

西葫芦嫩瓜皮叶绿素合成代谢与其皮色形成的关联性研究

李可悦, 王丹丹, 刘江涛, 申琼, 盖少杰, 武峻新

(山西农业大学园艺学院, 太原 030031)

摘要: 为了挖掘优异西葫芦 (*Cucurbita pepo* L.) 种质资源, 提高外观品质优翠 (青) 绿色相关范围嫩瓜皮色西葫芦选择效率, 本研究利用色差仪对本单位创制的 54 份西葫芦自交系进行不同嫩瓜皮色分类, 并以 7 份 (重点 4 份) 代表性材料为研究对象, 对西葫芦嫩瓜皮叶绿素合成代谢及其皮色形成的关联性进行分析。结果表明, 叶绿素是决定偏白色、浅绿色、翠 (青) 绿色和深色 (绿和深绿色) 嫩瓜皮西葫芦材料的主要色素。其中, 叶绿素 a 含量占总含量的 49.20%~60.58%, 是决定嫩瓜皮色深浅的主要原因。颜色最鲜艳且更加偏绿色的翠 (青) 绿色嫩瓜皮材料, 色度值 (C) 显著大于其他皮色, 而叶绿素 a/b 和红绿值 (a^*) 分别显著大于和小于偏白色、浅绿色和深绿色皮色。深绿色、翠 (青) 绿色和偏白色嫩瓜皮叶绿素合成存在胆色素原→尿卟啉原 III 和粪卟啉原 III→原卟啉 IX 两个受阻点, 但后一转换阶段是导致偏白色和翠 (青) 绿色嫩瓜皮叶绿素合成受阻, 叶绿素含量骤降的主要原因。叶绿素合成减弱与叶绿素代谢中的叶绿素酶 (Chlase) 活性降解增强以及抗氧化酶中的超氧化物歧化酶 (SOD) 和过氧化氢酶 (CAT) 活性减弱之间成显著相关, 这也证明了嫩瓜皮偏白色的成因。SOD 和 CAT 活性与嫩瓜皮叶绿素含量显著相关, 延缓了翠 (青) 绿色和深绿色嫩瓜皮叶绿素降低速率。本研究结果为深入解析不同嫩瓜皮色, 特别是翠 (青) 绿色嫩瓜皮呈色机理及挖掘和利用相关优异特异资源材料提供了理论依据和技术支撑。

关键词: 西葫芦; 嫩瓜皮色; 翠 (青) 绿色; 叶绿素; 合成代谢

Study on the Correlation between Chlorophyll Synthesis Metabolism and Skin Color Formation in Skin of Tender Fruit of Zucchini (*Cucurbita pepo* L.)

LI Keyue, WANG Dandan, LIU Jiangtao, SHEN Qiong, GAI Shaojie, WU Junxin

(College of Horticulture, Shanxi Agricultural University, Taiyuan 030031)

Abstract: In order to explore the excellent germplasm resources of *Cucurbita pepo* L. and improve the selection efficiency of related to emerald (vivid) green appearance quality, this study classified the skin color of tender fruit using colorimeter in 54 self-bred lines of zucchini developed by our unit. Based on seven representative lines (including four key), the correlation between chlorophyll

收稿日期:

修回日期:

网络出版日期:

URL:

第一作者研究方向为园艺植物生物技术及遗传改良, E-mail: 798274389@qq.com

通信作者: 武峻新, 研究方向为南瓜属分子遗传育种, E-mail: wujunxin@126.com

基金项目: 山西农业大学生物育种工程 (YZGC118); 山西省现代农业产业技术体系建设专项 (2023CYJSTX08-02)

Foundation projects: Shanxi Agricultural University Bio-breeding Project (YZGC118); Earmarked Fund for Modern Agro-industry Technology Research System of Shanxi Province (2023CYJSTX08-02)

synthesis metabolism and its skin color formation was analyzed. The results showed that chlorophyll was the main pigment that determined the skin color such as partial white, light green, emerald (vivid) green, and deep colors (green and dark green). The chlorophyll a accounted for 49.20% to 60.58% of the total chlorophyll content, as the main determinant for the deep and light skin color. The emerald (vivid) green skin with the most vibrant and greenish color had significantly higher chromaticity value (C) than other skin color, while chlorophyll a/b and the red green value (a^*) were significantly higher and lower respectively than those of partial white, light green, and dark green. The synthesis of chlorophyll in lines with dark green, emerald (vivid) green, and partial white maintained two bottlenecks: PBG→Urogen III, and Coprogen III→Proto-IX. However, the latter transition stage was the main reason in the chlorophyll synthesis blocked, and sudden decrease of chlorophyll content of partial white and emerald (vivid) green. There was a significant correlation between chlorophyll synthesis weaken and chlase in chlorophyll metabolism enzyme activity enhance degradation, superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) activities weaken, those also the reason of partial white skin color. SOD and CAT activities in antioxidant enzymes were significantly correlated with the chlorophyll content of the skin of tender fruit, thereby delaying the rate of chlorophyll reduction in emerald (vivid) green and dark green. This study provided theoretical basis and technical support for in-depth analysis of different skin color of tender fruit especially the color formation mechanism of emerald (vivid) green, and for the exploration and utilization of relevant excellent and specific resource materials.

Keywords: zucchini(*Cucurbita pepo* L.); the skin color of tender fruit; emerald (Vivid) green; chlorophyll; synthesis metabolism

西葫芦 (*Cucurbita pepo* L.)，别名美洲南瓜， $2n = 2x = 40$ ，是南瓜属 (*Cucurbita*) 的三个主要栽培种之一，也是重要的瓜类蔬菜之一。自 20 世纪 90 年代以来，西葫芦在我国的栽种面积日益增大，在北方地区，其种植面积在瓜类蔬菜中仅次于黄瓜^[1]。其中以食用嫩瓜为目地的西葫芦生产已在山东省、山西省、陕西省、甘肃省、河南省、河北省、云南省等地形成了各具特色基地，产品可周年供应^[2-4]。

嫩瓜皮色是西葫芦果实重要外观品质之一。到 2014 年，对西葫芦瓜皮颜色产生影响的基因共有 14 个，其中涉及浅色、绿色基因有，代表浅色瓜-1 的 *l-1*、代表浅色瓜-2 的 *l-2*、代表静止增色的 *qi*、代表抑制熟瓜颜色因子的 *I-mc*、代表纯浅色果实的 *pl* 等^[5-8]。除此，在绿色、白色、黄色西葫芦中，参与类胡萝卜素生物合成途径的九个基因的转录调控作用在三种瓜色中有明显差异^[9]。在橙色、黄色和浅绿色西葫芦中，橙色和黄色的类胡萝卜素水平均显著高于浅绿色，而浅绿色的叶绿素含量最高^[10]。

各国与各地对西葫芦商品嫩瓜的外观品质有不同要求。在美国、欧洲等地，深绿色的品种受到市场欢迎；而我国，自 20 世纪 70 年代中期山西省农业科学院蔬菜研究所（现山西农业大学园艺学院）选育出第一个杂种一代“早青一代”以来（浅绿色嫩瓜），随着消费习惯变化，Zucchini 类型中的偏白和浅绿色嫩瓜品种逐渐失去市场，与以上通常嫩瓜颜色不同的翠（青）绿色相关范围嫩瓜品种受到市场欢迎。《南瓜种质资源描述规范和数据标准》一书参照英国皇家园艺学会标准比色卡（RHS），对南瓜属中三个主要栽培种的嫩瓜皮色进行 14 种分类，有浅绿、绿、深绿、墨绿等颜色^[11]。我们以其为参考，认为受市场欢迎的西葫芦嫩瓜皮色的 RHS 比色范围在 FAN3 中的绿色组和黄绿色组内，重点在绿色组中的 137D、138B、140A、140B 等颜色上。瓜类中色素含量与嫩瓜皮色间有直接关系，叶绿素含量是决定嫩瓜皮颜色的重要因素之一，而叶绿素代谢一直为研究的重点^[12-14]。翠（青）绿色相关范围西葫芦嫩瓜色影响了西葫芦商品价值和消费者的选择，也是重要的西葫芦育种目标。选择瓜皮色近绿色或翠绿色西葫芦父母本，可组配出翠绿色等市场需要组合，但目前对其研究极其有限^[15]。进一步针对翠（青）绿嫩瓜皮相关材料，分析影响其嫩瓜皮呈

