

西瓜果皮硬度和果肉颜色的分子标记鉴定

王方方^{1,2}, 刘宽^{1,2}, 李杰^{1,2}, 王平勇^{1,2}, 徐志红^{1,2}, 赵胜杰^{1,2}

(1. 河南省果树瓜类生物学重点实验室·中国农业科学院郑州果树研究所 郑州 450009;

2. 三亚中国农业科学院国家南繁研究院 海南三亚 572024)

摘要: 西瓜果皮硬度和果肉颜色是品种改良的重要目标性状, 已有研究主要集中在遗传机制解析方面, 分子育种实践较少。为验证相关分子标记适用性, 筛选优异种质资源, 利用已报道的与西瓜果皮硬度和果肉颜色紧密连锁的分子标记对 38 份种质资源进行基因型分析, 结合质构仪果皮硬度值检测和果肉颜色表型鉴定, 筛选出耐裂育种材料 17 份, 鲜红色果肉育种材料 27 份, 兼具耐裂、鲜红色果肉的不同类型育种材料 16 份, 其中小果型材料 7 份, 中果型材料 2 份。测试基因型与表型相符(除 K20 外), 说明参试分子标记适用于西瓜育种材料的筛选。研究为下一步开展西瓜果皮硬度和果肉颜色分子标记辅助选择奠定了基础。

关键词: 西瓜; 种质资源; 果皮硬度; 果肉颜色; 分子标记

中图分类号: S651

文献标志码: A

文章编号: 1673-2871(2025)12-023-07

Molecular marker identification of rind hardness and flesh color in watermelon

WANG Fangfang^{1,2}, LIU Kuan^{1,2}, LI Jie^{1,2}, WANG Pingyong^{1,2}, XU Zhihong^{1,2}, ZHAO Shengjie^{1,2}

(1. Henan Key Laboratory of Fruit and Cucurbit Biology/Zhengzhou Fruit Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450009, Henan, China; 2. National Nanfan Research Institute(Sanya), Chinese Academy of Agricultural Sciences, Sanya 572024, Hainan, China)

Abstract: Rind hardness and flesh color are important target traits in watermelon breeding. Previous studies have mainly focused on the genetic mechanism of these traits, but there are few research in molecular breeding. In order to verify the applicability of relevant molecular markers and screen for excellent germplasm resources, genotypic analysis was performed on 38 watermelon germplasm resources using publicly reported molecular markers closely linked to watermelon rind hardness and flesh color. By combining texture analyzer-based rind hardness and flesh color phenotypic identification, 17 crack-tolerant breeding materials, 27 bright-red-flesh breeding materials, and 16 breeding materials combining both crack tolerance and bright red flesh were selected, including 7 small fruit and 2 middle fruit types. The genotype matches the phenotype (except K20), indicating that the tested molecular markers are suitable in watermelon breeding materials screening. This study provides basis for molecular marker assisted selection to promote watermelon rind hardness and flesh color in the next step.

Key words: Watermelon; Germplasm; Rind hardness; Flesh color; Molecular marker

果皮硬度和果肉颜色是西瓜作物重要的农艺性状, 果皮硬度影响果实耐裂性、贮运性和货架期品质等^[1]。西瓜果肉颜色主要有白色、黄色、橙色、粉色、红色、鲜红色等^[2], 不同果肉颜色可满足消费者多样化需求, 研究显示西瓜红色果肉富含番茄红素, 红色程度越深, 番茄红素含量越高, 番茄红素具

有抗氧化功能, 可以保护细胞对抗氧化损伤, 对人体健康大有裨益^[3]。近些年, 我国设施栽培的中果型西瓜和吊蔓小果型西瓜发展迅速, 受低温寡照天气和温度波动影响, 早春大棚西瓜很容易发生裂果, 果实发育转色慢, 颜色偏粉色。因此, 培育耐裂果、鲜红肉品种对促进我国尤其是华北地区早春设

收稿日期: 2025-08-01; 修回日期: 2025-09-11

基金项目: 中国农业科学院科技创新工程(CAAS-ASTIP-2023-ZFRI); 河南省西甜瓜产业技术体系(HARS-22-10); 中国农业科学院南繁专项(YBXM2519)

