

멜론 유전자원의 생육 평가와 과육색 유전형 분석

배익현^{1†}, 강한솔^{1†}, 정우진¹, 유재황¹, 이오흠², 정희^{3*}

¹농업회사법인 동오시드 주식회사, 석사연구원, ²학사연구원, ³박사연구원

Characterization of Phenotypic Traits and Application of Fruit Flesh Color Marker in Melon (*Cucumis melo* L.) Accessions

Ik Hyun Bae^{1†}, Han Sol Kang^{1†}, Woo Jin Jeong¹, Jae Hwang Ryu¹, Oh Hum Lee² and Hee Chung^{3*}

¹Master's Degree Researcher, ²Bachelor's Degree Researcher and ³Post-doc, Dongoh Seed Corporation R&D Center, Icheon 17405, Korea

Abstract - We aimed to generate basic breeding data for melon (*Cucumis melo* L.). A total of 219 melon accessions conserved at the National Agrobiodiversity Center (NAC) in Rural Development Administration (RDA) were used in this study, of which 72 (33%) were collected from India. The majority of accessions showed orange (42%) and white (36%) flesh color. In addition to phenotypic evaluations, the accessions were genotyped using a molecular marker for the carotenoid biosynthesis gene *CmOr*. DNA fragments of the expected size were amplified in 205 out of 219 accessions. Digestion of the PCR products with *HinfI* restriction endonuclease showed 100% concordance between phenotype and genotype in green-fleshed accessions, but 98%, 97%, and 80% concordance in orange-, white-, and creamy-fleshed accessions, respectively. Sequence analysis revealed single nucleotide changes in the three positions of *SNP1*, *SNP2* and *SNP1int* in the *CmOr* gene among accessions. These newly found alleles suggest that there are multiple mechanisms in determining fruit flesh color in melon. Also, the phenotype data of diverse accessions obtained in this study will be a valuable source for melon breeding.

Key words – Agronomic traits, Carotenoid, Genetic resources, Melon

서 언

멜론(*Cucumis melo* L.)은 풍부한 비타민과 섬유질을 제공하는 중요한 과일로 국내 재배 면적은 약 1,500 ha이며, 생산량은 약 39,800 톤이다(KOSIS, 2019). 소비 형태는 다양하여 국내에서는 녹색 과실을 가지는 얼스 타입이 선호되나 일본, 미국, 유럽의 경우는 오렌지색 과육을 갖는 캔탈롭 형태도 재배 및 소비되고 있다(Torres *et al.*, 2020).

멜론은 이배체 종으로(2n=24) 약 450Mb로 추정되는 유전체를 가지며(Arumuganathan and Earle, 1991), 유전체 및 전사체 정보가 공개되어 있으며(<https://cuccap.org>), 과실의 과육 발달에 관한 모델식물로 주목을 받고 있다(Garcia-Mas *et al.*,

2012). 멜론의 과육색은 카로티노이드와 엽록소 색소의 함량에 의해 결정되며, 크게 흰색, 녹색 그리고 오렌지색으로 구분된다. 이 중, 오렌지색은 카로티노이드 성분 중에서 베타 카로틴(β -carotene)에 의한 것으로 알려져 있다(Burger *et al.*, 2009).

식물의 성장과 더불어 사람에게도 중요한 영양성분으로 잘 알려진 카로티노이드는 광합성을 하는 모든 식물에서 생산되며 몇몇 박테리아와 곰팡이에서도 생합성되며, 식물의 경우는 과실의 향기 성분을 만드는 식물 호르몬인 ABA의 전구물질이기도 하다(Walter and Strack, 2011). 또한, 카로티노이드는 항산화 물질로 식물이 빛 또는 UV 등에 대한 환경스트레스에 견디도록 할뿐만 아니라(Niyogi, 1999) 암조건에서 발아하는 경우 황색체(etoplast)가 적절한 기능을 수행하는데 있어 카로티노이드의 생합성과 축적은 중요하다고 알려져 있다(Rodriguez-Concepcion, 2010). 멜론의 경우 생합성 관련 유전자가 유전체에 26개 존재한다고 보고되었다(Garcia-Mas *et al.*, 2012). 멜

*교신저자: E-mail hchung@dongoh.co.kr

Tel. +82-31-8010-8019

† These authors contributed equally to this work.

론의 과육색 결정에 대한 정확한 기작은 아직까지 알려져 있지 않으나 3개의 유전자가 중요한 역할을 한다고 알려져 있다. 한 가지는 녹색(green flesh)을 결정하는 *gf*(green flesh) 유전자와 흰색 과육(white flesh)를 결정하는 *wf*(white flesh) 유전자이다. 오렌지색 과육은 *gf* 유전자의 우성인 *Gf* 또는 *CmOr* 유전자에 의해 결정되며, *gf* 유전자를 가지는 경우는 멜론의 과육이 녹색 또는 흰색 과육의 표현형을 나타낸다고 하였다(Clayberg, 1992; Tzuri *et al.*, 2015). *CmOr* 유전자는 브로콜리 *BoOr*의 homolog 유전자로써 클로닝되었으며, 멜론 유전체의 9번 염색체에 위치하는 것으로 밝혀졌다(Tzuri *et al.*, 2015). *Or* 유전자는 DnaJ Cys-rich zinc finger를 갖고 있는 단백질로 식물 중간에 아미노산 염기서열이 매우 잘 보존되어져 있으며, 식물에만 특이적으로 존재하는 유전자로 알려졌다(Kim *et al.*, 2018). 멜론 외에도 애기장대(Yuan *et al.*, 2015; Zhou *et al.*, 2015), 고구마(Goo *et al.*, 2015; Kim *et al.*, 2013), 수수(Yuan *et al.*, 2015), 콜리플라워(Lu *et al.*, 2006) 등에서도 *Or* 유전자의 homolog가 존재한다고 보고되었으며, 그 기능은 식물 종에 따라 약간의 차이가 있다고 보고되었다. 애기장대(*Arabidopsis thaliana*; *AtOR*)에서는 카로티노이드 축적과 phytoene synthase (*PSY*) 유전자 조절 기능을 가지며(Yuan *et al.*, 2015; Zhou *et al.*, 2015), 수수(*Sorghum bicolor*; *SbOR*)와 애기장대 캘러스를 이용한 실험에서는 카로티노이드 축적(Yuan *et al.*, 2015), 고구마(*Ipomoea batatas* (L.) Lam; *IbOR*)에서는 뿌리 조직에서 카로티노이드 축적(Park *et al.*, 2015), 캘러스를 이용한 실험에서 카로티노이드 축적과 염류 스트레스 증가(Kim *et al.*, 2013), abiotic 스트레스에 대한 tolerance 증가(Goo *et al.*, 2015), 광합성 조절(Kang *et al.*, 2017), *PSY* 단백질 안정화(Park *et al.*, 2016) 등에 관한 기능이 보고되었다. 멜론의 경우는 베타카로틴의 축적과 스트레스 환경하에서 함량을 일정하게 유지하는 항상성에 관여하고 있으며(Kim *et al.*, 2018), 오렌지와 녹색 과육의 멜론을 대상으로 염기서열을 분석한 결과, 총 6개의 단일염기다형성(single nucleotide polymorphism; SNP)이 *CmOr* 유전자에 존재함이 보고되었다(Tzuri *et al.*, 2015). 이중 1개의 SNP가 G에서 A로 바뀌면 이에 해당하는 아미노산 서열이 arginine (Arg)에서 histidine (His)으로 바뀌고, 이 SNP는 멜론의 오렌지색과 녹색/흰색 과육색 결정을 하는 것으로 보고하였다. 이러한 결과는 Chayut *et al.* (2015)도 bulk segregant transcriptome 방법으로 이 유전자의 발현량을 조사한 결과 멜론 녹색과 오렌지색 과육 개체 사이에서 발현량의 차이가 없었다고 보고한 바 있다.

본 연구는 멜론 육종과 연구를 위한 기본적인 정보를 제공하기 위해 농업유전자원센터에서 수집한 자원들을 대상으로 생육 특성을 조사하였으며, 원예적으로 중요한 형질인 과육색을 예측하는 마커의 정확도를 평가하였다.

