

甜瓜育种技术与方法研究进展

宋正峰¹, 刘树森^{1,2}, 夏连芹¹, 高鹏³, 栾非时³, 刘钊¹

(1. 山东省寿光市三木种苗有限公司 山东寿光 262704; 2. 潍坊科技学院 山东潍坊 262700;
3. 东北农业大学园艺园林学院 哈尔滨 150030)

摘要: 系统综述了近年来国内外甜瓜育种技术与方法的研究进展, 特别是甜瓜二代与三代基因组测序, 转录组、蛋白质组与代谢组学研究方法, 重要基因定位及前景选择技术, DNA 指纹图谱及背景选择技术, 遗传转化体系、基因编辑等基因工程技术, 以及双单倍体育种等细胞工程技术领域的研究进展, 并对我国甜瓜育种技术与方法研究工作进行了展望, 以期为广大甜瓜育种工作者提供参考。

关键词: 甜瓜; 育种技术与方法; 分子育种; 生物技术育种

中图分类号: S652 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673-2871(2022)06-001-08

Advances of melon breeding technology and method

SONG Zhengfeng¹, LIU Shusen^{1,2}, XIA Lianqin¹, GAO Peng³, LUAN Feishi³, LIU Zhao¹

(1. Shouguang Sanmu Seeding Co., LTD, Shouguang 262704, Shandong, China; 2. Weifang College of Science and Technology, Weifang 262700, Shandong, China; 3. Horticulture and Landscape Architecture College, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, Heilongjiang, China)

Abstract: We reviewed the recent progress in the field of melon breeding technologies and methods with focuses on the research progress in the second and third generation of genome sequencing, transcriptomics, proteomics and metabolomics research methods, important trait discovery and foreground selection, DNA fingerprinting and background selection, genetic transformation, gene editing system and other genetic engineering technologies, doubled haploid breeding and other cell engineering technologies in melon. Finally, the research work on melon breeding technologies and methods in China was prospected. We hope to provide reference for melon breeders.

Key words: Melon; Breeding technology and methods; Molecular breeding; Biotechnology breeding

甜瓜(*Cucumis melo* L.)属于世界十大水果型蔬菜,富含矿物质、维生素等人体必需的营养成分,是人们生活中不可缺少的园艺产品,在国民经济中占有十分重要的位置^[1],在世界园艺产业领域也占有举足轻重的地位。FAO 统计显示,我国甜瓜生产面积与产量均居世界首位,2020 年我国甜瓜生产面积 38.8 万 hm²(占世界总面积的 36.31%),产量达 1 386.5 万 t(占世界总产量的 48.71%)。“十三五”以来,经过广大甜瓜育种工作者的不懈努力,我国甜瓜遗传学基础、功能基因组学、育种技术等领域的研究水平已经赶上乃至超越西班牙、美国、以色列、土耳其、日本、韩国等传统甜瓜科研强国,处于世界

前列。尤其是近 3 年来,我国学者创建了多种甜瓜关键性状前景选择技术体系及成熟的全基因组背景选择技术体系,使甜瓜分子标记辅助选择技术日趋成熟;在甜瓜基因工程育种中实现了基因编辑技术的突破;传统育种结合分子育种手段创制出一批抗性好、品质优的育种材料,育成众多优质、抗逆的甜瓜新品种,并在生产上大面积推广应用,促进了甜瓜产业的快速发展,助力了脱贫攻坚和乡村振兴^[2]。笔者对甜瓜育种技术与方法领域研究进展进行了综述,重点着眼于最新研究成果及实用分子育种手段的阐述,以期为我国甜瓜育种工作者开展分子育种研究提供参考。

收稿日期:2022-01-27;修回日期:2022-03-10

基金项目:山东省重点研发计划(LJNY202112);山东省科技型中小企业创新能力提升工程项目(2021TSGC1228);潍坊市现代种业科研创新团队项目(KYCXTD004);国家西甜瓜产业技术体系(CARS-25)

作者简介:宋正峰,男,农艺师,研究方向为西瓜甜瓜遗传育种。E-mail:wdszf@163.com

通信作者:刘钊,男,高级农艺师,研究方向为西瓜甜瓜遗传育种。E-mail:sanmuseed@163.com

1 甜瓜组学研究进展

组学一般包括基因组学、转录组学、蛋白质组学及代谢组学。这些组学中基因组学是基础,尤其是作物参考基因组的发布,为后续分子标记开发、基因定位进而实现分子育种等研究奠定了基础。而转录组学、蛋白质组学及代谢组学则为挖掘关键基因、阐明基因功能提供了工具。

1.1 甜瓜参考基因组研究

2012年西班牙学者首次发表了甜瓜参考基因组(v3.5.1)^[1],该参考基因组采用双单倍体厚皮甜瓜材料 DHL92 为材料,以罗氏 454 平台为主要测序手段,基因组测序结果显示,甜瓜核型为 $2n=2x=24$,基因组规模约为 375 Mb;2018年该团队在原有基础上又发表了新版本的甜瓜参考基因组(v3.6.1)^[4],基因组和注释信息质量得以提升。参考基因组的发表使得大规模开发分子标记进行基因定位及分子标记辅助选择成为可能,通过第二代测序技术了解育种材料遗传背景、开发实用分子标记、进行基因精细定位已经成为常规研究手段。