作者简介: 王方方, 女, 研究实习员, 研究方向为西瓜甜瓜遗传育种。E-mail: wff1859572@163.com

通信作者: 徐志红, 女, 研究员, 主要从事西瓜甜瓜育种与栽培研究。E-mail: xuzhihong@caas.cn

赵胜杰, 男, 副研究员, 主要从事西瓜甜瓜育种与栽培研究。E-mail: zhaoshengjie@caas.cn

施西瓜产业发展具有重要意义。

利用分子标记开展表型鉴定和杂交转育辅助选择能够显著提高育种效率。随着基因组测序和遗传分析技术的发展,西瓜作物重要功能基因定位和分子标记开发也取得了明显进展。西瓜果皮硬度与耐裂性高度相关,传统果实硬度计检测值大于 $20 \text{ kg} \cdot \text{cm}^{-2}$ 可认为果实较耐裂。Liao 等^[4]在 10 号染色体克隆获得控制果皮硬度和耐裂性基因 *CIERF4* (CLa97C10G187120), *CIERF4* 可能通过调控参与细胞壁代谢相关的基因发挥作用,根据基因内 SNP 突变,开发出 KASP 标记,可用于种质资源筛选鉴定和分子标记辅助选择。Yang 等^[5]在 10 号染色体也鉴定到 1 个果皮硬度主效 QTL,能够解释 49.11% 的表型变异,该 QTL 区间与 Liao 等^[4]初始定位区间相邻。张敬敬等^[6]利用不同的试验材料也得到了相同的研究结果。西瓜果肉颜色的变化主要是由于番茄红素、类胡萝卜素等组分和含量差异引起的^[7]。Bang 等^[8-9]报道,西瓜果肉黄色对红色为显性,4 号染色体的番茄红素 β -环化酶基因 (*LCYB*) 是影响西瓜红色或黄色果肉形成的主要基因,在基因编码区和启动子区分别开发了 CAPS 和 PCR 标记,能够准确区分红色和黄色果肉材料。Zhang 等^[10]通过构建遗传连锁图谱定位到 1 个与红色果肉相关的 QTL,位于 4 号染色体 1.07 Mb 范围内, *LCYB* 基因也位于该区间内。Wang 等^[11]的研究也证实控制西瓜红色果肉的主效基因为 *LCYB* 基因。Li 等^[12]利用 2 个不同作图群体把控制鲜红色果肉和粉红色果肉的基因定位于 6 号染色体 40 kb 区间内,开发出 2 个 InDel 标记,能够有效区分鲜红色果肉和粉红色果肉西瓜材料。这些研究为开展种质资源精准鉴定奠定了基础。

传统田间农艺性状鉴定易受环境影响,分子标记检测能够显著提高种质资源鉴定的效率和精确度,西瓜作物已有的研究主要集中在抗病性的标记鉴定方面^[13-15]。笔者采用前人开发的能够区分红色果肉和黄色果肉、粉红色果肉和鲜红色果肉、果皮耐裂和易裂的分子标记,对 38 份种质资源进行基因型分析,结合表型鉴定,检验分子标记在不同遗传背景的适用性,发掘优异育种材料,为下一步开展分子标记辅助选择提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

供试的 38 份西瓜材料均为中国农业科学院郑州果树研究所选育的高代自交系,均为东亚生态型

西瓜,包含小果型、中果型、大果型 3 种类型。2025 年 4 月定植于中国农业科学院新乡综合试验基地大棚,地爬栽培,行距 1.8 m,株距 0.5 m,随机区组设计,3 次重复,每重复 5 株,定植后 15 d 取植株顶部生长点嫩叶,提取 DNA。田间试材按常规管理,挂牌标记授粉日期。

1.2 方法

1.2.1 DNA 提取 基因组 DNA 提取采用改良的 CTAB 法^[16],DNA 样品溶解在 $50 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 RNA 酶溶液中,用 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测样品完整性。利用 Nanodrop 2000 测定吸光值 OD_{260}/OD_{280} 及 OD_{260}/OD_{230} ,测定值为 1.8~2.0 时表示 DNA 质量较好。测定每份样品的质量浓度,并稀释至 $200 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ 进行 PCR 反应。

1.2.2 果实农艺性状鉴定 授粉后 30~35 d,采摘成熟果实用于果皮硬度检测和果肉颜色鉴定。果皮硬度采用 TA.XTplus 质构仪测定,以针形 P/2 (2 mm 直径圆柱形不锈钢)探头穿刺西瓜果皮时单位面积所用的力表示果皮硬度,设定参数为:测前速度 $3 \text{ mm} \cdot \text{s}^{-1}$,测中速度 $3 \text{ mm} \cdot \text{s}^{-1}$,测后速度 $10 \text{ mm} \cdot \text{s}^{-1}$,位移 30 mm,触发力 5 g。果肉颜色判定参考相关标准^[17]。每份材料测试 3 个果实。

1.2.3 果皮硬度分子标记 果皮硬度采用 Liao 等^[4]开发的 KASP 标记(KASP-M3)(表 1)。PCR 反应体系:KASP master mix $5 \mu\text{L}$,引物混合物 $0.5 \mu\text{L}$,DNA $1 \mu\text{L}$,ddH₂O 补足至 $10 \mu\text{L}$ 。反应条件:95 °C 预变性 10 min;95 °C 变性 15 s;61 °C 退火 60 s,10 个循环,每个循环的退火温度降低 0.6 °C;95 °C 变性 15 s;55 °C 退火延伸 60 s,30 个循环;通过 Light-Cycler480 荧光定量 PCR 仪进行分型检测。30 °C 读取结果 30 s。