色机理等相关研究目前尚无相关报道。

本研究以不同嫩瓜皮色的代表性材料为研究对象，重点针对西葫芦翠（青）绿嫩瓜皮相关材料进行嫩瓜皮呈色机理研究，明确其色差值和叶绿素主要色素的范围及作用，确定叶绿素合成途径受到影响的关键步骤，阐明叶绿素代谢中的叶绿素酶、植物脱镁螯合酶及抗氧化酶活性作用，助力翠（青）绿嫩瓜皮相关优异特异资源材料的挖掘和更好利用。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试材料为 54 份山西农业大学园艺学院（原山西省农业科学院蔬菜研究所）创制的具有相当代表性的西葫芦自交系，Zucchini 类型，为本单位所有(表 1)。

51 份自交系选育过程：分别以来源于美国、法国、荷兰、澳大利亚及我国河南省、山西省、山东省、甘肃省和广东省的 16 份西葫芦品种（一代杂种）经 5~7 代自交纯化定向选择获得的稳定优良自交系；另 3 份自交系来源：本单位 2 个育成品种（一代杂种）“早青一代”和“科越 105”的亲本。

表 1 供试材料信息

Table 1 Information of test materials

自交系名称	主蔓色	来源	自交系名称	主蔓色	来源	自交系名称	主蔓色	来源
Inbred lines	Main stem color	Source	Inbred lines	Main stem color	Source	Inbred lines	Main stem color	Source
AL-1	深绿	3065	20KH1	深绿	SQ249	Q-19	深绿	科瑞
AL-2	深绿	3065	20KH2	深绿	SQ249	Q-20	深绿	科瑞
AL-3	深绿	3065	20KH6	深绿	SQ249	Q-21	深绿	科瑞
AL-6	深绿	3065	20KH12	深绿	SQ249	Q-22	深绿	科瑞
AL-8	深绿	3065	20KH16	深绿	SQ249	Q-23	深绿	科瑞
AL-11	深绿	3065	20KH15	深绿	SQ249	Q-24	深绿	科瑞
AL-17	深绿	3065	20KH19	深绿	SQ249	11S-1	深绿	盛润 806
AL-43	深绿	3065	20KH21	浅绿	SQ249	11S-3	深绿	盛润 806
2QC-1	深绿	3065	CC11	深绿	KM-3	GQ-1	深绿	NR3
2QC-5	深绿	3065	102C-52	深绿	KM-2	GQ-2	深绿	NR3
2QC-6	深绿	3065	102C-78	深绿	KM-2	GQ-5	深绿	NR3
2QC-8	深绿	3065	20A-636	浅绿	寒绿 7042	XG-5	浅绿	超级帝王
2QC-13	深绿	3065	20A-642	深绿	寒绿 7042	XG-810	浅绿	超级帝王
2QC-32	深绿	3065	89D-2	深绿	冬玉	21X1	深绿	青选
A-40	深绿	3065	YDC-1	深绿	冬玉	11B-99	深绿	珍玉 369
A-41	深绿	3065	YDC-2	深绿	冬玉	CX-80	浅绿	科越 105 母本
123H-6	深绿	珍玉 35	166B1	浅绿	碧玉	小白皮	浅绿	早青一代父本
QY-8	浅绿	美国四号	QS-6	深绿	S16	Xiaobaipi		本
						阿尔及利亚	深绿	早青一代母本
						Aerjiliya		本

54 份材料种植：山西农业大学东阳试验基地秋延迟大棚，50 孔穴盘育苗，每份定植 5 株，常规栽培管

理，取样时间在 10 月上中旬。

7 份（4 份重点）代表性材料种植：同上春大棚，50 孔穴盘育苗，随机区组排列定植，三次重复，常规栽培管理，取样时间在 6 月初至中旬。

1.2 试验方法

1.2.1 色差仪测量嫩瓜皮色

每份材料随机取 3 个授粉后不同发育时期的正常大小西葫芦嫩瓜，于每日下午 3:30~4:30，采用柯尼卡美能达 CR-10Plus 色差仪在每个瓜向光面距顶花 1/3 颜色均一处，将皮外面紧贴测试孔处，完全覆盖测试孔，测量 L^* 、 a^* 、 b^* 值。重复三次，取平均值。利用公式计算出色度值 (C)、色调角 (H)。

L^* —明度值； a^* —红绿值，正值表示偏红，负值表示偏绿； b^* —黄蓝值，正值表示偏黄，负值表示偏蓝；色度值 Chroma value (C) 与 a^* 、 b^* 值关系为 $C^2=a^{*2}+b^{*2}$ ；色调角 Hue angle (H)，用角度来表示不同的颜色，当 $a>0$ ， $b>0$ 时， $H=\text{Degrees}[\arctan(b^*/a^*)]$ ；当 $a<0$ ， $b>0$ 时， $H=180^\circ+\text{Degrees}[\arctan(b^*/a^*)]$ [16]。

1.2.2 主要色素含量测定

参照并改进申琼等 [15] 方法，用刮皮刀削厚 0.2 cm 左右表皮，称取 0.1 g，剪碎，放入 5 mL 离心管中，加入 95% 乙醇定容至 5 mL，混匀后，遮光条件下浸提 24 h。吸取 0.2 mL 上层浸提液于 96 孔板中，以 95% 乙醇为空白对照，用酶标仪检测 665、649、470 nm 3 个波长的吸光度，重复三次。

1.2.3 叶绿素合成前体物质的测定

按照植物 5-氨基酮戊酸 (ALA)、植物胆色素原 (PBG)、植物尿卟啉原 III (Urogen III)、植物粪卟啉 (Coprogen III) 酶联免疫分析试剂盒 (安迪基因生物科技有限公司) 产品说明书测定。用酶标仪在 450 nm 波长下测定吸光度 (OD 值)，通过标准曲线计算各指标浓度，单位为 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

原卟啉 IX (Proto IX)、镁原卟啉 IX (Mg-Proto IX) 和原叶绿酸酯 (Pchlide) 测量方法参考 Hodgins 等 [17]。称取 0.3 g 样品液氮研磨，加入 80% 碱性丙酮定量至 10 mL，在 $10000\times\text{g}$ 、4 °C 下离心 15 min，取上清液，分别在波长 575 nm、590 nm 和 628 nm 处测得吸光值，按公式计算含量，单位 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

1.2.4 叶绿素降解途径关键酶测定

按照植物叶绿素酶 (chlorophyllase)、植物脱镁螯合酶 (MDCase) 酶联免疫分析试剂盒 (安迪基因生物科技有限公司) 产品说明书测定，用酶标仪在 450 nm 波长下测定吸光度 (OD 值)，通过标准曲线计算样品中各指标活性浓度，酶活性单位为 $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

1.2.5 叶绿素代谢特性指标测定

按照超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化物酶 (POD)、过氧化氢酶 (CAT) 活性检测试剂盒 (比色法) (上海生工生物工程股份有限公司) 产品说明书测定，酶活性单位为 $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

