

徐颖超, 张思程, 薛舒丹, 等. 南瓜叶黄素基因紧密连锁的 InDel 分子标记开发及应用[J]. 江苏农业学报, 2024, 40(2): 348-358.
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2024.02.017

南瓜叶黄素基因紧密连锁的 InDel 分子标记开发及应用

徐颖超¹, 张思程^{1,2}, 薛舒丹¹, 刘佳黎¹, 朱吉童¹, 孟琦涛¹, 林惠境¹, 聂呈荣², 钟玉娟¹

(1. 广东省农业科学院蔬菜研究所/广东省蔬菜新技术研究重点实验室, 广东 广州 510640; 2. 佛山科学技术学院园艺学院, 广东 佛山 528231)

摘要: 本研究旨在开发与南瓜(*Cucurbita moschata* Duch.) 叶黄素含量的数量性状基因座(Quantitative trait locus, QTL) 紧密连锁且实用性强的分子标记, 以加速南瓜的育种进程。前期在 F₂ 代群体中定位到与叶黄素含量紧密连锁的主效 QTL 位点 *qlut11-a*, 在其两侧翼分子标记 *R1_38695* 和 *R2_55819* 之间开发了 8 对 InDel 分子标记。通过对 F₂ 代群体及部分高代(F₈ 代) 重组自交系株系进行基因型和叶黄素表型分析, 明确了 InDel 分子标记 *G005310* 和 *G005670* 可有效筛选高叶黄素含量和低叶黄素含量材料, 并在近等基因系构建中证实了其能用于创制高叶黄素含量的南瓜种质, BC₅F₁ 果实中的最高叶黄素含量约是低叶黄素含量亲本果实含量的 2.8 倍, 且占高叶黄素含量亲本果实的 96%。本研究结果为加速南瓜高叶黄素含量种质育种进程提供了更实用的分子标记。

关键词: 南瓜; 叶黄素; QTL 定位; HPLC 测定; InDel 分子标记

中图分类号: S642.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2024) 02-0348-11

Development and application of closely linked InDel molecular markers of lutein gene in *Cucurbita moschata* Duch.

XU Ying-chao¹, ZHANG Si-cheng^{1,2}, XUE Shu-dan¹, LIU Jia-li¹, ZHU Ji-tong¹, MENG Qi-tao¹, LIN Hui-jing¹, NIE Cheng-rong², ZHONG Yu-juan¹

(1. Vegetable Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences/Guangdong Key Laboratory for New Technology Research of Vegetables, Guangzhou 510640, China; 2. School of Horticulture, Foshan University of Science and Technology, Foshan 528231, China)

Abstract: To accelerate the breeding progress of *Cucurbita moschata* Duch. (*C. moschata*), the study aimed to develop molecular markers which are tightly linked with quantitative trait locus (QTL) of lutein content in *C. moschata* and

are highly practicable. Eight pairs of insertion-deletion

收稿日期: 2023-04-17
基金项目: 广东省农业科学院食品营养与健康研究中心建设运行经费项目(XTXM202205); 广西重点研发计划项目(桂科 AB23026076); 广东省农业科学院科技人才引进专项(R2022YJ-YB3012); 广东省蔬菜新技术重点实验室开放基金项目(202201); 国家自然科学基金项目(32172604); 广东省现代农业产业技术体系创新团队建设项目(2022KJ117)

作者简介: 徐颖超(1994-), 女, 山东烟台人, 博士, 助理研究员, 研究方向为蔬菜品质遗传改良及代谢机理。(E-mail) xuyingchao@gdaas.cn

通讯作者: 钟玉娟, (E-mail) zhongyujuan@gdaas.cn; 聂呈荣, (E-mail) niecr@126.com

markers were developed between the two flanking molecular markers *R1_38695* and *R2_55819*, based on the previous localization of the primary QTL locus *qlut11-a* which was tightly linked to lutein content in F₂ population. Genotype analysis and phenotypic analysis of lutein content for the F₂ population and recombinant inbred lines (RILs) in part of the high generation (F₈) revealed that, InDel molecular markers *G005310* and *G005670* could be used to effectively screen materials with high and low lutein contents. Furthermore, the two InDel molecular markers were proved to be able to culture pump-

kin germplasms with high lutein content in the construction of near isogenic line (NIL). The highest lutein content in BC₅ F₁ fruit was about 2.8 times as high as the lutein content in parent fruit with low lutein content, and the lutein content in BC₅ F₁ fruit accounted for about 96% of the lutein content in parent fruit with high lutein content. The research results can provide more practical molecular markers for accelerating breeding process of pumpkin germplasms with high lutein content.

Key words: pumpkin; lutein; QTL localization; HPLC determination; InDel molecular marker

南瓜是葫芦科南瓜属的重要菜粮兼用作物。中国南瓜 (*Cucurbita moschata*)、印度南瓜 (*Cucurbita maxima*)、美洲南瓜 (*Cucurbita pepo*)^[1] 是中国主要的南瓜栽培品种。其中,中国南瓜是中国种植面积最大的南瓜栽培种,具有极高的营养和经济价值。类胡萝卜素是一类天然色素,不仅影响果实的外观颜色,还影响果实的营养价值。自然界中存在着 600 多种类胡萝卜素^[2],主要包括叶黄素、新黄素、岩藻黄素、紫黄素^[3]。紫黄素、叶黄素、 α -胡萝卜素、 β -胡萝卜素是中国南瓜果实中主要的类胡萝卜素。 β -胡萝卜素和 α -胡萝卜素赋予果实橙色,叶黄素赋予果实黄色。类胡萝卜素在植物生长过程中,能削弱光氧化损伤、促进叶绿体膜形成、调控代谢及促进传粉^[4-6]。类胡萝卜素是植物激素(脱落酸和独脚金内酯)的合成前体,参与植物生长发育的调控^[7]。动物自身不能合成类胡萝卜素,需要从外界摄取,但它在动物体内具有多种功能,它是维生素 A 的合成前体,在抗氧化、抗癌和免疫方面发挥重要作用。叶黄素在一定程度上具有预防心血管疾病、冠心病和肿瘤等疾病的功效^[8],对老年视力下降等也有一定程度的改善作用^[9]。叶黄素是瓜果和蔬菜的重要品质成分,也是人体所需的重要营养物质。因此,选育高叶黄素含量的果蔬具有重要意义。

目前,简单重复序列 (Simple sequence repeat, SSR)、插入缺失 (Insertion deletion, InDel)、竞争性等位基因特异性聚合酶链式反应 (Kompetitive allele specific PCR, KASP)、酶切扩增多态性序列 (Cleaved amplified polymorphic sequence, CAPS) 和单核苷酸多态性 (Single nucleotide polymorphism, SNP) 是常见的分子标记。其中,InDel 分子标记具有密集、稳定、可重复且成本低廉的特点^[10],无论在动物还是植物基因组中都密集分布且范围较广^[11],被广泛用于基因定位^[12]、高密度遗传图谱构建^[13]、杂交种子纯度鉴定^[14-15]、植物遗传多样性分析^[16]等。InDel 分子标记在辣椒^[17]、菜心^[18]、菜豆^[19]、黄瓜^[20-21]、西瓜^[22-23]、南瓜^[24]等果蔬中被广泛应用。在美洲南瓜