1.2.4 红色、黄色果肉分子标记 红色、黄色果肉采用 Bang 等^[8]开发的 CAPS 标记(CAPS-Phe226)(表 1)。PCR 反应体系:1.0 μL DNA 模板,正反向引物各 $0.5 \mu\text{L}$ ($100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$),10 μL 2× Taq Master Mix,ddH₂O 补足至 $20 \mu\text{L}$ 。反应程序为:94 °C 预变性 2 min;94 °C 变性 30 s,58 °C 退火 30 s,72 °C 延伸 1 min 30 s,共 35 个循环;72 °C 延伸 8 min;PCR 产物用限制性内切酶 *Bsa*HI 酶切,反应体系为 $50 \mu\text{L}$,包含 $20 \mu\text{L}$ PCR 产物,5 μL 10×NEB Buffer,1 μL *Bsa*HI 内切酶,ddH₂O 补足至 $50 \mu\text{L}$ 。37 °C 酶切 20 min,80 °C 变性 20 min。酶切产物经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测。

1.2.5 鲜红色、粉红色果肉分子标记 鲜红色、粉

表 1 试验所用引物序列
Table 1 Primer sequence in experiment

引物名称 Primer name	引物方向 Primer direction	引物序列(5'-3') Primer sequence(5'-3')	参考文献 Reference
KASP-M3	F	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTATC AAGGAACAGATCGGGGAG	[4]
KASP-M3	F	GAAGGTCGGAGTCAACGGATTATC AAGGAACAGATCGGGGAA	
KASP-M3	R	ATCTGACCTCAATCTCAATCGCT	
CAPS-Phe226	F	TGGAGAAAGCAAATTGAGCGAGCGATA	[8]
CAPS-Phe226	R	CCTGCTGTTCACCAATTCCAACAAC	
InDel27-fc6	F	GACCCTGCATACGAGCCT	[12]
InDel27-fc6	R	GGGATTGGAGCTGGAATT	

红色果肉采用 Li 等^[12]开发的 InDel 标记(In-Del27-fc6)(表 1)。PCR 反应体系:1.0 μL DNA 模板,正反向引物各 0.5 μL(100 μmol·L⁻¹),10 μL 2×*Taq* Master Mix,ddH₂O 补足至 20 μL。反应程序为:94 ℃预变性 2 min;94 ℃变性 30 s,58 ℃退火 30 s,72 ℃延伸 1 min 30 s,共 35 个循环;72 ℃延伸 8 min,4 ℃保存。PCR 产物经 8%聚丙烯酰胺凝胶检测。

2 结果与分析

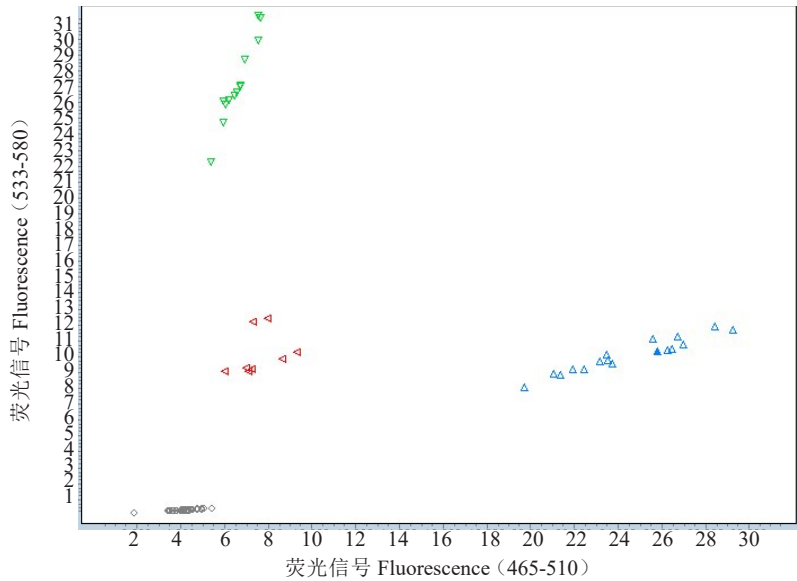
2.1 果皮硬度分子标记检测

由图 1 和表 2 可知,38 份参试材料果皮硬度最小值为 24.177 kg·cm⁻²,最大值为 67.245 kg·cm⁻²,

平均值 41.249 kg·cm⁻²,表型变异广泛,KASP 检测结果显示,17 份材料基因型为 aa(图 1 中蓝色三角形),表现为硬果皮,硬度值介于 42.949~67.245 kg·cm⁻²,平均值 53.855 kg·cm⁻²;8 份材料基因型为 ab(图 1 中红色三角形),表现为中等硬度,硬度值介于 32.474~38.503 kg·cm⁻²,平均值 35.966 kg·cm⁻²;13 份材料基因型为 bb(图 1 中绿色三角形),除 34 号 K20(硬度 37.055 kg·cm⁻²),其余 12 份均表现为较低硬度,硬度值介于 24.177~30.759 kg·cm⁻²,平均值 27.262 kg·cm⁻²。

