

基于 BSA-seq 的西瓜白色果皮基因定位分析

孙 蕾¹, 于立杰¹, 刘忠野¹, 周 鑫¹, 左师宇¹, 朱子成²

(1. 辽宁农业职业技术学院农学院园艺学院 辽宁营口 115000; 2. 东北农业大学园艺园林学院 哈尔滨 150000)

摘 要:以白色果皮西瓜品种三白瓜和墨绿色果皮材料 LN1-1 为试验材料, 构建遗传群体, 系统解析西瓜白色果皮遗传机制, 定位调控该性状的关键基因, 为白色果皮西瓜分子标记辅助育种提供理论支撑。以三白瓜为母本、LN1-1 为父本构建四世代遗传群体, 调查 F₂ 代群体果皮颜色表型并进行遗传分析; 利用 BSA-seq(分离群体混合池测序)技术对 F₂ 代白色与非白色果皮极端个体混池进行测序, 结合生物信息学分析定位关键候选基因, 通过序列比对、系统进化树分析验证基因功能关联性。结果表明, F₂ 代 225 单株中, 白色果皮 60 株、非白色果皮 165 株, 分离比符合理论比 1:3($\chi^2=0.33$, $P>0.05$), 表明白色果皮受单隐性核基因控制。BSA-seq 测序分析将该基因定位在 9 号染色体 11 793 001~14 532 000 bp(2.74 Mb)区间内。该区间 78 个基因中, *Cla97C09G175170*(与 *APRR2* 同源)被预测为关键候选基因。序列分析显示, 该基因编码区无变异, 仅在第 9 内含子存在 1 个与白/非白表型共分离的 G→A 关键 SNP 位点; 系统进化树分析证实其编码蛋白与冬瓜、黄瓜、番茄等作物的同源蛋白序列高度保守。结合 *APRR2* 基因的保守功能, 推测该内含子突变可能通过影响基因表达进而阻碍叶绿体发育并导致叶绿素完全缺失, 从而呈现白色果皮。本研究成功定位并预测 *Cla97C09G175170*(与 *APRR2* 同源)为控制西瓜白色果皮性状的关键候选基因, 为西瓜白色果皮性状的分子标记辅助育种及基因功能验证奠定了重要理论基础。

关键词:西瓜; 白色果皮; 遗传分析; BSA-seq; *APRR2* 基因

中图分类号: S651

文献标志码: A

文章编号: 1673-2871(2026)08-016-09

Gene mapping analysis of white fruit rind trait in watermelon based on BSA-seq

Sun Lei¹, Yu Lijie¹, Liu Zhongye¹, Zhou Xin¹, Zuo Shiyu¹, Zhu Zicheng²

(1. College of Agronomy and Horticulture, Liaoning Agricultural Vocational and Technical College, Yingkou 115000, Liaoning, China;

2. College of Horticulture and Landscape Architecture, Northeast Agricultural University, Harbin 150000, Heilongjiang, China)

Abstract: This study used the watermelon with white peel variety Sanbai Gua and the dark green peel material LN1-1 as parents to construct a genetic population, systematically dissect the genetic mechanism of white peel in watermelon, map the key genes regulating this trait, with the aim of providing a theoretical basis for molecular marker-assisted breeding of watermelon with white peel. Using Sanbai Gua as the female parent and LN1-1 as the male parent, a four-generation population was constructed. The peel color phenotype of the F₂ population was investigated, and subjected to genetic analysis. Bulk segregant analysis combined with whole-genome resequencing (BSA-seq) technology was employed to sequence the extreme pools of white and non-white peel individuals in the F₂ generation, and bioinformatics analysis was used to map key candidate genes, followed by sequence alignment and phylogenetic tree analysis to verify gene functional associations. The results showed that among the 225 F₂ plants, 60 displayed white peel and 165 showed non-white peel, with a segregation ratio fitting the theoretical 1:3 ratio($\chi^2=0.33$, $P>0.05$), indicating that white peel trait is controlled by a single recessive nuclear gene. BSA-seq localized the gene to a 2.74 Mb interval on chromosome 9 (11 793 001-14 532 000 bp), containing 78 genes, among which *Cla97C09G175170* (a homolog of *APRR2*) was predicted as the key candidate gene. Sequence analysis revealed no variation in the coding region of this gene, with only one critical G→A SNP within the 9th intron that co-segregated with the white/non-white phenotype. Phylogenetic tree analysis showed that its encoded protein is highly conserved with homologous protein sequences from other crops such as wax gourd, cucumber, and tomato. Combined with the known function of the *APRR2* gene, it is speculated that this intronic mutation may affect gene expression, thereby impairing chloroplast development and leading to complete loss of chlorophyll, ultimately resulting in the white

收稿日期: 2025-12-30; 修回日期: 2026-03-10

基金项目: 辽宁省教育厅基本科研项目(LJKQZ20222426)

作者简介: 孙 蕾, 女, 讲师, 主要从事设施瓜菜栽培与育种研究。E-mail: sunlei_xjx@163.com

peel phenotype. This study successfully mapped and predicted *Cla97C09G175170* as the key candidate gene controlling watermelon white peel, laying an important theoretical foundation for further gene functional validation, and molecular marker-assisted breeding.