近3年来,三代测序技术不断发展,2019年新疆农业科学院伊鸿平团队利用第三代测序技术(SMRT)与 Hi-C 技术结合,拼接了更加完备的甜瓜参考基因组^[5],所用材料为厚皮甜瓜 Payzawat,这是三代测序技术应用于甜瓜基因组拼接的首次报道。2020年浙江大学张明方团队利用三代测序技术结合 Hi-C 辅助组装方式完成了典型薄皮甜瓜材料 HS 的基因组组装^[6]。三代测序技术最大的优势在于具有较长的读长,可以保证基因组拼接的完整性,便于比较不同材料或亚种间的染色体变异,为今后获得高质量参考基因组乃至泛基因组奠定基础。

除了核基因组图谱之外,在甜瓜细胞器基因组测序和组装方面,东北农业大学西甜瓜分子育种团队对甜瓜细胞器基因组进行了测序,并将之与核基因组进行了比较分析,证明了在甜瓜进化过程中,核基因组与细胞质中的2个细胞器基因组之间发生了大量遗传物质交换^[7]。最近,也有了对甜瓜野生近缘材料马泡瓜叶绿体基因组进行测序组装的报道^[8]。

1.2 甜瓜转录组学、蛋白质组学及代谢组学研究

转录组学是指用第二代测序等方法对生物转录产物进行高通量定性、定量分析。转录组测序可以快速挖掘差异表达基因并明确基因调控关系,甜瓜参考基因组数据的发表为甜瓜转录组测序、拼接

及数据分析提供了便利,现在转录组测序手段已经成为甜瓜重要基因挖掘、基因功能分析、基因调控网络构建的重要手段。目前,针对甜瓜各种性状的转录组测序数据已有很多,包括甜瓜抗病^[9]、胁迫响应^[10]、果实品质^[11]、发育^[12]及花性别分化^[13]等,这些转录组数据都可以在数据库中获得,为国内外学者研究相关性状并克隆基因奠定了基础。除了利用转录组学手段研究编码基因的表达特性,还有学者关注 miRNA 等非编码 RNA 的表达特性,由此衍生出了小分子 RNA 测序及降解组测序等技术^[14-15],这些手段为深入研究非编码 RNA 功能提供了条件。

转录组学研究只能揭示转录水平的差异,为了研究翻译水平的调控,有些学者已经开始进行蛋白质组学研究,如 Serra-Soriano 等^[16]研究了甜瓜在病毒感染过程中韧皮部汁液的蛋白质组学变化,发现相对于健康植株,病毒感染植株 25 个蛋白质点丰度发生了显著改变,其中的大多数蛋白质参与氧化还原反应与细胞凋亡过程,这些结果为阐明甜瓜抗病毒机制提供了帮助。以往蛋白质组学研究手段主要是蛋白质双向电泳,现在多为利用飞行时间质谱仪(time of flight mass spectrometer, TOF)等高通量手段。目前,进行转录组测序研究的主要问题是,测序结果会给出很多差异表达基因,如何在这些大量基因中找到关键基因是未来研究的主要课题,结合遗传连锁图谱以及基因/QTL 定位研究,将有效缩小基因筛选范围,将遗传学数据与转录组数据相互结合更容易发现关键基因。

近年来,代谢组学成为学者越来越重视的研究手段,代谢组学通过质谱等高通量测定植物代谢产物,甜瓜很多性状都与代谢产物密切相关,尤其是果实香气、风味与代谢物密不可分。得益于质谱技术等功能越来越强大,仪器价格越来越低,代谢组学和蛋白质组学逐渐成为分析甜瓜复杂性状的有力工具。比如,中国农业科学院蔬菜花卉研究所王怀松团队利用代谢组学手段分析了甜瓜果皮颜色的形成机制^[17];Nagashima 等^[18]利用代谢组结合转录组学手段分析了甜瓜果实发育过程中芳香气体形成的机制。

另外,进入 21 世纪以来,表型组学(phenomics)的研究理念越来越受到重视。所谓表型组是指某一生物的全部性状特征,而植物表型组学是研究植物生长、表现和组成的科学,能够有效追踪基因型、环境因素和表型之间的联系,是未来作物学研究和应用的关键领域^[19]。植物表型组学研究需要特定的

自动化仪器,对拟南芥等模式植物和水稻等株型、规模有限的作物已经有比较成熟的方案,由于甜瓜表型丰富、株型复杂,目前还没有甜瓜表型组学研究的相关报道。

综上所述,对基因组学、转录组学、蛋白组学及代谢组学等方法的综合利用越来越成熟,通过合理设计试验可以为破解甜瓜复杂性状形成机制、挖掘重要基因开启一条捷径。

2 甜瓜重要基因定位及分子标记辅助选择

2.1 甜瓜重要基因定位及前景选择技术

进入 21 世纪以来,已经在甜瓜的 12 条染色体上获得了大量的重要性状相关位点,涉及到的性状包括甜瓜抗病性、果实品质、发育等多个方面。表 1 总结了其中性状贡献率大、定位稳定、定位区间相对精细并可以用于分子辅助育种的基因位点,可以利用这些位点信息设计合适的分子标记,完成特定性状的前景选择。

