

西瓜种质资源遗传相似性分析及果实硬度与抗病分子鉴定

万丽丽, 曾红霞, 汤 谧, 王转茸, 任 俭, 卫佳琪, 瞿玖红, 熊建顺

(武汉市农业科学院 武汉 430345)

摘要: 优异丰富的种质资源是西瓜育种的重要基础。本研究旨在利用西瓜种质资源筛选兼具果皮耐裂、果肉硬度适中、可溶性固形物含量高和抗病性较好的优异种质, 为西瓜育种中果实品质与抗病性状的协同改良提供基础。采用 2K 西瓜液相芯片对 44 份西瓜种质资源进行遗传相似性分析; 基于芯片检测的果皮耐裂相关位点 Chr10_2681123 (insTTCTTCGATC) 以及果肉硬度相关位点 Chr06_13317084 (AA) 和 Chr06_12831389 (GG), 结合表型数据 (果皮硬度 $\geq 12 \text{ kgf} \cdot \text{cm}^{-1}$, 果肉硬度 $\geq 2 \text{ kgf} \cdot \text{cm}^{-1}$) 鉴定相关种质, 同时考察可溶性固形物含量, 并通过分子标记技术分析枯萎病、炭疽病、白粉病及 CGMMV 病毒病抗性, 结合抗病表型筛选抗性种质。遗传相似性分析结果表明种质间遗传相似系数主要集中于 0.5~0.8; 基于遗传相似系数为 1.000 的种质对为同一种质或高世代自交系, 将核心资源集缩减至 40 份代表性种质。结合分子标记与表型数据, 鉴定出基因型与表型关联的 24 份果皮耐裂种质和 13 份果实硬度高的种质。此外, 考察了种质资源可溶性固形物含量, 并通过分子标记筛选出具有单抗或多抗性的种质。该研究筛选出了综合性状优良的西瓜种质资源, 为果实品质与抗病性状的协同改良提供了重要基础。

关键词: 西瓜; 种质遗传相似性; 果皮耐裂; 果肉硬度; 抗病分子标记

中图分类号: S651

文献标志码: A

文章编号: 1673-2871(2026)02-007-13

Genetic similarity analysis of watermelon germplasm resources and molecular identification of fruit hardness and disease resistance

WAN Lili, ZENG Hongxia, TANG Mi, WANG Zhuanrong, REN Jian, WEI Jiaqi, QU Jiuhong, XIONG Jianshun

(Wuhan Academy of Agricultural Sciences, Wuhan 430345, Hubei, China)

Abstract: Abundant and elite germplasm resources are a fundamental prerequisite for advancing watermelon breeding programs. This study utilized a 2K watermelon liquid chip to conduct a comprehensive genetic similarity analysis of 44 watermelon germplasm accessions. The results revealed that the genetic similarity coefficients among the accessions predominantly clustered ranged from 0.5-0.8. Based on a genetic similarity value of 1.000, a pair of germplasm resources was defined as the same germplasm or inbred line, thereby streamlining the core resources to 40 representative germplasm. Furthermore, employing a genotype-phenotype association approach, the specific loci associated with key fruit quality traits were focused. Based on the genotypic data for the rind crack resistance-associated locus Chr10_2681123 (insTTCTTCGATC) and the flesh firmness-related loci Chr06_13317084 (AA) and Chr06_12831389 (GG), and integrating phenotypic thresholds (rind hardness $\geq 12 \text{ kgf} \cdot \text{cm}^{-1}$, flesh firmness $\geq 2 \text{ kgf} \cdot \text{cm}^{-1}$), 24 accessions with notable rind crack resistance and 13 accessions exhibiting high fruit firmness were successfully identified. Given the paramount importance of soluble solids content (SSC) as a core determinant of fruit quality and marketability, this trait was concurrently evaluated. This multi-trait screening strategy was designed to isolate elite germplasm that combines the desirable attributes of a crack-resistant rind, firm flesh, and high sugar content, facilitating their simultaneous improvement in breeding. Additionally, molecular marker analysis was deployed to screen for resistance to major diseases, including *Fusarium* wilt, anthracnose, powdery mildew, and cucumber green mottle mosaic virus (CGMMV). Correlation of these molecular profiles with

收稿日期: 2025-08-12; 修回日期: 2025-11-17

基金项目: 湖北省技术创新计划(2024BBA001); 湖北省重点研发项目(2025BBB020); 武汉市农业科学院重大创新项目(ZD-CX202501); 武汉市农业科学院青年创新项目(QNCX202513)

作者简介: 万丽丽, 女, 高级农艺师, 研究方向为西瓜、甜瓜生物育种。E-mail: wanlili13226@163.com

通信作者: 汤 谧, 女, 正高级农艺师, 主要从事西瓜、甜瓜品种选育、栽培技术研究和推广工作。E-mail: tommy512@163.com

seedling-stage disease resistance phenotyping enabled the selection of germplasms demonstrating single or multiple disease resistances. This research provides a valuable and well-characterized germplasm foundation, significantly aiding the coordinated enhancement of fruit quality and disease resistance for watermelon breeding in future.

Key words: Watermelon; Germplasm genetic similarity; Rind crack resistance; Flesh firmness; Disease resistance molecular marker

西瓜(*Citrullus lanatus*)作为全球重要的葫芦科园艺作物,其果实营养丰富,经济效益显著。中国是世界上最大的西瓜生产国与消费国,西瓜产业已成为农民增收的重要经济支柱^[1]。在品质育种中,果实硬度(包括果皮与果肉硬度)是影响感官品质与商品价值的关键指标。果皮硬度低导致采前裂果,严重影响产量与商品价值;果肉硬度过高或过低则分别造成口感粗糙或贮运性差等问题^[2]。因此,选育耐裂果且果肉硬度适中的品种是当前产业发展的迫切需求。此外,连作障碍加剧了枯萎病、炭疽病、白粉病及黄瓜绿斑驳花叶病毒 CGMMV 等病害的发生,严重制约了西瓜的产量与品质提升。开发兼具单抗或多抗性状的新种质已成为重要育种目标。然而,传统育种手段周期长、效率低且受环境干扰,亟待结合现代分子育种技术进行革新。近年来,随着西瓜基因组学研究取得突破性进展,基于高质量基因组图谱与重测序数据开发的高密度液相芯片技术,为种质资源遗传相似性分析与核心种质资源库构建提供了高效手段^[3-5]。在关键农艺性状基因定位与标记开发方面,研究者已取得一系列重要进展^[6-9]。Liao 等^[10]利用多重指标量化耐裂性状,定位到西瓜耐裂基因乙烯响应因子编码基因 *CIERF4*,并开发出可用于品种分型的 KASP 标记。高磊等^[2,11]、朱红菊等^[12]通过 BSR-Seq 与关联分析在 6 号染色体上鉴定出与高果肉硬度显著相关的位点(Chr06_12831389),GG/GA 基因型与高硬度显著相关。在抗病性状方面,李娜等^[13]开发了针对西瓜枯萎病生理小种 1 抗性基因 *fon1* 的 InDel 标记。Jang 等^[14]研究明确了西瓜炭疽病抗性由单显性等位基因控制,抗感材料的表型变异通过 *Cla001017* 的外显子上 CL14-27-9 SNP 的基因型来验证。Mandal 等^[15]鉴定出白粉病抗性基因 *ClaPMR2*,并应用于分子标记辅助育种。易丽聪等^[16]和张敬敬等^[17]利用已经开发的西瓜抗枯萎病、炭疽病和白粉病的分子标记成功筛选出单抗、双抗和三抗种质。武彦荣等^[18]建立了高通量分子标记辅助选择体系,创制出多抗西瓜骨干自交系并育成适于设施栽培的新品种。在抗黄瓜绿斑驳花叶病毒(CGMMV)方面,Cai 等^[19]从栽培西瓜近缘种黏籽西瓜(*Citrullus mucososper-*

mus)中鉴定到抗 CGMMV 种质,在 4 号染色体上精细定位到 1 个编码 WEB1/PMI2-related protein family 基因(*WPRb*),并在此基础上建立了基于 SNP 的高通量分子育种技术体系。以上研究结果表明分子标记辅助选择能够实现对目标基因的精准跟踪,显著提升育种效率,缩短育种周期。尽管已有研究在西瓜关键性状基因定位与标记开发方面取得显著进展,但尚缺乏基于高通量芯片技术对种质资源进行综合性状基因型与表型关联的系统研究。此外,现有研究多聚焦于单一性状,对于将多种性状分子标记应用于育种材料的系统筛选方面仍存在不足。