재료 및 방법

식물 재료 및 특성 조사

본 연구에 사용된 총 219개 멜론 유전자원은 농촌진흥청 국립 농업과학원 농업유전자원센터에서 수집 및 보관 중인 종자를 분양받았다(Table 1). 이 자원들은 경기도 이천에 위치한 동오 시드 R&D 센터의 비닐 하우스 시설에서 재배되었다. 2020년 4월 7일 파종하여, 자원당 8~12개씩 주간 간격은 40 cm, 열간 간격은 20 cm으로 5월 14일 정식하였다. 유전자원의 형질조사는 농업유전자원센터에서 제시한 기준에 따라 수행되었다. 조사 항목은 꽃의 성표현(sex expression; SE), 절간 길이(internode length; IL), 잎 크기(leaf size; LS), 잎 가장자리의 톱날모양(leaf teeth of the margin, LTM), 과형(fruit shape; FS), 과실 골 유무와 형태(Fruit cork formation and pattern; FCFP), 과 피색(fruit skin color; 과실골 유무 및 정도 (creasing of fruit surface; CFS), 과중(fruit weight; FW), 과장(fruit length; FL), 과폭(fruit width; FW), 태좌부위 넓이(placental width; PW), 과실당도(sugar content; SC), 과육색(fruit flesh color; FFC), 과일향 유무(fruit flavor; FF), 흰가루병 저항성(resistance to powdery mildew; RPM), 종피색(seed coat color; SCC), 백립중(one hundred seed weight; OHSW) 등을 포함한 총 19개에 대해 수행하였다(Supplementary data 2). 그리고, 흰가루병 저항성을 판단하기 위해 Edisto 47, Iran H, MR-1, PMR 5, PMR 6, PMR 45, PI 414723, PI124112, Top Mark 의 총 9개 계통(cultigen)을 동일한 하우스 내에 재배하였으며, 분리형질이 나타난 경우는 농업유전자원센터의 유전자원의 기초 특성 조사 기준에 따라 우점개체의 생육특성을 기록하였다.

통계분석

멜론 219개 자원의 형질을 이용한 주성분 분석 및 유의차 검정은 R 소프트웨어(<http://www.r-project.org>)에서 제공하는 *prcomp* 명령어를 이용하였으며, 각 자원에서 형질의 분리가 일어난 경우, 형질 값을 평균으로 대체하여 분석을 수행하였다.

Table 1. List of melon (*Cucumis melon* L.) accessions used in this study

Accession no.	Source ^z	Accession no.	Source	Accession no.	Source	Accession no.	Source
173184	RUS	K018969	IND	K189241	IND	K189644	AFG
190341	UZB	K018974	JPN	K189253	IND	K189652	AFG
190454	UZB	K037412	CHN	K189258	IND	K189665	AFG
199217	RUS	K051416	CHN	K189265	IND	K189672	AFG
805439	KAZ	K060638	Unknown	K189274	IND	K189693	AFG
805452	TKM	K126991	MMR	K189287	IND	K189702	AFG
805454	UZB	K133663	UZB	K189288	IND	K189704	AFG
805462	IRN	K138764	Unknown	K189291	IND	K189719	AFG
805480	UZB	K141247	IND	K189303	IND	K189722	IND
805483	KAZ	K145159	HUN	K189337	IND	K189750	CAN
805484	TKM	K145164	BGR	K189338	IND	K189760	CAN
805487	UZB	K145166	HUN	K189346	IND	K189761	CAN
805488	UZB	K145170	Unknown	K189348	IND	K189764	CAN
805491	UZB	K145172	HUN	K189353	IND	K189765	CAN
805496	UZB	K145173	HUN	K189364	IND	K189767	IRN
805499	UZB	K146753	BGR	K189368	IND	K189778	IRN
805501	TKM	K146812	BGR	K189375	IND	K189780	IRN
805502	UZB	K146932	BGR	K189376	IND	K189787	IRN
805505	UZB	K151072	UKR	K189377	IND	K189789	IRN
805511	Unknown	K151075	UKR	K189378	IND	K189792	IRN
805513	Unknown	K151093	UKR	K189379	IND	K189793	IRN
805516	Unknown	K152719	ECU	K189382	IND	K189795	IRN
805517	Unknown	K163682	KOR	K189384	IND	K189797	IRN
805520	Unknown	K174975	USA	K189396	IND	K189801	IRN
805522	Unknown	K175016	USA	K189410	IND	K189802	IRN
805523	Unknown	K189080	IND	K189442	IND	K189816	IND
805524	Unknown	K189096	IND	K189456	IND	K189818	PAK
805526	Unknown	K189097	IND	K189460	IND	K189820	USA
805528	TKM	K189109	FRA	K189462	IND	K189824	IND
805532	UZB	K189111	FRA	K189463	IND	K189830	IND
807688	UZB	K189112	FRA	K189471	IND	K189834	IND
808289	THA	K189117	CHN	K189488	USA	K189839	IND
903200	AFG	K189121	ALB	K189491	USA	K189840	IND
903211	UZB	K189122	ALB	K189492	CHN	K189841	IND
903225	UZB	K189123	ALB	K189498	IND	K189842	IND
906951	KOR	K189125	FRA	K189501	IND	K189843	IND
906954	Unknown	K189127	FRA	K189509	PAK	K189848	IND
906961	JPN	K189128	FRA	K189516	IND	K189849	IND

Table 1. Continued

Accession no.	Source ^z	Accession no.	Source	Accession no.	Source	Accession no.	Source
906963	Unknown	K189148	USA	K189519	IND	K189853	IND
906964	Unknown	K189163	ESP	K189520	IND	K189856	IND
906965	Unknown	K189166	ESP	K189535	IND	K189857	IND
906966	Unknown	K189173	ESP	K189541	IND	K189864	IND
906968	Unknown	K189175	ESP	K189546	IND	K189865	IND
906975	Unknown	K189179	ESP	K189547	IND	K189878	TUR
909847	Unknown	K189184	ESP	K189553	IND	K189886	IND
909849	Unknown	K189198	ESP	K189554	IND	K189900	TUR
K002891	RUS	K189199	ESP	K189560	IND	K189904	TUR
K003003	TJK	K189200	ESP	K189561	IND	K189912	TUR
K014686	UZB	K189205	ESP	K189564	IND	K189919	TUR
K014694	UZB	K189211	ESP	K189581	AFG	K189935	TUR
K014700	UZB	K189219	ESP	K189585	AFG	K189938	TUR
K014703	UZB	K189220	ESP	K189599	AFG	K189943	TUR
K014705	UZB	K189224	KAZ	K189600	AFG	K189949	TUR
K018966	IND	K189229	IND	K189603	AFG	K189951	TUR
K018968	IND	K189236	IND	K189612	AFG		

^zAFG, Afghanistan; ALB, Albania; BGR, Bulgaria; CAN, Canada; CHN, China; ECU, Ecuador; ESP, Spain; FRA, France; HUN, Hungary; IND, India; IRN, Iran; JPN, Japan; KAZ, Kazakhstan; KOR, South Korea; MMR, Myanmar; PAK, Pakistan; RUS, Russian Federation; THA, Thailand; TJK, Tajikistan; TKM, Turkmenistan; TUR, Turkey; UKR, Ukraine; USA, United States of America; UZB, Uzbekistan.