有了上述基因的序列信息即可设计分子标记开展前景选择育种工作,也可以将多个优良基因进行整合实现分子聚合育种。在分子标记方面,以 SSR 为代表的第二代分子标记具有操作简单的优势,应用比较广泛。但最新挖掘的功能基因大多数是以 SNP、InDel 等第三代分子标记进行定位的,所以直接应用于基因上或与基因紧密连锁的第三代分子标记进行选择育种越来越成为主流。目前,以 SNP 为代表的第三代分子标记在甜瓜育种实践中主要基因分型手段包括以下几种:(1)SNP-CAPS (cleaved amplified polymorphic sequence, 酶切扩增多态性序列)标记,就是将 SNP 标记转化为 CAPS 标记,通过 PCR 之后限制性内切酶消化进行基因分型的手段^[26],该方法便于操作,但 SNP 位点须位于限制性酶切位点上;(2)real-time PCR,利用 Taqman 探针等手段进行 SNP 基因分型^[57],该方法依赖于 real-time PCR 仪,适用于样本规模较大但标记数量较少的情况;(3)LGC-KASP(kompetitive allele specific PCR, 竞争性等位基因特异性 PCR)是近年兴起的高度自动化相对高通量的 SNP 基因分型手段^[58],该手段依赖于仪器,且仪器价格较贵;(4)基因芯片,是自动化程度水平很高和试验成本最低的高通量 SNP 基因分型手段^[59],但芯片设计成本很高,在甜瓜上适用于大规模基因分型芯片的报道还很少。上述方法需育种者结合自身情况灵活运用。

表 1 甜瓜重要性状相关基因染色体定位信息

性状	染色体	基因名称	参考文献
抗病性	抗蔓枯病	1 <i>sb-x</i>	[20]
	抗白粉病	2 <i>Pm-x1</i> 、 <i>Pm-x3</i> 、 <i>Pm-x5</i>	[21]
		<i>Pm2.1</i>	[22]
		5 <i>Pm-R</i>	[23]
		<i>Pm-An</i>	[24]
		10 <i>CmPMrs</i>	[25]
		12 <i>BPm12.1/CmPMR1</i>	[25-26]
		<i>pm12.1</i>	[22]
	抗枯萎病	9 <i>Fom-1</i>	[27]
		11 <i>Fom-2</i>	[28]
		10 <i>qPcub-10.1</i>	[29]
	抗霜霉病	12 <i>MePhyto</i>	[30]
抗西瓜花叶病毒	11 <i>wmv</i>	[31]	
抗黄瓜花叶病毒	11 <i>CmVPS41</i>	[32]	
抗瓜类黄矮失调病毒	5 <i>CmCYSDV</i>	[33]	
抗细菌性果斑病	9 <i>MB157-2</i>	[34]	
花发育	雄花-完全花同株	2 <i>a(andromonoecious)</i>	[35]
	全雌株	5 <i>g(gynoecious)</i>	[36]
	雄性不育	6 <i>ms-1</i>	[37]
	柱头颜色	8 <i>GSS.1</i>	[38]
果实相关性状	果实芳香性气体	1 <i>CmThAT1</i>	[39]
	果面斑纹	2 <i>CmSp-1</i>	[40]
	果面条纹	4 <i>st3</i>	[41]
	果皮颜色	4 <i>CmAPRR2</i>	[42]
		10 <i>CmKFB</i>	[43]
	果肉颜色	8 <i>CmPPR1</i>	[39]
		9 <i>CmOr</i>	[44]
	果形指数	8 <i>CmOFP13/fsqs8.1/</i>	[45-47]
		<i>CmFSI8</i>	
	果实酸味	8 <i>CmPH</i>	[48]
	果实心室数	12 <i>CmCLV3</i>	[49]
果肉含糖量	5 <i>SUCQSC5.1</i>	[50]	
种子相关性状	种皮颜色	5 <i>CmSC1</i>	[51]
		6 <i>CmBS-1</i>	[52]
植株生长性状	掌状裂叶	3 <i>pll</i>	[53]
	植株矮化	7 <i>MD7</i>	[54]
	卷须	9 <i>CTL</i>	[55]
	果柄长度	3 <i>CmFpl3.1</i>	[56]

2.2 甜瓜 DNA 指纹图谱及背景选择技术

分子标记除了可以进行基因定位和选择育种外,也可以广泛应用于种质资源鉴定。2012 年,Gao 等^[60]通过对国内主栽甜瓜品种的指纹图谱分析发现,我国甜瓜种子市场存在较多同物异名、同名异物现象,并得出我国薄皮甜瓜遗传背景相当狭窄的

结论。为了解决这一系列问题,他们从 1219 个 SSR 中筛选到 18 对 SSR 引物作为 DNA 指纹图谱的核心引物,利用该核心引物构建了 471 份中国甜瓜主栽品种与骨干亲本的 DNA 核酸指纹图谱,这是第一套甜瓜分子指纹图谱系统,可以区分主流商业甜瓜品种,并且利用其中个别多态性标记可以快速在杂交种中找到混杂的母本种子,为种质资源鉴定提供了依据。该系统主要有 2 个优点:一是核心标记为 SSR 标记,操作简单,尤其育种企业使用比较便利;二是标记多态性信息丰富且覆盖甜瓜全部 12 条染色体,品种及种质资源区分效果较好。

但由于核心标记数量较少,上述系统作为快速鉴定种质资源尚可,难以作为全基因组背景选择的工具。随着基因组学的发展,尤其是近 5 年高通量测序及基因分型技术的普及,以 SNP 为代表的第三代分子标记逐渐代替 SSR 标记作为甜瓜种质资源鉴定的主要手段。2019 年出现了利用 32 个核心 SNP 引物的甜瓜分子指纹图谱技术^[61]。