本研究以 44 份西瓜种质为材料,基于 2K-SNP 液相芯片开展遗传相似性分析;结合果皮耐裂和果肉硬度相关位点基因型与表型进行关联分析,并利用多抗病分子标记(抗枯萎病、抗炭疽病和抗白粉病)对种质进行筛选与表型验证,旨在筛选兼具关键性状的优良育种亲本,为优质多抗西瓜品种定向选育提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 材料

本试验 44 份西瓜种质资源由武汉市农业科学院作物研究所西甜瓜课题组于 2025 年 3—5 月在武汉市黄陂区武湖农业生态园区设施大棚中爬地种植,其中每份种质资源种植 10 株,株距 25~30 cm,采用双蔓整枝方式。其中,从中国农业科学院郑州果树研究所国家西瓜甜瓜中期库引种的 4 份种质为 ZXG1355、B7-55(ZXG01601)、56-1(ZXG01672)和 57-1(ZXG00077),西北农林科技大学袁黎教授提供的野生西瓜种质为 WM,高世代自交系为武汉市农业科学院西甜瓜课题组选育(表 1)。2K 西瓜 SNP 液相芯片由北京市农林科学院蔬菜研究所与石家庄博瑞迪生物技术有限公司联合开发,该芯片基于西瓜全基因组 perfect SNP 变异和已报道的功能基因连锁 SNP 位点,利用博瑞迪自主知识产权的靶向测序基因型分型(GBTS)技术开发而成,其核心是通过特异性探针杂交捕获目标 SNP 位点,然后进行高通量测序分析。该芯片包含

表1 44份西瓜种质资源信息
Table 1 The informations of 44 watermelon germplasms

材料编号 Material No.	植物学分类 Botanical classification	种质来源 Germplasm source	种质类型 Germplasm type
GR28	栽培西瓜 <i>Citrullus lanatus</i> (Thunb.) Matsum. & Nakai	中国 China	高世代自交系,红肉中果,单果质量 4.0~6.0 kg Inbred line with more than eight generations self-pollination, red flesh, fruit mass with 4.0-6.0 kg
JC-5	栽培西瓜 <i>Citrullus lanatus</i> (Thunb.) Matsum. & Nakai	中国 China	高世代自交系,红肉小果,单果质量 1.5~2.5 kg Inbred line with more than eight generations self-pollination, red flesh, fruit mass with 1.5-2.5 kg
GR21	栽培西瓜 <i>Citrullus lanatus</i> (Thunb.) Matsum. & Nakai	中国 China	高世代自交系,红肉小果,单果质量 1.5~2.5 kg Inbred line with more than eight generations self-pollination, red flesh, fruit mass with 1.5-2.5 kg
G38	栽培西瓜 <i>Citrullus lanatus</i> (Thunb.) Matsum. & Nakai	中国 China	高世代自交系,红肉中果,单果质量 4.0~6.0 kg Inbred line with more than eight generations self-pollination, red flesh, fruit mass with 4.0-6.0 kg
WN8-1	栽培西瓜 <i>Citrullus lanatus</i> (Thunb.) Matsum. & Nakai	中国 China	高世代自交系,红肉小果,单果质量 1.5~2.5 kg Inbred line with more than eight generation self-pollination, red flesh, fruit mass with 1.5-2.5 kg
21C48	栽培西瓜 <i>Citrullus lanatus</i> (Thunb.) Matsum. & Nakai	中国 China	高世代自交系,红肉中果,单果质量 4.0~6.0 kg Inbred line with more than eight generations self-pollination, red flesh, fruit mass with 4.0-6.0 kg
G62	栽培西瓜 <i>Citrullus lanatus</i> (Thunb.) Matsum. & Nakai	中国 China	高世代自交系,红肉中果,单果质量 4.0~6.0 kg Inbred line with more than eight generations self-pollination, red flesh, fruit mass with 4.0-6.0 kg
G116	栽培西瓜 <i>Citrullus lanatus</i> (Thunb.) Matsum. & Nakai	中国 China	高世代自交系,红肉中果,单果质量 4.0~6.0 kg Inbred line with more than eight generations self-pollination, red flesh, fruit mass with 4.0-6.0 kg
D66	栽培西瓜 <i>Citrullus lanatus</i> (Thunb.) Matsum. & Nakai	中国 China	高世代自交系,黄肉小果,单果质量 1.5~2.5 kg Inbred line with more than eight generations self-pollination, yellow flesh, fruit mass with 1.5-2.5 kg
G41	栽培西瓜 <i>Citrullus lanatus</i> (Thunb.) Matsum. & Nakai	中国 China	高世代自交系,红肉小果,单果质量 1.5~2.5 kg Inbred line with more than eight generations self-pollination, red flesh, fruit mass with 1.5-2.5 kg
G37	栽培西瓜 <i>Citrullus lanatus</i> (Thunb.) Matsum. & Nakai	中国 China	高世代自交系,红肉中果,单果质量 4.0~6.0 kg Inbred line with more than eight generations self-pollination, red flesh, fruit mass with 4.0-6.0 kg
W20-12	栽培西瓜 <i>Citrullus lanatus</i> (Thunb.) Matsum. & Nakai	中国 China	高世代自交系,红肉小果,单果质量 1.5~2.5 kg Inbred line with more than eight generations self-pollination, red flesh, fruit mass with 1.5-2.5 kg
FUW	栽培西瓜 <i>Citrullus lanatus</i> (Thunb.) Matsum. & Nakai	中国 China	高世代自交系,红肉中果,单果质量 4.0~6.0 kg Inbred line with more than eight generations self-pollination, red flesh, fruit mass with 4.0-6.0 kg
ZCHY1	栽培西瓜 <i>Citrullus lanatus</i> (Thunb.) Matsum. & Nakai	中国 China	杂交种早春红玉类型(选),红肉小果,单果质量 1.5~2.5 kg Hybrid Zaochun Hongyu type, red flesh, fruit mass with 1.5-2.5 kg
G36	栽培西瓜 <i>Citrullus lanatus</i> (Thunb.) Matsum. & Nakai	中国 China	高世代自交系,红肉中果,单果质量 4.0~6.0 kg Inbred line with more than eight generations self-pollination, red flesh, fruit mass with 4.0-6.0 kg
NBT1	栽培西瓜 <i>Citrullus lanatus</i> (Thunb.) Matsum. & Nakai	中国 China	杂交种拿比特类型(选),红肉小果,单果质量 1.5~2.5 kg Hybrid Nabite type, red flesh, fruit mass with 1.5-2.5 kg
21C33	栽培西瓜 <i>Citrullus lanatus</i> (Thunb.) Matsum. & Nakai	中国 China	高世代自交系,红肉中果,单果质量 4.0~6.0 kg Inbred line with more than eight generation self-pollination, red flesh, fruit mass with 4.0-6.0 kg
T2-53	栽培西瓜 <i>Citrullus lanatus</i> (Thunb.) Matsum. & Nakai	中国 China	高世代自交系,红肉中果,单果质量 4.0~6.0 kg Inbred line with more than eight generation self-pollination, red flesh, fruit mass with 4.0-6.0 kg

表 1 (续)
Table 1 (Continued)

