

DOI: 10.16861/j.cnki.zggc.2024.0467

利用寡核苷酸探针鉴定西瓜染色体易位系及染色体易位系的应用

徐兵划¹, 赵勤政², 顾妍¹, 黄大跃¹, 程瑞¹,
刘欣¹, 张朝阳¹, 许文钊¹, 孙玉东¹

(1. 江苏徐淮地区淮阴农业科学研究所 江苏淮安 223001; 2. 南京农业大学园艺学院·
作物遗传与种质创新国家重点实验室 南京 210095)

摘要: 易位是一种常见的染色体变异类型, 为了进一步研究西瓜染色体易位, 方便染色体易位系的鉴定, 基于 G42 西瓜基因组开发出了一套共计 20 350 个寡核苷酸探针, 在 11 条染色体上每 kb 区间的平均密度为 0.42~2.86 个 oligos。以西瓜染色体易位自交系 G59 为试验材料, 利用该套探针鉴定出 G59 的 Chr 6 和 Chr10 染色体部分片段发生交换易位。通过观察花粉及调查单瓜种子数量, 发现 G59 花粉形态正常, 不育花粉占比 4.28%, 单瓜种子数量 212.33 粒, 与普通西瓜自交系 G33、G37、G42 无显著差异。而 G59 与 G33、G37、G42 配制的易位杂交组合圣嘉 1 号、苏梦 15、苏梦 17 不育或畸形花粉占比分别为 54.17%、46.52%、43.66%, 极显著高于双亲, 单瓜种子数量 65~81 粒, 极显著少于双亲和苏梦 5 号等正常杂交种。本研究开发的寡核苷酸探针可用于西瓜染色体易位系的鉴定, 创制的染色体易位自交系 G59 为西瓜染色体易位系的利用及易位少籽西瓜品种的选育奠定了基础。

关键词: 西瓜; 染色体易位; 寡核苷酸探针; 易位少籽杂交组合

中图分类号: S651

文献标志码: A

文章编号: 1673-2871(2025)03-037-08

Identification of watermelon chromosome translocation lines using oligonucleotide probes and their application

XU Binghua¹, ZHAO Qinzheng², GU Yan¹, HUANG Dayue¹, CHENG Rui¹, LIU Xin¹, ZHANG Chaoyang¹, XU Wenzhao¹, SUN Yudong¹

(1. Huaiyin Institute of Agricultural Sciences of Xuhuai Region in Jiangsu, Huai'an 223001, Jiangsu, China; 2. College of Horticulture, Nanjing Agricultural University/State Key Laboratory of Crop Genetics and Germplasm Enhancement, Nanjing 210095, Jiangsu, China)

Abstract: In order to further study the chromosomal translocation lines of watermelon, and facilitate the identification. G59 which was a watermelon chromosome translocation line obtained by using independent selection was used as the test material in this study. A total of 20 350 oligonucleotide probes were developed based on the G42 watermelon genome, with an average density of 0.42-2.86 oligos/kb on 11 chromosomes. This set of probes were used to identify the chromosome translocation of G59. The non-denaturing in situ hybridization (ND-FISH) results showed that there was an exchange translocation of chromosomes 6 and 10. The pollen morphology by Alexander's staining solution under microscope was observed and the number of seeds in single watermelon was investigated. The pollen of G59 was normal morphology, and the percentage of sterile pollen was about 4.28%, and the number of seeds in single watermelon was about 212.33. There was no significant difference between G59 and common self-inbreeding lines G33, G37 and G42. The percentage of sterile or deformed pollen in the hybrid combinations Shengjia No. 1, Sumeng No. 15, Sumeng No. 17 were 54.17%, 46.52%, and 43.66%, respectively, which were extremely significantly higher than both parents. The number of single fruit seeds of Shengjia No. 1, Sumeng No. 15, Sumeng No. 17 was about 65-80, extremely significantly less than that of both parents and normal hybrid generation varieties such as Sumeng 5. The oligonucleotide probe developed in

收稿日期: 2024-07-30; 修回日期: 2024-12-15

基金项目: 淮安市农科院科研发展基金项目(HNY202001); 江苏省种业振兴“揭榜挂帅”项目(JBGS(2021)072); 国家西瓜产业技术体系(CARS-25-2024-Z17)

作者简介: 徐兵划, 女, 助理研究员, 主要从事西瓜甜瓜育种及栽培技术研究。E-mail: 2014469994@qq.com

通信作者: 孙玉东, 男, 研究员, 研究方向为蔬菜育种。E-mail: 751665242@qq.com

this study can be used for the identification of chromosomal translocation lines in watermelon, and the chromosomal translocation inbred line G59 can be used for the breeding of translocated watermelon varieties with few seeds.