随着可以应用的多态性分子标记越来越多,标记覆盖染色体的密度越来越大,分子指纹图谱技术可以过渡为背景选择技术,实现甜瓜育种的全基因组选择(genomic selection, GS)。该技术是利用覆盖全基因组的高密度标记进行选择育种的新方法,利用全基因组背景选择结合个别优良性状的前景选择,可以快速将优良性状(如抗性)导入育种材料中,实现骨干亲本的快速改良。背景选择结合前景选择可通过早期选择缩短世代间隔,保证育种值(genomic estimated breeding value, GEBV)估计的准确性等,加快遗传研究进展,尤其对低遗传力、难测定的复杂性状具有较好的预测效果,真正实现了全基因组选择技术指导育种实践。目前,国内外各主要甜瓜育种单位正努力整合、建立成熟的甜瓜背景选择技术体系,将用于甜瓜育种实践。

前景选择结合背景选择的高效分子育种策略需要高通量基因分型手段,SNP 等第三代分子标记是最优选择。目前高通量 SNP 分型手段主要有 LGC-KASP 和基因芯片,其中, LGC-KASP 已得到很好应用,目前还罕有甜瓜 SNP 分型芯片的报道。

以 SSR 为代表的第二代分子标记和 SNP 为代表的第三代分子标记相比较,第二代分子标记基因分型技术简单、操作要求与成本较低,适合少数样品的快速鉴定,而第三代分子标记可以实现高通量基因分型,技术和设备要求高,育种工作者可以根据实际情况灵活应用。相信指纹图谱及背景选择

技术将会在甜瓜育种、品种鉴定、资源利用等领域得到越来越广泛的应用。

3 甜瓜基因工程

3.1 甜瓜遗传转化体系

国际上甜瓜遗传转化的研究开始于 20 世纪 90 年代^[62-64],国内在该领域的研究也较早,成功转化甜瓜的历史可以追溯到 1994 年,新疆农业科学院获得了抗黄瓜花叶病毒转基因植株^[65]。特别是 2014 年以来,甜瓜遗传转化技术取得了长足进步,相关研究报道较多^[66-67]。

甜瓜基因工程的应用有以下 2 个方面:一是甜瓜抗病,如将病毒衣壳蛋白基因转入甜瓜达到抗病毒病的目的^[65,68],以及将几丁质酶等抗真菌基因转入甜瓜达到抗真菌病的目的^[69];二是对乙烯代谢相关基因进行改良,乙烯是植物中的重要生长调节剂,参与果实成熟、形态建成、花发育等多个生物学过程,有学者将乙烯合成途径中关键酶基因的反义序列转入甜瓜,达到降低果实乙烯含量、增强甜瓜耐贮藏性进而延长货架期的目的^[70],还有将甜瓜中花发育关键乙烯相关基因 *CmACS-3* 进行超量表达,达到增加两性花数、促进两性花成熟效果的报道,该研究对育成易坐果、早熟、丰产的甜瓜材料具有重要意义^[67]。目前,这些报道中所利用的遗传转化方法均为农杆菌介导的遗传转化,具体方式主要有子叶/子叶节法^[65-67]、子房注射法^[69]以及花粉管通道法^[70]。上述方法中使用最多、转化效率最稳定、应用潜力最大的是以子叶节为外植体的农杆菌介导的遗传转化法。

植物基因工程技术与理论已经成熟,然而其在甜瓜领域的应用与其他作物相比还不够广泛,主要原因是虽然甜瓜已经获得高效的再生体系^[71],但缺乏高效、稳定、重复性好的遗传转化体系,国内很多研究团队正在该领域进行深入研究,相信近期会有所突破。

3.2 甜瓜基因编辑技术

近 5 年来,随着甜瓜遗传转化体系的日益完善,以 CRISPR-Cas9 系统为代表的基因编辑技术在育种和基础研究中显示出越来越大的潜力和优势,已经有学者进行了甜瓜基因编辑的探索,如王雪等^[72]构建了甜瓜 ACC 合成酶 CRISPR-Cas9 系统基因编辑载体;王丹等^[73]构建了甜瓜全缘叶基因 *PLL* 的 CRISPR/Cas9 敲除载体。但上述 2 个例子只有基因编辑载体构建的报道,未见对甜瓜完成基因编

辑并产生表型的报道。究其原因是目前基因编辑理论、方法和载体已比较成熟,但现有基因编辑体系依赖于农杆菌介导的遗传转化,还缺乏比较高效、稳定的甜瓜遗传转化体系。未来,随着成熟甜瓜遗传转化体系的构建,基因编辑技术将会在育种实践中发挥重大作用。

4 甜瓜细胞工程及倍性育种技术

总体上说,甜瓜细胞工程及倍性育种发展较为缓慢,在育种中并没有得到大规模应用,现就该领域的研究归纳总结如下。

4.1 甜瓜细胞工程技术

目前,在甜瓜细胞工程领域进行的研究主要是甜瓜原生质细胞的培养和融合。国际上甜瓜原生质体培养研究始于1984年,西班牙学者率先发表了甜瓜原生质体培养及愈伤组织诱导的方法^[74],而国内相关研究晚于国外5年^[75]。单纯的原生质体培养并获得再生植株的理论和实践意义并不大,所以学者开始进行原生质体细胞融合的研究,主要对西瓜、甜瓜2种葫芦科主要作物的原生质体进行融合^[76-77],诱导细胞融合的手段包括聚乙二醇介导的化学融合^[77]和电融合^[76]。目前还没有通过细胞融合获得甜瓜杂种植株的报道,其主要原因是西瓜与甜瓜亲缘关系较远,产生的杂交细胞染色体组难以稳定遗传,其后代性状分离严重、与常规材料杂交困难等。反之,利用甜瓜与其近缘野生种的原生质体杂交有可能获得成功,可以通过这个方式快速获得野生种优异性状,有条件的机构可以考虑开展此项研究工作。

