

甜瓜全雌系调控基因 *g* 的分子标记开发与应用

马 建, 王建设

(北京市农林科学院蔬菜研究中心 / 农业农村部华北地区园艺作物生物学与种质创制重点实验室, 北京 100097)

摘要: 甜瓜是国内外重要的园艺经济作物。目前, 生产上推广甜瓜品种性型绝大多数为雄花两性花同株, 杂交种生产中需人工去雄且易混杂, 而利用全雌系作母本可降低人工成本, 提高制种效率, 对于保证杂交种纯度具有重要意义。全雌系基因型为 AA g , 利用常规方法合成全雌系较为困难, 急需开发实用的分子标记并进行辅助选择育种来培育优异的全雌系。本研究根据 *g* 基因下游存在一个 *Gyno-hAT* 转座子插入, 开发了可特异鉴定该基因的 *g*-F/R 标记。利用该标记对全两性花 B15 与雄花两性花 054 构建的 F₂ 分离群体进行性型分子鉴定, 辅以上下游 2 对 InDel 标记 C5-9 和 C5-10 对鉴定结果进行验证, 表明 *g*-F/R 标记检测准确率几乎可达 100%。此外, 利用该分子标记对 36 份甜瓜材料进行基因型检测, 可特异鉴定出携带 *g* 基因的 2 份全两性花材料 B15 和 B18。本研究结果为通过分子育种手段高效利用 *g* 基因培育新的甜瓜全雌系提供了手段。

关键词: 甜瓜; 两性花; *CmWIP1*; 分子标记

Development and Application of Specific Molecular Marker of the Gynoecious Gene *g* in Melon

MA Jian, WANG Jian-she

(Beijing Vegetable Research Center, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences/Key Laboratory of Biology and Genetic Improvement of Horticultural Crops (North China), Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Beijing 100097)

Abstract: Melon is a very important economically horticultural crop around the world. At present, andromonoecy is a widespread sexual system in traditional cultivar melon carrying both male and bisexual flowers, and andromonoecious maternal lines necessitate laborious hand emasculation for F₁ hybrid seed production. Thus, gynoecious without emasculation will save labor cost and greatly improve the efficiency of hybrid seed production, with significant mean on improving the purity of hybrid seeds. Gynoecious melon plants are commonly genotypically designated as AA g , and the phenotype-dependent selection of *g* recessive allele for breeding new gynoecious is slow and time-consuming. To accelerate the breeding of elite gynoecious lines, development of molecular markers linked to *g* allele might greatly contribute to the molecular marker assisted selection breeding. In this study, an allele-specific maker for *g* gene, *g*-F/R, was developed based on a *Gyno-hAT* transposon on downstream of *CmWIP1* locus. The sex phenotype and genotype of 141 F₂ plants derived from hermaphrodite B15 and andromonoecious 054 was co-segregated based *g*-F/R analysis. And the result was verified by two tightly linked molecular marker C5-9 and C5-10, which suggested that the accuracy of genotypic analysis of *g*-F/R almost reaches to 100% in F₂ population. Furthermore, we tested this newly-developed marker in genotyping of thirty-six melon accessions, and identified two bisexual genotypes B15 and B18. Taken together,

收稿日期: 2018-10-30 修回日期: 2018-11-20 网络出版日期: 2019-01-16

URL: <http://www.doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20181030002>

第一作者研究方向为甜瓜分子育种, E-mail: majian@nervc.org

通信作者: 王建设, 研究方向为甜瓜遗传育种, E-mail: wangjianshe@nervc.org

基金项目: 北京市农林科学院青年科研基金 (QNJJ201701); 蔬菜中心科研创新基金 (KYCX201705-04); 北京市农林科学院院创新团队 (JNKYT201601); 国家自然科学基金 (31701937)

Foundation project: Youth Scientific Research Fund of Beijing Academy of Agricultural and Forestry Sciences (QNJJ201701), Special Research Innovation Fund of Beijing Vegetable Research Center (KYCX201705-04), Beijing Academy of Agricultural and Forestry Sciences (JNKYT201601), National Natural Science Foundation of China (31701937)

these results will greatly facilitate the utilization of *g* gene in melon gynoecious breeding programs by marker-assisted selection.

