

西葫芦果色基因研究进展

左鲜红, 张文婷, 夏迎春, 张洋, 司龙亭, 李文虎* (江苏绿港现代农业发展股份有限公司, 江苏宿迁 223800)

摘要 概述了西葫芦果色基因的国内外研究进展, 重点阐述了目前发现的 14 个西葫芦果色基因功能及相互间作用, 对西葫芦果色育种亲本的选择具有一定的指导意义, 为以后开展果色分子标记辅助育种提供参考。

关键词 西葫芦; 果色基因; 育种

中图分类号 S642.6 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2018)14-0016-03

Research Advances in Fruit Color Genes of *Cucurbita pepo*

ZUO Xian-hong, ZHANG Wen-ting, XIA Ying-chun et al (Jiangsu Greenport Modern Agricultural Development Company Limited, Suqian, Jiangsu 223800)

Abstract This paper reviewed the research process both at home and abroad made in studying fruit color genes of *Cucurbita pepo*, and laid emphasis on illustrating the function and interaction of 14 genes affecting fruit color, which would be valuable for selecting appropriate parents for fruit color breeding, and provided reference for molecular marker-assisted fruit color breeding in the future.

Key words *Cucurbita pepo*; Fruit color genes; Breeding

西葫芦 (*Cucurbita pepo* L.), 又名美洲南瓜, 为葫芦科 (Cucurbitaceae) 南瓜属 1 年生蔓性草本植物, 染色体数为 $2n = 2X = 40$ 。原产北美洲南部, 19 世纪中叶我国开始栽培, 目前世界各地均有分布, 其中欧洲、美洲最为普遍^[1]。

西葫芦因其种植简单、生长期短、较耐贮运、产量高, 尤其是越冬和早春栽培经济效益好, 在我国种植面积越来越大, 年增长率达 3.18%^[2]。但由于西葫芦遗传研究在我国起步晚, 基础弱, 缺乏深入系统的研究, 大部分遗传理论均为国外学者提出。

果实颜色作为西葫芦外观品质评价的一个重要性状, 已成为西葫芦新品种选育的首要因素。诸多学者围绕西葫芦果色进行了大量研究, 尤其是国外学者系统地研究了影响西葫芦果色的基因, 为西葫芦果色的改良选育奠定了基础。笔者综述了西葫芦果色基因的国内外研究进展, 旨在为今后开展果色分子标记辅助育种提供参考。

1 国外研究进展

早在 1922 年, 国外学者发现西葫芦浅色基因 W 和 Y^[3], 随后越来越多的学者开展了西葫芦果色基因的研究, 发现了许多基因影响西葫芦的果色, 且大部分西葫芦果实的颜色并不是一成不变的, 而是随着发育天数的增加而发生变化, 因此将西葫芦果实的发育分为 3 个阶段: 嫩果期 (花后 2~5 d)、中熟期 (花后 15~18 d)、老熟期 (花后 40~44 d)^[4]。截至目前, 共发现西葫芦果色基因 14 个^[5]。截至 2014 年, 共发现西葫芦瓜色基因 14 个^[4]。

B (Bicolor): 果实黄色色素提早形成。一个突变基因, 从子房分化开始, 子房即为黄色或有黄色斑块^[6-8]。随着果实坐住、发育和成熟, 这些提早出现的黄色子房或斑块部分仍为黄色或转变成橙色。B 不完全显性于 b (正常整个子房都为绿色)。当子房完全为黄色时, 邻近的花梗、萼片和花冠可

能也为黄色; 黄色的程度取决于 B 基因是纯合还是杂合, 以及不完全显性和加性修饰基因 Ep-1 和 Ep-2 的剂量, Ep-1 和 Ep-2 (*Extender of pigmentation - 1, 2*), 扩大黄色面积^[9]。B/b 加上 0~1 个显性 Ep 基因, 果实为双色, 即绿色和黄色果; 加 2~4 个显性 Ep 基因则扩大黄色面积; B/B 加上 0~1 个显性 Ep 基因, 果实全部为黄色; 加 2~4 个显性 Ep 基因则黄色面积扩大至花梗和萼片; 显性基因 B 与 L-2 基因互作, 表现为果肉强橙色^[10]。B 基因也在叶片上表达, 当隐性基因 ses-B (*selective suppression of gene B*, 选择性地抑制基因 B) 存在时, 叶片上表现出许多深黄色圆形斑点^[11]。

