

张曼, 王莹莹, 刘金秋, 等. 基于 BSA-seq 技术定位调控西瓜红色果肉形成基因[J]. 江苏农业学报, 2025, 41(5): 952-959.  
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2025.05.014

## 基于 BSA-seq 技术定位调控西瓜红色果肉形成基因

张曼, 王莹莹, 刘金秋, 娄丽娜, 徐建, 羊杏平, 徐锦华  
(江苏省农业科学院蔬菜研究所/江苏省高效园艺作物遗传改良重点实验室, 江苏 南京 210014)

**摘要:** 果肉颜色是决定西瓜果实品质的重要性状。本研究以粉色果肉西瓜 MW119 和红色果肉西瓜 MW120 为亲本构建 F<sub>2</sub> 分离群体, 从分离群体中选取红色果肉表型个体和粉色果肉表型个体分别构建子代混池, 采用 BSA-seq 技术对亲本池和子代池进行覆盖深度为 30× 的全基因组重测序。通过 Δ(SNP-index) 法, 在 2 号、4 号、5 号、6 号、7 号、9 号和 10 号染色体上鉴定得到 12 个与红色果肉性状显著关联的区间, 区间总长度为 56.66 Mb。进一步对显著关联区间内 116 个携带非同义突变 SNP 和 InDel 移码突变的基因进行功能注释和表达分析, 最终筛选出 5 个关键候选基因: WRKY 转录因子基因 *Cla97C02G028430*、邻甲基转移酶基因 *Cla97C02G028680*、F-box 蛋白基因 *Cla97C02G048400* 和 *Cla97C06G122530*, 以及三角状五肽重复蛋白基因 *Cla97C06G122120*。这些基因在调控西瓜红色果肉形成中发挥重要作用。本研究结果进一步完善了西瓜红色果肉形成的分子机制, 并为分子标记辅助育种提供了理论依据。

**关键词:** 西瓜; 果肉颜色; 基因定位

**中图分类号:** S642.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2025)05-0952-08

## Identification of genes regulating the formation of red flesh in watermelon based on BSA-seq technology

ZHANG Man, WANG Yingying, LIU Jinqiu, LOU Lina, XU Jian, YANG Xingping, XU Jinhua  
(*Institute of Vegetable Crops, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences/Jiangsu Key Laboratory for Horticultural Crop Genetic Improvement, Nanjing 210014, China*)

**Abstract:** Flesh color is an important trait that determines the quality of watermelon fruit. In this study, we used the pink-fleshed watermelon MW119 and the red-fleshed watermelon MW120 as parents to construct an F<sub>2</sub> segregating population. From this population, we selected individuals with red flesh and pink flesh phenotypes to create progeny bulks. We then performed whole-genome resequencing with a coverage depth of 30× on both the parental and progeny bulks using BSA-seq technology. By using the Δ(SNP-index) method, we identified 12 intervals significantly associated with the red flesh trait on chromosomes 2, 4, 5, 6, 7, 9, and 10, with a total length of 56.66 Mb. Further functional annotation and expression analysis were conducted on 116 genes within the significantly associated intervals that carried non-synonymous SNP and InDel frame-shift mutations, ultimately leading to the selection of five key candidate genes: the WRKY transcription factor gene *Cla97C02G028430*, the O-methyltransferase gene *Cla97C02G028680*, the F-box protein genes *Cla97C02G048400* and *Cla97C06G122530*, and the pentatricopeptide repeat protein gene *Cla97C06G122120*. These genes play a significant role in

收稿日期: 2024-05-23

基金项目: 江苏省现代农业重点及面上项目(BE2022339); 江苏省种业振兴“揭榜挂帅”项目[JBGS(2021)069]

作者简介: 张曼(1981-), 女, 山西运城人, 博士, 副研究员, 研究方向为西瓜分子育种。(E-mail) mzhang@jaas.ac.cn

通讯作者: 徐锦华, (E-mail) xjhyznj88@163.com

regulating the formation of red flesh in watermelon. The results of this study further refine the molecular mechanisms underlying the formation of red flesh in watermelon and provide a theoretical basis for marker-assisted breeding.

**Key words:** watermelon; flesh color; gene mapping

西瓜 (*Citrullus lanatus*) 是重要的园艺作物, 因其色泽鲜艳, 果肉甘甜多汁而深受消费者喜爱。随着经济发展, 人们对西瓜品质的要求不断提高。果肉颜色是衡量西瓜果实品质的重要指标, 选育果肉颜色鲜艳的品种已成为育种工作者的重点研究方向。研究表明, 西瓜果肉颜色与类胡萝卜素类型和含量有关, 红色果肉是西瓜定向驯化选择的结果<sup>[1]</sup>, 也是目前市场上最为常见的果肉颜色。红瓢和粉瓢西瓜富含番茄红素<sup>[2]</sup>; 黄瓢西瓜的主要类胡萝卜素为紫黄质和新黄质<sup>[3]</sup>; 橙瓢西瓜的主要成分为前番茄红素或  $\beta$ -胡萝卜素<sup>[4-5]</sup>; 白瓢西瓜则富含六氢番茄红素和  $\zeta$ -胡萝卜素<sup>[6-7]</sup>。