中,Zhu 等^[25]开发了 7 个 InDel 和 2 个 SNP 分子标记对其茎秆深绿基因进行精细定位。邱悦菡^[26]在对中国南瓜芋香味相关代谢物解析过程中,找到 1 个与芋香味相关的 InDel 分子标记。Abbas 等^[27]开发了 2 个与开花节位相关的 InDel 分子标记 (*InDel2507* 和 *InDel6146*),可有效预测中国南瓜雌花节位数。王曼曼等^[28]开发了 6 个 KASP 分子标记、9 个 InDel 分子标记和 112 个 SNP 分子标记,对中国南瓜中蔗糖葡萄糖比值性状的定位区间进行加密,筛选与蔗糖葡萄糖比值相关的候选基因。Harel-Beja 等^[29]利用甜瓜重组近等基因系群体,构建甜瓜果实性状的高密度遗传图谱,开发了与糖及类胡萝卜素含量相关的 InDel 分子标记。Liu 等^[30]通过对白色西瓜与黄色西瓜的杂交后代进行混池测序分析 (Bulk segregant analysis, BSA),定位到与叶黄素相关的位点,并围绕该位点开发了 InDel 分子标记,可有效区分高叶黄素含量和低叶黄素含量的西瓜种质。综上,在其他葫芦科作物中已有关于类胡萝卜素含量的 InDel 分子标记的开发及应用研究,但目前在中国南瓜中开发的 InDel 分子标记,主要与芋香味、开花节位和蔗糖葡萄糖比值相关,还未见与叶黄素含量相关的分子标记的开发研究和报道。

本研究基于前期在中国南瓜 F₂ 代群体中对叶黄素数量性状座位 (QTL) 的定位结果^[31],结合中国南瓜基因组信息及亲本 CMO-1 (高叶黄素含量) 和 CMO-97 (低叶黄素含量) 的深度重测序数据,拟开发与叶黄素 QTL 紧密连锁的 InDel 位点 *InDel-5310* 和 *InDel-5670*,其对应的分子标记分别为 *G005310* 和 *G005670*,并在 F₂ 代群体、36 个高代 (F₈ 代) 重组自交系群体及近等基因系群体创制中验证该分子标记的有效性和应用性。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本研究所使用的南瓜品种均为中国南瓜:CMO-1 (P₁) 为高叶黄素含量的多代自交系,CMO-97 (P₂)

为低叶黄素含量的多代自交系,以这 2 个叶黄素含量极端株系为父母本通过杂交构建 F_1 代株系,用 F_1 代株系自交获得 200 个 F_2 代单株与 36 个中国南瓜高代自交系材料(F_8 代),分别以 CMO-1 和 CMO-97 作为供体亲本和轮回亲本的近等基因系,以上试验材料均在广东省农业科学院蔬菜研究所实验基地种植。

1.2 叶黄素含量测定

参照文献[32]的方法测定南瓜果肉的叶黄素含量。具体操作如下:

(1) 高效液相色谱(High performance liquid chromatography, HPLC)系统:仪器型号为 Waters e-2696HPLC(Waters, USA);分析色谱柱型号为 Waters Spherisorb 5 μm ODS2 4.6 mm \times 250.0 mm;流动相为 100% 的 A 液[乙腈:0.1 mol/L Tris-HCl (pH 8.0):甲醇=84:14:2, 体积比],保持 15 min,然后在线性梯度下以 1.2 ml/min 的流速逐渐转换至 100% 的 B 液(甲醇:醋酸乙酯=68:32, 体积比),保持 10 min。

(2) 将授粉 50 d 的南瓜果实去皮去瓢,将果肉切片后放入冷冻干燥机中干燥后研磨成粉。取 20 mg 样品粉末,加入适量丙酮,涡旋混匀 15 min,4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下 12 000 r/min 离心 5 min;使用 0.45 μm 滤膜过滤离心后的上清液,用 HPLC 检测其中类胡萝卜素的含量。

(3) 以进样叶黄素标准品质量浓度作为 X 轴, HPLC 峰面积作为 Y 轴,绘制叶黄素标准品的线性回归方程。

(4) 通过叶黄素标准品的标准曲线对果肉中叶黄素的含量进行定量计算。

1.3 试验材料 DNA 提取

南瓜 P_1 、 P_2 、 F_1 代、200 个 F_2 代、36 个高代(F_8 代)自交系材料及高代回交重组自交系群体(Advanced generation backcross populations) BC_5F_1 材料的单株幼嫩叶片的 DNA 用改良十六烷基三甲基溴化铵法(Hexadecyltrimethyl ammonium bromide, CTAB)提取, DNA 的浓度和纯度通过超微量分光光度计和 1% 琼脂糖凝胶检测,将 DNA 浓度调至相同,并保存至 -20°C 备用。

1.4 InDel 位点筛选和引物设计

以叶黄素在 F_2 代群体 QTL 位点 *qlut11-a* 的两侧翼分子标记为 InDel 分子标记开发区间,结合两

亲本全基因组重测序数据(<http://cucurbitgenomics.org/v2/>)及中国南瓜基因组序列信息,对区间内基因的 InDel 突变位点进行分析,在区间内基因起始密码子上游 2 000 bp 查找在亲本中含有 5~25 bp 差异的变异位点,提取突变位点上下游各 150 bp 的序列,并使用 Primer 5.0 软件设计引物。引物长度设定为 17~24 bp, G+C 含量为 40%~60%,解链温度(T_m)为 52~60 $^{\circ}\text{C}$ 。引物序列由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

1.5 基因型检测及分析

1.5.1 试剂配制

1.5.1.1 8% 聚丙烯酰胺凝胶 50 ml 注胶液[77.14 g 丙烯酰胺, 2.66 g N,N' -二亚双丙烯酰胺,用 100 ml 10 \times 缓冲液(Tris borate EDTA buffered solution, TBE)溶解,用双蒸水(ddH_2O)定容至 1 L]、500 μl 10% 过硫酸铵及 20 μl 四甲基乙二胺(N,N,N',N' -Tetramethylethylenediamine, TEMED)。

1.5.1.2 0.1% 染色液与显色液 0.5 g AgNO_3 , 用 500 ml ddH_2O 溶解成 0.1% 染色液;10 g NaOH , 0.2 g Na_2CO_3 , 用 500 ml ddH_2O 溶解成显色液。

1.5.2 PCR 扩增及电泳

1.5.2.1 PCR 扩增体系(10.0 μl) 正反向引物各 0.5 μl , DNA 模板 0.3 μl , 2 \times *Taq* PCR StarMix 5.0 μl , ddH_2O 3.7 μl 。

1.5.2.2 PCR 扩增步骤 94 $^{\circ}\text{C}$ 5 min;94 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 52 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 35 个循环;72 $^{\circ}\text{C}$ 10 min。

1.5.2.3 电泳 配制 8% 聚丙烯酰胺凝胶, 160 V 电压, 运行 2 h。电泳后先用 0.1% 染色液染色, 再用显色液显色, 最后于灯箱上拍照保存。

