

高通量转录组在园艺植物色素代谢中的研究进展

李霞 王顺利

(北京农学院城乡发展学院, 北京 102206)

摘要: 色素代谢是园艺植物中最为重要的研究领域之一, 目前相关研究主要集中在花青素代谢和类胡萝卜素代谢上, 其决定园艺植物的品质性状和观赏性状。利用转录组学技术, 可以从转录组水平上揭示园艺植物色素代谢的分子机理。综述了转录组学在主要果树、蔬菜和观赏植物的色素节点分离、分支代谢、新基因分离、调控机制及环境对色素代谢影响方面的主要研究进展, 分析了目前应用中存在的问题, 并展望了转录组学在园艺植物色素代谢中的发展前景, 以期利用高通量测序技术分析色素代谢机制、分离关键基因并应用于园艺作物品质定向育种提供参考。

关键词: 转录组学; 生物信息学; 色素代谢

DOI: 10.13560/j.cnki.biotech.bull.1985.2017-0018

Research Advances of Transcriptomics in Horticulture Plants Pigments Metabolism

LI Xia WANG Shun-li

(College of Urban and Rural Development, Beijing University of Agriculture, Beijing 102206)

Abstract: Pigments mechanism is one of the most important research fields in horticultural plants. Related researches mainly include anthocyanin and carotenoid biosynthesis, which decide the quality and ornamental character of horticultural plants. Using transcriptomic technology, the transcriptional regulation mechanism of horticulture plants can be investigated at the transcriptome level. This paper summarized the recent reports about the isolation of code genes, branch mechanism, new genes isolation, regulatory mechanism, and environment- pigments interaction of fruit trees, vegetables and ornamental plants. The current problems in application were analyzed. The development prospect of transcriptomics in horticultural plants pigments metabolism was also prospected. We hope that it will provide useful information for the regulation mechanism study, important gene isolation and quality orientation breeding of horticulture plants by using transcriptomic technology.

Key words: transcriptomics ; bioinformatics ; pigment metabolism

随着以 Roche/454、Applied Biosystem/SOLiD 及 Illumin/Solexa 为代表的第二代测序仪的诞生和不断改进, 极大地推动了基因组、转录组测序研究工作的进展, 包括实验步骤显著简化、测序反应自动化程度显著提升、数据获得的通量极大提高、单位数

据量的测序成本明显降低等。此外, 随着基因组拼装、注释等生物信息学分析软件不断开发应用, 生物信息分析平台不断增加, 高通量测序及生物信息学分析已经成为生命科学领域越来越普遍的研究手段和方法。

收稿日期: 2017-01-17

基金项目: 2015 年度北京农学院青年科学基金项目 (QZK2015007), 2015 年度北京农学院大北农青年教师科研基金项目 (15ZK008)

作者简介: 李霞, 女, 博士, 讲师, 研究方向: 园林植物栽培与应用、园林植物遗传育种; E-mail: lixia5966@163.com

通讯作者: 王顺利, 女, 博士, 副教授, 研究方向: 园林植物栽培、园林植物遗传育种和农林废弃物资源化利用; E-mail:

wangshunli80@163.com

转录组是指特定细胞在某一功能状态下转录出来的所有 RNA 的总和, 包括 mRNA 和非编码 RNA (Non-coding RNA)。与差异显示技术、基因芯片、数字基因表达谱等常规方法相比, 转录组测序 (RNA-sequencing, RNA-seq) 具有灵敏度高、信号数字化、检测范围广等优点, 已被广泛应用于生物体的多种功能研究。通过转录组分析, 不仅可以获得研究材料在某一状态下全部已知基因的表达丰度、剪接方式等信息, 还可以在无参考基因组物种中进行基因及新转录本的挖掘。

色素代谢是园艺植物中最为重要的研究领域之一, 目前相关研究主要集中在花青素代谢和类胡萝卜素代谢上, 其决定园艺植物的品质性状和观赏性状。转录组是研究色素代谢、环境因子调控及新基因挖掘等研究的一种重要方法。本文综述了近年来转录组学在主要果树、蔬菜和观赏植物的色素节点分离、分支代谢、新基因分离、调控机制及环境对色素代谢影响方面的主要研究进展, 以期为利用高通量测序技术分析色素代谢机制、分离关键基因并应用于园艺作物品质定向育种提供参考。