Genomic DNA 추출 및 마커 적용

멜론 유전자원의 잎을 채취한 다음 CTAB 방법(Doyle and Dyole, 1987)을 이용하여 gDNA를 추출하였으며, 추출된 gDNA는 0.8% agarose gel에 전기영동하여 확인한 후, 5 ng/μL로 희석하여 PCR 반응에 사용하였다. PCR 용액은 dNTP (each 10 mM) 0.5 μL, *Taq* (5 U/ μL) 0.1 μL, 10Xbuffer 2 μL, 각 프라이머(5 μM) 0.5 μL, gDNA 5 μL (5 ng/ μL), 멸균수 10.9 μL를 혼합하여 20 μL에 맞추었다. 유전자원에 적용한 프라이머는 OrF4 (5'-CTCCTTGGTTTTCTTCATG-3')와 OrR15 (5'-CAACAAAA CCCATCAAGTC-3')이다(Tzuri *et al.*, 2015). PCR 반응 조건은 95°C에서 5분간 pre-denaturation, 94°C에서 30초간 denaturation, 58°C에서 30초간 annealing하여 72°C에서 40초간 extension 과정을 35회 반복하고, 72°C에서 10분간 최종 extension을 수행하였다. 증폭된 PCR 산물은 5 μL를 1.5% agarose에서 전기영동하여 확인한 후, *Hinf*I 제한 효소(Enzy-nomics, Daejeon, Republic of Korea)를 처리하였다. 제한 효소

반응액은 각 PCR 산물에 9 μL에 전용 buffer 1 μL, *Hinf*I 0.05 U를 37°C에서 2시간 처리한 후, 2% agarose에서 전기영동하였다.

염기서열 분석

PCR 산물은 정제 후 ABI PRISM 3730XL Analyzer (96 capillary type, Thermo Fisher Scientific, Ma, USA)를 이용하여 염기서열을 분석한 후, National Center for Biotechnology Information (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>)의 Nucleotide Basic Local Alignment Search Tool (BLASTN)를 이용하여 확인하였다.

결 과

멜론 유전자원의 생육 특성 조사

본 연구에 사용한 멜론 총 219개 유전자원은 총 24개 국가에서 수집되었으며, 인도에서 수집된 유전자원이 72개로 가장 많

았으며, 그 다음으로는 우즈베키스탄 21개였다(Supplementary data 1). 형질 조사는 과실을 중심으로 수행하였으며, 중요한 형질 중 하나인 과형은 총 9개로 구분하여 조사하였다. 그 결과, 타원형(elliptical type)이 65개로 가장 많았으며, 도토리모양(acorn type)이 7개로 가장 적었으며, 가리비모양(scallop type)은 없었다. 과실 과피색은 총 4개로 구분하였으며, 노란색(yellow) 과피색의 유전자원이 148개(68%)로 대부분을 차지하였으며, 흰색(white)이 10개, 녹회색(green-gray)의 유전자원이 11개였다. 과실 무게는 매우 다양하여 15 g에서 2,000 g이 넘는 유전자원까지 존재하였다. 멜론의 가장 중요한 원예 형질인 당도의 경우, 13 brix 이상의 고당도 유전자원은 5개(807688, 906954, 906965, 906975, K189600) 존재하였으나 모두 과실 1주당 평균 1.5개로 증식이 매우 어려운 자원이었다. 흰가루병 발생 정도도 조사되었으나 완전히 저항성인 유전자원은 없었으며, 43개 유전자원이 중도 저항성을 보였다(Supplementary data 2).

멜론 유전자원의 PCA 분석

멜론 유전자원 219개의 19개 형질을 이용하여 주성분 분석을 수행한 결과를 Fig. 1 과 Table 2에 나타내었다. Fig. 1을 보면 아프리카니스탄(노란색), 이란(주황색), 터키(분홍색) 유전자원은 전체적으로 고르게 분포하였으며, 인도 유전자원(녹색)은 오른쪽 하단에 주로 분포하였다. 그리고, 스페인 유전자원(파란색)은 상단 좌우에 주로 분포하였으며, 우즈베키스탄 유전자원(빨강)은 오른쪽 상하단에 주로 분포하는 것으로 나타났다. 또한, 3.7로 설정된 중심원을 벗어나는 유전자원은 총 17개로 (805439, 805484, 805488, 906968, 906954, K138764, K151093, K189219, K189337, K189376, K189442, K189462, K189553, K189767, K189843, K189848, K189857)였다. 이 중에서, 인도가 8개로 가장 많았으며, 스페인, 이란, 우크라이나, 우즈베키스탄, 카자흐스탄, 투르크메니스탄 등의 유전자원이 각 1개씩 있었으며, 원산지를 알 수 없는 유전자원이 3개 포함되어 있었다. 또한, 주성분 분석을 통하여 얻어진 각 특성들에 대한 고유값(eigenvalue)은 제 1주성분(PC1)의 경우, 1,846으로 전체 분

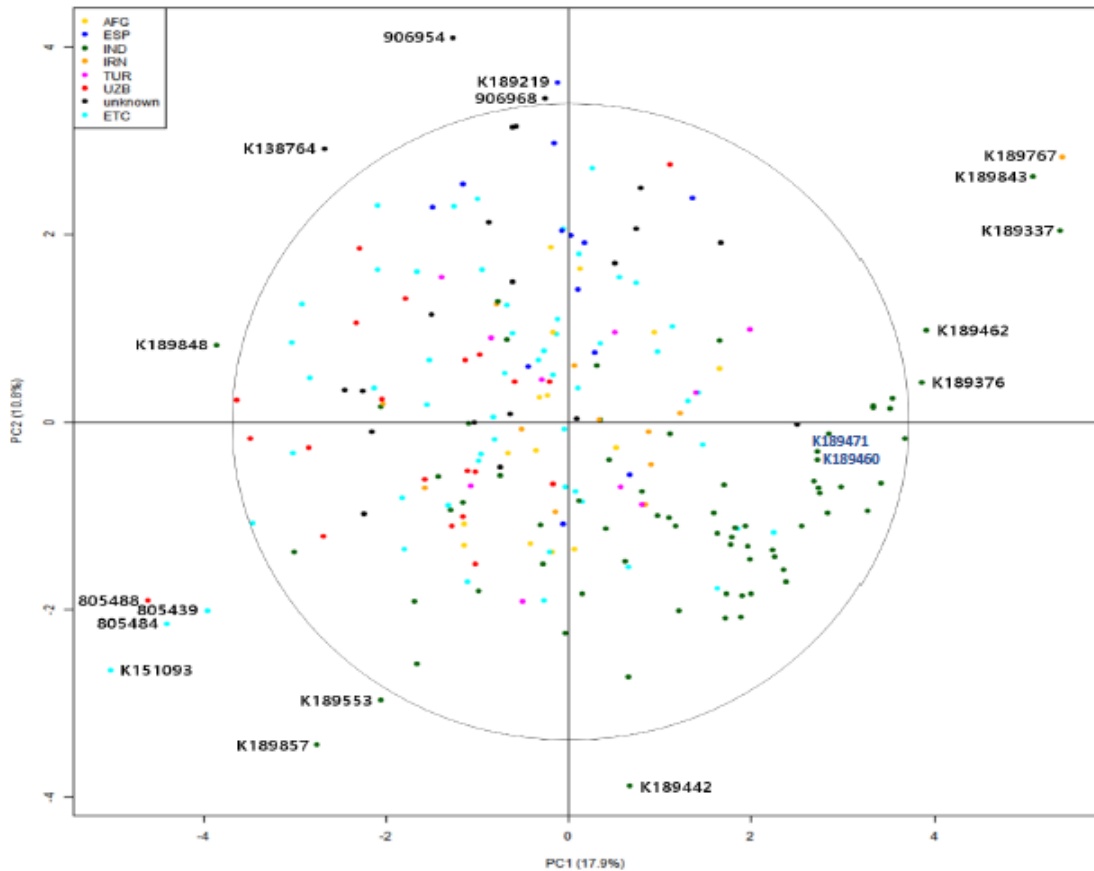


Fig. 1. Principal component analysis (PCA) of 19 morphological traits in 219 melon accessions.

