

# 中国甜柿及其在世界甜柿基因库中的地位

袁录霞, 张青林, 郭大勇, 罗正荣\*

(华中农业大学园艺植物生物学教育部重点实验室, 武汉 430070)

**摘要:** 柿 (*Diospyros kaki* Thunb.) 原产中国, 但绝大多数为完全涩柿, 中国原产完全甜柿 (简称中国甜柿) 仅在湖北、河南和安徽三省交界的大别山区有分布。主要介绍中国甜柿的栽培历史、地理分布及其变异类型, 并重点对其生物学特性、自然脱涩特点及遗传规律等进行总结; 此外, 还对中国甜柿在世界甜柿的起源与进化、自然脱涩机理和遗传改良研究中的价值进行了阐述。

**关键词:** 柿; 中国甜柿; 地理分布; 自然脱涩; 遗传改良

**中图分类号:** S 665.2

**文献标识码:** A

**文章编号:** 0513-353X (2011) -02-0361-10

## Characteristics of Chinese PCNA Types and Their Roles in Science and Industry of Oriental Persimmon

YUAN Lu-xia, ZHANG Qing-lin, GUO Da-yong, and LUO Zheng-rong\*

(Key Laboratory of Horticultural Plant Biology, Ministry of Education, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

**Abstract:** The oriental persimmon (Japanese persimmon or kaki), *Diospyros kaki* Thunb., is believed to have originated in China. Pollination-constant and non-astringent persimmons native to China, simply called Chinese PCNA persimmons, are only distributed in Dabieshan Mountain around the junction of three provinces, Hubei, Henan and Anhui in central China. Here we review the studies of Chinese PCNA persimmons, including their cropping history, geographic distribution and some variations, especially the biological characteristics, the traits and rules of natural astringency-loss of fruit. In addition, it is also illustrated that Chinese PCNA persimmons played important roles in the researches on the origin and genetic relationship, the mechanism of natural astringency-loss, and the genetic breeding of the oriental persimmon in the world.

**Key words:** persimmon; Chinese PCNA persimmon; geographic distribution; natural astringency-loss; genetic improvement

柿 (*Diospyros kaki* Thunb.,  $2n = 6x = 90$ ) 品种根据其果实脱涩与种子产生的挥发性产物间的关系可分为完全甜柿 (PCNA, Pollination-constant and non-astringent) 和非完全甜柿 (non-PCNA) 两类; 后者又可细分为不完全甜柿 (PVNA, Pollination-variant and non-astringent)、不完全涩柿 (PVA, Pollination-variant and astringent) 和完全涩柿 (PCA, Pollination-constant and astringent) (Sugiura,

收稿日期: 2010-06-11; 修回日期: 2010-07-29

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30871686, 30921002)

\* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: luozhr@mail.hzau.edu.cn)

1984)。我国传统产区绝大多数柿品种为完全涩柿类型,如磨盘柿、恭城水柿和富平尖柿等(Luo & Wang, 2008)。而完全甜柿类型无需人工脱涩、去皮即可脆食,改变了传统的食用习惯,正在成为一种新的世界性果树。

纵观柿遗传改良的历史和现状,芽变选种和常规杂交育种在日本取得显著成效。在农户果园和地方性果树试验场进行的芽变选种常有新品种推出,但因缺少基因重组,其变异范围和程度有限。以日本国立果树研究所(原农林水产省果树试验场)为主,自20世纪30年代开始持续至今的品种改良计划,主要以培育早熟、大果和优质的完全甜柿为目标。但现有甜柿亲本起源于以日本近畿和东海地区为中心的狭隘区域,其遗传一致性高,长期的近亲交配已经导致杂交后代在果实大小、树势等方面出现近交退化(Yonemori et al., 2000)。而且,目前生产上的主栽品种大都无雄花,选择适宜的亲本比较困难,因而将优良基因传递给子代的过程效率很低,盲目性较大。此外,日本原产完全甜柿类型(简称日本甜柿)的自然脱涩为质量性状,对非完全甜柿性状为隐性,只有完全甜柿间相互杂交才能获得100%完全甜柿后代;而完全甜柿与非完全甜柿杂交, $F_1$ 代全部为非完全甜柿,即使再与完全甜柿回交, $BC_1$ 中完全甜柿个体比例仅15%左右(六倍体遗传特点)(Ikeda et al., 1985; Yamada & Sato, 2002)。可见,柿的遗传改良较其他果树更为困难,因此导入新的基因资源和改进育种技术是世界范围内甜柿育种取得重大突破的关键所在。

柿原产中国,迄今有2000年以上的栽培历史(Luo & Wang, 2008),但长期以来主要以涩柿生产为主。最近的研究表明,大别山区分布的中国原产完全甜柿类型(简称中国甜柿)自然脱涩特点和遗传规律与日本甜柿明显有别(Ikegami et al., 2004, 2006; 张永卓 等, 2006)。作者拟对中国甜柿的特点及其在世界甜柿基因库中的地位问题作系统总结,以期为其种质资源的有效保护和充分利用提供科学依据。

## 1 中国甜柿起源及其地理分布

### 1.1 中国甜柿起源

据《罗田县志》记载,中国甜柿在1032年(北宋时期)已有栽种,较日本最古老的甜柿品种‘禅寺丸’(PVNA, 1214年发现)早180余年(王仁梓, 1983)。中国甜柿的资源调查最早始于1958年(潘德森 等, 2002); 1976—1979年陕西省农业科学院王仁梓研究员将‘罗田甜柿’与39个日本甜柿品种进行对比分析,确认其为中国原产(王仁梓, 1983); 1990—1994年湖北省林业科学院和罗田县林业科学研究所合作开展“罗田甜柿资源调查及优良株系选育研究”,进一步探明其分布和栽培状况,并筛选出10个优良株系和5个甜柿变异类型(潘德森 等, 1994); 近年来,作者在大别山区新发现一些特异的完全雄性种质(Luo et al., 2005),对其生物学特性(徐莉清, 2008; Xu et al., 2008)和亲缘关系(张青林, 2006; 张青林和罗正荣, 2006; Zhang et al., 2009)研究结果表明,这些种质可能为当地甜柿的实生变异; 此外,在被认为是‘罗田甜柿’优良变异单株的种质中发现了一例不完全甜柿类型‘90-1-10’(Du et al., 2009a)。

