜种质分子标记的辅助选择^[41]。王深浩利用黄瓜基因组序列,开发了一批与新的中国南瓜矮生基因 *Bu* 紧密连锁的 PCR 标记 IF5-3629、IF5-2 和 SSR19719,这些标记不仅可以用于分子标记辅助选择育种,而且为 *Bu* 基因的克隆奠定了基础;在南瓜矮生基因 *Bu* 比较定位的黄瓜 5 号染色体端粒区域里,发现了与赤霉素相关的 3 个基因,并且发现黄瓜主蔓节间长度的 QTL 位点和黄瓜瓜把长短性状连锁的标记 *CSWTA04* 也存在于该区域^[42]。刘勇通过筛选利用已开发的南瓜属 SSR 标记 *LySSR121* 和 *LySSR138*,对 2 份南瓜亲本材料及其杂交 F_1 代进行实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 进行分析,证明了运用 SSR-HRM 技术可以更加高效地进行南瓜属种质资源的遗传多样性及杂种纯度鉴定^[29]。

4.5 转基因技术

我国在西瓜、甜瓜、黄瓜等瓜类作物上已经开展了转基因

技术的研究,并取得了一些成果。王慧等以云南黑籽南瓜和黄诚根 2 号为材料,利用同源克隆与 RACE 相结合的方法克隆得到了硅转运蛋白基因 (*CmLsi3*) cDNA 全长^[43]。王雪通过 *CRISPR-Cas9* 系统构建敲除甜瓜 ACC 合成酶基因的表达载体,然后通过农杆菌对老汉瓜进行遗传转化,从而得到阳性转基因甜瓜 T_0 代^[44]。

4.6 新品种保护

宋慧等以市场上同类型产品为对照,对甬砧系列葫芦类型砧木品种进行 RAPD 和 SSR 分子指纹图谱构建^[45]。在 104 个 RAPD、240 对甜瓜 SSR 和 100 对瓠瓜 SSR 中,共筛选到 7 个 RAPD 引物、2 对甜瓜 SSR 引物和 5 对瓠瓜 SSR 引物,在 6 份砧木材料中稳定扩增出 18 个多态性位点。3 种分子标记揭示供试砧木材料的多态性比例分别为 0.98%、0.48% 和 1.54%。通过合并相同赋值的差异引物和位点,得到由 9 个差异引物产生的 13 个多态性位点构成的甬砧系列分子指纹图谱。该图谱出现概率为 1/115 736 040 000,足以将甬砧系列及其对照区分开来,起到品种鉴定与保护的作用。

有研究表明,SRAP 分子标记技术可成功地绘制南瓜属种质资源 DNA 指纹图谱。陶爱芬等采用 SRAP 与 DNAMAN 对 88 份南瓜属种质资源(包含美洲南瓜、中国南瓜、印度南瓜)进行分子指纹图谱绘制。结果表明,35 对 SRAP 引物扩增出多态性条带 438 条,多态性条带比率高达 87.8%。根据扩增出的条带成功绘制出 88 份南瓜属种质资源的 DNA 指纹图谱,可以使每份种质都有自己独特的“身份”,方便彼此区别。所有供试材料用 5 对多态性 SRAP 引物即可全部区别开来^[46]。此项技术研究对今后南瓜属种质资源鉴定、分子数据库构建及新品种知识产权保护具有重要的意义。

5 研究展望

5.1 种间杂交

利用抗病南瓜种间杂交种作砧木,比品种间杂交种作砧木更能显著增强西瓜的生长势、抗逆性,有效防止西瓜土传病害的发生,降低设施连作障碍的不良影响,最终达到抗病、优质、高产的目的。南瓜种间杂交种作为西瓜砧木在韩国已经很成熟,它在耐盐碱、抗疫病和枯萎病方面更有优势,而在我国种间杂交种作砧木应用还不多,应重视开展中国南瓜和印度南瓜远缘杂交种砧木的选育。

5.2 西甜瓜野生本砧的选育

一般的西甜瓜本砧嫁接对西甜瓜的品质影响最小,且野生西甜瓜经过长期自然选择,通常具有良好的环境适应性和抗病性,应加强选育野生西瓜、野生甜瓜本砧品种^[47],注重改良现有砧木品种的抗病性,注重选育专用抗病砧木,如抗枯萎病、白粉病、根结线虫、细菌性果腐病等一种或几种病害。针对不同栽培条件、不同栽培时间、不同类型西甜瓜,选育专用砧木品种^[48]。

5.3 生物技术的应用

生物技术在将来育种中的地位将会越来越重要,结合新型生物技术进行辅助育种如单倍体技术、诱变技术、分子标记技术等的应用,可以有效创新种质资源,缩短育种年限,从而壮大我国的育种产业。