研究发现, 西瓜果肉颜色由多基因控制<sup>[8-9]</sup>, 其遗传规律为: 红瓢 ( $Y$ ) 对橙瓢 ( $y^o$ ) 和浅黄瓢 ( $y$ ) 为显性; 橙瓢 ( $y^o$ ) 对浅黄瓢 ( $y$ ) 为显性; 亮黄瓢 ( $C$ ) 对除白瓢 ( $wf$ ) 外的其他果肉颜色均为显性<sup>[10-14]</sup>。在果肉颜色基因定位研究方面, 研究人员通过构建遗传连锁图谱, 分别在 4 号、3 号和 11 号染色体上鉴定到调控番茄红色合成的主效数量性状位点 (QTL)<sup>[15-17]</sup>。Branham 等<sup>[4]</sup>在 1 号染色体上定位到调控  $\beta$ -胡萝卜素合成的主效数量性状位点 (QTL)。Nie 等<sup>[18]</sup>通过重新组装西瓜基因组, 鉴定出 15 个与果实品质相关的 QTL, 包含 33 个 CDS 区发生变异的候选基因, 其中位于 1 号染色体 9 539 129 bp 的八氢番茄红素合酶基因 *Cla97C01G008760* 第一个外显子处存在 A→G 单核苷酸变异, 推测可能与果肉颜色形成有关。基于泛基因组分析, Sun 等<sup>[19]</sup>在 400 份西瓜种质中鉴定到 8 个与果肉颜色关联的缺失变异, 其中 4 个与胡萝卜素积累相关的无参考候选基因 (Non-reference candidate genes) 在白色果肉中分布频率较高。Yi 等<sup>[14]</sup>通过群体遗传分析将白色果肉基因定位于 6 号染色体 132.3 kb 区间内。Fang 等<sup>[5]</sup>和 Jin 等<sup>[20]</sup>分别将调控橙色果肉形成基因 *Clorf* 定位于 10 号染色体 82.51 kb 区间内和 1 号染色体 39.08 kb 区间内。Liu 等<sup>[11]</sup>将调控金黄色果肉形成基因精细定位于 1 号染色体 39.08 kb 区间内。Park 等<sup>[13]</sup>将调控红黄混合果肉 (ICY) 形成基因定位于 2 号染色体 27.60~27.88 Mb, 并开发了与 ICY 性状共分离的标记 *M7*。Wang 等<sup>[21]</sup>将调控红色果肉形成基因定位于 4 号染色体 41.233 kb 区间内 (8 887 652~8 928 885 bp)。Li 等<sup>[22]</sup>将调控红色果肉形成基因定位于 6 号染色体 40.288 kb 区间

内 (21 851 079~21 891 367 bp)。果肉颜色是一个复杂的数量性状, 涉及类胡萝卜素、番茄红素等色素的合成和积累, 仍需进一步开展基因定位研究以挖掘其更多调控位点, 为多种颜色西瓜新品种的选育提供分子标记。本研究拟以红色果肉西瓜 MW120 和粉色果肉西瓜 MW119 为亲本构建  $F_2$  分离群体, 通过极端混池全基因组重测序筛选调控红色果肉形成基因, 旨在为西瓜种质改良提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

本研究以红色果肉西瓜 MW120 和粉色果肉西瓜 MW119 为亲本, 通过人工杂交构建  $F_1$  分离群体, 包含 130 个单株。该群体于 2022 年在江苏东台种植, 采用常规田间管理。果肉颜色由 4 名研究人员在相同光照条件下通过肉眼进行鉴定, 筛选出果肉颜色分离的单株。

### 1.2 亲本池和子代池的构建

取 5 株红色果肉西瓜 MW120 的基因组 DNA, 等量混合构建 MW120 亲本池; 取 5 株粉色果肉西瓜 MW119 的基因组 DNA, 等量混合构建 MW119 亲本池。从  $F_2$  群体中选取 20 株红色果肉单株的基因组 DNA, 等量混合构建红色果肉西瓜子代池; 选取 20 株粉色果肉单株的基因组 DNA, 等量混合构建粉色果肉西瓜子代池。利用超微量紫外分光光度计 (型号 NanoDrop 8000, Thermo Scientific 公司产品) 测定 DNA 浓度。

### 1.3 DNA 文库的 BSA-Seq 测序

亲本池和子代池的文库构建和重测序由广州基迪奥生物科技有限公司完成。DNA 文库在 Illumina HiSeq×10 平台上进行双末端测序 (PE150), 基因组测序深度为 30×。对测序原始数据 (Raw reads) 进行质量控制和过滤, 得到高质量数据 (Clean reads)。使用 BWA 软件将高质量数据与 97103 西瓜参考基因组 (<http://cucurbitgenomics.org/>) 进行比对。

### 1.4 SNP 检测与关联分析

利用 GATK UnifiedGenotyper (v3.5) 进行 SNP 检测, 并使用 ANNOVAR 进行功能注释。采用  $\Delta$  (SNP-index) 法进行关联分析, 以 99% 置信水平筛选显著区间。通过 Gene Ontology (GO) 和 KEGG Pathway 显著性富集分析对候选基因进行功能注释。

### 1.5 荧光定量 PCR 分析

以不同发育阶段 (授粉后 10 d、18 d、28 d、34 d)