Table 2. Principal component analysis (PCA) of various morphological traits in melon accessions

Principal Components ^z	PC1	PC2	PC3
Eigen value	1.846	1.434	1.288
Variance (%)	17.94	10.83	8.73
Cumulative (%)	17.94	28.77	37.5
SE	-0.340	0.292	-0.032
IL	-0.178	-0.077	-0.219
LS	-0.311	-0.137	-0.347
LTM	-0.087	0.374	0.051
FS	0.138	-0.318	-0.416
FCFP	-0.257	0.142	0.127
FSC	-0.124	0.318	-0.057
DFG	-0.046	-0.100	0.311
CFS	0.020	0.009	-0.345
FWg	-0.397	-0.233	-0.022
FL	-0.060	-0.124	0.084
FW	-0.419	-0.092	0.269
PW	-0.354	-0.295	0.215
SC	-0.051	0.444	0.153
FFC	0.050	-0.093	0.100
FF	0.020	-0.315	0.366
RPM	-0.046	-0.093	-0.162
SCC	-0.155	0.196	-0.213
OHSW	-0.389	-0.019	-0.235

^zSE, sex expression; IL, internode length; LS, leaf size; LTM, leaf teeth at the margin; FS, fruit shape; FCFP, fruit cork formation and pattern; FSC, fruit skin color; DFG, depth of fruit grooves; CFS, creasing at the fruit surface; FWg, fruit weight (g); FL, fruit length (cm); FW, fruit width (cm); PW, placenta width (cm); SC, sugar content (Brix); FFC, fruit flesh color; FF, fruit flavor; RPM, resistance to powdery mildew; SCC, seed coat color; OHSW, one-hundred seed weight (g).

산에 대하여 17.94%의 기여도가 있는 것으로 분석되었으며, 고유값이 1 이상인 제 2주성분(PC2), 제 3주성분(PC3)의 고유값은 각각 1.434와 1.288로 전체 분산에 대하여 각각 28.77%와 37.5%의 기여도를 나타내고 있다. 주성분 분석결과 고유값이 1 이상으로 전체 분산에 대하여 37.5%의 기여도를 나타낸 제 1주 성분부터 제 3주 성분까지의 특성간 상관관계를 분석한 결과, 제 1주 성분은 -0.419(과폭) ~ 0.138(과형)로 상관계수가 분포하였으며, 과폭, 성표현, 잎크기, 과중, 태좌부넓이, 백립중에서 -0.3 이하로 높은 음의 상관관계를 나타내고 있다. 제 2주 성분의 경우 -0.318(과형) ~ 0.444(당도)로 상관계수가 분포하고 있으며, 당도, 잎 가장자리 톱니모양, 과피색 등의 요인에 0.3 이상

으로 비교적 높게 편중되어 있다. 제 3주 성분에서는 -0.416(과형) ~ 0.366(과실 향기)로 상관계수가 분포하고 있으며, 과실향기에서 가장 높은 상관계수를 나타냈다(Fig. 1, Table 2).

과육색 구별 분자 표지 적용과 염기서열 분석

과육색은 멜론의 품종 육성에 매우 중요한 형질 중의 한가지로 이에 대한 표현형과 유전형을 각각 조사하고 그 상관관계를 비교하였다. 과육색은 총 5개의 표현형으로 나누었으며, 오랜 지색 87개, 백색 75개, 녹색 21개, 그리고, 카로티노이드가 미미하게 축적된 것으로 보이는 유백색 20개와 황색 2개 순이었다. 또한, 유전형을 조사하기 위해 과육색을 결정하는데 중요한 기

능을 한다고 보고된 *CmOr* 유전자를 증폭시키는 프라이머 OrF4와 OrR15를 적용하여 표현형과 유전형을 비교하였다. PCR 반응에 의해 총 219개 유전자원 중 205개에서 예상 사이즈인 478 bp를 확인하였다. 염기서열을 분석하고 BLASTN을 이용하여 상동성을 검색한 결과, 멜론 염색체 9번에 위치한 *CmOr* 유전자가 정확하게 증폭되었음을 확인하였고(Accession No. LN713263)(Fig. 2, supplementary data 3), 증폭된 PCR산물은 *HinfI*을 처리하여 유전적 다형성을 조사하였다. 이 효소는 *CmOr* 유전자의 SNP1 위치를 인식하여 *HinfI*을 처리하면 녹색과 흰색 과육에서는 478 bp, 오렌지 색의 경우는 139 bp와 339 bp로 나뉘어지는 것으로 보고되었다(Tzuri *et al.*, 2015). 흰색 과육 표현형을 가

지는 유전자원은 총 75개로 63개 유전자원에서는 예상대로 478 bp만이 관찰되었으며, 2개 유전자원(K126991, K189463)에서는 339 bp와 139 bp의 예상외의 밴드 패턴을 보였다(Fig. 3, Table 3). 그리고, 10개 유전자원에서는 3개 밴드 사이즈가 관찰되어 이것은 유전적으로 heterozygous하거나 불완전하게 digestion된 것으로 추측되었다. 녹색 과육의 경우는 총 21개 유전자원이 모두 478 bp의 1개 밴드만을 나타내었으며, 오렌지 과육색을 보이는 유전자원은 총 87개로 이중 63개 유전자원이 *HinfI*에 의해 339 bp와 139 bp만을 보였으며, 2개 유전자원(805488, K189912)에서는 478 bp만이 관찰되어 예상 외의 밴드 사이즈를 보였다(Fig. 4, Table 3). 그 외에 K189460와 K189471의 2개

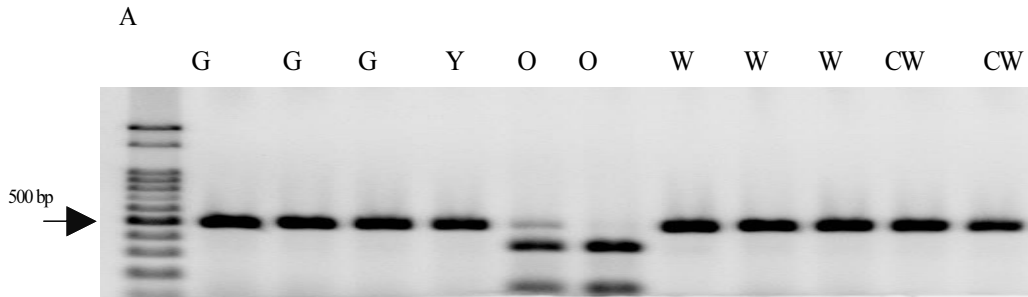


Fig. 2. Genotyping of *CmOr* in melon germplasm. Primers OrF4 and OrR15 amplified a 478 bp fragment from the *CmOr* gene. Digestion of the PCR products with *HinfI* produced 339bp and 139bp fragment in most of orange-fleshed accessions. G, O, CW, W, and Y indicate accessions with green-, orange-, creamy-white -, white-, and yellow-fleshed fruits, respectively.

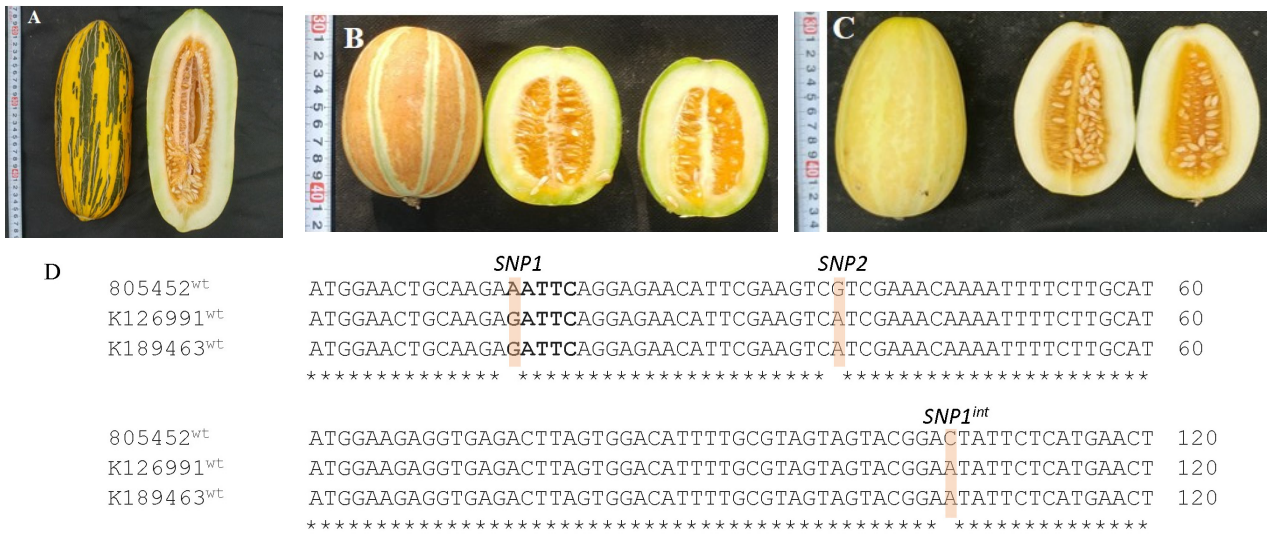


Fig. 3. Fruit morphology and *CmOr* sequence analysis of three melon accessions with white flesh color. Photographs of the fruits of melon accessions 805452 (A), K126991 (B), and K189463 (C). (D) Alignment of the partial *CmOr* CDS amplified using primers OrF4 and OrR15. *SNP1*, *SNP2*, and *SNP1^{int}* (Tzuri *et al.*, 2015) are indicated. ^{wt} means white. 5'-GATTC-3' *HinfI* restriction site was written in bold letter.