Key words: Watermelon; White peel; Genetic analysis; BSA-seq; *APRR2* gene

西瓜(*Citrullus lanatus*)是一种广受欢迎的水果,因其甜美的风味、多汁的口感以及多样的食用方式成为消费者夏季最喜爱的水果之一。近年来,随着中国消费水平的不断提高和分子育种技术的持续更新,优良的西瓜农艺性状如果实含糖量、抗病性和产量已成为育种工作者和种植者共同追求的目标^[1-3];同时,消费者在选购时不仅关注果实的营养价值和风味品质,外观品质也日益成为重要的考量标准,其中果皮颜色尤为关键。

植物器官颜色的变化主要取决于不同光合色素的组成及其相对含量。其中,影响园艺作物果皮颜色的主要光合色素包括叶绿素、藻胆素、类胡萝卜素、花青素和黄酮类化合物^[4]。近年来,在不同作物中相继鉴定出一系列调控果皮颜色的关键基因。如在番茄中,*SISGR*基因主要参与调控果实中的叶绿素降解过程,在其自然突变类型(*gf*)中,该基因在野生型果实中被人工沉默或敲除。*SISGR1*的表达会显著抑制叶绿素降解,导致成熟果实因未降解的叶绿素积累而呈现锈红色外观^[5]。在黄瓜果皮颜色的研究中,绿皮品种果皮中的叶绿素a、叶绿素b、类胡萝卜素含量及叶绿体数量均高于白皮品种;代谢组分析鉴定出162种差异代谢物,其中白皮品种中关键的花青素和黄酮醇含量显著降低;进一步转录组分析发现4516个差异表达基因,白皮品种叶绿素合成基因表达下调导致叶绿素减少^[6]。在冬瓜的研究中,利用BSA-seq(分离群体混合池测序)将控制冬瓜白色果皮基因定位在5号染色体179 kb区间内,进一步分析推测候选基因*BhAPRR2*的移码突变是出现白皮性状的关键原因,该基因通过调控叶绿素合成与积累影响果皮颜色^[7]。

然而,在西瓜中,果皮颜色的遗传调控网络显得更为复杂,同一性状在不同遗传背景下可能由不同主效基因控制,或表现为数量性状。Li等^[8]通过群体重测序,将控制西瓜果皮深绿色与浅绿色的基因定位到8号染色体上的*CICG08G017810*,深绿色对浅绿色为显性。白晶^[9]利用果皮黄色和深绿色西瓜分别与浅绿色西瓜杂交,发现果皮黄色对绿色为显性,进一步对基因定位与候选基因进行分析,推测*Cla002769*是决定

西瓜果皮黄色性状的候选基因,该基因功能注释为镁螯合酶,是叶绿素合成过程中的关键酶。而另一杂交组合中F₂果皮颜色表现为连续性变化,表明西瓜果皮绿色深浅是受多个基因调控的数量性状,并且果皮深绿色对浅绿色为不完全显性。倪博新^[10]在浅绿色果皮和绿色果皮的西瓜杂交组合中发现,F₁代果皮颜色全部为绿色,F₂代群体中绿色与浅绿色表型分离比例符合3:1,表明浅绿色西瓜果皮颜色性状受单隐性基因控制。进一步通过BSA-seq分析,调控该性状的基因被定位在9号染色体12.6~13.7 Mb区间内,候选基因*Cla97C09G175170*(*APRR2*同源基因)编码的假响应调节蛋白通过调控叶绿体发育影响叶绿素积累。另外有研究认为,西瓜果皮底色由双基因系统控制即*g⁻¹*和*g⁻²*。当两者均为隐性纯合(*g⁻¹g⁻¹g⁻²g⁻²*)时表现浅绿色或白色果皮,任一显性等位基因(*G⁻¹*或*G⁻²*)存在即表现深绿色,显性等级:深绿色(*G*)>宽条纹(*g^w*)>中条纹(*g^m*)>窄条纹(*gⁿ*)>浅绿色(*g*)^[11]。这些成果揭示了西瓜果皮颜色形成的遗传多样性,但多数研究集中于深绿、浅绿或黄色等表型^[12-14],对西瓜白色果皮这一特殊性状的遗传基础尚缺乏系统解析。

三白瓜在我国有多年的栽培历史,因其白瓢、白皮、白籽而得名,在西瓜育种方面,它同样是关键的亲本材料,对其性状进行深入系统的挖掘与利用,对培育西瓜新品种有着极为重要的意义^[15]。为此,本研究以白色果皮西瓜品种三白瓜为母本,墨绿色果皮材料LN1-1为父本,构建四世代遗传群体(P₁、P₂、F₁、F₂),旨在明确白色果皮的遗传规律。在此基础上,利用基于F₂群体的极端表型混池与BSA-seq技术,对控制白色果皮的关键基因进行初步定位,并筛选关键候选基因,以期阐明西瓜白色果皮形成的分子机制提供理论依据,并为该性状的分子标记辅助育种及新品种选育奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

试验材料为亲本三白瓜(果皮、果肉和种子均为白色)、LN1-1(果皮墨绿色)及其组配的F₁代和F₂

代群体。上述西瓜材料种子均由辽宁农业职业技术学院农学院园艺学院提供。

1.2 试验时间与地点

本试验于2024年8—11月在辽宁农业职业技术学院校内17号温室内进行,其间完成育苗、定植、田间管理及性状调查等。

1.3 试验设计与群体构建

试验采用完全随机设计。试验前期以亲本三白瓜为母本、LN1-1为父本进行杂交,获得 F_1 代种子; F_1 代植株自交,获得 F_2 代分离群体。2024年8月15日,将亲本及杂交后代统一育苗后定植,田间管理采用常规温室西瓜栽培措施。最终得到三白瓜、LN1-1和杂交 F_1 代各20株,自交 F_2 代225株,作为性状调查和群体遗传分析的四世代群体。