的西瓜果肉为材料,使用 RNAPure Plant Kit (DNaseI) 试剂盒(康为世纪生物科技有限公司产品)提取总 RNA,利用 BU-SuperScript RT Kit 试剂盒(Biouniquer 公司产品)合成 cDNA。利用 SuperReal PreMix[天根生化科技(北京)有限公司产品]进行荧光定量 PCR 分析。以 *18S rRNA* 为内参基因,采用  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  法计算相对表达量<sup>[23]</sup>。每个样品设 3 次生物学重复。

## 2 结果与分析

### 2.1 测序数据质量评估

如表 1 所示,原始序列(Raw Reads)过滤后得

表 1 测序数据质量

Table 1 Sequencing data quality

样本	总序列数	比对序列数	比对率 (%)	G+C 含量 (%)	$Q_{20}$ (%)	$Q_{30}$ (%)	覆盖率			
							1× (%)	4× (%)	10× (%)	20× (%)
MW119 亲本池	101 021 264	100 175 302	99.16	35.34	96.02	89.70	98.21	98.13	97.94	94.58
MW120 亲本池	136 433 942	135 169 526	99.07	35.43	96.00	89.84	98.22	98.15	98.04	97.63
红色果肉西瓜子代池	106 369 260	105 445 704	99.13	35.61	96.06	89.67	98.25	98.18	98.01	94.99
粉色果肉西瓜子代池	121 340 138	120 140 426	99.01	35.20	95.35	88.11	98.26	98.20	98.07	97.46

$Q_{20}$ : 测序序列中质量值  $\geq 20$  的碱基所占比例;  $Q_{30}$ : 测序序列中质量值  $\geq 30$  的碱基所占比例; 1×: 参考基因组中至少被 1 个测序短序列(reads)覆盖的位点占比; 4×: 参考基因组中至少被 4 个测序短序列(reads)覆盖的位点占比; 10×: 参考基因组中至少被 10 个测序短序列(reads)覆盖的位点占比; 20×: 参考基因组中至少被 20 个测序短序列(reads)覆盖的位点占比。

### 2.2 SNP 位点分析

结果表明,4 个样本池共检测到 193 187 个 SNP 位点,其中粉色果肉子代池中 SNP 位点数量最多, MW119 亲本池(粉色果肉)中 SNP 位点数量最少。亲本间共有 2 958 个非同义突变 SNP 位点,红色果肉西瓜子代池和粉色果肉西瓜子代池之间共有 4 055 个非同义突变 SNP 位点。SNP 位点如表 2 所示,亲本池之间和子代混池之间同一类型的 SNP 位点数量相当,变异位点主要集中于基因间区、内含子、基因上游和基因下游。

### 2.3 基于 $\Delta$ (SNP-index) 法的关联分析

$\Delta$ (SNP-index) 法是一种通过计算混池间基因型频率的差异进行标记关联分析的方法。如图 1 所示,基于  $\Delta$ (SNP-index) 方法(99%置信水平)鉴定到 12 个显著关联区间,总长度 56.66 Mb,分布于 7 条染色体。西瓜 2 号染色体包含 5 个区间(1.04~4.34 Mb、8.24~10.36 Mb、10.97~13.07 Mb、14.51~16.98 Mb、27.41~37.92 Mb); 4 号染色体包含 1 个区间(3.68~16.84 Mb); 5 号染色体包含 1 个区间(20.77~23.57 Mb); 6 号染色体包含 2 个区间

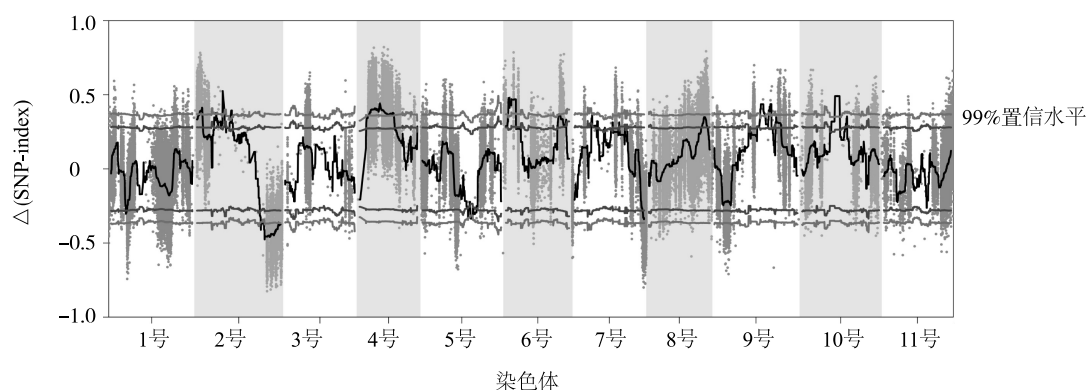
到高质量有效序列 71.44 G,测序序列中质量值  $\geq 20$  的碱基占比( $Q_{20}$ )为 95.35%~96.06%,测序序列中质量值  $\geq 30$  的碱基占比( $Q_{30}$ )为 88.11%~89.84%,G+C 含量为 35.20%~35.61%,比对率为 99.01%~99.16%。测序深度为 30×时,参考基因组中至少被 1 个测序短序列(reads)覆盖的位点占比为 98.21%~98.26%,至少被 4 个测序短序列(reads)覆盖的位点占比为 98.13%~98.20%,至少被 10 个测序短序列(reads)覆盖的位点占比为 97.94%~98.07%,至少被 20 个测序短序列(reads)覆盖的位点占比为 94.58%~97.63%。综上所述,所有样本的测序数据量充足,测序序列质量较高。

