

辣椒果色全基因组关联分析

张小微¹, 陈小翠¹, 陈仕泽², 覃成^{1,3}, 杨红⁴, 唐相群¹, 邱化荣¹, 罗希榕^{1,3}⁽¹⁾ 遵义市农业科学研究院, 贵州遵义 563100; ⁽²⁾ 西南科技大学环境与资源学院, 四川绵阳 621010; ⁽³⁾ 遵义职业技术学院现代农业系, 贵州遵义 563000;⁽⁴⁾ 贵州省农业科学院辣椒研究所, 贵阳 550025

摘要: 本研究利用全基因组关联分析 (GWAS) 挖掘辣椒果色显著关联的 SNP 位点及候选基因。以 195 份一年生辣椒构成的自然群体为试验材料, 分别在 2020 年和 2021 年调查辣椒果色 (青果色和熟果色) 性状, 通过 DNA 测序和 SNP 变异检测, 质控得到的高质量 SNP 位点用于 GWAS 分析。结果表明: 两年间辣椒果色性状表型完全一致, 性状遗传稳定; GWAS 分析后共筛选出 8 个与辣椒果色相关的 SNPs; 共注释到 31 个基因, 预测呼吸爆发氧化酶同源蛋白 A (*Capana01g000138*)、类异黄酮 2'-羟化酶 (*Capana04g000616*, *Capana04g000617*, *Capana04g000618*, *Capana04g000619*, *Capana04g000620*, *Capana04g000621* 和 *Capana04g000622*) 和 F-box-like/WD 重复类蛋白 TBL1Y (*Capana04g000624*) 可能与辣椒果色相关。这些结果将为开展辣椒果色相关分子辅助育种提供参考依据。

关键词: 辣椒; 果色; SNP; 全基因组关联分析; 候选基因

Genome-Wide Association Study for Fruit Color in Pepper

ZHANG Xiao-wei¹, CHEN Xiao-cui¹, CHEN Shi-ze², QIN Cheng^{1,3}, YANG Hong⁴, TANG Xiang-qun¹,
QIU Hua-rong¹, LUO Xi-rong^{1,3}⁽¹⁾ Zunyi Academy of Agricultural Sciences, Guizhou Zunyi 563100; ⁽²⁾ College of Environment and Resources, Southwest University of Science and Technology, Sichuan Mianyang 621010; ⁽³⁾ Modern Agriculture Department, Zunyi Vocational and Technical College, Guizhou Zunyi 563000; ⁽⁴⁾ Pepper Research Institute, Guizhou Academy of Agricultural Sciences, Guiyang 550025

Abstract: In this study, the genome-wide association scanning (GWAS) was used to identify SNPs and candidate genes that significantly associated with the fruit color in pepper. By taking the natural population composed of 195 annual peppers, the fruit color including immature fruit color and mature fruit color were investigated in two calendar years (2020 and 2021). Through the DNA sequencing and SNP variation detection, the high-quality SNPs filtrated by quality control were used for GWAS. The results showed that the phenotypes at pepper fruit color traits collected from the two calendar years were completely consistent, indicating the inheritance of the traits. GWAS analysis revealed eight SNPs associating with the pepper fruit color, enabling the annotation of 31 candidate genes. It includes several strong candidates including the respiratory burst oxidase homologous protein A (*capana01g000138*), isoflavone 2'-hydroxylase-like (*capana04g000616*, *capana04g000617*, *capana04g000618*, *capana04g000619*, *capana04g000620*, *capana04g000621* and *capana04g000622*) and F-box-like/WD repeat-containing protein TBL1Y-like (*Capana04g000624*). These results will provide a reference for molecular assisted breeding of fruit color in pepper.

收稿日期: 2022-10-10 修回日期: 2022-12-06 网络出版日期:

URL:

第一作者研究方向为辣椒分子育种, E-mail:1446109185@qq.com

通讯作者: 陈小翠, 研究方向为辣椒分子育种, E-mail:chenxiaocui0924@163.com

基金项目: 贵州省科技计划项目 (黔科合基础 [2018] 1184); 贵州省科技计划项目 (黔科合基础 [2020] 1Y117); 贵州省科技支撑计划项目 (黔科合支撑 [2019] 2413); 贵州省科技支撑计划项目 (黔科合支撑 [2021] 一般 204); 遵义市科技计划项目 (遵市科合 HZ 字 [2021] 8 号); 遵义市优秀青年科技创新人才培养项目 (遵优青科 [2021] 2 号)

Foundation projects: Science and Technology Plan Project of Guizhou Province (Qian Kehe Foundation [2018] 1184), Science and Technology Plan Project of Guizhou Province (Qian Kehe Foundation [2020] 1Y117), Science and Technology Support Plan Project of Guizhou Province (Qian Kehe Support [2019] 2413), Science and Technology Support Plan Project of Guizhou Province (Qian Kehe Support [2021] General 204), Science and Technology Plan Project of Zunyi City (Zunshi Kehe HZ Word [2021] No.8), Excellent Young Scientific and Technological Innovation Talents Training Project of Zunyi City (Zunyou Qingke [2021] No.2)

Key words: pepper; fruit color; SNP; genome wide association analysis; candidate gene

辣椒 (*Capsicum annuum* L.) 是茄科 (*Solanaceae*) 辣椒属 (*Capsicum*) 一年生或多年生草本植物^[1]。辣椒广泛种植于世界范围内, 具有极高的经济价值和营养价值, 目前为我国第二大蔬菜作物^[2]。果色作为辣椒最主要的经济性状之一, 直接影响着购买者的选择。辣椒果色是由辣椒果实中的叶绿素类、类胡萝卜素类、花青素类和类黄酮类等色素物质的相对含量所决定的^[3]。丰富多彩的果实颜色使得辣椒成为果色相关研究的一种模式植物^[4]。目前, 关于辣椒果色相关基因的研究有一些报道。*CCS* 基因编码的辣椒红素/辣椒玉红素合成酶是催化合成辣椒红素和辣椒玉红素形成的最后一个酶, 控制着红色果实的形成^[5]。*CaSGR* 基因使得辣椒果实中叶绿素随着果实的成熟逐渐降解^[6]。*PSY* 基因编码类胡萝卜素生物合成途径中的限速酶--八氢番茄红素合成酶, 决定果实为橙色或红色^[7]。由此可见, 研究果色性状关键基因的挖掘及遗传机理对于提高辣椒的遗传改良具有重要的意义。