Ep-1、Ep-2 (*Extender of pigmentation - 1, -2*): 着色增强基因 -1、-2, 主要是修饰基因 B, 对 ep-1、ep-2 不完全显性, Ep-1 与 Ep-2 具有加性效应^[9]。

Ses-B (*Selective suppression of gene B*): 选择性地抑制基因 B, 抑制由 B 基因引起的叶片提早变黄, 对 ses-B 不完全显性^[11]。

D (*Dark stem*): 深色茎, 存在 3 个等位基因, 即 D 茎为深色, 中期阶段果实也为深色, D^S 茎为深色, 但果实颜色不受影响, d 茎为浅色, 果实颜色不受影响, 其显性程度依次为 D > D^S > d^[12-13]。基因 D 对嫩瓜无影响, 仅在瓜末端沿着 10 条心皮维管束颜色加深^[4]。D 基因对果实的影响在花后 7~10 d 很明显, 此时几乎整个果实表面颜色均加深; 花后 14 d, 果实变为深绿色; 随着果实的成熟, 颜色逐渐变为橙色, 当果实完全成熟时, 即花后 40 d 左右, 整个果实变为深橙色。

l-1、l-2 (*light fruit coloration - 1, -2*): 浅色果实基因 -1、-2, 2 个互补基因。当它们中任何 1 个或 2 个为隐性纯合时, 嫩瓜为浅色^[4]。当植株基因型为 d/d l-1/l-1 l-2/l-2 时, 果实为纯浅色^[14], 即嫩瓜为浅绿色, 中熟期变成白绿色, 老熟期为浅黄色。当植株基因型为 d/d L-1/-l-2/l-2 时, 果实为纯浅色, 或通常在中熟期变为明显的浅黄绿色, 即“type1”模式瓜色, 老熟期完全为黄色^[4, 14]。而 d/d l-1/l-1 L-2/-植株嫩瓜为浅绿色, 但不如 d/d l-2/l-2 瓜色浅, 而与 D/- 植株瓜色相似, 即在瓜末端颜色轻微加深,

作者简介 左鲜红 (1985—), 女, 山西孝义人, 中级农艺师, 硕士, 从事西葫芦育种研究。* 通讯作者, 讲师, 硕士, 从事蔬菜无土栽培和育种研究。

收稿日期 2018-01-31

且主要在 10 条主心皮维管束上或邻近处加深。到中后期,果色通常为浅蓝-灰-绿色,即“type2”模式瓜色,老熟时通常为黄橙色。当 l 基因中任何 1 个或 2 个均隐性纯合时, D 基因起上位作用,即瓜全部为深色,掩盖了浅色、type1 和 type2 模式瓜色。 $L-1/-L-2/-$ 植株果实整个发育期间均为深绿色^[3],与单个或 2 个 l 基因隐性纯合瓜色相比, $L-1/-L-2/-$ 果实直至老熟时仍保持黑绿色,而不会变成橙色或黄色。也存在许多偏离这 3 个基因和它们相互作用的模式^[3]。这是因为分离位点基因^[14-17]、 D 和 $l-1$ 基因的多等位基因造成的^[13,18]。 $l-1$ 等位基因 $l-1^{BS}$,果实上有宽的连续纵向深色条带^[19-20]; $l-1^{S}$ 表现为窄的、断的深色条带^[7,18,21-22]; $l-1^{IS}$ 则为不规则的深色条带^[23]。 $l-1$ 等位基因显性程度依次为 $L-1 > (l-1^{BS} > l-1^{S}) \geq l-1^{IS} > l-1$ 。通常,深色条带位于 10 条心皮维管束之间,维管束上和其邻近处为更浅的背景颜色。但当 $l-2^R$ 基因存在时,则出现相反情况,即 $l-1$ 条带等位基因表现为条带色,比背景色浅,或 $L-1$ 基因表现为瓜色为浅色^[24]。 $L-2$ 的另一个等位基因 $L-2^W$,当 $L-2^W/L-2^W$ 存在时, $l-1$ 显性等位基因的作用被推迟和削弱^[25]。 $l-2$ 等位基因显性程度依次为 $L-2 > L-2^W > l-2$ 。 $L-2$ 也与 B 基因互补,表现为果肉深橙色,而非浅黄色^[10]。

