

基于 2b-RAD 简化基因组测序的 甜瓜遗传多样性分析

曹燕燕, 刁倩楠, 陈幼源, 张永平*

(上海市农业科学院 园艺研究所, 上海市设施园艺技术重点实验室, 上海 201403)

摘 要: 该研究利用 2b-RAD (type IIB endonucleases restriction-site associated DNA) 测序对 28 份厚皮甜瓜亲本材料的单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 位点进行基因分型, 分析其遗传多样性与亲缘关系, 为甜瓜分子标记辅助育种提供科学依据。结果表明: (1) 28 份甜瓜种质 SNPs 数量有 10 318 个, 其发生转换与发生颠换的比值为 2.15, 两两种质间的遗传分化系数和遗传距离的平均值分别为 0.88 和 2.22, 说明这 28 份种质之间存在高度的遗传分化。(2) 依据甜瓜的果皮颜色、果面网纹和果肉颜色 3 种性状, 分别将以上 28 份种质分为 4 个群体 (白皮群体、黄皮群体、青皮群体和绿皮群体)、3 个群体 (光皮群体、稀网群体和密网群体) 以及 3 个群体 (白肉群体、桔肉群体和绿肉群体)。(3) 表型性状遗传分析结果显示, 依据果皮颜色分类的各群体之间的遗传分化程度最高, 其遗传分化系数在 0.05~0.19 之间, 即均存在中度及以上程度的分化; 光皮群体与密网群体之间存在中度遗传分化, 但光皮群体与稀网群体之间以及稀网群体与密网群体之间均无显著分化; 白肉群体与桔肉群体之间存在中度遗传分化, 但白肉群体与绿肉群体之间以及桔肉群体与绿肉群体之间无明显分化。(4) 分子系统进化树分析将 28 份甜瓜种质划分为三类, 其中, 第一类包含 11 份种质 (主要为自主选育的纯合种质), 第二类包含 9 份种质 (大部分为从新疆引进或从新疆品种中选育出来的纯合种质), 第三类包含 8 份种质 (大部分为从日本引进或从日本品种中选育出来的纯合种质)。研究表明, 依据甜瓜分子水平的聚类结果与地理来源具有一定关系, 但其与育种者依据甜瓜的果皮颜色、果面网纹和果肉颜色对育种材料的分类结果不完全一致。

关键词: 甜瓜; 遗传多样性; 2b-RAD; 单核苷酸多态性

中图分类号: Q347; Q789; S652

文献标志码: A

Analysis of Genetic Diversity of Melon Based on 2b-RAD Simplified Genome Sequencing

CAO Yanyan, DIAO Qiannan, CHEN Youyuan, ZHANG Yongping*

(Horticultural Research Institute, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai Key Laboratory of Protected Horticultural Technology, Shanghai 201403, China)

Abstract: We studied the genetic diversity and genetic relationship of 28 melon parent materials using 2b-RAD genotyping by sequencing, to provide a scientific basis for molecular marker assisted breeding of melon. The results showed that: (1) there were 10 318 SNPs in 28 melon germplasms, the ratio of transitions to transversions in SNPs was 2.15, and the mean value of the genetic variation and genetic distance between different germplasms were 0.88 and 2.22, respectively, implying the high degree of genetic differ-

收稿日期: 2020-10-26; 修改稿收到日期: 2021-01-18

基金项目: 上海市瓜果产业技术体系 (沪农科产字 [2020] 第 1 号); 上海市农业科学院卓越团队 [农科创 2017(B-06)]

作者简介: 曹燕燕 (1986—), 女, 博士, 助理研究员, 研究方向为甜瓜遗传育种及其病原真菌病理学。E-mail: cyy52128@163.com

* 通信作者: 张永平, 副研究员, 主要从事甜瓜遗传育种及栽培技术研究。E-mail: zyp123944@126.com

entiation among these germplasms. (2) According to the characters of skin color, fruit reticulation and flesh color, the 28 melon germplasms were separately divided into 4 populations (containing white skin population, yellow skin population, cyan skin population, and green skin population), 3 populations (containing smooth skin population, thin reticulation population, and dense reticulation population) and 3 populations (containing white flesh population, orange flesh population, and green flesh population). (3) The phenotypic analysis result showed that the degree of genetic differentiation among the populations classified by the skin color was the highest, and the value of the genetic variation was between 0.05 and 0.19, indicating a moderate or above level of genetic differentiation among the four populations; a moderate level of genetic differentiation was observed between smooth skin population and dense reticulation population, while there was no significant genetic differentiation between smooth skin population and thin reticulation population or between thin reticulation population and dense reticulation population; a moderate level of genetic differentiation was observed between white flesh population and orange flesh population, while there was no significant genetic differentiation between white flesh population and green flesh population or between orange flesh population and green flesh population. (4) These melon germplasms were divided into three subgroups by analysis of the phylogenetic tree. Specifically, the first subgroup had 11 germplasms (the parental germplasms were mainly self-selected melon varieties), the second subgroup had 9 germplasms (most of the parental germplasms were introduced from Xinjiang or selected from Xinjiang melon varieties), and the third subgroup had 8 germplasms (most of the parental germplasms were introduced from Japan or selected from Japanese melon varieties). The results of this study indicated that the clustering result of melon based on the molecular level exhibited a certain relationship with that of geographical origin, but it was not completely consistent with the result of the breeders' classification about the breeding materials basing on skin color, fruit reticulation and flesh color.

Key words: melon; genetic diversity; 2b-RAD; SNP

甜瓜(*Cucumis melo* L.)为葫芦科甜瓜属一年生蔓性草本植物,是国内外重要的园艺和经济作物。甜瓜果实不仅味美香甜,多汁爽口,而且具有很高的营养和药用价值,因此深受广大消费者的喜爱,特别是在夏季水果市场中占有十分重要的地位。为了满足市民多元化高质量的消费需求,迫切需要育种工作者培育出更多新的高品质甜瓜品种。甜瓜种质资源是进行新品种选育以及开展科研工作的重要基础,因此加强甜瓜特异种质资源的开发和利用对促进甜瓜产业的发展和科研水平的提升具有重要意义^[1]。

作为葫芦科植物中表型变异最为丰富的作物之一,甜瓜在株型、叶片和果实等形态特征方面具有广泛的多样性,尤其是果皮颜色、果面覆纹、果肉颜色、果肉硬度、可溶性固形物含量以及风味等的果实表型的变异最为丰富^[2-4]。目前,关于甜瓜遗传多样性的研究国内外已有报道。例如,Escibano S. 等^[5]研究了不同皮色希腊甜瓜的遗传多样性;王炜勇等^[6]利用表型性状研究了浙江省沿海地区 27 份薄皮甜瓜地方品种的遗传多样性;胡建斌等^[7]对中国各地 257 份甜瓜地方种质资源果实与种子的形态性状进行了遗传多样性分析;王吉明等^[8]基于果实性状

对从国外引进的 100 份野生甜瓜种质资源的遗传多样性进行了研究;闫洪朗等^[9]对江浙沪地区的 65 个甜瓜品种果实性状进行了遗传多样性分析。以上这些报道都是基于表型性状进行甜瓜遗传多样性研究。