2.2 果肉颜色分子标记检测

参试材料果肉颜色表型见表 2。CAPS-Phe226



注:横坐标表示 FAM 荧光信号相对值,纵坐标表示 HEX 荧光信号相对值;蓝色三角形为 aa 基因型,代表高硬度材料;红色为 ab 基因型,代表中等硬度材料;绿色为 bb 基因型,代表低硬度材料。

Note: The horizontal axis represents the relative value of FAM fluorescence signals, and the vertical axis represents the relative value of HEX fluorescence signals; The blue triangle is aa genotype, representing high rind hardness material; the red triangle is ab genotype, representing medium hardness material; the green triangle is bb genotype, representing low hardness material.

图 1 38 份材料果皮硬度的 KASP 标记分型图
Fig. 1 KASP genotyping of rind hardness of 38 materials

表 2 参试材料表型及基因型
Table 2 Phenotype and genotype of the test materials

编号 No.	名称 Name	果皮硬度 Rind hardness /(kg·cm ⁻²)	果肉颜色 Flesh color	KASP-M3	CAPS-Phe226	InDel27-fc6	类型 Type
1	L006	54.887±3.077	鲜红 Scarlet red	aa	rr	ss	小果型 Mini fruit
2	L0012	51.308±1.356	鲜红 Scarlet red	aa	rr	ss	小果型 Mini fruit
3	WF11	28.102±2.436	鲜红 Scarlet red	bb	rr	ss	小果型 Mini fruit
4	WF12	24.177±1.825	鲜红 Scarlet red	bb	rr	ss	小果型 Mini fruit
5	N120	35.503±4.044	鲜红 Scarlet red	ab	rr	ss	小果型 Mini fruit
6	L0017	48.494±3.041	鲜红 Scarlet red	aa	rr	ss	小果型 Mini fruit
7	L004	50.857±3.621	鲜红 Scarlet red	aa	rr	ss	小果型 Mini fruit
8	WF03	38.503±1.742	鲜红 Scarlet red	ab	rr	ss	小果型 Mini fruit
9	WF04	51.469±2.743	鲜红 Scarlet red	aa	rr	ss	小果型 Mini fruit
10	NX256	55.075±2.358	鲜红 Scarlet red	aa	rr	ss	大果型 Big fruit
11	NX494	62.407±3.338	鲜红 Scarlet red	aa	rr	ss	大果型 Big fruit
12	N30	27.177±1.008	黄 Yellow	bb	yy		小果型 Mini fruit
13	NX467	24.196±1.877	黄 Yellow	bb	yy		小果型 Mini fruit
14	N38	33.854±2.224	黄 Yellow	ab	yy		小果型 Mini fruit
15	N119	37.293±3.055	黄 Yellow	ab	yy		小果型 Mini fruit
16	NX482	36.011±2.013	黄 Yellow	ab	yy		小果型 Mini fruit
17	N93	62.730±3.421	鲜红 Scarlet red	aa	rr	ss	小果型 Mini fruit
18	WF17	25.107±1.078	鲜红 Scarlet red	bb	rr	ss	小果型 Mini fruit
19	N13	54.659±4.245	鲜红 Scarlet red	aa	rr	ss	小果型 Mini fruit
20	WF18	27.107±1.779	鲜红 Scarlet red	bb	rr	ss	小果型 Mini fruit
21	K8	51.720±3.009	鲜红 Scarlet red	aa	rr	ss	中果型 Medium fruit
22	K9	53.185±3.005	鲜红 Scarlet red	aa	rr	ss	中果型 Medium fruit
23	NX445	67.245±2.276	鲜红 Scarlet red	aa	rr	ss	大果型 Big fruit
24	L004-1	51.805±2.233	鲜红 Scarlet red	aa	rr	ss	小果型 Mini fruit
25	K3	29.759±1.557	粉红 Coral red	bb	rr	cc	中果型 Medium fruit
26	NX403	42.949±3.707	鲜红 Scarlet red	aa	rr	ss	大果型 Big fruit
27	K3-1	30.759±1.664	粉红 Coral red	bb	rr	cc	中果型 Medium fruit
28	NX226	27.804±1.997	鲜红 Scarlet red	bb	rr	ss	小果型 Mini fruit
29	NX443	32.474±3.112	鲜红 Scarlet red	ab	rr	sc	大果型 Big fruit
30	K1	38.179±2.256	黄 Yellow	ab	yy		中果型 Medium fruit
31	L0011	50.919±2.012	鲜红 Scarlet red	aa	rr	ss	大果型 Big fruit
32	K2	29.013±1.793	鲜红 Scarlet red	bb	rr	ss	小果型 Mini fruit
33	N26	26.888±2.508	鲜红 Scarlet red	bb	rr	ss	小果型 Mini fruit
34	K20	37.055±1.449	黄 Yellow	bb	yy		中果型 Medium fruit
35	NX437	35.910±1.221	黄 Yellow	ab	yy		中果型 Medium fruit
36	N45	27.055±1.875	鲜红 Scarlet red	bb	rr	ss	小果型 Mini fruit
37	K12	54.720±3.009	粉红 Coral red	aa	rr	cc	大果型 Big fruit
38	K21	51.105±2.012	鲜红 Scarlet red	aa	rr	ss	大果型 Big fruit