参考文献:

- [1] 陈宗光, 高会芳, 相玉苗. 小果型西瓜最佳嫁接方法筛选试验[J]. 中国瓜菜, 2015, 28(1): 36–38, 48.
- [2] 马 超, 曾剑波, 朱 莉, 等. 北京市设施西甜瓜育苗产业现状调查分析报告[J]. 长江蔬菜, 2016(22): 22–26.
- [3] 宫国义, 刘中华. 北京地区西瓜甜瓜及其砧木育种工作综述[J]. 中国瓜菜, 2014(5): 76–77.
- [4] 沈德绪. 学习米丘林无性杂交学说的体会[J]. 生物学通报, 1955(10): 19–22.
- [5] 蒋世和. “米丘林学说”在中国(1949—1956): 苏联的影响[J]. 自然辩证法通讯, 1990(1): 18–25, 80.
- [6] 牛健哲. 苹果砧木育种概述[J]. 中国果树, 1980(4): 62.
- [7] 郑高飞, 徐永阳, 徐志红, 等. 超丰 F₁ 砧木品种选育及其在西瓜抗重茬栽培中的应用[J]. 果树学报, 2000, 17(3): 207–213.
- [8] 李海真, 宫国义, 张 帆, 等. 西瓜专用砧木——京欣砧 4 号的选育[J]. 长江蔬菜, 2009(4): 61–63.
- [9] 贾长才, 李海真, 张 帆, 等. 甜瓜、西瓜专用砧木品种——京欣砧 3 号的选育和推广[J]. 中国瓜菜, 2011, 24(5): 28–31.
- [10] 王毓洪, 黄芸萍, 皇甫伟国, 等. 西瓜嫁接专用砧木甬砧 1 号的选育[J]. 浙江农业科学, 2006(4): 370–371.
- [11] 王毓洪, 应泉盛, 王迎儿, 等. 西瓜长季节栽培专用砧木甬砧 3 号的选育[J]. 中国蔬菜, 2012(10): 103–105.
- [12] 应泉盛, 王迎儿, 王毓洪, 等. 小果型西瓜专用砧木品种甬砧 5 号的选育[J]. 中国瓜菜, 2014, 27(3): 32–35.
- [13] 王迎儿, 应泉盛, 古斌权, 等. 南瓜类型砧木新品种甬砧 8 号的选育[J]. 中国瓜菜, 2017, 30(9): 28–30.
- [14] 崔 健, 宋云云, 刘素芹, 等. 西瓜嫁接砧木——青研砧木 1 号南瓜[J]. 西北园艺: 蔬菜专刊, 2006(2): 37.
- [15] 施先锋, 李爱成, 李煜华, 等. 西瓜专用砧木——鄂砧 1 号葫芦的选育[J]. 长江蔬菜, 2012(6): 17–19.
- [16] 王恒伟. 西瓜嫁接砧木——GKY 的选育及采种技术要点[J]. 甘肃农业科技, 1999(3): 32–32.
- [17] 袁培祥. 西瓜和甜瓜砧木品种“雪金龙”的选育[J]. 北方园艺, 2015(22): 164–166.
- [18] 杨冬艳, 冯海萍, 曲继松, 等. 不同类型砧木嫁接对西瓜苗期若干性状的影响[J]. 中国瓜菜, 2014(增刊 1): 69–71.
- [19] 尚建立, 王吉明, 李 娜, 等. 不同砧木与甜瓜嫁接亲和性分析[J]. 中国瓜菜, 2016, 29(12): 38–40.
- [20] 陈 晖, 周梅英, 高秋美, 等. 不同砧木嫁接对西瓜果实品质的影响[J]. 农业科技通讯, 2015(7): 117–118, 128.
- [21] 张红浩. 砧用南瓜种质资源形态学性状分析及抗病性评价[D]. 南宁: 广西大学, 2015.
- [22] 陈文明. 砧用瓠瓜种质资源多样性及抗西瓜枯萎病和南方根结线虫的研究[D]. 南宁: 广西大学, 2016.
- [23] 陈文明, 钟 川, 廖建杰, 等. 砧用瓠瓜种质资源对西瓜枯萎病的抗性及其嫁接适用性研究[J]. 中国蔬菜, 2017, 1(6): 25–31.
- [24] 陈文明, 廖建杰, 阳燕娟, 等. 砧用葫芦种质资源对西瓜枯萎病的抗性鉴定与嫁接亲和性研究[C]// 中国园艺学会 2015 年学术年会论文摘要集. 北京: 中国园艺学会, 2015.
- [25] 李 可. 抗南方根结线虫西甜瓜砧木资源筛选及其抗性反应的转录组分析[D]. 北京: 中国农业科学院, 2016.
- [26] Thies J A, Levi A. Characterization of watermelon (*Citrullus lanatus* var. *citroides*) germplasm for resistance to root-knot nematodes[J]. HortScience, 2007, 42(7): 1530–1533.
- [27] Yang X P, Hu X E, Zhang M, et al. Effect of low night temperature on graft union formation in watermelon grafted onto bottle gourd rootstock[J]. Scientia Horticulturae, 2016, 212: 29–34.