分子标记技术是评价种质资源遗传多样性的重要手段。目前已有利用分子标记研究甜瓜遗传多样性的报道,所用标记主要涉及 AFLP、SRAP、RAPD、SSR 以及 ISSR 等^[10-14]。SNP 标记作为目前遗传学研究中最为流行的分子标记,其与传统分子标记相比具有在基因组中分布广泛、密度高、遗传稳定以及易于分析等优势。2b-RAD 是一种基于 IIB 型限制性核酸内切酶的简化基因组测序技术,也是近年来在非模式生物中进行 SNP 开发最经济有效的测序方法之一,具有酶切 DNA 片段大小一致、文库构建简单快速、标签密度易于调节、重复性和准确性高以及成本低廉等优点^[15]。该技术已在果蝇、扇贝、线虫、对虾、拟南芥、水稻、玉米和茶树等物种的基因型分型、高精度连锁图谱构建、群体遗传结构和遗传多样性分析、QTL(quantitative trait locus)定位以及系统演化分析等研究中得到广泛应用^[16-22]。迄今尚未有利用 2b-RAD 技术对甜瓜种质开展遗传多样性研究的相关报道。

厚皮甜瓜是区别于薄皮甜瓜的一个类型,包括厚薄皮杂交类型甜瓜、网纹厚皮甜瓜和哈密瓜品种,具有耐低温弱光、耐湿以及抗病的特点^[13]。因其经济效益比较可观,在上海具有较广的种植面积。本研究以从国内外搜集和自主选育的在果实性状方面(包括果皮颜色、果面网纹和果肉颜色)差异比较大的 28 份高代稳定自交系厚皮甜瓜为材料,利用 2b-RAD 技术对其在分子水平进行遗传多样性及亲缘

关系分析,以期为今后甜瓜 SNP 分子标记的开发和分子标记辅助选择育种提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 供试材料

28 份供试甜瓜种质材料均由上海市农业科学院园艺研究所提供,其编号信息和果实主要性状详见表 1。

表 1 28 份甜瓜种质及其果实主要性状
Table 1 28 melon germplasms and their main fruit traits

序号 No.	种质编号或名称 Germplasm number or name	来源地 Origin	果皮颜色 Skin color	果面网纹 Fruit reticulation	果肉颜色 Flesh color
T1	12D-1	自主选育 Self-selection	奶白色 Milky white	稀网 Thin reticulation	桔色 Orange
T2	B-3-1	自主选育 Self-selection	青色 Cyan	密网 Dense reticulation	桔色 Orange
T3	13-3A	自主选育 Self-selection	黄色 Yellow	稀网 Thin reticulation	绿色 Green
T4	13-3B	自主选育 Self-selection	黄色 Yellow	稀网 Thin reticulation	白色 White
T5	13-3C	自主选育 Self-selection	黄色 Yellow	密网 Dense reticulation	桔色 Orange
T6	13-4A	自主选育 Self-selection	白色 White	密网 Dense reticulation	桔色 Orange
T7	13-5A	自主选育 Self-selection	青色 Cyan	密网 Dense reticulation	桔色 Orange
T8	13-6A	中国台湾 Taiwan, China	青色 Cyan	稀网 Thin reticulation	绿色 Green
T9	14-6A	自主选育 Self-selection	青色 Cyan	密网 Dense reticulation	桔色 Orange
T10	14-7-4	自主选育 Self-selection	黑色 Black	密网 Dense reticulation	桔色 Orange
T11	14-10-1	自主选育 Self-selection	黄色 Yellow	稀网 Thin reticulation	桔色 Orange
T12	156	日本 Japan	黄色 Yellow	光皮 Smooth skin	桔色 Orange
T13	159	日本 Japan	绿色 Green	密网 Dense reticulation	绿色 Green
T14	162	自主选育 Self-selection	白色 White	光皮 Smooth skin	白色 White
T15	164	自主选育 Self-selection	青色 Cyan	稀网 Thin reticulation	绿色 Green
T16	170	自主选育 Self-selection	黄色 Yellow	光皮 Smooth skin	白色 White
T17	17-1A	自主选育 Self-selection	绿色 Green	密网 Dense reticulation	桔色 Orange
T18	17-1D	自主选育 Self-selection	绿色 Green	密网 Dense reticulation	桔色 Orange
T19	17-2B	自主选育 Self-selection	绿色 Green	密网 Dense reticulation	绿色 Green
T20	9-1-3	中国新疆 Xinjiang, China	黄色 Yellow	密网 Dense reticulation	桔色 Orange
T21	996-1-1	日本 Japan	青色 Cyan	光皮 Smooth skin	绿色 Green
T22	99A4	日本 Japan	白色 White	光皮 Smooth skin	白色 White
T23	99A5-2	日本 Japan	白色 White	光皮 Smooth skin	白色 White
T24	D-2-2A	自主选育 Self-selection	青色 Cyan	密网 Dense reticulation	绿色 Green
T25	留香瓜 Liuxiang	中国新疆 Xinjiang, China	花皮(底为黑绿色) Colored skin (dark green background)	密网 Dense reticulation	绿色 Green
T26	J-2-9	自主选育 Self-selection	青色 Cyan	稀网 Thin reticulation	绿色 Green
T27	wm-6	自主选育 Self-selection	花皮(底为黑绿色) Colored skin (dark green background)	密网 Dense reticulation	桔色 Orange
T28	wm-17	中国新疆 Xinjiang, China	奶白色 Milky white	密网 Dense reticulation	桔色 Orange

1.2 方 法

1.2.1 基因组 DNA 提取和 2b-RAD 文库构建 采集苗期甜瓜叶片,10 株混合取样。液氮速冻后,置于-80 ℃冰箱保存备用。基因组 DNA 采用 CTAB 法进行提取^[23],通过琼脂糖检测和紫外可见分光光度计对抽提样本基因组 DNA 的质量和浓度进行检测。样本 DNA 抽提质检合格后,利用 2b-RAD 五标签串联技术进行测序文库构建,采用标准型 5'-NNN-3'接头与 *Bsa* XI 酶切标签连接。文库质控合格后在 Illumina nova 平台进行 Paired-end 测序。2b-RAD 测序由上海欧易生物医学科技有限公司完成。

1.2.2 测序质量分析 利用 Illumina nova 测序平台得到原始测序序列后,使用 Pear 软件 (Version 0.9.6) 对其进行拼接。为保证后续数据分析结果的准确性,将拼接好的序列按照以下条件进行过滤:过滤删除含有 N 碱基比例大于 8% 的序列;过滤删除低质量序列 (质量值低于 Q_{30} 的碱基数超过整条序列碱基数 15%)。依据建库时各个样本所在的位置,提取出各样本对应的序列,过滤删除不含酶切识别位点的序列后得到各样本的高质量测序序列,即含酶切位点的序列。

1.2.3 全基因组范围 SNP 筛查和分型分析 对于有参照基因组的标记分型,依据 RAD-typing 的分型策略^[24],标记分型如下:(1)从甜瓜参考基因组序列 (ftp://cucurbitgenomics.org/pub/cucurbit/genome/melon/v3.6.1/CM3.6.1_pseudomol.fa.gz) 中提取包含 *Bsa* X I 酶切位点的标签作为参考序列;(2)利用 SOAP 软件^[25] 将各样本的高质量序列比对到参考序列上 (参数为 -r 0-M 4 -v 2);(3)利用最大似然法 (maximum likelihood, ML) 进行 SNP 标记分型。为保证后续分析的准确性,分型完成后通过以下指标对分型结果进一步过滤:剔除只含有 1 种等位基因的位点;剔除基因组碱基为 N 的位点;剔除一个标签内多于 2 个 SNP 的标签;剔除同一位置 2 种分型的位点;剔除所有样本中低于 80% 个体可以分型的位点;剔除最小等位基因频率低于 0.01 的位点;剔除等位基因大于 2 的位点。