原生质体培养的另一个应用领域是通过原生质体完成诱变或外源基因导入,随着化学诱变、农杆菌介导的遗传转化等手段的完善,原生质体培养技术在上述领域已没有技术优势,所以较少有人关注于此。

4.2 甜瓜双单倍体育种

双单倍体(doubled haploid 或 dihaploid, DH)即加倍后的单倍体,双单倍体技术可快速获得基因型纯合的植株。双单倍体技术在基础研究领域可快速获得永久作图群体(DH群体);在育种实践上,双单倍体技术可快速纯合育种材料,固定优异基因。所以甜瓜双单倍体技术具有巨大理论与实践意义。

双单倍体技术的第一步是获得单倍体,而后再用秋水仙素对单倍体枝条进行加倍,加倍后枝条上的花进行自交授粉即可获得稳定的双单倍体后

代。早在1987年法国学者利用辐射后的甜瓜花粉进行授粉,再通过胚挽救手段获得甜瓜单倍体,进而用秋水仙素对单倍体进行加倍即可获得双单倍体^[78]。受制于当时的技术条件,其单倍体诱导和加倍效率不高。2010年后,甜瓜双单倍体的报道逐渐增多,但均为国外学者尤其是西班牙学者完成^[79-80],成功的双单倍体研究普遍采用适合欧洲栽培的厚皮甜瓜材料作为亲本进行单倍体诱导和加倍。我国这方面的报道还比较少^[81]。由于国内甜瓜栽培类型丰富,涵盖薄皮甜瓜和多种类型厚皮甜瓜,因此,迫切需要探索一种适合各种甜瓜类型的双单倍体诱导技术。

4.3 三倍体无籽甜瓜育种

将普通二倍体用秋水仙素处理即可获得四倍体,四倍体亲本与二倍体亲本杂交可产生三倍体杂种,三倍体植株在进行减数分裂时会出现联会紊乱的情况,所以三倍体难以形成种子。目前,在葫芦科作物上西瓜三倍体的应用已很广泛。不同于三倍体无籽西瓜已经形成了较大的产业规模,三倍体甜瓜的研究很少,这主要是因为甜瓜的种子和可食用部分是分开的,无籽甜瓜经济价值不高。

目前已报道的三倍体无籽甜瓜只有哈甜3号薄皮甜瓜品种^[82],三倍体薄皮甜瓜无成熟种子,具有甜度高、生长势强、抗病性强等特点,但由于三倍体甜瓜种子出芽率低,限制了更大面积的推广。

5 甜瓜育种技术与方法展望

随着越来越多的甜瓜关键基因被克隆,今后除了继续发掘、克隆、利用单基因决定性状的的关键基因,未来甜瓜育种技术研究还可以着眼于以下几个领域:一是复杂性状决定基因的克隆和利用;二是关注已克隆基因的功能解析,在明晰基因功能研究基础上可以利用转基因、基因编辑等手段改良性状;三是最新技术成果转化越来越快,与育种领域结合越来越紧密,包括三代测序、代谢组学、基因编辑、高通量表型分析系统等一系列新技术逐渐在甜瓜分子育种上成熟并显示出优势,研究者应充分利用;四是整合已有研究成果,建立多套相关性状前景选择技术体系,充分利用高通量基因分型平台,整合出甜瓜背景选择技术体系,形成高效分子育种新模式,真正使甜瓜育种进入分子育种时代。

参考文献

- [1] 王娟娟,李莉,尚怀国.我国西瓜甜瓜产业现状与对策建议[J].中国瓜菜,2020,33(5):69-73.