1.4 表型鉴定与数据处理

果实成熟后,果皮颜色肉眼区分明显,本研究聚焦白色果皮性状,将 F_2 代群体划分为白色果皮与非白色果皮两类进行统计分析。利用Excel 2010整理原始数据;对西瓜白色果皮这一质量性状进行卡方适合度(χ^2)检验^[16],验证其遗传分离比例。

1.5 测序文库的构建和质量检测

从 F_2 代单株中分别选取果皮颜色为白色和非白色各20株,分别构建DNA混池W-pool和NW-pool,委托诺禾致源进行建库与测序,构建好的文库通过Illumina HiSeq™PE150平台进行测序。

1.6 基因定位

通过计算SNP-index值进行性状定位,选择亲本LN1-1作为参考亲本,分别计算2个子代的SNP-index(即SNP的频率)。其中,完全与其相同的SNP-index为0;完全与其不同的SNP-index为1。为了去除背景噪声,减少测序错误、比对错误等造成的影响,提高定位的效率,对SNP和SNP-index进行筛选和过滤。为了直观体现2个子代池间差异的区域,计算2个子代SNP-index的差值: $\Delta(\text{SNP-index}) = \text{SNP-index}(S_2) - \text{SNP-index}(S_1)$ 。选择1 Mb为窗口,1 kb为步长,计算每个窗口中 $\Delta(\text{SNP-index})$ 的平均值以反映 $\Delta(\text{SNP-index})$ 的分布特征;结合群体类型(F_2)和子代混池个数,进行1000次置换检验^[17],选取95%置信水平作为阈值线。

1.7 候选基因的预测与筛选

利用InterProScan(<https://www.ebi.ac.uk/interpro>)在线软件对定位区间内候选基因进行蛋白结构域的功能注释;对注释后的基因以叶绿体发育、光

信号转导、色素代谢等核心功能关键词进行靶向筛选,初步获得候选基因集。进一步利用IGV(integrative genomics viewer)可视化分析软件(version 2.19.7),查看序列比对结果、基因结构及变异位点分布,同时整合多样本数据轨道进行差异比对,完成基因特征的可视化验证。

1.8 系统进化树构建

在Ensembl Plants数据库(<https://plants.ensembl.org/>)中下载拟南芥、番茄同源基因编码的蛋白序列,在葫芦科数据库CuGenDBv2(<http://cucurbitgenomics.org/v2>)中下载目标基因的冬瓜同源蛋白序列。采用MEGA12.0软件进行多序列比对,将比对结果采用邻接法(neighbor-joining, NJ)构建系统进化树,校验参数Bootstrap为1000次,其他参数使用默认值。

2 结果与分析

2.1 西瓜果皮底色的遗传规律

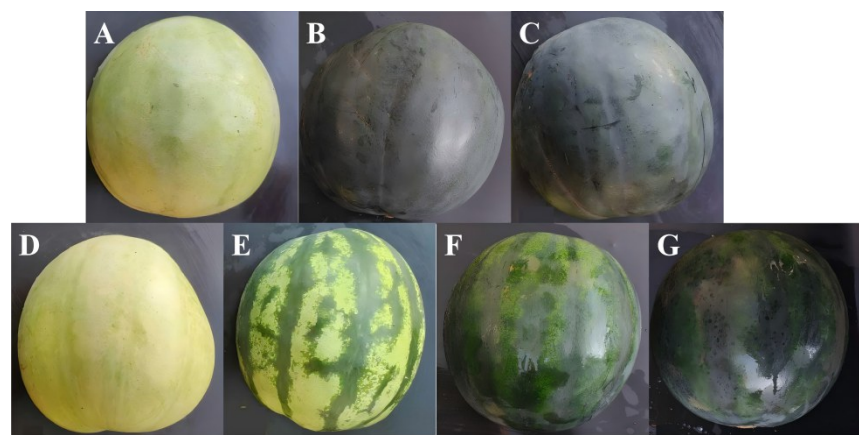
母本三白瓜果皮底色为白色,父本LN1-1果皮底色为墨绿色, F_1 表现为墨绿色,和父本颜色一致, F_2 果皮底色可划分为2种类型,白色(图1-D)、非白色(图1-E~G)。

田间观测数据表明(表1),三白瓜×LN1-1组合 F_2 群体共225株,果皮底色白色和非白色分离比为60:165。卡方符合度检验结果显示, P 值>0.05,说明实际数与理论数相符合。果皮底色分离比符合理论比1:3,表明西瓜果皮底色的白色对非白色为隐性,该性状由1对等位基因控制。

2.2 BSA-seq测序数据分析

本研究共涉及4个样本,分别为白色果皮混池(W)、非白色果皮混池(NW)、LN1-1和三白瓜(SBG)。样本测序数据质量如表2所示。本次测序共产生Raw data 30.664 G,过滤后的clean data 30.438 G,各样本的Raw data在5 316 488 700~9 976 468 800 bp,测序质量高($Q_{20} \geq 99.05\%$ 、 $Q_{30} \geq 96.68\%$),GC含量在35.69%~38.08%。综上,所有样本的数据量足够,测序质量合格,GC分布正常,建库测序成功。

以西瓜97103 v2作为参考基因组,参考基因组大小为365 450 462 bp,将有效测序数据通过BWA软件比对到参考基因组,结果如表3所示,样本的比对率在94.14%~99.01%,对参考基因组(排除N区)的平均覆盖深度在12.25 X~17.97 X,1 X覆盖度(至少有1个碱基的覆盖)在97.59%以上。比对



注:A. 三白瓜;B. LN1-1;C. F₁;D~G. F₂。
Note: A. Sanbai; B. LN1-1; C. F₁; D-G. F₂.