1 色素代谢通路节点基因的分离

花青素苷和类胡萝卜素分属不同的代谢途径, 并且在分子结构上存在显著区别。花青素苷起源于苯丙烷代谢, 类胡萝卜素是在植物体中经异戊二烯途径合成的一种脂溶性萜类色素, 两者的合成途径目前均已研究得较为清楚。

花青素和类胡萝卜素的代谢在高等植物中属于比较保守的类型。花青素以苯丙氨酸为底物, 经过 PAL、C4H、CHS、CHI、F3H、F3'H、DFR、ANS 和 UFGT 等一些列酶促反应, 最终形成矢车菊色素、飞燕草色素和天竺葵色素, 分别决定粉色、蓝色和红色的果实、叶和花的呈色。类胡萝卜素的生物合成在质体中进行, 遵循类异戊二烯途径。参与催化类胡萝卜素生物合成的主要酶包括 PSY、PDS、ZDS、CRTISO 等合成番茄红素上游的酶。首先番茄红素环化生成 α 和 β 胡萝卜素, 接下来这些胡萝卜素在 LCYB、LCYE、BCH 和 ZEP 等番茄红素下游酶的催化下, 形成叶黄素、玉米黄质、紫黄质和新黄质等黄色的类胡萝卜素。另外, 类胡萝卜素裂解双

加氧酶 (Carotenoid cleavage dioxygenases, CCDs) 是类胡萝卜素氧化裂解分解类胡萝卜素多烯链特异双键形成脱辅基类胡萝卜素的关键酶, 能够在类胡萝卜素合成后将其降解, 催化为挥发类物质、脱落酸和独脚金内酯等激素物质^[1]。类胡萝卜素调控方面, 人们从模式植物, 尤其是园艺作物果实中发现了一些转录因子, 但是其中大多数转录因子都是通过调控植物果实的成熟发育从而间接影响类胡萝卜素的积累, 如番茄 MADS-box 转录因子、AP2/ERF 转录因子家族的 AP2a、SIERF6 以及具有 NAC 结构域的 NOR 和 SINAC4^[2]。而只有少数转录因子, 如拟南芥 PIF1 和 RAP2.2 转录因子, 可以直接作用于结构基因以影响类胡萝卜素的积累。因此, 目前尚不明确是否有特定的转录因子家族调控类胡萝卜素的生物合成^[3]。

不同物种中控制其代谢的节点基因常呈现多态性, 且通路上的结构基因以及调控基因 (主要是 MYB、bHLH 和 WD40 家族基因) 都以基因家族、超基因家族的形式存在, 因此转录组学分析是分离特定物种花青素代谢节点基因的重要手段^[4]。由于颜色的可识别性很高, 能够很容易地找到自然界中存在的大量的植物颜色变异。例如, 与我们日常生活息息相关的蔬菜、水果和观赏植物, 大部分来自于对这些颜色变异品种的培育。很多学者利用转录组开展突变体形成机理的分子解析, 并得到了控制植物色素代谢的节点基因, 这些结果将有助于新优果实、蔬菜和观赏植物的育种。

Li 等^[5]通过对猕猴桃花青素合成的相关基因的研究, 结合不同发育期花青素积累水平的变化, 证明 ANS 和 UFGT7 可能是决定猕猴桃花青素合成的关键基因。Liu 等^[6]以红色果枸杞 (*Lycium barbarum*) 及黑果枸杞 (*L. Ruthenicum*) 为对照材料, 利用转录组测序技术, 证明 PSY1, PDS, ZDS, CYC-B 和 CRTR-B2 是枸杞中类胡萝卜素合成的重要节点基因。通过构建高密度遗传图谱, 结合转录组测序发现, SSRy 和 W2691 位点之间的 CCD4 基因, 其表达量与类胡萝卜素合成之间存在相关性。由此证实白肉桃中, CCD4 表达, 降解其中的 β 类胡萝卜素, 而黄肉桃中该基因的不表达导致了黄肉性状的产^[7]。另外, 在菊花和油菜中, 也均发现了黄色品种是由于