1.5.3 带型数据分析 根据母本($CMO-1$, P_1)、父本($CMO-97$, P_2)和 F_1 代的 PCR 扩增后电泳的条带分布来确定引物特异性, 以父本、母本、 F_1 代的条带为参考标准, 与 P_1 相同的带型记为“AA”, 与 P_2 相同的带型记为“BB”, 同时具有 P_1 和 P_2 的带型记为“AB”。

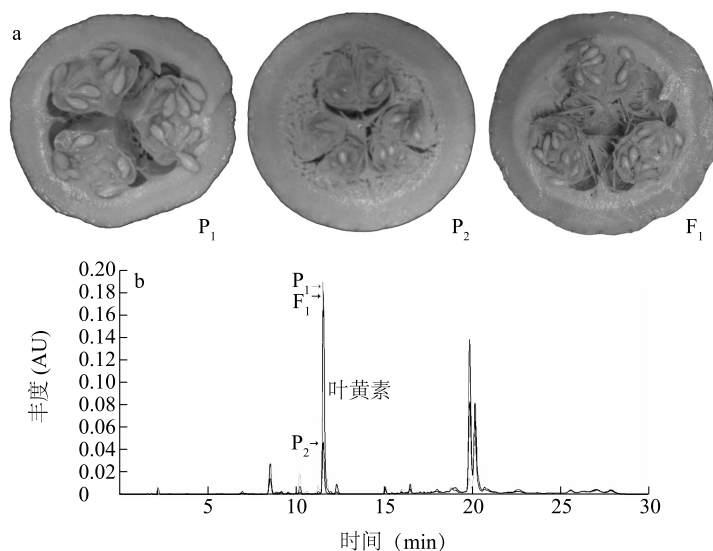
2 结果与分析

2.1 南瓜亲本、 F_1 代及 F_2 代果实叶黄素含量的测定

对母本 $CMO-1$ (P_1)、父本 $CMO-97$ (P_2)及 F_1 代果实的果肉进行颜色观察, 发现 P_1 果肉颜色偏向黄色、 P_2 果肉颜色偏向橙色、 F_1 代果实果肉的颜色介于 P_1 和 P_2 之间(图 1a)。对南瓜果肉总类胡萝卜素含

量进行测定,比较两亲本 P_1 、 P_2 及 F_1 代果肉的叶黄素含量差异, P_1 果肉叶黄素含量峰值在三者中最高,

P_2 果肉实际叶黄素含量在三者中最低,而 F_1 代果肉叶黄素含量峰值高于 P_2 且接近 P_1 (图 1b)。



P_1 :CMO-1; P_2 :CMO-97; F_1 : F_1 代单株。

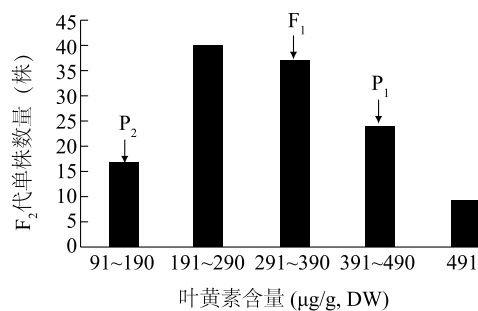
图1 南瓜亲本材料 P_1 、 P_2 与 F_1 代果实横切面 (a) 及高效液相色谱 (HPLC) 结果对比 (b)

Fig.1 Comparison of cross-sections (a) and high performance liquid chromatography (HPLC) results (b) of pumpkin parental materials P_1 , P_2 and F_1 fruits

为了明确南瓜果肉叶黄素含量的性状属于数量性状还是质量性状,以两亲本及 F_1 代的叶黄素含量数据为参考,对 HPLC 测定的南瓜 F_2 代群体叶黄素含量数据进行分类统计。由图 2 可知,在较低叶黄素含量范围内有 17 个单株表型与父本相同,在高叶黄素含量范围内具有母本和 F_1 代 2 种表型,其中大部分群体叶黄素含量处于父本和母本之间,极少数单株的叶黄素含量表现出高于母本或者低于父本的超亲现象。条形图的统计结果表明,叶黄素含量呈现连续的数量变异,频率分布为单峰,符合正态分布。

2.2 InDel 位点检测与引物设计

在前期的 F_2 代群体中发现,中国南瓜叶黄素含量相关的数量性状基因座位点 *qlut11-a* 位于 17 号染色体,该位点最高表型贡献率为 20.20%~22.00% ($R1_18324$ 的贡献率为 22.00%),最大似然对数比 (Logarithm of odds, *LOD*) 为 6.84, 区间距离为 68.53~74.14 Mb^[31],以分子标记 $R2_55819$ 和 $R1_38695$ 之间作为开发区间。在父母本中检测该区间内所有基因启动子区域有 5~25 bp 片段的插入或缺失的差异位点,作为 InDel 位点。最终通过比对分析共筛选到 8 个基因的启动子区在父母本中有 5~25 bp 片段的插入或缺失,即 8 个 InDel 位点 (表 1)。



P_1 :CMO-1; P_2 :CMO-97; F_1 : F_1 代单株。

图2 南瓜叶黄素含量在 F_2 代群体中的频率分布

Fig.2 Frequency distribution of pumpkin lutein content in F_2 populations

在这 8 个 InDel 突变位点两端各取约 150 bp 碱基序列,用 Primer 5.0 设计引物,开发 InDel 分子标记对应的引物 (表 2)。

2.3 InDel 标记对应引物的特异性和多态性分析

使用在突变位点两端开发的 8 对引物,分别以 P_1 (CMO-1)、 P_2 (CMO-97) 和 F_1 代为扩增模板,进行 RCR 扩增及电泳检验,分析引物的有效性和多态性。检测结果如图 3 所示, $G005310$ 、 $G005350$ 、 $G005380$ 、 $G005490$ 、 $G005670$ 、 $G005770$ 和 $G005790$

分子标记对应的引物在母本、父本和 F_1 代中均能有效地扩增出多态性条带,多态性比例为 87.5%。其中分子标记 *G005310* 和 *G005670* 对应引物的多态性和清晰度最好。为了分析 InDel 分子标记

G005310 和 *G005670* 是否可用于筛选高叶黄素含量和低叶黄素含量的材料,在 200 个 F_2 代群体株系和 36 个高代(F_8 代)自交系材料中进行基因型检验,结合叶黄素含量表型分析这 2 个分子标记的有效性。

表 1 InDel 突变位点信息

Table 1 Information of InDel mutational sites

InDel 位点	差异片段大小 (bp)	CMO-1(P_1) 核苷酸序列	CMO-97(P_2) 核苷酸序列
<i>InDel-5310</i>	8	ATATAAGG	A
<i>InDel-5330</i>	9	A	AAAAAGAGG
<i>InDel-5350</i>	11	AAAACTCAACC	A
<i>InDel-5380</i>	10	A	AACAACITTTG
<i>InDel-5490</i>	10	CGTTAGACTA	C
<i>InDel-5670</i>	19	CTAGTCTCACGTTAGGGTT	C
<i>InDel-5770</i>	11	ATATATATTTT	A
<i>InDel-5790</i>	18	T	TAAACACACAGTATTGGG

