

分子标记辅助甜瓜抗蔓枯病基因聚合及‘白皮脆’品种改良

毕研飞¹，徐兵划¹，郭静¹，张永兵²，伊鸿平²，钱春桃^{1*}，陈劲枫¹

(1.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，江苏 南京 210095；

2.新疆农业科学院哈密瓜研究中心，新疆 乌鲁木齐 830091)

摘要： [目的]为甜瓜抗蔓枯病聚合育种探索一种简单、快捷的选择方法，同时获得品质优良且高抗甜瓜蔓枯病的改良‘白皮脆’品种(系)。 [方法]利用单一抗源 PI140471 (含抗病基因 *Gsb-1*) 与 PI420145 (含抗病基因 *Gsb-6*) 杂交，结合苗期蔓枯病菌 A 和 A₁ 梯度接种 (5×10^5 mL⁻¹、 5×10^7 mL⁻¹ 和 5×10^9 mL⁻¹) 鉴定与 SSR 标记 CMCT505 及 SCAR 标记 SGSB₁₈₀₀ 筛选，获得聚合 2 个抗蔓枯病基因 *Gsb-1* 和 *Gsb-6* 的聚合抗源 471-145。以聚合抗源 471-145 为父本，品质优异的感病品种‘白皮脆’为母本进行杂交获得 F₁，选取含有聚合抗源且表现高抗的 F₁ 单株，再以‘白皮脆’为轮回亲本进行品种改良。 [结果]SSR 标记 CMCT505 可以在‘白皮脆’和 PI140471 上分别扩增出 219 bp 和 190 bp 的特异性片段，SCAR 标记 SGSB₁₈₀₀ 可以在 PI420145 上扩增出 1 800 bp 的特异性片段，而聚合单株可以同时扩增出 190 bp 和 1 800 bp 2 条特异性片段。BC₃F₃ 群体筛选结果显示一些单株已经成功聚合了 *Gsb-1* 和 *Gsb-6* 两个抗病基因。单基因抗源 PI140471 和 PI420145 对不同菌株表现出选择性抗性且抗性水平低于聚合基因抗源。田间抗性观察显示，含有 2 个抗性基因的植株表现为高抗甜瓜蔓枯病，与分子标记检测结果一致。本课题组创建的分子标记 CMCT505 和 SGSB₁₈₀₀ 对抗病基因 *Gsb-1* 和 *Gsb-6* 的选择具有较高的准确性，可以很好地应用于分子标记辅助选择甜瓜抗蔓枯病聚合育种。另外，抗性观察与果实品质测定表明改良‘白皮脆’品种(品系)高抗甜瓜蔓枯病且商品性优良。 [结论]本研究初步建立了甜瓜抗蔓枯病聚合育种的分子标记辅助选择体系，为甜瓜抗蔓枯病聚合育种探索了一种简单、快捷的选择方法，同时也为甜瓜优质、抗病和高产育种提供新的遗传资源。

关键词： 甜瓜；蔓枯病；分子标记；抗病性；聚合育种

中图分类号：S652.9

文献标志码：A

文章编号：

Pyramiding disease resistance genes by marker-assisted selection in melon (*Cucumis melo* L.) and ‘Baipicui’ breed improvement

BI Yanfei¹, XU Binghua¹, GUO Jing¹, ZHANG Yongbing², YI Hongping², QIAN Chuntao^{1*},
CHEN Jinfeng¹

(1.College of Horticulture/ State key Laboratory of Crop Genetics and Germplasm Enhancement, Nanjing

Agricultural University, Nanjing 210095, China; 2.Center of Hami Melon

Xinjiang Academy of Agricultural Sciences, Urumqi, 830091, China)

Abstract: [Objective] In order to provide a rapid selection method for gummy stem blight resistance in melon pyramiding breeding and improve the resistance of ‘Baipicui’. [Methods] Single resistance source PI140471 and PI420145 were used as the donor parents with the gummy stem blight resistance genes *Gsb-1* and *Gsb-6*, respectively. Commercial melon cultivar ‘Baipicui’ was used as the receipt parent to cross and backcross with the

收稿日期：2014-08-20

基金项目：国家自然科学基金新疆联合基金项目(U1178307)