(0.96~6.33 Mb、22.69~24.86 Mb); 7 号染色体包含 1 个区间(7.60~9.60 Mb); 9 号染色体包含 1 个区间(19.74~26.50 Mb); 10 号染色体包含 1 个区间(14.14~18.04 Mb)。候选区间内共包含 2 822 个基因,其中 116 个基因存在非同义突变/移码突变。

表 2 SNP 位点信息

Table 2 SNP site information

变异位点信息	MW119 亲本池	MW120 亲本池	粉色果肉西瓜子代池	红色果肉西瓜子代池
编码序列外显子	2 683	2 819	3 781	3 769
基因间区	107 827	112 443	150 172	149 274
内含子	11 349	11 729	16 300	16 231
可变剪切	13	14	20	20
基因上游	5 780	6 324	8 715	8 698
基因下游	4 632	4 983	6 889	6 865
基因上游/下游	330	349	486	483
终止密码子获得	17	19	23	23
终止密码子丢失	8	7	11	10
非同义突变	1 437	1 521	2 032	2 023
同义突变	1 220	1 272	1 713	1 711
未知	1	-	2	2



黑色曲线为对 $\Delta(\text{SNP-index})$ 进行拟合后得到的曲线。

图1 基于 $\Delta(\text{SNP-index})$ 法的显著关联区间

Fig.1 Significantly associated intervals based on the  $\Delta(\text{SNP-index})$  method

#### 2.4 候选基因的 GO 和 KEGG 富集分析

为了进一步解析候选基因功能,对其进行 GO 富集分析,对候选基因及其编码产物的属性按照细胞组成、分子功能和生物过程进行分类注释。如图 2 所示,候选基因主要富集在细胞组成(346 个基因)和生物过程(342 个基因)中,参与分子功能的候选基因(28 个基因)最少。其中,脂质生物合成过程(GO:0008610)、细胞间连接(GO:0005911)、细胞连接(GO:0030054)是候选基因富集程度最高的功能分类。进一步对候选基因进行 KEGG 通路富集分析,发现植物激素信号转导、亚油酸代谢为候选基因主要富集通路。

#### 2.5 候选基因的功能注释

如表 3 所示,对关联区间内 116 个具有 SNP 非同义突变和 InDel 移码突变的基因进行进一步的功能注释和相关文献查阅,从中筛选出 17 个可能与西瓜红色果肉相关的候选基因,分别位于 2 号、4 号和 6 号染色体上。其中 *Cla97C02G027340* 编码紫黄质脱环氧化酶,该酶可以催化类胡萝卜素途径中紫黄质、单环环氧花药黄质和玉米黄质之间的相互转化,从而调控果实成熟过程中  $\beta$ -胡萝卜素的积累。*Cla97C02G027870*、*Cla97C02G028430* 和 *Cla97C04G070570* 分别编码 MYB 转录因子、WRKY 转录因子和 MADS-box 转录因子,这些转录因子参与果实颜色的调控。*Cla97C02G028400* 编码引导蛋白(DIR)。*Cla97C02G028680* 编码邻甲基转移酶(OMT),该酶与花青素的生物合成相关。*Cla97C02G028640* 和 *Cla97C02G029020* 编码尿苷二磷酸-糖基转移酶。*Cla97C02G048400*、*Cla97C06G122510*、*Cla97C06G122520* 和