- [2] 徐永阳,徐志红,赵光伟,等.甜瓜新品种‘众天9号’的选育[J].中国瓜菜,2020,33(12):99-101.
- [3] GARCIA-MAS J, BENJAK A, SANSEVERINO W, et al. The genome of melon (*Cucumis melo* L.) [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2012, 109(29):11872-11877.
- [4] RUGGIERI V, ALEXIOU K G, MORATA J, et al. An improved assembly and annotation of the melon (*Cucumis melo* L.) reference genome[J]. Scientific Reports, 2018, 8(1):8088.
- [5] ZHANG H, LI X M, YU H Y, et al. A high-quality melon genome assembly provides insights into genetic basis of fruit trait improvement[J]. iScience, 2019, 22:16-27.
- [6] YANG J H, DENG G C, LIAN J M, et al. The chromosome-scale genome of melon dissects genetic architecture of important agronomic traits[J]. iScience, 2020, 23(8):101422.
- [7] CUI H N, DING Z, ZHU Q L, et al. Comparative analysis of nuclear, chloroplast, and mitochondrial genomes of watermelon and melon provides evidence of gene transfer[J]. Scientific Reports, 2021, 11(1):1595.
- [8] 马宗新. 马泡瓜叶绿体基因组测序[J]. 分子植物育种, 1-15 [2022-04-08]https://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20210508.1435.012.html.
- [9] ZHU Q L, GAO P, WAN Y, et al. Comparative transcriptome profiling of genes and pathways related to resistance against powdery mildew in two contrasting melon genotypes[J]. Scientia Horticulturae, 2018, 227:169-180.
- [10] 陈嘉贝,张芙蓉,黄丹枫,等.盐胁迫下两个甜瓜品种转录因子的转录组分析[J].植物生理学报,2014,50(2):150-158.
- [11] CHAYUT N, YUAN H, OHALI S, et al. A bulk segregant transcriptome analysis reveals metabolic and cellular processes associated with *Orange* allelic variation and fruit β -carotene accumulation in melon fruit[J]. BMC Plant Biology, 2015, 15:274.
- [12] SALADIÉ M, CANIZARES J, PHILLIPS M A, et al. Comparative transcriptional profiling analysis of developing melon (*Cucumis melo* L.) fruit from climacteric and non-climacteric varieties[J]. BMC Genomics, 2015, 16(1):440.
- [13] GAO P, SHENG Y Y, LUAN F, et al. RNA-Seq transcriptome profiling reveals differentially expressed genes involved in sex expression in melon[J]. Crop Science, 2015, 55:1686-1695.
- [14] BAI S, TIAN Y, TAN C, et al. Genome-wide identification of microRNAs involved in the regulation of fruit ripening and climacteric stages in melon (*Cucumis melo*) [J]. Horticulture Research, 2020, 7:106.
- [15] ZHOU X X, CUI J, CUI H N, et al. Identification of lncRNAs and their regulatory relationships with target genes and corresponding miRNAs in melon response to powdery mildew fungi[J]. Gene, 2020, 735:144403.
- [16] SERRA-SORIANO M, NAVARRO J A, GENOVES A, et al. Comparative proteomic analysis of melon phloem exudates in response to viral infection[J]. Journal of Proteomics, 2015, 124:11-24.
- [17] ZHANG A, ZHENG J, CHEN X, et al. Comprehensive analysis of transcriptome and metabolome reveals the flavonoid metabolic pathway is associated with fruit peel coloration of melon[J]. Molecules, 2021, 26(9):2830.
- [18] NAGASHIMA Y, HE K, SINGH J, et al. Transition of aromatic volatile and transcriptome profiles during melon fruit ripening[J]. Plant Science, 2021, 304:110809.
- [19] 胡伟娟,傅向东,陈凡,等.新一代植物表型组学的发展之路[J].植物学报,2019,54(5):558-568.
- [20] 哈矿武,张慧玲,柳剑丽,等.甜瓜高代自交系4G21抗蔓枯病基因的分子定位[J].园艺学报,2010,37(7):1079-1084.
- [21] FAZZA A C, DALLAGNOL L J, FAZZA A C, et al. Mapping of resistance genes to races 1, 3 and 5 of *Podosphaera xanthii* in melon PI 414723[J]. Crop Breeding and Applied Biotechnology, 2013, 13(4):349-355.
- [22] CUI H N, DING Z, FAN C, et al. Genetic mapping and nucleotide diversity of two powdery mildew resistance loci in melon (*Cucumis melo*) [J]. Phytopathology, 2020, 110(12):1970-1979.
- [23] YUSTE-LISBONA F J, CAPEL C, SARRIA E, et al. Genetic linkage map of melon (*Cucumis melo* L.) and localization of a major QTL for powdery mildew resistance[J]. Molecular Breeding, 2011, 27:181-192.
- [24] WANG X L, LI G, GAO X W, et al. Powdery mildew resistance gene (*Pm-AN*) located in a segregation distortion region of melon LGV[J]. Euphytica, 2011, 180:421-428.
- [25] CUI H, FAN C, DING Z, et al. *CmPMR1* and *CmPMrs* are responsible for resistance to powdery mildew caused by *Podosphaera xanthii* race 1 in melon[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2022, DOI:10.1007/s00122-021-04025-4.
- [26] LI B, ZHAO Y L, ZHU Q L, et al. Mapping of powdery mildew resistance genes in melon (*Cucumis melo* L.) by bulked segregant analysis[J]. Scientia Horticulturae, 2017, 220:160-167.
- [27] BROTMAN Y, NORMANTOVICH M, GOLDENBERG Z, et al. Dual resistance of melon to *Fusarium oxysporum* races 0 and 2 and to papaya ring-spot virus is controlled by a pair of head-to-head-oriented NB-LRR genes of unusual architecture[J]. Molecular Plant, 2013, 6(1):235-238.
- [28] JOOBEUR T, KING J J, NOLIN S J, et al. The *Fusarium* wilt resistance locus *Fom-2* of melon contains a single resistance gene with complex features[J]. The Plant Journal, 2004, 39(3):283-297.
- [29] TOPOREK S M, BRANHAM S E, KATAWCZIK M L, et al. QTL mapping of resistance to *Pseudoperonospora cubensis* clade 1, mating type A2, in *Cucumis melo*[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2021, 134(8):2577-2586.
- [30] WANG P Y, XU X J, ZHAO G W, et al. Genetic mapping and candidate gene analysis for melon resistance to *Phytophthora capsici*[J]. Scientific Reports, 2020, 10(1):20456.
- [31] PALOMARES-RIUS F J, VIRUEL M A, YUSTE-LISBONA F J, et al. Simple sequence repeat markers linked to QTL for resis-