图1 亲本及F₁、F₂代果皮性状比较

Fig. 1 Comparison of pericarp traits between parents and F₁, F₂ generation

表1 F ₂ 群体果皮颜色的分离			
Table 1 Separation of peel color of F ₂ population			
指标 Index	白色 White	非白色 Non-white	总数 Total
观测值(株)Observed value	60	165	225
理论值(株)Theoretical value	56	169	225
χ^2	0.33($P>0.05$)		
理论比例 Theoretical proportion	1:3		

结果正常,可用于后续的变异检测及相关分析。

本研究对测序数据进行了系统的变异检测与功能注释,统计结果如表4所示。共鉴定出478 152个SNP和124 758个InDel,其中在外显子区域检测出非同义突变5596个SNP、移码缺失178个InDel、移码插入143个InDel,以及终止密码子获得81个SNP、终止密码子丢失31个SNP,这些

变异可能对蛋白质功能产生影响。从分布上看,变异主要集中于基因间区(SNP:382 253; InDel:87 046),其次为内含子区域(SNP:43 298; InDel:17 038)。转换与颠换的比例(ts/tv)为2.222,处于作物测序变异检测的常见范围内,提示数据质量可靠。此外,在基因上下游调控区域及可变剪切位点也检测到一定数量的变异,为进一步功能分析提供了基础。

2.3 西瓜白色果皮基因定位

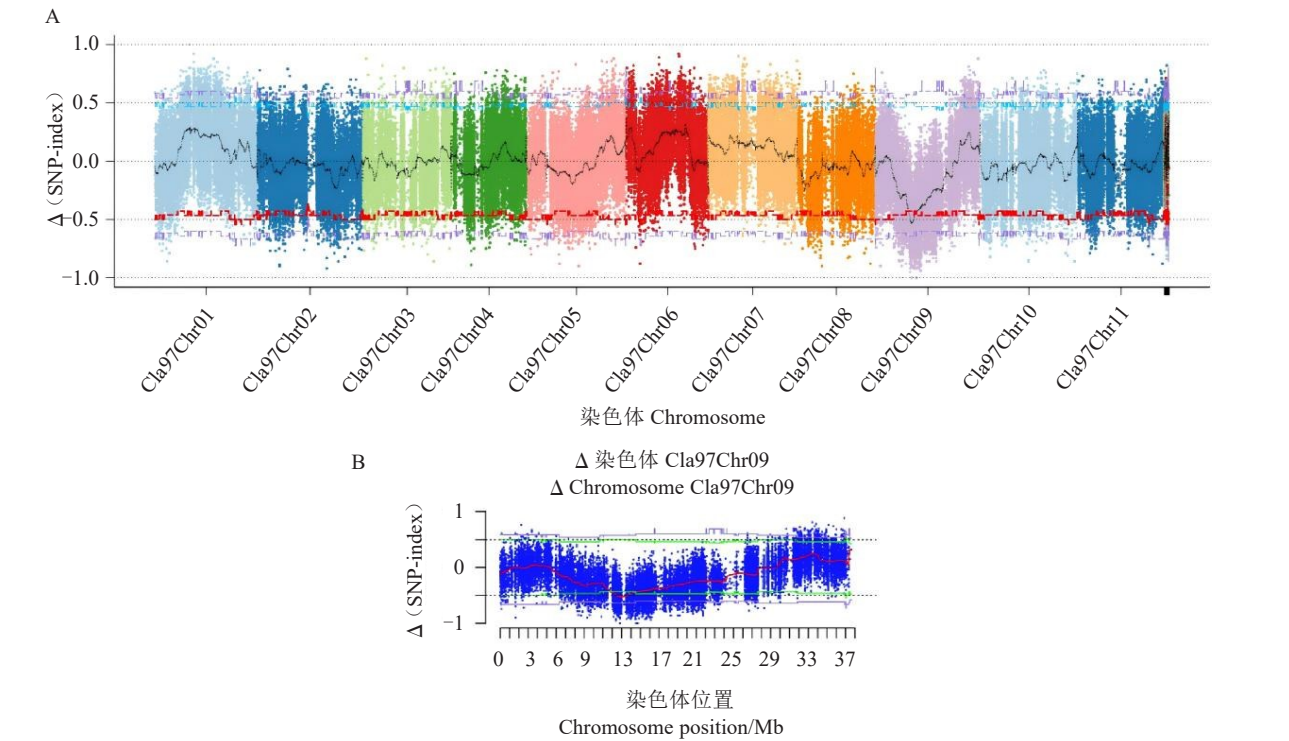
为在全基因组范围内鉴定与目标性状相关的遗传区域,采用滑窗法系统计算了2个极端混池间各窗口的 Δ (SNP-index)值,对 Δ (SNP-index)在各个染色体上的分布作图(图2)。以95%置信水平为阈值,定位到1个候选区间,该区间位于9号染色体上(11 793 001~14 532 000 bp),区间大小为