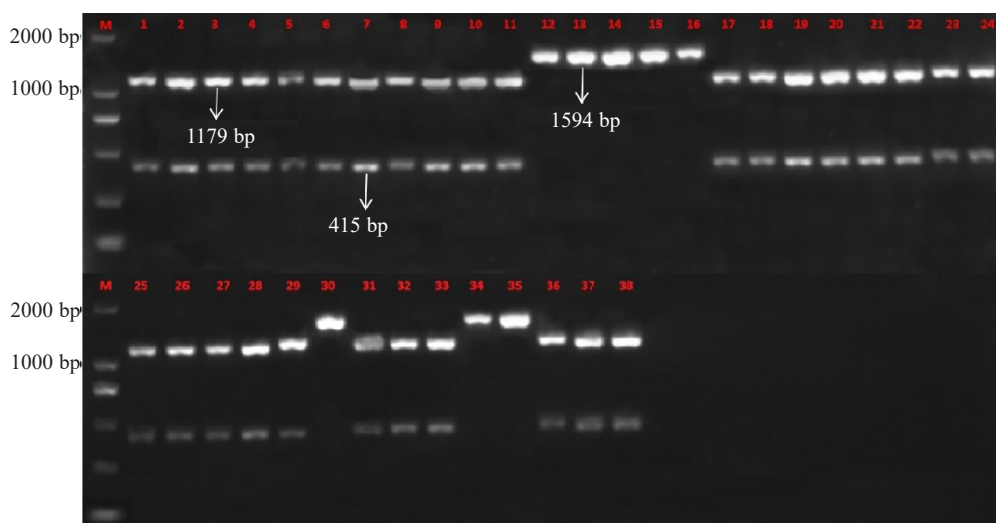
注:耐裂(aa),易裂(bb),杂合(ab);黄肉(yy),红肉(rr);鲜红肉(ss/sc),粉红肉(cc)。

Note: Cracking resistant (aa), cracking susceptible (bb), heterozygous (ab); Yellow flesh (yy), red flesh (rr); Scarlet red flesh (ss/sc), coral rend flesh (cc).

扩增出目标片段,PCR产物经限制性内切酶 *Bsa*HI 酶切后产生预期 2 种带型(图 2),一种是不能切割的原始条带(1594 bp,基因型 yy),对应黄色果肉材料;另一种是切割后 2 条带(1179 bp+415 bp,基因型 rr),对应红色果肉材料。分子标记检测结果显

示,参试 38 份材料中 30 份材料为红色果肉,其余 8 份材料(编号 12、13、14、15、16、30、34、35)为黄色果肉,基因型与表型一致。

InDel27-fc6 标记检测结果见图 3,PCR 产物的聚丙烯酰胺凝胶产生 3 种带型,其中 179 bp 条带

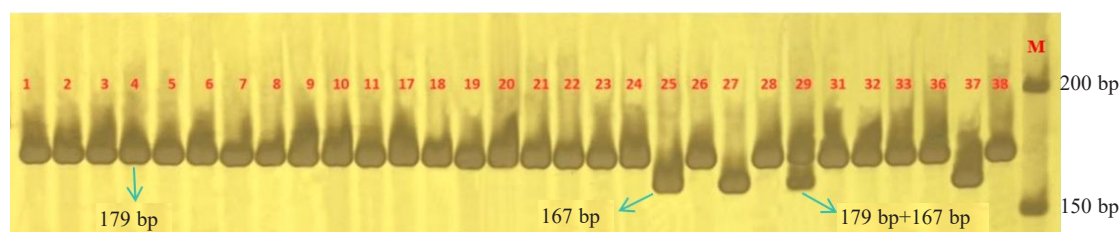


注:M: marker; 1~38 为参试材料编号。

Note: M is DNA marker; 1-38 is code of the test materials.