表 2 InDel 标记信息

Table 2 Information of InDel markers

InDel 标记	上下游引物序列 (5'→3')	扩增长度 (bp)
<i>G005310</i>	F:TCACATAAAATATGAGTACCGAAGA R:GGCTGCCCATGAATGTC	227
<i>G005330</i>	F:ATTAACCGTTGAGACTATTTCC R:CCCGGGTTGGATTCTAT	235
<i>G005350</i>	F:TCGAAAATGTGAGTTAGTTCAT R:TTTCAGGTCTACTTGGATAGTGT	216
<i>G005380</i>	F:AATTCAGACTTTGCAGACAATA R:CCATATCTATCACTCGCCAT	227
<i>G005490</i>	F:GTTGATCGAGTCGGTTGG R:TTTATTTCTTCTCATTTGC	263
<i>G005670</i>	F:GAATTAGATAATATGAATGGGTC R:CAATGGCAITGGGTAGG	180
<i>G005770</i>	F:TCTTTCAGTAGGAAAATAGAGTC R:ATTTATGCACATTTCAAGCT	180
<i>G005790</i>	F:TGGAACCTTTATAGAGGTAAGCA R:TCATCCAACAAAAGATACGA	200

2.4 F_2 代群体中的 InDel 分子标记的基因型和表型鉴定

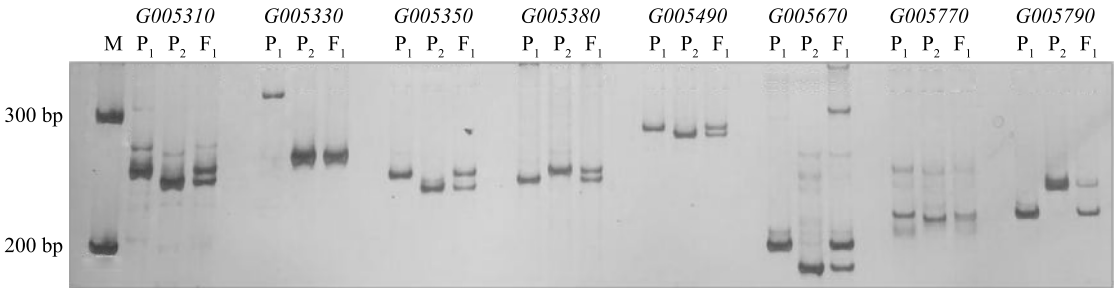
在 200 个 F_2 代群体中分别用 InDel 分子标记 *G005310* 和 *G005670* 对应的引物进行 PCR 扩增和电泳检测。部分 F_2 代群体、 P_1 、 P_2 和 F_1 代中 2 个分子标记的电泳检测结果如图 4a 和图 4b 所示。 F_2 代群体中有 CMO-1(P_1)、CMO-97(P_2)、 F_1 代对应的 3 种带型,其中 P_1 的带型(AA)对应果肉中叶黄素含量较高; P_2 的带型(BB)对应果肉中叶黄素含量较低; F_1 代

的带型表示果肉中叶黄素含量偏向 P_1 的高叶黄素含量(AB),在 F_2 代群体中 InDel 分子标记 *G005310* 和 *G005670* 对应的引物检测的基因带型结果一致(图 4a、4b)。对 F_2 代群体的基因型统计发现, P_1 带型(AA)多分布在高叶黄素含量的区域,在低叶黄素含量区域分布较少; P_2 带型(BB)多分布在低叶黄素含量的区域,在高叶黄素含量区域分布较少;而 F_1 代带型(AB)更多偏向于亲本 P_1 带型所分布区域(图 4c)。 P_1 带型(AA)的占比随叶黄素含量的升高先增加后减少, P_2 带型(BB)的占比整体上随叶黄素含量的降低而增加。综上,InDel 分子标记 *G005310* 和 *G005670* 在较大概率上可有效筛选 F_2 代群体中高叶黄素含量和低叶黄素含量的株系,且这 2 对引物在对 F_2 代群体叶黄素含量鉴定方面表现出连锁性。

为明确 2 个 InDel 分子标记 *G005310* 和 *G005670* 在解释 F_2 代群体中叶黄素含量表型方面的准确度,在 F_2 代群体中随机挑选 29 个株系,进行基因型和叶黄素含量表型的统计。对比 F_2 代群体 29 个株系中 2 对引物鉴定的基因型结果(表 3)与 HPLC 测定的叶黄素含量(表 4)后发现,用这 2 对引物鉴定的 29 个单株基因型与 HPLC 测定数据的表型基本一致。在检测的 29 株 F_2 代群体株系中,除了编号为 154 的株系,其余株系的基因型为 BB 时,叶黄素的含量与 P_2 相近,基因型为 AA 或者 AB 时,叶黄素的含量明显高于 P_2 ,说明 InDel 分子标记

G005310 和 *G005670* 在部分 F_2 代群体中,鉴定高叶黄素含量和低叶黄素含量材料的准确度约为 96.6%。综上所述,根据 InDel 位点 *InDel-5310* 和

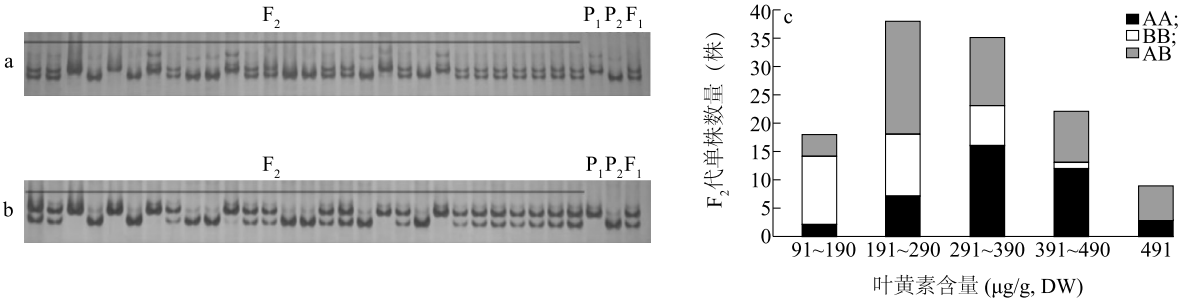
InDel-5670 设计的引物具有高度多态性,并与叶黄素表型具有良好的基因型匹配性,可用于筛选高叶黄素含量和低叶黄素含量的材料。



P_1 :CMO-1; P_2 :CMO-97; F_1 : F_1 代单株。

图3 InDel 标记对应引物在亲本及 F_1 代中的特异性检验

Fig.3 Specificity test of InDel markers corresponding to primers in the parental and F_1 generations



P_1 :CMO-1; P_2 :CMO-97; F_1 : F_1 代单株; F_2 : F_2 代群体。AA; P_1 的带型,对应果肉中叶黄素含量较高;BB; P_2 的带型,对应果肉中叶黄素含量较低;AB; F_1 代的带型表示果肉中叶黄素含量偏向 P_1 的高叶黄素含量。

图4 在 P_1 、 P_2 、 F_1 代及部分 F_2 代群体中 InDel 分子标记 *G005310* (a) 和 *G005670* (b) 的鉴定电泳结果及其在 F_2 代群体中的鉴定统计结果 (c)
Fig.4 Electrophoresis identification results of InDel molecular markers *G005310* (a) and *G005670* (b) in P_1 , P_2 , F_1 and some F_2 populations and their identification statistics in all F_2 populations (c)