通常认为完全甜柿是完全涩柿的突变,这些突变个体在与其他品种的反复自然杂交中逐渐形成现在的品种群(Yamada et al., 1993)。通过对比完全甜柿和非完全甜柿脱涩性状和单宁细胞特点,王仁梓(1983)曾推断‘罗田甜柿’由大别山区单宁含量少、乙醇脱氢酶较多的柿种质演化而来。罗正荣等(1996, 1999)利用RAPD(Random Amplified Polymorphic DNA)分析表明,中国甜柿与日本甜柿的亲缘关系较远而与大别山区较原始的柿类型较近。Kanzaki 等(2000a)利用AFLP(Amplified Fragment Length Polymorphism)分析获得类似结论。利用SRAP(Sequence-related

Amplified Polymorphism) (Guo & Luo, 2006)、IRAP (Inter-retrotransposon Amplified Polymorphism) 和 REMAP (Retrotransposon-microsatellite Amplified Polymorphism) (Guo et al., 2006) 等技术对包括中国和日本甜柿在内的柿属植物进行亲缘关系分析, 认为中国甜柿和日本甜柿的亲缘关系较远, 但完全甜柿和非完全甜柿在聚类时不能完全分开。另外, 利用 mtDNA 非编码区 (Hu & Luo, 2006) 和 cpDNA PCR-RFLP (Hu et al., 2008), 以及应用 IRAP、REMAP、SSAP (Sequence-specific Amplification Polymorphism)、AFLP 和 ISTR (Inverse Sequence-tagged Repeats) 等 4 种分子标记分析均得出相似结果 (Du et al., 2009b, 2009c; 杜晓云 等, 2009)。因此, 中国甜柿的原始种质可能源自非完全甜柿类型的直接变异; 一些新的完全甜柿变异类型, 如‘鄂柿 1 号’和‘宝盖甜柿’等可能是‘磨盘柿’和‘罗田甜柿’杂交后代。但不完全甜柿和完全雄性种质的起源和进化途径还有待进一步研究。

## 1.2 中国甜柿的地理分布

中国甜柿集中分布在我国湖北、河南、安徽三省交界的大别山区 (东经  $115^{\circ}06' \sim 115^{\circ}46'$ 、北纬  $30^{\circ}35' \sim 31^{\circ}16'$ ) (潘德森 等, 1994), 迄今尚未发现在其他区域分布的报道。其中, 以湖北省罗田县的分布数量最多, 变异最丰富, 迄今仍可见两百年以上的古树, 而在河南商城和安徽金寨的树龄多为 20、30 年生。湖北罗田县所有乡 (镇) 村均有中国甜柿分布, 以西部和北部为多; 百年以上的古树主要分布在河铺镇丁家山村和唐家山村, 三里畈镇簪子石村和黄泥塆村, 以及大崎乡三界元村等。唐家山村曾发现有约 350 年古树 (晏海云和赵和清, 2006)。从垂直分布上看, 中国甜柿分布在海拔 100 ~ 700 m 之间, 以 300 ~ 500 m 范围内最多, 700 m 以上地区少有栽培, 仅发现少量近缘植物 (潘德森 等, 1994)。

中国甜柿可能起源于湖北省罗田县河铺镇八迪河村一带, 后因自然与人为因素传播至罗田县其他地区, 进而至湖北省麻城市 and 安徽省金寨县等地, 后经麻城市传播至河南省商城县等地, 形成目前的分布格局, 但其确切的传播途径尚有待进一步研究。

## 2 中国甜柿的主要类型及其繁殖和栽培现状

大别山区的中国甜柿常与非完全甜柿、板栗、油桐和乌桕等混生, 且多在房前屋后、田间地头放任生长。从实地调查结果看, 大别山区现存的中国甜柿成年树多为嫁接而来, 多数嫁接口明显可辨。上世纪 80 年代以前, 主要选择直径 3 ~ 4 cm 野柿 (*D. kaki* Thunb. *silvestris*) 或油柿 (*D. oleifera* Cheng) 高砧劈接; 1980 年以后, 逐步采用野柿或君迁子 (*D. lotus* L.) 进行苗床播种和砧木苗培育, 次年春苗床劈接或单芽切接培育嫁接苗 (潘德森等, 1994)。

目前, 在文献中出现的中国甜柿基因型达 20 个以上, 主要有‘罗田甜柿’ (王仁梓, 1983)、‘鄂柿 1 号’ (原名阴阳柿、秋焰)、‘宝盖甜柿’、‘四方甜柿’、‘小果甜柿’和‘野生甜柿’ (潘德森 等, 1994)。此外, 还有‘秋红玉’和‘秋姬’ (李先明, 2003), ‘宝华甜柿’ (李先明, 2004), ‘甜宝盖’和‘宝珠甜柿’ (李高潮 等, 2006), ‘无核甜柿’、‘龙爪柿’、‘金秋’和‘蜜糖柿’ (晏海云和赵和清, 2006) 等。其中, 可能有同物异名和同名异物现象, 如‘甜宝盖’和‘宝华甜柿’可能是‘宝盖甜柿’的别称, ‘蜜糖柿’可能是‘小果甜柿’的一个类型。