1.3 数据分析

采用 Microsoft Excel 2010 和 SPSS 22.0 对数据进行整理和分析, Origin 2018 做图。

2 结果与分析

2.1 不同嫩瓜皮色材料鉴定和分类

为了快速便捷地筛选出不同嫩瓜皮色的代表性材料, 综合秋延迟大棚西葫芦生长条件, 在西葫芦授粉后 8 d, 利用色差仪对 54 份材料嫩瓜皮进行 L^* 、 a^* 、 b^* 值测定, 并计算 C 值、 H 值。本研究明确了不同色系的 L^* 、 a^* 、 b^* 、 C 、 H 值变化范围和变化趋势。54 份材料嫩瓜皮色被聚类为 4 个色系, 偏白色系、浅绿色系、翠(青)绿色系和深色系, 深色系又细分为绿色和深绿色。其不同嫩瓜皮色系的色差值见图 1。

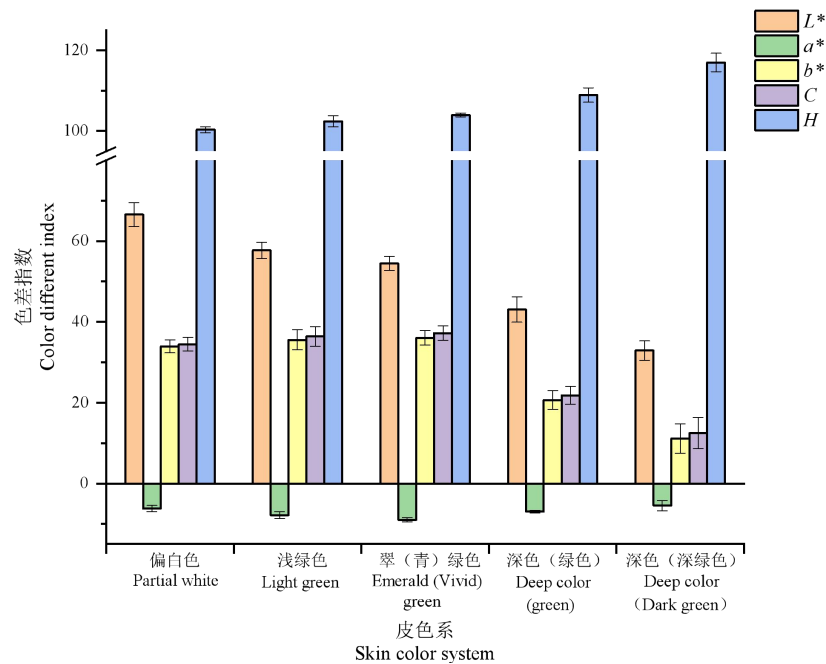


图 1 不同嫩瓜皮色系色差分析

Fig. 1 Analysis of color differences in different skin of tender fruit color systems

根据分析结果, 偏白色系只包含一份“小白皮”材料, 是较早材料; 浅绿色系中包含 27 份材料, 为“AL-3”、“AL-6”、“AL-8”、“AL-17”、“AL-1”、“2QC-5”、“2QC-13”、“A-40”、“Q-21”、“QS-6”、“102C-52”、“102C-78”、“11B-99”、“XG-5”、“XG-810”、“11S-1”、“GQ-1”、“GQ-2”、“QY-8”、“20KH16”、“20KH19”、“20KH21”、“20A-636”、“20A-642”、“CX-80”、“YDC-1”、“166B1”; 翠(青)绿色系中包含 8 份材料, 为“AL-2”、“AL-11”、“Q-22”、“Q-23”、“Q-24”、“11S-3”、“CC11”、“89D-2”; 深色系(绿色)中包含 8 份材料, 为“AL-43”、“2QC-1”、“2QC-6”、“2QC-8”、“2QC-32”、“GQ-5”、“123H-6”、“阿尔及利亚”; 深色系(深绿色)中包含 10 份材料, 为“A-41”、“Q-19”、“Q-20”、“20KH1”、“20KH2”、“20KH6”、“20KH12”、“20KH15”、“21X1”和“YDC-2”。其中浅绿色系材料来源广泛, 占总材料的 50%。浅绿色主蔓材料包含在偏白系和

浅绿色系中。

与其他瓜类果实颜色评价一致^[18-19]，色差仪能快速进行嫩瓜皮色分类。 L^* 值偏白色系最大，深色系（深绿色）最小；而翠（青）绿色系小于偏白色系、浅绿色系，而大于深色系。 C 值代表着果实颜色饱和度，反映色素浓度。翠（青）绿色系 C 值最高且 a^* 值最低，结合 L^* 值，意味翠（青）绿色嫩瓜颜色偏绿色最鲜艳。

以翠（青）绿色嫩瓜皮色材料为主要研究对象，综合目测法、色差值均值附近材料、创制材料较新等因素，选定偏白色系中的“小白皮”，浅绿色系中的“XG-5”，翠（青）绿色系中的“89D-2”、“AL-11”、“Q-23”，深色系（绿色）中的“123H-6”，深色系（深绿色）中的“20KH6”为之后相关研究的7份代表性材料，其中又把“AL-11”、“Q-23”、“20KH6”、“小白皮”作为重点代表性材料进行进一步研究。

2.2 春大棚代表性材料色差值和主要色素含量分析

综合春大棚西葫芦生长条件，对“小白皮”、“XG-5”、“89D-2”、“AL-11”、“Q-23”、“123H-6”、“20KH6”共7份代表性材料嫩瓜皮进行授粉后7d色差值和叶绿素主要色素含量测定，见表2和表3。

表2 7份代表性材料嫩瓜皮色差分析

Table 2 Analysis of color differences in skin of tender fruit of 7 representative materials

自交系 Inbred line	L^*	a^*	b^*	C	H
小白皮 Xiaobaipi	77.65±0.21a	-4.62±0.58a	24.32±0.75d	24.76±0.84d	100.70±1.02f
XG-5	69.89±0.75b	-7.15±0.25b	30.53±0.21c	31.36±0.26c	103.19±0.38e
89D-2	62.43±0.31c	-10.35±0.32c	36.26±0.28b	37.71±0.31b	105.93±0.44d
AL-11	57.92±1.16d	-11.54±0.37d	39.29±0.98a	40.96±0.93a	106.39±0.68d
Q-23	52.14±0.41e	-12.48±0.12d	34.48±0.76b	36.67±0.75b	109.90±0.26c
123H-6	46.03±0.34f	-9.57±0.15c	22.8±0.67d	24.73±0.67d	112.78±0.32b
20KH6	33.93±0.38g	-4.92±0.34a	9.76±0.38c	10.94±0.46c	116.68±0.12a

三次重复的平均值±SE。同一列中字母相同表示差异不显著，字母不相同表示差异显著（ $P<0.05$ ），下同。

Values are average ± SE on three replicates. The same letter in the same column indicates that the difference is not significant, while different letters indicate that the difference is significant, the same below.