表3 InDel 分子标记 *G005310* 和 *G005670* 在 P_1 、 P_2 、 F_1 代及 F_2 代随机群体中带型分布

Table 3 Banding distribution of InDel molecular markers *G005310* and *G005670* in random populations of P_1 , P_2 , F_1 and F_2

株系 编号	基因型(分子 标记 <i>G005310</i>)	基因型(分子 标记 <i>G005670</i>)	株系 编号	基因型(分子 标记 <i>G005310</i>)	基因型(分子 标记 <i>G005670</i>)	株系 编号	基因型(分子 标记 <i>G005310</i>)	基因型(分子 标记 <i>G005670</i>)
P_1	AA	AA	59	BB	BB	250	AB	AB
P_2	BB	BB	82	BB	BB	269	BB	BB
F_1	AB	AB	90	AA	AA	292	AA	AA
1	AB	AB	92	AB	AB	307	AB	AB
8	AB	AB	127	AB	AB	315	AB	AB
25	AA	AA	145	BB	BB	331	AB	AB
26	BB	BB	154	BB	BB	332	AB	AB
30	AA	AA	175	AB	AB	334	AB	AB
36	BB	BB	220	AB	AB	347	AB	AB
51	AA	AA	231	BB	BB	362	AB	AB
58	AB	AB	244	AA	AA			

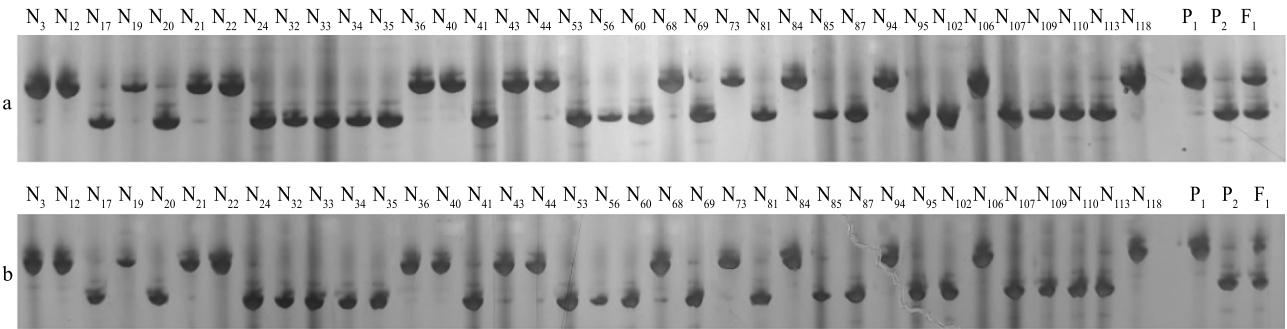
AA:扩增后电泳条带与 P_1 相同的带型;BB:扩增后电泳条带与 P_2 相同的带型;AB:扩增后电泳条带同时具有 P_1 和 P_2 的带型。

表 4 P₁、P₂、F₁ 代及 F₂ 代随机群体的叶黄素含量
Table 4 Lutein content of P₁, P₂, F₁ and F₂ random populations

株系 编号	叶黄素含量 (μg/g, DW)	株系 编号	叶黄素含量 (μg/g, DW)	株系 编号	叶黄素含量 (μg/g, DW)
P ₁	433.68	59	77.15	250	167.85
P ₂	156.42	82	92.56	269	134.82
F ₁	372.02	90	259.10	292	219.54
1	230.59	92	352.49	307	271.45
8	197.13	127	250.20	315	391.69
25	262.77	145	137.93	331	387.90
26	103.44	154	248.59	332	506.53
30	223.63	175	310.34	334	212.58
36	146.05	220	712.73	347	361.16
51	415.87	231	180.73	362	224.70
58	287.36	244	361.37		

2.5 InDel 标记在南瓜高代 (F₈ 代) 自交系材料中的表型和基因型的鉴定
为进一步验证 InDel 分子标记可筛选高叶黄素

含量和低叶黄素含量的材料,用 InDel 标记 *G005310* 和 *G005670* 对应的引物对 36 个南瓜高代(F₈代)自交系材料进行叶黄素基因型的鉴定。图 5a 和图 5b 分别为 InDel 分子标记 *G005310* 和 *G005670* 对应引物在 P₁、P₂、F₁ 代和 36 个南瓜高代(F₈代)自交系材料的鉴定带型。在鉴定的 36 个南瓜高代(F₈代)自交系材料中 InDel 分子标记 *G005310* 和 *G005670* 表现出相同的基因带型(图 5)。对这 2 对分子标记鉴定的基因型结果与 HPLC 测定的叶黄素含量表型数据进行分析发现,除编号为 N₂₄ 的株系,其余南瓜高代(F₈代)自交系材料的基因型为 AA 时,叶黄素含量与高叶黄素含量亲本(P₁)接近,当基因型为 BB 时,叶黄素含量与低叶黄素含量亲本(P₂)接近(表 5),说明 InDel 分子标记 *G005310* 和 *G005670* 在 36 个南瓜高代自交系中,鉴定高叶黄素含量和低叶黄素含量材料的准确度约为 97.2%。以上试验结果说明,本研究利用 InDel 分子标记 *G005310* 和 *G005670* 开发的引物多态性强、连锁度高、叶黄素含量表型解释度高,可有效区分高叶黄素含量和低叶黄素含量的材料。



P₁:CMO-1;P₂:CMO-97;F₁:F₁ 代单株;F₂:F₂ 代群体。N_a 表示株系编号。

图 5 InDel 分子标记 *G005310* (a) 和 *G005670* (b) 在部分南瓜高代 (F₈ 代) 重组自交系材料中的凝胶图像

Fig.5 Gel images of InDel molecular markers *G005310* (a) and *G005670* (b) in some pumpkin high generation recombinant self-reproducing (F₈) lines

2.6 InDel 标记在南瓜叶黄素含量相关的近等基因系群体中创制高叶黄素含量材料的应用

针对 InDel 位点 *InDel-5310* 和 *InDel-5670* 开发的分子标记可用于以高叶黄素含量材料 CMO-1 (P₁) 和低叶黄素含量材料 CMO-97 (P₂) 作为供体亲本和轮回亲本近等基因系的构建。InDel 分子标记 *G005310* 和 *G005670* 均可将 BC₅F₁ 群体分成 2 种基因型,一种是与低叶黄素含量亲本材料 CMO-97 (P₂) 相同的基因型 BB,一种是同时有高叶黄素含

量亲本材料 CMO-1 (P₁) 和低叶黄素含量亲本材料 CMO-97 (P₂) 的基因型 AB。后续将以这 2 个分子标记均鉴定到基因型为 AB 的材料进行轮回亲本 (CMO-97 背景) 鉴定。选择同时满足轮回亲本背景及高叶黄素含量前景的 4 株材料,继续进行 BC₅F₂ 的群体构建。分别收取供体亲本 CMO-1 (P₁)、轮回亲本 CMO-97 (P₂) 及近等基因系 BC₅F₁ 的果实进行叶黄素含量测定,如表 6 所示,BC₅F₁ 的 4 个果实的叶黄素含量均高于低叶黄素含量亲本 CMO-97 (P₂),