CCD4 基因的不表达, 导致类胡萝卜素无法被降解, 因此呈现黄色^[8, 9]。Ahn 等^[10]通过结缕草红色和绿色品种‘Anyang-jungji’(AJ)和‘Greenzoa’(GZ)进行比较转录组学分析发现, 红色品种叶片中 *DFR* 和 *ANS* 的高表达是其红叶性状的成因。另外, 研究者通过对马铃薯、紫苏、菊花等园艺植物进行比较转录组学研究, 均发现了响应的控制花青素代谢的节点基因, 且以 *DFR* 和 *ANS* 的高表达为主^[11-13]。

调节基因方面, Wu^[14]比较了紫色甘薯及其白色突变体的转录组, 证明 *UFGT*, *CHS* 和 *CHI* 以及 *bHLH* 基因家族是决定其花青素是否积累的重要基因。通过对 *Silene littorea* 不同花色品种转录组的分析, 结合 QTL 定位发现, 其彩色花品种受同一连锁群中 *F3'H* 和 *myb1a* 两个基因的共同调控, *myb1a* 通过结合 *F3'H* 启动子对花青素代谢起到调控作用^[15]。Mushtaq 等^[16]通过对比紫叶及绿叶甘蓝的转录组, 发现花青素代谢通路上只有 *bHLH* 类转录因子 *TT8* 的表达显著变化, 且光系统 II 中的 *FTSHPROTEASE8* (*FTS8*)、*GLYCOLATEOXIDASE1* (*GOXI*) 和 *GLUTAMINESYNTHETASE1;4* (*GLN1;4*) 表达量降低。

2 在色素分支代谢中的作用

花青素代谢和类胡萝卜素代谢都存在分支代谢的情况。花青素代谢中, 以柚皮素为分支点, 代谢流分别以 *F3'H*、*F3'5'H* 和 *F3H* 为催化酶, 形成矢车菊色素、飞燕草色素和天竺葵色素, 从而呈现不同颜色^[1]。类胡萝卜素代谢中, 以番茄红素为底物, 在 *LCYE* 和 *LCYB* 催化下分别形成 α 和 β 两类胡萝卜素色素物质。关于转录组学在分支代谢上的调控机制研究, 大部分研究集中在花青素分支代谢途径上, 而关于类胡萝卜素的研究较少。

Lou 等^[17]建立了葡萄风信子 *M. armeniacum* 及其白色突变体转录组数据库。通过生物信息学比对发现 143 条花青素代谢的相关基因, 其中 28 条在不同花色的葡萄风信子中存在显著差异。结合蓝白葡萄风信子花色物质代谢谱信息, 最终确定 *DFR* 基因的低表达是决定葡萄风信子由蓝色变为白色的关键功能基因。*FLS* 基因通过对底物的竞争, 进一步将原先应该用于飞燕草素合成的底物导向无色的黄

酮类物质, 从而导致白色花的形成。Jin 等^[18]构建了瓜叶菊转录组数据库, 分离得到 43 个编码花青素代谢通路的结构基因与调节基因, 并分析了瓜叶菊白、黄、粉、洋红和蓝色花的呈色机制。结果表明, *ScbHLH17* 和 *ScCHI1/2* 编码区的突变, 分别导致了白色和黄色花品种无法积累花青素; 3 个分支酶 *ScF3'H1*、*ScF3'5'H* 和 *ScDFR1/2* 对柚皮素的竞争, 导致了瓜叶菊中花青素分支流分别向矢车菊素方向、飞燕草素方向和天竺葵素方向流动。

宿福园等^[19]利用转录组学分析了黑色柿子果皮的成色机制, 发现黑柿果皮转色过程中花青苷代谢途径的 *CHS* 家族基因有多个且大量上调表达, 由此产生大量的底物。虽然 *CHI* 和 *F3H* 两个基因家族没有表现明显的上调表达, 但由于底物较多, 会打开通路。*F3'H* 和 *F3'5'H* 为竞争关系, 反应底物相同, 在转色过程, *F3'H* 表达量升高, 而 *F3'5'H* 表达量下降。由此可以推断, 在生成二氢山柰酚之后, 经 *F3'H* 催化产生二氢槲皮素。*ANS* 与 *LAR* 共同竞争底物无色花色素, 在转色过程差异表达基因中没有找到 *LAR*, 而 *ANS* 大量表达, 因此大量产生花色素使得‘黑柿’果皮色素中最终呈现出由于高花青素积累形成的黑色。