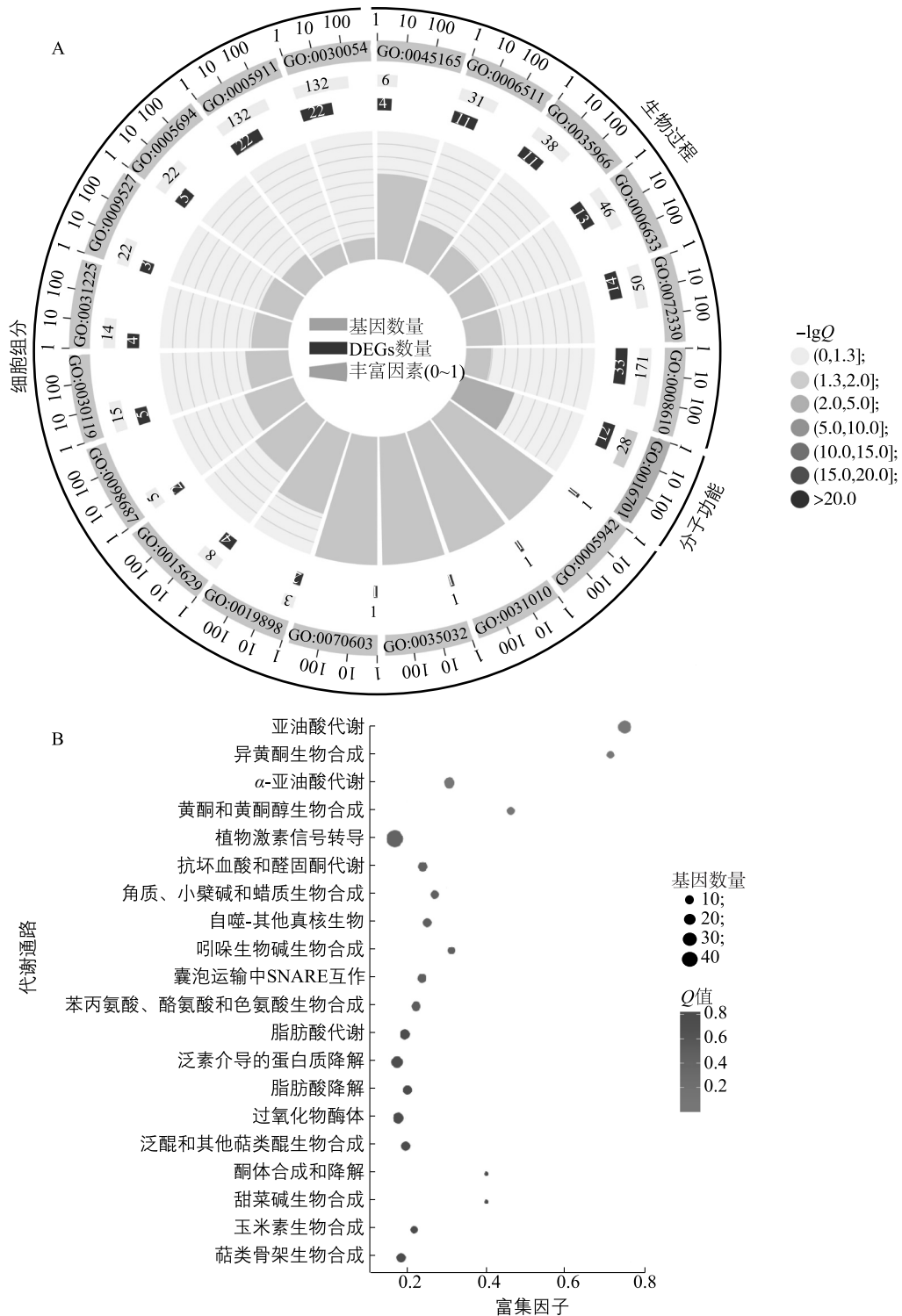
*Cla97C06G122530* 编码 F-box 蛋白。*Cla97C02G049320*、*Cla97C04G070020*、*Cla97C04G070590* 和 *Cla97C06G122120* 编码三角状五肽重复蛋白。这些基因编码区均发生了 SNP 非同义突变,可能是调控红色果肉形成的关键基因。

#### 2.6 候选基因在西瓜果实发育过程中的表达

如图 3 所示,17 个候选基因在西瓜果实发育过程中呈现不同的表达模式。在整个果实发育期间,*Cla97C02G028430*、*Cla97C06G122520*、*Cla97C02G048400*、*Cla97C06G122530* 和 *Cla97C06G122120* 的相对表达量均保持较高水平。在授粉后 18 d,*Cla97C04G070590* 的相对表达量降低,随后又逐渐升高。在授粉后 18 d,*Cla97C02G028680* 的相对表达量达到最大值。随着果实发育,*Cla97C04G070570* 的相对表达量呈降低趋势。在整个果实发育期间,*Cla97C02G027870*、*Cla97C02G028400*、*Cla97C02G028640*、*Cla97C02G028650*、*Cla97C06G122510*、*Cla97C02G049320* 的相对表达量均保持在较低水平。表明 *Cla97C02G028430*、*Cla97C06G122520*、*Cla97C02G048400*、*Cla97C06G122530* 和 *Cla97C06G122120* 为调控西瓜红色果肉形成的关键基因。

### 3 讨论与结论

红色果肉因其广受消费者青睐而成为市场主流。目前关于红色果肉形成的遗传机制研究已取得重要进展,但不同研究人员基于不同遗传群体获得的结果存在差异。Wang 等<sup>[21]</sup>将红色果肉基因精确定位到 4 号染色体 41 kb 区间内(8 886 138~8 926 873 bp),番茄红素  $\beta$ -环化酶(LCYB)基因 *Cla005011* 为关键候选基因。Li 等<sup>[22]</sup>在 6 号染色体 40 kb 的区间内,发现番茄红素生物合成相关基因



GO:0045165;细胞命运决定;GO:0006511;泛素依赖性蛋白质分解代谢过程;GO:0035966;对拓扑错误蛋白质的响应;GO:0006633;脂肪酸生物合成过程;GO:0072330;单羧酸生物合成过程;GO:0008610;脂质生物合成过程;GO:0016701;氧化还原酶活性(作用于单供体并掺入分子氧);GO:0005942;磷脂酰肌醇 3-激酶复合体;GO:0031010;ISWI 型复合体;GO:0035032;III类磷脂酰肌醇 3-激酶复合体;GO:0070603;SWI/SNF 超家族型复合体;GO:0019898;膜的外在成分;GO:0015629;肌动蛋白细胞骨架;GO:0098687;染色体区域;GO:0030119;AP 型膜被适配体复合体;GO:0031225;膜锚定成分;GO:0009527;质体外膜;GO:0005694;染色体;GO:0005911;细胞间连接;GO:0030054;细胞连接。Q 值:多重假设检验校正后的 P 值。