近年来, 随着二代测序技术的快速发展, 全基因组关联分析 (Genome-wide association study, GWAS) 作为一种新兴技术, 利用群体中广泛的遗传多样性, 在全基因组高密度的 SNP 标记挖掘基因变异位点, 以简单易行高通量等优点成为基因组学研究的热点^[8]。目前, GWAS 已在拟南芥、玉米、水稻、小麦等作物遗传研究应用较多, 在辣椒中的研究也相继报道^[9]。Nimmakayala 等通过辣椒 GWAS 分析, 分别得到 16 和 36 个 SNP 位点与辣椒单果重 (Wpf) 和的花梗长度 (Fpl) 显著相关^[10-11]。Han 等对 208 份辣椒 GWAS 分析, 定位到与辣椒素含量显著关联的 99 个 SNP 位点, 并在 3 号和 6 号染色体上筛选出 5 个候选基因^[12]。赵红对 312 份一年生辣椒的 48 个主要性状进行 GWAS 分析, 20 个性状定位到 94 个显著关联的 SNPs^[13]。

SNP 标记在基因组中数量多、分布广、多态性丰富、定位精度高, 是目前最具潜力的分子标记^[14]。本研究以 195 份一年生辣椒构成的自然群体为材料, 结合两年辣椒果色性状调查结果进行 DNA 测序, 对质控得到的高质量 SNP 位点进行全基因组关联分析, 并发掘辣椒果色性状的遗传位点, 筛选相关候选基因, 为相关基因克隆和分子标记辅助选择提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料与田间试验

195 份供试材料为辣椒自然群体, 来自于收集的贵州地方种质资源及相关改良自交系, 由贵州省农业科学院辣椒课题组提供。供试材料分别于 2020 年和 2021 年种植于贵州省遵义市红花岗区新蒲镇贵州省农科院辣椒所科研基地, 海拔 840 m (27°43' 28" N, 107°2' 54" E)。采用随机区组试验设计, 每个材料 2 行, 每行 15 株, 2 粒播, 行距 60 cm, 株距 25 cm。辣椒栽培按照常规栽培管理方式进行。在青果期和熟果期分别调查辣椒青果色 (Immature fruit color, Ifc) 和熟果色 (Mature fruit color, Mfc) 2 个性状, 采用 Excel 2019 对数据进行处理和统计分析。在辣椒初果期, 取 195 份辣椒材料的幼嫩叶片各 100 mg, 液氮速冻, -80 °C 保存备用。

1.2 基因组测序、比对和 SNP 检测

辣椒幼嫩叶片 (-80 °C 保存) 液氮研磨后用 CTAB 法提取基因组 DNA。检测 DNA 浓度和质量 (浓度 ≥ 20 ng/ μ L, 体积 ≥ 30 μ L), 以确保 DNA 样品符合测序反应的要求。对 Illumina HiSeq 测序平台双端测序

下机原始数据预处理，平均测序深度为 12.31×，过滤得到高质量测序序列。将测序结果与辣椒参考基因组 Zunla-1 (<http://peppersequence.genomics.cn/page/species/index.jsp>, version 2.0) 进行比对，检测 SNPs，过滤获得高质量 SNP 进行后续分析。

1.3 全基因组关联分析

过滤（位点完整度 integrity > 0.5, 次要等位基因频率 MAF > 0.05）筛选得到高质量 SNP 标记，分别用 EMMAX、FaST-LMM 和 GEMMA 三款软件模型进行全基因组关联分析（GWAS）。以 -log10(P)>6 为显著性筛选阈值，筛选得到显著的 SNPs。将关联到的结果用 R 软件绘制曼哈顿图和 Q-Q 图进行展示。

1.4 候选基因挖掘

利用全基因组关联分析后得到的强关联 SNP 位点，基于强关联位点在基因组的物理位置计算包含此位点的 LD block 的区域，在此区域内基于辣椒参考基因组 Zunla-1 (<http://peppersequence.genomics.cn/page/species/index.jsp>, version 2.0) 注释信息，分析预测候选基因。

2 结果与分析

2.1 辣椒果色性状统计

2020 年和 2021 年分别对辣椒果色性状进行表型统计（表 1）。本研究测量了青果色（Immature fruit color, Ifc）和熟果色（Mature fruit color, Mfc）2 个性状。数据显示，辣椒果色性状在 2020 年和 2021 年表现完全一致，说明选择的性状遗传比较稳定，不易受环境因素影响，调查数据可靠。青果色（Ifc）为 3-绿的分布频率最高，达 89.74 %。熟果色（Mfc）为 2-鲜红的分布频率最高，达 60.51 %。

表 1 辣椒果色性状表型统计

Table 1 Phenotypic statistics of fruit color traits in pepper

序号 SN	性状 Trait	性状描述级别 Trait description level	年份 Year	样本数 Samples	分布频率 (%) Frequency distribution
1	Ifc	1-白	2020	8	4.10
			2021	8	4.10
		2-浅绿	2020	6	3.10
			2021	6	3.10
		3-绿	2020	175	89.74
			2021	175	89.74
		4-深绿	2020	3	1.53
			2021	3	1.53
		5-紫	2020	2	1.02
			2021	2	1.02
		6-紫黑	2020	1	0.51
			2021	1	0.51
2	Mfc	1-橘红	2020	6	3.08
			2021	6	3.08
		2-鲜红	2020	118	60.51
			2021	118	60.51
		3-深红	2020	62	31.79
			2021	62	31.79
		4-棕红	2020	6	3.08
			2021	6	3.08
		5-紫红	2020	1	0.51