作者简介：毕研飞，硕士研究生。*通信作者：钱春桃，副教授，主要从事园艺作物遗传育种与分子生物技术研究，Tel:025-84396279，E-mail:chuntaoq@njau.edu.cn。

donor parents. Marker-assisted selection (MAS) and gradient spores vaccination identification ($5 \times 10^5 \text{ mL}^{-1}$, $5 \times 10^7 \text{ mL}^{-1}$ and $5 \times 10^9 \text{ mL}^{-1}$) were used in each backcross and self-cross progeny. In the first place, polymerization resistance source 471-145 as the male parent to cross with 'Baipicui' to get the hybrid F_1 . Then, use the 'Baipicui' as the female parent to cross and backcross with the F_1 individuals which resistant to gummy stem blight highly and contain two resistant genes. [Results] The results showed that: the polymorphism of molecular markers were different among the parents. The PCR amplification of SSR marker CMCT505 could augment two specific fragments of 219 bp and 190 bp in susceptible melon cultivar 'Baipicui' and single resistance source PI140471, respectively. A 1 800 bp specific fragment was obtained with SCAR marker SGSB₁₈₀₀ in resistance source PI420145. The polymerization individuals could be amplified both fragments (190 bp and 1 800 bp) by CMCT505 and SGSB₁₈₀₀. From different kinds of molecular markers' detection results to the BC_3F_3 generation, it could be found that some individuals have had two resistance genes (*Gsb-1* and *Gsb-6*), while few individuals had one resistance gene. The single resistance source PI140471 and PI420145 showed lower resistance than polymerization individuals and selective resistant to the different gummy stem blight biological strains(A and A_1). The performance of each plant in the field estimated that all of the individuals containing two resistance genes were resistant to melon gummy stem blight, which was accordant to the expected result of molecular detection. Results of disease resistance evaluation indicated that the markers developed in this study were efficient in selecting two genes by MAS. In addition, the improved 'Baipicui' showed highly resistant to gummy stem blight and had better agricultural characteristics. [Conclusions] This study developed a molecular marker-assisted selection system for pyramiding breeding of melon. It also provided important intermediate materials and rapid selection method for good quality, disease resistance and high yield in melon breeding.

Keywords: melon (*Cucumis melon* L.); gummy stem blight; marker-assisted selection; disease resistance; pyramiding breeding

甜瓜 (*Cucumis melo* L.) 是世界十大水果之一, 其营养丰富、香甜可口, 备受人们喜爱。然而, 生产上病害的发生是限制甜瓜优质高产的主要因素, 近年来蔓枯病 (gummy stem blight) 病害普遍发生, 在大田的发病率可达 20%~30%, 在连作地及温室高达 80%, 病害严重的年份常常会造成毁灭性的减产^[1-4]。目前, 生产上防治甜瓜蔓枯病的常用方法是化学防治, 但化学防治的效率低、易造成环境污染。另外, 在公众食品安全意识日益强化的社会背景下, 使用化学农药防治甜瓜蔓枯病的方法已经越来越不适宜现代农业生产。因此, 筛选抗病材料并培育抗病品种 (品系) 具有重要的生态价值和经济价值。

国际上已经鉴定并报道了甜瓜蔓枯病抗源 PI140471, 其抗性基因为 *Gsb-1*^[5], 抗源 PI420145 是由本课题组 Joseph 等^[6]筛选得到的, 并命名为 *Gsb-6*。本课题组前期对 2 个抗病基因做了相关分子标记的开发与研究, 获得了与 *Gsb-1* 连锁距离为 5.2 cM 的 SSR 标记 CMCT505, 与 *Gsb-6* 连锁距离为 2.0 cM 的 SCAR 标记 SGSB₁₈₀₀。刘龙洲等^[7]以甜瓜 JGD-3 为抗源鉴定蔓枯病抗性属于多基因控制的数量遗传性状, 并利用 JGD-3×S717 分子标记连锁图对蔓枯病抗性性状进行了 QTL 定位分析, 发现与 QTL 数量基因位点紧密连锁的分子标记 CMTCN66、E3S7-1 和 TJ27。这些分子标记的开发为甜瓜抗蔓枯病分子标记辅助选择育种 (MAS) 奠定了很好的基础。

甜瓜蔓枯病病原菌存在生理小种的分化, 若品种仅携带单个抗病基因, 则会导致其抗性降低甚至失去抗性^[8-10]。国内外研究表明, 不同抗性基因的聚合有助于提高作物的抗性和抗谱^[11-13], 因此选育抗性相对持久的聚合抗源品种 (系) 是提高甜瓜抗蔓枯病的有效途径之一。然而, 甜瓜抗蔓枯病聚合基因材料及其在品种改良应用方面的研究仍鲜见报道。本文结合甜瓜苗期蔓枯病菌梯度接种鉴定、分子标记辅助选择和田间抗性观察, 初步研究了甜瓜不同抗病基因聚合后的抗性表现, 并选育获得了高抗蔓枯病且商品性优异的改良 '白皮脆' 品种