图 2 候选基因 GO 富集分析 (A) 和 KEGG 富集分析 (B)

Fig.2 GO enrichment analysis (A) and KEGG enrichment analysis (B) of candidate genes

表 3 候选基因的功能注释

Table 3 Functional annotation of candidate genes

序号	基因	染色体	起始位点(bp)	终止位点(bp)	功能注释
1	<i>Cla97C02G027340</i>	2号	1 076 883	1 079 856	紫黄质脱环氧化酶
2	<i>Cla97C02G027870</i>	2号	1 467 531	1 468 938	MYB 转录因子
3	<i>Cla97C02G028400</i>	2号	1 936 883	1 937 407	引导蛋白
4	<i>Cla97C02G028430</i>	2号	1 964 160	1 967 154	WRKY 转录因子
5	<i>Cla97C02G028640</i>	2号	2 140 210	2 141 079	尿苷二磷酸糖基-糖基转移酶 9
6	<i>Cla97C02G028650</i>	2号	2 142 883	2 144 258	糖基转移酶
7	<i>Cla97C02G029020</i>	2号	2 384 766	2 388 652	尿苷二磷酸糖基-糖基转移酶 9
8	<i>Cla97C02G028680</i>	2号	2 161 556	2 164 053	邻甲基转移酶
9	<i>Cla97C02G048400</i>	2号	35 931 938	35 932 987	F-box 家族蛋白
10	<i>Cla97C02G049320</i>	2号	36 740 913	36 743 447	三角状五肽重复蛋白
11	<i>Cla97C04G070020</i>	4号	8 186 932	8 189 097	三角状五肽重复蛋白
12	<i>Cla97C04G070590</i>	4号	13 462 552	13 464 525	三角状五肽重复蛋白
13	<i>Cla97C04G070570</i>	4号	13 365 289	13 368 849	MADS-box 转录因子 23
14	<i>Cla97C06G122120</i>	6号	24 459 801	24 462 083	三角状五肽重复蛋白
15	<i>Cla97C06G122510</i>	6号	24 838 616	24 839 026	F-box 家族韧皮部蛋白 2-B1
16	<i>Cla97C06G122520</i>	6号	24 842 202	24 844 986	F-box 家族韧皮部蛋白 2-B1
17	<i>Cla97C06G122530</i>	6号	24 846 710	24 848 411	F-box 家族韧皮部蛋白 2-B1

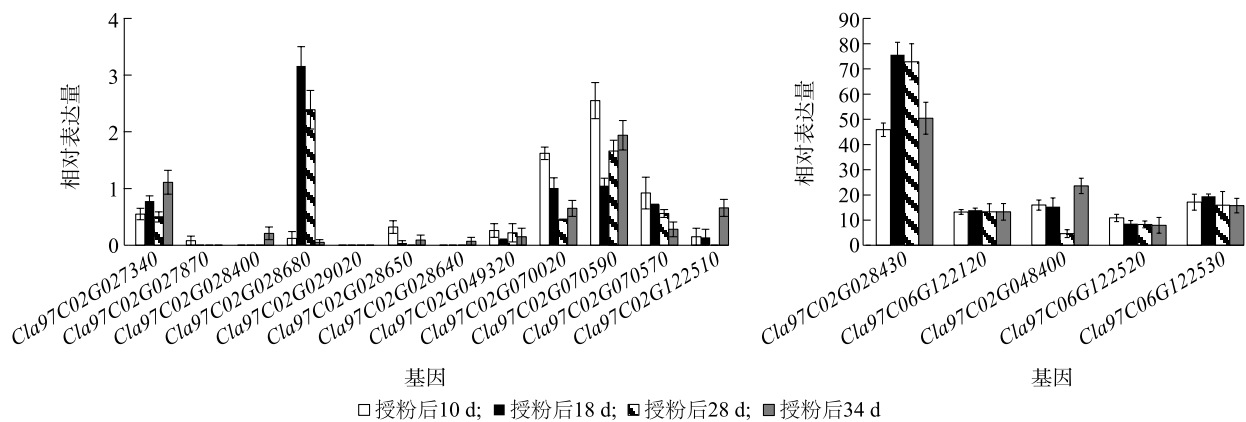


图 3 果实不同发育过程中候选基因相对表达量

Fig.3 Relative expression levels of candidate genes during different fruit development stages

*Cla018767*、*Cla018768*、*Cla018769*、*Cla018770* 和 *Cla018771*。Zhang 等<sup>[24]</sup>发现,三角状五肽重复蛋白基因 *Cla97C06G122120* 可能通过调控类胡萝卜素代谢影响果肉颜色,并将调控西瓜粉色果肉形成的基因定位于 6 号染色体 55.26 kb 区间内,最终确定 *Cla97C06G122120* 为关键候选基因。本研究以粉色果肉西瓜 MW119 和红色果肉西瓜 MW120 为亲本,

构建 F<sub>2</sub> 分离群体,利用 BSA-seq 方法将调控红色果肉形成的基因定位于 2 号、4 号、5 号、6 号、7 号、9 号、10 号染色体上。进一步对关联区间内 116 个携带非同义突变 SNP 和 InDel 移码突变的基因进行功能注释和表达分析,最终筛选出 6 个关键候选基因: WRKY 转录因子基因 *Cla97C02G028430*、邻甲基转移酶基因 *Cla97C02G028680*、F-box 蛋白基因