### 2.1 ‘罗田甜柿’

‘罗田甜柿’原产湖北罗田, 为我国发现最早的完全甜柿类型; 树势强健, 树干高大直立, 以着生雌花为主, 有少数雄花; 放任栽培时平均单果质量约 100 g, 可溶性固形物含量 17.5% ~ 21.0%,

种子 4~6 粒; 10 月中、下旬成熟, 因环境和气候等影响其成熟期早晚稍有差异; 与君迁子嫁接亲和力强, 目前分布最广, 树龄最长。全国多地有引种, 但未见表现良好的报道, 可能与其生态适应性较为狭窄相关。

## 2.2 ‘鄂柿 1 号’

1994 年发现于湖北省罗田县大崎乡, 曾用名‘阴阳甜柿’(潘德森 等, 1994)和‘秋焰’; 2004 年通过湖北省农作物品种审定委员会审定, 定名为‘鄂柿 1 号’(易珍望 等, 2004)。树势较强, 树姿较直立; 以着生雌花为主, 偶有少量雄花; 平均单果质量约 180 g, 种子 0~2 粒, 可溶性固形物含量 19.7%左右; 与君迁子嫁接亲和力强, 10 月上旬果实成熟, 采前易软化。近年来开始规模栽培。

## 2.3 ‘宝盖甜柿’

原产湖北省麻城市, 果实近蒂部有类似磨盘柿的明显缢痕, 故称“宝盖甜柿”。树势强, 树姿开张; 平均单果质量约 200 g, 含糖量 18.0%~19.7%, 种子 2~3 粒; 10 月上、中旬成熟, 耐贮性较强; 与君迁子嫁接亲和力强。近年来开始规模栽培。

## 2.4 ‘四方甜柿’

原产湖北省麻城市, 树势开张, 全树仅有雌花; 平均单果质量 35 g, 扁四方形, 汁液少, 含糖量 18.5%, 种子 3~5 粒。目前分布数量较少。

## 2.5 ‘小果甜柿’

原产湖北省罗田县, 果实较一般罗田甜柿小, 平均单果质量 34 g, 含糖量 21%, 种子 5~6 粒; 9 月下旬成熟。目前分布数量较少。

## 2.6 ‘野生甜柿’

原产于湖北省罗田县, 单果质量 17.4 g, 种子 7~8 粒, 有长卵圆形、扁圆形等, 基本无食用价值。目前分布数量较少。

# 3 中国原产完全雄性种质的特点及其可能的利用价值

柿栽培品种一般只着生雌花, 少数雌雄同株异花, 但全株仅开雄花的完全雄性种质十分罕见(李高潮等, 1996)。近年在大别山区发现 10 个完全雄性种质(Luo et al., 2005)。经引种和多年观察, 其仅开雄花的性状稳定, 且花期长、花粉量较大、花粉萌发率高, 与‘罗田甜柿’、‘磨盘柿’和‘前川次郎’等主栽品种柱头亲和性强, 部分单株含 2n 花粉(比例 0.18%~4.44%)(张青林和罗正荣, 2006; 徐莉清, 2008; Xu et al., 2008)。

利用 SRAP(Guo & Luo, 2006)、RAPD(Zhang et al., 2009)和 ISSR(Inter-Simple Sequence Repeats)(张青林, 2006)分析结果表明, 完全雄性种质与中国甜柿的亲缘关系密切, 可能源自‘罗田甜柿’的实生变异。

大别山区原产的完全雄性单株是迄今世界独有的珍稀种质, 具有开发专用授粉品种的潜力。此外, 其与‘罗田甜柿’亲缘关系较近, 推测其可能具有中国甜柿自然脱涩基因及其遗传特点, 因此其作为完全甜柿育种亲本的利用价值也值得进一步研究。

## 4 中国甜柿自然脱涩特点及其性状遗传规律

### 4.1 中国甜柿自然脱涩特点

迄今有关中国甜柿自然脱涩特点的研究表明：(1) 中国甜柿与日本甜柿一样，在幼果期单宁细胞较小，果实成熟时即可直接鲜食，但与日本甜柿在花后 5 周后即通过“稀释效应”（单宁细胞小且早期停止发育、相对果肉薄壁细胞而言其数量减少且单宁生物合成停止，以至可溶性单宁含量降低至味觉器官感觉不出）（Yonemori & Matsushima, 1985）完成自然脱涩的特点明显不同，可溶性单宁含量直至果实成熟前（花后 15 周以后）才降至可食用水平（张永卓等, 2006）；(2) ‘罗田甜柿’单宁类物质分子量较大，居于日本甜柿和非完全甜柿之间（Ikegami et al., 2005a），单宁成分主要是儿茶素和没食子酸（费学谦 等, 1999），而日本甜柿主要是儿茶素，非完全甜柿主要是没食子酸和表没食子酸儿茶素（Yonemori et al., 1983; Suzuki et al., 2005）；(3) 自然脱涩后日本甜柿单宁细胞以凝聚型（呈球形）为主，而‘罗田甜柿’以凝固型单宁细胞（费学谦 等, 1999）居多数；(4) 乙醇处理可诱导非完全甜柿在幼果期（7 月上旬）脱涩，7 月上旬和 9 月上旬在活体或离体状态下诱导中国甜柿均可完成脱涩过程，但对日本甜柿无效（王燕, 2009）；(5) 应用 BSA-AFLP 分析曾获得两个可鉴别日本甜柿和非完全甜柿的 RFLP 标记，但该标记把‘罗田甜柿’归为非完全甜柿类型（Kanzaki et al., 2000b, 2001）；(6) 中国甜柿与日本甜柿单宁生物合成相关基因的表达情况差异较大，‘罗田甜柿’果实发育过程中除 *DkSCPL*（serine carboxypeptidase-like, 类丝氨酸羧肽酶基因）表达模式与日本甜柿‘骏河’相同外，其他基因的表达模式均与‘仓光’（PCA 类型，日本原产）相同（Ikegami et al., 2005b）。最近，Wang 等（2010）在中国甜柿、日本甜柿和非完全甜柿中克隆出 *DkLAR*（leucoanthocyanidin reductase, 无色花青素还原酶基因），发现该基因在‘罗田甜柿’果实发育期间的表达模式与‘骏河’（PCNA，日本）不同而与‘磨盘柿’（PCA，中国）一致。