6-黄	2021	1	0.51
	2020	2	1.03
	2021	2	1.03

2.2 全基因组关联分析

为提高分析的可靠性，利用 EMMAX、FaST-LMM 和 GEMMA 三款软件模型对 195 份辣椒材料的果色性状表现型进行全基因组关联分析（GWAS）。以 $-\log_{10}(P)>6$ 为显著性筛选阈值，利用三款软件分别对 2020 年和 2021 年检测到显著的 SNPs 位点进行统计（表 2）。统计结果发现，不同年份辣椒果色在同一软件模型分析下，关联到相同的 SNP 位点。同一年份辣椒材料在不同模型分析下关联到的 SNP 位点数不同，其中 EMMAX 模型关联到的 SNP 位点数最少，且关联到的所有 SNP 位点在另外两款软件模型中均有关联到，表明数据可靠。

表 2 辣椒果色显著关联 SNP 位点统计

Table 2 Statistics of SNP locus significantly associated with fruit color in pepper

序号 SN	性状 Trait	年份 Year	显著关联 SNP 数 Significant SNP number		
			EMMAX	FaST-LMM	GEMMA
1	Ifc	2020	6	15	19
		2021	6	15	19
2	Mfc	2020	2	3	3
		2021	2	3	3

利用 EMMAX、FaST-LMM 和 GEMMA 三款软件模型共同关联得到的辣椒果色性状显著关联 SNP 位点（表 3）。GWAS 分析后共筛选出 8 个与辣椒果色相关的 SNPs，其中青果色（Ifc）6 个、熟果色（Mfc）2 个。这些位点分布在 0、1、3、4 号等 4 条染色体上。

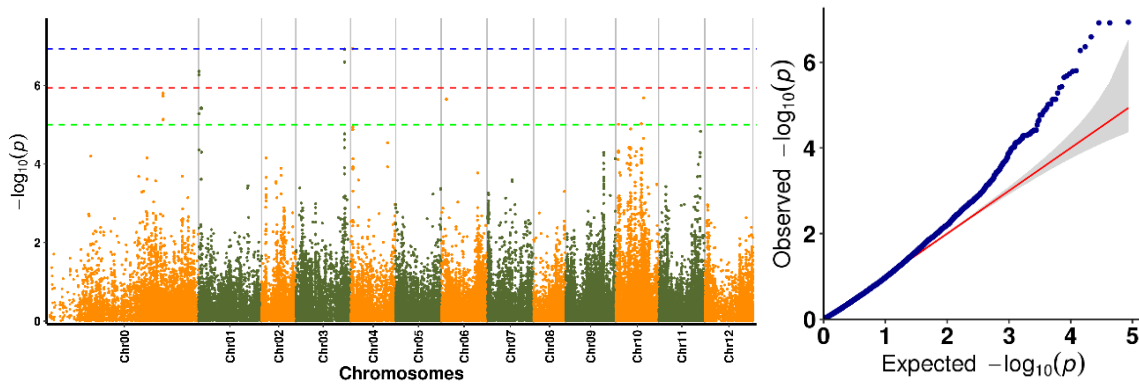
表 3 辣椒果色显著关联 SNP 位点

Table 3 SNP locus significantly associated with fruit color in pepper

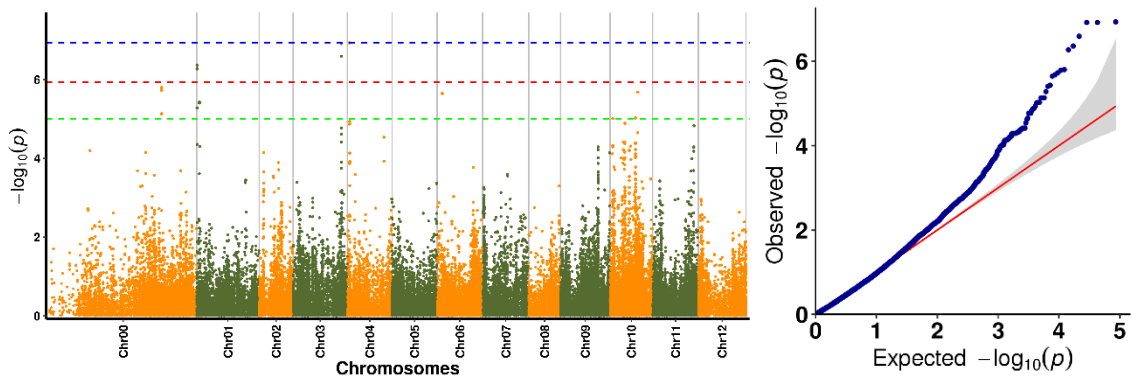
序号 SN	性状 Trait	SNP 数 SNP number	染色体 Chr.	位置 Position	P 值 P value	$-\log_{10}(P)$ 值 $-\log_{10}(P)$ value	年份 Year	
							2020	2021
1	Ifc	6	Chr01	2007364	5.3221e-07	6.27	✓	✓
			Chr01	2007559	4.3358e-07	6.36	✓	✓
			Chr04	9958667	1.1605e-07	6.94	✓	✓
			Chr03	232836190	2.5503e-07	6.59	✓	✓
			Chr03	233013134	1.1995e-07	6.92	✓	✓
			Chr03	233013160	1.1995e-07	6.92	✓	✓
2	Mfc	2	Chr00	243497132	4.6031e-07	6.34	✓	✓
			Chr00	243497365	4.7084e-07	6.33	✓	✓

利用 EMMAX 软件模型分析得到辣椒果色的 GWAS 正态化结果曼哈顿图和 Q-Q 图（图 1）。曼哈顿图显示了 GWAS 的优势位点，Q-Q 图展示信号与原假设之间的偏差。通过 Q-Q 图观察发现，观测值与期望值基本在一条斜线上，每个性状 Q-Q 图结果仅在尾部区域稍微偏离 P 值分布，表明 EMMAX 模型不存在群体分层现象（ λ 接近 1），SNP 关联分析的假设与统计分布没有偏离，模型适合该资源群体。曼哈顿图中以 $-\log_{10}(P)>6$ 为显著性筛选阈值。