qi (*quiescent intense*): 静态加深。对 Qi (不加深) 为隐性,与 $L-2$ 互补,加深嫩瓜的颜色,而对中后期或老熟期果实颜色很少或几乎无影响,即嫩瓜为深色,但老瓜为橙色而非黑绿色^[19,26]。

$mo-1, mo-2$ (*mature orange -1, -2*): 成熟橙色。隐性互补基因,使果实老熟前绿色完全消失而成橙色。显性基因 $Mo-1, Mo-2$ 中的任一个单独存在,都可使老熟瓜色一直保留其绿色而不变橙。基因 D 与 $mo-2$ 连锁^[16]。

W (*Weak fruit coloration*): 果实弱着色,抑制外果皮绿色或橙色的积累而产生浅色。多等位基因, W^S : 果实和茎色都为浅色; w : 老熟果实为深色;其显性程度为 $W^S > W > w$,且 W^S 上位于 D 基因^[27-29]。与 Wf (*White flesh*) 基因互补,导致果实老熟时外果皮为白色或浅橙色^[15]。

Y (*Yellow fruit color*): 黄色果实。对 y (中后期果实为绿色) 为不完全显性。当 Y 基因纯合时,嫩果的颜色即为黄色,当果实老熟时仍为黄色或橙黄色;当 Y 杂合时,中后期的果实变为橙黄色^[7,22,27,30]。

pl (*plain light fruit color*): 纯浅色果实。果实在嫩果期为浅绿色,中后期变为白绿色,老熟时为浅黄色,即整个发育阶段都为浅色^[14]。

$I-mc$ (*Inhibitor of mature fruit color*): 抑制老熟期果色,包括条斑色,使老熟瓜色为白色,对 $i-mc$ 为显性^[31]。

影响果实黄色的基因有 $B, Ep-1, Ep-2, Ses-B, Y$, 其中 $Ep-1$ 和 $Ep-2$ 主要起修饰 B 基因的作用, $Ses-B$ 基因抑制由 B 基因引起的叶片变黄, Y 使中后期的果色为黄色; $W, I-mc, mo-1, mo-2$ 影响成熟期的果色,即 W 使成熟期果实弱着色,即瓜色为白色或浅橙色,有 2 个等位基因 W^S 和 w, I

$-mc$ 基因使成熟期果实绿色或条带色消失而成白色, $mo-1$ 和 $mo-2$ 同时存在时,成熟期果色为橙色; $l-1, l-2, pl$ 基因果实为浅色,影响果实整个发育阶段的颜色,其中 $l-1, l-2$ 有多个等位基因, pl 则使整个发育阶段果色均浅; qi 基因仅影响嫩瓜颜色,使其为深色,而对其余阶段瓜色无影响; D 基因影响中后期果色,也影响茎的颜色,存在 2 个等位基因 D^S 和 d 。

这些基因彼此间相互作用,即 B 与 $L-2$ 互补; $Ep-1, Ep-2$ 修饰基因 B ; 当 $l-1, l-2$ 中任一个为隐性纯合时, D 起上位作用; D 与 $mo-2$ 连锁; D 下位于 W^S ; $L-2$ 与 qi 互补。

综上所述,西葫芦果色除黄色外大体可分为 2 类: 深色和浅色。当嫩瓜为深色时,老瓜可能为橙色或一直保持深色;当嫩瓜为浅色时,果实颜色变化较大,主要受 $l-1, l-2$ 和 D 3 个基因的影响。然而,如何定义果实颜色的深浅,是利用这些基因遗传理论的关键所在。因此,必须严格使用相同的比色卡进行果色的定义,进而依据该基因遗传理论推测其果实所含基因。