1.3 数据处理

分别利用 SnpEff 软件 (V4.1g)、Genepop 软件 (V1.0.5)、Vcftools 软件 (V0.1.14)、Admixture 软件 (V1.3.0) 和 Treebest 软件 (Version: 1.9.2) 进行 SNP 注释,遗传分化系数 (F_{st}) 统计分析,SNP 位点的观测杂合度 (H_o)、期望杂合度 (H_e)、观测等位

基因数 (N_a)、有效等位基因数 (N_e)、多态信息含量 (PIC) 和核苷酸多样性 (P_i) 分析,群体结构分析以及进化树分析。

2 结果与分析

2.1 2b-RAD 测序结果分析

利用 2b-RAD 测序技术构建 28 份甜瓜种质的标签测序文库 (1 份种质即为 1 个样本),结果 (表 2) 显示,测序共获得 391 918 500 条原始序列,平均每个样本的测序序列数为 13 997 089。参照 Wang 等^[15] 的方法对原始序列进行质量控制,在 28 个样本的原始序列中筛选出含有 *Bsa* X I 酶切位点的高

表 2 2b-RAD 测序数据基本分析

Table 2 Basic information of 2b-RAD sequencing data			
样本名称 Sample	原始序列 Raw reads	含酶切位点序列 Enzyme reads	百分比 Percent/%
T1	27882632	23137821	82.98
T2	27922368	23870058	85.49
T3	9216149	7861369	85.30
T4	9216149	7960424	86.37
T5	9216149	7789086	84.52
T6	9216149	7802962	84.67
T7	9584547	8180469	85.35
T8	9216149	7769470	84.30
T9	9377540	8078694	86.15
T10	9377540	8088113	86.25
T11	9377540	8107050	86.45
T12	28000155	23560765	84.15
T13	27103052	22681383	83.69
T14	25308846	21132529	83.50
T15	9126825	7955889	87.17
T16	9126825	7842448	85.93
T17	9377540	7975527	85.05
T18	9377540	8003812	85.35
T19	9126825	7812342	85.60
T20	9584547	8018708	83.66
T21	9584547	8104304	84.56
T22	9584547	8172451	85.27
T23	9584547	8165268	85.19
T24	9126825	7939613	86.99
T25	28930154	24667340	85.27
T26	9126825	7721574	84.60
T27	30740808	26118836	84.96
T28	9505180	8119018	85.42

质量序列比例均在 82% 以上(表 2),说明利用此方法构建的甜瓜样本测序文库质量较好。

2.2 SNP 分子标记在甜瓜中的分布

参照 RADtyping 分型策略^[24],对比甜瓜参考基因组,根据比对结果统计样本获得的标签数和测序深度信息。结果显示,28 个甜瓜样本中比对到参考基因组上的标签数在 67 732~70 919 之间,平均标签数为 69 684,测序深度值从 21.8~128.36 不等,平均测序深度为 49×(表 3)。从 28 个样本的共同测序标签中共筛选出 10 318 个高质量的 SNP 位点,包括 9 988 个定位于染色体上的 SNP 位点和 330

表 3 28 个甜瓜样本的标签数和测序深度

Table 3 The tag numbers and average sequencing depth of 28 melon samples

样本名称 Sample	标签数 Tag number	平均深度 Average depth
T1	70 760	100.56
T2	70 797	93.88
T3	69 482	25.57
T4	70 873	32.05
T5	69 739	28.51
T6	69 464	26.83
T7	69 181	35.24
T8	70 332	31.88
T9	69 412	25.64
T10	69 735	34.79
T11	69 222	29.71
T12	70 272	103.02
T13	69 917	102.04
T14	69 899	94.31
T15	69 076	25.61
T16	67 732	21.80
T17	68 544	27.16
T18	69 470	40.85
T19	69 273	32.10
T20	69 905	28.64
T21	69 588	34.80
T22	69 147	34.33
T23	69 302	29.24
T24	68 802	26.38
T25	70 672	114.47
T26	69 744	33.32
T27	70 919	128.36
T28	69 909	33.63

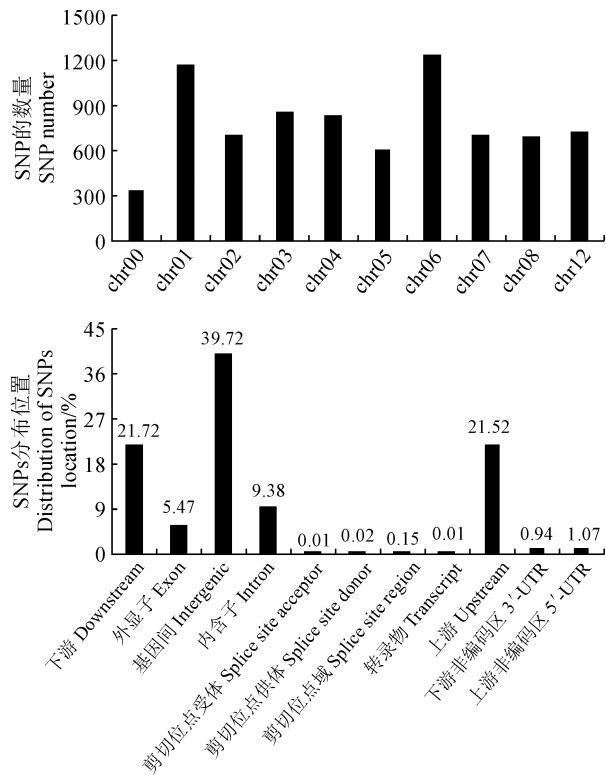
个非染色体 SNP 位点。从 SNP 位点在每条染色体上的数量可以看出,6 号染色体上存在的 SNP 位点最多,为 1 233 个,其次是 1 号染色体,为 1 162 个(图 1,A)。这些 SNP 位点主要分布于基因间区以及基因的上下游序列(图 1,B)。

2.3 SNP 突变类型分析

SNP 分型结果中各位点的突变类型具体如下:G/A 转换类型占有所有碱基突变类型的 33.94%,T/C 转换类型占 33.35%;T/A 和 T/G 颠换类型分别占有所有碱基突变类型的 9.17%和 8.80%,G/C 和 C/A 颠换类型分别占 5.96%和 8.78%。SNPs 中发生转换与发生颠换的比值(T_s/T_v)为 2.15。

2.4 28 个甜瓜样本的 SNP 遗传多样性分析

本次分型只统计了二等位基因型,因此每个 SNP 位点观测等位基因数 N_a 值均为 2。SNP 遗传多样性分析结果显示,每个二等位 SNP 位点观测杂合度 H_o 。数值在 0~1 之间,平均值为 0.068;期望杂合度 H_e 。数值在 0.035~0.500 之间,平均值为 0.291;有效等位基因数 N_e 。数值在 1.036~2.000 之间,平均值为 1.484;多态信息含量 PIC 数值在



A. 各染色体 SNPs 的数量分布;B. SNPs 在基因组中的分布

图 1 SNPs 在甜瓜基因组中的分布情况

A. Distribution of the number of SNPs in each chromosome; B. Distribution of SNPs in genome

Fig. 1 Distribution of SNPs in melon genome

表 4 28 个甜瓜样本遗传分化系数(F_{st} , 下三角)和遗传距离(DR, 上三角)

Table 4 Genetic differentiation coefficient (F_{st} , the lower triangle) and genetic distance (DR, the upper triangle) of 28 melon samples