Key words: *Cucumis melo* L.; hermaphrodite; *CmWIP1*; molecular marker

甜瓜 (*Cucumis melo* L.) 为葫芦科 (Cucurbitaceae) 黄瓜属 (*Cucumis* L.) 甜瓜种一年生草本植物, 因其果实香甜、营养丰富, 深受各地人民喜爱。甜瓜存在性别分化, 主要花型分 3 种: 雄花、雌花和完全花。不同的花型组合使甜瓜的性型较为丰富, 大致分为以下几种: 雄花两性花同株 (雄全同株, andromonoecious)、雌花两性花同株 (雌全同株, gynomonoecious)、雌雄异花同株 (单性花, monoecious)、两性花株 (完全株, hermaphrodite)、雌花雄花两性花同株 (三性混合株, trimonoecious)、全雌株 (gynoecious) 和全雄株 (androecious)^[1-2]。

之前的研究表明, 甜瓜的性型主要受 *Andromonoecious* (*A/a*)、*Gynoecious* (*G/g*) 以及修饰基因 *Gy/gy* (*M/m*) 3 个位点上的等位基因协同控制^[3-5]。*a*、*g*、*gy* 均为隐性基因, 其中 *a* 基因控制雄全同株性状, 作用于大多数单性雄花, 少数两性完全花; *g* 基因控制雌全同株性状, 作用于大多数单性雌花, 少数两性完全花; *gy* 基因控制全雌株性状, 与 *a* 和 *g* 存在互作。当位点 *a*、*g* 的基因型为 *A_G_* 时, 表现为雌雄异花同株; *aagg* 基因型为两性花株; 基因型为 *aaG_* 时表现为雄全同株; 基因型为 *A_ggygy* 时, 表现为稳定的全雌株。目前, 甜瓜中性别决定的 *CmACS-7* (*A* 基因)、*CmWIP1* (*G* 基因)、*CmACS-11* 和 *CmACO3* 基因已经克隆^[3, 6-8]。其中, 雌性花调控 *g* 基因即 *CmWIP1* 编码一个 C2H2 类锌指蛋白转录因子, 由于基因下游 1.4 kb 位置插入了一个 *hAT* 家族转座子 *Gyno-hAT*, 导致 *CmWIP1* 基因启动子区域发生甲基化而不表达, 从而心皮发育产生雌花^[6]。Boualem 等^[7] 研究表明若 *CmWIP1* 发生突变丧失功能即 *AAgg* 基因型, 产生全雌株; 若 *CmWIP1* 和 *CmACS-7* 同时发生突变丧失功能, 即 *aagg* 基因型, 则产生全两性花株。

目前, 栽培的甜瓜品种大多为雄全同株类型, 少数为单性花品种。雄全同株品种在杂交 1 代制种过程中, 需要人工去雄, 还必须严格执行摘除雄花、套袋、标记、种子纯度鉴定等操作流程, 操作繁琐、耗时耗力, 而且若去雄不完全, 影响杂交种纯度及优良品种推广^[9-10]。另外, 若人工去雄或授粉时伤及雌蕊, 会造成授粉率低、结实减少, 影响杂交种产量。相比

两性花, 单性花简化了制种程序, 省去人工去雄的麻烦, 提高了种子纯度, 大幅度降低了杂交种制种成本, 应用前景良好, 国内多家单位陆续开展了单性花品种的转育, 如白梨、黄金金玉等^[9, 11-13]。但是单性花在制种过程中, 仍需要人工授粉、套袋、标记、种子纯度鉴定等操作。若利用全株无雄花的全雌系作母本, 或可采用蜜蜂授粉代替人工, 不仅可以降低制种成本, 理论上种子纯度可达到 100%^[10]。已报道的源于美国的全雌系 WI998 果小、糖度低、商品性差, 难以用于新品种培育; 国内吴起顺等^[14] 从 2002 年开始进行甜瓜全雌系的转育, 先后育成吴创 1 号、吴创 2 号等品种, 但后续未见全雌系品种应用的报道。全雌系在配制杂交种中的绝对优势, 已成为甜瓜育种的重要目标之一, 生产上迫切需要培育新的全雌系材料。

甜瓜的性型遗传较为复杂, 另外, 甜瓜单性花在育种上已广泛应用, 而全雌系的合成及繁殖较为困难, 在一定程度上限制了全雌系的选育和应用。全雌系基因型为 *AAgg*, 在全雌系培育过程中, *A* 基因为显性, 尚可进行当代进行表型观察, 而 *g* 基因为隐性, 只能自交观察后代表型。因此, 利用常规杂交方法选育全雌系费时费力, 而利用 DNA 分子标记同时开展 2 个基因的标记辅助选择必将加快全雌系的培育进度。目前, 基于 *A* 基因已经开发了多对特异分子标记, 如 T1、T1ex、InDel-1 等^[15-17]。针对 *g* 基因, 栾非时等^[18] 开发了一对 SCAR 标记 *g-as* 和 *g-s* 可用于 *g* 基因的分子标记辅助选择, 但扩增片段较大约为 1169 bp, 对样本的基因组 DNA 质量或扩增用 DNA 聚合酶的要求较高; 许勇等^[19] 开发了可特异鉴定 *g* 基因的一对 KASP 标记, 借助 PCR SNPLINE 平台可实现对较大样本的基因型检测, 但该引物分析方法对不具备该平台的实验室以及小样本材料分析不是很方便。另外, 尚无学者利用 *g* 基因的分子标记对全两性花材料进行分子鉴定, 因此, 急需开发 *g* 基因的高效实用分子标记来弥补 *g* 基因利用的不足。本研究旨在开发 *g* 基因的特异分子标记, 并对其准确性和特异性进行验证, 同时利用该标记鉴定携带 *g* 基因的全两性花材料, 以期将来培育新的甜瓜全雌系提供技术和材料, 加快全雌系的选育进程。