2 国内研究进展

我国西葫芦主要食用其嫩瓜,因此对西葫芦瓜色的研究主要集中于嫩瓜瓜色方面,且主要通过表型性状进行研究。随着人们生活水平的提高,对西葫芦果色的要求也逐渐发生变化,从早期的深绿色麻点品种“早青一代”到浅绿色品种“冬玉”,再到目前翠绿色品种“京葫 36”。虽然各地的消费习惯不同,对西葫芦瓜色的要求也不同,但目前主要以翠绿色品种为主导皮色。

陈凤真^[32] 和李建友^[33] 研究表明,西葫芦果实颜色的遗传属于质量性状遗传,绿色对白色为显性;而 Globerson^[12] 研究表明,采用白色西葫芦和绿色西葫芦杂交时,分离后代的颜色除白色和绿色外,还有第 3 种颜色,认为在西葫芦皮色遗传中存在显性上位作用,因此出现第 3 种颜色^[12]。金丹^[34] 对黄皮西葫芦皮色遗传规律的研究发现,黄皮对绿皮、浅绿皮、白皮的遗传不是简单的单基因遗传, B 基因控制的黄色还受其他色基因的影响。笔者研究发现,有些浅绿色或绿色材料对深色为显性,而有些则相反;黄色对浅色或绿色为不完全显性,即瓜色为中间色;黄色对深色为显性或共显性(双色)(资料未公开)。

3 思考与展望

西葫芦果色不是简单的单基因遗传,而是由多个基因相互作用共同决定,且有些基因仅在果实的某个发育阶段起作用。因此,尽管西葫芦主要食用其嫩瓜,但对其瓜色的研究不应仅集中在嫩瓜瓜色上,而要根据各个发育阶段的果色变化综合推断其基因情况,进而预测其后代嫩瓜颜色。

此外,由于西葫芦的果色是由其底色和瓜面斑纹色共同决定,色彩间的对比容易引起人的视觉误差,且人与人之间对颜色深浅的定义存在一定差异,这些都易引起试验结果的不同。最关键的是,西葫芦果色是不断变化的,前后 2 d 的瓜色有可能存在明显差异。因此在进行瓜色比较时,要尽可能地使其他条件相同,且采用统一的色彩评价标准。

随着现代细胞和分子育种技术的发展,生物技术手段育种已成为另一条重要的育种途径,该项技术不仅能够缩短育种过程中选择及纯化的时间,而且对遗传育种具有重要的理论和实际意义。西葫芦细胞工程辅助育种主要是单倍体培养,然而,西葫芦快速诱导单倍体方面进展缓慢,诱导率低,即使在成功诱导的基础上也存在一些其他方面的问题,如如何将诱导率稳定、再生植株倍性鉴定方法的选择等,此项技术还有广阔的研究空间^[35]。分子辅助育种研究起步晚,且由于西葫芦染色体数多($2n = 2x = 40$),遗传比较复杂,目前可利用的遗传和基因组工具很有限。目前为止,西葫芦发现并鉴定的基因约70个,其中48个已明确其功能^[5];构建3张遗传图谱,共包含178个SSRs标记、244个AFLPs标记、230个RAPDs标记和3个形态学性状标记^[36-40];2017年,Montero-Pau等^[41]运用高通量测序的基因型分析法构建了一个Zucchini基于SNP(共7 718个)的饱和遗传图谱,并进行了瓜蔓、开花和果实相关性状的QTL分析,获得控制果皮颜色的4个主要QTL: *ILRCo_4*、*IbRCo_4*和*MLRCo_4*、*MbRCo_4*,但这些QTL的开发距离实际应用还很远,只有进一步缩小遗传距离准确定位到瓜色基因进而利用转基因技术验证其功能或开发与瓜色基因紧密连锁的分子标记才能在实际育种中利用。