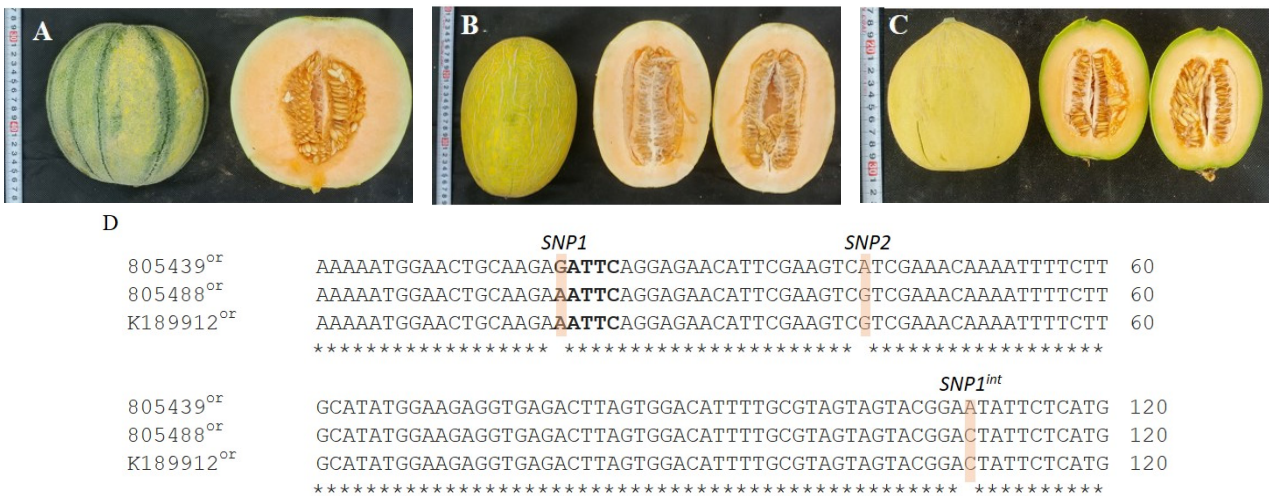


Fig. 4. Fruit morphology and *CmOr* sequence analysis of three melon accessions with orange flesh color. Photographs of the fruits of melon accessions 805439 (A), 805488 (B), and K189912 (C). (D) Alignment of the partial coding sequence (CDS) of the *CmOr* gene amplified using primers OrF4 and OrR15. Single nucleotide polymorphisms (SNPs), *SNP1*, *SNP2*, and *SNP1^{int}* (Tzuri *et al.*, 2015) are indicated. ^{or} means orange. 5'-GATTC-3' *Hin*II restriction site was written in bold letter.



Fig. 5. Fruit morphology and *CmOr* sequence analysis of five melon accessions with creamy-white flesh color. Photographs of the fruits of melon accessions K037412 (A), K189258 (B), K189265 (C), K189287 (D), and K189442 (E). (F) Alignment of the partial *CmOr* CDS amplified using primers OrF4 and OrR15. *SNP1*, *SNP2*, and *SNP1^{int}* (Tzuri *et al.*, 2015) are indicated. ^{cwt} means creamy-white. 5'-GATTC-3' *Hin*II restriction site was written in bold letter.

Table 3. Number of melon accessions and polymorphic band patterns with *HinfI* digestion amplified fragment by OrF4 and OrR15

Fruit Flesh Color(FFC)		No. of accessions			Total
White	2	63	10	0	75
Green	0	21	0	0	21
Orange	63	2	20	2	87
White-Cream	4	13	3	0	20
Yellow	0	2	0	0	2
Polymorphic bands size (bp)	339, 139	478	478, 339, 139	Total	205

유전자원에서는 밴드가 증폭되지 않았다. 또한, 20개 유전자원에서는 3개 밴드 사이즈가 나타났는데, 원인으로서는 흰색 과육색에서와 같이 유전적으로 heterozygous하거나 불완전하게 digestion 된 것으로 추측되었다. 유백색 표현형을 보이는 유전자원은 총 20개로 *HinfI* 처리 후, 13개 유전자원에서는 예상대로 478 bp가 보였으나 4개 유전자원(K189258, K189265, K189287, K189442)에서는 339 bp와 139 bp가 관찰되었다(Fig. 5, Table 3).

이들의 염기서열을 분석한 결과, 흰색 과육에서는 엑손2에 위치한 SNP1위치에서는 염기 서열이 'A'로 나타나 *HinfI*에 의한 digestion이 일어나지 않아 478 bp만 관찰되었으나 염기서열이 'G'로 나온 유전자원이 2개(K126991, K189463) 존재하여 이 경우는 139 bp와 339 bp의 2개 밴드가 관찰되었다. 그리고, 엑손 2에 위치한 SNP2에서는 'CGA' (arginine)인 것이 일반적이나 'CAT' (histidine)로 바뀐 것으로 나타났다. 또 다른 인트론 2에 위치한 SNP1^{int} 위치에서는 'C'가 'A'로 바뀌는 다형성을 나타내었다(Fig. 3). 오렌지색 과육의 경우 SNP1에서는 염기서열이 'G'로 *HinfI*에 처리에 의해 139 bp, 339 bp가 밴드가 나오는 것이 일반적이거나 digestion이 일어나지 않은 2개 유전자원(805488, K189912)에서는 염기서열이 'A'임을 알 수 있었다. 또한, SNP2에서도 'CAT'(histidine)가 아닌 'CGT'(arginine)의 염기서열을 가진 것으로 분석되었다(Fig. 4). 또한, 카로티노이드가 미미하게 축적된 것이라고 추정되는 유백색의 유전형질을 조사한 결과, 백색과 같은 유전형을 나타내었고, *HinfI* 처리에 의해 2개 밴드로 나뉘어지는 유전자원은 모두 4개(K189258, K189265, K189287, K189442)로 백색 과육의 경우와 동일하게 SNP2 위치에서 염기가 'G'에서 'A'로 되어 변화되어 있었다(Fig. 5).

고 찰

본 연구에 사용된 멜론 219개 유전자원은 24개국에서 수집되었다. 지역별로 보면 140개(64%) 유전자원이 아시아 지역에서 수집된 것이었으며, 아시아와 유럽에 걸쳐 있는 러시아와 터키에서 수집된 자원이 13개였으며, 유럽에서 수집된 자원은 33개였다. 유전자원이 아시아 지역에 편중된 것은 Lee *et al.* (2020)이 언급한 바와 같이 국가 기관이 유전자원을 보유한 나라가 아시아 원산 유전자원을 많이 갖고 있기 때문일 것이며, 아프리카 원산의 유전자원이 없는 것도 관련 전문 기관이 없기 때문일 것으로 추정된다.