- [28] 孙吉庆, 孙令强, 李 敏. 低温胁迫对砧木南瓜 F₁ 代及其亲本幼苗的影响[J]. 北方园艺, 2013(2): 20–22.
- [29] 刘 勇. 南瓜杂交组合对甜瓜的嫁接适用性评价及南瓜属 SSR 标记开发[D]. 武汉: 华中农业大学, 2015.
- [30] 王 瑞. 南瓜短蔓性状分子标记及长短蔓植株基因的 cDNA-AFLP 分析[D]. 广州: 华南农业大学, 2010.
- [31] 李 鹤. 砧用南瓜种质资源遗传多样性分析及抗逆性鉴定[D]. 南京: 南京农业大学, 2014.
- [32] 邹利威, 李柱刚, 韩俊岩, 等. 裸仁南瓜研究进展概述[J]. 中国瓜菜, 2012, 25(6): 42–44.
- [33] 张红浩, 黄丽桃, 陈文明, 等. 砧木南瓜种子和幼苗的性状评价及相关性分析[C]// 中国园艺学会 2014 年学术年会论文摘要集. 北京: 中国园艺学会, 2014.
- [34] Cohen R, Tyutyunik J, Fallik E, et al. Phytopathological evaluation of exotic watermelon germplasm as a basis for rootstock breeding[J]. Scientia Horticulturae, 2014, 165(3): 203–210.
- [35] Thies J A, Levi A, Ariss J J, et al. RKVL-318, a root-knot nematode-resistant watermelon line as rootstock for grafted watermelon[J]. HortScience: a Publication of the American Society for Horticultural Science, 2015, 50(1): 141–142.
- [36] 张朝阳, 赵建峰, 罗德旭, 等. 南瓜种间杂交及其杂交种枯萎病抗性研究[J]. 江苏农业科学, 2014(6): 195–196.
- [37] Gałazka J, Niemirówiczszczytt K. Review of research on haploid production in cucumber and other cucurbits[J]. Folia Horticulturae, 2013, 25(1): 67–78.
- [38] 胡雪丹, 张 曼, 徐锦华, 等. 葫芦科作物游离小孢子培养研究进展[J]. 江苏农业科学, 2016, 44(6): 25–29.
- [39] 黄金华, 董彦琪, 王文英, 等. 葫芦科蔬菜单倍体育种技术研究进展——未授粉子房离体培养技术[J]. 中国瓜菜, 2016, 29(5): 1–4.
- [40] 董彦琪, 黄金华, 刘喜存, 等. 葫芦科蔬菜单倍体育种技术研究进展——花药和游离小孢子培养技术[J]. 中国瓜菜, 2016, 29(4): 1–4.
- [41] 王迎儿, 高旭, 王毓洪, 等. 南瓜耐盐种质的筛选鉴定及耐盐基因的标记[J]. 浙江农业学报, 2015, 27(3): 372–379.
- [42] 王深浩. 中国南瓜矮生基因 Bu 的比较定位及其矮生性状的生理研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2010.
- [43] 王 慧, 赵 升, 魏 珉, 等. 砧木南瓜硅转运蛋白基因 CmLsi3 的克隆与表达分析[J]. 园艺学报, 2015, 42(10): 2075–2082.
- [44] 王 雪. CRISPR-Cas 系统对老汉瓜 ACC 合成酶基因定点敲除及功能验证[D]. 乌鲁木齐: 新疆大学, 2017.
- [45] 宋 慧, 张香琴, 张永兵, 等. 甬砧系列葫芦类型砧木品种分子指纹图谱构建[J]. 江苏农业科学, 2012, 40(8): 45–48.
- [46] 陶爱芬, 魏嘉俊, 刘 星, 等. 应用 SRAP 标记绘制 88 份南瓜属种质资源 DNA 指纹图谱[J]. 植物遗传资源学报, 2017, 18(2): 225–232.
- [47] 黄 远, 别之龙, 孔秋生, 等. 嫁接对西瓜和甜瓜果实品质影响的研究进展[J]. 中国蔬菜, 2012(4): 10–18.
- [48] 何 明, 张家旺, 孙柏欣, 等. 辽宁西甜瓜产业科技创新探讨[J]. 辽宁农业科学, 2016(5): 68–70.