材料编号 Material No.	植物学分类 Botanical classification	种质来源 Germplasm source	种质类型 Germplasm type
21C46	栽培西瓜 <i>Citrullus lanatus</i> (Thunb.) Matsum. & Nakai	中国 China	高世代自交系, 红肉中果, 单果质量 4.0~6.0 kg Inbred line with more than eight generation self-pollination, red flesh, fruit mass with 4.0-6.0 kg
WT20-43	栽培西瓜 <i>Citrullus lanatus</i> (Thunb.) Matsum. & Nakai	中国 China	高世代自交系, 红肉中果, 单果质量 4.0~6.0 kg Inbred line with more than eight generation self-pollination, red flesh, fruit mass with 4.0-6.0 kg
21C22	栽培西瓜 <i>Citrullus lanatus</i> (Thunb.) Matsum. & Nakai	中国 China	高世代自交系, 红肉中果, 单果质量 4.0~6.0 kg Inbred line with more than eight generation self-pollination, red flesh, fruit mass with 4.0-6.0 kg
ZJ84F	栽培西瓜 <i>Citrullus lanatus</i> (Thunb.) Matsum. & Nakai	中国 China	杂交种 8424 改良版, 红肉中果 Hybrid, 单果质量 4.0~6.0 kg 8424 modified type, red flesh, fruit mass with 4.0-6.0 kg
D65	栽培西瓜 <i>Citrullus lanatus</i> (Thunb.) Matsum. & Nakai	中国 China	高世代自交系黄小玉类型(选), 黄肉小果, 单果质量 1.5~2.5 kg Inbred line with more than eight generation self-pollination Huangxiaoyu -type, yellow flesh, fruit mass with 1.5-2.5 kg
ZXG1355	饲用西瓜 <i>Citrullus amarus</i> Schrad	津巴布韦 Zimbabwe	野生西瓜 Wild germplasm
E169	栽培西瓜 <i>Citrullus lanatus</i> (Thunb.) Matsum. & Nakai	中国 China	高世代自交系, 红肉中果, 单果质量 4.0~6.0 kg Inbred line with more than eight generation self-pollination, red flesh, fruit mass with 4.0-6.0 kg
C15e1	栽培西瓜 <i>Citrullus lanatus</i> (Thunb.) Matsum. & Nakai	中国 China	高世代自交系, 红肉中果, 单果质量 4.0~6.0 kg Inbred line with more than eight generation self-pollination, red flesh, fruit mass with 4.0-6.0 kg
21Ce2	栽培西瓜 <i>Citrullus lanatus</i> (Thunb.) Matsum. & Nakai	中国 China	高世代自交系, 红肉中果, 单果质量 4.0~6.0 kg Inbred line with more than eight generation self-pollination, red flesh, fruit mass with 4.0-6.0 kg
21C15	栽培西瓜 <i>Citrullus lanatus</i> (Thunb.) Matsum. & Nakai	中国 China	高世代自交系, 红肉中果, 单果质量 4.0~6.0 kg Inbred line with more than eight generation self-pollination, red flesh, fruit mass with 4.0-6.0 kg
GR20	栽培西瓜 <i>Citrullus lanatus</i> (Thunb.) Matsum. & Nakai	中国 China	高世代自交系, 红肉小果, 单果质量 1.5~2.5 kg Inbred line with more than eight generations self-pollination, red flesh, fruit mass with 1.5-2.5 kg
J1	栽培西瓜 <i>Citrullus lanatus</i> (Thunb.) Matsum. & Nakai	中国 China	高世代自交系, 红肉小果, 单果质量 1.5~2.5 kg Inbred line with more than eight generations self-pollination, red flesh, fruit mass with 1.5-2.5 kg
G150	栽培西瓜 <i>Citrullus lanatus</i> (Thunb.) Matsum. & Nakai	中国 China	高世代自交系, 黄肉小果, 单果质量 1.5~2.5 kg Inbred line with more than eight generations self-pollination, yellow flesh, fruit mass with 1.5-2.5 kg
GY14	栽培西瓜 <i>Citrullus lanatus</i> (Thunb.) Matsum. & Nakai	中国 China	高世代自交系, 黄肉中果, 单果质量 4.0~6.0 kg Inbred line with more than eight generation self-pollination, yellow flesh, fruit mass with 4.0-6.0 kg
GR14	栽培西瓜 <i>Citrullus lanatus</i> (Thunb.) Matsum. & Nakai	中国 China	高世代自交系, 黄肉小果, 单果质量 1.5~2.5 kg Inbred line with more than eight generations self-pollination, yellow flesh, fruit mass with 1.5-2.5 kg
GS2	栽培西瓜 <i>Citrullus lanatus</i> (Thunb.) Matsum. & Nakai	中国 China	高世代自交系, 黄肉小果, 单果质量 1.5~2.5 kg Inbred line with more than eight generations self-pollination, yellow flesh, fruit mass with 1.5-2.5 kg
B7-55	栽培西瓜 <i>Citrullus lanatus</i> (Thunb.) Matsum. & Nakai	美国 America	杂交种 Sugar Baby(选), 红肉中果, 单果质量 4.0~6.0 kg Hybrid Sugar Baby, red flesh, fruit mass with 4.0-6.0 kg
WN8-2	栽培西瓜 <i>Citrullus lanatus</i> (Thunb.) Matsum. & Nakai	中国 China	高世代自交系, 红肉小果, 单果质量 1.5~2.5 kg Inbred line with more than eight generations self-pollination, red flesh, fruit mass with 1.5-2.5 kg
21C37	栽培西瓜 <i>Citrullus lanatus</i> (Thunb.) Matsum. & Nakai	中国 China	高世代自交系, 红肉小果, 单果质量 1.5~2.5 kg Inbred line with more than eight generations self-pollination, red flesh, fruit mass with 1.5-2.5 kg

表 1 (续)
Table 1 (Continued)

材料编号 Material No.	植物学分类 Botanical classification	种质来源 Germplasm source	种质类型 Germplasm type
GS84	栽培西瓜 <i>Citrullus lanatus</i> (Thunb.) Matsum. & Nakai	中国 China	高世代自交系,红肉中果,单果质量 4.0~6.0 kg Inbred line with more than eight generation self-pollination, red flesh, fruit mass with 4.0-6.0 kg
GS28	栽培西瓜 <i>Citrullus lanatus</i> (Thunb.) Matsum. & Nakai	中国 China	高世代自交系,红肉小果,单果质量 1.5~2.5 kg Inbred line with more than eight generations self-pollination, red flesh, fruit mass with 1.5-2.5 kg
HR15	栽培西瓜 <i>Citrullus lanatus</i> (Thunb.) Matsum. & Nakai	中国 China	高世代自交系,红肉小果,单果质量 1.5~2.5 kg Inbred line with more than eight generations self-pollination, red flesh, fruit mass with 1.5-2.5 kg
56-1	饲用西瓜 <i>Citrullus amarus</i> Schrad	津巴布韦 Zimbabwe	野生西瓜 Wild germplasm
57-1	栽培西瓜 <i>Citrullus lanatus</i> (Thunb.) Matsum. & Nakai	美国 America	杂交种查理斯顿(选),橙肉中果,单果质量 4.0~6.0 kg Hybrid Charleston, orange flesh, fruit mass with 4.0-6.0 kg
WM	饲用西瓜 <i>Citrullus amarus</i> Schrad	津巴布韦 Zimbabwe	野生西瓜 Wild germplasm
WT20-16	栽培西瓜 <i>Citrullus lanatus</i> (Thunb.) Matsum. & Nakai	中国 China	高世代自交系,红肉小果,单果质量 1.5~2.5 kg Inbred line with more than eight generations self-pollination, red flesh, fruit mass with 1.5-2.5 kg

2765 个均匀分布于西瓜 11 条染色体的多态性 SNP 位点和 4 个 InDel 位点,平均每条染色体约 251.7 个标记,每 Mb 7.53 个 SNP 标记,确保基因组覆盖的完整性和分析的精确性。

1.2 芯片检测试验流程

检测试验包括(1)核酸提取。采集西瓜幼嫩的叶片样本,使用 CTAB 法提取 DNA,DNA 完整性通过 1%琼脂糖凝胶电泳检测,确保主带清晰且无明显拖尾,纯度满足 A₂₆₀/A₂₈₀ 在 1.8~2.0,A₂₆₀/A₂₃₀ 大于 2.0;质量浓度建议调整为 50~100 ng·μL⁻¹,使用 Qubit 荧光定量仪精确测定。设立阴性对照(以水代替模板)和阳性对照(已知基因型的标准品种)以监控试验全过程的质量。(2)文库构建。取 300 ng 质检合格的 DNA,加入片段化及末端修复酶 2.6 μL,末端修复反应缓冲液 4 μL,ddH₂O 补足至 20 μL。然后进行 37℃处理 30 min,72℃处理 30 min。破碎后的 DNA 经过末端修复后会在 3'端加 A;利用 DNA 连接酶 2 μL,缓冲液 8 μL,接头 4 μL,ddH₂O 补足至 20 μL,22℃处理 60 min。将加 A 后的 DNA 片段与接头连接在一起,利用 PCR 扩增将 Index 和适配测序仪的序列连接在含有接头的 DNA 片段两端形成完整的文库结构。加入纯化磁珠吸打或涡旋混匀对文库进行纯化和片段选择。将纯化后的不同样本的 DNA 文库进行等量混合。(3)杂交捕获。将探针和混合的文库浓缩到干粉状态,然后加入杂交体系中,进行杂交捕获。混合好的文库 2.5 μg,探针 300 ng,ddH₂O 补足至 16 μL,95℃处理

10 min,65℃处理 2~4 h。杂交结束后,取 16 μL 杂交捕获液转移至准备好的磁珠中。对富集的产物进行纯化,完成测序文库的制备。(4)测序及数据分析。将不同样本的测序文库进行等量混合,用华大 T7 测序仪进行高通量测序。根据不同样本的 barcode 对原始测序碱基进行数据拆分,过滤低质量测序数据,与西瓜 97103 参考基因组(V2.5)进行比对,挖掘 SNP 变异信息,依据获得的 SNP 信息得出相应的 SNP 基因型。