居群 Population	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T11	T12	T13	T14	T15	T16	T17	T18	T19	T20	T21	T22	T23	T24	T25	T26	T27	T28
T1	—	2.05	2.31	2.14	2.13	2.17	2.14	2.41	2.21	2.42	2.53	2.26	2.38	2.15	2.34	2.52	2.41	2.37	1.58	2.30	2.16	2.08	2.16	1.80	2.11	2.34	1.78
T2	0.87	—	2.19	2.03	2.08	2.07	2.20	2.17	2.10	2.34	2.44	2.14	2.21	1.99	2.17	2.38	2.35	2.26	1.86	2.14	2.03	1.95	0.76	2.18	1.59	2.22	2.15
T3	0.90	0.89	—	0.36	1.54	2.37	2.43	2.35	2.37	2.38	2.52	2.30	2.20	2.19	2.20	2.48	2.32	2.39	1.95	2.06	2.25	2.19	2.30	2.36	2.36	2.49	2.29
T4	0.88	0.87	0.30	—	1.48	2.18	2.24	2.16	2.19	2.18	2.33	2.15	2.06	2.01	2.03	2.31	2.18	2.22	1.82	1.90	2.12	2.05	2.12	2.18	2.17	2.30	2.11
T5	0.88	0.88	0.79	0.77	—	2.18	2.30	2.29	2.24	2.28	2.46	2.24	2.21	1.98	2.11	2.40	2.27	2.32	1.77	2.07	2.17	2.09	2.19	2.19	2.25	2.36	2.18
T6	0.89	0.87	0.91	0.89	0.89	—	1.63	2.39	1.73	2.44	2.55	2.22	2.43	2.28	2.39	2.44	2.40	2.33	1.82	2.36	2.29	2.20	2.20	2.29	2.32	1.72	2.26
T7	0.88	0.89	0.91	0.89	0.90	0.80	—	2.44	1.88	2.49	2.61	2.24	2.48	2.30	2.45	2.51	2.46	2.41	1.86	2.43	2.30	2.22	2.30	2.31	2.32	1.94	2.30
T8	0.91	0.89	0.90	0.88	0.90	0.91	0.91	—	2.32	2.49	2.60	2.27	2.36	2.09	2.44	2.50	2.34	2.33	2.00	2.16	2.29	2.22	2.26	2.47	2.32	2.43	2.31
T9	0.89	0.88	0.91	0.89	0.89	0.82	0.85	0.90	—	2.41	2.50	2.11	2.35	2.36	2.46	2.37	2.29	2.20	1.89	2.42	2.24	2.17	2.21	2.28	2.38	1.34	2.26
T10	0.88	0.88	0.91	0.89	0.89	0.85	0.89	0.91	0.85	2.42	2.49	2.19	2.42	2.39	2.52	2.45	2.34	2.29	1.81	2.40	2.33	2.25	2.30	2.06	2.41	1.76	2.14
T11	0.91	0.90	0.91	0.89	0.90	0.91	0.92	0.92	0.91	—	1.38	2.24	2.49	2.42	2.52	2.50	2.38	2.38	2.08	2.43	2.38	2.33	2.46	2.45	2.47	2.49	2.46
T12	0.92	0.91	0.92	0.90	0.91	0.92	0.93	0.93	0.92	0.75	—	2.29	2.58	2.63	2.71	2.61	2.50	2.46	2.16	2.59	2.49	2.42	2.59	2.54	2.59	2.57	2.52
T13	0.90	0.88	0.90	0.88	0.89	0.89	0.89	0.90	0.88	0.89	0.90	—	2.25	2.33	2.35	1.51	1.63	1.39	1.97	2.29	1.87	1.82	2.21	2.33	2.25	2.11	2.29
T14	0.91	0.89	0.89	0.87	0.89	0.91	0.92	0.91	0.91	0.92	0.92	0.89	—	2.14	2.07	2.46	2.36	2.30	2.08	2.00	2.15	2.08	2.33	2.45	2.43	2.44	2.40
T15	0.88	0.86	0.89	0.87	0.86	0.90	0.90	0.88	0.91	0.91	0.93	0.90	0.88	—	1.95	2.56	2.46	2.47	1.83	1.83	2.16	2.08	2.07	2.31	2.19	2.53	2.21
T16	0.90	0.89	0.89	0.87	0.88	0.91	0.91	0.91	0.91	0.92	0.93	0.90	0.87	0.86	—	2.55	2.51	2.51	1.98	2.06	2.31	2.21	2.28	2.41	2.36	2.64	2.37
T17	0.92	0.91	0.92	0.90	0.91	0.91	0.92	0.92	0.91	0.92	0.93	0.78	0.91	0.92	0.92	—	1.65	1.49	2.15	2.48	2.11	2.05	2.49	2.57	2.55	2.36	2.51
T18	0.91	0.90	0.90	0.89	0.90	0.91	0.91	0.90	0.90	0.91	0.92	0.80	0.91	0.91	0.92	0.81	—	1.60	2.06	2.38	2.12	2.06	2.44	2.46	2.47	2.26	2.42
T19	0.91	0.90	0.91	0.89	0.90	0.90	0.91	0.90	0.89	0.91	0.91	0.75	0.90	0.92	0.92	0.77	0.80	—	2.01	2.39	2.05	1.99	2.35	2.41	2.38	2.19	2.36
T20	0.79	0.84	0.86	0.84	0.83	0.84	0.84	0.86	0.85	0.87	0.89	0.86	0.88	0.84	0.86	0.88	0.87	0.87	—	1.95	1.98	1.92	1.94	1.44	1.92	2.02	1.57
T21	0.90	0.88	0.87	0.85	0.87	0.91	0.91	0.88	0.91	0.91	0.92	0.90	0.86	0.84	0.87	0.92	0.91	0.91	0.86	—	2.18	2.11	2.25	2.39	2.37	2.52	2.29
T22	0.88	0.87	0.89	0.88	0.89	0.90	0.90	0.90	0.89	0.91	0.92	0.85	0.88	0.89	0.90	0.88	0.88	0.87	0.86	0.89	—	0.21	2.11	2.34	2.21	2.33	2.24
T23	0.87	0.86	0.89	0.87	0.88	0.89	0.89	0.89	0.89	0.90	0.91	0.84	0.88	0.87	0.89	0.87	0.87	0.86	0.85	0.88	0.19	—	2.04	2.27	2.13	2.24	2.16
T24	0.88	0.53	0.90	0.88	0.89	0.89	0.90	0.90	0.89	0.91	0.92	0.89	0.90	0.87	0.90	0.92	0.91	0.90	0.86	0.89	0.88	0.87	—	2.29	1.76	2.39	2.22
T25	0.84	0.89	0.91	0.89	0.89	0.90	0.90	0.92	0.90	0.91	0.92	0.90	0.91	0.90	0.91	0.92	0.91	0.91	0.76	0.91	0.90	0.90	0.90	—	2.30	2.39	1.92
T26	0.88	0.80	0.91	0.89	0.89	0.90	0.90	0.90	0.91	0.92	0.92	0.90	0.91	0.89	0.91	0.92	0.92	0.91	0.85	0.91	0.89	0.88	0.83	0.90	—	2.48	2.25
T27	0.90	0.89	0.92	0.90	0.91	0.82	0.86	0.91	0.74	0.92	0.92	0.88	0.91	0.92	0.93	0.91	0.90	0.89	0.87	0.92	0.90	0.89	0.91	0.91	0.92	—	2.38
T28	0.83	0.88	0.90	0.88	0.89	0.90	0.90	0.90	0.90	0.91	0.92	0.90	0.91	0.89	0.91	0.92	0.91	0.91	0.79	0.90	0.89	0.89	0.89	0.85	0.89	0.91	—