表2 样本测序数据质量情况汇总表							
Table 2 Summary table of sample sequencing data quality							
样本 Sample	原始数据 Raw base/bp	过滤后有效数据量 Clean base/bp	有效数据占比 Effective rate/%	碱基错误率 Error rate/%	Q20/%	Q30/%	GC含量 GC content/%
W	9 962 213 400	9 902 484 900	99.40	0.01	99.33	97.56	35.69
NW	9 976 468 800	9 908 870 400	99.32	0.01	99.34	97.65	36.31
SBG	5 409 292 500	5 360 428 500	99.10	0.01	99.09	96.80	38.08
LN1_1	5 316 488 700	5 265 928 500	99.05	0.01	99.05	96.68	37.82

表3 测序深度及覆盖度统计						
Table 3 Statistics of sequencing depth and coverage						
样本 Sample	比对序列条数 Mapped reads	有效数据总条数 Total reads	比对率 Mapping rate/%	平均测序深度 Average depth/X	1 X 覆盖度 Coverage at least 1 X/%	4 X 覆盖度 Coverage at least 4 X/%
W	65 361 932	66 016 566	99.01	17.97	99.65	98.41
NW	65 349 526	66 059 136	98.93	17.20	99.58	97.06
SBG	35 270 943	35 736 190	98.70	13.24	97.59	86.09
LN1_1	33 048 421	35 106 190	94.14	12.25	98.29	89.19

表 4 变异检测及注释结果统计
Table 4 Summary of variant calling and annotation

类别 Category	SNP 数 Number of SNP	InDel 数 Number of InDel
基因上游 Upstream	22 221	10 762
外显子 Exonic		
终止密码子获得 Stop-gain	81	12
终止密码子丢失 Stop-loss	31	4
同义突变 Synonymous	4 843	
非同义突变 Non-synonymous	5 596	
移码缺失 Frameshift deletion		178
移码插入 Frameshift insertion		143
非移码缺失 Non-frameshift deletion		172
非移码插入 Non-frameshift insertion		189
未注释到的位点 Unknowns	53	0
内含子 Intronic	43 298	17 038
可变剪切 Splicing	39	34
基因下游 Downstream	18 332	8 547
基因上游/下游 Upstream/Downstream	1 405	630
基因区间 Intergenic region	382 253	87 046
转换 Transitions(ts)	329 793	
颠换 Transversions(tv)	148 359	
转换与颠换的比例 ts/tv	2.222	
插入 Insertion		59 767
缺失 Deletion		64 991
总数 Total	478 152	124 758



注: A. $\Delta(\text{SNP-index})$ 在染色体上的分布图,图中红色线为 95%阈值线;B. 9 号染色体 $\Delta(\text{SNP-index})$ 分布,图中绿色线为 95%阈值线。
Note: A. Distribution of $\Delta(\text{SNP-index})$ across chromosomes, with the red line indicating the 95% threshold; B. Distribution of $\Delta(\text{SNP-index})$ on chromosome 9, with the green line indicating the 95% threshold.

图 2 基于 $\Delta\text{SNP-index}$ 定位西瓜白色果皮基因的候选区间
Fig. 2 Candidate interval for the watermelon white peel gene identified based on $\Delta\text{SNP-index}$ mapping

2.74 Mb。

2.4 候选基因的预测及分析

基于 BSA-seq 分析,在候选区间内共注释到 78 个基因 (*Cla97C09G174730~Cla97C09G175500*)。利用 InterProScan 对 78 个基因进行蛋白结构域与功能注释,共获得 954 条注释信息,对其进行叶绿体发育、光信号转导、色素代谢等功能关键词筛选,结合参考基因组注释信息,初步确定 12 个可能与果皮颜色形成相关的候选基因(表 5)。

利用 IGV 可视化分析软件,对 BSA 定位获得的 12 个候选基因编码区、调控区及内含子全序列进行系统筛查,重点比对白色与非白色果皮混池及双亲测序数据的变异差异。结果发现,在 12 个候选基因的外显子区域,未鉴定到符合要求的 SNP/InDel 位点。最终,仅在候选基因 *Cla97C09G175170* 的第 9 内含子区域鉴定到 1 个 G→A 关键 SNP 位点。该位点不涉及内含子 5'端

GT、3'端 AG 剪接保守区,不直接改变基因编码序列及氨基酸组成,但内含子并非冗余序列,其碱基发生变异后,可通过影响染色质的空间结构、相关转录调控、mRNA 的剪切效率及转录本的稳定性等方式,间接对基因功能产生调控作用,进而参与西瓜果皮色素合成与积累通路调控,具备重要潜在调控价值。

分型分析显示,非白色果皮混池该位点为纯合野生型 G,基因型稳定均一;白色果皮混池可能受浅绿单株混杂影响,突变型 A 未达到纯合状态,但该突变等位基因特异性存在于白色果皮混池及白色亲本中,非白色混池和墨绿色亲本无突变检出,与西瓜果皮白/非白表型呈明显共分离倾向。

基因 *Cla97C09G175170* 编码一个拟南芥 APRR2 同源的两组分响应调节蛋白,在冬瓜、番茄等作物中已被证实通过调控叶绿体发育与叶绿素生物合成决定果皮颜色。将该基因确立为核心候