1.3 西瓜果皮和果肉硬度基因型分析及表型测定

根据前人研究报道,西瓜果皮耐裂基因型和易裂基因型在 *CIERF4* 基因编码区(Chr10_2681123)有 10 bp 插入(insTTCTTCGATC),西瓜果肉硬度位点 Chr06_13317084 在硬肉种质为 AA,非硬肉种质为 TT;果肉硬度位点 Chr06_12831389 在硬肉种质为 GG,非硬肉种质为 AA。参考 44 份西瓜种质 2K-SNP 西瓜芯片在上述位点的 SNP 信息为表型作参考。利用德国 STEPS 便携式数显果实硬度计测定西瓜种质自然成熟果实的果皮硬度和果肉硬度,每个材料采样 5 个果实,其中果皮硬度测定部位为横纵线交叉点,果肉硬度测定部位为纵切剖面中心位置。采用便携式折光糖度计(ATAGO PAL-1)对西瓜果实中心和靠近果皮约 1 cm 处分别切取果肉测量中心可溶性固形物和边部可溶性固形物含量。

1.4 分子标记试验流程

西瓜抗枯萎病分子标记为 7716_fon,用该分子

标记扩增试验材料后用 *Taq* I酶进行酶切,抗病材料片段为 170 bp,感病材料存在碱基 C-T 的突变,产生 1 个 *Taq* I酶切位点,扩增后能被切割成 104 bp 和 66 bp 片段。西瓜炭疽病菌生理小种 1 的抗性分子标记为 CL14-27-9,扩增产物为 227 bp,感病种质含有 1 个 *Hind*III 酶切位点,酶切后产生 213 bp 和 14 bp 片段;抗病种质含有 2 个 *Hind*III 酶切位点,酶切后产生 168、45 和 14 bp 3 个片段。西瓜抗白粉病菌生理小种的分子标记为 PMR2.1,扩增产物为 527 bp,感病种质含有 1 个 *Taq* I 酶切位点,酶切后产生 334 bp 和 223 bp 片段,抗病种质无酶切位点,酶切后检测只有 1 个片段。西瓜抗感材料在目标区间存在 A-G 的突变,根据突变位点所在区间设计的抗病毒病 KASP 分子标记为 CGMMVR。PCR 反应体系:2× *Taq* Mix(含 Mg^{2+} 、dNTP、buffer、*Taq*, 购自南京诺唯赞生物科技有限公司)10 μL,模板

DNA 1.0 μL,上、下游引物($10\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)各 0.8 μL, ddH₂O 补至 25 μL。PCR 扩增程序:95 °C预变性 5 min;95 °C变性 50 s,58 °C退火 50 s,72 °C延伸 30 s,共 35 个循环;最后 72 °C延伸 10 min,4 °C保存。FastDigest 限制性内切酶购自 Thermo Scientific 公司。KASP-PCR 反应体系为 KASP-PCR 反应体系(8 μL):1 μL DNA($60\text{ ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$),4 μL KASP Master mix(2×),0.14 μL 引物混合物,ddH₂O 补齐。KASP-PCR 扩增程序:程序 1 为 94 °C变性 15 min;程序 2 为 94 °C变性 20 s,61 °C退火 60 s,共 10 个循环(从第 2 个循环开始,每个循环降低 0.6 °C);程序 3 为 94 °C变性 20 s,55 °C退火 60 s,共 26 个循环。引物信息见表 2。

1.5 抗病鉴定试验

将试验材料和抗病、感病对照种子置于 55 °C 温汤中浸种 6 h,之后转移至 30 °C恒温箱中暗培养

表 2 PCR 引物序列
Table 2 Primers sequence for PCR

标记名称	上下游扩增引物
Marker name	Forward and reverse primers for amplification
7716_fon	7716_fon-F:5'-TTAAAAATCATCTCCTCTTTAAACTATT-3' 7716_fon-R:5'-ATATATTTGGTCTCCGAGTGTCAA-3'
CL14-27-9R	CL14-27-9R-F:5'-TCTCGGATAAGAAAGCTTCCAA-3' CL14-27-9R-R:5'-CGTTCGTCAAACCCAACTACAA-3'
PMR2.1	PMR2.1-F:5'-CTTTTGCTTGCATTGTGCAT-3' PMR2.1-R:5'-GGATGCAAAGGAGCTGTTTC-3'
CGMMVR	CGMMVR 等位上游引物 1 Allele1-specific forward primer: 5'-GAAGGTGACCAAGTTCATGCTGTCCGAAAAGGCGTAC-CA-3' 等位上游引物 2 Allele2-specific forward primer: 5'-GAAGGTGCGAGTCAACGGATTGTCCGAAAAGGCGTACCG-3' 通用下游引物 Common reverse primer: 5'-AATGAGAAGGGCAAGCATTC-3'

24 h,筛选发芽一致的种子,播种于灭菌的育苗基质中,浇水覆膜保湿。选取子叶展平期的西瓜材料幼苗 30 株,洗净根系,浸入浓度为 10^6 个·mL⁻¹ 枯萎病菌分生孢子悬浮液中 15 min,接种后移栽至营养钵,28 °C生长,3 d 后调查枯萎病发病情况,抗性标准参考姬万丽等^[20]的试验方法。喷雾法接种田间采样的炭疽病病菌,待西瓜幼苗长至 2 片真叶时,采用喷雾法将浓度为 10^6 个·mL⁻¹ 分生孢子悬浮液喷施到叶片上,接种 7 d 后调查发病情况,每份材料接种 30 个单株,抗病标准参考孙玉燕等^[21]的方法。喷雾法接种田间采样的白粉病病菌:子叶展平后,将白粉菌孢子悬浮液喷施于叶片表面,每个材料接种 30 个单株,接种后置于 28 °C/20 °C(日/夜)、相对湿度为 70%的培养室内,接种 2~3 周充分发病后,按照徐向丽等^[22]的方法进行抗性评价。因为园区有病毒病感染风险,故未进行病毒病接种试验。

1.6 数据分析及作图

采用 GraphPad Prism 8.0 进行作图分析。遗传相似性分析是根据液相芯片测定结果在博瑞迪云平台(<http://big.molbreeding.com/>)完成,使用 Interactive Tree Of Life 在线工具对相似性分析结果图进行可视化美化与注释。

2 结果与分析

2.1 西瓜种质资源遗传相似性分析

利用 2K 液相芯片对 44 份西瓜种质资源进行分析。如图 1 所示,所选的种质资源的相似系数大部分集中在 0.5~0.8,由于相似系数 ≥ 0.9 表明高度相似, ≤ 0.45 表明高度分化,因此,设定阈值来识别高相似度(相似系数 ≥ 0.9)和低相似度(相似系数 ≤ 0.45)的种质对。T2-53 和 G37,D65 和 D66, FUW、WT20-43 和 21C46 种质间遗传相似系数为