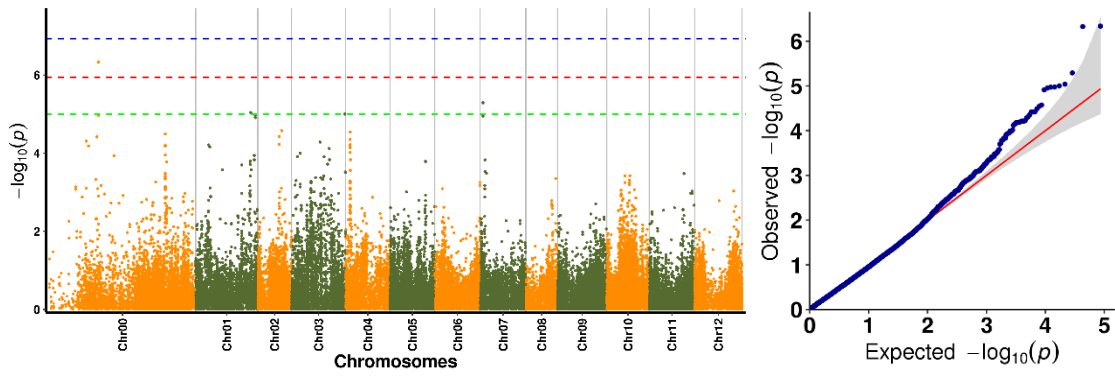
A



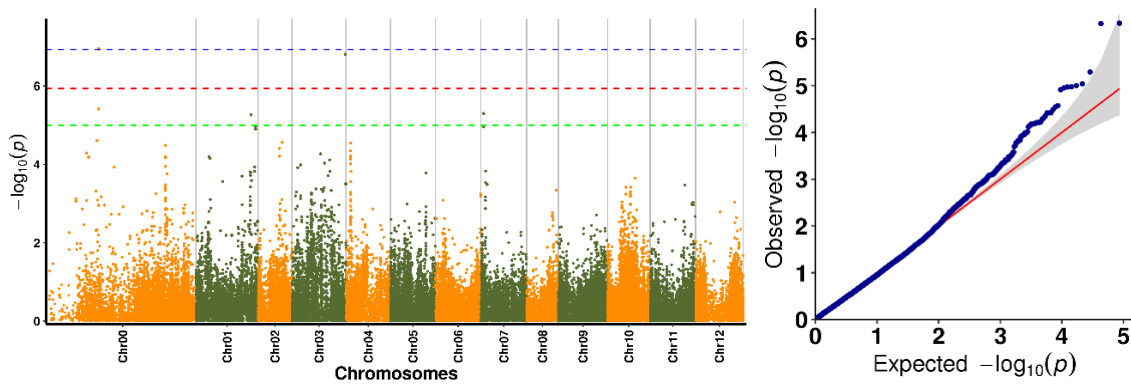
B



C



D



注：A. 2020 年青果色 (Ifc) ; B. 2021 年青果色 (Ifc) ; C. 2020 年熟果色 (Mfc) ; D. 2021 年熟果色 (Mfc)

曼哈顿图中，绿色线代表 $-\log_{10}(P)=5$ ；红色线代表 $-\log_{10}(P)=6$ ；紫色线代表 $-\log_{10}(P)=7$

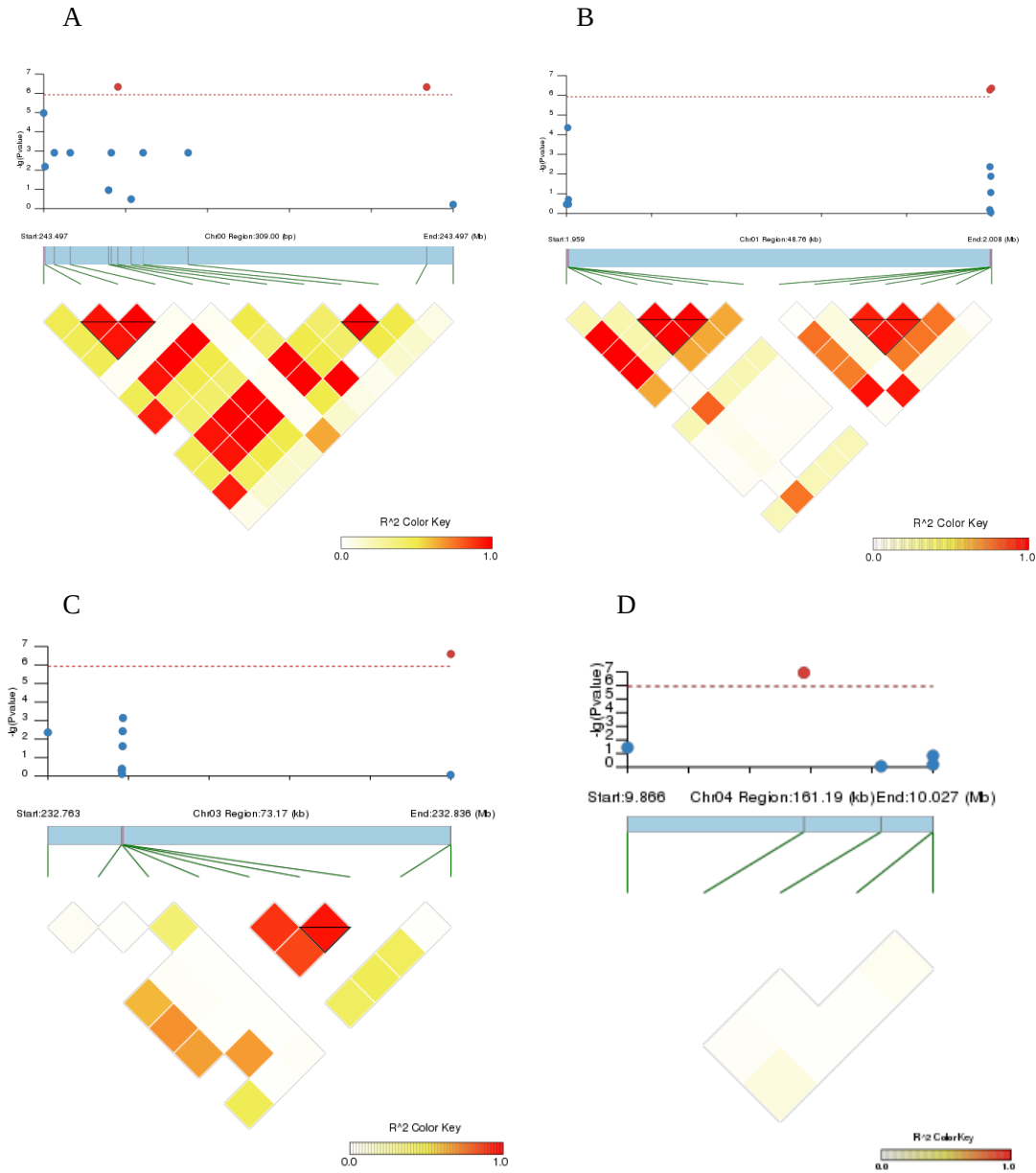
Note: A. Immature fruit color (Ifc) in 2020; B. Immature fruit color (Ifc) in 2021; C. Mature fruit color (Mfc) in 2020; D. Mature fruit color (Mfc) in 2021
In Manhattan plot, the green line represents $-\log_{10}(P)=5$; the red line represents $-\log_{10}(P)=6$; the purple line represents $-\log_{10}(P)=7$