0.035~0.375 之间,平均值为 0.237;核苷酸多样性 P_i 数值在 0.036~0.511 之间,平均值为 0.297;最小等位基因频率数值在 0.018~0.500 之间,平均值为 0.214;位点的分型率数值在 82.14%~100% 之间,平均值为 96.54%。

2.5 甜瓜样本间遗传变异及分化分析

遗传分析结果(表 4)显示,28 个甜瓜样本两两之间的遗传分化系数(F_{st})在 0.188~0.933 之间,平均值为 0.885,遗传距离(DR)范围在 0.208~2.706 之间,平均值为 2.218,表明各样本之间均存在高度的遗传分化(一般认为,若群体 F_{st} 值在 0~0.05 之间,表明其各亚群间不存在分化;若 F_{st} 值在 0.05~0.15 之间,为中度分化;若 F_{st} 值在 0.15~0.25 之间,则为高度分化);其中,T22 和 T23 两个样本之间的遗传分化系数和遗传距离最小,T12 和 T16 两个样本之间的遗传分化系数和遗传距离最大(表 4)。

依据果皮颜色分类,28 份甜瓜种质可分为 4 个群体,分别为白皮群体(包括 T1、T6、T14、T22、T23 和 T28)、黄皮群体(包括 T3、T4、T5、T11、T12、T16 和 T20)、青皮群体(包括 T2、T7、T8、T9、T15、T21、T24 和 T26)和绿皮群体(包括 T10、T13、T17、T18、T19、T25 和 T27)。遗传分析结果(表 5)显示,这 4 个群体两两之间的 F_{st} 值从 0.052~0.188 不等,群体间遗传距离 DR 值从 0.054~0.208 不等,其中白皮群体和青皮群体间的 F_{st} 值最小,黄皮群体和绿皮群体间的 F_{st} 值最大(表 5)。各群体之间的 F_{st} 值均大于 0.05,表明其均存在中度及以上程度的遗传分化。

依据果面网纹性状分类,28 份甜瓜种质可分为 3 个群体,分别为光皮群体(包括 T12、T14、T16、T21、T22 和 T23)、稀网群体(包括 T1、T3、T4、T8、T11、T15 和 T26)和密网群体(包括 T2、T5、T6、T7、T9、T10、T13、T17、T18、T19、T20、T24、T25、T27 和 T28)。遗传分析结果(表 6)显示,这 3 个群体两两之间的 F_{st} 值分别为 0.004、0.096 和 0.029,DR 值分别为 0.004、0.101 和 0.029,表明光皮群体和密网群体之间存在中度遗传分化,光皮群体和稀网群体之间以及稀网群体和密网群体之间无显著分化。

依据果肉颜色分类,28 份甜瓜种质可分为 3 个群体,分别为白肉群体(包括 T4、T14、T16、T22 和 T23)、桔肉群体(包括 T1、T2、T5、T6、T7、T9、T10、T11、T12、T17、T18、T20、T27 和 T28)以及绿肉群体(包括 T3、T8、T13、T15、T19、T21、T24、T25 和

T26)。遗传分析结果显示,这 3 个群体两两之间的 F_{st} 值分别为 0.126、0.033 和 0.027,DR 值分别为 0.134、0.033 和 0.027,表明白肉群体和桔肉群体之间存在中度遗传分化,白肉群体和绿肉群体之间以及桔肉群体和绿肉群体之间无明显分化(表 7)。

综合以上结果表明,28 份甜瓜种质依据果皮颜色分类的各群体之间的遗传分化系数总体上是最大的,即遗传分化程度最高,并且各群体之间均存在中度及以上程度的遗传分化。

2.6 群体遗传结构分析

利用 10 318 个 SNPs 标记 28 份甜瓜种质,根据其果实性状,再结合 K 值最大似然值分类,将这些种质划分为 3 个类群(图 2)。3 个类群分别用红色、绿色和蓝色代表,即类群 1、类群 2 和类群 3。由图 3 可以看出,大部分条带(每个条带代表 1 份种质)都由 2~3 种颜色组成,表明 3 个类群大部分种质之间

表 5 基于果皮颜色分类的 28 个甜瓜样本群体间的遗传分化系数(F_{st})和遗传距离(DR)

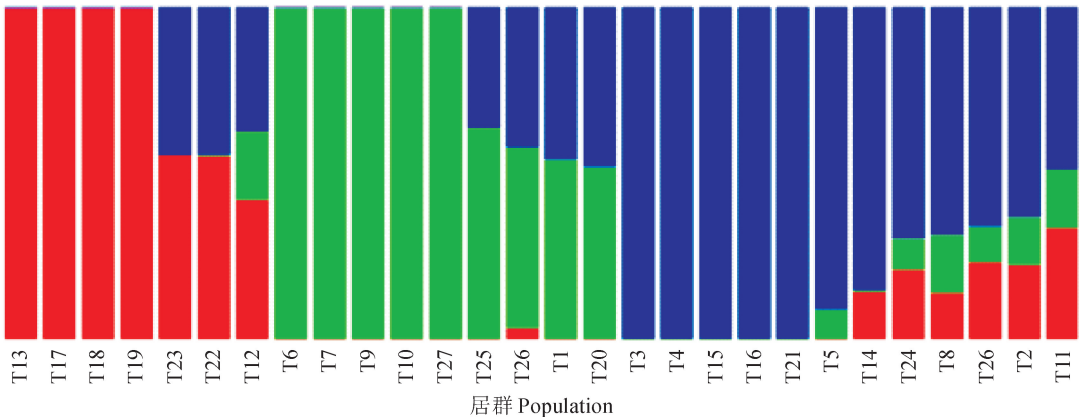
Table 5 Genetic differentiation coefficient (F_{st}) and genetic distance (DR) of 28 melon samples based on the skin color				
群体 Population	白皮 White skin	黄皮 Yellow skin	青皮 Cyan skin	绿皮 Green skin
白皮 White skin	—	0.117	0.054	0.114
黄皮 Yellow skin	0.11	—	0.138	0.208
青皮 Cyan skin	0.052 1	0.129	—	0.187
绿皮 Green skin	0.107	0.188	0.17	—

注:下三角为群体间遗传分化系数(F_{st}),上三角为群体间遗传距离(DR)。下同

Note: The lower triangle is the genetic differentiation coefficient (F_{st}) between groups, and the upper triangle is the genetic distance between groups (DR). The same as below

表 6 基于果面网纹性状分类的 28 个甜瓜样本群体间的遗传分化系数(F_{st})和遗传距离(DR)

Table 6 Genetic differentiation coefficient (F_{st}) and genetic distance (DR) of 28 melon samples based on the fruit reticulation			
群体 Population	光皮 Smooth skin	稀网 Thin reticulation	密网 Dense reticulation
光皮 Smooth skin	—	0.004	0.101
稀网 Thin reticulation	0.004	—	0.029
密网 Dense reticulation	0.096	0.029	—



红色代表类群 1;绿色代表类群 2;蓝色代表类群 3

图 2 28 份甜瓜种质 SNPs 分析群体结构 ($K=3$)

Red color blocks represent group 1; Green color blocks represent group 2; Blue color blocks represent group 3

Fig. 2 Analysis of population structure using identified SNPs for 28 melon germplasms ($K=3$)