与秋延迟大棚 L^* 、 a^* 、 b^* 、 C 、 H 值趋势一致，翠（青）绿色嫩瓜皮材料区别于偏白色、浅绿色、深色（绿色）、深色（深绿色）嫩瓜皮材料。翠（青）绿色嫩瓜皮材料 a^* 值显著小于偏白色、浅绿色、深色（深绿色）嫩瓜皮材料，小于深色（绿色）嫩瓜皮材料，嫩瓜表现偏绿； C 值显著大于偏白色、浅绿色、深色系（绿色）、深色系（深绿色）嫩瓜皮材料，嫩瓜颜色表现最鲜艳。

由表3所示，授粉后7d不同色系嫩瓜皮叶绿素主要色素含量具有显著性差异（除偏白色与浅绿色之间外）。嫩瓜色素总含量随绿色加深而增加，最低偏白色嫩瓜皮材料为 $72.18 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ，最高深色系（深绿色）嫩瓜皮材料为 $2187.11 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ，两者相差30.3倍，而翠（青）绿色嫩瓜皮材料显著大于偏白色和浅绿色嫩瓜皮材料，显著小于深色（绿色）和深色（深绿色）嫩瓜皮材料。叶绿素a、叶绿素b、类胡萝卜素与嫩瓜皮色深浅变化趋势一致，叶绿素a含量占总含量的49.20%~60.58%，是影响瓜色差异的主要原因。翠（青）绿

色嫩瓜皮材料叶绿素 a/b 在 2.36~2.50 之间，显著大于偏白色、浅绿色、深色系深绿色嫩瓜皮材料，大于深色系中的绿色嫩瓜皮材料，表明翠（青）绿色嫩瓜皮材料叶绿素 a 作用更大，更加偏绿色。

表 3 7 份代表性材料嫩瓜皮主要色素含量测定

Table 3 Measurement of main pigment content in the skin of tender fruit of 7 representative materials

自交系 Inbred line	Chl / $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$			Caro/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	Chl a/Chl b	总含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ Total content
	Chl a	Chl b	Chl a+Chl b			
小白皮 Xiaobaipi	35.51 \pm 1.11e	21.59 \pm 1.12f	57.11 \pm 0.11e	15.07 \pm 1.61e	1.66 \pm 0.13cd	72.18 \pm 1.56e
XG-5	69.60 \pm 4.30e	45.71 \pm 3.19e	115.31 \pm 7.24e	22.08 \pm 1.50e	1.53 \pm 0.05d	137.39 \pm 8.19e
89D-2	156.82 \pm 6.49d	66.53 \pm 4.01de	223.34 \pm 10.42d	46.02 \pm 1.45d	2.36 \pm 0.05ab	269.36 \pm 11.58d
AL-11	191.31 \pm 16.47d	76.68 \pm 7.09d	267.98 \pm 23.56d	54.85 \pm 4.22d	2.50 \pm 0.02a	322.83 \pm 27.78d
Q-23	338.53 \pm 11.31c	137.08 \pm 2.49c	475.61 \pm 13.55c	83.18 \pm 4.47c	2.47 \pm 0.05a	558.80 \pm 17.61c
123H-6	463.94 \pm 20.97b	212.37 \pm 8.69b	676.31 \pm 29.65b	123.39 \pm 5.21b	2.18 \pm 0.10b	799.70 \pm 34.84b
20KH6	1185.77 \pm 15.39a	643.54 \pm 13.07a	1829.32 \pm 28.46a	357.79 \pm 7.97a	1.84 \pm 0.01c	2187.11 \pm 35.62a

通过相关性结果分析，色差值与叶绿素主要色素有相关性， L^* 、 b^* 、 C 值与叶绿素 a 相关系数分别为 $R^2=-0.896$ 、 $R^2=-0.777$ 、 $R^2=-0.750$ ，呈极显著负相关。 H 值与叶绿素 a 相关系数为 $R^2=0.894$ ，呈极显著正相关。

2.3 重点代表性材料不同发育及贮藏时期嫩瓜皮色变化分析

以 2 份翠（青）绿色嫩瓜皮材料“AL-11”、“Q-23”为主要研究对象，偏白色“小白皮”和深色系（深绿色）“20KH6”嫩瓜皮材料为对比，进行授粉后 6、7、8、9 d 不同嫩瓜皮发育时期的相关叶绿素主要色素含量测定。授粉后 6、7、8、9 d 嫩瓜皮色变化和主要色素含量变化见图 2 和图 3。

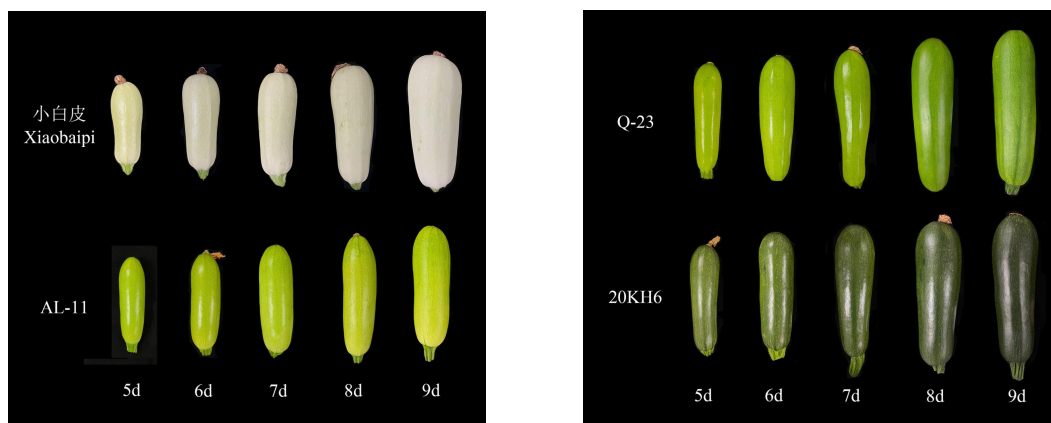
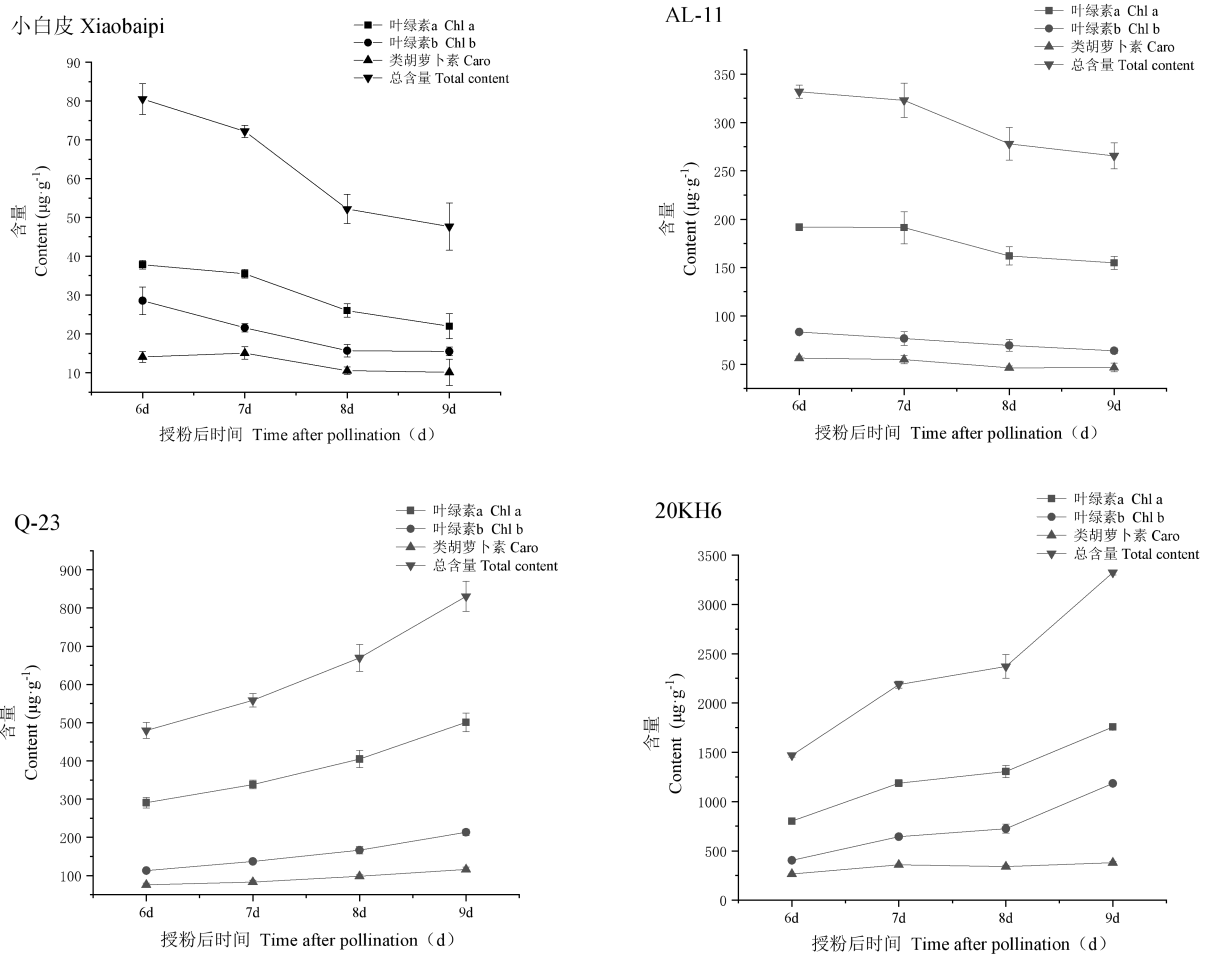