Key words: Watermelon; Chromosome translocation line; Oligonucleotide probe; Translocation hybridization cultivar

西瓜(*Citrullus lanatus*)属葫芦科西瓜属一年生蔓生藤本植物,是夏季水果之王,风味独特,营养丰富,深受消费者喜爱。随着人们生活水平的提高,消费者对西瓜的关注不仅是品质、外观等,对果实内种子的多少也逐渐关注,尤其上海、广州等地区喜欢吃无籽或少籽西瓜,少籽或无籽逐渐成为优质西瓜的一个重要指标^[1]。

目前市场上多为植物生长调节剂产生的少籽或三倍体无籽西瓜,然而植物生长调节剂少籽(无籽)西瓜存在食品安全争议,三倍体无籽西瓜生产中因种子发芽率低、成苗率低及坐果率低等“三低”问题^[2-3],生产成本高,大面积推广种植具有一定的局限性。前人研究表明,利用染色体易位系配制的二倍体杂种一代种子少,且少籽性状稳定^[4],栽培管理同普通二倍体西瓜,不存在种子发芽率低、成苗率低、种子生产成本高等问题^[5],可实现大面积的推广应用。朝井小太郎等^[6]利用 $\text{Co}^{60}\gamma$ 射线辐照干种子,通过观察花粉育性及染色体鉴定筛选出系列染色体易位系。王鸣等^[7]利用 $\text{Co}^{60}\gamma$ 射线对旭大和干种子多次照射,育出了一批杂合易位少籽西瓜品系,其种子较普通二倍体减少50%~80%,种子数量最少的单瓜中仅含十余粒种子。

笔者利用自主选育的骨干自交系G38与易位少籽品种津花4号杂交,转育获得了纯合的染色体易位自交系G59。鉴于G59的染色体易位发生方式尚未解析,笔者首次开发了一套寡核苷酸探针,利用该探针准确鉴定G59染色体易位发生的数量及位置,为西瓜染色体易位系的鉴定和易位少籽西瓜育种提供了新的思路。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

利用江苏徐淮地区淮阴农业科学研究所设施蔬菜创新团队前期从天津市蔬菜研究所引进的易位少籽品种津花4号,与自有西瓜骨干自交系G38杂交,观察 F_1 代花粉为半败育,后代自交选育7代,获得了纯合易位自交系G59。2022年以G59为父本,与江苏徐淮地区淮阴农业科学研究所选育的常规育种自交系G33、G42、G37杂交,配制易位杂交组合圣嘉1号(G42×G59)、苏梦15(G33×G59)、苏梦17(G37×G59)。以自交系G33、G42、G37及常规

杂交品种苏梦5号、苏梦6号、苏梦7号作为对照,观察花粉及果实性状等。各试验材料特征特性及来源详见表1。

试验材料G59、G33、G42、G37、圣嘉1号、苏梦15、苏梦17、苏梦5号、苏梦6号、苏梦7号于2024年3—6月种植在江苏省淮安市清江浦区淮安市农科院科研创新基地,2024年3月1日播种,72孔穴盘育苗,4月7日定植,株行距40 cm×100 cm,每小区定植20株,3次重复,完全随机区组排列,单蔓整枝,第2~3雌花人工授粉,留1果。

1.2 方法

1.2.1 基于西瓜基因组的寡核苷酸探针的开发
2023年6月参考Bi等^[8]开发Oligo-painting探针,首先利用RepeatMasker软件屏蔽西瓜基因组G42版本中的重复序列,利用Chorus2软件以长度47 nt和步移10 nt为参数进行oligo的筛选,将每个oligo再比对到基因组参考序列,去除相似性>75%及锚定多个位置的重复oligos,最终获得单拷贝特异的oligos池。为验证易位染色体,在每个西瓜染色体长臂和短臂的近端粒区域筛选oligos,共计选择了20 350个寡核苷酸。为区分染色体特异的oligo池,在每个oligo两翼添加染色体特异的扩增引物序列W1~W22,总文库由南京金斯瑞生物科技有限公司合成。

Oligo探针合成参考Bi等^[8]和Zhao等^[9]的方法,以总文库为模板,使用TAMRA或FAM修饰的W1~W22引物进行常规PCR扩增,50 μL PCR混合液为:25 μL HiFi HotStart ReadyMix(KAPA, Kit Code, KK2601)、1 μL TAMRA或FAM标记的W正向引物、1 μL TAMRA或FAM标记的W反向引物、0.4 ng文库模板、补足ddH₂O。PCR程序与Bi等^[8]的描述一致。PCR产物经GeneJET PCR Purification Kit(Thermo Scientific, Kit Code, K0702)纯化后,可得到每条染色体特异的ds-oligos探针。

1.2.2 根尖有丝分裂中期染色体制片 参照Lou^[10]的方法,2023年9月进行根尖有丝分裂中期染色体制片。将G59种子在50℃温水中浸泡20 min后置于垫有湿润滤纸的培养皿中,28~30℃恒温培养箱中催芽,待根尖长至1~2 cm时取根,将根尖置于2 mmol·L⁻¹的8-羟基喹啉中,15~20℃暗处理90 min,然后用蒸馏水清洗3次,再静置5 min,使染