表 7 基于果肉颜色分类的 28 个甜瓜样本群体间的遗传分化系数 (F_{st}) 和遗传距离 (DR)			
Table 7 Genetic differentiation coefficient (F_{st}) and genetic distance (DR) of 28 melon samples based on the flesh color			
群体 Population	白肉 White flesh	桔肉 Orange flesh	绿肉 Green flesh
白肉 White flesh	—	0.134	0.033
桔肉 Orange flesh	0.126	—	0.027
绿肉 Green flesh	0.033	0.027	—

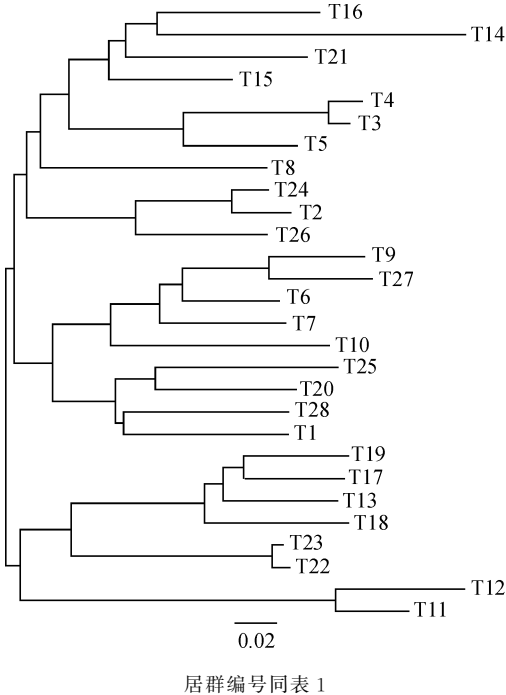
存在不同程度的基因交流。种质所属类群,可根据颜色占条带的比例推断。

2.7 系统进化树构建及聚类分析

从聚类树形图(图 3)可以看出,28 份甜瓜种质被分为 3 类,第一类包括 T2、T3、T4、T5、T8、T14、T15、T16、T21、T24 和 T26 共 11 份种质,第二类包括 T1、T6、T7、T9、T10、T20、T25、T27 和 T28 共 9 份种质,第三类包括 T11、T12、T13、T17、T18、T19、T22 和 T23 共 8 份种质。其中,第一类主要为自主选育出的高代自交系甜瓜种质,第二类主要为从新疆引进或从新疆品种中选育出来的高代自交系种质,第三类主要为从日本引进或从日本品种中选育出来的高代自交系种质。

3 讨 论

丰富多样的种质资源是选育高产、优质和高抗新品种以及研究物种起源、进化和分类的基础。甜瓜作为葫芦科植物中表型变异最为丰富的作物之一,育种工作者利用不同方法针对不同方向对其进行了



居群编号同表 1

图 3 28 份甜瓜种质基于 SNP 标记的聚类

Population numbers are the same as those in Table 1

Fig. 3 Phylogenetic tree of 28 melon germplasms revealed by SNP markers

广泛研究^[6-9, 26-30]。胡建斌等^[7]研究发现甜瓜果实性状的变异是甜瓜表型变异的主要来源。虽然已有研究人员利用不同的甜瓜种质资源对甜瓜果实表型性状进行了遗传多样性分析^[8-9, 31-32],但目前仍未见利用 2b-RAD 技术对其在分子水平上进行研究的相关报道。

2b-RAD 技术利用 IIB 型限制性内切酶对基因组进行酶切后产生等长的 33~36 bp 的酶切标签,经富集后用于下游的高通量测序反应,结合生物信

息学分析在全基因组范围内对 SNP 位点进行高通量筛选和基因分型分析,获得的批量的 SNP 位点可为群体遗传多样性分析奠定良好的基础^[24, 33]。研究表明,该技术生物学重复的准确性高达 99% 以上^[34]。本研究经 2b-RAD 测序后,每个样本得到的原始序列数从 912 682~30 740 808 不等,质量过滤后,平均每个样本中获得含有 *Bsa* XI 酶切位点的高质量序列数占测序原始序列数的 82% 以上,每个个体的测序深度值在 21.8~128.36 之间,平均测序深度为 49×,达到了高准确度下的分型标准^[35],表明本次构建的文库质量较高,测序结果准确可靠。

SNP 碱基替换类型分为转换(T_s)与颠换(T_v)两类,转换发生在 A 与 G 或 C 与 T 之间,颠换发生在 A 与 C、A 与 T、G 与 C 以及 G 与 T 之间。研究表明,不同物种间转换与颠换的比值存在很大差异。砂梨(*Pyrus pyrifolia*)转录组测序中转换与颠换的比值为 1.71^[36];桑葚不同时期转录组测序中转换与颠换的比值约为 1.6^[37];澳洲坚果(*Macadamia integrifolia*)重测序结果显示 SNPs 转换和颠换的比率为 0.77^[38];中国明对虾(*Fenneropenaeus chinensis*) 2b-RAD 测序结果中转换与颠换的比值为 1.402^[19];马氏珠母贝(*Pinctada fucata*)血细胞转录组测序中转换与颠换的比值为 0.5^[39]。本研究 2b-RAD 测序结果显示 SNPs 转换与颠换的比值(T_s/T_v)为 2.15。产生这种差异的原因可能与不同物种在进化过程中承受的选择压力有关^[40]。

多态信息含量(PIC)和杂合度(H_o)是 2 个较好的衡量基因多态性的指标^[19]。当 $PIC < 0.25$ 时,表示该位点为低度多态位点; PIC 介于 0.25~0.50 之间时,表示该位点为中度多态性位点; $PIC > 0.50$ 时,表示该位点为高度多态性位点^[41]。本研究中 28 个甜瓜样本 SNPs 位点的 PIC 值在 0.035~0.375 之间,表明各 SNP 位点呈低度多态性或中度多态性。28 个样本 SNPs 位点的 H_o 值从 0~1 不等,表明各位点的杂合度存在较大差异。

种群的遗传分化指数(F_{st})是衡量群体间遗传分化程度的重要参数。本研究中依据果皮颜色、果面网纹和果肉颜色 3 个性状进行分类的各群体之间的 F_{st} 值分别从 0.052~0.188、0.004~0.096 以及

0.027~0.126 不等,表明依据果皮颜色分类的各群体之间遗传分化程度最高,群体间的遗传结构差异最为显著,而依据果面网纹形成情况进行分类的各群体之间整体遗传分化程度最低。

本研究以果皮颜色、果面网纹和果肉颜色 3 个性状差异比较大的 28 份甜瓜种质为材料进行遗传多样性分析研究,共鉴定到 10 318 个 SNP 位点。后续可从以上位点中筛选可重复、易分辨、强专一的 SNP 位点集合,用于构建甜瓜种质指纹图谱、果实性状相关的 QTL 定位分析以及种子纯度鉴定研究,同时也可将其应用于甜瓜分子标记辅助选择育种工作中以加快新品种的选育进程。

目前,Fergany M. 等^[42]通过形态学和 SSR 标记研究认为甜瓜亲缘关系与其生态地理分布具有高度相关性;程振家等^[10]通过 AFLP 标记研究认为厚皮甜瓜聚类结果除了与果面网纹性状有关外,与生态地理来源也具有一定的相关性;徐志红等^[43]通过形态学分析认为厚皮甜瓜的聚类结果与成熟期有一定的相关性。本研究通过系统进化树分析将 28 份厚皮甜瓜种质划分为 3 类,其中第二类大部分为从新疆引进或从新疆品种中选育出来的纯合种质,第三类大部分为从日本引进或从日本品种中选育出来的纯合种质,说明本研究中甜瓜聚类结果与地理来源具有一定关系,这与程振家等^[10]和 Fergany M. 等^[42]的研究结果十分相似。