- tance to *Watermelon mosaic virus* in melon[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2011, 123(7):1207-1214.
- [32] GINER A, PASCUAL L, BOURGEOIS M, et al. A mutation in the melon Vacuolar Protein Sorting 41 prevents systemic infection of cucumber mosaic virus[J]. Scientific Reports, 2017, 7(1):10471.
- [33] PÉREZ-DE-CASTRO A, LÓPEZ-MARTÍN M, ESTERAS C, et al. Melon genome regions associated with TGR-1551-derived resistance to *Cucurbit yellow stunting disorder virus*[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(17):5970.
- [34] ISLAM M R, HOSSAIN M R, JESSE D M I, et al. Development of molecular marker linked with bacterial fruit blotch resistance in melon (*Cucumis melo* L.) [J]. Genes (Basec), 2020, 11(2):220.
- [35] BOUALEM A, FERGANY M, FERNANDEZ R, et al. A conserved mutation in an ethylene biosynthesis enzyme leads to andromonoecy in melons[J]. Science, 2008, 321(5890):836-838.
- [36] MARTIN A, TROADEC C, BOUALEM A, et al. A transposon-induced epigenetic change leads to sex determination in melon[J]. Nature, 2009, 461(7267):1135-1138.
- [37] SINGH M, SHARMA S P, SARAO N K, et al. Molecular mapping of nuclear male-sterility gene *ms-1* in muskmelon (*Cucumis melo* L.) [J]. Journal of Pomology & Horticultural Science, 2020, 95(2):162-168.
- [38] QIAO A, FANG X, LIU S, et al. QTL-seq identifies major quantitative trait loci of stigma color in melon[J]. Horticultural Plant Journal, 2021, 7(4):318-326.
- [39] GALPAZ N, GONDA I, SHEM-TOV D, et al. Deciphering genetic factors that determine melon fruit-quality traits using RNA-Seq-based high-resolution QTL and eQTL mapping[J]. The Plant Journal, 2018, 94(1):169-191.
- [40] LV J, FU Q, LAI Y, et al. Inheritance and gene mapping of spotted to non-spotted trait gene *CmSp-1* in melon (*Cucumis melo* L. var. *chinensis* Pangalo) [J]. Molecular Breeding, 2018, 38:105.
- [41] LIU L, SUN T, LIU X, et al. Genetic analysis and mapping of a striped rind gene (*st3*) in melon (*Cucumis melo* L.) [J]. Euphytica, 2019, 215:20.
- [42] OREN E, TZURI G, VEXLER L, et al. The multi-allelic *APRR2* gene is associated with fruit pigment accumulation in melon and watermelon[J]. Journal of Experimental Botany, 2019, 70(15):3781-3794.
- [43] GUR A, TZURI G, MEIR A, et al. Genome-wide linkage-disequilibrium mapping to the candidate gene level in melon (*Cucumis melo*) [J]. Scientific Reports, 2017, 7:9770.
- [44] TZURI G, ZHOU X, CHAYUT N, et al. A "golden" SNP in *CmOr* governs the fruit flesh color of melon (*Cucumis melo*) [J]. The Plant Journal, 2015, 82(2):267-279.
- [45] WU S, ZHANG B, KEYHANINEJAD N, et al. A common genetic mechanism underlies morphological diversity in fruits and other plant organs[J]. Nature Communications, 2018, 9(1):4734.
- [46] MARTÍNEZ-MARTÍNEZ C, GONZALO M J, SIPOWICZET P, et al. A cryptic variation in a member of the Ovate Family Proteins is underlying the melon fruit shape QTL *fsqs8.1* [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2021, 135(3):785-801.
- [47] MA J, LI C, ZONG M, et al. *CmFSI8/CmOFP13* gene encoding an OFP family protein controls fruit shape in melon (*Cucumis melo* L.) [J]. Journal of Experimental Botany, 2022, 73(5):1370-1384.
- [48] COHEN S, ITKIN M, YESELSON Y, et al. The *PH* gene determines fruit acidity and contributes to the evolution of sweet melons[J]. Nature Communications, 2014, 5:4026.
- [49] LIU S, GAO P, ZHU Q, et al. Resequencing of 297 melon accessions reveals the genomic history of improvement and loci related to fruit traits in melon[J]. Plant Biotechnology Journal, 2020, 18(12):2545-2558.
- [50] ARGYRIS J M, DÍAZ A, RUGGIERI V, et al. QTL analyses in multiple populations employed for the fine mapping and identification of candidate genes at a locus affecting sugar accumulation in melon (*Cucumis melo* L.) [J]. Frontiers in Plant Science, 2017, 8:1679.
- [51] 马建, 李丛丛, 黄亚婷, 等. 甜瓜种皮颜色控制基因 *CmSC1* 的精细定位及候选基因分析[J]. 中国农业科学, 2021, 54(10):2167-2178.
- [52] HU Z C, SHI X Y, CHEN X M, et al. Fine-mapping and identification of a candidate gene controlling seed coat color in melon (*Cucumis melo* L. var. *chinensis* Pangalo) [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2021, 135(3):803-815.
- [53] 高兴旺, 王贤磊, 宁雪飞, 等. 甜瓜掌状裂叶基因 *pll* 的精细定位[J]. 北方园艺, 2015(6):98-102.
- [54] ZHANG T, LIU J, LIU S, et al. Bulk-segregant analysis identified a putative region related to short internode length in melon[J]. HortScience, 2019, 54(8):1293-1298.
- [55] MIZUNO S, SONODA M, TAMURA Y, et al. Chiba Tendril-Less locus determines tendril organ identity in melon (*Cucumis melo* L.) and potentially encodes a tendril-specific TCP homolog[J]. Journal of Plant Research, 2015, 128(6):941-951.
- [56] CUI H, DING Z, ZHU Z, et al. Identification of major-effect QTL *CmFpl3.1* controlling fruit pedicel length in melon (*Cucumis melo* L.) [J]. Scientia Horticulturae, 2022, 293:110717.
- [57] SUANN M, BOGEMA D R, CHEN Y, et al. A TaqMan qPCR method for detecting *kdr* resistance in *Aphis gossypii* demonstrates improved sensitivity compared to conventional PCR-RFLP[J]. Journal of Pest Science, 2015, 88:785-791.
- [58] 朱凌丽, 徐建, 姚协丰, 等. 厚皮甜瓜种质蔓枯病抗性评价与遗传多样性分析[J]. 江苏农业学报, 2021, 37(2):454-464.
- [59] OPHIR R, ESHED R, HAREL-BEJA R, et al. High-throughput marker discovery in melon using a self-designed oligo microarray[J]. BMC Genomics, 2010, 11:269.
- [60] GAO P, MA H Y, LUAN F S, et al. DNA fingerprinting of Chinese melon provides evidentiary support of seed quality