图 2 重点代表性材料不同发育时期嫩瓜皮色变化

Fig. 2 Changes of skin color of tender fruit of key representative materials in different development stages



误差线代表标准误差 SE，下同。

The error bar represents the standard error, the same below.

图 3 重点代表性材料不同发育时期嫩瓜皮主要色素含量变化

Fig. 3 Changes in the main pigment content of the skin of tender fruit of key representative materials in different development stages

由图 2、3 所示，授粉后同一发育时期，不同材料嫩瓜皮色有差异。随着授粉后发育时期增长，“小白皮”材料嫩瓜皮色的叶绿素总含量降低率为 40.80%，叶绿素 a 含量降低率 41.89%，其皮色变浅变白。“20KH6”嫩瓜皮材料的叶绿素总含量增长率为 125.97%，叶绿素 a 含量增长率 119.01%，其皮色渐黑。“AL-11”嫩瓜皮材料的总含量降低率为 19.98%，叶绿素 a 含量降低率 19.31%，其略微变浅；“Q-23”嫩瓜皮材料的总含量增长率为 73.12%，叶绿素 a 含量增长率 72.40%，其颜色有向深绿转变趋势。体现出同在翠（青）绿色系，随着授粉后发育时期增长，其嫩瓜皮色变化有所差异。四份材料嫩瓜皮色类胡萝卜素含量结果表明，其受授粉后发育时期增长影响较小。

采后 4 °C 贮藏，于 0（当天）、2、4、6 d 取样进行四种材料嫩瓜皮色素总含量测定（见图 4）。随着贮藏时间增加，嫩瓜皮叶绿素总含量逐渐减少。在贮藏 4 d 后，“AL-11”“Q-23”和“20KH6”材料嫩瓜皮叶绿素总含量有一定下降，分别为 29.44%、26.31%、28.02%。而贮藏 6 d 后，“小白皮”材料嫩瓜皮叶绿素总含量降低率最低，为 18.53%，“AL-11”、“Q-23”、“20KH6”材料嫩瓜皮叶绿素总含量降低率

分别为 52.69%，32.54%和 36.92%。“AL-11”材料嫩瓜皮的褪绿进程最快，但作为翠（青）绿色嫩瓜皮材料其嫩瓜皮叶绿素总含量依然大于“小白皮”嫩瓜皮材料。

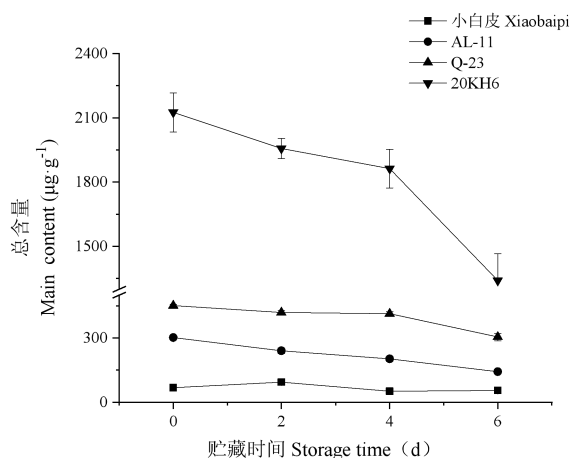


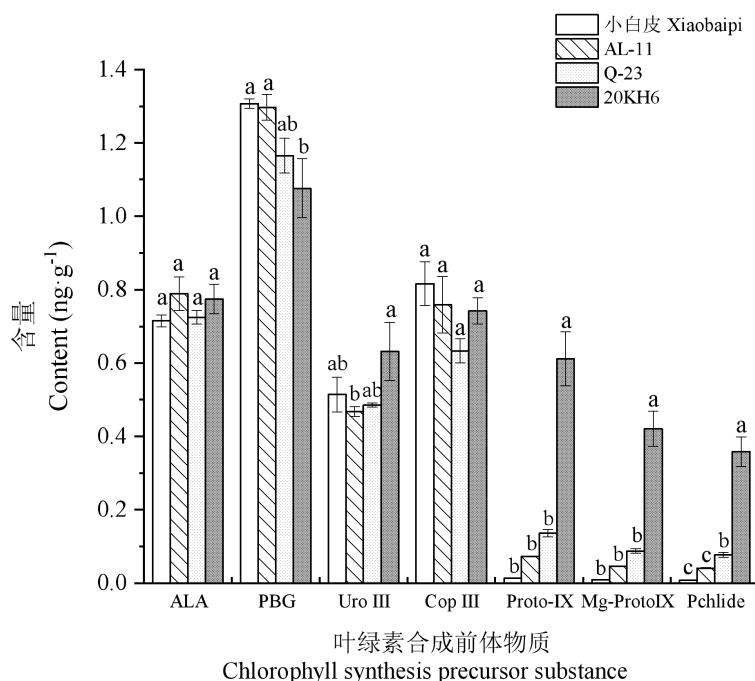
图 4 重点代表性材料不同贮藏时期嫩瓜皮总色素含量变化

Fig.4 Changes of total pigment content of the skin of tender fruit of key representative materials during different storage periods

2.4 叶绿素合成前体含量和叶绿素代谢相关酶等活性分析

2.4.1 叶绿素合成前体含量分析

为了探索西葫芦嫩瓜皮叶绿素合成与代谢途径中不同调控代谢流引起的叶绿素含量阶段变化，对授粉后 7 d 的 4 份重点代表性材料嫩瓜皮进行叶绿素前体中的 ALA、PBG、Urogen III、Coprogen III、Proto IX、Mg-Proto IX 和 Pchlride 物质含量测定，见图 5。



误差线代表标准误差 SE，不同字母表示重点主要代表性材料在同一指标间的差异显著 ($P < 0.05$)，下同。

The error bar represents the standard error, different letters indicate significant differences between the main representative materials in the same indicator ($P < 0.05$), the same below.