表 5 InDel 分子标记 *G005310* 和 *G005670* 在 36 份南瓜高代自交系材料中的鉴定与高效液相色谱 (HPLC) 测定结果对比

Table 5 Identification of the molecular markers *G005310* and *G005670* in 36 pumpkin high generation inbred lines compared with high performance liquid chromatography (HPLC)

材料编号	叶黄素含量 ($\mu\text{g/g}$, DW)	基因型	
		分子标记 <i>G005310</i>	分子标记 <i>G005670</i>
N ₃	552.17±14.49	AA	AA
N ₁₂	798.39±6.64	AA	AA
N ₁₇	96.55±7.07	BB	BB
N ₁₉	711.46±28.42	AA	AA
N ₂₀	181.69±21.14	BB	BB
N ₂₁	876.99±15.34	AA	AA
N ₂₂	856.06±30.41	AA	AA
N ₂₄	545.55±28.28	BB	BB
N ₃₂	143.54±13.23	BB	BB
N ₃₃	146.06±6.43	BB	BB
N ₃₄	213.29±14.34	BB	BB
N ₃₅	150.59±21.22	BB	BB
N ₃₆	563.62±16.55	AA	AA
N ₄₀	654.07±28.92	AA	AA
N ₄₁	118.33±7.31	BB	BB
N ₄₃	661.82±21.13	AA	AA
N ₄₄	626.13±42.37	AA	AA
N ₅₃	194.34±21.45	BB	BB
N ₅₆	164.86±12.32	BB	BB
N ₆₀	201.95±7.64	BB	BB
N ₆₈	628.27±21.46	AA	AA
N ₆₉	180.28±16.66	BB	BB
N ₇₃	667.59±8.48	AA	AA
N ₈₁	204.18±4.95	BB	BB
N ₈₄	573.68±14.59	AA	AA
N ₈₅	144.27±13.78	BB	BB
N ₈₇	130.87±11.97	BB	BB
N ₉₄	790.79±14.02	AA	AA
N ₉₅	170.29±3.53	BB	BB
N ₁₀₂	128.21±15.41	BB	BB
N ₁₀₆	635.55±37.69	AA	AA
N ₁₀₇	151.89±11.32	BB	BB
N ₁₀₉	187.39±6.15	BB	BB
N ₁₁₀	172.73±13.93	BB	BB
N ₁₁₃	195.47±10.33	BB	BB
N ₁₁₈	553.47±19.09	AA	AA
P ₁	433.68±23.58	AA	AA
P ₂	156.42±10.27	BB	BB
F ₁	372.02±15.19	AB	AB

P₁:CMO-1;P₂:CMO-97;F₁:F₁代群体;F₂:F₂代群体。AA:扩增后电泳条带与 P₁ 相同的带型;BB:扩增后电泳条带与 P₂ 相同的带型, AB:扩增后电泳条带同时具有 P₁ 和 P₂ 的带型。

值得注意的是, BC₅F₁ 中最高叶黄素含量的果实叶黄素含量约是低叶黄素含量亲本 (CMO-97) 果实叶黄素含量的 2.8 倍, 且 BC₅F₁ 叶黄素含量最高的果实叶黄素含量约占高叶黄素含量亲本果实叶黄素含量的 96%, 接近高叶黄素含量亲本果实的叶黄素含量。说明本研究开发的与叶黄素含量相关的 InDel 分子标记 *G005310* 和 *G005670* 能够成功筛选及创制高叶黄素含量的南瓜种质。

表 6 InDel 分子标记 *G005310* 和 *G005670* 筛选 CMO-1 (P₁)、CMO-97 (P₂) 及 4 个 BC₅F₁ 材料的基因型及叶黄素含量

Table 6 Identification of the genotypes and lutein content of CMO-1 (P₁), CMO-97 (P₂) and four BC₅F₁ population materials by InDel molecular markers *G005310* and *G005670*

材料编号	叶黄素含量 ($\mu\text{g/g}$, DW)	分子标记鉴定	
		<i>G005310</i>	<i>G005670</i>
BC ₅ F ₁ -1	437.92	AB	AB
BC ₅ F ₁ -2	396.37	AB	AB
BC ₅ F ₁ -3	445.58	AB	AB
BC ₅ F ₁ -4	425.67	AB	AB
CMO-1 (P ₁)	464.23	AA	AA
CMO-97 (P ₂)	157.53	BB	BB

AA: 扩增后电泳条带与 P₁ 相同的带型; BB: 扩增后电泳条带与 P₂ 相同的带型, AB: 扩增后电泳条带同时具有 P₁ 和 P₂ 的带型。

3 讨论

本研究对以中国南瓜叶黄素极端含量株系 CMO-1 和 CMO-97 为亲本构建的 F₂ 代群体进行了叶黄素含量的 QTL 定位^[31], 利用中国南瓜基因组序列信息与两亲本的深度重测序数据, 在最高表型解释概率位点的两侧翼分子标记 *R2_55819* 和 *R1_38695* 之间, 在两亲本中共找到 8 个碱基数目相差 5~25 bp 的 InDel 突变位点, 选取该位点两端各 150 bp 设计引物, 在设计的 8 对引物中, 有 7 对引物能扩增出清晰的多态性条带, 多态性比例为 87.5%, 高于孟霖等^[33] 报道的 23.5%, 这主要由于开发的 InDel 标记总数少, 选择的突变位点位于最高解释概率位点的两侧翼, 与叶黄素含量紧密连锁, 因此得到较高的多态性结果。李斯更等^[34] 在黄瓜中开发了 InDel 分子标记对其进行种质资源鉴定和遗传育种分析。张圣平等^[35] 基于黄瓜果实的苦味与不苦 2 个亲本品种的重测序数据, 开发了 1 对 InDel 分子标记, 该标记与苦味基因 *Bt* 连锁, 可应用于黄瓜材

料的苦味检测,检测正确率为94.8%。本研究开发与南瓜果肉叶黄素含量紧密相关的 InDel 位点 *InDel-5310* 和 *InDel-5670*, 鉴定 F_2 代群体高叶黄素含量和低叶黄素含量材料的准确度约为96.6%, 鉴定多代(F_8 代)重组自交系高叶黄素含量和低叶黄素含量的正确率均为97.2%。

InDel 分子标记除了用于鉴定不同种质资源外,还可以进行种质资源创制。周艳朝等^[36]以醋栗番茄 LA2093 为供体亲本,栽培番茄 Jina 为受体亲本,结合 InDel 分子标记,构建了与开花相关的 BC_3F_1 群体材料。邓磊等^[37]在玉米中利用 InDel 分子标记 (*ZmMATE1*、*ZmMATE2*、*MateF2* 和 *ALMT93496*) 进行耐铝主效基因选择及鉴定,筛选出稳定耐铝的玉米种质。程朝平等^[38]将在 *dep1* 外显子上设计的 InDel 分子标记用于在回交群体 (BC_1F_1 和 BC_2F_1) 中筛选 *dep1* 基因的纯合株系,创制了直立型密穗水稻。郭广君等^[39]开发了3个与辣椒抗黄瓜花叶病毒抗性基因 *qCmr2.1* 紧密连锁的分子标记,创制了抗黄瓜花叶病毒的种质资源。本研究利用 InDel 位点 *InDel-5310* 和 *InDel-5670* 开发的分子标记 *G005310* 和 *G005670* 筛选经过多代回交的叶黄素含量最高的材料, BC_5F_1 果实中最高的叶黄素含量约是低叶黄素含量亲本(CMO-97)果实的2.8倍,且 BC_5F_1 叶黄素含量最高的果实中的叶黄素含量约占高叶黄素含量亲本果实的96%,十分接近。以上结果表明,本研究开发的 InDel 分子标记 *G005310* 和 *G005670* 可应用于创制高叶黄素含量的南瓜种质资源。