(系), 为甜瓜优质、抗病和高产育种提供新的遗传资源。

1 材料与amp;方法

1.1 甜瓜抗源材料和接种菌株

甜瓜单基因抗源材料 PI140471 (含有抗病基因 *Gsb-1*) 和 PI420145 (含有抗病基因 *Gsb-6*), 其中 PI140471 由美国康乃尔大学 Molly John 教授提供, PI420145 是由本课题组的 Joseph 等筛选得到。聚合基因材料 471-145 由 PI140471 与 PI420145 杂交获得。优质、感病品种‘白皮脆’由项目合作单位新疆农业科学院提供。

蔓枯病菌为本实验室分离纯化并保存的 A 和 A₁ 型菌株, 菌株的分生孢子在 PDA 培养基上经 25 °C 黑暗培养 7 d 后, 再进行 4 d 间歇紫外灯 (12 h 紫外/12 h 黑暗) 处理产生, 在显微镜下利用血球计数板将分生孢子悬浮液配成 5 × 10⁵ mL⁻¹、5 × 10⁷ mL⁻¹ 和 5 × 10⁹ mL⁻¹ 备用。

1.2 苗期接种鉴定

参照 Zhang 等^[9]的方法在苗期接种 (3~4 片真叶), 用微型喷雾器喷洒孢子悬浮液, 喷到植株叶片开始滴水为止。接种后用塑料拱棚保湿, 相对湿度 90% 以上, 3 d 后揭开小拱棚, 于 7 和 10 d 调查统计病情。叶片侵染分级标准为: 0 级, 无可见侵染; 1 级, 老叶上边缘坏死或斑点 < 10 mm, 新叶无病; 2 级, 老叶同上, 新叶边缘坏死; 3 级, 所有叶均有感染, 叶坏死面积 < 25%; 4 级, 25% < 叶坏死面积 ≤ 50%; 5 级, 叶坏死面积 > 50%。根据平均病级 (RI) 确定蔓枯病抗性级别, 高抗 (HR): RI < 1.0; 抗 (R): 1.0 ≤ RI < 2.0; 中抗 (MR): 2.0 ≤ RI < 3.0; 感 (S): 3.0 ≤ RI < 4.0; 高感 (HS): RI ≥ 4.0。平均病级计算公式: RI = Σ (级值 × 株数) / 总株数。

1.3 DNA 提取与分子标记检测

甜瓜 DNA 的提取参照 CTAB 法。用于检测抗病基因 *Gsb-1* 和 *Gsb-6* 的分子标记为本课题组设计, 由上海英潍捷基贸易有限公司合成 (表 1), 扩增产物大小分别为 190 bp 和 1800 bp。PCR 总反应体积为 20 μL: ddH₂O 12.1 μL, 10 × PCR Buffer 2.0 μL, 2 mmol L⁻¹ dNTP 1.5 μL, 25 mmol L⁻¹ MgCl₂ 1.2 μL, 10 μmol L⁻¹ 3' 和 5' 引物各 1.0 μL, 5 U μL⁻¹ Taq 聚合酶 0.2 μL, 30 ng μL⁻¹ 模板 DNA 1.0 μL。扩增反应条件为: 94 °C 5 min; 94 °C 30 s, 55 °C 30 s, 72 °C 80 s, 35 个循环; 72 °C 5 min, 保持 4 °C。抗病基因 *Gsb-1* 的 PCR 产物在 90 g L⁻¹ 聚丙烯酰胺凝胶上电泳, 采用改良的银染方法检测。抗病基因 *Gsb-6* 的 PCR 产物用 10 g L⁻¹ 琼脂糖凝胶电泳检测。

表 1 用于分子标记辅助选择的引物序列

Table 1 Primer sequences used for marker-assisted selection

基因 Gene	引物 Primer	引物序列 Primer sequence	连锁距离/cm Distance
<i>Gsb-1</i>	CMCT505	F: 5'-GACAGTAATCACCTCATCAAC-3'	5.2
		R: 5'-GGGAATGTAAATTGGATATG-3'	
<i>Gsb-6</i>	SGSB ₁₈₀₀	F: 5'-GTTGCGTTCCTCTGCTTGGA-3'	2.0
		R: 3'-ATTCTGCTGTGGAGTTAATGGA-5'	

1.4 抗蔓枯病聚合育种过程

通过单一抗源 PI140471 (*Gsb-1*) 与 PI420145 (*Gsb-6*) 杂交, 并结合苗期蔓枯病菌梯度接种鉴定与分子标记 (CMCT505、SGSB₁₈₀₀) 进行筛选, 获得聚合 2 个抗蔓枯病基因的聚合抗源 471-145。以表现高抗的聚合抗源 471-145 为父本, 品质优异的感病品种‘白皮脆’为母本进行杂交获得 F₁, 再以‘白皮脆’为轮回亲本进行连续回交 3 代自交 2 代, 结合苗期接种鉴定与分子标记辅助选择筛选表现高抗且含有两个抗病基因的各世代进行品种改良。