图 1 辣椒果色性状的 GWAS 曼哈顿和 Q-Q 图

Fig. 1 GWAS Manhattan and Q-Q plot of fruit color traits in pepper

2.3 候选基因挖掘

为进一步确定辣椒果色相关候选基因，对关联得到的 8 个显著 SNP 位点进行 LD block 分析。取位点前后 100 kb 进行 LD block 绘图（图 2）。



注：A. 0 号染色体； B. 1 号染色体； C. 3 号染色体； D. 4 号染色体

Note: A. Chr00; B. Chr01; C. Chr03; D. Chr04

图 2 显著 SNP 位点 LD block 分析

Fig. 2 Significant SNP sites LD block analysis

对关联到的 SNPs 进行候选基因挖掘及功能注释（表 4）。本次关联分析共发现 31 个基因与辣椒果色性

状变化相关，其中青果色 30 个基因，熟果色 1 个基因。对其进行功能分类，其中能源生产和转换 2 个；细胞内运输、分泌和囊泡转运 1 个；翻译后修饰、蛋白质周转、伴侣 3 个；次级代谢物生物合成、运输和分解代谢 7 个；染色质结构和动力学 1 个；细胞周期控制、细胞分裂、染色体分割 1 个；翻译、核糖体结构和生物发生 1 个；碳水化合物运输和代谢 2 个；仅一般功能预测 5 个；未知 8 个。挖掘到呼吸爆发氧化酶同源蛋白 A（*Capana01g000138*）、类异黄酮 2'-羟化酶（*Capana04g000616*、*Capana04g000617*、*Capana04g000618*、*Capana04g000619*、*Capana04g000620*、*Capana04g000621* 和 *Capana04g000622*）和 F-box-like/WD 重复类蛋白 TBL1Y（*Capana04g000624*）可能与辣椒果色相关。