表1 试验材料特征特性及来源

Table 1 Characteristics and source of experimental materials

材料名称 Material name	类型 Type	来源 Source
津花4号 Jinhua No. 4	中大果型西瓜,染色体易位杂交品种 Medium-large fruited watermelon, chromosomal translocation hybrid cultivar	天津市蔬菜研究所 Tianjin Vegetable Research Institute
G59	小果型西瓜,易位纯合自交系 Small-fruited watermelon, homozygous inbred line of chromosome translocation	江苏徐淮地区淮阴农业科学研究所 Huaiyin Institute of Agricultural Sciences of Xuhuai Region in Jiangsu
G38	小果型西瓜,纯合自交系 Small-fruited watermelon, homozygous inbred line	江苏徐淮地区淮阴农业科学研究所 Huaiyin Institute of Agricultural Sciences of Xuhuai Region in Jiangsu
G33	小果型西瓜,纯合自交系 Small-fruited watermelon, homozygous inbred line	江苏徐淮地区淮阴农业科学研究所 Huaiyin Institute of Agricultural Sciences of Xuhuai Region in Jiangsu
G42	小果型西瓜,纯合自交系 Small-fruited watermelon, homozygous inbred line	江苏徐淮地区淮阴农业科学研究所 Huaiyin Institute of Agricultural Sciences of Xuhuai Region in Jiangsu
G37	小果型西瓜,纯合自交系 Small-fruited watermelon, homozygous inbred line	江苏徐淮地区淮阴农业科学研究所 Huaiyin Institute of Agricultural Sciences of Xuhuai Region in Jiangsu
圣嘉1号 Shengjia No. 1	小果型西瓜,染色体易位杂交种 Small-fruited watermelon, chromosomal translocation hybrid cultivar	江苏徐淮地区淮阴农业科学研究所 Huaiyin Institute of Agricultural Sciences of Xuhuai Region in Jiangsu
苏梦15 Sumeng No. 15	小果型西瓜,染色体易位杂交种 Small-fruited watermelon, chromosomal translocation hybrid cultivar	江苏徐淮地区淮阴农业科学研究所 Huaiyin Institute of Agricultural Sciences of Xuhuai Region in Jiangsu
苏梦17 Sumeng No. 17	小果型西瓜,染色体易位杂交种 Small-fruited watermelon, chromosomal translocation hybrid cultivar	江苏徐淮地区淮阴农业科学研究所 Huaiyin Institute of Agricultural Sciences of Xuhuai Region in Jiangsu
苏梦5号 Sumeng No. 5	小果型西瓜,杂交品种 Small-fruited watermelon, hybrid cultivar	江苏徐淮地区淮阴农业科学研究所 Huaiyin Institute of Agricultural Sciences of Xuhuai Region in Jiangsu
苏梦6号 Sumeng No. 6	小果型西瓜,杂交品种 Small-fruited watermelon, hybrid cultivar	江苏徐淮地区淮阴农业科学研究所 Huaiyin Institute of Agricultural Sciences of Xuhuai Region in Jiangsu
苏梦7号 Sumeng No. 7	小果型西瓜,杂交品种 Small-fruited watermelon, hybrid cultivar	江苏徐淮地区淮阴农业科学研究所 Huaiyin Institute of Agricultural Sciences of Xuhuai Region in Jiangsu

染色体分散,使用改良版卡诺固定液(甲醇、冰醋酸体积比=3:1)在4℃固定24h待用。切取根尖前部分生区,用蒸馏水洗涤3~4次除去固定液,然后置于1.5mL离心管中,加入酶混合液,将其放入金属浴中37℃酶解40~60min,其间注意观察酶解状态,避免酶解不足或过分酶解,酶解结束后倒掉酶解液并加入蒸馏水,使其细胞涨破释放染色体,5~10min后加入固定液保存待用,使用火焰干燥法进行染色体制片,利用显微镜观察并筛选染色体分裂相良好的片子,保存备用。

1.2.3 根尖有丝分裂中期的ND-FISH鉴定 原位杂交程序参照赵勤政^[1]描述的方法:DFA 10 μL、2×SSC 2 μL、oligo 探针 2 μL、10%硫酸葡聚糖 4 μL,混合均匀后置于金属浴90℃变性6min,然后置于4℃冷却;将预备好的载玻片用70%去离子甲酰胺覆盖,并于80℃杂交中变性90s,依次放入70%、90%、100%乙醇中梯度脱水各5min,晾干后

的载玻片滴加杂交混合液,盖上盖玻片,在37℃杂交中过夜处理。第2天取出载玻片,在蒸馏水中浸泡直至盖玻片脱落;在黑暗条件下放入2×SSC洗脱液中,摇晃脱色洗涤5min,转入42~44℃的2×SSC洗脱液中继续摇晃洗涤10min,再转入常温2×SSC洗脱液中摇晃洗涤5min,最后用蒸馏水清洗3min,置于70%、90%、100%乙醇中进行梯度脱水各5min,晾干后滴加15 μL的DAPI溶液复染封片,通过Olympus BX51荧光显微镜观察并拍照。

1.2.4 花粉活力观察 在开花期,于上午09:00左右采集G59、G33、G42、G37、圣嘉1号、苏梦15、苏梦17当天开放的雄花,利用Alexander染色法检测花粉育性,用小毛笔分别扫下每份材料的花粉于载玻片上,滴1滴Alexander染色液,混合均匀,盖上载玻片,染色5~10min,吸去多余液体,在显微镜(徕卡DM500)下观察并拍照,可育花粉为红色,不育花粉为绿色,统计每个视野可育及不育花粉数