- appraisal[J]. *PLoS One*, 2012, 7(12): e52431.
- [61] 温常龙, 张建, 杨静静, 等. 一种鉴定甜瓜品种真实性的方法及其专用 SNP 引物组合: 201910079722.3 [P]. 2019-04-23.
- [62] GONSALVES C, XUE B, YEPES M, et al. Transferring cucurbit mosaic virus- white leaf strain coat protein gene into *Cucumis melo* L. and evaluating transgenic plants for protection against infections[J]. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 1994, 119(2): 345- 355.
- [63] AYUB R, GUIB M, AMOR M B, et al. Expression of ACC oxidase antisense gene inhibits ripening of cantaloupe melon fruits [J]. *Nature Biotechnology*, 1996, 14(7): 862-866.
- [64] BORDAS M, MONTESINOS C, DABAUZA M, et al. Transfer of the yeast salt tolerance gene *HAL1* to *Cucumis melo* L. cultivars and in vitro evaluation of salt tolerance[J]. *Transgenic Research*, 1997, 6(1): 41- 50.
- [65] 孙严, 李仁敬, 许健, 等. 新疆甜瓜抗黄瓜花叶病毒转基因植株的获得[J]. *新疆农业科学*, 1994(1): 34-35.
- [66] BEZIRGANOGLU I, HWANG S, SHAW J, et al. Efficient production of transgenic melon via *Agrobacterium*- mediated transformation[J]. *Genetics and Molecular Research*, 2014, 13(2): 3218-3227.
- [67] ZHANG H, LUAN F. Overexpression of the *CmACS-3* gene in melon causes abnormal pollen development[J]. *Genetics and Molecular Research*, 2015, 14(3): 10433-10443.
- [68] 应奇才, 徐祥彬, 薛大伟, 等. 转 *WMV-2CP* 基因甜瓜饲喂小鼠的安全性研究[J]. *杭州师范大学学报(自然科学版)*, 2011, 10(5): 422-428.
- [69] 王学征, 商丽敏, 刘宏宇, 等. 双价抗真菌基因对甜瓜的遗传转化[J]. *东北农业大学学报*, 2013, 44(10): 61-66.
- [70] HAO J, NIU Y, YANG B, et al. Transformation of a marker-free and vector-free antisense ACC oxidase gene cassette into melon via the pollen-tube pathway[J]. *Biotechnology Letters*, 2011, 33(1): 55-61.
- [71] 张春秋, 李斯贝, 胡紫玉, 等. 不同类型甜瓜高效再生体系的建立[J]. *中国瓜菜*, 2022, 35(1): 32-36.
- [72] 王雪, 李冠. CRISPR-Cas9 系统敲除甜瓜 ACC 合成酶基因表达载体的构建[J]. *北方园艺*, 2017(12): 114-118.
- [73] 王丹, 王旭辉, 高兴旺, 等. CRISPR/Cas9 技术编辑新疆甜瓜全缘叶基因[J]. *新疆农业科学*, 2018, 55(2): 238-245.
- [74] MORENO V, ZUBELDIA L, ROIG L A. A method for obtaining callus cultures from mesophyll protoplast of melon (*Cucumis melo* L.) [J]. *Plant Science Letters*, 1984, 34(1/2): 195-201.
- [75] 孙勇如, 李向辉, 孙宝林, 等. 新疆甜瓜子叶原生质体的培养和植株再生[J]. *植物学报*, 1989, 31(12): 916-922.
- [76] 林伯年. 甜瓜、西瓜原生质体电融合及其杂种分子生物学鉴别[J]. *园艺学报*, 1994, 21(3): 302-304.
- [77] 李仁敬, 孙言, 孟庆玉, 等. 新疆甜瓜、西瓜原生质体融合及融合愈伤的获得[J]. *新疆农业科学*, 1994(3): 101-104.
- [78] SAUTON A, VAULX R D. Obtention de plantes haploïdes chez le melon (*Cucumis melo* L.) par gynogénèse induite par du pollen irradié[J]. *Agronomie*, 1987, 7(2): 141-148.
- [79] GONZALO M J, CLAVERIA E, MONFORTE A J, et al. Parthenogenic haploids in melon: generation and molecular characterization of a doubled haploid line population[J]. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 2011, 136(2): 145-154.
- [80] HOOGHVORST I, TORRICO O, HOOGHVORST S, et al. In situ parthenogenetic doubled haploid production in melon "Piel de Sapo" for breeding purposes[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2020, 11: 378.
- [81] 高宁宁, 李晓慧, 康利允, 等. 单倍体甜瓜染色体加倍技术研究[J]. *中国瓜菜*, 2021, 34(6): 28-32.
- [82] 金荣荣, 陈柏杰, 汪磊, 等. 三倍体薄皮甜瓜新品种哈甜 3 号的选育[J]. *中国蔬菜*, 2011(20): 95-97.