1.5 田间抗性观察与果实品质测定

2014 年春季对回交世代 BC₃F₃ 进行田间蔓枯病抗性观察与果实品质测定。材料种植于南京农业大学江浦实验基地塑料大棚内（甜瓜重茬地，蔓枯病发严重），株距 60 cm，行距 120 cm，采用吊蔓栽培的方式，单蔓整枝，施肥、排灌、除草等按常规管理。果实品质测定以‘白皮脆’和聚合抗源 471-145 的果实性状为对照，选择 9 个果实进行品质测定。单果质量为 9 个果实的平均值；果实脆度采用马庆华等^[14]的方法，用英国 Stable Micro Systems 公司生产的 TAXT plus 质构仪，采用 P/2n 针状探头(直径 2 mm)，测前速度 2 mm·s⁻¹，贯入速度 1 mm·s⁻¹，测后速度 5 mm·s⁻¹，最小感知力为 10 g；果肉颜色利用 CR-400 型色差仪测定；将果实打成汁后，利用糖度计测果实可溶性固形物含量；采用分光光度计法测定维生素 C 含量。

1.6 数据分析

采用 SPSS19.0 软件对数据进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 聚合材料抗性基因分子标记的鉴定

利用本课题组创建的与抗病基因 *Gsb-1* 和 *Gsb-6* 紧密连锁的 SSR 标记 CMCT505 和 SCAR 标记 SGSB₁₈₀₀ 筛选 471-145 聚合单株，含有基因 *Gsb-1* 的材料可以扩增出 190 bp 的特异性片段(图 2-A)，而含有基因 *Gsb-6* 的材料可以扩增出 1 800 bp 的特异性片段(图 2-B)。因此，聚合基因 471-145 单株可以同时扩增出 190 和 1 800 bp 2 条特异性条带。