量,每朵花统计3个视野,计算不育花粉粒的百分比,每个小区调查3朵花。不育花粉占比/%=不育花粉数量/总花粉数量×100。

1.2.5 性状及种子数量调查 2024年6月20日采收成熟的西瓜,调查易位系G59,常规自交系G33、G42、G37,易位杂交组合圣嘉1号、苏梦15、苏梦17,常规杂交种苏梦5号、苏梦6号、苏梦7号的单果质量、中心可溶性固形物含量、单瓜种子数量。采用手持糖度计(日本ATAGO, MASTER-20M)测量中心可溶性固形物含量,采用电子秤(中国凯丰)称取单瓜质量,取出瓜中种子,计算平均单瓜种子数,每个小区调查3个商品瓜。

1.3 数据分析

采用Excel 2007进行数据统计与分析,采用Duncan's法检验处理间的差异显著性。

2 结果与分析

2.1 西瓜寡核苷酸探针的开发及G59的oligo-FISH

为验证G59的核型变异,使用G42参考基因组开发了oligo-FISH探针池,从每条染色体的短臂和

长臂近端粒区域筛选了2个各包含925个oligos的区域,总计有11条染色体获得了20350个oligos,平均密度为0.42~2.86个·kb⁻¹(表2)。

分别利用TAMRA(红色)或FAM(绿色)荧光基团标记11条西瓜染色体探针。首先,将Chr1-Chr2组合的探针池杂交到G59中期染色体上,如图1-a,每个探针都产生明亮FISH信号,且位于每条染色体的短臂和长臂末端。因此,将Chr3-Chr4、Chr5-Chr6、Chr7-Chr8、Chr9-Chr10、Chr11探针池分别杂交到对应的染色体上,每个探针池都产生非常明亮的信号,表明核型染色体数目均为2n=22,利用该套探针池可以快速鉴定单个的西瓜染色体。在图1-c和1-e中,观察到Chr6和Chr10的4个信号中有2个定位在其他染色体末端,表明chr6和chr10染色体部分片段发生了易位。因此,进一步将Chr6探针标记为红色,Chr10探针标记为绿色,将Chr6(红色)与Chr10(绿色)探针杂交到同一细胞染色体上,图1-g中观察到Chr6和Chr10的探针信号定位在同一条染色体上的短臂和长臂区域,表明这条重排的染色体由Chr6和Chr10染色体相互易位形成。

表2 寡核苷酸探针序列
Table 2 Oligonucleotide probe sequence

寡核苷酸探针编号 Oligonucleotide probe number	Oligo 物理位置 Oligo physical location(5'-3')/bp	Oligo 密度 Oligo density/(No.·kb ⁻¹)	染色体特异的扩增引物序列 Chromosome-specific amplification primer sequences
Chr1-1	30 520~354 182	2.86	W1+W2
Chr1-2	36 000 127~36 486 739	1.90	W1+W2
Chr2-1	501 107~1 242 384	1.25	W3+W4
Chr2-2	37 000 085~37 558 830	1.66	W3+W4
Chr3-1	503 345~1 125 729	1.49	W5+W6
Chr3-2	30 784 338~31 444 347	1.40	W5+W6
Chr4-1	28 135~2 204 971	0.42	W7+W8
Chr4-2	26 302 733~26 837 562	1.73	W7+W8
Chr5-1	32 625~590 967	1.66	W9+W10
Chr5-2	35 051 102~35 566 453	1.79	W9+W10
Chr6-1	113 021~700 332	1.57	W11+W12
Chr6-2	28 766 899~29 274 372	1.82	W11+W12
Chr7-1	151 633~707 164	1.67	W13+W14
Chr7-2	31 042 064~31 620 898	1.60	W13+W14
Chr8-1	161 546~1 330 410	0.79	W15+W16
Chr8-2	27 481 254~27 994 189	1.80	W15+W16
Chr9-1	40 832~567 655	1.76	W17+W18
Chr9-2	36 939 592~37 481 594	1.71	W17+W18
Chr10-1	176 166~741 973	1.63	W19+W20
Chr10-2	34 458 252~34 960 156	1.84	W19+W20
Chr11-1	150 891~774 567	1.48	W21+W22
Chr11-2	30 000 329~30 580 117	1.60	W21+W22