1 材料与方法

1.1 甜瓜材料

供试材料包括：源于甜瓜地方品种一窝猴的高代自交系 B15、品种伊丽莎白的父本高代自交系 054；由母本 B15、父本 054 杂交并自交后获得的 F₂

分离群体以及本实验室保存或从市场购买后并多代自交的其余 34 份甜瓜材料(表 1)。所有材料于 2018 年春季育苗后移栽于北京市农林科学院蔬菜研究中心四季青基地大棚内,连续观察记录第 6~10 节位主枝和侧枝花的性型性状。

表 1 供试甜瓜材料及其 *g* 基因鉴定

Table 1 Genotyping of the *g* gene in 36 melon accessions

编号 No.	甜瓜材料 Accession	花性型 Sexual phenotype	类型 Type	原始名称 Original name	来源 Origin
1	B15	全两性花	薄皮	一窝猴	郑州邢源种业有限公司
2	B18	全两性花	薄皮	白梨	本实验室保存
3	054	雄花两性花	薄皮	伊丽莎白父本	国家蔬菜工程技术研究中心利得公司
4	B1	雄花两性花	薄皮	花蜜脆	郑州邢源种业有限公司
5	B2	雄花两性花	薄皮	红道边	郑州邢源种业有限公司
6	B3	雄花两性花	薄皮	特大白沙蜜	郑州邢源种业有限公司
7	B4	雄花两性花	薄皮	山西黄	郑州邢源种业有限公司
8	B5	雄花两性花	薄皮	精品红城脆	郑州邢源种业有限公司
9	B6	雄花两性花	薄皮	超早甜如蜜	郑州邢源种业有限公司
10	B7	雄花两性花	薄皮	甜掉牙	郑州邢源种业有限公司
11	B8	雄花两性花	薄皮	羊角脆	京研益农(北京)种业科技有限公司
12	B9	雄花两性花	薄皮	青龙菜瓜	郑州邢源种业有限公司
13	B10	雄花两性花	薄皮	黑皮棱子酥	郑州邢源种业有限公司
14	B11	雄花两性花	薄皮	青皮绿肉酥	郑州邢源种业有限公司
15	B12	雄花两性花	薄皮	八棱脆	郑州邢源种业有限公司
16	B13	雄花两性花	薄皮	五月酥	郑州邢源种业有限公司
17	B14	雄花两性花	薄皮	花皮酥菜瓜	郑州邢源种业有限公司
18	B16	雄花两性花	薄皮	盛开花	郑州邢源种业有限公司
19	B17	雄花两性花	薄皮	八棱皮稍瓜	郑州邢源种业有限公司
20	B19	雄花两性花	薄皮	落花甜	郑州邢源种业有限公司
21	HP1	雄花两性花	厚皮	实验室保存	本实验室保存
22	HP2	雄花两性花	厚皮	实验室保存	本实验室保存
23	HP3	雄花两性花	厚皮	实验室保存	本实验室保存
24	HP4	雄花两性花	厚皮	实验室保存	本实验室保存
25	HP5	雄花两性花	厚皮	实验室保存	本实验室保存
26	HP6	雄花两性花	厚皮	实验室保存	本实验室保存
27	HP7	雄花两性花	厚皮	实验室保存	本实验室保存
28	HP8	雄花两性花	厚皮	实验室保存	本实验室保存
29	HP9	雄花两性花	厚皮	实验室保存	本实验室保存
30	HP10	雄花两性花	厚皮	实验室保存	本实验室保存
31	HP11	雄花两性花	厚皮	实验室保存	本实验室保存
32	HP12	雄花两性花	厚皮	实验室保存	本实验室保存
33	H71	雄花两性花	厚皮	实验室保存	本实验室保存
34	H72	雄花两性花	厚皮	实验室保存	本实验室保存
35	1520A	单性花	薄皮	实验室保存	本实验室保存
36	B24	单性花	中间型	黄子金玉	合肥庞氏农产品有限公司