A	种质号	C150	21C15	G228	56-1	SP-1	CSM	C27	D65	C41	WN-1	JC-5	WN8-2	B7-55	GR14	GR20	21C27	T2-53	C36	C30	GR2	21C22	C15e1	D66	WT20-43	FW	21C22	GR21	ZJ84F	G116	21C48	WT20-16	21C33	21C46	E169	G32	G714	HR15	J1	WT1	W	WT20-16	ZJ84F								
	C150																																																		
	21C15	0.6591																																																	
	G228	0.7196	0.6766																																																
	56-1	0.4946	0.5243	0.5125																																															
	SP-1	0.5353	0.532	0.5906	0.4989																																														
	CSM	0.7149	0.6567	0.6281	0.595	0.5809																																													
	C27	0.6936	0.6686	0.7484	0.5929	0.5896	0.7081																																												
	D65	0.7601	0.6708	0.7582	0.5102	0.5846	0.7351	0.6862																																											
	C41	0.7446	0.7082	0.7725	0.595	0.5264	0.7463	0.7462	0.7259																																										
	WN-1	0.7054	0.6804	0.8228	0.5183	0.5889	0.8024	0.7385	0.7637	0.7489																																									
	JC-5	0.7196	0.6738	0.805	0.5117	0.5755	0.7965	0.6652	0.741	0.7266	0.8287																																								
	WN8-2	0.7189	0.6827	0.8218	0.521	0.5773	0.8701	0.7279	0.7587	0.737	0.9265	0.8423																																							
	B7-55	0.6791	0.6838	0.7178	0.4394	0.5809	0.636	0.683	0.6958	0.7558	0.7	0.7187	0.6917																																						
	GR14	0.6803	0.6295	0.6744	0.482	0.574	0.6914	0.6489	0.7072	0.6852	0.6832	0.6588	0.882	0.7124																																					
	GR20	0.6653	0.6102	0.6965	0.4549	0.6218	0.6889	0.6882	0.6824	0.7171	0.6729	0.6993	0.8824	0.7431	0.7125																																				
	21C27	0.6277	0.6541	0.674	0.4938	0.5867	0.6803	0.6918	0.6345	0.7102	0.6895	0.631	0.6614	0.7431	0.716	0.7482																																			
	T2-53	0.6836	0.6886	0.7484	0.5928	0.5896	0.7081	1	0.6842	0.7462	0.7265	0.6852	0.7279	0.6863	0.6469	0.6802	0.6818																																		
	C36	0.6943	0.6914	0.7241	0.4957	0.5388	0.746	0.7303	0.7125	0.7677	0.7492	0.724	0.7424	0.6827	0.6592	0.669	0.6846	0.7702																																	
	C30	0.695	0.6961	0.7234	0.5046	0.5204	0.7457	0.7786	0.716	0.7229	0.7302	0.7279	0.7281	0.687	0.661	0.6733	0.681	0.7706	0.9588																																
	GR2	0.6975	0.7041	0.7276	0.4912	0.5382	0.7543	0.7844	0.7174	0.7652	0.7826	0.7276	0.7529	0.6805	0.6553	0.6668	0.6554	0.7844	0.9515	0.945																															
	21C22	0.6248	0.7941	0.6328	0.4328	0.5204	0.6271	0.6284	0.6368	0.6622	0.6471	0.6433	0.6411	0.6682	0.6559	0.5884	0.6436	0.6294	0.6596	0.6585	0.6708																														
	C15e1	0.6719	0.652	0.6816	0.5035	0.5454	0.6798	0.6751	0.6727	0.7113	0.6524	0.6726	0.6849	0.6715	0.6581	0.6824	0.6418	0.6751	0.7001	0.7001	0.7182	0.9153																													
	D66	0.7601	0.6708	0.7582	0.5102	0.5846	0.7351	0.6862	1	0.7259	0.7637	0.741	0.7587	0.6858	0.7073	0.6824	0.6342	0.6842	0.7125	0.716	0.7174	0.6288	0.6737																												
	WT20-43	0.6887	0.6882	0.7605	0.4917	0.5458	0.7771	0.763	0.7279	0.7624	0.7944	0.7478	0.7797	0.6751	0.6469	0.6821	0.6897	0.763	0.915	0.9027	0.9041	0.6527	0.6975	0.7279																											
	FW	0.6887	0.6882	0.7605	0.4917	0.5458	0.7771	0.763	0.7279	0.7624	0.7944	0.7478	0.7797	0.6751	0.6469	0.6821	0.6897	0.763	0.915	0.9027	0.9041	0.6527	0.6975	0.7279	1																										
	21C22	0.6763	0.6981	0.6991	0.5042	0.5168	0.6713	0.6826	0.6527	0.7317	0.6789	0.7219	0.6851	0.7228	0.6283	0.6557	0.6647	0.6836	0.6834	0.6832	0.6938	0.6418	0.6814	0.6937	0.6756	0.6756																									
	GR28	0.6754	0.6287	0.6696	0.487	0.6054	0.6551	0.6591	0.7658	0.6587	0.6889	0.6786	0.6754	0.7155	0.671	0.6728	0.6952	0.6591	0.667	0.6735	0.6725	0.6210	0.6283	0.7058	0.6834	0.6834	0.6489																								
	GR21	0.6892	0.6288	0.7106	0.4889	0.624	0.6983	0.6887	0.6843	0.6729	0.7279	0.687	0.7721	0.7471	0.6882	0.7587	0.6897	0.6722	0.6798	0.6720	0.6328	0.6306	0.6643	0.6806	0.6806	0.6981	0.701																								
	ZJ84F	0.5755	0.6127	0.6044	0.5825	0.5887	0.5889	0.5879	0.5715	0.6182	0.5789	0.6272	0.5744	0.6855	0.6265	0.6243	0.6526	0.5679	0.5592	0.5708	0.5624	0.5827	0.5896	0.5715	0.5829	0.5829	0.623	0.6155	0.6828																						
	C116	0.64	0.6892	0.6487	0.5161	0.5187	0.6187	0.6189	0.6559	0.6715	0.6758	0.6257	0.6201	0.648	0.5843	0.5897	0.6472	0.6189	0.6259	0.64	0.6248	0.6042	0.6476	0.6529	0.6288	0.6288	0.6881	0.6167	0.6226	0.6106																					
	WT20-16	0.6888	0.6883	0.7211	0.5186	0.5275	0.7214	0.754	0.7088	0.7659	0.7286	0.7048	0.7091	0.6664	0.6527	0.6834	0.6794	0.754	0.814	0.8271	0.8072	0.6275	0.6816	0.7088	0.8086	0.8086	0.6881	0.6487	0.6887	0.5827	0.6726																				
	21C12	0.685	0.6883	0.7247	0.4716	0.5383	0.7012	0.678	0.6545	0.7883	0.7036	0.7082	0.6802	0.7547	0.7048	0.7475	0.7255	0.678	0.6888	0.7026	0.6957	0.6425	0.657	0.6545	0.6886	0.6886	0.6713	0.6824	0.7518	0.6388	0.6882	0.6845																			
	21C33	0.6815	0.7083	0.6382	0.5882	0.4989	0.6453	0.6439	0.6486	0.7	0.6488	0.6381	0.6471	0.6634	0.6886	0.5883	0.6457	0.6428	0.6721	0.6815	0.6881	0.6482	0.6882	0.6486	0.6714	0.6714	0.7025	0.6482	0.6214	0.6238	0.7275	0.7058	0.6482																		
	21C46	0.6887	0.6882	0.7605	0.4917	0.5458	0.7771	0.763	0.7279	0.7624	0.7944	0.7478	0.7797	0.6751	0.6469	0.6821	0.6897	0.763	0.915	0.9027	0.9041	0.6527	0.6975	0.7279	1	1	0.6756	0.6824	0.6886	0.6886	0.6886	0.6886	0.6886	0.6886	0.6886	0.6886	0.6886	0.6886	0.6886	0.6886	0.6886	0.6886	0.6886	0.6886	0.6886	0.6886	0.6886	0.6886			
	E169	0.6848	0.6838	0.6888	0.471	0.6138	0.6786	0.6438	0.7882	0.6827	0.6819	0.7025	0.6837	0.724	0.7284	0.6888	0.7025	0.6428	0.6878	0.6648	0.6784	0.785	0.7847	0.6782	0.6838	0.6838	0.6422	0.6861	0.7141	0.6122	0.5943	0.6529	0.7123	0.6188	0.6638																
	G32	0.7547	0.5884	0.695	0.4881	0.6258	0.7138	0.6577	0.7884	0.6755	0.7058	0.7187	0.6854	0.6872	0.7014	0.6755	0.644	0.6577	0.6538	0.6614	0.6679	0.644	0.6476	0.7594	0.6367	0.6367	0.6416	0.7382	0.7086	0.																					

WM 的相似系数为 0.355 5,是矩阵中最低值,表明两者遗传背景极不相似。此外,ZCHY1 和 56-1 相似系数为 0.357 0;ZJ84F 和 WM 相似系数为 0.394 3;ZJ84F 和 56-1 相似系数为 0.395 5。ZCHY1 和 57-1 相似系数为 0.435 4。这些低相似度种质涉及 ZCHY1、WM 和 56-1 等,其中 WM 野生种与多个栽培种如 ZCHY1、ZJ84F 差异较大。WM 野生西瓜与 56-1 的相似系数高达 0.980 6,但与其他种质如 ZCHY1 差异较大,表明 WM 可能是一个遗传独特的野生群体,与某些栽培种有基因渗入。

2.2 西瓜果实性状分子标记鉴定和品质鉴定
如表 3 和图 2 所示,将液相芯片测定结果中果皮硬度位点基因型和表型数据进行关联分析,大多数果皮硬度 $\leq 10\text{ kgf}\cdot\text{cm}^{-1}$ 的材料在 Chr10_2681123 位点是纯合 TT,或者杂合 T/insTTCTTCGATC。果皮硬度 $\geq 12\text{ kgf}\cdot\text{cm}^{-1}$ 同时在 Chr10_2681123 位点是纯合 insTTCTTCGATC 的西瓜种质有 24 份,如 GR21、G38、WN8-1、G116、D66、G41、W20-12、FUW、G36、21C33、21C46、WT20-43、D65、ZXG1355、21C15、GR20、GR14、B7-55、

表 3 果皮耐裂和果肉硬度基因型及表型测定
Table 3 Genotype and phenotype for rind hardness and flesh firmness