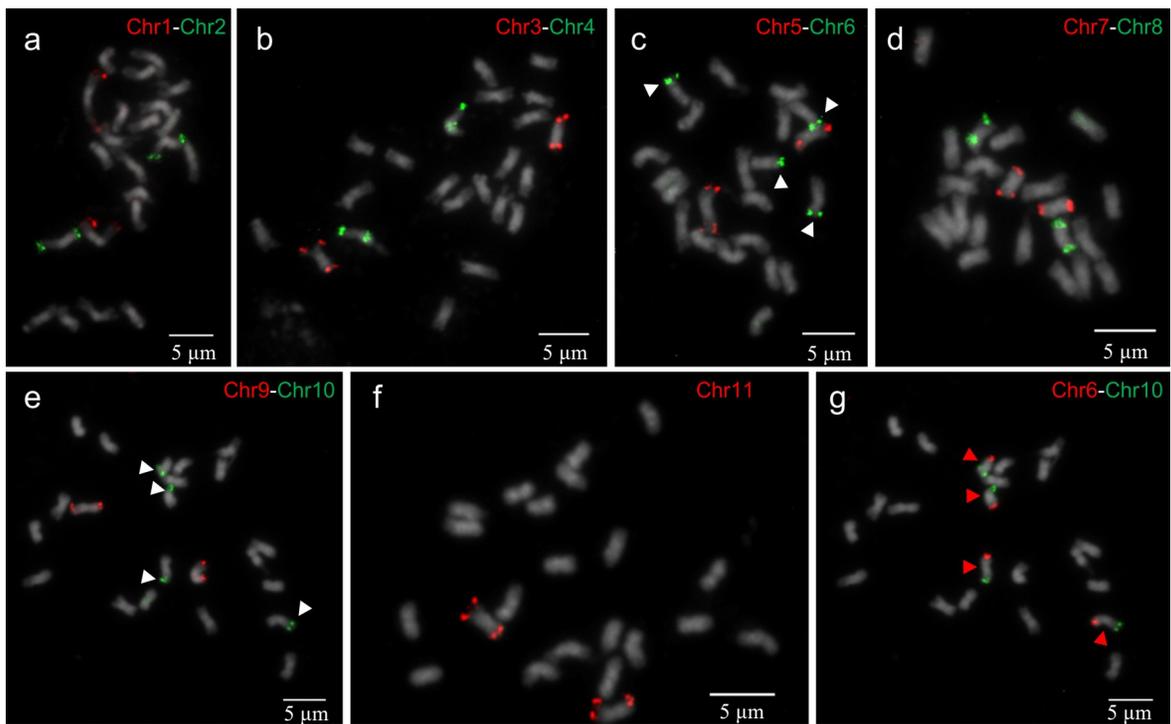


图1 G59根尖有丝分裂中期染色体ND-FISH分析

Fig. 1 ND-FISH analysis of G59 chromosomes in apical mitotic metaphase

2.2 花粉活力测定结果

纯合易位自交系 G59(图 2-a)不育花粉粒/总花粉粒为 4.28%,普通西瓜自交系 G33(图 2-b)、G37(图 2-c)、G42(图 2-d)不育花粉粒/总花粉粒分别为 5.41%、2.71%、5.61%(表 3),易位纯合自交系 G59 与普通自交系不育花粉占比差异不显著;而易位杂交组合苏梦 15(图 3-a)、圣嘉 1 号(图 3-b)、苏梦 17(图 3-c)的不育花粉粒/总花粉粒分别为 46.52%、54.17%、43.66%,均极显著大于双亲(表 3)。

2.3 果实性状及单瓜种子数量

如表 4 所示,G59 平均单瓜种子数量为 212.33 粒,与常规自交系 G33(192.33 粒)、G42(190.33 粒)、G37(186.00 粒)无显著差异。常规杂交品种苏梦 5 号平均单瓜种子数量为 187.33 粒,苏梦 6 号为 163.67 粒,苏梦 7 号为 173.00 粒,与易位自交系 G59 和常规自交系 G33、G37、G42 单瓜种子数量也无显著差异。而易位杂交组合苏梦 15 平均单瓜种子数量为 72.33 粒,是母本 G33 单瓜种子数量的 37.61%,是父本 G59 单瓜种子数量的 34.06%,是对照苏梦 5 号单瓜种子数量的 38.61%;圣嘉 1 号平均单瓜种子数量为 65.67 粒,是母本 G42 单瓜种子数量的 34.50%,是父本 G59 的 30.93%,是对照苏梦 6 号的 40.12%;苏梦 17 平均单瓜种子数量为 80.33 粒,是母本 G37 的 43.19%,是父本 G59 的 37.83%,