图 5 重点代表性材料嫩瓜皮叶绿素前体物质含量比较

Fig. 5 Comparison of chlorophyll precursor content in the skin of tender fruit of key representative materials

叶绿素合成前体含量总体趋势为“ALA ↗ PBG ↘ Urogen III ↗ Coprogen III ↘ Proto IX ↘ Mg-Proto IX ↘ Pchlide”，其中从 Proto IX 到 Mg-Proto IX 再到 Pchlide 阶段，合成产物含量趋势逐渐缓慢降低。“20KH6”材料嫩瓜皮合成产物总体趋势变化相对平缓，而“小白皮”、“AL-11”和“Q-23”材料嫩瓜皮在 PBG 转化为 Urogen III 阶段，尤其是 Coprogen III 转化为 Proto-IX 阶段含量骤降明显。具体为，在 PBG 转化为 Urogen III 阶段，“AL-11”和“Q-23”材料嫩瓜皮 PBG 含量低于“小白皮”而高于“20KH6”；Urogen III 含量低于“小白皮”和“20KH6”嫩瓜皮材料；这阶段“小白皮”、“AL-11”、“Q-23”、“20KH6”嫩瓜皮材料合成产物含量分别下降率为 60.68%、63.91%、58.30%和 41.37%；在 Coprogen III 转化为 Proto-IX 阶段，“小白皮”、“AL-11”、“Q-23”嫩瓜皮材料合成产物含量下降率分别为 98.41%、90.38%和 78.52%，骤降明显，而“20KH6”嫩瓜皮材料下降率仅为 17.66%。两个翠（青）绿色嫩瓜皮材料和偏白色嫩瓜皮材料，其 Proto-IX 含量显著低于深绿色嫩瓜皮材料；但两个翠（青）绿色嫩瓜皮材料 Proto-IX 含量比偏白色嫩瓜皮材料含量高，偏白色嫩瓜皮此时合成产物受阻最大。同时对嫩瓜皮叶绿素前体物质与叶绿素主要色素相关系数进行相关分析，Proto-IX 到 Pchlide 阶段合成产物比之前的 4 个步骤产物含量与叶绿素的相关关系更加密切 ($R^2=0.999 \sim 1.000$)，与叶绿素各指标（除 Chl a/b 外）均极显著相关。

从以上推测西葫芦嫩瓜皮叶绿素代谢关键步骤是在 PBG→Urogen III、Coprogen III→Proto-IX 合成阶段。与深绿色嫩瓜皮材料合成产物含量比较分析，翠（青）绿色和偏白色嫩瓜皮叶绿素前体物质合成关键受阻位点在 Coprogen III→Proto-IX 阶段，偏白色嫩瓜皮材料叶绿素含量下降最大。

2.4.2 叶绿素代谢中 Chlase、MDCase 和抗氧化酶活性分析

叶绿素代谢中的 Chlase 和 MDCase 作为叶绿素降解环节关键酶，由图 6 可知，授粉后 7 d，嫩瓜皮 Chlase 活性大小依次为“小白皮” > “AL-11” > “Q-23” > “20KH6”。其中，仅仅“小白皮”和“AL-11”材料与“Q-23”和“20KH6”材料存在显著性差异。嫩瓜皮 MDCase 活性大小依次为“小白皮” > “AL-11” > “Q-23” > “20KH6”，但活性差异不显著。Chlase 活性酶活性变化与嫩瓜皮色变化有一定关联，随着叶绿素含量增加，Chlase 活性整体呈下降趋势。

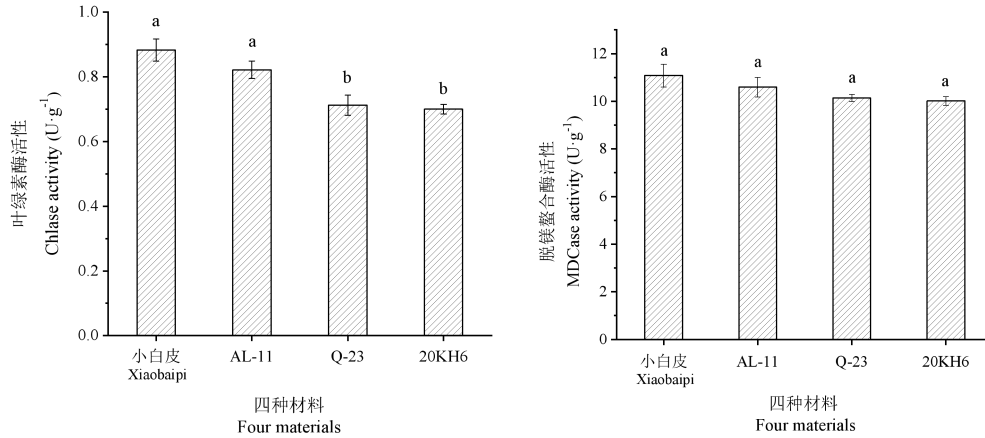


图 6 重点代表性材料嫩瓜皮 Chlase 和 MDCase 酶活性

Fig. 6 Chlase and MDCase enzyme activities in skin of tender fruit of key representative materials

叶绿素代谢中的抗氧化酶 SOD、POD 和 CAT 都是植物体内清除活性氧关键酶。如图 7 所示，授粉后 7 d，四种嫩瓜皮材料 CAT 活性增加与嫩瓜皮色加深一致。“小白皮”、“AL-11”和“Q-23”嫩瓜皮材料 CAT 活性远低于“20KH6”嫩瓜皮材料，存在显著差异。SOD 与 CAT 活性变化趋势一致，“AL-11”与“20KH6”嫩瓜皮材料 SOD 活性存在显著差异，“Q-23”与“小白皮”嫩瓜皮材料 SOD 活性存在显著性差异。四种嫩瓜皮材料 POD 活性差异不显著。进一步研究表明，CAT 活性与嫩瓜皮叶绿素含量极显著相关 ($R^2=0.958$)，SOD 活性与嫩瓜皮叶绿素含量显著相关 ($R^2=0.742$)。推测 CAT 和 SOD 酶参与缓解西葫芦翠（青）绿色与深绿色嫩瓜皮叶绿素降解。

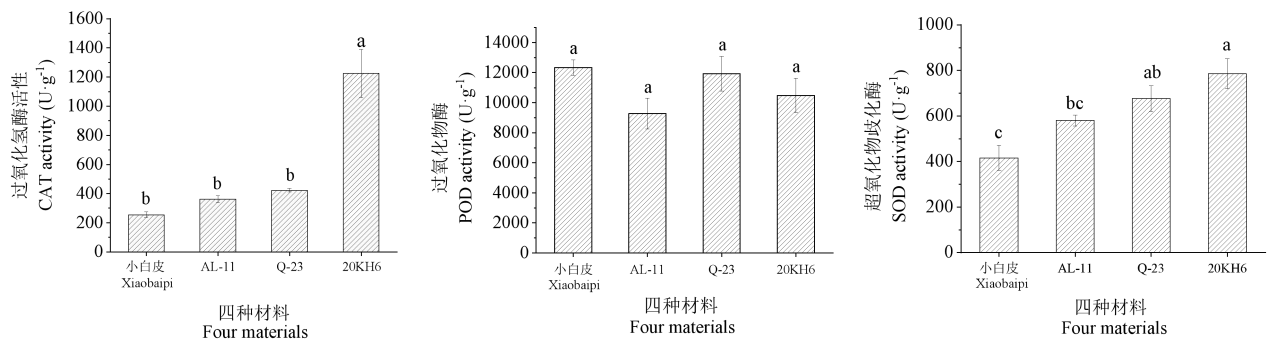


图 7 重点代表性材料嫩瓜皮 CAT、POD、SOD 酶活性

Fig. 7 CAT, POD, and SOD enzyme activities in the skin of tender fruit of key representative materials

在叶绿素合成 Coprophen III 转化为 Proto-IX 阶段，叶绿素合成前体 Proto-IX 含量与 Chlase 酶活性成显著负相关 ($R^2=-0.657$)，与 CAT 活性成极显著正相关 ($R^2=0.970$)，与 SOD 活性成显著正相关 ($R^2=0.683$)。当 Proto-IX 合成产物下降，叶绿素含量下降，Chlase 酶活性降解增强，抗氧化酶 SOD 与 CAT 活性减弱，偏白色皮嫩瓜皮形成。

3 讨论

西葫芦作为重要瓜类蔬菜之一，是南瓜属中种植广泛和果实最多多样性的一个种。嫩瓜皮色是影响西葫

芦商品价值的重要外观品质之一，其中，翠（青）绿嫩瓜皮相关材料有其优良特异性。本研究对 54 份西葫芦自交系进行不同嫩瓜皮色分类，并以不同嫩瓜皮色代表性材料为研究对象，对西葫芦嫩瓜皮叶绿素合成代谢及其皮色形成的关联性进行了分析。这些结果对深入解析不同嫩瓜皮呈色，特别是翠（青）绿嫩瓜皮相关特异资源材料深入研究具有重要实际意义。