1.2 分子标记开发

从 NCBI 数据库 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 获得 *CmWIP1* 基因序列 (登录号: GQ870275 和 GQ870274) [6], 基于转座子 *Gyno-hAT* 的插入在靠近 *G* 基因一侧设计了特异检测该转座子插入的标记 *g-F/R*。从甜瓜基因组数据库 (<https://www.melonomics.net/>) 获得该基因位点附近基因组序

列, 在 *G* 基因上游 13 kb 及下游 39 kb 处, 基于 2 个亲本 B15 和 054 基因组的差异, 设计筛选了 2 对 InDel 标记 C5-9 和 C5-10。标记序列利用 NCBI 网站在线引物设计程序 Primer-BLAST (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/index.cgi?LINK_LOC=BlastHome) 设计 (表 2), 引物由北京天一辉远生物科技有限公司合成。

表 2 本研究所用的 PCR 引物序列

Table 2 PCR primers used in this study

引物名称 Primer name	正向引物 Forward primer (5' -3')	反向引物 Reverse primer (5' -3')	目的片段长度 (bp) Expected size
<i>g-F/R</i>	AAGTACTCCAAATGAATGGCT	TTAAATCGGGTCGGTTCGGT	160
C5-9	GCTTTCAAAATGCACAAAACCC	ACATTGTCCTAACAGAGGCAAA	119
C5-10	TTGGTACAGAAATTGGGACAGA	GCTATAGTTTAGCAAAGCGAAGATG	159

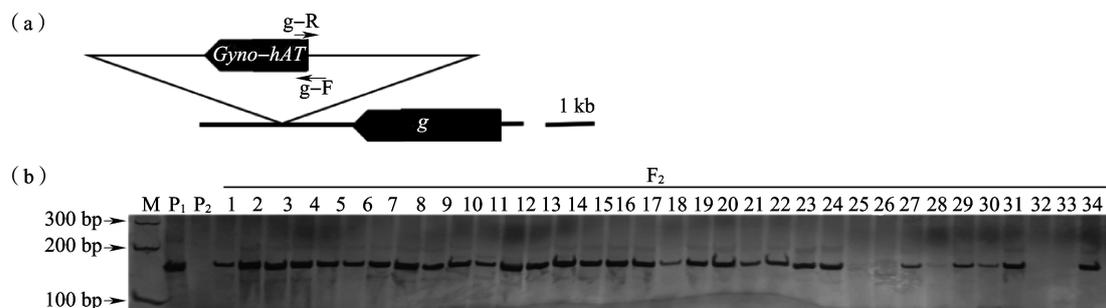
1.3 DNA 提取、PCR 扩增及检测

取甜瓜新鲜叶片, 利用 CTAB 法 [20] 提取基因组总 DNA。PCR 反应体系为 10 μ L, 包括 0.8 μ L Buffer、0.8 μ L dNTPs (2 mmol/L each)、1 μ L Primers (10 μ mol/L, F+R)、1 μ L 基因组 DNA (50 ng/ μ L)、0.1 μ L *EasyTaq*[®] DNA Polymerase for PAGE (购自北京全式金生物技术有限公司) 和 6.3 μ L ddH₂O。反应程序为: 94 $^{\circ}$ C 预变性 4 min; 94 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 59 $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 30 s, 运行 35 个循环; 72 $^{\circ}$ C 延伸 5 min。反应产物经 8% 聚丙烯酰胺凝胶电泳检测, 银染后在观片机上拍照、记录试验结果。

2 结果与分析

2.1 *g* 基因特异标记开发及对后代群体的检测

Martin 等 [6] 研究表明, *G* 基因即 *CmWIP1* 的表达抑制心皮的发育导致单性雄花的产生, 转座子 *Gyno-hAT* 插入到该基因下游 1.4 kb 位置处, 导致 *G* 基因启动子区发生明显的甲基化而使该基因表达沉默形成雌花。本研究基于该转座子的插入设计了特异标记 *g-F/R* (图 1a)。理论上, 标记 *g-F/R* 在甜瓜基因组 DNA 中有产物扩增, 表示该材料或单株携带 *g* 基因。



a: 标记 *g-F/R* 的引物位置; b: 标记 *g-F/R* 对亲本和部分 F_2 单株 PCR 扩增产物检测; P_1 : B15; P_2 : 054; 1~22: 全两性花 F_2 单株; 23~34: 雄全花 F_2 单株; M: 100 bp DNA ladder。下同

a: The position of primers for marker *g-F/R*, b: The amplified PCR products with marker *g-F/R* for two parents and 34 F_2 progenies, P_1 : B15, P_2 : 054, 1-22: hermaphrodite, 23-34: andromonoecious, M: 100 bp DNA ladder, The same as below

图 1 标记 *g-F/R* 引物位置及对亲本和 F_2 的基因型分析

Fig.1 Development of dominant marker *g-F/R* and genotyping of two parents and selected F_2 lines