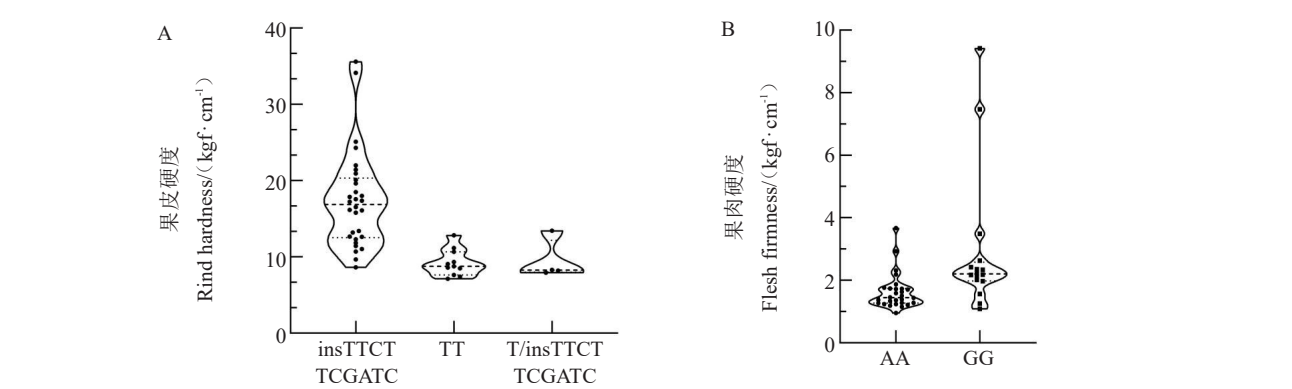
材料名称 Material name	果皮硬度位点 Rind hardness genotype Chr10_2681123	果皮硬度 Rind hardness/ ($\text{kgf}\cdot\text{cm}^{-1}$)	果肉硬度位点 Flesh firmness genotype Chr06_13317084	果肉硬度位点 Flesh firmness genotype Chr06_12831389	果肉硬度 Flesh firmness/ ($\text{kgf}\cdot\text{cm}^{-1}$)
97103(CK)	TT	9.07	TT	AA	1.19
GR28	TT	9.36	TT	GG	1.09
JC-5	insTTCTTCGATC	11.06	TT	GG	2.12
GR21	insTTCTTCGATC	17.88	TT	GG	2.18
G38	insTTCTTCGATC	17.38	TT	AA	2.19
WN8-1	insTTCTTCGATC	12.65	TT	AA	1.63
21C48	TT	8.62	TT	AA	1.50
G62	insTTCTTCGATC	11.85	TT	AA	1.15
G116	insTTCTTCGATC	19.64	TT	GG	1.56
D66	insTTCTTCGATC	12.30	TT	GG	2.35
G41	insTTCTTCGATC	17.24	TT	AA	1.73
G37	TT	12.84	TT	AA	1.24
W20-12	insTTCTTCGATC	18.00	TT	AA	1.21
FUW	insTTCTTCGATC	20.95	TT	AA	1.28
ZCHY1	insTTCTTCGATC	8.64	TT	AA	1.74
G36	insTTCTTCGATC	13.41	TT	AA	1.45
NBT1	TT	11.18	TT	AA	1.76
21C33	insTTCTTCGATC	16.56	TT	AA	1.70
T2-53	TT	7.42	TT	AA	1.34
21C46	insTTCTTCGATC	22.03	TT	AA	1.39
WT20-43	insTTCTTCGATC	20.13	TT	AA	1.28
21C22	insTTCTTCGATC	11.45	TT	AA	1.37
ZJ84F	T/insTTCTTCGATC	13.46	TT	AA	1.44
D65	insTTCTTCGATC	15.80	TT	GG	2.42
ZXG1355	insTTCTTCGATC	34.15	TT	GG	7.47
E169	T/insTTCTTCGATC	8.21	TT	GG	2.17
C15e1	T/insTTCTTCGATC	8.33	TT	GG	2.34
21Ce2	T/insTTCTTCGATC	7.95	TT	GG	2.22
21C15	insTTCTTCGATC	24.30	TT	AA	2.93
GR20	insTTCTTCGATC	21.45	TT	GG	3.49
J1	insTTCTTCGATC	10.73	TT	GG	1.97
G150	TT	7.65	TT	GG	2.01
GY14	TT	8.50	TT	AA	1.27

表 3 (续)					
Table 3 (Continued)					
材料名称 Material name	果皮硬度位点 Rind hardness genotype Chr10_2681123	果皮硬度 Rind hardness/ (kgf·cm ⁻¹)	果肉硬度位点 Flesh firmness genotype Chr06_13317084	果肉硬度位点 Flesh firmness genotype Chr06_12831389	果肉硬度 Flesh firmness/ (kgf·cm ⁻¹)
GR14	insTTCTTCGATC	16.18	TT	AA	1.87
GS2	TT	7.15	TT	GG	1.25
B7-55	insTTCTTCGATC	17.58	TT	AA	1.59
WN8-2	insTTCTTCGATC	9.69	TT	AA	1.72
21C37	insTTCTTCGATC	13.21	TT	AA	1.36
GS84	TT	8.79	TT	AA	0.95
GS28	insTTCTTCGATC	12.69	TT	AA	3.67
HR15	TT	10.67	TT	AA	1.24
56-1	insTTCTTCGATC	35.63	TT	GG	9.42
57-1	insTTCTTCGATC	18.50	TT	GG	2.63
WM	insTTCTTCGATC	25.10	AA	GG	18.21
WT20-16	insTTCTTCGATC	16.10	TT	AA	2.31

21C37、GS28、56-1、57-1、WM、WT20-16。但是个别种质如西瓜种质 ZJ84F 果皮硬度 13.46 kgf·cm⁻¹, 在 Chr10_2681123 位点是杂合 T/insTTCTTCGATC; ZCHY1 果皮硬度平均 8.64 kgf·cm⁻¹, 在 Chr10_2681123 位点是纯合 insTTCTTCGATC, 这类表型和 *CIERF4* 基因编码区基因突变类型不一致, 可能是因为果皮耐裂性由多基因控制, 单一基因无法解释全部的变异。果肉硬度位点 Chr06_13317084 在 WM 材料中是 AA, 其余材料中为 TT, WM 果肉硬度为 18.21 kgf·cm⁻¹, 其余种质果肉硬度 < 10 kgf·cm⁻¹, 表明此位点基因型与硬度 > 10 kgf·cm⁻¹ 的表型相关联。大多数西瓜种质在

果肉硬度 ≥ 2 kgf·cm⁻¹ 的 Chr06_12831389 位点为纯合 GG, 西瓜种质在果肉硬度 < 1.5 kgf·cm⁻¹ 的 Chr06_12831389 位点为纯合 AA。根据果肉硬度 ≥ 2 kgf·cm⁻¹ 表型同时果肉硬度位点 Chr06_12831389 为 GG 基因型的种质有 13 份, 如 JC-5、GR21、D66、D65、ZXG1355、E169、C15e1、21Ce2、GR20、G150、56-1、57-1、WM。但也存在个别种质果肉硬度和在该位点的基因型关联度不高的情况, 这可能是因为 SNP 分子标记并非直接导致表型的因果突变, 而是与功能位点存在连锁不平衡。

西瓜种质果皮和果肉硬度与相关基因型分布如图 2 所示。在西瓜育种中, 可溶性固形物含量是



注: A. insTTCTTCGATC 纯合基因型果皮硬度大多数 ≥ 12 kgf·cm⁻¹, TT 基因型和 T/insTTCTTCGATC 果皮硬度大多数 < 12 kgf·cm⁻¹。B. AA 基因型果肉硬度大多数 < 2 kgf·cm⁻¹, GG 基因型果肉硬度大多数 ≥ 2 kgf·cm⁻¹。

Note: A. Most accessions with the insTTCTTCGATC genotype had a rind hardness of ≥ 12 kgf·cm⁻¹, whereas those with the TT and T/insTTCTTCGATC genotypes had a rind hardness of < 12 kgf·cm⁻¹. B. Most accessions with the AA genotype had a flesh hardness of < 2 kgf·cm⁻¹, while those with the GG genotype had a flesh hardness of ≥ 2 kgf·cm⁻¹.