在西葫芦研究中，把色差仪和叶绿素含量测定结合进行嫩瓜皮色研究极少^[10]。本研究把 54 份不同嫩瓜皮色西葫芦自交系聚类为偏白色系、浅绿色系、翠（青）绿色系和深色系（绿和深绿色），明确了不同色系的 L^* 、 a^* 、 b^* 、 C 、 H 值的变化范围和趋势，其中的 C 值的变化趋势与黄瓜嫩果色分级标准中的 C 值有所不同^[20]。聚类出的 8 份翠（青）绿色相关材料与其他色系不同，表现出颜色鲜艳偏绿的特性， C 值和 a^* 值在其分类中体现出重要作用。叶绿素色素含量大小与偏白色、浅绿色、翠（青）绿色和深绿色嫩瓜皮有直接关系，而叶绿素 a 含量是其嫩瓜皮深浅的主要原因，并与色差值有相关性。叶绿素 a 和 b 比例影响着叶绿素 a 对不同波长光吸收速率，影响着颜色的表现^[21]。叶绿素 a/b 在翠（青）绿色嫩瓜皮材料中是在 2.36~2.50 之间，显著大于偏白色和浅绿色嫩瓜皮材料（叶绿素 a/b=1.53~1.66）及深绿色嫩瓜皮材料（叶绿素 a/b=1.84），说明叶绿素 a 对翠（青）绿色嫩瓜皮材料的作用更大，与 a^* 值一致，使嫩瓜皮色呈现更加偏绿的颜色。

偏白色、翠（青）绿色和深绿色嫩瓜皮材料在授粉后不同发育时期的嫩瓜皮色叶绿素有差异，偏白色嫩瓜皮材料变浅变白，深绿色嫩瓜皮材料变深渐黑，而翠（青）绿色嫩瓜皮材料表现有所不同，略微变浅或有向深绿转变趋势，瓜皮的加深或变浅主要取决于叶绿素 a 的积累量。采后 4 ℃，偏白色嫩瓜皮材料可贮藏到 6 d 时，而翠（青）绿色和深绿色嫩瓜皮材料贮藏到 4 d 更好，说明相对绿色的嫩瓜皮材料受低温影响较大，影响了瓜皮的外观。增强光泽亮度研究^[14]，进一步缩小翠（青）绿色嫩瓜皮材料范围，增加相对稳定嫩瓜皮色资源筛选和评价显得尤为重要。

西葫芦嫩瓜皮叶绿素合成代谢影响西葫芦嫩瓜皮色形成，其中的嫩瓜皮偏白色主要是由于 Coprogen III 转化为 Proto-IX 阶段叶绿素合成受阻，叶绿素含量下降所致。不同于金心吊兰金心部分的 ALA、Proto-IX 和 Pchlide 共 3 个受阻位点^[22]，也不同于西葫芦银叶病在 Urogen III 到 Proto-IX 阶段的 1 个受阻点^[23]。偏白色、翠（青）绿色和深绿色嫩瓜皮叶绿素合成途径受阻主要发生在两个阶段，但不同嫩瓜皮色关键受阻点不同。前一个阶段 $PBG \rightarrow Urogen III$ 含量降幅相对后一段小，翠（青）绿色嫩瓜皮下降率为 58.3%~63.91%，偏白色为 60.68%，最低是深绿色为 41.37%；而在 Coprogen III 转化为 Proto-IX 阶段，偏白色嫩瓜皮下降率为 98.41%，翠（青）绿色在 78.52%~90.38%，深绿色在 17.66%。说明前一阶段四种嫩瓜皮材料叶绿素合成受阻相对一致，而在第二阶段，偏白色叶绿素合成受阻影响最大，翠（青）绿色其次，但翠（青）绿色嫩瓜皮材料 Proto-IX 含量高于“小白皮”嫩瓜皮材料。能明显区分出深绿色与其他皮色合成阶段受阻阶段不同。深绿色叶绿素合成途径中， $PBG \rightarrow Urogen III$ 合成受阻起到关键作用，影响了环状的 Urogen III 形成，

Coprogen III转化为 Proto-IX 阶段相对影响要小；而偏白色和翠（青）绿色合成受阻起到关键作用阶段是在 Coprogen III转化为 Proto-IX 阶段，影响了叶绿素和血红素生物合成的最后一个共同中间产物的形成，但在之前从 PBG 向 Urogen III阶段，已开始明显阻碍转化。第二阶段更严重阻碍了偏白色嫩瓜皮叶绿素合成，但在这过程中存在某个调控叶绿素合成的关键因子尚待发现。

叶绿素代谢中 Chlase 和抗氧化酶（CAT 和 SOD）影响偏白色、翠（青）绿色和深绿色嫩瓜皮叶绿素降解。与翠云草不同^[24]，而与猕猴桃一致^[25]，Chlase 对西葫芦嫩瓜皮叶绿素降解起更大作用，随着其增加，嫩瓜皮色逐渐向白转变。不同色系材料中，Chlase 酶活性不同，为叶绿素降解途径中应更加关注的关键酶。SOD 酶活性升高可以抑制活性氧物质的含量，降低叶绿素的分解速率^[26-27]；CAT 可清除细胞内 H₂O₂，进而缓解叶绿素降解^[28]。本研究结果表明抗氧化酶 SOD 与 CAT 活性高与西葫芦嫩瓜皮色变深趋势一致，SOD、CAT 缓解叶绿素降解，延缓了翠（青）绿色和深绿色叶绿素降低速率。

已有报道，“春见”叶片黄化是由于 Urogen III向 Coprogen III转化受阻造成，叶绿素合成减弱和降解增强以及抗氧化酶系统减弱之间显著相关^[29]。本研究中，偏白色嫩瓜皮是因为 Urogen III向 Coprogen III转化受阻形成，此时叶绿素合成减弱与 Chlase 酶活性降解增强以及抗氧化酶 SOD 与 CAT 活性减弱之间显著相关。抗氧化酶 SOD 与 CAT 活性与嫩瓜皮叶绿素合成有关。