甜瓜材料 B15 为全两性花株类型, 全株只着生完全花一种类型, 基因型为 *aagg*。054 为雄全株类型, 主蔓着生雄花, 侧枝着生雄花和完全花, 基因型

为 *aaGG*。为了验证标记 *g-F/R* 的准确性和特异性, 以 B15 和 054 为亲本配制 F_1 并自交产生 F_2 , 随后在田间逐一调查统计 F_2 植株花的性型, 去除个别发

育畸形花单株,统计结果表明:141个性型明显 F_2 单株中,雄全株类型109株,全两性花株类型32株,经卡方测验($109:32$) $\chi^2_{0.05}=0.29<3.84$ ($P=0.59$),符合孟德尔遗传单基因分离比。随后,利用g-F/R标记对亲本及141个 F_2 单株进行基因型分析,结果表明:B15基因组DNA可以在100~200 bp之间扩增出1条特异目的条带,而亲本054无扩增产物检出(图1b);141个 F_2 单株中,112个可以扩增出目的条带,其中32株全两性花单株全部有目的条带扩出,80个雄全同株单株也有目的条带扩出,而其余29个雄全同株单株未检测出目的条带。这些结果表明标记g-F/R可以在后代群体中特异检测出g基因,部分结果如图1b所示。

2.2 g 基因附近连锁标记对 g-F/R 标记检测结果的验证

为了进一步验证标记g-F/R检测结果的准确性,利用2对InDel标记C5-9和C5-10对亲本及141个 F_2 单株进行基因型分析,结果表明:2对标记扩增结果类似(图2),141个 F_2 单株中,32个全两性花单株扩增目的条带与亲本B15一致(基因型gg),29个雄全同株单株扩增目的条带与亲本054一致(基因型GG),其余80个雄全同株单株目的条带为杂合型(基因型Gg),部分结果如图2所示,其中所用34个 F_2 单株编号与图1一致。g基因紧密连锁标记C5-9和C5-10与g-F/R检测结果一致性100%,进一步表明标记g-F/R对 F_2 群体检测结果可靠。

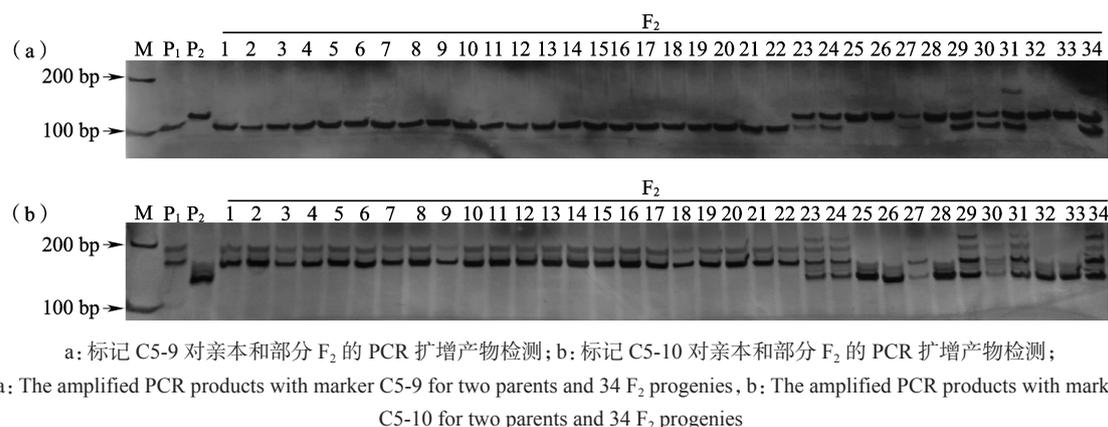


图2 标记 C5-9 和 C5-10 对亲本及 F_2 的基因型分析

Fig.2 The genotypic analysis of marker C5-9 and C5-10 in two parents and F_2 generation

2.3 g 基因在甜瓜种质资源中的分布

为了鉴定出新的全两性花资源,了解g基因的分布情况,利用g-F/R标记对其余34份甜瓜资源进行了PCR检测。结果表明:对照单性花材料1520A和B24(基因型为AAGG)无扩增条带,其余除B15

外,仅B18可特异地扩增出1条160 bp目的片段。B18源于薄皮甜瓜资源白梨,为全两性花株类型,基因型应与B15一致也为aagg,而其余的雄全株材料均未有目的条带扩出,基因型应为aaGG(图3,表1)。