本研究中依据分子水平的聚类分析结果与育种者对育种材料的分类不完全一致。育种者主要是根据甜瓜果实的果皮颜色、果肉颜色和有无网纹等性状对其进行分类,而这只是一种表型分类。由于参试的 28 份材料有些是由各种类型的甜瓜杂交后选育出的纯合种质,这些种质可能含有多个品种的血缘。因此基于表型的分类不能真实地反映各材料间亲缘关系的远近。程振家等^[10]的研究结果也表明基于分子水平的分类方法能够更加准确地揭示材料之间的内在遗传联系。本研究结果也提示我们,在今后的甜瓜育种工作中要综合材料的表型性状和分子水平的分析结果,选择不同地理来源、表型差异显著、亲缘关系远的材料进行杂交,这样才更容易培育出优质、高产和抗病的甜瓜新品种。

作者贡献:张永平、曹燕燕、刁倩楠和陈幼源进行试验设计;曹燕燕进行数据分析和论文写作;张永平进行最后的论文修改。全体作者都阅读并同意最终的文本。

参考文献:

- [1] 王吉明, 尚建立, 李娜, 等. 我国西瓜甜瓜种质资源收集、保存与利用研究进展[J]. 中国瓜菜, 2018, **31**(2): 1-6.
WANG J M, SHANG J L, LI N, *et al.* Collection, preservation, and utilization of germplasm resources of watermelon and melon in China[J]. *China Cucurbits and Vegetables*, 2018, **31**(2): 1-6.
- [2] JEFFREY C. A review of the Cucurbitaceae[J]. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 1980, **81**(3): 233-247.
- [3] BATES D M, ROBINSON R. Cucumber, Melon and Watermelons: *Cucumis* and *Citrullus* (Cucurbitaceae) [M]//SMARTT J, SIMMONDS N M. Evolution of Crop Plants. London: Longman, 1995: 89-96.
- [4] PITRAT M. Phenotypic diversity in wild and cultivated melons (*Cucumis melo*) [J]. *Plant Biotechnology*, 2013, **30**(3): 273-278.
- [5] ESCRIBANO S, LÁZARO A, CUEVAS H E, *et al.* Spanish melons (*Cucumis melo* L.) of the Madrid provenance: a unique germplasm reservoir[J]. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 2012, **59**(3): 359-373.
- [6] 王炜勇, 俞少华, 李鲁峰, 等. 浙江省薄皮甜瓜地方品种的表型遗传多样性[J]. 植物遗传资源学报, 2013, **14**(3): 448-454.
WANG W Y, YU S H, LI L F, *et al.* Phenotypic diversity analysis of *Cucumis melo* var. *makuwa* landraces of Zhejiang Province[J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2013, **14**(3): 448-454.
- [7] 胡建斌, 马肖静, 李琼. 薄皮甜瓜表型性状的主成分分析[J]. 江西农业学报, 2010, **22**(12): 30-33.
HU J B, MA X J, LI Q. Principal component analysis of phenotypic characters in thin-peel melon[J]. *Acta Agriculturae Jiangxi*, 2010, **22**(12): 30-33.
- [8] 王吉明, 尚建立, 李娜, 等. 引进国外的野生甜瓜种质资源果实形态多样性分析[J]. 果树学报, 2017, **34**(3): 295-302.
WANG J M, SHANG J L, LI N, *et al.* Genetic diversity analysis in imported wild melon (*Cucumis melo* L.) germplasm resources based on morphological characters[J]. *Journal of Fruit Science*, 2017, **34**(3): 295-302.
- [9] 闫洪朗, 王康, 何林池, 等. 江浙沪地区甜瓜品种果实性状遗传多样性分析[J]. 南方农业学报, 2018, **49**(10): 2 001-2 006.
YAN H L, WANG K, HE L C, *et al.* Genetic diversity analysis of melon fruit characters in Jiangsu, Zhejiang and Shanghai[J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2018, **49**(10): 2 001-2 006.
- [10] 程振家, 王怀松, 张志斌, 等. 甜瓜遗传多样性的 AFLP 分析[J]. 西北植物学报, 2007, **27**(2): 244-248.
CHENG Z J, WANG H S, ZHANG Z B, *et al.* Genetic diversity of melon (*Cucumis melo* L.) germplasm based on AFLPs [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2007, **27**(2): 244-248.
- [11] 陈芸, 李冠, 王贤磊. 甜瓜种质资源遗传多样性的 SRAP 分析[J]. 遗传, 2010, **32**(7): 744-751.
CHEN Y, LI G, WANG X L. Genetic diversity of a germplasm collection of *Cucumis melo* L. using SRAP markers [J]. *Hereditas*, 2010, **32**(7): 744-751.
- [12] 智海英, 马海龙, 岳青. 薄皮甜瓜种质资源遗传多样性的 RAPD 分析[J]. 中国农学通报, 2011, **27**(19): 228-233.
ZHI H Y, MA H L, YUE Q. RAPD analysis of genetic diversity on germplasm resources of oriental melon[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2011, **27**(19): 228-233.
- [13] 刘龙洲, 翟文强, 陈亚丽, 等. 设施用厚皮甜瓜品种 SSR 标记遗传多样性分析[J]. 植物遗传资源学报, 2012, **13**(3): 381-385.
LIU L Z, ZHAI W Q, CHEN Y L, *et al.* Analysis of genetic diversity of melon varieties using SSR markers[J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2012, **13**(3): 381-385.
- [14] 赵春梅, 金荣荣, 刘英. 甜瓜种质资源遗传多样性 ISSR 分析[J]. 安徽农业科学, 2012, **40**(1): 27-28, 31.
ZHAO C M, JIN R R, LIU Y. Genetic diversity analysis of *Cucumis melo* L. based on inter simple sequence repeat[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2012, **40**(1): 27-28, 31.
- [15] WANG S, MEYER E, MCKAY J K, *et al.* 2b-RAD: a simple and flexible method for genome-wide genotyping[J]. *Nature Methods*, 2012, **9**(8): 808-810.
- [16] SEETHARAM A S, STUART G W. Whole genome phylogeny for 21 *Drosophila* species using predicted 2b-RAD fragments[J]. *PeerJ*, 2013, 1: e226.
- [17] DOU J Z, LI X, FU Q, *et al.* Evaluation of the 2b-RAD method for genomic selection in scallop breeding[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 19 244.
- [18] KHAN S, ZHAO X C, HOU Y N, *et al.* Analysis of genome-wide SNPs based on 2b-RAD sequencing of pooled samples reveals signature of selection in different populations of *Haemonchus contortus* [J]. *Journal of Biosciences*, 2019, **44**(4): 1-13.
- [19] 王凤娇, 孟宪红, 傅强, 等. 基于简化基因组测序的中国明对虾 3 个选育世代遗传多样性分析[J]. 渔业科学进展, 2020, **41**(4): 68-76.
WANG F J, MENG X H, FU Q, *et al.* Analysis of genetic diversity in three generations of breeding populations of *Fenneropenaeus chinensis* based on reduced-representation genome sequencing[J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2020, **41**(4): 68-76.
- [20] GUO Y, YUAN H, FANG D M, *et al.* An improved 2b-RAD approach (I2b-RAD) offering genotyping tested by a rice (*Oryza sativa* L.) F₂ population[J]. *BMC Genomics*, 2014, **15**(1): 956.
- [21] LI C H, LI Y X, BRADBURY P J, *et al.* Construction of high-quality recombination maps with low-coverage genomic sequencing for joint linkage analysis in maize[J]. *BMC Biology*, 2015, 13: 78.
- [22] XU L Y, WANG L Y, WEI K, *et al.* High-density SNP linkage map construction and QTL mapping for flavonoid-related traits in a tea plant (*Camellia sinensis*) using 2b-RAD sequencing[J]. *BMC Genomics*, 2018, 19: 955.
- [23] DOYLE J J T, DOYLE J L. Isolation of plant DNA from fresh tissue[J]. *Focus*, 1990, **12**(1): 13-15.
- [24] FU X T, DOU J Z, MAO J X, *et al.* RADtyping: an inte-

grated package for accurate de novo codominant and dominant RAD genotyping in mapping populations[J]. *PLoS One*, 2013, **8**(11): e79960.