表 5 候选基因列表
Table 5 Candidate gene list

序号	基因 ID Gene ID	基因功能描述 Description of gene function	核心蛋白结构域 Core protein domain
1	<i>Cla97C09G174730</i>	转录因子 MYC2 类似蛋白 Transcription factor MYC2-like	碱性螺旋-环-螺旋结构域(IPR011598) Myc-type, basic helix-loop-helix (bHLH) domain profile(IPR011598) 植物 bHLH 转录因子 ACT 样结构域(IPR054502) Plant bHLH transcription factor, ACT-like domain(IPR054502)
2	<i>Cla97C09G174800</i>	线粒体转运载体蛋白 Mitochondrial carrier protein	线粒体碱性氨基酸转运蛋白相关结构域(IPR050567) Mitochondrial basic amino acids transporter-related(IPR050567)
3	<i>Cla97C09G174980</i>	蛋白 LSD1 Protein LSD1	LSD1 锌指结构域(IPR005735) LSD1 zinc finger(IPR005735)
4	<i>Cla97C09G175000</i>	铝激活苹果酸转运蛋白 12 类似蛋白 Aluminium-activated malate transporter 12-like	铝激活苹果酸转运体结构域(IPR020966) Aluminium activated malate transporter(IPR020966)
5	<i>Cla97C09G175030</i>	NAC 结构域蛋白 74 NAC domain-containing protein 74	NAC 结构域(IPR003441;IPR036093) NAC domain profile (IPR003441;IPR036093)
6	<i>Cla97C09G175060</i>	铁硫簇组装蛋白 SufB Iron-sulfur cluster assembly protein SufB	叶绿体 ABCI7 蛋白相关结构域(IPR055346) Protein ABCI7, Chloroplastic(IPR055346) SufD 铁转运稳定蛋白结构域(IPR037284) Stabilizer of iron transporter SufD (IPR037284)
7	<i>Cla97C09G175070</i>	细胞色素 P450	细胞色素 P450 结构域(IPR036396;IPR001128)
8	<i>Cla97C09G175080</i>	Cytochrome P450	Cytochrome P450 (IPR036396;IPR001128)
9	<i>Cla97C09G175090</i>		
10	<i>Cla97C09G175170</i>	两组分响应调节蛋白类似蛋白 APRR2 Two-component response regulator-like protein APRR2	响应调节结构域(IPR001789) Response regulatory domain profile (IPR001789) Myb 型 HTH DNA 结合结构域(IPR017930) Myb-type HTH DNA-binding domain profile (IPR017930)
11	<i>Cla97C09G175220</i>	DNAJ 同源物 C 亚家族成员 2 DNAJ homolog subfamily C member 2	Myb 样 DNA 结合结构域(IPR001005) Myb-like DNA-binding domain (IPR001005)
12	<i>Cla97C09G175320</i>	衰老相关家族蛋白 (DUF581) Senescence-associated family protein (DUF581)	FLZ 型锌指结构域(IPR007650) Zinc finger FLZ-type profile (IPR007650) FCS 样锌指 1 相关结构域(IPR044533) FCS-like zinc finger 1-related (IPR044533)

选基因,为后续解析西瓜果皮颜色分化调控机制提供关键研究靶点。

2.5 系统进化树分析

以 $E < 1e^{-10}$ 、相似度 $> 50\%$ 为标准,经 Ensembl Plants 的 BLASTP 筛选,共获得 9 条拟南芥同源蛋白序列。从中选取序列保守性高、覆盖基因家族主

要分支的 5 条高置信度同源序列(APRR2、GLK2、GPRI1、RR12、RR21)。提取西瓜候选基因 *Cla97C09G175170* 及其在黄瓜、冬瓜、番茄中同源基因的编码蛋白序列,共同构建邻接进化树(图 3)。

西瓜 *Cla97C09G175170* 编码蛋白与冬瓜同源蛋白 BhiUN793G2、黄瓜同源蛋白 KGN60425 紧密

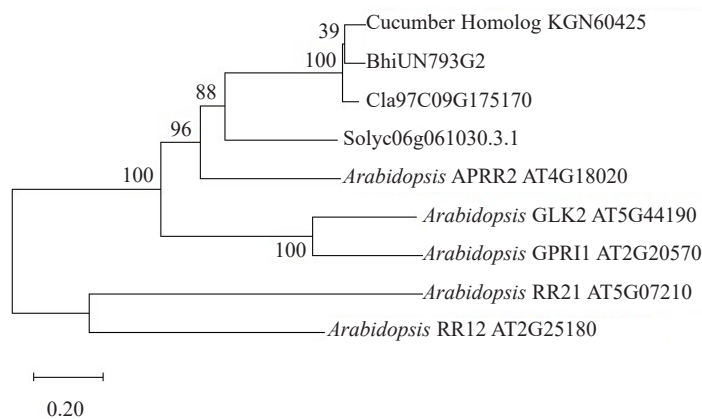


图 3 候选基因 *Cla97C09G175170* 同源蛋白系统发育分析

Fig. 3 Phylogenetic analysis of homologous proteins of candidate gene *Cla97C09G175170*

聚为一支,表明三者为进化关系高度相近的直系同源基因。番茄同源蛋白 Solyc06g061030.3.1 与该葫芦科物种蛋白分支进一步聚类。拟南芥 APRR2 与上述分支聚合,而拟南芥 RR21、RR12 则形成独立的远缘分支,体现了 APRR2 基因家族在进化过程中的功能分化。