본 연구에서는 멜론의 생육 특성 중 과실을 중심으로 조사하였으며, 당도가 13 brix 이상의 유전자원이 5개(2%) (807688, 906954, 906965, 909847, K189600)가 있었으나 과실이 열리는 개수가 식물체 1개당 1.5개에 불과하여 당도와 수량성이 높은 멜론 유전자원을 획득하는 것은 용이하지 않았다. 이러한 원인으로 명확히 알려진 바는 없으나 이 유전자원들에 대해서는 저당도 유전자원들과 함께 비교 재배 실험을 하는 경우 좋은 연구 재료가 될 것으로 추정된다. 또한, 다른 중요한 형질인 흰가루병 저항성에 대해서도 조사하였는데, 완전히 저항성인 유전자원은 없었으며, 중도저항성인 유전자원이 43개 있었다. 멜론의 흰가루병 저항성에 관한 연구는 매우 활발하여 흰가루병을 발생시키는 균(*Podosphaera xanthii*)은 race가 다양하여 국내에서는 1, N1, N2, A, S, 그리고 5가 있다고 보고된 바 있다(Kim *et al.*, 2016). 그리고, 각 race에 대한 저항성 유전자(좌)가 존재하는 것으로 알려져 있다(Howlader *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2013). 흰가루병 저항성과 감수성을 판단하는데 기준이 되는 총 9개 계통을 동일 하우스 내에서 재배하여 저항성을 관찰한 결과, 완전한 저항성을 나타내는 유전자원은 없었다. 이것은 2개 이상의 race가 복합적으로 존재하거나 심겨

진 저항성 계통으로는 판단할 수 없는 또 다른 race가 존재하기 때문인 것으로 추측되었다. 하지만, 14개 유전자원(K189520, K189547, K189797, K189802, K189820, K189842, K189853, K189856, K189857, K189864, K189865, K189900, K189912, K189919)은 다소 저항성을 나타내었으므로(supplementary data 2), race 별로 저항성 검정을 한다면 좋은 재료 연구 재료가 될 것으로 추측된다.

PCA 분석 결과에서 3.7로 설정된 원을 벗어나는 유전자원은 총 17개(805439, 805484, 805488, 906968, 906954, K138764, K151093, K189219, K189337, K189376, K189442, K189462, K189553, K189767, K189843, K189848, K189857)였으며, 인도가 8개로 가장 많았는데, 이것은 인도 원산의 멜론 유전자원이 본 연구에서 가장 많이 사용되었기 때문으로 추측되며, 외에, 스페인, 이란, 우크라이나, 우즈베키스탄, 카자흐스탄, 투르크메니스탄 등의 유전자원이 각 1개씩 있었으며, 원산지를 알 수 없는 유전자원이 3개 포함되어 있었다.

멜론의 과육색은 농업유전자원센터의 생육 특성 조사 기준에 따라 총 5개 오렌지색, 백색, 녹색, 유백색, 황색으로 나누어 표현형을 조사하였다. 국내는 녹색의 머스크타입 멜론이 주로 소비되나 유럽, 일본 등은 오렌지색 과육도 많이 소비되는 등 지역에 따라 선호하는 타입이 다양하여 과육색은 육종가들의 중요한 육종 목표 형질 중의 하나이다. 총 219개의 유전자원 중 205개의 유전자원에서 과육색 표현형과 유전형을 조사할 수 있었다. 표현형 별로 유전자원의 개수를 보면 오렌지색과 백색이 대부분을 차지하였으며, 녹색 과실은 21개에 불과하였는데, 이것은 녹색이 오렌지색에 대해 열성이기 때문이라고 추측되었다(Clayberg, 1992). 그리고, *CmOr* 마커를 적용한 결과 총 15개 유전자원에서는 명확한 밴드를 관찰할 수 없었는데, 이 중 13개(805480, K189117, K189121, K189179, K189211, K189501, K189704, K189778, K189792, K189802, K189824, K189856, K189878)에서는 매우 약한 밴드가 검출되었다. 그리고, 2개 유전자원(K189460, K189471)에서는 밴드가 검출되지 않았으며, PCA 분석 결과 이 두 개 유전자원은 매우 가까이 분포하는 것으로 나타났으며, 과육색은 모두 오렌지 색이었고 인도가 원산지였다(Fig. 1). 위 결과에 따라 이 두 가지 유전자원은 생육 특성이 매우 유사한 것으로 보였으며, 소수의 멜론 유전자원에서는 이 프라이머로 *CmOr* 유전자가 증폭되지 않는 그룹이 있을 것이라 추측되었다. 또한, 제한 효소 처리에 의해서 부분적으로 잘리지 않은 단편이 보이는 유전자원의 경우는 *CmOr* 유전자형이 heterozygous 한 상태이거나 digestion이 불완전하기 때문으

로 추정되었다. 과육색이 녹색인 유전자원 21개의 경우 표현형과 유전형이 모두 일치하여 Tzuri *et al.* (2015)이 보고한 바와 같이 *CmOr*은 녹색 과육 개체를 판별하는데 매우 유용하였다. 하지만, 오렌지색, 백색과 유백색 과육을 가지는 유전자원의 경우 완전히 일치하지 않았는데, 이것은 멜론의 과육색을 결정하는데 있어 아직 밝혀지지 않은 유전자(좌) 또는 유전형식이 있기 때문일 것으로 추측되었다.

동일한 박과 내에서 다양한 과육색을 가지는 작물로는 수박이 있다(Noh *et al.*, 2020). 수박의 과육색은 크게 흰색(white), 밝은 노란색(pale yellow), 진한 노란색(canary yellow), 오렌지색(orange), 분홍색(pink), 적색(red), 주홍색(scarlet) 등으로 구분하며, 이들 과육색의 결정에는 멜론과 동일하게 다양한 카로티노이드 성분과 유전자간 우열 관계, QTL 등이 관여한다고 보고되었다(Bang *et al.*, 2007, 2010; Liu *et al.*, 2015; Yuan *et al.*, 2021). 수박의 카로티노이드 성분은 neoxanthin, violaxanthin, xanthophyll, zeaxanthin 등으로 매우 다양하며, 이들의 함량과 비율에 따라 과육색이 결정된다고 하였다(Bang *et al.*, 2010; Henderson *et al.*, 1998; Liu *et al.*, 2012; Tadmor *et al.*, 2005). 과육색의 유전에 관한 연구도 활발히 이루어져 과육색을 결정하는 중요한 유전자(*C*)는 흰색(*W*)을 제외한 과육색에 대해 모두 우성임을 보고하였고(Henderson *et al.*, 1998), *py* 유전자는 수박 과육의 연한 노란색(pale yellow)을 결정하는 중요한 유전자라고 보고하였다(Bang *et al.*, 2010). 또한, 관련 유전자와 QTL에 대한 연구도 이루어져 Bang *et al.* (2007)은 수박 과육의 카로티노이드 합성에 관여하는 유전자인 lycopene β -cyclase (*LCYB*)를 이용한 CAPS 마커를 이용하여 적색(red)과 황색(canary yellow)를 구별하는 마커를 개발하였으며, Hashizume *et al.* (2003)은 적색 과육색에 관련된 2개의 QTL을 보고하였으며, Liu *et al.* (2015)은 염색체 4번에 적색 과육을 결정하는 중요한 QTL (*LCYB 4.1*)이 존재한다고 보고하였다. 또한, *CIPHT4;2*는 카로티노이드 축적에 관여함으로써 수박의 과육색을 조절한다고 보고하였다(Zhang *et al.*, 2016). Yuan *et al.* (2021)은 수박의 전사체 분석을 통해 오렌지색 과육 발현에 중요한 유전자인 *Cla018406*의 존재를 확인하였으며, 이 유전자도 *CmOr*과 동일한 DnaJ cysteine-rich domain을 가진 *chaperone* 유전자라고 보고하였다. 또한, *CmOr*과 homologous하다고 알려진 브로콜리의 *BoOr* 유전자는 카로티노이드 축적에서 가장 중요한 기능을 하는 phytoene synthase (*PSY*)의 번역 후 과정을 조절함으로써(posttranslational control) 카로티노이드 축적에 관여한다고 보고하였다(Lu *et al.*, 2006). 그리고