表 4 候选基因及注释信息

Table 4 Candidate genes and annotation information

序号 SN	性状 Trait	基因数 Gene number	基因 ID Gene ID	功能分类 Functional classification	功能注释 Function annotation
1	Ifc	30	<i>Capana01g000131</i>	能源生产和转换	预测:ADP、ATP 载体蛋白 3，类线粒体 [马铃薯]
			<i>Capana01g000132</i>	未知	预测:类 TPX2 蛋白异构体 X5 [番茄]
			<i>Capana01g000135</i>	未知	预测:类牙本质涎磷蛋白异构体 X1 [马铃薯]
			<i>Capana01g000136</i>	仅一般功能预测	预测:未表征蛋白 LOC104221795 [烟草]
			<i>Capana01g000137</i>	未知	预测:类 LURP-1 相关的 17 异构体 X2 [马铃薯]
			<i>Capana01g000138</i>	未知	呼吸爆发氧化酶同源蛋白 A [马铃薯]
			<i>Capana01g000139</i>	未知	预测:未表征蛋白 LOC102578735 [马铃薯]
			<i>Capana01g000140</i>	未知	预测:未表征蛋白 LOC104234439 [烟草]
			<i>Capana01g000141</i>	仅一般功能预测	预测:可能的类膜相关激酶调节因子 2 [马铃薯]
			<i>Capana01g000142</i>	仅一般功能预测	预测:未表征蛋白 LOC104100317 [茸毛烟草]
			<i>Capana01g000143</i>	仅一般功能预测	预测:未表征蛋白 LOC104100317 [茸毛烟草]
			<i>Capana01g000144</i>	细胞内运输、分泌和囊泡转运	预测:类网状蛋白 B4 [番茄]
			<i>Capana01g000145</i>	翻译后修饰、蛋白质周转、伴侣	预测:含 ATP 酶家族 AAA 结构域的一类蛋白 1-A [烟草]
			<i>Capana01g000146</i>	翻译后修饰、蛋白质周转、伴侣	预测:类烦躁蛋白 1 [马铃薯]
			<i>Capana04g000615</i>	未知	应激诱导蛋白 6 [辣椒]
			<i>Capana04g000616</i>	次级代谢物生物合成、运输和分解代谢	预测:类异黄酮 2'-羟化酶 [马铃薯]
			<i>Capana04g000617</i>	次级代谢物生物合成、运输和分解代谢	预测:类异黄酮 2'-羟化酶 [烟草]
			<i>Capana04g000618</i>	次级代谢物生物合成、运输和分解代谢	预测:类异黄酮 2'-羟化酶 [烟草]
			<i>Capana04g000619</i>	次级代谢物生物合成、运输和分解代谢	预测:类异黄酮 2'-羟化酶 [烟草]
			<i>Capana04g000620</i>	次级代谢物生物合成、运输和分解代谢	预测:类异黄酮 2'-羟化酶 [烟草]
			<i>Capana04g000621</i>	次级代谢物生物合成、运输和分解代谢	预测:类异黄酮 2'-羟化酶 [烟草]
			<i>Capana04g000622</i>	次级代谢物生物合成、运输和分解代谢	预测:类异黄酮 2'-羟化酶 [马铃薯]
			<i>Capana04g000623</i>	未知	预测:未表征蛋白 LOC104231847，部分 [烟草]
			<i>Capana04g000624</i>	染色质结构和动力学	预测:F-box/WD 重复类蛋白 TBL1Y [马铃薯]
			<i>Capana04g000625</i>	细胞周期控制、细胞分裂、染色体分割	预测:假定的细胞周期蛋白 A3-1 [番茄]
			<i>Capana03g003647</i>	翻译、核糖体结构和生物发生	预测:60S 核糖体蛋白 L18-2 [茸毛烟草]
			<i>Capana03g003648</i>	仅一般功能预测	预测:类双功能环氧化物水解酶 2 [马铃薯]
			<i>Capana03g003649</i>	翻译后修饰、蛋白质周转、伴侣	预测:环状 H2 类指蛋白 ATL2 [番茄]
			<i>Capana03g003650</i>	碳水化合物运输和代谢	预测:可能的果胶酯酶/果胶酯酶抑制剂 41 [茸毛烟草]
			<i>Capana03g003653</i>	碳水化合物运输和代谢	预测:类果胶酯酶 [茸毛烟草]
			<i>Capana00g000414</i>	能源生产和转换	ATP 合酶 CF1 亚基 (叶绿体) [辣椒]
2	Mfc	1	<i>Capana00g000414</i>	能源生产和转换	ATP 合酶 CF1 亚基 (叶绿体) [辣椒]

3 讨论

辣椒作为世界重要经济作物之一，具有丰富的遗传多样性。辣椒果色性状直接影响辣椒商品价值，不

同辣椒品种之间果色性状差异很大。本研究以 195 份一年生辣椒构成的自然群体为试验材料, 分别在 2020 年和 2021 年调查辣椒果色(青果色和熟果色)性状, 调查数据显示, 两年间辣椒果色性状表型完全一致, 性状遗传比较稳定, 遗传性丰富, 适合以自然群体为研究对象, 以遗传多样性丰富、目标性状变异明显的群体的关联分析。

本研究利用两年(2020 和 2021)数据, 采用 EMMAX、FaST-LMM 和 GEMMA 三款软件模型共同关联得到辣椒果色性状(青果色和熟果色)相关的 SNP 位点共 8 个, 说明这些位点可靠性较高。本研究青果色关联的显著 SNP 在 1、3、4 号染色体上, 熟果色关联的显著 SNP 在 0 号染色体上。2019 年 Wu 等研究发现, 分布在 6 号染色体上的 16 个 SNP (49 个基因)与辣椒成熟果实颜色(Mfc)相关, 其中 06_10060744、06_8776355 和 06_8769243 与 Mfc 相关性最高^[15]。2022 年 Wu 等对辣椒未成熟果实颜色进行了全基因组关联分析, 定位到 10 号染色体 35.07 kbp 区域的 *Capana10g001710* (*CaPP2C35*) 编码序列的第 313 个碱基发生 G-A 替换, 导致其编码的 PP2C35 蛋白的 α -螺旋转变为 β -折叠, 预测其可能通过调节果皮中叶绿素含量的积累而参与辣椒浅绿色未成熟果实的形成^[16]。赵红研究发现, 青熟果颜色关联的 SNP 在 0 号染色体上^[13]。本研究结果与赵红研究相吻合。

植物呼吸爆发氧化酶同源蛋白 (Respiratory burst oxidase homologue, Rboh) 又称 NADPH 氧化酶, 是一类以胞质中的 NADPH 为电子供体, 可以将氧催化生成 ROS 的多酶复合物^[17]。氧化剂 H_2O_2 的产生与质膜 NADPH 氧化酶(PMRS 的一个重要成分)有很大关系^[18]。苯丙氨酸解氨酶(Phenylalanineammonialyase, PAL)是植物合成花青素等次生代谢产物的关键酶类, H_2O_2 作为植物信号分子通过 PAL 活性启动调节花青素等次生代谢产物的合成^[19]。本研究预测呼吸爆发氧化酶同源蛋白 A (*Capana01g000138*) 可能通过产生信号分子 H_2O_2 调节花青素合成来影响辣椒青果色, 为控制辣椒青果色的关键基因。

异黄酮羟化酶是合成花青素的一类关键酶, 异黄酮 2'-羟化酶 (Isoflavone 2'-hydroxylase, I2' H), 又称异黄酮 2'-单加氧酶, 是细胞色素 P450 (CYP450) 家族成员之一, 可参与异黄酮衍生物合成^[20]。在辅因子的作用下, 异黄酮经 I2' H 的催化, 其 2'-C 部位被羟化产生 2-羟基异黄酮, 最终转化为黄酮类化合物参与植物花、果实、种子等颜色形成^[21]。本研究预测类异黄酮 2'-羟化酶 (*Capana04g000616*、*Capana04g000617*、*Capana04g000618*、*Capana04g000619*、*Capana04g000620*、*Capana04g000621* 和 *Capana04g000622*) 功能为次级代谢物生物合成、运输和分解代谢, 可能通过参与辣椒青果色类黄酮合成来影响果实颜色的形成, 初步推测为控制辣椒青果色的关键基因。