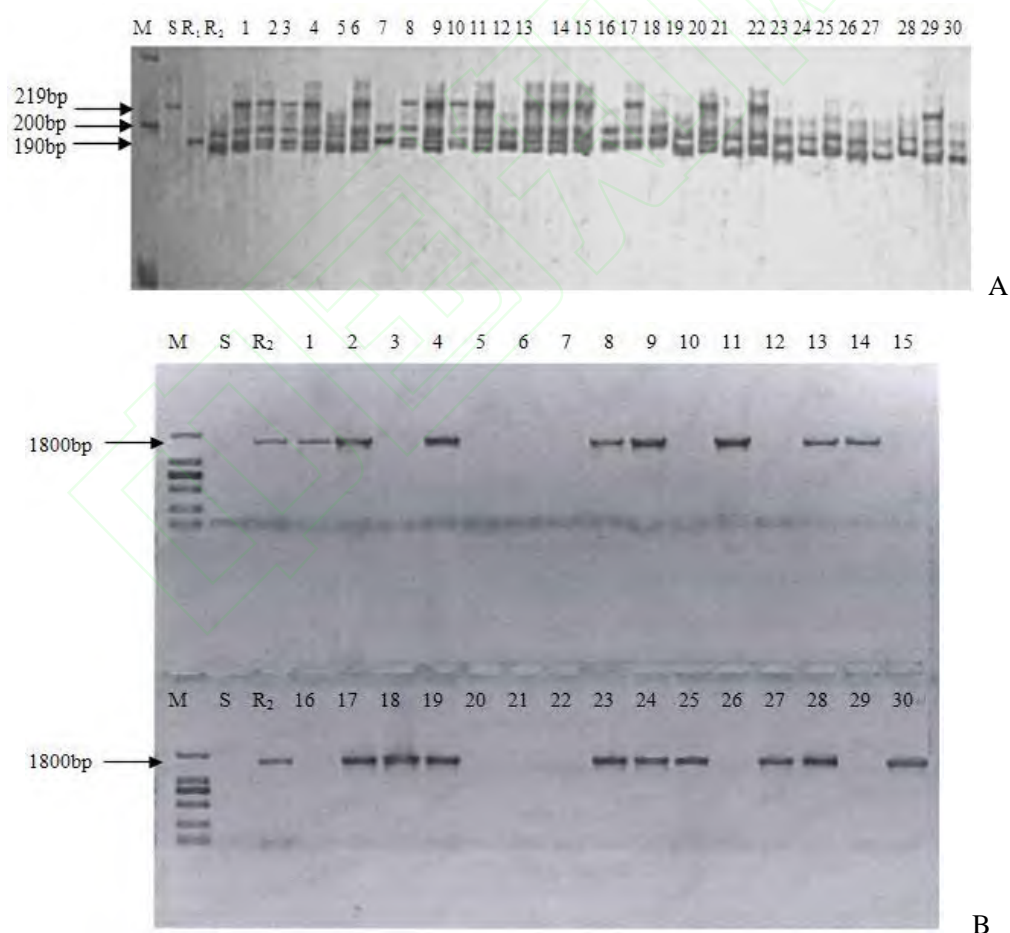


图 2 PCR 检测 BC₃F₃ 部分单株的抗病基因

Fig. 2 PCR detection of resistance genes in parts of BC₃F₃ individuals

A. CMCT505 标记检测 BC₃F₃ 部分单株含抗病基因 *Gsb-1* 的结果 The result of detection about resistance gene *Gsb-1* in parts of BC₃F₃ individuals by marker CMCT505;

B.SGSB₁₈₀₀ 标记检测 BC₃F₃ 部分单株含抗病基因 *Gsb-6* 的结果 The result of detection about resistance gene *Gsb-6* in parts of BC₃F₃ individuals by marker SGSB₁₈₀₀:

M: 标准 Marker; S: ‘白皮脆’Baipicui; R₁: PI140471; R₂: PI420145; 1–30: BC₃F₃

编号 2、4、8、17、18、24、25 和 28 可扩增出 190 bp 和 1 800 bp 两条特异性条带, 为聚合单株。Number 2, 4, 8, 17, 18, 24, 25 and 28 were pyramided individuals which could amplify two bands of 190 bp and 1 800 bp.

2.2 聚合基因材料和抗、感材料苗期接种蔓枯病菌的抗性鉴定

由表 2 可见: A 型菌株接种浓度为 $5 \times 10^5 \text{ mL}^{-1}$ 时, 回交亲本 ‘白皮脆’ 的平均病级 RI 为 3.6, 表现为感病, 单基因抗源材料和聚合基因材料 BC₃F₃ 均表现为高抗; 当接种浓度为 $5 \times 10^7 \text{ mL}^{-1}$ 时, ‘白皮脆’ 平均病级 RI 为 4.5, 表现为高感, 单基因抗源 PI140471 和聚合基因材料 BC₃F₃ 的平均病级 RI 分别为 1.9 和 1.66, 表现为抗, PI420145 的 RI 为 2.3, 表现中抗; 当接种浓度为 $5 \times 10^9 \text{ mL}^{-1}$ 时, ‘白皮脆’ 平均病级 RI 为 4.9, 表现高感, 单基因抗源 PI140471 和 PI420145 均表现为感病, 而聚合基因材料 BC₃F₃ 的平均病级 RI 为 2.7, 表现中抗。

A₁ 型菌株接种浓度为 $5 \times 10^5 \text{ mL}^{-1}$ 时, ‘白皮脆’ 平均病级 RI 为 3.4, 表现为感病, 单基因抗源和聚合基因材料 BC₃F₃ 均表现为高抗; 当接种浓度为 $5 \times 10^7 \text{ mL}^{-1}$ 时, ‘白皮脆’ 平均病级 RI 为 4.2, 表现为高感, 单基因抗源和聚合基因材料均表现为抗; 当接种浓度为 $5 \times 10^9 \text{ mL}^{-1}$ 时, ‘白皮脆’ 平均病级 RI 为 4.8, 表现为高感, 单基因抗源 PI140471 的 RI 为 2.8, 表现中抗, PI420145 的 RI 为 3.1, 表现感病, 而聚合基因材料 BC₃F₃ 的平均病级 RI 为 2.6, 表现为中抗。

表 2 不同基因型甜瓜材料接种鉴定结果统计

Table 2 Disease ratings for gummy stem blight of different genotype materials

菌株 Bacterial strain	材料 Material	$5 \times 10^5 \text{ mL}^{-1}$		$5 \times 10^7 \text{ mL}^{-1}$		$5 \times 10^9 \text{ mL}^{-1}$	
		RI	抗性 Resistance	RI	抗性 Resistance	RI	抗性 Resistance
A	白皮脆	3.60 ^a	S	4.50 ^a	HS	4.90 ^a	HS
	PI140471	0.00 ^d	HR	1.90 ^d	R	3.10 ^c	S
	PI420145	0.12 ^d	HR	2.30 ^c	MR	3.30 ^b	S
	BC ₃ F ₃	0.75 ^c	HR	1.66 ^e	R	2.70 ^d	MR
A ₁	白皮脆	3.40 ^b	S	4.20 ^b	HS	4.80 ^a	HS
	PI140471	0.00 ^d	HR	1.84 ^d	R	2.81 ^d	MR
	PI420145	0.00 ^d	HR	1.92 ^d	R	3.10 ^c	S
	BC ₃ F ₃	0.69 ^c	HR	1.58 ^e	R	2.60 ^d	MR

注: 1) 同一列内不同小写字母表示差异性显著 ($P < 0.05$)。2) HR: 高抗; R: 抗; MR: 中抗; S: 感病; HS: 高感。

Note: 1) Values followed by different lowercase letters are significantly different at 0.05 level.