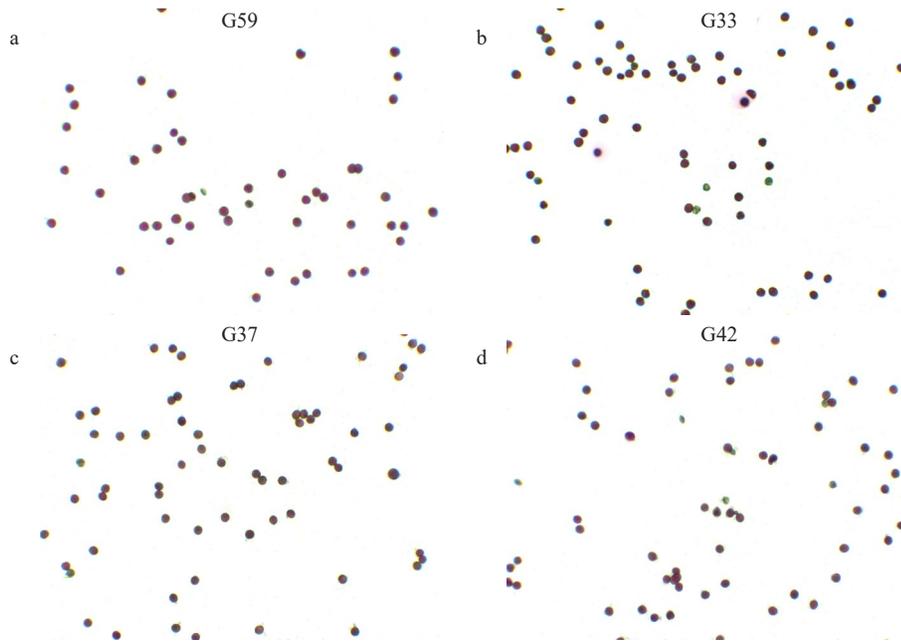
是对照苏梦 7 号的 46.43%,均极显著低于其亲本与对照。

3 个易位杂交组合圣嘉 1 号、苏梦 15、苏梦 17 的中心可溶性固形物含量均在 12%以上,与其他试验材料均无显著差异。其中苏梦 15 的中心可溶性固形物含量为 13.20%,较 G33 和 G59 分别提高 0.69 和 0.37 百分点,较其对照苏梦 5 号提高 0.33 百分点;圣嘉 1 号的中心可溶性固形物含量为 12.91,较 G42 和 G59 分别提高 0.16 和 0.08 百分点,较对照苏梦 6 号降低 0.54 百分点;苏梦 17 的中心可溶性固形物含量较 G37 和 G59 分别降低 0.07 和 0.21 百分点,比对照苏梦 7 号降低 0.14 百分点。苏梦 15、圣嘉 1 号、苏梦 17 平均单果质量分别为 2.47、2.27、2.45 kg,分别与对照苏梦 5 号、苏梦 6 号、苏梦 7 号等西瓜品种差异不显著。

3 讨论与结论

3.1 荧光原位杂交技术用于西瓜易位系辅助育种选择

Oligo-FISH 是以人工合成携带荧光基团的单链 DNA 或 RNA 序列为探针的荧光原位杂交技术,是染色体可视化重要技术之一^[12]。基于 Oligo-FISH 的寡核苷酸序列探针进行物理定位,可以揭示染色质在细胞核、细胞质乃至组织结构中的位



注:红色为可育花粉,绿色为不育或畸形花粉。下同。

Note: The red pollen is fertile, and the green is sterile. The same below.

图2 染色体易位自交系 G59 与普通西瓜自交系 G33、G37、G42 的花粉

Fig. 2 Pollen morphology under the microscope of chromosomal translocation inbred line G59 and common watermelon inbred lines G33, G37, G42

表3 花粉数量及败育花粉占比

Table 3 The total number of pollen and proportion of aborted pollen

材料名称 Material name	花粉数量/粒 Total number of pollen/ Grain	可育花粉数量/粒 Number of fertile pollen/ Grain	不育花粉数量/粒 Number of sterile pollen/ Grain	不育花粉占比 Proportion of aborted pollen/%
G59	62.33	59.67	2.67	4.28 Bc
G33	61.67	58.33	3.33	5.41 Bc
G37	73.67	71.67	2.00	2.71 Bc
G42	65.33	61.67	3.67	5.61 Bc
苏梦 15 Sumeng No. 15	91.00	48.67	42.33	46.52 Ab
圣嘉 1 号 Shengjia No. 1	88.00	40.33	47.67	54.17 Aa
苏梦 17 Sumeng No. 17	218.33	123.00	95.33	43.66 Ab

注:不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著,不同大写字母表示在 0.01 水平差异极显著。下同。

Note: Different lowercase letters and capital letters indicate significant difference at $p \leq 0.05$ and $p \leq 0.01$, respectively. The same below.

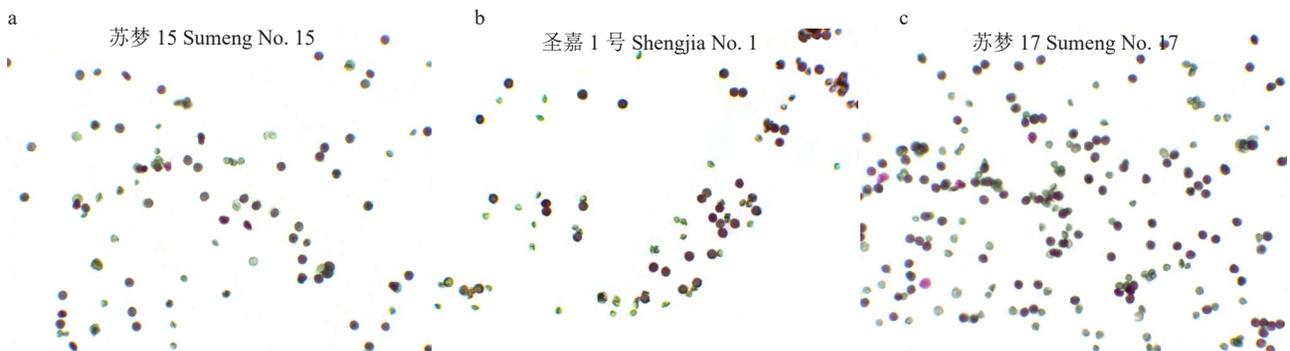


图3 易位杂交组合的花粉

Fig. 3 Pollen morphology under the microscope of chromosomal translocation hybrid cultivars