花色素苷是花青素糖基化衍生物的总称, 广泛存在于植物的根、茎、叶、花、果实等器官中, 是植物的重要性状, 可以赋予植物颜色^[22]。在花青素合成的途径中, 转录因子发挥着关键的调控作用, 其中, R2R3-MYB, bHLH 和 WD40, 3 种类型的转录因子可以通过形成 MBW 复合体, 共同与结构基因的启动子结合并诱导其表达, 从而控制花青素的合成^[23]。Ben-Simhon 等在石榴 (*Punica granatum*) 中研究发现, *PgWD40* 基因与 bHLH 转录因子 (*PgAn1*) 和 MYB 转录因子 (*PgAn2*) 相互作用, 共同调控下游结构基因 *DFR* 和无色花青素双加氧酶 (Leucoanthocyanidin dioxygenase, *LDOX*) 的表达^[24]。Jin 等研究表明, R2R3-MYB 型转录因子 *PavMYB10.1* 与 *PavbH-LH* 和 *PavWD40* 蛋白相互作用, 结合花青素生物合成基因 *PavANS* 和 *PavUFGT* 的启动子区域, 影响樱桃 (*Prunus pseudocerasus*) 成熟期果皮的颜色^[25]。研究表明, WD40 (WD--重复蛋

白)等通过调控结构基因的表达来影响花青苷的合成积累^[26]。本研究预测 F-box-like/WD 重复类蛋白 TBL1Y (*Capana04g000624*) 功能为染色质结构和动力学相关蛋白,可能通过调控结构基因的表达来影响花青苷的合成积累,进而影响辣椒青果色。

辣椒果色是辣椒育种中重要的农艺性状,今后可进一步对呼吸爆发氧化酶同源蛋白 A (*Capana01g000138*)、类异黄酮 2'-羟化酶 (*Capana04g000616*、*Capana04g000617*、*Capana04g000618*、*Capana04g000619*、*Capana04g000620*、*Capana04g000621* 和 *Capana04g000622*) 和 F-box-like/WD 重复类蛋白 TBL1Y (*Capana04g000624*) 进行功能验证,针对呼吸爆发氧化酶同源蛋白 A 可能通过产生信号分子 H₂O₂ 调节花青素合成来影响辣椒青果色,类异黄酮 2'-羟化酶可能参与辣椒青果色类黄酮合成过程及 F-box-like/WD 重复类蛋白 TBL1Y 可能作为染色质结构和动力学相关蛋白,通过调控结构基因的表达来影响花青苷的合成积累来影响果色形成等进行深入研究,从而解析辣椒青果色的调控机制。

4 结论

本研究共检测到 8 个与辣椒果色性状稳定关联的 SNP 标记,共注释到 31 个基因,预测呼吸爆发氧化酶同源蛋白 A (*Capana01g000138*)、类异黄酮 2'-羟化酶 (*Capana04g000616*、*Capana04g000617*、*Capana04g000618*、*Capana04g000619*、*Capana04g000620*、*Capana04g000621* 和 *Capana04g000622*) 和 F-box-like/WD 重复类蛋白 TBL1Y (*Capana04g000624*) 可能与辣椒果色相关,可为后续开展辣椒果色相关分子辅助育种提供参考依据。

参考文献:

- [1] 熊波. 江西辣椒品种应用现状及潜力品种推荐. 长江蔬菜, 2012 (23): 15-16.
Xiong B. Application status of pepper varieties in jiangxi and recommendation of potential pepper varieties. Journal of Changjiang Vegetables, 2012, (23): 15-16
- [2] 郭广君, 刁卫平, 刘金兵, 潘宝贵, 戈伟, 王述彬. 辣椒抗黄瓜花叶病毒病研究进展. 华北农学报, 2014, 29 (S1): 77-84
Guo G J, Diao W P, Liu J B, Pan B G, Ge W, Wang S B. Research process of resistance to cucumber mosaic virus in pepper. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2014, 29 (S1): 77-84
- [3] 宋钊, 夏碧波, 李颖, 张白鸽, 徐小万, 程蛟文, 曹健, 胡开林. 辣椒果色相关研究进展. 植物遗传资源学报, 2018, 19 (01): 21-28
Song Z, Xia B B, Li Y, Zhang B G, Xu X W, Cheng J W, Cao J, Hu K L. Advances on inheritance of fruit color in capsicum. Journal of Plant Genetic Resources, 2018, 19 (01): 21-28
- [4] Paran I, Knaap E. Genetic and molecular regulation of fruit and plant domestication traits in tomato and pepper. Journal of Experimental Botany, 2007, 58 (14): 3841-3852
- [5] Li Z, Wang S, Gui X L, Chang X B, Gong Z H. A further analysis of the relationship between yellow ripe-fruit color and the capsanthin-capsorubin synthase gene in pepper (*Capsicum* sp.) indicated a new mutant variant in *C. annuum* and a tandem repeat structure in promoter region. PLoS One, 2017, 8 (4): e61996
- [6] Barry C S, McQuinn R P, Chung M Y, Besuden A, Giovannoni J J. Amino acid substitutions in homologs of the STAY-GREEN protein are responsible for the green-flesh and chlorophyll retainer mutations of tomato and pepper. Plant Physiology, 2008, 147 (1): 179-187
- [7] Huh J H, Kang B C, Nahm S H, Kim S, Ha K S, Lee M H, Kim B D. A candidate gene approach identified phytoene synthase as the locus for mature fruit color in red pepper (*Capsicum* spp.). Theoretical and Applied Genetics, 2001, 102 (4): 524-530
- [8] Li Y M, Liang J, Zeng X Z, Guo H, Luo Y W, Kear P, Zhang S M, Zhu G T. Genome-wide analysis of MYB gene family in potato provides insights into tissue-specific regulation of anthocyanin biosynthesis. Horticultural Plant Journal, 2021, 7 (2): 129-141
- [9] 姜洪真, 马伯军, 钱前, 高振宇. 全基因组关联分析 (GWAS) 在作物农艺性状研究中的应用. 农业生物技术学报, 2018, 26 (07): 1244-1257
Jiang H Z, Ma B J, Qian Q, Gao Z Y. The application of genome-wide association study (GWAS) in crop agronomic traits. Journal of Agricultural Biotechnology, 2018, 26 (07): 1244-1257