[25] LI R, YU C, LI Y, *et al.* SOAP2: an improved ultrafast tool for short read alignment[J]. *Bioinformatics*, 2009, **25** (15): 1 966-1 967.

[26] 文乐欣, 周 莉, 刘 翔, 等. 甜瓜育种资源农艺性状的多变量分析[J]. 华北农学报, 2011, **26**(z1): 37-42.

WEN L X, ZHOU L, LIU X, *et al.* Multivariate analysis on bioagronomical traits of *Cucumis melo* L. germplasm[J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2011, **26**(z1): 37-42.

[27] 张永兵, 李寐华, 吴海波, 等. 新疆甜瓜地方品种资源的表型遗传多样性[J]. 园艺学报, 2012, **39**(2): 305-314.

ZHANG Y B, LI M H, WU H B, *et al.* Genetic diversity of melon Landraces(*Cucumis melo* L.) in Xinjiang based on phenotypic characters[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2012, **39**(2): 305-314.

[28] 胡建斌, 马双武, 简在海, 等. 中国甜瓜种质资源形态性状遗传多样性分析[J]. 植物遗传资源学报, 2013, **14**(4): 612-619.

HU J B, MA S W, JIAN Z H, *et al.* Analysis of genetic diversity of Chinese melon(*Cucumis melo* L.) germplasm resources based on morphological characters[J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2013, **14**(4): 612-619.

[29] 张慧君, 宋运贤, 余道亮, 等. 基于表型性状不同甜瓜品种的亲缘关系分析[J]. 上海农业学报, 2018, **34**(1): 89-95.

ZHANG H J, SONG Y X, YU D L, *et al.* Phylogenetic relationship analysis of different melon varieties based on phenotypic traits[J]. *Acta Agriculturae Shanghai*, 2018, **34** (1): 89-95.

[30] 高宁宇, 常高正, 康利允, 等. 基于 SRAP 标记的甜瓜耐盐种质资源遗传多样性分析[J]. 西北植物学报, 2019, **39**(1): 68-75.

GAO N N, CHANG G Z, KANG L Y, *et al.* Genetic diversity analysis of salt tolerance germplasm resources of melon based on SRAP[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2019, **39**(1): 68-75.

[31] 栾非时, 矫士琦, 盛云燕, 等. 甜瓜果实相关性状 QTL 分析[J]. 东北农业大学学报, 2017, **48**(3): 1-9.

LUAN F S, JIAO S Q, SHENG Y Y, *et al.* Mapping of QTL for fruit traits in melon[J]. *Journal of Northeast Agricultural University*, 2017, **48**(3): 1-9.

[32] 高路银, 杨森要, 王艳玲, 等. 野生甜瓜果实性状变异及聚类分析[J]. 中国瓜菜, 2018, **31**(11): 6-12.

GAO L Y, YANG S Y, WANG Y L, *et al.* Studies on variation of the fruit traits of the wild melons and cluster analysis [J]. *China Cucurbits and Vegetables*, 2018, **31**(11): 6-12.

[33] VAN INGHELANDT D, MELCHINGER A E, LEBRETON C, *et al.* Population structure and genetic diversity in a commercial maize breeding program assessed with SSR and SNP markers[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2010, **120**(7): 1 289-1 299.

[34] WANG S, LIU P P, LÜ J, *et al.* Serial sequencing of iso-length RAD tags for cost-efficient genome-wide profiling of genetic and epigenetic variations [J]. *Nature Protocols*, 2016, **11**(11): 2 189-2 200.

[35] JIAO W Q, FU X T, DOU J Z, *et al.* High-resolution linkage and quantitative trait locus mapping aided by genome survey sequencing: building up an integrative genomic framework for a Bivalve Mollusc[J]. *DNA Research*, 2014, **21** (1): 85-101.

[36] 周 贺, 李浩男, 蔡斌华, 等. 砂梨果皮转录组 SNP 位点发掘及其功能注释分析[J]. 青岛农业大学学报(自然科学版), 2014, **31**(2): 105-111.

ZHOU H, LI H N, CAI B H, *et al.* SNP mining and functional annotation in transcriptome of Sand Pear[J]. *Journal of Qingdao Agricultural University (Natural Science)*, 2014, **31**(2): 105-111.

[37] 王 晖, 谢 岩, 高玉军, 等. 桑葚转录组 SNP/Indel 位点的挖掘及功能注释[J]. 石河子大学学报(自然科学版), 2020, **38**(3): 325-330.

WANG H, XIE Y, GAO Y J, *et al.* Detection SNP/Indel and function annotation of mulberry fruit transcriptome[J]. *Journal of Shihezi University (Natural Science)*, 2020, **38** (3): 325-330.

[38] 谭秋锦, 王文林, 陈海生, 等. 基于 SNP 分子标记的澳洲坚果种质遗传多样性分析[J]. 分子植物育种, 2020, **18**(21): 7 246-7 253.

TAN Q J, WANG W L, CHEN H S, *et al.* Genetic diversity of macadamia varieties based on single-nucleotide polymorphism [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2020, **18** (21): 7 246-7 253.

[39] 王忠良, 丁 燊, 许尤厚, 等. 马氏珠母贝(*Pinctada fucata*) 血细胞转录组测序数据中 SNP 标记的开发及其功能注释分析[J]. 海洋与湖沼, 2018, **49**(2): 403-412.

WANG Z L, DING Y, XU Y H, *et al.* SNP discovery and functional annotation in transcriptome datasets from hemocytes of *Pinctada fucata* [J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2018, **49**(2): 403-412.

[40] ZHAO Z, BOERWINKLE E. Neighboring-nucleotide effects on single nucleotide polymorphisms: a study of 2.6 million polymorphisms across the human genome[J]. *Genome Research*, 2002, **12**(11): 1 679-1 686.

[41] BOTSTEIN D, WHITE R L, SKOLNICK M, *et al.* Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms[J]. *American Journal of Human Genetics*, 1980, **32**(3): 314-331.

[42] FERGANY M, KAUR B, MONFORTE A J, *et al.* Variation in melon (*Cucumis melo*) landraces adapted to the humid tropics of Southern India[J]. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 2011, **58**(2): 225-243.

[43] 徐志红, 徐永阳, 刘君璞, 等. 甜瓜种质资源遗传多样性及亲缘关系研究[J]. 果树学报, 2008, **25**(4): 552-558.

XU Z H, XU Y Y, LIU J P, *et al.* Studies on the genetic diversity and phylogenetic relationship of melon (*Cucumis melo* L.) germplasm[J]. *Journal of Fruit Science*, 2008, **25** (4): 552-558.