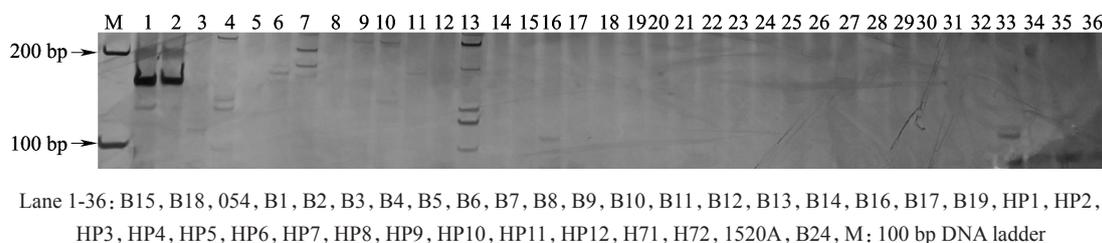


图3 标记 g 对 36 份甜瓜材料的基因型分析

Fig.3 The genotypic analysis of marker g-F/R in 36 melon accessions

3 讨论

在长期进化过程中被子植物的性别发生分化,产生了分离的雄性(雄蕊)和雌性(心皮)器官,由

最初的两性花分生组织逐渐发展成单性花,这种机制导致异交增强,增加了遗传变异^[21-22]。葫芦科作物绝大多数都存在性别分化,如黄瓜、甜瓜等,甜瓜性别决定机制比较复杂,主要取决于A、G以及

Gy(M) 3 个位点的基因协同控制^[3-5, 23]。植物性别决定不仅受遗传影响, 而且也会受植物生长物质(如激素)和环境等因素影响^[21-23]。Kim 等^[16]研究表明以单性花材料(AAGG)与雄全花(aaGG)杂交时, F₂ 群体中会出现约 3% 畸形两性花。吴起顺等^[10]在选育全雌系时, 利用小黄杠两性花株与雌雄异花同株甜瓜杂交, F₂ 会分离到子房发育不全的两性花。本研究中利用全两性花株 B15 与雄全花 054 配制杂交, F₁ 全为雄全花株, 141 株 F₂ 单株中, 109 株雄全花株与 32 株全两性花株比例接近 3:1, 表型数据上验证了 *g* 基因为单隐性基因遗传。同时, 另有 3 株主蔓上存在雄花的同时, 也出现畸形两性花, 雄蕊发育正常而雌蕊明显变小, 授粉后也会发育成畸形果实, 这与吴起顺等^[10]研究相似, 利用标记 *g-F/R* 对这 3 株进行鉴定, 有 1 株携带 *g* 基因, 另 2 株不携带 *g* 基因, 这 3 株的花发育可能受到环境或者其他微效基因的影响。

随着生物技术的发展, DNA 分子标记技术在植物育种中的应用越来越广泛。利用分子标记进行分子标记辅助选择育种可以不受环境客观因素和人为主观因素的影响, 可在幼苗期进行, 选择结果可靠, 尤其适用于复杂性状的选择, 如抗逆、抗病虫基因的选择, 可以大大加快新品种选育的进度^[24-25]。开发与功能基因紧密连锁尤其是基因位点特异性标记或基因功能性标记, 后代选择中可减少遗传累赘, 提高选择效率和准确性^[26]。目前, 甜瓜的基因组已经测序、组装、注释完成, 根据基因组数据开发分子标记变得比较容易, 加速了控制甜瓜重要农艺性状基因的定位或克隆, 许多鉴定出的基因都已开发了特异分子标记^[27-28]。本研究基于 *g* 基因下游的转座子 *Gyno-hAT*, 开发了一个可特异鉴定待测甜瓜材料是否携带该转座子的特异分子标记 *g-F/R*, 并利用 F₂ 群体以及 *g* 基因上下游 2 对 InDel 标记 C5-9 和 C5-10 对标记 *g-F/R* 鉴定的特异性和准确性进行了验证, 数据表明 *g-F/R* 可特异鉴定出携带 *g* 基因的 32 株全两性花单株和 80 株雄全花单株, 准确性几乎可达 100%。

本研究所开发的标记 *g-F/R* 为基因位点特异性标记, 应用该标记对 36 份不同背景的甜瓜材料进行鉴定, 鉴定结果与表型完全吻合, 表明利用该标记进行 *g* 基因选择不会受到遗传背景的影响。在将来的甜瓜全雌系培育过程中, 可在发芽期对子叶进行鉴定即可确定该植株是否携带 *g* 基因, 以便及早拔出非目的单株, 提高选择精度, 加快新品种的培育进程。