염기서열의 다형성을 분석한 결과 멜론과는 달리 염기서열의 결실(deletion)에 의해 기능이 좌우된다고 하였다(Welsch *et al.*, 2020). 파파야(*Carica papaya*)를 대상으로도 과육색에 관한 연구가 수행되어(Yan *et al.*, 2019) 적색 또는 노란색 과육을 결정하는 chromoplast-specific lycopene β -cyclase (*CpCYC-b*) 유전자가 lycopene을 베타카로틴으로 전환함으로써 과육색을 결정짓는 중요한 기능을 한다고 알려져 있다. 이 유전자의 경우는 2 bp 염기서열의 삽입이 일어나면 premature stop codon이 발생하여 베타카로틴이 축적되지 않는다고 하였다. 저자들은 이를 기반으로 만들어진 마커로 F₂ 집단을 대상으로 유전형을 조사하여 98% 표현형과 일치율을 보였는데, 100% 일치율이 아닌 이유로는 *CpCYC-b*가 염색체의 재조합이 매우 많이 일어나는 부분에 위치하기 때문이라고 하였다. 이와 같이, 과육색의 결정은 식물종에 따라 관여하는 유전자는 다양하고 여러 allele이 존재하여, 멜론의 경우도 이와 같이 다양한 기작으로 멜론의 과육색이 결정되는 것으로 추측된다.

멜론은 국내에서는 1년에 한번 또는 두 번만 재배되어 육종 기간이 오래 걸리는 작물종의 하나이다. 특히, 과육색은 과실이 열려 수확될 때까지 그 표현형을 알기가 어려워 새로운 유전자를 도입하여 품종 개발을 하는 경우 상당한 시간과 노동력이 소요된다. 그러나, 본 연구에서 사용된 과육색 연관 마커를 적용하는 경우 과육색을 미리 예측할 수 있어 노동력과 비용을 절감할 수 있을 것으로 생각된다. 또한 본 연구에서 얻어진 다양한 유전자원의 생육조사 결과는 육종가들이 멜론 육종 프로그램에 새로운 유전자원을 도입하는 경우 유용한 방법 또는 자료로 이용될 수 있을 것으로 기대된다.

적 요

멜론은 세계 각지에서 재배되는 경제적으로 중요한 작물종의 하나이다. 본 연구는 농업유전자원센터에서 수집 보관중인 멜론 유전자원을 대상으로 다양한 생육 특성을 특성을 조사하고, 멜론의 중요한 육종 형질중의 하나인 과육색의 유전형과 표현형을 조사하여 멜론 육종에 필요한 육종 재료 확보를 위한 기초 자료를 마련하고자 수행되었다. 총 219개의 멜론 유전자원을 대상으로 19개의 생육 특성과 PCA분석을 수행하고, 멜론의 중요한 육종 형질중의 하나인 과육색의 유전형을 조사하여 표현형과 비교하였다. 과육색은 오렌지색, 백색, 녹색, 유백색, 황색의 5가지로 분류하였으며, 이중 오렌지색이 87개로 가장 많았으며, 그 다음으로 백색이 75개였다. 그리고, 오렌지색과 녹색

과육 구별용 마커를 적용한 결과, 녹색 과육 21개의 경우는 표현형과 유전형 일치율이 100%였으며, 오렌지색의 경우는 98%, 백색은 97%, 유백색의 경우는 80%의 일치율을 보였다. 표현형과 유전형이 일치하는 않는 총 8개 유전자원의 염기서열을 분석한 결과, 3곳의 위치에서 단일염기다형성(SNP; single nucleotide polymorphism)이 있었다. 이러한 결과는 멜론의 과육색을 결정하는 아직 알려지지 않은 유전기작이 존재한다는 것을 제시하였으며, 본 연구에서 얻어진 다양한 유전자원의 생육조사 결과는 멜론 육종에 유용하게 쓰일 것으로 생각된다.

사 사

본 연구는 농촌진흥청 농업과학기술평가사업(과제 번호: PJ015067)의 지원에 의해 이루어졌음.

Conflicts of Interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Supplementary Information

Supplementary materials are available at The Plant Resources Society of Korea website (<http://www.kjpr.kr/>).

References

- Arumuganathan, K. and E.D. Earle. 1991. Nuclear DNA content of some important plant species. *Plant Mol. Biol. Rep.* 9:208-218.
- Bang, H.J., A.R. Davis, S. Kim, D.I. Leskovar and S.R. King. 2010. Flesh color inheritance and gene interactions among canary yellow, pale yellow, and red watermelon. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 135(4):362-368.
- Bang, H.J., S.G. Howlader, D. Leskovar and S. King. 2007. Development of a codominant CAPS marker for allelic selection between canary yellow and red watermelon based on SNP in lycopene b-cyclase (LCYB) gene. *Mol. Breeding* 20:63-72.
- Burger, Y., H. Paris, R. Cohen, N. Katzir, T. Tadmor, E. Lewinsohn and A.A. Schaffer. 2009. Genetic diversity of *Cucumis melo*. *Horticul. Rev.* 36:165-198.
- Chayut, N., H. Yuan, S. Ohali, A. Meir, Y. Yeselson, V. Portnoy,