图2 38份材料果肉颜色的CAPS标记检测结果

Fig. 2 CAPS marker result of flesh color of 38 materials



注:M: marker; 1~11、17~29、31~33、36~38 为红色果肉材料编号。

Note: M is DNA marker; 1-11、17-29、31-33、36-38 is code of the test red flesh materials.

图3 30份红色果肉材料的InDel标记检测结果

Fig. 3 InDel result of 30 red flesh materials

代表基因型 ss,对应鲜红色果肉材料;167 bp 条带代表基因型 cc,对应粉红色果肉材料;同时具有179 bp 和 167 bp 两条带代表杂合基因型 sc,因显隐性关系果肉为鲜红色。30份红色果肉材料中有27份果肉为鲜红色(26份材料为纯合基因型 ss,29号材料为杂合基因型 sc),25、27、37号这3份材料为纯合基因型 cc,果肉为粉红色。基因型与表型一致(表2)。

2.3 优异育种材料发掘

参试的38份试材均为自育的高代自交系,其中小果型材料23份,表型和基因型检测显示,7份小果型材料(1、6、7、9、17、19、24号)具有较高的果皮硬度,硬度值最小为6号 $48.494 \text{ kg} \cdot \text{cm}^{-2}$,最大为17号 $62.730 \text{ kg} \cdot \text{cm}^{-2}$,均值 $53.557 \text{ kg} \cdot \text{cm}^{-2}$,KASP基因分型均为纯合基因型 aa,包含3份绿皮圆果、4份绿皮长果,果肉均为鲜红色;另外鉴定出2份中果型麒麟瓜类型材料21号和22号,表现为果实耐

裂、果肉鲜红色。目前,早春设施主栽小果型西瓜品种大多为粉红肉,质地偏硬,不符合市场对高端小果型西瓜品种鲜红肉、酥脆口感的品质要求,而以美都、8424为主的设施地爬麒麟瓜品种果肉颜色也偏粉,耐裂性一般,急需对其果肉颜色、果皮硬度进行改良。筛选出的优异育种材料可用于设施栽培西瓜品种的改良,为培育耐裂果、鲜红肉设施专用新品种提供种质资源。试验所用分子标记与目标基因紧密连锁,所测基因型与表型一致,可直接用于参试材料之间的杂交转育辅助选择。

3 讨论与结论

3.1 西瓜果皮硬度与果实耐裂性的关联及分子标记适用性评价

早春设施栽培西瓜受环境和栽培影响,裂瓜现象时有发生,造成产量和品质下降,培育耐裂品种是关键解决途径。果皮硬度是影响裂果的重要

指标^[18],果皮包括最外层的外果皮和中间白色部分的内果皮,前人有关果皮硬度和耐裂性的研究主要集中在细胞生物学和组织学方面。詹园凤等^[19]研究认为,西瓜果实硬度和果实裂应力与果皮厚度、外果皮厚度呈显著正相关,与表皮细胞长度、外果皮细胞面积及中果皮细胞面积呈显著负相关,果实裂应力和果实硬度大小可用于评价西瓜果实耐裂性,且在果实发育后期评价更合适。笔者通过测定不同西瓜材料成熟果实的果皮硬度,同时观察田间裂果率,发现果皮硬度与果实耐裂性存在显著相关,硬度值超过 $40 \text{ kg} \cdot \text{cm}^{-2}$ 的材料耐裂性更强,这与唐睿^[18]的研究结果一致。随着高通量测序技术的发展,通过全基因组重测序技术发掘分子标记以构建高密度遗传图谱成为了可能,全基因组关联分析(GWAS)、集团分离分析法(BSA)等新技术的应用也加快了优异等位基因和分子标记的发掘。Liao等^[4]利用栽培西瓜杂交分离群体结合BSA技术精细定位了西瓜耐裂基因 *CIERF4*,开发出共分离KASP标记。为评价该标记的适用性,筛选耐裂育种材料,笔者随机选择38份田间育种材料,利用质构仪检测果皮硬度值,在实验室鉴定基因型。研究发现3种基因型(耐裂纯合基因型、杂合基因型、不耐裂纯合基因型)基本契合表型值的分布,只有材料K20具有较高的果皮硬度值,田间也表现很少裂瓜,但基因型为不耐裂纯合,表型与基因型不符。Liao等^[4]在试验中也发现了基因型与表型不一致的现象,此类种质资源在果实成熟时果皮弹性高,韧性强,在果实发育过程中果皮硬度先上升后下降,但本研究K20与此类型并不相符,该材料的果实发育和耐裂性遗传机制有待后续深入探究。裂果受多因素影响,遗传复杂,除了在10号染色体发现的主效QTL(*CIERF4*所在区域)^[4-6]外,Zhan等^[20]在2号染色体76.613~76.919 cM区间内也发现1个主效QTL与果实耐裂性(果皮硬度、外果皮厚度、裂果深度、耐裂果能力)高度相关,基因定位结果不一致,推测可能因为参试材料不同。