*Cla97C02G048400* 和 *Cla97C06G122530*, 以及三角状五肽重复蛋白基因 *Cla97C06G122120*。

目前已报道参与西瓜果肉颜色调控的基因主要包括:八氢番茄红素合酶基因(*PSY*)<sup>[25]</sup>、番茄红素β-环化酶基因(*LCYB*)<sup>[1]</sup>、9-顺式环氧类胡萝卜素双加氧酶基因(*NCED*)<sup>[5,14,21]</sup>、类胡萝卜素异构酶基因(*ZISO*)<sup>[26]</sup>等类胡萝卜素通路相关基因以及 MYB、WRKY 和 MADS-box 等转录因子基因<sup>[11,27-28]</sup>和质体发育相关基因<sup>[29]</sup>。本研究首先筛选了编码区存在非同义突变 SNP 的基因,进而通过荧光定量 PCR 分析其在果实发育过程中的表达模式,最终鉴定出 5 个可能参与红色果肉形成的候选基因。*WRKY* 转录因子可通过协同调控叶绿素降解和类胡萝卜素的合成促进柑橘果实着色<sup>[30]</sup>,或通过乙烯信号转导途径调控番茄果实颜色的形成<sup>[31]</sup>。本研究中,在果实发育中期,*Cla97C02G028430* 的相对表达量保持较高水平。*Liu* 等<sup>[27]</sup>发现,*WRYK* 转录因子参与果实成熟的调控。而其与果肉颜色转变的相关性仍需进行进一步探究。*Cla97C02G028680* 编码邻甲基转移酶(*OMT*),在果实发育中期,*Cla97C02G028680* 的相对表达量保持较高水平。已有研究结果表明,邻甲基转移酶基因表达量与花色苷的积累量呈正相关,而花色苷是决定葡萄<sup>[32]</sup>和辣椒<sup>[33]</sup>果皮的呈色物质。*Cla97C02G048400* 和 *Cla97C06G122530* 编码 F-box 家族蛋白。F-box 在真核生物中普遍存在,参与多种生理过程的调控。研究结果表明,F-box 参与调控有色小麦中的花青素积累<sup>[34]</sup>、辣椒果实转色<sup>[35]</sup>以及甜瓜白色果皮的形成<sup>[36]</sup>。*Cla97C06G122120* 编码三角状五肽重复蛋白 PPR,在最新发表的研究结果中,该基因被鉴定为调控颜色果肉的候选基因<sup>[12,24]</sup>。这些候选基因的发现为深入解析西瓜红色果肉形成的分子机制提供了重要线索。后续研究将通过基因编辑等技术对这些基因进行功能验证,以期完善西瓜果肉颜色形成的遗传调控网络。

#### 参考文献:

- [1] 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, 5: 1616-1623.
- [2] 李艳杰,康保珊,赵文恩,等.西瓜中类胡萝卜素的高效液相色谱法分析[J].*中国瓜菜*, 2005(4): 12-15.
- [3] 王楠,刘识,朱子成,等.红色和橙黄色果肉西瓜番茄红素和β-胡萝卜素代谢基因的表达分析[J].*园艺学报*, 2016, 43(5): 918-926.
- [4] BRANHAM S, VEXLER L, MEIR A, et al. Genetic mapping of a major codominant QTL associated with β-carotene accumulation in watermelon[J]. *Molecular Breeding*, 2017, 37(12): 146.
- [5] FANG X F, LI S L, ZHU Z C, et al. *Clorf* encodes carotenoid isomerase and regulates orange flesh color in watermelon (*Citrullus lanatus* L.) [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2023, 71(42): 15445-15455.
- [6] KANG B S, ZHAO W E, HOU Y B, et al. Expression of carotenogenic genes during the development and ripening of watermelon fruit[J]. *Scientia Horticulturae*, 2010, 124: 368-375.
- [7] GRASSI S, PIRO G, LEE J M, et al. Comparative genomics reveals candidate carotenoid pathway regulators of ripening watermelon fruit[J]. *BMC Genomics*, 2013, 14: 781.
- [8] 顾卫红,张燕,郑洪建.西瓜的瓤色遗传及其环境调控作用[J].*上海农业学报*, 2002, 18(3): 43-46.
- [9] MARAGAL S, RAL E S, REDDY D C L. Genetic mapping and meta-analysis identifies several candidate genes for watermelon (*Citrullus lanatus*) fruit quality traits[J]. *Scientia Horticulturae*, 2023, 308: 111545.
- [10] 刁卫楠,袁平丽,龚成胜,等.西瓜果肉柠檬黄色的遗传分析和基因定位[J].*中国农业科学*, 2021, 54(18): 3945-3958.
- [11] LIU S, GAO Z Q, WANG X Z, et al. Nucleotide variation in the phytoene synthase (*CIPsy1*) gene contributes to golden flesh in watermelon (*Citrullus lanatus* L.) [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2022, 135(1): 185-200.
- [12] 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.
- [13] PARK G, SHAHWAR D, JANG G, et al. Identification of a novel locus C2 controlling canary yellow flesh color in watermelons [J]. *Frontiers in Genetics*, 2023, 14: 1256627.
- [14] YI L C, ZHOU W, ZHANG Y, et al. Genetic mapping of a single nuclear locus determines the white flesh color in watermelon (*Citrullus lanatus* L.) [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2023, 14: 1090009.
- [15] LIU S, GAO P, WANG X Z, et al. Mapping of quantitative trait loci for lycopene content and fruit traits in *Citrullus lanatus* [J]. *Euphytica*, 2015, 202(3): 411-426.
- [16] LIU S, GAO P, ZHU Q L, et al. Development of cleaved amplified polymorphic sequence markers and a CAPS-based genetic linkage map in watermelon (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. and Nakai) constructed using whole-genome re-sequencing data [J]. *Breeding Science*, 2016, 66(2): 244-259.
- [17] FALL L A, PERKINS-VEAZIE P, MA G Y. QTLs associated with flesh quality traits in an elite\_elite watermelon population [J]. *Euphytica*, 2019, 215: 30.
- [18] NIE H L, KIM M, LEE S, et al. High-quality genome assembly