参考文献

- [1] 栾非时. 西瓜甜瓜育种及生物技术. 北京: 科学出版社, 2013: 372-376
Luan F S. Watermelon melon breeding and biotechnology. Beijing: Science Press, 2013: 372-376
- [2] 龚浩, 罗剑宁, 罗少波, 郑晓明, 何晓莉, 吴海滨. 黄瓜与甜瓜的性别决定分子机制研究进展. 园艺学报, 2014, 41(2): 382-388
Gong H, Luo J N, Luo S B, Zheng X M, He X L, Wu H B. Progress of study on the molecular mechanism of sex-determination in melon and cucumber. Acta Horticulturae Sinica, 2014, 41(2): 382-388
- [3] Boualem A, Fergany M, Fernandez R, Troadec C, Martin A, Morin H, Sari M A, Collin F, Flowers J M, Pitrat M, Purugganan M D, Dogimont C, Bendahmane A. A conserved mutation in an ethylene biosynthesis enzyme leads to andromonoecy in melons. Science, 2008, 321(5890): 836-838
- [4] Kinigsbuch D, Cohen Y. Inheritance of gynoeocious sex type in muskmelon. Cucurbit Genetics Cooperative Report, 1987, 10: 47-48
- [5] Kinigsbuch D, Cohen Y. The inheritance of gynoecy in muskmelon. Genome, 1990, 33: 317-327
- [6] Martin A, Troadec C, Boualem A, Rajab M, Fernandez R, Morin H, Pitrat M, Dogimont C, Bendahmane A. A transposon-induced epigenetic change leads to sex determination in melon. Nature, 2009, 461(7267): 1135-1138
- [7] Boualem A, Troadec C, Camps C, Lemhemdi A, Morin H, Sari M A, Fraenkel-Zagouri R, Kovalski I, Dogimont C, Perl-Treves R, Bendahmane A. A cucurbit androecy gene reveals how unisexual flowers develop and dioecy emerges. Science, 2015, 350(6261): 688-691
- [8] Chen H M, Sun J J, Li S, Cui Q Z, Zhang H M, Xin F J, Wang H S, Lin T, Gao D L, Wang S H, Li X, Wang D H, Zhang Z H, Xu Z H, Huang S W. An ACC oxidase gene essential for cucumber carpel development. Molecular Plant, 2016, 9: 1315-1327
- [9] 梁莉, 李荣富, 张来生, 鄂志强. 甜瓜单性花性状遗传分析及转育研究. 内蒙古农业科技, 2010(1): 49-50
Liang L, Li R F, Zhang L S, E Z Q. Inheritance analysis of the unisexual flower character and its transfer breeding research in *Cucumis melo* L.. Inner Mongolia Agricultural Science and Technology, 2010(1): 49-50
- [10] 吴起顺, 孙河山. 甜瓜全雌系转育的性型遗传研究简报. 吉林蔬菜, 2010(2): 84-86
Wu Q S, Sun H S. Inheritance analysis of gynoeocious and its transfer breeding research in *Cucumis melo* L.. Jilin Vegetables, 2010(2): 84-86
- [11] 吴起运. 单性花白梨薄皮甜瓜的选育及其利用研究简报. 中国西瓜甜瓜, 2003(1): 16-17
Wu Q Y. A brief report on breeding and utilization of a new monoecious melon variety 'Baili'. Chinese Watermelon and Muskmelon, 2003(1): 16-17
- [12] 戴祖云, 赵辉, 夏承东, 杨培柱, 刘永忠. 早熟耐贮浓黄皮甜瓜品种黄金玉的选育. 中国瓜菜, 2006(1): 23-25
Dai Z Y, Zhao H, Xia C D, Yang P Z, Liu Y Z. A new melon variety-Golden Jade with early-maturity and dark-yellow rind. China Cucurbits and Vegetables, 2006(1): 23-25