3.2 西瓜果肉颜色分子标记适用性评价

现代栽培西瓜,尤其是商业化品种,果肉颜色以红色和黄色为主,红色深浅程度不同,又大致可分为鲜红色和粉红色,这种颜色差异主要由番茄红素积累量不同所致,生产中以富含番茄红素的鲜红色果肉最受瓜农和消费者青睐。传统果肉颜色的表型判定主要依靠人眼观察,色差仪虽然可以用于测定表征色度值,但易受果实剖面颜色的均匀程度

影响,对送检样品的要求较高^[21]。分子标记在种子或幼苗时期就可以检测,具有快速、准确、不受环境条件干扰的优点。关于西瓜果肉颜色形成的遗传机制已开展大量研究^[22-24],开发出能够区分红色果肉和黄色果肉^[8]、粉红色果肉和鲜红色果肉的分子标记^[12],可以在实验室进行快速精准检测鉴定。金鑫等^[25]利用分子标记对110份西瓜材料进行了鉴定,从50份商业化品种中筛选出红肉34份,粉红肉4份,从41份高世代自交系材料中筛选出红肉材料35份,粉红肉6份。鉴于研究材料的遗传背景差异,不同供体的有利等位基因需要在不同种质资源上进行适用性鉴定,以确保分子标记满足预期表型的选择。本研究从38份高代自交系中鉴定出8份黄肉材料、27份鲜红肉材料和3份粉红肉材料,试验所用分子标记准确度高,基因型与颜色表型完全吻合。这些分子标记可用于后续杂交转育的辅助选择,以提高表型鉴定的精确性,加快新种质创制和新品种选育。

3.3 西瓜分子标记类型的选择与应用潜力

分子标记应用的限制因素除了遗传背景差异造成的不适用外,再就是标记检测技术流程的繁琐低效,考虑到种质资源筛选、多基因聚合等涉及的群体较大,样品多,往往又需要在苗期短时间内完成基因型鉴定,客观上需要开发新型高通量分子标记和检测方法,以提高检测效率。KASP是一种基于SNP的新型基因分型技术,相比常规的SSR、InDel、CAPS等类型标记,该技术经简单的PCR扩增和荧光扫描就能快速获得基因分型结果,不需要经过繁琐的凝胶电泳、酶切等检测程序,自动化程度和通量较高^[26]。KASP标记在西瓜作物种质资源筛选、指纹图谱构建和基因定位等方面的应用已多有报道^[27-31]。后期基因发掘的研究应该更加注重高通量自动化新型分子标记的开发,以提升标记的使用效率。

笔者利用前人发表的分子标记结合表型鉴定,从38份西瓜高代自交系中筛选出耐裂育种材料17份,其中果皮硬度值超过 $60 \text{ kg} \cdot \text{cm}^{-2}$ 的有3份,鲜红色果肉育种材料27份,兼具耐裂、鲜红色果肉不同类型育种材料16份,包括小果型材料7份,中果型材料2份。参试分子标记检测基因型与表型基本相符,适用于西瓜育种材料筛选和标记辅助选择。

参考文献

- [1] 王学征,杨天天,刘争,等.西瓜果皮硬度相关性状分析[J].东北农业大学学报,2020,51(2):35-44.
- [2] YI L C, ZHOU W, ZHANG Y, et al. Genetic mapping of a sin-