2) HR: High resistance; R: Resistance; MR: Moderate resistance; S: Susceptible; HS: High sensitive. The same as follows.

2.3 田间抗性观察与果实品质测定

由表 3 可以看出: 改良 ‘白皮脆’ 聚合了双亲的优良性状, 田间表现高抗甜瓜蔓枯病, 除果实维生素 C 含量高于 ‘白皮脆’ 外, 在果型、单果质量、果实脆度、果肉厚度及可溶性固形物含量方面与回交亲本 ‘白皮脆’ 并无显著差异。

表 3 不同基因型甜瓜蔓枯病抗性及其果实品质的测定结果

Table 3 Resistance and fruit quality statistics of different genotype materials

材料 Material	抗性 Resistance	果型 Fruit shape	单果质量 /kg Fruit weight	果实脆度 /(kg·cm ⁻²) Fruit crispness	果肉颜色 Flesh color	果肉厚度 /cm Flesh thickness	果肉质地 Flesh texture	可溶性固形 物/% Soluble solid content	维生素 C/ (mg·100g ⁻¹) Vitamin C
白皮脆 Baipicui	S	橄榄型 Oval	1.50±0.216	1.14±0.082	橙色 Orange	3.21±0.135	脆 Fragile	12.10±0.516	10.31±0.495
471-145	HR	圆柱型 Cylindrical	0.61±0.107	0.75±0.053	白色 White	1.50±0.101	面 Soft	5.32±0.185	13.82±0.570
BC ₃ F ₃	HR	橄榄型 Oval	1.33±0.190	1.06±0.071	浅橙色 Light orange	3.10±0.124	脆 Fragile	10.91±0.460	12.49±0.513

3 讨论

研究表明,利用分子标记等技术和方法聚合多个抗性基因,可以减少选择的盲目性,是培育具有持久抗性和综合抗性品种(系)的有效策略^[15-18]。目前,分子标记辅助育种研究已有较多的报道,但在甜瓜抗蔓枯病育种方面还鲜有报道,主要是因为甜瓜蔓枯病抗性方面可利用的分子标记比较少。

利用分子标记选择目标基因,其准确性主要取决于标记与目标基因的连锁程度,连锁得越紧密,可靠性就越高^[19-21]。本试验所用的分子标记 CMCT505 和 SGSB₁₈₀₀ 是由本课题组创建的,与抗病基因 *Gsb-1* 和 *Gsb-6* 的遗传连锁距离分别为 5.2 和 2.0 cM,理论上可以作为目标抗性基因的检测。另外,从 BC₃F₃ 株系蔓枯病抗性鉴定结果分析表明,改良‘白皮脆’材料均因携带抗病基因 *Gsb-1* 和 *Gsb-6* 而提高了对蔓枯病的抗性水平,说明利用这 2 个分子标记对抗病基因 *Gsb-1* 和 *Gsb-6* 的选择具有较高的准确性。为减轻工作量,提高选择效率及准确率,最理想的方法是选用与目标抗性基因紧密连锁或基因内标记^[22-23],但前提是已对目标基因精细定位甚至克隆。本课题组对 2 个抗病基因的相关研究正在进行中,期望可以在抗病基因 *Gsb-1* 和 *Gsb-6* 的两侧均能找到与之更加紧密连锁的标记,完善检测系统,建立多重 PCR 体系,使 1 次 PCR 反应可同时鉴定某一单株的多个抗病基因,从而进一步提高规模化辅助选择育种的效率。