3 讨论与结论

本研究利用白色果皮与墨绿色果皮西瓜材料构建杂交群体,遗传分析显示, F_2 代果皮颜色分离比符合 1:3,表明白色果皮受单隐性基因控制。该结果与葫芦科作物果皮颜色的常见遗传模式一致,如西瓜深绿色对浅绿色^[10,18-19]、冬瓜^[7]、甜瓜^[20]及黄瓜^[21]绿色对白色均表现为单基因显性遗传。

基于 BSA-seq 分析,本研究将控制白色果皮的基因定位在西瓜 9 号染色体 11 793 001~14 532 000 bp 区间内,跨度约 2.74 Mb。该区域与已报道的果皮颜色相关 QTL 存在一定的重叠,提示其可能参与果皮颜色的调控。倪博新^[10]利用绿色和浅绿色果皮西瓜构建的分离群体,将控制果皮颜色的基因定位于 9 号染色体 12 625 472~13 732 411 bp 区间,跨度约 1.1 Mb,包含 37 个候选基因。通过进一步分析,推测 *Cla97C09G175170* 为浅绿色果皮性状的候选基因。2023 年,该课题组扩大群体规模,最终将浅绿

色西瓜果皮基因 *Cllgr* 精细定位于 9 号染色体 13 230 487~13 315 771 bp 区间,区间长度仅为 85.29 kb,包含 5 个候选基因,仍推断 *Cla97C09G175170* 为关键候选基因^[22]。Zhou 等^[19]同样利用绿色和浅绿色果皮材料构建群体,并将控制浅绿色西瓜果皮的基因定位在 9 号染色体,进一步通过病毒诱导基因沉默(VIGS)试验证实 *Cla97C09G175170* 在绿色果皮形成中发挥关键作用。值得注意的是,本研究中白色果皮定位区间与前人针对浅绿色果皮精细定位的区段高度重合。这种“共区间”现象最可能的解释是:白色与浅绿色果皮并非由 2 个独立基因控制,而是同一基因(*Cla97C09G175170*)的不同功能等位——浅绿对应活性下降,白色对应功能完全缺失,构成同一色素合成梯度上的连续变异;也可能为紧密连锁的独立位点,因重组率限制在 F_2 群体中尚未拆分。因此,白色果皮的初定位信号实质上“捕获”了已知的浅绿色主效位点,下一步可通过大群体精细定位和功能互补试验区分这两种假说。

Li 等^[8]利用墨绿色和浅绿色西瓜构建的群体进行基因定位,结果表明墨绿对浅绿为显性,由单基因控制,精细定位将果皮颜色基因定位到 8 号染色体 31.4 kb 区间内,区间内有 4 个候选基因,进一步分析将 *CICG08G017810* 确定为候选基因,该基因

编码 2-phytyl-1,4-beta-naphthoquinone methyltransferase,催化叶绿醌的生物合成。同一“浅绿”表型定位结果却存在差异,可能的原因是西瓜果皮颜色至少由 2 条独立通路控制,2 条通路可分别突变、独立分离,为后续挖掘新基因提供第二条染色体靶点。

本研究区间内的候选基因 *Cla97C09G175170* 编码一种与拟南芥 *APRR2* 高度同源的两组分响应调节蛋白。已有证据表明,该同源基因在瓜类作物中具有保守的“颜色开关”功能,如冬瓜白色果皮源于 *BhAPRR2* 移码突变^[7];瓠瓜绿色果皮中 *LsAPRR2* 表达量显著高于白色果皮^[23];在西瓜和甜瓜上, *APRR2* 转录因子是导致这 2 种作物果皮深绿与浅绿品质差异的关键因素^[24]。本研究中西瓜 *Cla97C09G175170* 蛋白编码序列与冬瓜、黄瓜、番茄 *APRR2* 同源蛋白具有高度进化保守性,进一步暗示该基因在西瓜中可能同样具有调控颜色相关性状的功能。

另外,在西瓜候选基因 *Cla97C09G175170* 的内含子区域检测到碱基突变,结合以上分析,推测该内含子突变可能通过调控基因表达参与西瓜果皮颜色的遗传调控。尽管传统认知中基因保守区域多集中于编码区,但内含子区域的变异并非无功能“冗余”,而是可通过多种机制影响基因功能及表型^[25-26]。该内含子突变可能破坏剪接信号位点,导致 mRNA 剪接异常,产生截短或功能异常的转录本,进而影响下游颜色相关通路如叶绿素合成、类胡萝卜素代谢的关键基因表达,最终导致果皮颜色表型变异。这一推测与 Elad 等^[24]的研究结论一致,其发现浅绿色西瓜中 *APRR2* 基因的内含子突变可导致转录本翻译提前终止,进而影响果皮颜色形成。

综上所述,本研究通过遗传群体构建与 BSA-seq 技术,明确西瓜白色果皮受单隐性核基因控制,并将其定位在 9 号染色体 2.74 Mb 区间内,候选基因 *Cla97C09G175170*(*APRR2* 同源)的功能变异可能通过阻碍叶绿体发育、导致叶绿素完全缺失形成白色果皮。该区间与浅绿色果皮定位区段高度重合,推测为同一基因的不同功能等位变异。研究结果为西瓜白色果皮性状的精细定位、功能验证及分子标记辅助育种提供了理论基础。