- [13] 张平,奥岩松.甜瓜单性花性状转育.江苏农业科学,2013,41(4):143-145
Zhang P, Ao Y S. Studies on transferring the character of single-sex flower. Jiangsu Agricultural Sciences, 2013, 41(4): 143-145
- [14] 吴起顺,张毅,孙河山,吴启波.吴创1号、2号薄皮甜瓜全雌系选育简报.中国瓜菜,2009(6):29-30
Wu Q S, Zhang Y, Sun H S, Wu Q B. Breeding of gynoecious melon lines wu chuang No.1 and No.2. China Cucurbits and Vegetables, 2009(6): 29-30
- [15] Feng H, Li X M, Liu Z Y, Wei P, Ji R Q. A co-dominant molecular marker linked to the monoecious gene *CmACS-7* derived from gene sequence in *Cucumis melo* L.. African Journal of Biotechnology, 2009, 8(14): 3168-3174
- [16] Kim N, Oh J, Kim B, Choi E K, Hwang U S, Staub J E, Chung S M, Park Y. The *CmACS-7* gene provides sequence variation for development of DNA markers associated with monoecious sex expression in melon (*Cucumis melo* L.). Horticulture Environment Biotechnology, 2015, 56(4): 535-545
- [17] 张乔玲,华德平,杨旭辉,付金玉,谢梅婷,刘莉.甜瓜单性花共显性分子标记的开发及应用.分子植物育种,2018, <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20180810.1635.012.html> 1
Zhang Q L, Hua D P, Yang X H, Fu J Y, Xie M T, Liu L. Development and application of a co-dominant molecular marker for monoecious in melon. Molecular Plant Breeding, 2018, <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20180810.1635.012.html> 1
- [18] 栾非时,高鹏,王学征,王凤娇,马鸿艳,朱子成.甜瓜枯萎病抗性与全雌系分子标记辅助选择的引物及方法.中华人民共和国国家知识产权局,2014,专利号:CN103866005A
Luan F S, Gao P, Wang X Z, Wang F J, Ma H Y, Zhu Z C. Molecular marker-assisted selection primer and method for wilt resistance and gynoecious line of melon. National Intellectual Property Administration, People's Republic of China, 2014, Patent No. CN103866005A
- [19] 许勇,张春秋,史建廷,宫国义,张海英.利用高通量分子标记转育甜瓜雌性系的方法及其专用引物.中华人民共和国国家知识产权局,2016,专利号:CN105256031A
Xu Y, Zhang C Q, Shi J T, Gong G Y, Zhang H Y. Method for transforming *Cucumis melo* female line through high-throughput molecular marker and special primer. National Intellectual Property Administration, People's Republic of China, 2016, Patent No. CN105256031A
- [20] Murray M G, Thompson W F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. Nucleic Acids Research, 1980, 8: 4321-4325
- [21] Dellaporta S L, Calderon-Urrea. A sex determination in flowering plants. Plant Cell, 1993, 5: 1241-1251
- [22] Zhang J S, Boualem A, Bendahmane A, Ming R. Genomics of sex determination. Current Opinion in Plant Biology, 2014, 18: 110-116
- [23] 张慧君,王学征,高鹏,高美玲,栾非时.甜瓜性别分化的研究进展.园艺学报,2012,39(9):1773-1780
Zhang H J, Wang X Z, Gao P, Gao M L, Luan F S. Progress of study on sex differentiation in melon. Acta Horticulturae Sinica, 2012, 39(9): 1773-1780
- [24] Ma J, Lei C L, Xu X T, Hao K, Wang J L, Cheng Z J, Ma X D, Ma J, Zhou K N, Zhang X, Guo X P, Wu F Q, Lin Q B, Wang C M, Zhai H Q, Wang H Y, Wan J M. *Pi64*, encoding a novel CC-NBS-LRR protein, confers resistance to leaf and neck blast in rice. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2015, 28(5): 558-568
- [25] 时克,雷财林,程治军,许兴涛,王久林,万建民.稻瘟病抗性基因 *Pita* 和 *Pib* 在我国水稻主栽品种中的分布.植物遗传资源学报,2009,10(1):21-26
Shi K, Lei C L, Cheng Z J, Xu X T, Wang J L, Wan J M. Distribution of two blast resistance genes *Pita* and *Pib* in major rice cultivars in China. Journal of Plant Genetic Resources, 2009, 10(1): 21-26
- [26] 马建,马小定,赵志超,王帅,王久林,王洁,程治军,雷财林.水稻抗稻瘟病基因 *Pi35* 功能性分子标记的开发及其应用.作物学报,2015,41(12):1779-1790
Ma J, Ma X D, Zhao Z C, Wang S, Wang J L, Wang J, Cheng Z J, Lei C L. Development and application of a functional marker of the blast resistance gene *Pi35* in rice. Acta Agronomica Sinica, 2015, 41(12): 1779-1790
- [27] Garcia-Mas J, Benjak A, Sanseverino W, Bourgeois M, Mir G, Gonzalez V M, Henaff E, Camara F, Cozzuto L, Lowy E, Alioto T, Capella-Gutierrez S, Blanca J, Canizares J, Ziarsolo P, Gonzalez-Ibeas D, Rodriguez-Moreno L, Droege M, Du L, Alvarez-Tejado M, Lorente-Galdos B, Mele M, Yang L M, Weng Y Q, Navarro A, Marques-Bonet T, Aranda M A, Nuez F, Pico B, Gabaldon T, Roma G, Guigo R, Casacuberta J M, Arus P, Puigdomenech P. The genome of melon (*Cucumis melo* L.). Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2012, 109(29): 11872-11877
- [28] 包文凤,王吉明,尚建立,马双武.西瓜甜瓜质量性状的分子标记与定位研究进展.植物遗传资源学报,2009,10(3):480-485
Bao W F, Wang J M, Shang J L, Ma S W. Progress in research on molecular markers and mapping of quality traits in watermelon (*Citrullus lanatus*) and melon (*Cucumis melo* L.). Journal of Plant Genetic Resources, 2009, 10(3): 480-485