传统的甜瓜抗蔓枯病苗期接种鉴定孢子液浓度为 $5 \times 10^5 \text{ mL}^{-1}$,可以有效区分出抗、感材料的差异,但不能准确区分抗性材料之间的差异^[9, 24]。因此,本试验采用不同梯度浓度接种法,以准确鉴定单基因抗源和聚合基因材料抗性能力的差异。结果显示:单基因抗源 PI140471 和 PI420145 对不同蔓枯病菌表现出一定程度的选择性抗性,而聚合基因材料却一直表现为抗病,说明聚合基因可以提高甜瓜的抗性与抗谱,这与 Matsumoto 等^[12]在黄瓜上以及朱明涛等^[13]在番茄上的研究结果相一致。甜瓜蔓枯病抗性是由多基因控制的数量性状,并受其他微效基因修饰增加作用贡献^[7-8],果实形状及果肉颜色受主要基因控制,表现出较高的遗传力,受环境影响较小^[25-28]。因此,对甜瓜品种进行蔓枯病抗性改良时,在早代对蔓枯病抗性及其果实性状可进行定向选择,对表现高抗且果实性状与轮回亲本一致或相近的单株继续回交或自交留种。本研究在 BC₃F₃ 世代即获得蔓枯病抗性显著提高且果实品质良好的聚合基因材料,为甜瓜优质、抗病和高产育种提供了新的遗传资源,对甜瓜抗蔓枯病聚合育种具有重要的意义。

参考文献 Reference:

- [1] Keinath A P, Farnham M W, Zitter T A. Morphological, pathological, and genetic differentiation of *Didymella bryoniae* and *Phoma* spp. isolated from cucurbits[J]. Phytopathology, 1995, 85 (3): 364-369

- [2] 吴明珠, 伊鸿平, 冯炯鑫, 等. 哈密瓜南移东进生态育种与有机生态型无土栽培技术研究[J]. 中国工程科学, 2000, 2 (8): 83-88
[Wu M Z, Yi H P, Feng J X, et al. Ecobreeding of hamimelon and soilless cultivation of organic ecotype [J]. Engineering Science, 2000, 2 (8): 83-88 (in Chinese with English abstract)]
- [3] 陈秀蓉, 魏永良, 张建文. 甜瓜蔓枯病菌及其生物学特性的研究[J]. 甘肃农业大学学报, 1993, 28 (1): 56 - 61
[Chen X R, Wei Y L, Zhang J W. Studies on the muskmelon black rot fungus and its biological characters[J]. Journal of Gansu Agricultural University, 1993, 28(1):56-61(in Chinese with English abstract)]
- [4] Tsutsumi C Y, Silva N. Screening of melon populations for resistance to *Didymella bryoniae*[J]. Braz Arch Biol Technol, 2004, 47(2):171-177
- [5] Frantz J D, Jahn M M. Five independent loci each control monogenic resistance to gummy stem blight in melon (*Cucumis melo* L.) [J]. Theor Appl Genet, 2004, 108(6): 1033-1038
- [6] Joseph N W, Zhou X H, Chen J F. Identification of amplified fragment length polymorphism markers linked to gummy stem blight (*Didymella bryoniae*) resistance in melon (*Cucumis melo* L.) PI 420145[J]. HortScience, 2009, 44 (1): 32-34
- [7] 刘龙洲, 翟文强, 陈亚丽, 等. 甜瓜蔓枯病抗性 QTL 定位的研究[J]. 果树学报, 2013,30(5):748-752
[Liu L Z, Zhai W Q, Chen Y L, et al. QTL molecular marker location of gummy stem blight resistance in melon(*Cucumis melo*) [J]. Journal of Fruit Science, 2013, 30(5):748-752(in Chinese with English abstract)]
- [8] Keinath A P, Holmes G J, Everts K L, et al. Evaluation of combinations of chlorothalonil with azoxystrobin, harpin, and disease forecasting for control of downy mildew and gummy stem blight on melon[J]. Crop Protection, 2007, 26:83-88
- [9] Zhang Y P, Molly K, Anagnostou K. Screening melon for resistance to gummy stem blight in the greenhouse and field[J]. HortScience, 1997, 32(1) :117-121
- [10] Wolukau J N, Zhou X H, Li Y, et al. Resistance to gummy stem blight in melon (*Cucumis melo* L.) germplasm and inheritance of resistance from plant introductions 157076, 420145, and 323498[J]. Hort Science, 2007, 42(2): 215-221
- [11] 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
[Zou M X, Xu Y, Zhang H Y, et al. Progress in molecular marker-assisted breeding of Cucurbitaceae[J]. Biotechnology Bulletin, 2007(4):72-78(in Chinese with English abstract)]
- [12] Matsumoto Y, Watanabe N, Kuboyama T, et al. Cross-species transferability of 86 cucumber (*Cucumis sativus* L.) microsatellite markers to gherkin (*C. anguria* L.) [J]. Scientia Horticulturae, 2012, 136(4): 110-114
- [13] 朱明涛, 孙亚林, 郑莎, 等. 分子标记辅助聚合番茄抗病基因育种[J]. 园艺学报, 2010,37(9):1416-1422
[Zhu M T, Sun Y L, Zheng S, et al. Pyramiding disease resistance genes by molecular marker-assisted selection in tomato[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2010,37(9):1416-1422(in Chinese with English abstract)]
- [14] 马庆华, 王贵禧, 梁丽松. 质构仪穿刺试验检测冬枣质地品质方法的建立[J]. 中国农业科学, 2011, 44(6):1210-1217
[Ma Q H, Wang G X, Liang L.S. Establishment of the detecting method on the fruit texture of Dongzao by puncture test[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2011, 44(6):1210-1217(in Chinese with English abstract)]
- [15] 岳欢, 吴星波, 郝俊杰, 等. 黄瓜抗白粉病分子育种研究现状与展望[J]. 植物遗传资源学报, 2014, 15(1):120-128
[Yu H, Wu X B, Hao J J, et al. Status and prospects in molecular breeding of powdery mildew resistance in cucumber[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2014, 15(1):120-128(in Chinese with English abstract)]
- [16] Behera T K, Staub J E, Behera S, et al. Marker-assisted backcross selection in an interspecific cucumis population broadens the genetic base of cucumber (*Cucumis sativus* L.) [J]. Euphytica, 2011, 178(2):261-272
- [17] Joobeur T, Nolin S J, Dean R A, et al. The fusarium wilt resistance locus Fom-2 of melon contains a single resistace gene with complex features[J]. Plant Journal, 2004, 39: 283-297
- [18] 许勇, 张海英, 康国斌, 等. 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
[Xu Y, Zhang H Y, Kang G B, et al. Studies of molecular marker-assisted-selection for resistance to Fusarium wilt in watermelon(*Citrullus lanatus*)breeding[J]. Acta Genetica Sinica, 2000, 27(2): 151-157(in Chinese with English abstract)]
- [19] Francisco J, Palomares-Rius M A, Viruel F J, et al. Simple sequence repeat markers linked to QTL for resistance to watermelon