参考文献

- [1] Ren Y, Guo S G, Zhang J, et al. A tonoplast sugar transporter underlies a sugar accumulation QTL in watermelon[J]. *Plant Physiology*, 2018, 176(1): 836-850.
- [2] 李超汉,朱丽华,尤佳琪,等. 基于 BSA-seq 技术对西瓜抗枯萎病生理小种 1 的基因定位[J]. *上海农业学报*, 2024, 40(2): 11-19.
- [3] 王学征,刘阳萍,陈克农,等. 栽培西瓜单果重主基因+多基因遗传分析[J]. *东北农业大学学报*, 2022, 53(7): 9-15.
- [4] Matsumoto F, Obayashi T, Sasaki-Sekimoto Y, et al. Gene expression profiling of the tetrapyrrole metabolic pathway in *Arabidopsis* with a mini-array system[J]. *Plant Physiology*, 2004, 135(4): 2379-2391.
- [5] Uluisik S, Kiyak A, Kurt F, et al. *STAY-GREEN* (*SGR*) genes in tomato (*Solanum lycopersicum*): Genome-wide identification, and expression analyses reveal their involvements in ripening and salinity stress responses[J]. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, 2022, 63(4): 557-569.
- [6] Wang M, Chen L, Liang Z J, et al. Metabolome and transcriptome analyses reveal chlorophyll and anthocyanin metabolism pathway associated with cucumber fruit skin color[J]. *BMC Plant Biology*, 2020, 20(1): 386.
- [7] Ma L L, Liu Z G, Cheng Z K, et al. Identification and application of *BhAPRR2* controlling peel colour in wax gourd (*Benincasa hispida*) [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2021, 12: 716772.
- [8] Li B B, Zhao S J, Dou J L, et al. Genetic mapping and development of molecular markers for a candidate gene locus controlling rind color in watermelon[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2019, 132(10): 2741-2753.
- [9] 白晶. 西瓜果皮颜色相关基因定位的研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2019.
- [10] 倪博新. 西瓜果皮颜色及单性花关键基因初步定位的研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2022.
- [11] Kumar R, Wehner T C. Discovery of second gene for solid dark green versus light green rind pattern in watermelon[J]. *Heredity*, 2011, 102(4): 489-493.
- [12] Dou J L, Lu X Q, Ali A, et al. Genetic mapping reveals a marker for yellow skin in watermelon (*Citrullus lanatus* L.) [J]. *PLoS One*, 2018, 13(9): e0203943.
- [13] Yang H B, Park S W, Park Y, et al. Linkage analysis of the three loci determining rind color and stripe pattern in watermelon[J]. *Korean Journal of Horticultural Science and Technology*, 2015, 33(4): 559-565.
- [14] 黄仕杰. 西瓜果皮黄色的遗传[J]. *中国西瓜甜瓜*, 1995(3): 15-16.
- [15] 师范生,景鹏飞,贺春娟,等. 优异种质资源万荣三白瓜性状表现及实用栽培技术[J]. *中国瓜菜*, 2024, 37(5): 187-193.
- [16] 陆秀娟,潘虹,蒋太英,等. 薏苡幼苗叶色性状的遗传分析[J]. *贵州农业科学*, 2020, 48(11): 1-4.
- [17] Takagi H, Abe A, Yoshida K, et al. QTL-seq: Rapid mapping of quantitative trait loci in rice by whole genome resequencing of DNA from two bulked populations[J]. *The Plant Journal*, 2013, 74(1): 174-183.
- [18] Liu S T, Amanullah S, An B, et al. Uncovering the genetic mechanism of rind color trait in watermelon using fine mapping and comparative transcriptomic analysis[J]. *Frontiers in Plant*

- Science, 2025, 16: 1553166.
- [19] Zhou W, Yi L C, Wang Y Q, et al. Identification of candidate genes for green rind color in watermelon[J]. Plants, 2025, 14 (1): 113.
- [20] 梁长志. 甜瓜果皮和种皮颜色性状的基因定位[D]. 郑州: 河南农业大学, 2021.
- [21] 陈宸, 周赓, 刘晓虹, 等. 黄瓜果皮颜色的遗传规律与分子机理[J]. 分子植物育种, 2020, 18(12): 4029-4035.
- [22] 许方. 西瓜浅绿色果皮基因 *Cllgr* 的精细定位及分子标记辅助选择体系的建立[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2023.
- [23] Huo Y L, Zhang G, Yu W J, et al. Forward genetic studies reveal *LsAPRR2* as a key gene in regulating the green color of pericarp in bottle gourd (*Lagenaria siceraria*)[J]. Frontiers in Plant Science, 2023, 14: 1130669.
- [24] Elad O, Galil T, Lea V, et al. The multi-allelic *APRR2* gene is associated with fruit pigment accumulation in melon and watermelon[J]. Journal of Experimental Botany, 2019, 70 (15): 3781-3794.
- [25] Wang T, Duan S Y, Xu C, et al. Pan-genome analysis of 13 *Malus* accessions reveals structural and sequence variations associated with fruit traits[J]. Nature Communications, 2023, 14 (1): 7605.
- [26] Dai Z N, Guan J T, Miao H, et al. An intronic SNP in the *Carotenoid Cleavage Dioxygenase 1* (*CsCCD1*) controls yellow flesh formation in cucumber fruit (*Cucumis sativus* L.) [J]. Plant Biotechnology Journal, 2025, 23(6): 2182-2193.