中国甜柿自然脱涩特点与日本甜柿明显有别，其自然脱涩可能兼有日本甜柿和非完全甜柿的特点，其脱涩过程可能既与“稀释效应”有关，也与“凝固效应”（可溶性单宁与种子中的挥发性产物乙醛等反应形成不溶性凝胶状物质）（Taira, 1996）有关，但还缺乏直接的证据，值得进一步研究。

### 4.2 中国甜柿自然脱涩性状遗传规律

日本学者的研究表明，日本原产完全甜柿自然脱涩性状属质量遗传，对非完全甜柿为隐性（Ikeda et al., 1985; Yamada, 1993）。杂交双亲均为完全甜柿时， $F_1$  代可获 100% 完全甜柿；而完全甜柿与非完全甜柿杂交， $F_1$  代均为非完全甜柿（Ikeda et al., 1985; Kanzaki et al., 2001; Yamada & Sato, 2002）。Ikegami 等（2004, 2006）发现以‘罗田甜柿’为母本，不管是‘太秋’和‘晚御所’等（PCNA），还是‘四沟’和‘岩瀬户’等（non-PCNA）与其杂交， $F_1$  代中完全甜柿和非完全甜柿比例均各占 50%。说明‘罗田甜柿’自然脱涩性状属显性遗传，可能受 *AST/ast* 单基因或少数主效基因控制。因此，中国甜柿在加速完全甜柿育种进程中更有利用价值。

## 5 中国甜柿在世界甜柿基因库中的地位

### 5.1 中国甜柿是研究世界甜柿起源与进化的重要种质

柿起源于中国，但完全甜柿起源与进化过程仍然不清楚。中国甜柿栽培历史悠久，仅集中分布于湖北、河南和安徽三省交界的大别山区，其遗传变异丰富、遗传背景独特，是与日本甜柿相互独立起源的完全甜柿类型。多种分子标记和聚类分析研究结果表明，中国甜柿与日本甜柿的亲缘关系

较远而与相同分布区内涩柿的亲缘关系较近 (Guo & Luo, 2006; Guo et al., 2006), 说明其可能源自涩柿的突变。而且, 与日本柿品种同时存在 4 种脱涩类型的品种群不同, 我国绝大多数品种为完全涩柿, 仅发现一例不完全甜柿 ‘90-1-10’ (Du et al., 2009a), 目前尚未发现我国原产不完全涩柿类型。此外, 中国甜柿着生雄花, 以及其自然脱涩性状受显性基因控制的特点, 说明其可能为大别山区早期的原始类型的突变后再经多次杂交而来。

## 5.2 中国甜柿是研究果实自然脱涩机理的宝贵试材

自从 Xie 等(2003)在 Science 上发表论文证明 *BANYULS* 基因编码 ANR (anthocyanidin reductase, 花色素还原酶, 植物类黄酮合成途径中的关键酶, 催化花青苷形成表儿茶素) 并与拟南芥和蒺藜苜蓿原花色素 (即单宁) 代谢有关以来, 从分子水平上揭示原花色素的生物合成机理成为活跃的研究领域 (Tanner et al., 2003; Dixon et al., 2005; Lepiniec et al., 2006)。日本京都大学 Yonemori 研究团队在柿单宁生物合成及调控研究方面作出了开拓性的工作。Ikegami 等 (2005b) 对中国甜柿 ‘罗田甜柿’、日本甜柿 ‘骏河’、和日本原产完全涩柿 ‘仓光’ 单宁生物合成相关结构基因在果实发育过程中的表达情况进行研究, 结果发现在 ‘罗田甜柿’ 中 *DkPAL* (phenylalanine ammonia-lyase, 苯丙氨酸裂解酶基因)、*DkCHS* (chalcone synthase, 查尔酮合成酶基因)、*DkF3H* (flavonol-3-hydroxylase, 类黄酮-3-羟化酶基因)、*DkDFR* (dihydroflavonol 4-reductase, 二氢黄酮醇-4-还原酶基因) 和 *DkANR* 均随果实发育持续表达且表达水平呈上升趋势, 表达模式类似 ‘仓光’; 只有 *DkSCPL* 的表达模式与 ‘骏河’ 一致, 仅在果实发育早期有活性。Ikegami 等 (2007) 用 5% 乙醇处理 ‘平核无’ 树上幼果, 构建差减文库 (SSH), 筛选出单宁合成相关结构基因并首次克隆 *DkANR*、*DkSCPL* 基因全长, RT-PCR 结果表明 *DkPAL*、*DkCHS*、*DkDFR*、*DkANR*、*DkSCPL* 在乙醇处理果实中表现为下调表达, 乙醇处理不仅能够使可溶性单宁凝固而且能够抑制单宁合成途径有关结构基因的表达。Akagi 等 (2009a) 研究日本甜柿和非完全甜柿单宁积累过程中相关结构基因的表达情况, 发现 *DkF3'5'H* (flavonol 3', 5'-hydroxylase, 类黄酮-3', 5'-羟化酶基因) 和 *DkANR* 两个结构基因对甜柿果实发育中单宁生物合成的终止起更重要的作用。此外, Akagi 等 (2009b) 认为结构基因的下调表达是日本甜柿自然脱涩的主要原因, 可能受控于某类调节因子, 因此分离到 *Myb* 转录因子家族 4 个成员, 并发现 *DkMyb4* 基因与日本甜柿单宁生物合成停止密切相关, 且受其调节的结构基因至少有 10 个以上。