- gle nuclear locus determines the white flesh color in watermelon (*Citrullus lanatus* L.)[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2023, 14: 1090009.
- [3] PERKINS-VEAZIE P, COLLINS J K, PAIR S D, et al. Lycopene content differs among red fleshed watermelon[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2001, 81(10):983-987.
- [4] LIAO N Q, HU Z Y, LI Y Y, et al. Ethylene-responsive factor 4 is associated with the desirable rind hardness trait conferring cracking resistance in fresh fruits of watermelon[J]. *Plant Biotechnology*, 2020, 18(4):1066-1077.
- [5] YANG T T, AMANULLAH S, PAN J H, et al. Identification of putative genetic regions for watermelon rind hardness and related traits by BSA-seq and QTL mapping[J]. *Euphytica*, 2021, 217(2):19.
- [6] 张敬敬,田鹏,于洪春,等.基于 BSA-seq 和 RNA-seq 挖掘西瓜果皮硬度候选基因[J]. *华北农学报*, 2024, 39(5):63-71.
- [7] YUAN P L, UMER M J, HE N. Transcriptome regulation of carotenoids in five flesh-colored watermelons (*Citrullus lanatus*) [J]. *BMC Plant Biology*, 2021, 21(1):203.
- [8] BANG H, KIM S, LESKOVAR D, et al. Development of a co-dominant CAPS marker for allelic selection between canary yellow and red watermelon based on SNP in lycopene β -cyclase (*LCYB*) gene[J]. *Molecular Breeding*, 2007, 20(1):63-72.
- [9] BANG H, YI G M, KIM S, et al. Watermelon lycopene β -cyclase: Promoter characterization leads to the development of a PCR marker for allelic selection[J]. *Euphytica*, 2014, 200(3):363-378.
- [10] ZHANG Z P, ZHANG Y N, SUN L, et al. Construction of a genetic map for *Citrullus lanatus* based on CAPS markers and mapping of three qualitative traits[J]. *Scientia Horticulturae*, 2018, 233:532-538.
- [11] WANG C N, QIAO A H, FANG X F, et al. Fine mapping of lycopene content and flesh color related gene and development of molecular marker-assisted selection for flesh color in watermelon (*Citrullus lanatus*) [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2019, 10: 1240.
- [12] LI N, SHAND J L, WANG J M, et al. Discovery of the genomic region and candidate genes of the scarlet red flesh color (Yscr) locus in watermelon (*Citrullus lanatus* L.) [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2020, 11:116.
- [13] 姬万丽,袁平丽,赵胜杰,等.抗枯萎病和白粉病西瓜种质的分子标记筛选研究[J]. *分子植物育种*, 2017, 15(7):2702-2710.
- [14] 张敬敬,张海英,潘秀清,等.河北省 130 份西瓜品种与种质资源抗病基因 KASP 检测分析[J]. *华北农学报*, 2019, 34(2):110-116.
- [15] 易丽聪,王运强,龚钰,等.西瓜种质抗病性的分子标记检测和人工接种鉴定[J]. *中国瓜菜*, 2021, 34(9):7-14.
- [16] MURRAY M G, THOMPSON W F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA[J]. *Nucleic Acids Research*, 1980, 8(19):4321-4325.
- [17] 马双武,刘君璞,王吉明,等.西瓜种质资源描述规范和数据标准[M].北京:中国农业出版社,2005.
- [18] 唐睿.50 份西瓜种质资源果皮质地综合评价及遗传趋势分析[D].哈尔滨:东北农业大学,2024.
- [19] 詹园凤,贺滢,谢彩虹,等.耐裂性不同的西瓜发育过程中果实力学特性及果皮结构动态研究[J]. *广东农业科学*, 2020, 47(10):18-24.
- [20] ZHAN Y F, HU W, HE H, et al. A major QTL identification and candidate gene analysis of watermelon fruit cracking using QTL-seq and RNA-seq[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2023, 14: 1166008.
- [21] 路绪强,袁明,何楠,等.利用色差仪快速检测西瓜番茄红素含量[J]. *中国瓜菜*, 2021, 34(4):41-45.
- [22] ZHANG J, SUN H H, GUO S G, et al. Decreased protein abundance of lycopene β -Cyclase contributes to red flesh in domesticated watermelon[J]. *Plant Physiology*, 2020, 183(3):1171-1183.
- [23] ZHANG J, SUN H H, GUO S G, et al. CIZISO mutation leads to photosensitive flesh in watermelon [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2022, 135(5):1-14.
- [24] LI N, XING S L, SUN G F, et al. Multi-omics analyses unveil dual genetic loci governing four distinct watermelon flesh color phenotypes[J]. *Molecular Horticulture*, 2025, 5(1):46.
- [25] 金鑫,张金鹏,赵艳菲,等.西瓜果肉颜色等性状种质资源分子标记筛选[J]. *北方园艺*, 2024(21):30-36.
- [26] SEMAGN K, BABU R, HEARNE S, et al. Single nucleotide polymorphism genotyping using kompetitive allele specific PCR (KASP): Overview of the technology and its application in crop improvement[J]. *Molecular Breeding*, 2014, 33(1):1-14.
- [27] 刘欣,程瑞,徐兵划,等.基于 KASP 技术的 SNP 标记用于西瓜品种指纹图谱构建和种子纯度检测[J]. *江苏农业学报*, 2022, 38(5):1348-1356.
- [28] 付梦芸.基于 KASP-SNP 标记的西瓜种群结构分析和杂交种纯度鉴定[D].杭州:浙江大学,2023.
- [29] LUCKY P, JOSH C, CECILIA M, et al. Refining of the egusi locus in watermelon using KASP assays[J]. *Scientia Horticulturae*, 2019, 257:108665.
- [30] MAHMOUD A, QI R, ZHAO H S. An allelic variant in the *ACS7* gene promotes primary root growth in watermelon[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2022, 135:3357-3373.
- [31] CAI L M, LIU J, WANG S C, et al. The coiled-coil protein gene *WPRb* confers recessive resistance to *Cucumber green mottle mosaic virus* [J]. *Plant Physiology*, 2023, 191(1):369-381.