- [10] Nimmakayala P, Abburi V L, Saminathan T, Alaparathi S B, Almeida A, Davenport B, Nadimi M, Davidson J, Tonapi K, Yadav L, Malkaram S, Vajja G, Hankins G, Harris R, Park M, Choi D, Stommel J, Reddy U K. Genome-wide diversity and association mapping for capsaicinoids and fruit weight in *Capsicum annuum* L. Scientific Reports, 2016, 6, 38081
- [11] Nimmakayala P, Abburi V L, Saminathan T, Almeida A, Davenport B, Davidson J, Reddy C V C M, Hankins G, Ebert A, Choi D, Stommel J, Reddy U K. Genome-wide divergence and linkage disequilibrium analyses for *Capsicum baccatum* revealed by genome-anchored single nucleotide polymorphisms. Frontiers in Plant Science, 2016, 7, 1646
- [12] Han K, Lee H Y, Ro N Y, Hur O S, Lee J H, Kwon J K, Kang B C. QTL mapping and GWAS reveal candidate genes controlling capsaicinoid content in *Capsicum*. Plant Biotechnology Journal, 2018, 16 (9): 1546-1558
- [13] 赵红. 我国辣椒核心种质评价及其主要园艺性状的全基因组关联分析. 中国农业科学院, 2018
Zhao H. Evaluation and genome-wide association study on the main agronomic traits of core collections of chinese pepper (*Capsicum* Spp.) germplasm. Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2018
- [14] Würschum T, Langer S M, Longin C F, Korzun V, Akhunov E, Ebmeyer E, Schachschneider R, Schacht J, Kazman E, Reif J C. Population structure, genetic diversity and linkage disequilibrium in elite winter wheat assessed with SNP and SSR markers. Theor Appl Genet, 2013, 126: 1477-1486
- [15] Wu L, Wang P, Wang Y, Cheng Q, Lu Q, Liu J, Li T, Ai Y, Yang W, Sun L, Shen H. Genome-wide correlation of 36 agronomic traits in the 287 pepper (*Capsicum*) accessions obtained from the SLAF-seq-based GWAS. International journal of molecular sciences, 2019, 20 (22): 5675
- [16] Wu L, Wang H, Liu S, Liu M, Liu J, Wang Y, Sun L, Yang W, Shen H. Mapping of *CaPP2C35* involved in the formation of light-green immature pepper (*Capsicum annuum* L.) fruits via GWAS and BSA. Theor Appl Genet, 2022, 135 (2): 591-604
- [17] Suzuki N, Miller G, Morales J, Shulaev V, Torres MA, Mittler R. Respiratory burst oxidases: the engines of ROS signaling. Current Opinion in Plant Biology, 2011, 14 (6): 691-699
- [18] Mittler R, Vanderauwera S, Gollery M, Van Breusegem F. Reactive oxygen gene network of plants. Trends in Plant Science, 2004, 9 (10): 490-498
- [19] 马廷蕊, 张金文, 梁慧光, 柳永强. 外源 NO 和 H₂O₂ 诱导不同颜色马铃薯花青素积累. 中国蔬菜, 2012, (16): 63-67
Ma R T, Zhang J W, Lang H G, Liu Y Q. Exogenous NO and H₂O₂ induced anthocyanin accumulation of different colors potatoes. China Vegetables, 2012 (16): 63-67
- [20] Akashi T, Aoki T, Ayabe S. CYP81E1, a cytochrome P450 cDNA of licorice (*Glycyrrhiza echinata* L.), encodes isoflavone 2'-hydroxylase. Biochemical and Biophysical Research Communications, 1998, 251 (1): 67-70
- [21] Winkel-shirley B. Biosynthesis of flavonoids and effects of stress. Current Opinion in Plant Biology, 2002, 5 (3): 218-223
- [22] 韩科厅, 胡可, 戴思兰. 观赏植物花色的分子设计. 分子植物育种, 2008, 6 (1): 16-24
Han K T, Hu K, Dai S L. Flower color breeding by molecular design in ornamentals. Molecular Plant Breeding, 2008, 6 (1): 16-24
- [23] Dubos C, Stracke R, Grotewold E, Weisshaar B, Martin C, Lepiniec L. MYB transcription factors in Arabidopsis. Trends in Plant Science, 2010, 15 (10): 573-581
- [24] Ben-Simhon Z, Judeinstein S, Nadler-Hassar T, Trainin T, Bar-Ya'akov I, Borochoy-Neori H, Holland D. A pomegranate (*Punica granatum* L) WD40-repeat gene is a functional homologue of Arabidopsis *TTG1* and is involved in the regulation of anthocyanin biosynthesis during pomegranate fruit development. Planta, 2011, 234 (5): 865-881
- [25] Jin W M, Wang H, Li M F, Wang J, Yang Y, Zhang X M, Yan G H, Zhang H, Liu J S, Zhang K C. The R2R3 MYB transcription factor *PavMYB10.1* involves in anthocyanin biosynthesis and determines fruit skin colour in sweet cherry (*Prunus avium* L.). Plant Biotechnology Journal, 2016, 14 (11): 2120-2133
- [26] 卢甜甜, 刘志远, 徐兆生, 张合龙, 李国亮, 折红兵, 钱伟. 菜豆花色全基因组关联分析. 园艺学报, 2022, 49 (2): 332-340
Lu T T, Liu Z Y, Xu Z S, Zhang H L, Li G L, She H B, Qian W. Genome-wide association studies for flower color in common bean. Acta Horticulturae Sinica, 2022, 49 (2): 332-340