表4 果实性状及单瓜种子数量

Table 4 Fruit traits and the number of seeds of single watermelon

材料名称 Material name	w(中心可溶性固形物) Center soluble solids content/%	单瓜种子数量/粒 Number of seeds per watermelon/Grain	单瓜质量 Single fruit mass/kg
G59	12.83 Aa	212.33 Aa	2.33 ABCbcd
G33	12.51 Aa	192.33 Aab	2.57 Aa
G37	12.69 Aa	186.00 Aab	2.51 ABab
G42	12.75 Aa	190.33 Aab	1.85 De
苏梦 15 Sumeng No. 15	13.20 Aa	72.33 Bc	2.47 ABCab
圣嘉 1 号 Shengjia No. 1	12.91 Aa	65.67 Bc	2.27 BCcd
苏梦 17 Sumeng No. 17	12.62 Aa	80.33 Bc	2.45 ABCabc
苏梦 5 号 Sumeng No. 5	12.87 Aa	187.33 Aab	2.44 ABCabc
苏梦 6 号 Sumeng No. 6	13.45 Aa	163.67 Aab	2.22 Cd
苏梦 7 号 Sumeng No. 7	12.76 Aa	173.00 Aab	2.52 ABab

置信息^[13]。

在小麦、花生等作物中, Oligo-FISH 已成为鉴定染色体结构变异材料的主要手段。Ma 等^[14]利用 zebularine 诱变和 Oligo-FISH 检测, 获得了大量小麦-黑麦易位、缺失等染色体变异材料。杨漫宇等^[15]利用寡核苷酸探针 Oligo-pSc119.2-1 和 Oligo-pTa535-1 对川麦 62 及其高代品系 16EW381 和 16EW458 进行荧光原位杂交分析, 发现川麦 62 含 5BS·7BS 和 5BL·7BL 易位染色体, 16EW458 是含 6VS·6AL、5BS·7BS 和 5BL·7BL 的三重易位系, 16EW381 是含 6VS·6AL、5BS·7BS、5BL·7BL、3BL·5AS 和 3BL·5AL 的五重易位系。付留洋^[16]利用 Oligo-FISH 新核型分析, 精准鉴定了花生 19 个四粒红易位系、缺失系。杜培^[17]分别开发了小麦、白萨草和花生寡核苷酸探针, 用于分析不同小麦和花生品种染色体多样性, 并鉴定出了系列染色体易位系。

前人对西瓜易位系鉴定多采用观察花粉育性、减数分裂染色体行为等方式, 朝井小次郎等^[18]、张涛等^[19]通过花粉育性初步筛选出易位杂合体, 以花粉 55% 以下的可育率作为易位杂合体的初评指标。Tian 等^[20]、葛杰^[21]通过对减数分裂各个时期染色体行为进行观察, 发现易位杂合体 2018-z-4 在减数分裂双线期出现四体环形结构, 但这些方法均无法明确鉴定出发生易位的染色体。

寡核苷酸荧光原位杂交(Oligo-FISH)是近年来发展的一种经济高效的染色体鉴定方法, 是基于基因组测序序列进行设计的探针^[11]。笔者利用 G42 西瓜基因组设计了一套寡核苷酸探针, 用于西瓜染色体易位系的鉴定。笔者选育的染色体易位系 G59, 通过寡核苷酸探针鉴定为 Chr6 和 Chr10 发生

了交换易位, 且为纯合易位。寡核苷酸探针可准确鉴定出西瓜染色体的易位行为, 为西瓜染色体易位等变异行为的鉴定提供了新的途径。

3.2 西瓜染色体易位的育种应用

对染色体易位系 G59 的花粉进行观察, 发现其花粉不育率为 4.28%, 与常规自交系差异不显著, 与前人的研究结果一致, 纯合的易位自交系不存在花粉半败育的性状^[19], 其单瓜种子数量表现正常, 约 212.33 粒, 与常规自交系一样可作为亲本正常繁殖或用于杂交组合的配制。

利用西瓜染色体易位系进行杂交, 获得的杂交一代单瓜种子数量少至十几粒, 能够克服三倍体无籽西瓜种子发芽率低、成苗率低、制种成本高、种子价格昂贵和育种技术较复杂的缺点。张涛等^[19]研究表明, 易位系杂交 1 与杂交 2 无论单瓜质量、含糖量、种子数均优于对照, 同时保留了对照的优势性状。吴进义等^[22]通过调查多个易位杂交组合也发现易位系杂交 1 代组合多数保留了对照组合(非易位系亲本杂交组合)的杂种优势和优良特征特性, 单瓜籽粒数明显减少, 且果实可溶性固形物含量有不同程度的增加, 提高了其品质和商品价值。刘莉等^[23]研究表明, 2 对染色体相互易位使西瓜花粉败育率达 49%, 单瓜种子数较双亲平均值减少 51%, 单瓜质量增加 5.7%, 中心糖含量提高 1.4 百分点; 而 4 对染色体相互易位的杂合体花粉败育率超过 60%, 单瓜种子数减少 75% 以上, 中心糖和边糖含量分别提高了 0.8 和 1.3 百分点。在本研究中, 对苏梦 15、圣嘉 1 号、苏梦 17 等 3 个易位杂交组合的花粉进行观察, 其不育花粉占比为 43%~55%, 单瓜种子数量为 65~81 粒, 较双亲和对照品种显著减少, 苏梦 15、圣嘉 1 号的中心可溶性固形物含量也较双