3 在色素代谢调控上的研究进展

色素基因的表达除了转录调控, 还会出现在序列差异、甲基化、miRNA 甚至蛋白层面, 利用转录组获得差异表达基因, 继而进行下游研究工作, 研究者们获得了大量关于花青素和类胡萝卜素代谢调控机制方面的可喜成果。

转录调控方面, Yamagishi 等^[20]通过对百合花瓣飞溅部位和正常着色部位进行转录组测序, 结合序列分析发现, *LhMYB12* 不同剪接形式决定了花瓣性状的形成。猴面花中, 通过转录组测序找到了在花瓣、条纹及蜜腺处特异表达的不同的 MYB 转录因子家族成员^[21]。Lee 等^[22]通过在挖掘番茄类胡萝卜素代谢调控机制时结合使用转录组测序技术, 首先明确了番茄果实成熟过程中各类胡萝卜素组分的含量变化, 继而取对应点的果肉进行转录组测序, 共检测到 953 个 unigenes 能够至少与一个组分呈现正相关关系, 并找到了 6 个与前人报道一致的基因,

包括 *RIN-MADS*、*CNR*、*LeEIL*、*Le-HB1*、*SIAP2a* 和 *TAGL1*，以及一个新的编码 AP2 类转录因子家族的 *SIERF6* 基因。RNAi 实验证明，抑制该基因造成了转基因植株类胡萝卜素含量的大幅降低。另外，基因转录过程中的剪接加工是基因表达调控的重要机制，可变剪接是转录组复杂多样性的重要来源。Bashandy 等^[23]通过对非洲菊红色品种‘Estelle’及其白色突变体‘Ivory’进行转录组分析发现，非洲菊共有 4 个 *DFR* 基因，但在‘Ivory’中，两个在天竺葵色素苷合成中起重要作用的 *DFR* 基因序列上发生了可变剪接变异，因此出现白色花突变体。

除转录调控外，近来有研究表明，在花青素和类胡萝卜素的合成过程中，DNA 甲基化可使器官颜色发生明显改变。El-Sharkawy 对红皮苹果‘Kidd’s D-8’ (KID) 及其黄皮突变体‘Blondee’ (BLO) 进行了转录组测序发现，22 个差异表达基因中，*MdMYB10* (MDP0000259614) 和 *MdGST* (MDP0000252292) 的表达发生了显著变化，但两者在序列上无明显差异。甲基化测序证明，*MdMYB10* 启动子区的 MR3 和 MR7 区域发生了甲基化，而在 BLO 中该基因呈现高甲基化状态，使得其无法正常转录，继而影响下游结构基因的表达^[24]。在苹果其他品种中，*MdMYB10* 启动子序列中发生超甲基化还会导致条纹果皮的出现^[25]。

MicroRNA 在色素代谢中亦发挥着重要作用。随着高通量测序技术的发展，其调控机理亦开始被人们关注。Saminathan 等^[26]通过对石榴种子进行小 RNA 测序发现，miR156 在果皮成熟后期高峰期表达，以抑制 SPL 类转录因子的活性，从而调控花青素代谢的积累。在心理美萝卜的根中，结合 MiRNA 和 mRNA 测序发现了 52 个已知 miRNA (如 miR156、miR828 和 miR858) 和 20 个新的 miRNA 参与其着色，预测其靶基因包括 MYBs、bHLH、WD40、SPLs、ARF、EIN3、WRKY、MADS-box 和 ABC transporter 等参与花青素代谢调控及转运的基因。Xu 等^[27]利用高通量测序的方法分析了‘暗柳’和其类胡萝卜素突变体‘红暗柳’甜橙花后 170 d 的果实中 microRNA 的差异，结果发现 60 个 microRNA 有显著性表达差异，进一步对差异表达的 microRNA 靶定到的 418 个基因进行分析，发现这些基因大多