目前,西葫芦果色育种仍采用常规的有性杂交育种方法,并辅以单倍体育种,而分子标记辅助育种技术则较落后,相关的标记技术研究薄弱。因此,今后要加强西葫芦分子标记的开发,尤其是一些重要农艺性状基因分子标记的开发,如品质性状(包括瓜色)基因和抗性基因的开发,对西葫芦新品系的选育具有重大的指导意义。我国学者要放弃传统对西葫芦作物的忽视,加强西葫芦的基础研究和系统理论研究,争取在分子标记方面有所突破,真正实现西葫芦果色育种分子标记辅助选择与常规育种有机结合。

参考文献

- [1] 蒋先明. 中国农业百科全书:蔬菜 卷分册 各种蔬菜[M]. 北京:农业出版社,1989:132.
- [2] FAO(2013)[DB/OL]. [2018-01-10]. <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E>.
- [3] SINNOTT E W, DURHAM G B. Inheritance in the summer squash[J]. J Hered, 1922, 13(4): 177-186.
- [4] PARIS H S, NERSON H. Genes for intense pigmentation of squash[J]. J Hered, 1986, 77: 403-409.
- [5] PARIS H S, PADLEY L D JR. Gene list for *Cucurbita* species, 2014[J]. Cucurbit Genet Coop Rep, 2014, 37: 1-13.
- [6] SCHAFFER A A, BOYER C D. The influence of gene B on fruit development in *Cucurbita pepo*[J]. J Amer Soc Hort Sci, 1984, 106: 432-437.
- [7] SHIFRIS O. Genetics and origin of the bicolor gourds[J]. J Hered, 1955, 46(5): 213-222.
- [8] SHIFRIS O. Origin, expression, and significance of gene B in *Cucurbita pepo* L. [J]. J Amer Soc Hort Sci, 1981, 106: 220-232.
- [9] SHIFRIS O, PARIS H S. Identification of modifier genes affecting the extent of precocious fruit pigmentation in *Cucurbita pepo* L. [J]. J Amer Soc Hort Sci, 1981, 106(5): 653-660.
- [10] PARIS H S. Complementary genes for orange fruit flesh color in *Cucurbita pepo*[J]. HortScience, 1988, 23: 601-603.
- [11] SHIFRIS O. Identification of a selective suppressor gene in *Cucurbita pepo* L. [J]. HortScience, 1982, 17(4): 637-638.
- [12] GLOBERSON D. The inheritance of white fruit and stem color in summer squash, *Cucurbita pepo* L. [J]. Euphytica, 1969, 18(2): 249-255.
- [13] PARIS H S. Multiple allelism at the *D* locus in squash[J]. J Hered, 1996, 87(5): 391-395.
- [14] PARIS H S. A recessive, hypostatic gene for plain light fruit coloration in *Cucurbita pepo*[J]. Euphytica, 1992, 60(1): 15-20.
- [15] PARIS H S. The dominant *Wf* (White flesh) allele is necessary for expression of "white" mature fruit color in *Cucurbita pepo*[C]//LESTER G E, DUNLAP J R. Proceedings Cucurbitaceae '94. Edinburgh: Gateway Printing and Office Supply, 1995: 219-220.
- [16] PARIS H S. Genes for developmental fruit coloration of acorn squash[J]. J Hered, 1997, 88(1): 52-56.
- [17] PARIS H S. List, description, and interactions of the genes affecting fruit color in *Cucurbita pepo*[J]. Cucurbit Genet Coop Rep, 1989, 12: 72-74.
- [18] PARIS H S, BURGER Y. Complementary genes for fruit striping in summer squash[J]. J Hered, 1989, 88: 52-56.
- [19] PARIS H S. Quiescent intense (*qi*): A gene that affects young but not mature fruit color intensity in *Cucurbita pepo*[J]. J Hered, 2000, 91(4): 333-339.
- [20] PARIS H S, HANAN A, BAUMKOLER F. Assortment of five gene loci in *Cucurbita pepo*[C]//LEBEDA A, PARIS H S. Proceedings of Cucurbitaceae. Olomouc: Palacky Univ, Czech Republic, 2004: 389-394.