图 2 西瓜种质果皮和果肉硬度与相关基因型分布
Fig. 2 Distribution of rind hardness or flesh firmness and their associated genotypes in watermelon germplasm

核心品质,需要与耐裂性、硬度协同改良,本试验利用折光仪测定了西瓜种质的中心和边部可溶性固形物含量,分别筛选得到可溶性固形物含量高、耐裂和硬肉的种质资源如 JC-5、56-1、WM 等,设计多亲本杂交试验配制聚合 3 个优良性状的杂交种(表 4)。

2.3 西瓜抗病分子鉴定和苗期抗病鉴定

研究中检测了抗枯萎病基因、抗白粉病基因、抗炭疽病基因和抗 CGMMV 病毒病基因。结果显示,抗枯萎病种质 15 份,抗白粉病种质 7 份,抗炭疽病种质 12 份和抗 CGMMV 病毒病种质 1 份。苗期接种试验结果表明,高抗枯萎病材料 2 份,中抗枯萎病材料 11 份,轻抗材料 2 份;中抗或轻抗白粉病材料 8 份;抗炭疽病材料 15 份,包含中抗 10 份,轻抗 5 份(表 5)。结合分子标记对西瓜抗病性状基因型检测结果和供试材料在田间的表现,抗枯萎病种质如 JC-5,在田间表现出生长势强,后期不早衰,品质中等偏上;抗白粉病种质如 E169,总体生长势中等,果实品质优;抗炭疽病种质如 G116 等,大多数为晚熟,生长势强,品质中等偏上;抗 CGMMV 病毒病的种质 ZXG1355 田间晚熟,生长势强,分枝能力强,叶片浓密,果皮及果肉硬实,耐逆性强。上述抗性种质在西瓜抗病育种中具有潜在的应用价值,尤其是聚合 2 种或多种病害的抗性材料如 G41、C15e1、21Ce2 坐果性强、可溶性固形物含量高,可以进一步应用于种质的改良。

3 讨论与结论

本研究利用覆盖西瓜 11 条染色体的 2765 个多态性 SNP 与 InDel 位点组成的液相芯片,对种质资源进行遗传相似度分析。该技术具有通量高、覆盖均匀、检测效率高等优势,能够实现对大量种质进行快速、标准化的基因分型,为精准评估遗传背景提供了可靠平台,基于此可以有效筛选出遗传相似度高与低的种质组合。通过识别高相似度种质,可合并冗余材料,构建既精简又保留大部分遗传多样性的核心种质集;而对低相似度种质的分析则有助于挖掘种质库中的变异潜力,优先保存具有育种价值的稀有等位基因。此外,明确了自交系间的遗传相似性,对指导杂交组合选配、培育高产优质广适应性品种尤为重要。通常,亲缘关系较近的材料间遗传相似度在 60%以上,而低于 50%则表明材料间亲缘关系较远^[23]。在本研究中,种质间遗传相似度范围为 0.356~1.0,其中 G36 与 G38、G36 与 G62 等属于高度相似品系,遗传背景接近,在组配与测配时应视为姊妹系,避免重复

表 4 西瓜种质资源的可溶性固形物含量
Table 4 Soluble solid content of watermelon germplasm

材料名称 Material name	w(中心可溶性固形物) Central soluble solids content/%	w(边部可溶性固形物) Edge soluble solids content/%
97103(CK)	11.90	10.50
GR28	12.15	8.80
JC-5	12.50	9.50
GR21	12.00	11.05
G38	10.30	10.30
WN8-1	10.10	9.80
21C48	11.30	10.00
G62	11.00	9.70
G116	10.90	7.40
D66	10.20	9.90
G41	11.48	10.43
G37	12.00	9.13
W20-12	10.00	8.80
FUW	12.00	10.15
ZCHY1	9.70	9.40
G36	11.03	9.78
NBT1	12.40	9.60
21C33	12.00	7.90
T2-53	11.77	9.33
21C46	11.45	9.25
WT20-43	11.55	9.15
21C22	10.55	9.40
ZJ84F	11.80	11.10
D65	10.65	9.45
ZXG1355	8.21	2.15
E169	8.21	2.17
C15e1	10.22	9.18
21Ce2	10.01	9.23
21C15	10.96	9.72
GR20	10.40	10.10
J1	10.50	9.45
G150	10.17	9.91
GY14	10.65	10.00
GR14	12.90	11.40
GS2	10.70	9.62
B7-55	11.10	6.90
WN8-2	11.20	8.80
21C37	11.07	9.24
GS84	11.06	9.96
GS28	12.15	8.80
HR15	10.91	10.12
56-1	3.20	1.96
57-1	7.60	6.00
WM	3.01	1.25
WT20-16	11.78	11.00

表 5 西瓜种质抗病基因型检测和部分表型鉴定结果

Table 5 The result of genotype test and phenotype identification of watermelon germplasms

材料名称 Material name	枯萎病 <i>Fusarium</i> wilt		白粉病 Powdery mildew		炭疽病 Anthracnose		CGMMV 病毒病 Cucumber green mottle mosaic virus
	基因型检测 Genotype test	表型鉴定 Phenotype identification	基因型检测 Genotype test	表型鉴定 Phenotype identification	基因型检测 Genotype test	表型鉴定 Phenotype identification	基因型检测 Genotype test
GR28	S	S	S	S	S	S	S
JC-5	R	MR	S	S	S	LR	S
GR21	S	S	S	S	S	S	S
G38	S	S	S	S	S	S	S
WN8-1	S	S	S	S	S	LR	S
21C48	S	S	S	S	S	S	S
G62	S	S	S	S	S	S	S
G116	R	LR	S	S	R	MR	S
D66	S	S	S	S	S	S	S
G41	R	MR	S	S	H	LR	S
G37	R	MR	S	S	S	S	S
W20-12	S	S	S	S	R	MR	S
FUW	S	S	S	S	S	S	S
ZCHY1	S	S	S	S	H	LR	S
G36	S	S	S	S	S	S	S
NBT1	S	S	S	S	S	S	S
21C33	R	MR	S	S	R	MR	S
T2-53	R	MR	S	S	S	S	S
21C46	S	S	S	S	S	S	S
WT20-43	S	S	S	S	S	S	S
21C22	S	S	S	S	R	MR	S
ZJ84F	S	S	S	S	S	S	S
D65	S	S	S	S	S	S	S
ZXG1355	R	HR	R	MR	S	LR	R
E169	R	MR	R	MR	R	MR	S
C15e1	R	MR	R	MR	H	MR	S
21Ce2	R	MR	R	MR	H	MR	S
21C15	R	MR	S	S	R	MR	S
GR20	S	S	R	MR	S	S	S
J1	R	LR	S	S	S	S	S
G150	S	S	S	S	S	S	S
GY14	S	S	S	S	S	S	S
GR14	S	S	S	S	S	S	S
GS2	S	S	S	S	S	S	S
B7-55	S	S	S	S	S	S	S
WN8-2	R	MR	S	LR	S	S	S
21C37	S	S	R	MR	S	S	S
GS84	S	S	S	S	S	S	S
GS28	S	S	S	S	S	S	S
HR15	S	S	S	S	S	S	S
56-1	S	S	S	S	S	S	S
57-1	R	MR	S	S	S	S	S
WM	R	HR	R	MR	R	MR	S
WT20-16	S	S	S	S	R	MR	S

注:R. 抗病;S. 感病;H. 杂合位点(抗病);HR. 高抗;MR. 中抗;LR. 轻抗。

Note: R. Resistant; S. Susceptible; H. Heterozygous locus(Resistant); HR. Highly resistant; MR. Moderately resistant; LR. Low resistance.

使用。然而,液相芯片分析也存在局限性,比如其位点是基于已知部分西瓜种质基因组信息预先设计,可能无法捕捉基因组结构变异或未知重要位点,在认知全基因组变异范围方面存在一定盲区。因此,未来还需要对西瓜特定性状深入解析,结合重测序或其他功能标记进行验证。

西瓜果实耐裂性与果皮细胞结构、代谢物含量有关,并受到调控基因、激素水平等内在遗传因素以及水分、肥力、温度、光照等外在环境条件的影响^[24]。乙烯响应因子 *CIERF4* 是控制西瓜果皮硬度和开裂的关键基因,参与木质素生物合成和积累、细胞壁修饰或降解^[10]。本研究对西瓜种质资源在耐裂基因 *CIERF4* 编码区突变类型与果皮硬度进行关联分析,大多数材料在编码区为耐裂突变类型(in-sTTCTTCGATC)时,表现为果皮硬度较高。但仍存在个别材料在易裂突变类型(TT)测定的果皮硬度较高。这可能是果皮硬度受到果皮各层结构和多种代谢组分综合作用的结果。在西瓜以及其他物种中发现蛋白质编码的基因或者表达调控元件起作用,如西瓜扩展蛋白(expansins, EXP)能够快速诱导细胞壁扩张和刺激其应力松弛;西瓜 Cla002042 和 Cla010096 是木聚糖内转葡萄糖苷酶/水解酶(XTH1)基因,调节细胞壁伸长和果皮软化,是参与西瓜果实开裂的关键细胞壁调控基因^[25];西瓜果皮木质素合成关键基因为 *CIPRX54*^[26];Yang 等^[27]通过构建遗传群体定位了调控西瓜果皮硬度(rind hardness)的 QTLs,分别位于 Chr09 染色体和 Chr10 染色体;同时定位了调控果皮韧性(rind toughness)的 QTL,定位于 Chr10 染色体。果皮硬度采用硬度计或者质构仪测量,果皮韧性通过拉伸或撕裂测试,测量断裂所需的能量或最大载荷。这 2 个外皮机械性能的指标在育种和采后处理中都非常重要。因此,还需要进一步精细评价指标,深入挖掘果实耐裂性状的关键基因,进而评价适应产业发展需求的西瓜种质。同样,西瓜果肉硬度受到植物激素、细胞壁成分以及相关酶类调控,果实软化直接与纤维素、半纤维素和可溶性果胶的降解有关^[28-29],位于 Chr02 染色体的 Cla016033(DUF579 家族成员)和位于 Chr08 染色体的 Cla012507(MADS-box 转录因子)是控制西瓜果肉硬度的主要候选基因,前者调节果实成熟,后者影响细胞壁半纤维素成分木聚糖的完整性^[30]。许多 ERF(ethylene-responsive factor)蛋白作为转录因子调控果实成熟和细胞壁生物合成^[31]。Zhou 等^[32]对硬肉西瓜 *Citrullus mucoso-*