参与转录调控、光合作用和蛋白修饰。

4 色素代谢新基因的分选

随着对以上两类色素的研究深入，其在园艺植物上色上的机制被越来越多地提出，如色素的修饰、转运和下包内环境等，均有可能对呈色造成差异。尤其在类胡萝卜素方面，由于其调控机制较花青素更为保守，调控等方面的基因很少，利用转录组深入探寻上述机制，挖掘新基因是一种很好的方法。

Tzuri 等^[28]在研究南瓜果肉中类胡萝卜素积累时，利用 bulk segregant transcriptome 转录组测序技术分离了控制类胡萝卜素积累的关键基因。由于数量性状位点控制的表型性状在作图群体中呈现近似正态分布，分别选取 F3 群体中两种极端表型个体，等量 RNA 混合后构成两个混合池，进行转录组测序，即 BSR-Seq (Bulked Segregant RNA-Seq)。BSR-Seq 除了能在基因表达水平揭示差异表达基因，还能在序列变异水平筛选出与极端表型相关的位点。这种新的分析思路有效地缩小了候选基因范围，为数量性状相关基因定位提供了新选择。Tzuri 等利用黄色果肉与白色果肉南瓜品种进行杂交，获得颜色分离的 F3 代群体后，分离得到了控制果肉颜色的 golden SNP，通过生物信息学分析发现该位点位于类胡萝卜素转运相关基因 *Or* 内。该方法目前被越来越多地引入到新基因分离的研究中，Sagawa 等^[29]利用化学诱变得到了 *Mimulus lewisii* 类胡萝卜素合成减少的突变体，继而通过杂交群体构建及混合池测序的方法，得到了调控该物种类胡萝卜素合成的 1 个 R2R3 类 MYB 转录因子 *RCPI*。

此外，亦有很多学者利用遗传群体结合转录组测序，分离得到色素代谢中的关键基因。Zhou 等^[30]通过 QTL 定位将红叶桃红叶性状定位于其 6 号染色体的 Gr 区段内，通过转录组测序发现该区段内的 *MYB10.4* 基因在绿叶与红叶品种中差异表达，瞬时表达证明其能够使转基因烟草积累花青素。而在桃果肉中，其花青素积累机制与叶片中并不相同，Han 和 Zhou 等通过遗传作图及转录组分析，发现 MYB 类基因表达并不与果实中的花青素积累呈现正相关，利用找到的 NAC 类转录因子 *BLOOD*，经 VIGS 分析发现，抑制株系果肉中的花青素含量大幅减少^[31]。

朱满兰等^[32]通过对睡莲花色表型以及类黄酮成分的分析发现,耐寒睡莲和热带蓝色睡莲花瓣中Dp型色素与Cy型色素含量的比例不同、糖苷化位置也不同。在热带蓝色睡莲花瓣中,花青素苷全部是3'位发生酰基化的Dp型糖苷;在耐寒睡莲花瓣中,只检测到了3位Dp型糖苷。进一步转录组学研究表明,蓝色花瓣呈色是通过糖苷化位置从3位移到3'位来实现,利用转录组学比较两者之间的表达谱,结合基因表达分析及上述代谢组分析,找到了控制该过程的新基因*UA3GT*^[33]。

5 环境对色素代谢的影响

色素合成与积累过程往往与植物发育过程密切相关,并由内外因子共同控制。环境因子通过诱导植物体内色素合成途径相关基因的表达来调控其呈色反应。利用环境因子调控花色将会极大地提高花卉的观赏价值。影响色素代谢及呈色的外界环境因子主要包括光、温度、激素和糖等^[34]。