中国甜柿具有与日本甜柿不同的自然脱涩特点和遗传背景。从 ‘罗田甜柿’ 自然脱涩受显性单基因或少数主效基因控制的特点看, 中国甜柿自然脱涩很可能与一个或少数调控基因 (如转录因子等) 有关, 进一步的深入研究对全面阐明其脱涩机理有重要价值。

## 5.3 中国甜柿是培育完全甜柿新品种的优良亲本

中国甜柿自然脱涩性状为显性遗传, 无论与完全甜柿还是非完全甜柿杂交,  $F_1$  代均可获得 50% 完全甜柿, 在完全甜柿遗传改良方面较日本甜柿具有更大的利用价值。目前, 柿的常规育种, 以及包括遗传转化在内的现代生物技术育种体系已经建立。Cooper 等 (1984) 报道日本甜柿茎尖培养获得再生植株; Sugiura 等 (1986) 以 ‘平核无’ 休眠芽为外植体获得再生植株; Tao 等 (1994, 1997) 建立起农杆菌介导的柿遗传转化体系, 并将苏云金杆菌 (*Bacillus thuringiensis*) 的 *cry pIA* (c) 基因导入 ‘次郎’, 获得抗虫植株; Gao 等 (2000, 2001) 将胆碱氧化酶基因和苹果中编码依赖 NADP 的 6-磷酸山梨糖醇脱氢酶的 cDNA 片段导入 ‘次郎’ 获得抗盐植株。孔祥生等 (1998) 建立了 ‘富有’ 和 ‘次郎’ 休眠芽为外植体的快繁体系; 刘艺等 (2009) 报道了以 ‘上西早生’ 叶片为外植体通过农杆菌介导法建立 ACC 氧化酶的 RNAi 遗传转化体系。谷晓峰和罗正荣 (2001, 2002) 利用多

种外植体获得‘罗田甜柿’再生植株;通过秋水仙素处理叶片(谷晓峰和罗正荣,2003)和胚乳培养(陈绪中和罗正荣,2004)已获得‘罗田甜柿’十二倍体再生植株。另一方面,我们发现部分完全雄性种质具有2n花粉(张青林和罗正荣,2006;Xu et al.,2008),Tao等(2003)发现‘藤原御所’(PCNA,日本原产)存在2n卵细胞。

因此,利用中国甜柿作为亲本进行常规杂交或利用其自然脱涩相关基因进行遗传转化,可望对我国现有主栽涩柿品种进行“甜柿化”遗传改造。此外,建立利用2n花粉和2n卵细胞的倍性育种技术体系,可望创制出我国独有的无核完全甜柿新种质。

## References

- Akagi T, Ikegami A, Suzuki Y, Yoshida J, Yamada M, Sato A, Yonemori K. 2009a. Expression balances of structural genes in shikimate and flavonoid biosynthesis cause a difference in proanthocyanidin accumulation in persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.) fruit. *Planta*, 230: 899 – 915.
- Akagi T, Ikegami A, Tsujimoto T, Kobayashi S, Sato A, Kono A, Yonemori K. 2009b. DkMyb4 is a Myb transcription factor involved in proanthocyanidin biosynthesis in persimmon fruit. *Plant Physiology*, 151: 2028 – 2045.
- Chen Xu-zhong, Luo Zheng-rong. 2004. Dodecaploid plantlets regenerated from endosperm culture of ‘Luotiantianshi’ persimmon. *Acta Horticulturae Sinica*, 31 (5): 589 – 592. (in Chinese)
- 陈绪中, 罗正荣. 2004. ‘罗田甜柿’胚乳培养获得十二倍体再生植株. *园艺学报*, 31 (5): 589 – 592.
- Cooper P A, Cohen D. 1984. Micropropagation of Japanese persimmon (*Diospyros kaki*). *Combined Proceedings of the International Plant Propagators Society*, 34: 118 – 124.
- Dixon R A, Xie D Y, Sharma S B. 2005. Proanthocyanidins—A final frontier in flavonoid research? *New Phytologist*, 165: 9 – 28.
- Du X Y, Zhang Q L, Luo Z R. 2009a. Identification of a Chinese PVNA type of Japanese persimmon discovered from Dabieshan region in central China. *Acta Horticulturae*, 833: 97 – 102.
- Du X Y, Zhang Q L, Luo Z R. 2009b. Development of retrotransposon primers and their utilization for germplasm identification in *Diospyros* spp. (Ebenaceae). *Tree Genetics & Genomes*, 5: 235 – 245.
- Du X Y, Zhang Q L, Luo Z R. 2009c. Comparison of four molecular markers for genetic analysis in *Diospyros* L. (Ebenaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 281: 171 – 181.
- Du Xiao-yun, Zhang Meng-si, Luo Zheng-rong, Zhang Qing-lin. 2009. Identification and genetic relationships of *Diospyros kaki* Thunb. and related species using ISTR analysis. *Acta Horticulturae Sinica*, 36 (4): 481 – 486. (in Chinese)
- 杜晓云, 张梦思, 罗正荣, 张青林. 2009. ISTR 在部分柿属植物种质鉴定和亲缘关系分析中的应用. *园艺学报*, 36 (4): 481 – 486.
- Fei Xue-qian, Zhou Li-hong, Gong Bang-chu. 1999. Differences of the components of tannin among three types of persimmon fruits and characteristics of tannin from ‘Luotian Tianshi’. *Forest Research*, 12 (4): 369 – 373. (in Chinese)
- 费学谦, 周立红, 龚榜初. 1999. 不同甘、涩类型果实单宁组成的差异及罗田甜柿单宁的特性. *林业科学研究*, 12 (4): 369 – 373.
- Gao M, Sakamoto A, Miura K, Murata N, Sugiura A, Tao R. 2000. Transformation of Japanese persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.) with a bacterial gene for choline oxidase. *Molecular Breeding*, 6: 501 – 510.
- Gao M, Tao R, Miura K, Dandekar A M, Sugiura A. 2001. Transformation of Japanese persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.) with apple cDNA encoding NADP-dependent sorbitol-6-phosphate dehydrogenase. *Plant Science*, 160: 837 – 845.
- Gu Xiao-feng, Luo Zheng-rong. 2002. Studies on the isolation, culture of protoplast and plant regeneration in Luotiantianshi persimmon. *Acta Horticulturae Sinica*, 29 (4): 369 – 371. (in Chinese)
- 谷晓峰, 罗正荣. 2002. 罗田甜柿原生体分离、培养及植株再生. *园艺学报*, 29 (4): 369 – 371.
- Gu Xiao-feng, Luo Zheng-rong. 2003. Regeneration of dodecaploid plants from *in vitro* leave of ‘Luotiantianshi’ persimmon treated with colchicines. *Acta Horticulturae Sinica*, 30 (3): 325 – 327. (in Chinese)