- [21] PARIS H S. Segregation distortion in *Cucurbita pepo*[C]//KATZIR E N, PARIS K S. Proceedings of Cucurbitaceae 2000. [s. l.]: International Society Horticultural Science, 2000: 199-202.
- [22] SCARCHUK J. Fruit and leaf characters in summer squash the interrelationship of striped-fruit and mottled-leaf[J]. J Hered, 1954, 45(6): 295-297.
- [23] PARIS H S. Genetic control of irregular striping, a new phenotype in *Cucurbita pepo*[J]. Euphytica, 2003, 129(1): 119-126.
- [24] PARIS H S. Genes for "reverse" fruit striping in squash (*Cucurbita pepo*) [J]. J Hered, 2009, 100(3): 371-379.
- [25] PARIS H S. Multiple allelism at a major locus affecting fruit coloration in *Cucurbita pepo*[J]. Euphytica, 2002, 125(2): 149-153.
- [26] PARIS H S. No segregation distortion in interspecific crosses in *Cucurbita pepo*[J]. Cucurbit Genet Coop Rep, 2002, 25: 43-45.
- [27] SINNOTT E W, DURHAM G B. Inheritance in the summer squash[J]. J Hered, 1922, 13(4): 177-186.
- [28] PARIS H S, NERSON H, KARCHI Z, et al. Inheritance of light pigmentation in squash[J]. J Hered, 1985, 76(4): 305-306.
- [29] PARIS H S, HANAN A, BAUMKOLER F. Another gene affecting fruit and stem color in squash, *Cucurbita pepo*[J]. Euphytica, 2013, 191(1): 99-107.
- [30] SHIFRIS O. Developmental reversal of dominance in *Cucurbita pepo*[J]. Proc Amer Soc Hort Sci, 1947, 50: 330-346.
- [31] CLAYBERG C D. Reinterpretation of fruit color inheritance in *Cucurbita pepo* L. [J]. Cucurbit Genet Coop Rep, 1992, 15: 90-92.
- [32] 陈凤真. 西葫芦果实颜色遗传研究[J]. 北方园艺, 2013(19): 19-21.
- [33] 李建友. 西葫芦主要性状杂种优势表现及其形成机理的研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2004.
- [34] 金丹. 黄皮西葫芦果皮色遗传规律及生理生化研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2000.
- [35] 谢冰. 西葫芦的离体雌核发育及植株再生[D]. 泰安: 山东农业大学, 2005.
- [36] BROWN R N, MYERS J R. A genetic map of squash (*Cucurbita* sp.) with randomly amplified polymorphic DNA markers and morphological markers[J]. J Amer Soc Hort Sci, 2002, 127(4): 568-575.
- [37] ZRAIDI A, LELLEY T. Genetic map for pumpkin *Cucurbita pepo* using random amplified polymorphic DNA markers[C]//LEBEDA A, PARIS H S. Proceedings of Cucurbitaceae. Olomouc: Palacky Univ, Olomouc, Czech Republic, 2004: 507-514.
- [38] ZRAIDI A, STIFT G, PACHNER M, et al. A consensus map for *Cucurbita pepo*[J]. Mol Breed, 2007, 20(4): 375-388.
- [39] GONG L, STIFT G, KOFLER R, et al. Microsatellites for the genus *Cucurbita* and an SSR-based genetic linkage map of *Cucurbita pepo* L. [J]. Theor Appl Genet, 2008, 117(1): 37-48.
- [40] BLANCA J, CA NIZARES J, ROIG C, et al. Transcriptome characterization and high throughput SSRs and SNPs discovery in *Cucurbita pepo* (Cucurbitaceae)[J]. BMC Genomics, 2011, 12: 1-15.
- [41] MONTERO-PAU J, BLANCA J, ESTERAS C, et al. An SNP-based saturated genetic map and QTL analysis of fruit-related traits in Zucchini using Genotyping-by-sequencing[J]. BMC Genomics, 2017, 18: 1-21.