近年来,国内外在瓜类中通过正向遗传分析获得了少数类胡萝卜素合成途径的酶基因和与贮藏相关的基因。在黄瓜果肉中, β -胡萝卜素受类胡萝卜素羟化酶基因 *CsaBCH1* 控制^[40]。在甜瓜中,利用重组自交系 (Recombinant inbred lines, RIL) 获得白果肉的主效 QTL 位点及其候选基因 *CmPPRI*^[41-42]。在玉米中,通过类胡萝卜素合成相关基因的 InDel 功能标记,验证了番茄红素合成相关基因在类胡萝卜素合成途径中的重要作用^[43]。周莉^[44]在橘色甜瓜果肉和白绿色甜瓜果肉 β -胡萝卜素含量测定和类胡萝卜素裂解相关基因表达检测中发现,类胡萝卜素裂解双加氧酶基因 (*CmCCD1*) 在橘色果肉甜瓜中的表达高于白绿色果肉甜瓜,此外,赵军林等^[45]发现 *PDS* 和 *LCY-b* 也参与甜瓜的类胡萝卜素代谢调控。葫芦和野生西瓜中 *PSY* 和 β -胡萝卜素脱氢

酶 (*ZDS*) 参与类胡萝卜素裂解通路,最终促进嫁果实中番茄红素的积累^[46]。Luo 等^[47]通过测定与类胡萝卜素裂解通路相关的基因在印度南瓜不同发育时期的表达情况,发现叶黄素和 β -胡萝卜素含量与 *LCY-e* 和 β -胡萝卜素水解酶基因 (*CHYb*) 表达密切相关。本研究前期通过高叶黄素含量亲本 CMO-1 与低叶黄素含量亲本 CMO-97 杂交构建 F_2 代群体,在 F_2 代群体中对叶黄素含量进行 QTL 分析,在 17 号染色体上定位到与叶黄素含量紧密相关的 QTL 位点 *qlut11-a*, 对该位点开发的 InDel 分子标记 *G005310* 和 *G005670* 可有效区分高叶黄素含量和低叶黄素含量的南瓜材料,在本研究的基础上,通过构建近等基因系群体,对叶黄素含量相关的 QTL 位点进行精细定位,并挖掘相关基因,将成为未来研究的一个重点方向。

综上,本研究基于前期 F_2 代群体中叶黄素含量 QTL 定位结果,对定位区间开展进一步的研究。具体来说,我们开发了分子标记来进一步明确 QTL 定位区间,并验证了这个区间的有效性。首先,根据南瓜基因组序列及亲本深度重测序信息,在最高解释概率位点的两侧翼分子标记 *R1_38695* 和 *R2_55819* 之间开发了8对 InDel 引物,在 P_1 、 P_2 和 F_1 代中对8对 InDel 引物进行了特异性及多态性分析,明确了 InDel 分子标记 *G005310* 和 *G005670* 对应引物的多态性和清晰度最好。然后,用这2个分子标记对 F_2 代群体株系及部分高代(F_8 代)重组自交系材料进行基因型分析,结合叶黄素含量表型数据,证明这2个分子标记可以有效区分高叶黄素含量和低叶黄素含量材料。最后,在与叶黄素含量相关的近等基因系的构建中,证实了这2个分子标记可用于创制高叶黄素含量的南瓜材料。因此,本研究开发的 *G005310* 和 *G005670* 是与叶黄素含量紧密连锁的 InDel 分子标记,可有效地应用于高叶黄素含量和低叶黄素含量材料的筛选和高叶黄素含量材料的创制,可为南瓜中叶黄素含量的分子标记辅助育种提供理论基础和技术支撑。

参考文献:

- [1] 林德佩. 南瓜植物的起源和分类[J]. 中国西瓜甜瓜, 2000(1): 36-38.
- [2] FRASER P D, BRAMLEY P M. The biosynthesis and nutritional uses of carotenoids[J]. Progress in Lipid Research, 2004, 43(3): 228-265.