亲和对照品种苏梦5号、苏梦7号有所提高,因此配制的3个易位少籽组合苏梦15、圣嘉1号、苏梦17可作为优良的少籽西瓜品种进一步推广应用。

综上所述,笔者基于G42西瓜基因组开发出了一套寡核苷酸探针,通过ND-FISH即可准确鉴定染色体易位行为,为后续西瓜染色体易位系的创制与鉴定提供高效准确的鉴定方法。笔者利用创制的易位自交系G59配制了多个易位少籽杂交组合,单瓜种子数量显著减少,且性状优异,为西瓜少籽品种的选育奠定了基础。

参考文献

- [1] 薛志强,徐道娜,张勇,等.少籽西瓜内源激素含量变化与胚胎败育的关系[J].西北农业学报,2007,16(3):184-187.
- [2] 胡永德.无籽西瓜生产中的“三低”问题及其对策[J].江西园艺,2004(1):27.
- [3] 刘文革.我国无籽西瓜产业发展状况与对策[J].长江蔬菜,2010(8):121-127.
- [4] 李平,郑金焕,张明权,等.我国易位少籽西瓜研究回顾与展望[J].农业科技通讯,2009(5):7-8.
- [5] 肖光辉,肖兰异,罗赫荣,等.主要栽培因子对少籽西瓜产量和品质的影响[J].长江蔬菜,1999(12):26-29.
- [6] 朝井小太郎,吴进义.用染色体易位技术培育少籽西瓜[J].新疆农业科学,1993(5):46.
- [7] 王鸣,张兴平,张显,等.用 γ 射线诱发染色体易位选育少籽西瓜的研究[J].园艺学报,1988,15(2):125-130.
- [8] BI Y F, ZHAO Q Z, YAN W K, et al. Flexible chromosome painting based on multiplex PCR of oligonucleotides and its application for comparative chromosome analyses in *Cucumis*[J]. Plant Journal, 2020, 102(1): 178-186.
- [9] ZHAO Q Z, WANG Y Z, BI Y F, et al. Oligo-painting and GISH reveal meiotic chromosome biases and increased meiotic stability in synthetic allotetraploid *Cucumis*×*hytivus* with dysploid parental karyotypes[J]. BMC Plant Biology, 2019, 19(1):471.
- [10] LOU Q F, ZHANG Y X, HE Y H, et al. Single-copy gene-based chromosome painting in cucumber and its application for chromosome rearrangement analysis in *Cucumis*[J]. Plant Journal, 2014, 78(1):169-179.
- [11] 赵勤政.基于寡核苷酸染色体涂染探究甜瓜属物种的染色体进化[D].南京:南京农业大学,2021.
- [12] MIKS-KRAJNIK M, BABUCHOWSKI A. 16S rRNA-targeted oligonucleotide probes for direct detection of *Propionibacterium freudenreichii* in presence of *Lactococcus lactis* with multicolour fluorescence *in situ* hybridization[J]. Letters in Applied Microbiology, 2014, 59(3):320-327.
- [13] TANG Z X, YANG Z J, FU S L, et al. Oligonucleotides replacing the roles of repetitive sequences pAs1, pSc119.2, pTa-535, pTa71, CCS1, and pAWRC.1 for FISH analysis[J]. Journal of Applied Genetics, 2014, 55(3):313-318.
- [14] MA X H, WANG Q, WANG Y Z, et al. Chromosome aberrations induced by zebularine in triticale[J]. Genome, 2016, 59(7):485-492.
- [15] 杨漫宇,杨足君,杨武云,等.多重易位小麦新品种(系)的选育及细胞学鉴定[J].麦类作物学报,2018,38(2):127-133.
- [16] 付留洋.基于全基因组序列分析的花生寡核苷酸探针研究与应用[D].郑州:郑州大学,2021.
- [17] 杜培.小麦、百萨偃麦草和花生染色体荧光原位杂交寡核苷酸探针(套)开发与应用[D].南京:南京农业大学,2017.
- [18] 朝井小太郎,吴进义,陈璞华,等.染色体易位和倍数体技术在西瓜育种上的应用[J].广东农业科学,1993(5):19-22.
- [19] 张涛,苏东涛.西瓜染色体易位系对杂交一代西瓜性状的影响[J].山西农业科学,2017,45(8):1225-1227.
- [20] TIAN S J, GE J, AI G L, et al. A 2.09 Mb fragment translocation on chromosome6 causes abnormalities during meiosis and leads to less seed watermelon[J]. Horticulture Research, 2021, 8(1):256.
- [21] 葛洁.西瓜材料148杂交少籽机制研究[D].陕西杨凌:西北农林科技大学,2020.
- [22] 吴进义,吴逸华,谢锡林.诱变选育西瓜染色体易位系的步骤及其杂交1代少籽组合的选配[J].中国瓜菜,2013,26(1):1-6.
- [23] 刘莉,焦定量,段爱民,等.染色体易位对西瓜主要性状的影响[J].果树学报,2006,23(1):81-84.