spermus 和非硬肉西瓜 *Citrullus lanatus* 构建 RIL 群体并进行分析,确定了 *CIERF1* 候选基因 Cla97C06G118820 通过调控 ClAux/IAA 和 ClEXT 决定西瓜果肉硬度。本试验所用的 2K 液相芯片在此区域无 SNP 标记,未能检测 44 份种质在 *CIERF1* 的基因型,后续将采用更高密度的基因芯片分析果肉硬度的基因变异类型,以开发 KASP 分子标记辅助育种。

西瓜抗病分子鉴定可以在苗期 3~7 d 内同步检测多个病害抗性位点,减少田间病原菌接种和隔离设施,在早期淘汰感病单株,节省田间管理成本,能够有效缩短育种周期。但是实际应用中还存在技术瓶颈,如(1)分子标记具有种质依赖性,如在亚洲栽培种中有效,在野生西瓜中失效,需要建立生态型特异性的抗病标记库。(2)由于病原菌生理小种存在分化,导致适用于专化型病原菌的分子标记应用受限,需要挖掘广谱抗性基因资源或者聚合多个抗性基因资源。(3)当连锁标记与目标基因物理距离较远时会因重组事件导致连锁断裂,需要开发紧密连锁抗性表型的基因功能标记,或者整合多个紧密连锁 SNP 形成单倍型,减少重组干扰,或选择基因组共线性高的保守区域开发标记。

综上所述,本研究利用西瓜 2K 液相芯片对 44 份种质资源进行遗传相似性分析,明确了遗传背景,将资源优化为 40 份代表性种质,为后续精准育种奠定了资源基础。根据芯片数据中 SNP 突变与果皮耐裂性和果肉硬度的表型相关联,鉴定获得了 24 份果皮耐裂和 13 份高果实硬度的种质,并同步评估了种质资源的可溶性固形物含量及对枯萎病、炭疽病、白粉病和 CGMMV 等多种病害的抗性水平。本研究结果为培育优质、多抗的突破性西瓜新品种提供了种质资源和科学依据。

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] 高磊.西瓜果肉硬度和酸味性状的转录组分析及主效基因的精细定位[D].北京:中国农业科学院,2018.
- [3] DUAN S X, WANG D K, KANG Q S, et al. The development of liquid-phase chip by target sequencing and their application in watermelon molecular breeding[J]. Horticultural Plant Journal, 2025, 11(6):2109-2120.
- [4] GUO Z F, YANG Q, HUANG F F, et al. Development of high-resolution multiple-SNP arrays for genetic analyses and molecular breeding through genotyping by target sequencing and liquid chip[J]. Plant Communications, 2021, 2(6): 100230-100235.

- [5] YANG J J, ZHANG J, DU H S, et al. Genetic relationship and pedigree of Chinese watermelon varieties based on diversity of perfect SNPs[J]. Horticultural Plant Journal, 2022, 8 (4): 489-498.
- [6] GUO S G, ZHANG J G, SUN H H, et al. The draft genome of watermelon (*Citrullus lanatus*) and resequencing of 20 diverse accessions[J]. Nature Genetics, 2013, 45(1):51-58.
- [7] GUO S G, ZHAO S J, SUN H H, et al. Resequencing of 414 cultivated and wild watermelon accessions identifies selection for fruit quality traits[J]. Nature Genetics, 2019(11):1616-1623.
- [8] DENG Y, LIU S C, ZHANG Y L, et al. A telomere-to-telomere gap-free reference genome of watermelon and its mutation library provide important resources for gene discovery and breeding[J]. Molecular Plant, 2022, 15(8):1268-1284.
- [9] 张金鹏, 金鑫, 赵艳菲, 等. 西瓜分子标记辅助育种研究与应用进展[J]. 中国瓜菜, 2022, 35(4):1-7.
- [10] 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 Journal, 2020, 18(4):1066-1077.
- [11] 高磊, 赵胜杰, 路绪强, 等. 利用 SSR 标记对西瓜果肉硬度性状的连锁分析[J]. 植物遗传资源学报, 2016, 17(5):866-870.
- [12] 朱红菊, 刘文革, 何楠, 等. 用于鉴定西瓜果肉硬度的 KASP 分子标记、引物及应用:CN 202310107874.6[P]. 2023-06-06.
- [13] 李娜, 王吉明, 尚建立, 等. 西瓜枯萎病生理小种 1 抗性 QTL 精细定位与 InDel 标记开发[J]. 中国农业科学, 2017, 50(1):131-141.
- [14] JANG Y J, SEO M, HERSH C P, et al. An evolutionarily conserved non-synonymous SNP in a leucine-rich repeat domain determines anthracnose resistance in watermelon[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2018, 132(2):473-488.
- [15] MANDAL M K, SUREN H, KOUSIK C. Elucidation of resistance signaling and identification of powdery mildew resistant mapping loci (*ClPMR2*) during watermelon-Podosphaera xanthii interaction using RNA-Seq and whole-genome resequencing approach[J]. Scientific Reports, 2020, 10(1):14038.
- [16] 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.
- [17] 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.
- [18] 武彦荣, 许勇, 党继革, 等. 西瓜多抗种质创制与设施新品种选育[Z]. 石家庄: 河北省农林科学院经济作物研究所, 2020-04-10.
- [19] 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.
- [20] 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.
- [21] 孙玉燕, 范敏, 何艳军. 西瓜炭疽病菌离体叶片接种鉴定技术[J]. 浙江农业科学, 2019, 60(8):1460-1462.
- [22] 徐向丽, 宫国义, 郭绍贵, 等. 西瓜对白粉病的抗性鉴定及遗传分析[J]. 华北农学报, 2008, 23(4):37-40.
- [23] 许洛, 李中建, 王绍新, 等. 外引青贮玉米自交系的遗传关系分析[J]. 玉米科学, 2023, 31(4):15-23.
- [24] MANZOOR M A, XU Y, LV Z X, et al. Horticulture crop under pressure: Unraveling the impact of climate change on nutrition and fruit cracking[J]. Journal of Environmental Management, 2024, 357(15):120759.
- [25] JIANG H K, TIAN H M, YAN C S, et al. RNA-seq analysis of watermelon (*Citrullus lanatus*) to identify genes involved in fruit cracking[J]. Scientia Horticulturae, 2019, 248:248-255.
- [26] 李福, 谢露露, 刘季扬, 等. 西瓜果实耐裂性的生理基础及其遗传和环境调控[J]. 中国瓜菜, 2023, 36(5):1-7.
- [27] 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):19-37.
- [28] ANEES M, GAO L, UMER M J, et al. Identification of key gene networks associated with cell wall components leading to flesh firmness in watermelon[J]. Frontiers in Plant Science, 2021, 12:630243.
- [29] SUN L, ZHANG Y S, CUI H N, et al. Linkage mapping and comparative transcriptome analysis of firmness in watermelon (*Citrullus lanatus*) [J]. Frontiers in Plant Science, 2020, 11:831-845.
- [30] MASHILO J, SHIMELIS H, NGWEPE R M, et al. Genetic analysis of fruit quality traits in sweet watermelon (*Citrullus lanatus* var. *lanatus*): A review[J]. Frontiers in Plant Science, 2022, 13(14):834696.
- [31] WANG X B, ZENG W F, DING Y F, et al. Peach ethylene response factor *PpeERF2* represses the expression of ABA biosynthesis and cell wall degradation genes during fruit ripening[J]. Plant Science, 2019, 283:116-126.
- [32] ZHOU Y M, SHEN Q H, CAI L M, et al. Promoter variations of *ClERF1* gene determines flesh firmness in watermelon[J]. BMC Plant Biology, 2024, 24(1):290.