- 谷晓峰, 罗正荣. 2003. 秋水仙素处理‘罗田甜柿’获得 12 倍体再生植株. 园艺学报, 30 (3): 325 - 327.
- Gu Xiao-feng, Tang Xian-ying, Luo Zheng-rong. 2001. A study on culture conditions of immature embryo in Luotiantianshi persimmon variety. Journal of Fruit Science, 18 (2): 80 - 83. (in Chinese)
- 谷晓峰, 唐仙英, 罗正荣. 2001. 罗田甜柿幼胚培养条件的研究. 果树学报, 18 (2): 80 - 83.
- Guo D L, Luo Z R. 2006. Genetic relationships of some PCNA persimmons (*Diospyros kaki* Thunb.) from China and Japan revealed by SRAP analysis. Genetic Resources and Crop Evolution, 53: 1597 - 1603.
- Guo D L, Zhang H Q, Luo Z R. 2006. Genetic relationships of *Diospyros kaki* Thunb. and related species revealed by IRAP and REMAP analysis. Plant Science, 170: 528 - 533.
- Hu D C, Luo Z R. 2006. Polymorphisms of amplified mitochondrial DNA non-coding regions in *Diospyros* spp. Scientia Horticulturae, 109: 275 - 281.
- Hu D C, Zhang Q L, Luo Z R. 2008. Phylogenetic analysis in some *Diospyros* spp. (Ebenaceae) and Japanese persimmon using chloroplast DNA PCR-RFLP markers. Scientia Horticulturae, 117: 32 - 38.
- Ikada I, Yamada M, Kurihara A, Nishida T. 1985. Inheritance of astringency in Japanese persimmon. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science, 54 (1): 39 - 45. (in Japanese)
- Ikegami A, Eguchi S, Kitajima A, Inoue K, Yonemori K. 2007. Identification of genes involved in proanthocyanidin biosynthesis of persimmon (*Diospyros kaki*) fruit. Plant Science, 172: 1037 - 1047.
- Ikegami A, Eguchi S, Yonemori K, Yamada M, Sato A, Mitani N, Kitajima A. 2006. Segregations of astringent progenies in the F<sub>1</sub> populations derived from crosses between a Chinese pollination-constant nonastringent (PCNA) ‘Luo Tian Tian Shi’ and Japanese PCNA pollination-constant astringent (PCA) cultivars of Japanese origin. HortScience, 41 (3): 561 - 563.
- Ikegami A, Sato M, Yamada M, Kitajima A, Yonemori K. 2005a. Molecular size profiles of tannins in persimmon fruits of Japanese and Chinese pollination-constant non-astringent (PCNA)-type cultivars and their offspring revealed by size-exclusion chromatography. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science, 74 (6): 437 - 443.
- Ikegami A, Sato M, Yamada M, Kitajima A, Yonemori K. 2005b. Expression of genes involved in proanthocyanidin biosynthesis during fruit development in a Chinese pollination-constant, nonastringent (PCNA) persimmon, ‘Luo Tian Tian Shi’. Journal of the American Society for Horticultural Science, 130 (6): 830 - 835.
- Ikegami A, Yonemori K, Sugiura A, Sato A, Yamada M. 2004. Segregation of astringency in F<sub>1</sub> progenies derived from crosses between pollination-constant, nonastringent persimmon cultivars. HortScience, 39 (2): 371 - 374.
- Kanzaki S, Sato A, Yamada M, Yonemori K, Sugiura A. 2001. Identification of molecular markers linked to the trait of natural astringency loss of Japanese persimmon (*Diospyros kaki*) fruit. Journal of the American Society for Horticultural Science, 126 (1): 51 - 55.
- Kanzaki S, Yonemori K, Sato A, Yamada M, Sugiura A. 2000a. Analysis of the genetic relationships among pollination-constant and non-astringent (PCNA) cultivars of persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.) from Japan and China using amplified fragment length polymorphism (AFLP). Journal of the Japanese Society for Horticultural Science, 69 (6): 665 - 670.
- Kanzaki S, Yonemori K, Sato A, Yamada M, Sugiura A. 2000b. Evaluation of RFLP analysis for discriminating PCNA genotype in some persimmon cultivars. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science, 69 (6): 702 - 704.
- Kong Xiang-sheng, Zhang Miao-xia, Du Ai-ling, Zhang Yi-min. 1998. Studied on rapid propagation technology of *Diospyros kaki*. Journal of Huazhong Agricultural University, 17: 178 - 186. (in Chinese)
- 孔祥生, 张妙霞, 杜爱玲, 张益民. 1998. 甜柿离体快繁技术研究. 华中农业大学学报, 17: 178 - 186.
- Lepiniec L, Debeaujon I, Routaboul J, Baudry A, Pourcel L, Nesi N, Caboche M. 2006. Genetics and biochemistry of seed flavonoids. Annual Review of Plant Biology, 57: 405 - 430.