综上所述，本研究为深入解析不同嫩瓜瓜色，尤其是翠（青）绿色嫩瓜皮呈色机理，挖掘和利用翠（青）绿皮相关优异特异资源材料提供了理论依据和技术支撑。

参考文献

- [1] 罗伯祥, 孙玉东, 朱明超, 靳取. 西葫芦育种现状与发展趋势. 种子, 2002, (4): 44-45
Luo B X, Sun Y D, Zhu M C, Jin Q. The current situation and development trend of zucchini breeding. Seed, 2002, (4): 44-45
- [2] 武峻新, 申琼, 董晓飞, 侯岗. 山西省西葫芦产业发展存在的问题及对策. 山西农业科学, 2018, 46 (7): 1222-1225
Wu J X, Shen Q, Dong X F, Hou G. Problems and countermeasures in the development of *Cucurbita pepo* industrialization in Shanxi. Journal of Shanxi Agricultural Sciences, 2018, 46 (7): 1222- 1225
- [3] 武峻新, 申琼. 西葫芦实用栽培技术. 北京: 中国科学技术出版社, 2017
Wu J X, Shen Q, Practical cultivation techniques for zucchini. Beijing: China Science and Technology Press, 2017
- [4] 武峻新. 提高西葫芦商品性栽培技术问答. 北京:金盾出版社, 2009
Wu J X. Q and A on improving the commercial cultivation techniques of zucchini. Beijing: Jindun Press, 2009
- [5] Paris H S, Padley L. Gene list for *Cucurbita* species, 2014. Cucurbit Genetics Cooperative Report, 2014, 37: 1- 13
- [6] Clayberg, C.D. Reinterpretation of fruit color inheritance in *Cucurbita pepo* L. Cucurbit Genetics Cooperative Report, 1992, 15: 90-92
- [7] Paris H S, Nerson H. Genes for intense fruit pigmentation of squash. Journal of Heredity, 1986, (77): 403-409
- [8] Paris H S, Hanan A, Baumkoler F. Another gene affecting fruit and stem color in squash, *Cucurbita pepo*. Euphytica, 2013, 191 (1): 99 -107
- [9] Obrero Á, González-Verdejo C I, Die J V, Gómez P, Río-Celestino M D, Román B. Carotenogenic gene expression and carotenoid accumulation in three varieties of *Cucurbita pepo* during fruit development. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61 (26): 6393-6403
- [10] Xu X Y, Lu X N, Tang Z L, Zhang X N, Lei F J, Hou L P, Li M L. Combined analysis of carotenoid metabolites and the transcriptome to reveal the molecular mechanism underlying fruit colouration in zucchini (*Cucurbita pepo* L.). Food Chemistry: Molecular Sciences, 2021, 2: 100021

- [11] 李锡香, 朱德蔚. 南瓜种质资源描述规范和数据标准. 北京: 中国农业出版社, 2007
Li X X, Zhu D W. Descriptors and data standard for pumpkin(*Cucurbita pepo* L., *C. moschata* D., *C. maxima* D., *C. ficifolia* B., *C. mixta* P.). Beijing: China Agriculture Press, 2007
- [12] 孙小镭, 王冰, 顾三军, 王志峰. 黄瓜嫩果皮色与色素含量的关系. 园艺学报, 2003, 30 (6): 721
Sun X L, Wang B, Gu S J, Wang Z F. Correlations of immature skin color and pigments in cucumber. *Acta Horticulturae Sinica*, 2003, 30 (6): 721
- [13] 罗玉松. 印度南瓜果皮颜色性状的基因定位及色素积累机理研究. 哈尔滨: 东北农业大学, 2022
Luo Y S. Fine Mapping and Color Formation Mechanism of Skin Color Trait in *Cucurbita maxima*. Harbin: Northeast Agricultural University, 2022
- [14] Cui Y Y, Li S, Dong Y M, Wu H Y, Gao Y M, Feng Z X, Zhao X, Shan L, Zhang Z R, Liu Z Y, Song L Y, Liu X W, Ren H Z. Genetic regulation and molecular mechanism of immature cucumber peel color: A review. *Vegetable Research*, 2023, 3: 9
- [15] 申琼, 武峻新. 西葫芦嫩瓜皮的主要色素含量分析. 山西农业科学, 2020, 48 (7): 1022-1025
Shen Q, Wu J X. Analysis of the main pigment content of pericarp of tender Summer Squash. *Journal of Shanxi Agricultural Sciences*, 2020, 48 (7): 1022-1025
- [16] 刘德春, 曾琼, 刘勇, 吴启, 王玥辰, 刘山蓓. ‘纽荷尔’脐橙及其光泽型突变体果皮色差指数变化规律的研究. 果树学报, 2013, 30 (6): 914-917
Liu D C, Zeng Q, Liu Y, Wu Q, Wang Y C, Liu S B. Study on the chromatism index variation of fruit peel from the ‘Newhall’ navel orange and its glossy mutant during the fruit development. *Journal of Fruit Science*, 2013, 30 (6): 914-917
- [17] Hodgins R R, Huystee R B van. Rapid simultaneous estimation of protoporphyrin and Mg-Porphyrins in higher plants. *J. Plant Physiol*, 1986, 125 (3-4): 311-323
- [18] 段颖, 向成钢, 刘新艳, 马玮, 孙廷珍, 王长林. 印度南瓜果皮结构与色素组成对果皮颜色的影响. 中国蔬菜, 2017, 43 (11): 33-39
Duan Y, Xiang C G, Liu X Y, Ma W, Sun T Z, Wang C L. Effect of rind structure and pigment composition on rind color in *Cucurbita maxima*. *China Vegetables*, 2017, 43 (11): 33-39
- [19] 沈楠, 方智远, 李锡香, 李全辉, 程嘉琪, 宋江萍, 王海平, 邱杨. 黄瓜果肉色的遗传分析. 植物遗传资源学报, 2011, 12 (2): 216-222
Shen D, Fang Z Y, Li X X, Li Q H, Chen J Q, Song J P, Wang H P, Qiu Y. Inheritance of fruit flesh color in *Cucumis sativus* L.. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2011, 12 (2): 216-222
- [20] 王建科, 方小红, 李雪红, 陈瑶, 万正杰, 徐跃进. 黄瓜嫩果皮颜色的遗传研究. 园艺学报, 2013, 40 (3): 479-486
Wang J K, Fang X H, Li X H, Chen Y, Wan Z J, Xu Y J. Genetic Study on Immature Fruit Color of Cucumber. *Acta Horticulturae Sinica*. 2013, 40 (3): 479-486
- [21] 李丽菁, 张智韦, 薛云, 张嘉航, 韩烈保, 许立新. 低温胁迫对日本结缕草叶绿素代谢的影响. 北京林业大学学报, 2022, 44 (2): 91-99
Li L J, Zhang Z W, Xue Y, Zhang J H, Han L B, Xu L X. Effects of low temperature stress on chlorophyll metabolism of *Zoysia japonica*. *Journal of Beijing Forestry University*, 2022, 44 (2): 91-99
- [22] 董立花. 金心吊兰的叶绿素生物合成以及光胁迫的耐受性. 雅安: 四川农业大学, 2015
Dong L H. The chlorophyll biosynthesis of *Chlorophytum capense* var. *medio-pictum* and its responses to high light stress. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2015
- [23] 郝树芹, 刘世琦, 张自坤, 崔慧茹, 段吉峰, 陈强. 西葫芦银叶病发病叶片叶绿素代谢及其荧光特性. 园艺学报, 2009, 36 (6): 879-884
Hao S Q, Liu S Q, Zhang Z K, Cui H R, Duan J F, Chen Q. Characteristics of chlorophyll metabolism and chlorophyll fluorescence in the silvered leaf of Summer Squash. *Acta Horticulturae Sinica*, 2009, 36 (6): 879-884
- [24] 陈露露. 观赏蕨翠云草叶绿素代谢途径研究. 广西: 广西大学, 2019
Chen L L. Study on chlorophyll metabolism pathway of *Selaginella Uncinata*. Guangxi: Guangxi University, 2019
- [25] 任亚梅. 猕猴桃果实叶绿素代谢及生理特性研究. 陕西: 西北农林科技大学, 2009
Ren Y M. Study on chlorophyll metabolism and physiology characteristics of kiwifruit. Shanxi: Northwest A&F University, 2009
- [26] Tatsuru M, Yuichi F. Regulation and evolution of chlorophyll metabolism. *Photochem. Photobiol. Science*, 2008, 7 (10): 1131-1149
- [27] Stand A. Plastid-to-nucleus signalling. *Current opinion in plant biology*, 2004, 7 (6): 621-625
- [28] Sakaki T, Kondo N, Sugahara K. Browndown of Photosynthetic pigments in lipids in spinach leaves with ozone fumigation: role of active oxygens. *Physiol Plant*, 1983, 59: 28
- [29] Xiong B, Li L, Li Q, Mao H Q, Wang L X, Bie Y H, Zeng X, Liao L, Wang X, Deng H H, Zhang M F, Sun G C, Wang Z H. Identification of photosynthesis

characteristics and chlorophyll metabolism in leaves of Citrus cultivar (*Harumi*) with varying degrees of chlorosis. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24: 8394