- [3] 李福枝,刘 飞,曾晓希,等. 天然类胡萝卜素的研究进展[J]. 食品工业科技,2007,28(9):227-232.
- [4] GROTEWOLD E. The genetics and biochemistry of floral pigments [J]. Annual Review of Plant Biology,2006,57:761-780.
- [5] COE K M, ELLISON S, SENALIK D, et al. The influence of the *Or* and Carotene Hydroxylase genes on carotenoid accumulation in orange carrots [*Daucus carota* (L.)][J]. Theoretical and Applied Genetics,2021,134:3351-3362.
- [6] RAMEL F, BIRTIC S, GINIES C, et al. Carotenoid oxidation products are stress signals that mediate gene responses to singlet oxygen in plants[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences,2012,109(14):5535-5540.
- [7] WALTER M H, STRACK D. Carotenoids and their cleavage products: biosynthesis and functions [J]. Natural Product Reports, 2011,28(4):663-692.
- [8] FIEDOR J, BURDA K. Potential role of carotenoids as antioxidants in human health and disease[J]. Nutrients,2014,6(2):466-488.
- [9] ROTONDO DOTTORE G, IONNI I, MENCONI F, et al. Antioxidant effects of β -carotene, but not of retinol and vitamin E, in orbital fibroblasts from patients with Graves' orbitopathy (GO)[J]. Journal of Endocrinological Investigation,2018,41:815-820.
- [10] FELTUS F A, WAN J, SCHULZE S R, et al. An SNP resource for rice genetics and breeding based on subspecies indica and japonica genome alignments [J]. Genome Research,2004,14(9):1812-1819.
- [11] 冯芳君,罗利军,李 荧,等. 水稻 InDel 和 SSR 标记多态性的比较分析[J]. 分子植物育种,2005,3(5):725-730.
- [12] ZHANG S P, MIAO H, CHENG Z C, et al. The Insertion-deletion (Indel) marker linked to the fruit bitterness gene (*bt*) in cucumber[J]. Journal of Agricultural Biotechnology,2011,19(4):649-653.
- [13] 赵 湘,于拴仓,薛林宝,等. 利用 SSR 和 InDel 标记构建白菜 \times 芜菁分子遗传图谱[J]. 西北农业学报,2011,20(12):111-115.
- [14] 张志刚,赵智中,李巧云,等. 大白菜 InDels 标记开发及其在剩余杂合体鉴定中的应用[J]. 农业生物技术学报,2016,24(4):510-518.
- [15] 杨 易,黎庭耀,李国景,等. 基于重测序的长豇豆基因组 InDel 标记开发及应用[J]. 园艺学报,2022,49(4):778-790.
- [16] LI Y H, WEN C L, WENG Y Q. Fine mapping of the pleiotropic locus B for black spine and orange mature fruit color in cucumber identifies a 50 kb region containing a R2R3-MYB transcription factor[J]. Theoretical and Applied Genetics,2013,126(8):2187-2196.
- [17] 郭广君,孙 茜,刘金兵,等. 基于辣椒基因组重测序的 InDel 标记开发及应用[J]. 江苏农业学报,2015,31(6):1400-1406.
- [18] LI G H, CHEN H C, LIU J L, et al. A high-density genetic map developed by specific-locus amplified fragment (SLAF) sequencing and identification of a locus controlling anthocyanin pigmentation in stalk of Zicaitai (*Brassica rapa* L. ssp. chinensis var. purpurea) [J]. BMC Genomics,2019,20:1-13.
- [19] XU K, ZHU J L, GUO N, et al. A novel 7-base pair deletion at a splice site in MS-2 impairs male fertility via premature tapetum degradation in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) [J]. Theoretical and Applied Genetics,2023,136(3):56.
- [20] CHEN Y, WEN H F, PAN J, et al. CsUFO is involved in the formation of flowers and tendrils in cucumber [J]. Theoretical and Applied Genetics,2021,134:2141-2150.
- [21] SUN Y H, LI X Z, MA Z Y, et al. Quantitative trait locus mapping of fruit aroma compounds in cucumber (*Cucumis sativus* L.) based on a recombinant inbred line population [J]. Horticulture Research,2022,9:151.
- [22] TIAN S W, ZHANG J, ZHAO H, et al. Production of double haploid watermelon via maternal haploid induction [J]. Plant Biotechnology Journal,2023,21(7):1308.
- [23] ZHANG J, GUO S G, JI G J, et al. A unique chromosome translocation disrupting CIWIP1 leads to gynocoe in watermelon [J]. The Plant Journal,2020,101(2):265-277.
- [24] 邹剑锋. 中国南瓜种质资源遗传多样性 SSR 和 InDel 标记分析 [D]. 佛山:佛山科学技术学院,2020.
- [25] ZHU L, WANG Y, ZHANG Z L, et al. Chromosomal fragment deletion in APRR2-repeated locus modulates the dark stem color in *Cucurbita pepo* [J]. Theoretical and Applied Genetics,2022,135(12):4277-4288.
- [26] 邱悦菡. 南瓜芋香味性状相关代谢物与分子基础初步解析 [D]. 广州:华南农业大学,2020.
- [27] ABBAS H M K, ZHOU Y Y, HUANG H X, et al. QTL mapping, whole genome resequencing, and marker-assisted selection provide basics of early flowering in pumpkin [J]. Plant Breeding,2022,141(2):266-276.
- [28] 王曼曼,屈淑平,黄河勋,等. 南瓜含糖量相关 QTL 的标记加密及候选基因预测[J]. 核农学报,2020,34(11):2407-2415.
- [29] HAREL-BEJA R, TZURI G, PORTNOY V, et al. A genetic map of melon highly enriched with fruit quality QTLs and EST markers, including sugar and carotenoid metabolism genes [J]. Theoretical and Applied Genetics,2010,121:511-533.
- [30] LIU S, LIU M Q, CAO Y, et al. Identification of chromosome region and candidate genes for canary-yellow flesh (*Cyf*) locus in watermelon (*Citrullus lanatus*) [J]. Plant Science,2023,329:111594.
- [31] ZHONG Y J, ZHOU Y Y, LI J X, et al. A high-density linkage map and QTL mapping of fruit-related traits in pumpkin (*Cucurbita moschata* Duch.) [J]. Scientific Reports,2017,7(1):12785.
- [32] ABBAS H M K, HUANG H X, WANG A J, et al. Metabolic and transcriptomic analysis of two *Cucurbita moschata* germplasms throughout fruit development [J]. BMC Genomics,2020,21:1-13.
- [33] 孟 霖,刘 博,林良斌,等. 白菜型油菜和菜薹的 InDel 标记开发及其 RILs 群体遗传连锁图谱的构建 [J]. 园艺学报,2012,39(8):1491-1500.

- [34] 李斯更,沈 镒,刘 博,等. 基于黄瓜基因组重测序的 InDel 标记开发及其应用[J]. 植物遗传资源学报,2013,14(2):278-283.
- [35] 张圣平,苗 晗,程周超,等. 黄瓜果实苦味(*Bt*)基因的插入缺失(InDel)标记[J]. 农业生物技术学报,2011,19(4):649-653.
- [36] 周艳朝,蒋芳玲,孙敏涛,等. 醋栗番茄 LA2093 渐渗系的构建及花序相关性状 QTL 分析[J]. 江西农业学报,2019,31(6):1-8.
- [37] 邓 磊,潘金卫,杨文鹏,等. 利用分子标记辅助选择技术创制耐铝玉米种质[J]. 南方农业学报,2021,52(4):908-915.
- [38] 程朝平,刘成德,杨德卫,等. 分子标记辅助选择籼型直立恢复系[J]. 分子植物育种,2011,9(5):561-566.
- [39] 郭广君,朱雪梅,潘宝贵,等. 利用 InDel 分子标记辅助选育辣椒抗黄瓜花叶病毒病种质[J]. 江苏农业学报,2021,37(5):1251-1261.
- [40] QI J J, LIU X, SHEN D, et al. A genomic variation map provides insights into the genetic basis of cucumber domestication and diversity[J]. Nature Genetics,2013,45(12):1510-1515.
- [41] TZURI G, ZHOU X J, CHAYUT N, et al. A 'golden' SNP in *CmOr* governs the fruit flesh color of melon (*Cucumis melo*) [J]. The Plant Journal,2015,82(2):267-279.
- [42] GALPAZ N, GONDA I, SHEM-TOV D, et al. Deciphering genetic factors that determine melon fruit quality traits using RNA-Seq based high resolution QTL and eQTL mapping[J]. The Plant Journal,2018,94(1):169-191.
- [43] 冯发强,王国华,王青峰,等. 甜玉米类胡萝卜素合成关键基因 *PSY1*, *LCYE* 和 *CrtRB1* 的功能分析[J]. 华南农业大学学报,2015,36(5):36-42.
- [44] 周 莉. 不同变种甜瓜果实香气,颜色及相关的 *CmCCD1* 基因表达的研究[D]. 天津:天津大学,2013.
- [45] 赵军林,于喜艳,王秀峰. 橙色果肉甜瓜 β -胡萝卜素积累分子机理[J]. 山东农业科学,2014,46(5):7-11.
- [46] KONG Q S, YUAN J X, GAO L Y, et al. Transcriptional regulation of lycopene metabolism mediated by rootstock during the ripening of grafted watermelons[J]. Food Chemistry,2017,214:406-411.
- [47] LUO Y S, WANG C J, WANG M M, et al. Accumulation of carotenoids and expression of carotenoid biosynthesis genes in fruit flesh during fruit development in two *Cucurbita maxima* inbred lines[J]. Horticultural Plant Journal,2021,7(6):529-538.

(责任编辑:陈海霞)