- Li Gao-chao, Wang Ren-zi, Yang Yong. 1996. The staminate germplasm of *Diospyros kaki* in China. *Journal of Fruit Science*, 13 (3): 199 – 200. (in Chinese)
- 李高潮, 王仁梓, 杨 勇. 1996. 柿种植物雄性种质资源. *果树科学*, 13 (3): 199 – 200.
- Li Gao-chao, Yang Yong, Wang Ren-zi. 2006. Germplasm resources in persimmon coming of China. *China Seed Industry*, (4): 52 – 53. (in Chinese)
- 李高潮, 杨 勇, 王仁梓. 2006. 中国原产柿品种资源. *中国种业*, (4): 52 – 53.
- Li Xian-ming. 2003. Resources investigation of ‘Luo Tian Tian Shi’. *South China Fruits*, 32 (6): 69 – 70. (in Chinese)
- 李先明. 2003. 罗田甜柿资源调查报告. *中国南方果树*, 32 (6): 69 – 70.
- Li Xian-ming. 2004. ‘Baohua’ —An early-maturing variety of pollination constant and non-astringent persimmon native to China. *Guangxi Horticulture*, 15 (4): 22 – 23. (in Chinese)
- 李先明. 2004. 早熟甜柿新品种——宝华甜柿. *广西园艺*, 15(4): 22 – 23.
- Liu Yi, Ma Jun-lian, Zhang Zi-de, Tang Xia, Song Chun-li. 2009. Study on transformation of Uenishiase *Diospyros kaki* Thunb. with ACC oxidase gene. *Journal of Agricultural University of Hebei*, 32 (2): 66 – 70. (in Chinese)
- 刘 艺, 马俊莲, 张子德, 唐 霞, 宋春丽. 2009. 上西早生柿 ACC 氧化酶的转基因研究. *河北农业大学学报*, 32 (2): 66 – 70.
- Luo Z R, Wang R Z. 2008. Persimmon in China: Domestication and traditional utilizations of genetic resources. *Advances in Horticultural Science*, 22 (4): 239 – 243.
- Luo Z R, Zhang Q L, Guo D L, Gu Q Q. 2005. General situation on science and industry of persimmon in China mainland. *Acta Horticulturae*, 685: 29 – 36.
- Luo Zheng-rong, Li Fa-fang, Cai Li-hong. 1999. Molecular systematics of China native nonastringent persimmon based on random amplified polymorphic DNA. *Acta Horticulturae Sinica*, 26 (5): 297 – 301. (in Chinese)
- 罗正荣, 李发芳, 蔡礼鸿. 1999. 部分中国原产甜柿的分子系统学研究. *园艺学报*, 26 (5): 297 – 301.
- Luo Zheng-rong, Yonemori K, Sugiura A. 1996. Study on DNA polymorphism in ‘Luo Tian Tian Shi’ // Association for Science and Technology, Huazhong Agricultural University. *Research Progress of Modern Agricultural Science*. Tianjin: Tianjin Education Press: 102 – 104. (in Chinese)
- 罗正荣, 米森敬三, 杉浦明. 1996. 罗田甜柿的 DNA 多态性研究 // 华中农业大学科学技术协会. *现代农业科学研究进展*. 天津: 天津教育出版社: 102 – 104.
- 潘德森, 马业萍, 余秋英, 易珍望, 张仕辉. 1994. 罗田甜柿资源调查及优良株系选育. *湖北林业科技*, (2): 24 – 28.
- 潘德森, 欧阳绍湘, 王希群, 陈春芳, 邓先珍. 2002. 关于将“罗田甜柿”更名为“中国甜柿”的建议. *湖北林业科技*, (2): 27 – 28.
- Sugiura A, Tao R, Murayama H, Tomona T. 1986. *In vitro* propagation of Japanese persimmon. *HortScience*, 21: 1205 – 1207.
- Sugiura A. 1984. The origin of persimmon and its cultivar differentiation. *Recent Advances in Plant Breeding*, 25: 30 – 37. (in Japanese)
- Suzuki T, Someya S, Hu F Y, Tanokura M. 2005. Comparative study of catechin compositions in five Japanese persimmons (*Diospyros kaki*). *Food Chemistry*, 93: 149 – 152.
- Taira S. 1996. Astringency in persimmon. *Modern Methods of Plant Analysis*, 18: 97 – 110.
- Tanner G J, Francki K T, Abrahams S, Watson J M, Larkin P J, Ashton A R. 2003. Proanthocyanidin biosynthesis in plants: purification of legume leucoanthocyanidin reductase and molecular cloning of its cDNA. *Journal of Biological Chemistry*, 278 (34): 31647 – 31656.
- Tao R, Dandekar A M, Uratsu S L, Vail P V, Tebbets J S. 1997. Engineering genetic resistance against insects in Japanese persimmon using the *cry* IA(c) gene of *Bacillus thuringiensis*. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 122 (6): 764 – 771.
- Tao R, Handa T, Tamura M, Sugiura A. 1994. Genetic transformation of Japanese persimmon (*Diospyros kaki* L) by *Agrobacterium rhizogenes* wild type strain A4. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 63 (2): 283 – 289.
- Tao R, Yamada A, Esumi T, Motosugi H, Sugiura A. 2003. Ploidy variations observed in the progeny of hexaploid Japanese persimmon (*Diospyros kaki*) ‘Fujiwaragoshou’. *Horticultural Research (Japan)*, 2 (3): 157 – 160. (in Japanese)
- Wang Ren-zi. 1983. The origin of ‘Luo Tian Tian Shi’. *Chinese Fruit Tree*, (2): 16 – 19. (in Chinese)
- 王仁梓. 1983. 关于罗田甜柿原产地问题的探讨. *中国果树*, (2): 16 – 19.