- and genetic mapping reveal a gene regulating flesh color in watermelon (*Citrullus lanatus*) [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2023, 14:1142856.
- [19] SUN Y, KOU D R, LI Y, et al. Pan-genome of *Citrullus* genus highlights the extent of presence/absence variation during domestication and selection[J]. *BMC Genomics*, 2023, 24:332.
- [20] JIN B K, JANG G, PARK G, et al. Development of a gene-based marker set for orange-colored watermelon flesh with a high  $\beta$ -carotene content [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2024, 25:210.
- [21] WANG C N, QIAO A H, FANG X F, et al. Fine mapping of lycopene content and flesh color related gene and development of molecular marker-assisted selection for flesh color in watermelon (*Citrullus lanatus*) [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2019, 10:1240.
- [22] LI N, SHANG J L, WANG J M, et al. Discovery of the genomic region and candidate genes of the scarlet red flesh color (Yscr) locus in watermelon (*Citrullus Lanatus* L.) [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2020, 11:116.
- [23] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  method [J]. *Methods*, 2001, 25(4):402-408.
- [24] ZHANG W C, JI Z Q, HU G Q, et al. Clpf encodes pentatricopeptide repeat protein (PPR5) and regulates pink flesh color in watermelon (*Citrullus lanatus* L.) [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2024, 137:126.
- [25] FANG X F, LIU S, GAO P, et al. Expression of *CLPAP* and *CLPSY1* in watermelon correlates with chloroplast differentiation, carotenoid accumulation, and flesh color formation [J]. *Scientia Horticulturae*, 2020, 270:10943.
- [26] ZHANG J, SUN H H, GUO S G, et al. CIZISO mutation leads to photosensitive flesh in watermelon [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2022, 135(5):1565-1578.
- [27] LIU Y D, XIAO W, LIAO L, et al. A PpEIL2/3-PpNAC1-PpWRKY14 module regulates fruit ripening by modulating ethylene production in peach [J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2024, 66(11):2470-2489.
- [28] CAO Y, FANG X F, LIU S, et al. Isolation and activity analysis of phytoene synthase (CLPSY1) gene promoter of canary-yellow and golden flesh-color watermelon [J]. *Agronomy*, 2023, 13(4):1080.
- [29] ZHANG J, GUO S G, REN Y, et al. High-level expression of a novel chloroplast phosphate transporter CLPHT4;2 is required for flesh color development in watermelon [J]. *New Phytologist*, 2017, 213:1208-1221.
- [30] CHEN H Y, JI H Y, HUANG W K, et al. Transcription factor CrWRKY42 coregulates chlorophyll degradation and carotenoid biosynthesis in citrus [J]. *Plant Physiology*, 2024, 195(1):728-744.
- [31] ZHAO W H, LI Y H, FAN S Z, et al. The transcription factor WRKY32 affects tomato fruit colour by regulating YELLOW FRUITED-TOMATO 1, a core component of ethylene signal transduction [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2021, 72(12):4269-4282.
- [32] 苏 玲, 杨 阳, 王鹏飞, 等. 葡萄中调控果皮颜色相关基因的研究进展 [J]. *安徽农业科学*, 2018, 46(2):19-22, 26.
- [33] 张宝玺, 郭家珍, 杨佳梅, 等. 辣椒绿熟期果色及主要色素含量的遗传 [J]. *园艺学报*, 1996, 23(1):94-96.
- [34] HONG M J, KIM D Y, CHOI H, et al. Isolation and characterization of kelch repeat-containing F-box proteins from colored wheat [J]. *Molecular Biology Reports*, 2020, 47:1129-1141.
- [35] 金威恒, MUMTAZ M A, 何成尧, 等. 基于加权关联网络分析的辣椒 (*Capsicum annum* L.) 果实颜色转变相关基因的鉴定 (英文) [J]. *热带作物学报*, 2022, 43(6):1129-1143.
- [36] FEDER A, BURGER J, GAO S, et al. A kelch domain-containing F-box coding gene negatively regulates flavonoid accumulation in muskmelon [J]. *Plant Physiology*, 2015, 169(3):1714-1726.

(责任编辑:成纾寒)