- mosaic virus in melon[J]. *Theor Appl Genet*, 2011, 123:1207-1214
- [20] Zalapa J E, Staub J E, McCreight J D, et al. Detection of QTL for yield-related traits using re-combinant inbred lines derived from exotic and elite US Western shipping melon germplasm[J]. *Theor Appl Genet*, 2007, 114(7): 1185-1201
- [21] 毕研飞, 徐兵划, 钱春桃, 等. 甜瓜抗蔓枯病育种研究进展[J]. *中国蔬菜*, 2013(20):10-16
[Bi Y F, Xu B H, Qian C T, et al. Research progress in melon resistance breeding to gummy stem blight[J]. *China Vegetables*, 2013(20):10-16(in Chinese with English abstract)]
- [22] Perin C, Hagen L, Katzir N, et al. A reference map of *Cucumis melo* based on two recombinant inbred line populations[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2002, 104(617):1017-1034
- [23] Yuan X J, Pan J S, Cai R, et al. Genetic mapping and QTL analysis of fruit and flower related traits in cucumber (*Cucumis sativus* L.) using recombinant inbred lines[J]. *Euphytica*, 2008, 164(2):473-491
- [24] 徐兵划, 钱春桃, 王红英, 等. 甜瓜蔓枯病抗性聚合材料中防卫基因的表达分析[J]. *南京农业大学学报*, 2014, 37(5):63-68.doi:10.7685/j.issn.1000-2030.2014.05.010
[Xu B H, Qian C T, Wang H Y, et al. The expression analysis of defense genes in the genes pyramided melon(*Cucumis melo* L.)resistance to gummy stem blight [J]. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2014, 37(5):63-68(in Chinese with English abstract)]
- [25] 杨光华, 范荣, 杨小锋, 等. 甜瓜果实颜色 3 个质量性状基因的定位[J]. *园艺学报*, 2014, 41(5):898-906
[Yang G H, Fan R, Yang X F, et al. Construction of a highly dense genetic map using SNP and mapping of three qualitative traits in *Cucumis melo*[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2014, 41(5):898-906(in Chinese with English abstract)]
- [26] 张宁, 张显, 张勇, 等. 甜瓜远缘群体果实性状遗传分析[J]. *西北农业学报*, 2014, 23(5):121-128
[Zhang N, Zhang X, Zhang Y, et al. Genetic analysis of fruit traits in interspecific population of melon[J]. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 2014, 23(5):121-128(in Chinese with English abstract)]
- [27] Harel-Beja R, Tzuri G, Portnoy V, et al. A genetic map of melon highly enriched with fruit quality QTLs and EST markers, including sugar and carotenoid metabolism genes[J]. *Theor Appl Genet*, 2010, 121:511-533
- [28] Esteras C, Formisano G, Roig C, et al. SNP genotyping in melons: genetic variation, population structure, and linkage disequilibrium[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2013, 126(5):1285-1303