- Wang Y, Zhang Q L, Luo Z R. 2010. Isolation and expression of gene encoding leucoanthocyanidin reductase (LAR) from Japanese persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.) during fruit development. *Biologia Plantum*, 54: 707 - 710.
- Wang Yan. 2009. The mechanism of natural astringency-loss in Chinese pollination-constant and non-astringent persimmons [Ph. D. Dissertation]. Wuhan: Huazhong Agricultural University. (in Chinese)
- 王 燕. 2009. 中国原产完全甜柿自然脱涩机理研究 [博士论文]. 武汉: 华中农业大学.
- Xie D Y, Sharma S B, Paiva N L, Ferreira D, Dixon R A. 2003. Role of anthocyanidin reductase, encoded by *BANYULS* in plant flavonoid biosynthesis. *Science*, 299: 396 - 399.
- Xu L Q, Zhang Q L, Luo Z R. 2008. Occurrence and cytological mechanism of 2n pollen formation in Chinese *Diospyros* spp. (Ebenaceae) staminate germplasm. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 83 (5): 668 - 672.
- Xu Li-qing. 2008. Studies on the biological characters and new germplasm creation of some staminate germplasm in *Diospyros* L. native to China [Ph. D. Dissertation]. Wuhan: Huazhong Agricultural University. (in Chinese)
- 徐莉清. 2008. 部分中国原产柿属雄性种质的生物学特性及其新种质创制研究 [博士论文]. 武汉: 华中农业大学.
- Yamada M, Sato A. 2002. Segregation for fruit astringency type in progenies derived from crosses of 'Nishimura-wase' × pollination constant non-astringent genotypes in oriental persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.). *Scientia Horticulturae*, 92: 107 - 111.
- Yamada M, Sato A, Yakushiji H, Yoshinaga K, Yamane H, Endo M. 1993. Characteristics of 'Luo Tian Tian Shi', a non-astringent cultivar of oriental persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.) of Chinese origin in relation to non-astringent cultivars of Japanese origin. *Bulletin of the Fruit Trees Research Station*, 25: 19 - 32.
- Yamada M. 1993. Persimmon breeding in Japan. *Japan Agricultural Research Quarterly*, 27: 33 - 37.
- Yan Hai-yun, Zhao He-qing. 2006. Non-astringent persimmon. Beijing: China Agriculture Press. (in Chinese)
- 晏海云, 赵和清. 2006. 甜柿. 北京: 中国农业出版社.
- Yi Zhen-wang, Luo Zheng-rong, Pan De-sen, Wu Han-chu, Zhou Jian-she. 2004. 'Eshi 1' —A new pollination constant and non-astringent cultivar of Chinese persimmon. *Acta Horticulturae Sinica*, 31 (5): 699. (in Chinese)
- 易珍望, 罗正荣, 潘德森, 吴汉初, 周建设. 2004. 完全甜柿新品种 '鄂柿 1 号'. *园艺学报*, 31(5): 699.
- Yonemori K, Matsushima J, Sugiura A. 1983. Difference in tannins of non-astringent and astringent type fruits of Japanese persimmon (*Diospyros kaki*). *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 52: 135 - 144.
- Yonemori K, Matsushima J. 1985. Property of development of the tannin cells in non-astringent type fruits of Japanese persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.) and its relationship to natural deastringency. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 54 (2): 201 - 208.
- Yonemori K, Yamada M, Sugiura A. 2000. Persimmon genetics and breeding. *Plant Breeding Reviews*, 19: 191 - 225.
- Zhang Q L, Guo D Y, Luo Z R. 2009. Identification and taxonomic status of Chinese *Diospyros* spp. (Ebenaceae) androecious germplasms. *Acta Horticulturae*, 833: 91 - 96.
- Zhang Qing-lin, Luo Zheng-rong. 2006. Observation of giant pollen and pollen germination ability in vitro of some *Diospyros* spp. and their pollen germination on the stigma of *Diospyros kaki* cv. Luotiantianshi. *Journal of Fruit Science*, 23 (2): 293 - 296. (in Chinese)
- 张青林, 罗正荣. 2006. 部分柿属雄性种质巨大花粉、花粉离体及其在罗田甜柿柱头上的萌发率. *果树学报*, 23 (2): 293 - 296.
- Zhang Qing-lin. 2006. Genetic relationships between pollination constant non-astringent persimmons and some staminate germplasm native to China based on RAPD and ISSR analysis [Ph. D. Dissertation]. Wuhan: Huazhong Agricultural University. (in Chinese)
- 张青林. 2006. 完全甜柿及部分雄性种质间的亲缘关系研究 [博士论文]. 武汉: 华中农业大学.
- Zhang Yong-zhuo, Zhang Yan-fang, Luo Zheng-rong. 2006. Identification of natural loss property of astringency in some non-astringent persimmon germplasm native to China. *Acta Horticulturae Sinica*, 33 (2): 370 - 373. (in Chinese)
- 张永卓, 张艳芳, 罗正荣. 2006. 部分中国原产甜柿种质甜涩性状的鉴定. *园艺学报*, 33 (2): 370 - 373.