- Y. Zheng, Z. Fei, E. Lewinsohn, N. Katzir, A. Schaffer, S. Gepstein, J. Burger, L. Li and Y. Tadmor. 2015. A bulk segregant transcriptome analysis reveals metabolic and cellular processes associated with *Orange* allelic variation and fruit β -carotene accumulation in melon fruit. *BMC Plant Biol.* 15:27.
- Clayberg, C. 1992. Interaction and linkage test of flesh color genes in *Cucumis melo* L. *Rep. Cucurbit Genet. Coop.* 15:53.
- Doyle, J.J. and J.L. Doyle. 1987. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12:13-15.
- Garcia-Mas, J., A. Benjak, W. Sanseverino, M. Bourgeois, G. Mir, V.M. González, E. Hénaff, F. Cámara, L. Cozzuto, E. Lowy, T. Alioto, S. Capella-Gutiérrez, J. Blanca, J. Cañizares, P. Ziarso, D. Gonzalez-Ibeas, L. Rodríguez-Moreno, M. Droege, L. Du, M. Alvarez-Tejado, B. Lorente-Galdos, M. Melé, Y. Yang, Y. Weng, A. Navarro, T. Marques-Bonet, M.A. Aranda, B. Nuez, Picó, B. Gabaldón, G. Roma, R. Guigó, J.M. Casacuberta, P. Arús and P. Puigdomènech. 2012. The genome of melon (*Cucumis melo* L.). Genome amplification in the absence of recent duplication in an old widely cultivated species. *PNASU.* 109(29):11872-118727.
- Goo, Y.M., E.H. Han, J.C. Jeong, S.S. Kwak, J. Yu, Y.H. Kim, M.J. Ahn and S.W. Lee. 2015. Overexpression of the sweet-potato *IbOr* gene results in the increased accumulation of carotenoid and confers tolerance to environmental stresses in transgenic potato. *C. R. Biol.* 338:12-20.
- Hashizume, T., I. Shimamoto and M. Hirai. 2003. Construction of a linkage map and QTL analysis of horticultural traits for watermelon [*Citrullus lanatus* (THUNB.) MATSUM & NAKAI] using RAPD, RFLP and ISSR markers. *Theor. Appl. Genet.* 106:779-785.
- Henderson, W.R., G.H. Scott and T.C. Wehner. 1998. Interaction of flesh color genes in watermelon. *J. Heredity* 89:50-53.
- Howlader, J., Y. Hong, S. Natarajan, K.R. Sumi, J.I. Park and I.S. Nou. 2020. Development of powdery mildew race 5-specific SNP markers in *Cucumis melo* L. using whole-genome resequencing. *Hortic. Environ. Biote.* 61:347-357.
- Kang, L., S. Park, C.Y. Ji, H.S. Kim, H. Lee and S. Kwak. 2017. Metabolic engineering of carotenoids in transgenic sweet-potato. *Breeding Sci.* 67:27-34.
- Kim, H.S., C.Y. Ji, C.J. Lee, S.E. Kim, S.C. Park and S.S. Kwak. 2018. *Orange*: A target gene for regulating carotenoid homeostasis and increasing plant tolerance to environmental stress in marginal lands. *J. Exp. Bot.* 69(14):3393-3400.
- Kim, H.T., J.I. Park and I.S. Nou. 2016. Identification of fungal races that cause powdery mildew in melon (*Cucumis melo* L.) and selection of resistant commercial melon cultivars against the identified races in Korea. *J. Plant Biotechnol.* 43:58-65 (in Korean).
- Kim, S.H., Y.H. Kim, Y.O. Ahn, M.J. Ahn, J.C. Jeong, H.S. Lee and S.S. Kwak. 2013. Downregulation of the lycopene ϵ -cyclase gene increases carotenoid synthesis via the β -branch-specific pathway and enhances salt-stress tolerance in sweet potato transgenic calli. *Physiol. Plant.* 147:432-442.
- KOSIS. 2019. Korean Statistical Information Service 2019. <http://kosis.kr/index/index.do>. Accessed 20 December 2020
- Lee, S., I. Jang, D.Y. Hyun, J.R. Lee, S.H. Kim, E. Yoo, S. Lee, G.T. Cho and K.J. Lee. 2020. Evaluation of morphological traits and genetic composition in melon germplasm. *Korean J. Crop Sci.* 65(4):485-495 (in Korean).
- Li, B., Y. Zhao, Q. Zhu, Z. Zhang, C. Fan, S. Amanullah, P. Gao and F. Luan. 2017. Mapping of powdery mildew resistance genes in melon (*Cucumis melo* L.) by bulked segregant analysis. *Sci. Hortic-Amsterdam* 220:160-167.
- Liu, C.H., H.Y. Zhang, Z.Y. Dai, X. Liu, Y. Lium, X.X. Deng, C. Feng and X. Juan. 2012. Volatile chemical and carotenoid profiles in watermelons [*Citrullus vulgaris* (Thunb.) Schrad (Cucurbitaceae)] with different flesh colors. *Food Sci. Biotechnol.* 21(2):531-541.
- Liu, S., P. Gao, X.Z. Wang, A.R. Davis, A.M. Baloch and F.S. Luan. 2015. Mapping of quantitative trait loci for lycopene content and fruit traits in *Citrullus lanatus*. *Euphytica* 202 (3):411-426.
- Lu, S., J. Van Eck, X. Zhou, A.B. Lopez, D.M. O'Halloran, K.M. Cosman, B.J. Conlin, D.J. Paolillo, D.F. Garvin, J. Vrebalov, L.V. Kochian, H. Küpper, E.D. Earle, J. Cao and L. Li. 2006. The cauliflower *Or* gene encodes a DnaJ cysteine-rich domain-containing protein that mediates high levels of beta-carotene accumulation. *Plant Cell* 18:3594-3605.
- Niyogi, K.K. 1999. Photoprotection revisited: Genetic and molecular approaches. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 50:333-359.
- Noh, J.J., O.S. Hur, N.Y. Ro, J.E. Lee, A.J. Hwang, B.S. Kim, J.H. Rhee, J.Y. Yi, J.H. Kim, H.W. Lee, J.S. Sung, M.K. Kim and A.D. Assefa. 2020. Lycopene content and fruit morphology of red, pink orange, and yellow fleshed watermelon (*Citrullus lanatus*) germplasm collections. *Korean J. Plant Res.* 33(6):624-637.
- Park, S., H.S. Kim, S. Park, H.S. Kim, Y.J. Jung, S.H. Kim, C.Y. Ji, Z. Wang, J.C. Jeong, H.S. Lee, S.Y. Lee and S.S.

- Kwak. 2016. Orange protein has a role in phytoene synthase stabilization in sweetpotato. *Sci. Rep.* 6(1):33563.
- Park, S.C., S.H. Kim, S.Y. Park, H.U. Lee, J.S. Lee, W.S. Park, M.J. Ahn, Y.H. Kim, J.C. Jeong, H.S. Lee and S.S. Kwak. 2015. Enhanced accumulation of carotenoids in sweetpotato plants overexpressing *IbOr-Ins* gene in purple-fleshed sweetpotato cultivar. *Plant physiol. Bioch.* 86:82-90.
- Rodriguez-Concepcion, M. 2010. Supply of precursors for carotenoid biosynthesis in plants. *Arch. Biochem. Biophys.* 504: 118-122.
- Tadmor, Y., S. King, A. Levi, A.R. Davis, A. Meir, B. Wasserman, J. Hirschberg and E. Lewinsohn. 2005. Comparative fruit coloration in watermelon and tomato. *Food Res. Int.* 38:837-841.
- Torres, A., P. Langenhoven and B.K. Behe. 2020. Characterizing the US melon market. *HortScience* 556:795-803.
- Tzuri, G., X. Zhou, N. Chayut, H. Yuan, V. Portnoy, A. Meir, U. Sa'ar, F. Baumkoler, M. Mazourek, E. Lewinsohn, Z. Fei, A.A. Schaffer, L. Li, J. Burger, N. Katzir and Y. Tadmor. 2015. A 'golden' SNP in *CmOr* governs the fruit flesh color of melon (*Cucumis melo*). *Plant J.* 82:267-279.
- Walter, M.H. and D. Strack. 2011. Carotenoids and their cleavage products: Biosynthesis and functions. *Nat. Prod. Rep.* 28:663-692.
- Welsch, R., X. Zhou, J. Koschmieder, T. Schlossarek, H. Yuan, T. Sun and L. Li. 2020. Characterization of cauliflower OR mutant variants. *Front Plant Sci.* 10:1716.
- Yan, H.S., F.Y. Yang, B.G. Lu, W.W. Zhao, T. Jiang, L. Feng, X.J. Chen and R. Ming. 2019. Exploring the differential mechanisms of carotenoid biosynthesis in the yellow peel and red flesh of papaya. *BMC Genomics* 20:49.
- Yuan, H., K. Owsiany, T.E. Sheeja, X. Zhou, C. Rodriguez, Y. Li, R. Welsch, N. Chayut, Y. Yang, T.W. Thannhauser, M.V. Parthasarathy, Q. Xu, X. Deng, Z. Fei, A. Schaffer, N. Katzir, J. Burger, Y. Tadmor and L. Li. 2015. A single amino acid substitution in an ORANGE protein promotes carotenoid over accumulation in Arabidopsis. *Plant Physiol.* 169:421-431.
- Yuan, P., M.J. Umer, N. He, S. Zhao, X. Lu, H. Zhu, C. Gong, W. Diao, Hailelassie Gebremeskel, Hanhui Kuang and Wenge Liu. 2021. Transcriptome regulation of carotenoids in five flesh-colored watermelons (*Citrullus lanatus*). *BMC Plant Biol.* 21:203.
- Zhang, C., Y. Ren, S. Guo, H. Zhang, G. Gong and Y. Xu. 2013. Application of comparative genomics in developing markers tightly linked to the *Pm-2F* gene for powdery mildew resistance in melon (*Cucumis melo* L.). *Euphytica* 190:157-168.
- Zhang, J., S. Guo, Y. Ren, H. Zhang, G. Gong, M. Zhou, G. Wang, M. Zong, H. He, J. Zhang, S. Guo, Y. Ren, H. Zhang, G. Gong, M. Zhou, G. Wang, M. Zong, H. He, F. Liu and Y. Xu. 2016. High-level expression of a novel chromoplast phosphate transporter CIPHT4;2 is required for flesh color development in watermelon. *New Phytol.* 213(3):1208-1221.
- Zhou, X., R. Welsch, Y. Yang, D. Álvarez, M. Riediger, H. Yuan, T. Fish, J. Liu, T.W. Thannhauser and L. Li. 2015. Arabidopsis OR proteins are the major posttranscriptional regulators of phytoene synthase in controlling carotenoid biosynthesis. *PNASU.* 112:3558-3563.

(Received 15 June 2021 ; Revised 29 September 2021 ; Accepted 29 September 2021)