光是影响花青素苷合成最重要的环境因子之一。花青素苷的合成与否及其合成量与光受体和光信号转导因子密切相关^[35]。Hong等^[13]以光合成花青素的菊花品种‘丽金’为材料,使用数字基因表达谱技术比对了正常光照与遮光后舌状花不同发育阶段的基因表达情况,证明*CmHY5*的表达量与花青素苷的含量呈正相关关系,而*CmPHYA*、*CmPHYB*、*CmCRY1a*、*CmCRY1b*和*CmCRY2*等5个光受体基因的表达与花青素苷的依光合成相关性较弱;*CmCOPI*基因的表达与花青素苷的含量也没有明显的相关性。而荔枝中的转录组学研究证明,*HY5*、*NAC*、*ATHBs*、*FHY*是其果皮花青素依光合成的节点基因^[36]。Wu等^[37]在进行葡萄花青素研究中发现,‘京秀’经过去光处理后果皮变成绿色,而‘京艳’经过去光处理后果皮仍为红色,表现为光不依赖型。通过两者遮光后的转录组学分析发现在‘京艳’果皮中,*UFGT*和*VvMYBA1*的表达不依赖于光。其调控是由于HY5泛素化通路的*COP9*、*cullins*、*RING-Box 1*和*COPI*结合蛋白的表达量发生了显著变化。

花青素和类胡萝卜素均受温度调控,一般情况下,温度升高会导致类胡萝卜素和花青素的减少或消失,而低温会诱导两类色素的积累。目前,低温

诱导机制研究的较为清晰,Li等^[38]发现,转花青素糖基化酶基因*UFGT*的植株能够积累更多花青素以抵御低温,这种诱导是由于*UFGT*基因受到了上游抗性基因*CBF1*诱导。而低温诱导番茄花青素合成是由bHLH转录因子调控的,Qiu等^[39]通过对转bHLH类转录因子基因*AH*番茄株系进行高通量测序发现,其不仅能够在低温条件下诱导花青素合成,而且能够促进活性氧清除等抗逆基因的表达。Movahed等^[40]发现,同样是活性氧通路的*VviPrx31*基因在葡萄高温下花青素降解途径中发挥调节作用。类胡萝卜素研究方面,其本身就是高等植物在逆境胁迫下非常重要的响应逆境的次生代谢物质,但目前关于该通路与胁迫通路之间的交联作用报道很少,而转录组学技术的蓬勃发展,是解决这一问题的有效技术手段。

激素、氮或磷的含量亦是影响色素合成的重要环境因子。研究发现GA可以通过诱导*CHS*、*CHI*、*DFR*、*ANS*和*RT*基因的表达,促进花青素苷的合成^[35]。茉莉酮酯酸(Jasmonic acid, JA)和脱落酸(Abscisic acid, ABA)能与糖协同作用于花青素苷合成途径^[41]。在红肉苹果愈伤组织培养基中施加2,4-D和NAA,通过转录组分析发现,9个*Aux/IAA*和7个*ARF*基因表达上调,而MYB家族*MYB75*(*MdMYB10*)、*MYB12*、*MYB111*、*MYB113*、*TT2*和*TT8*表达量下降^[42]。对拟南芥独脚金内酯max突变体转录组学发现,MYB类转录因子PAP表达量降低,证明该激素通过max基因调控PAP表达,从而对花青素积累起作用^[43]。Hsieh等^[44]通过高通量RNA测序结果表明,缺磷胁迫能够同时诱导拟南芥miR828及其靶基因*PAP1/MYB75*、*PAP2/MYB90*和*MYB113*的上调表达,过表达miR828拟南芥转基因植株中*TAS4*、*PAP1/MYB75*、*PAP2/MYB90*和*MYB113*的表达量均显著下调,花青素含量降低。

6 基于基因组学的园艺植物色素代谢分析

随着第二代测序技术的诞生,测序通量大幅提升,单位数据量测序价格显著下降,还允许使用组合的测序策略,使多个样品可同时在一个反应池中进行测序^[45-47]。在此背景下,越来越多的园艺植物基因组完成了全基因组测序和草图绘制(如黄瓜、

番茄、苹果、凤梨和梅花等)^[48-52], 同时以模式物种为起点的重测序也陆续得到展开。通过群体结构及选择压力分析等研究策略, 一些在进化中决定色素合成的重要基因资源被挖掘。

黄三文等^[53]对 115 个黄瓜品系进行了深度重测序, 并构建了包含 360 多万个位点的全基因组遗传变异图谱。黄瓜基因组中有 100 多个区域受到了驯化选择, 包含 2 000 多个基因。上述研究创造性地运用了群体分化这一新分析算法, 发现了 1 个西双版纳黄瓜特有的突变。该突变导致了编码 β -胡萝卜素羟化酶的基因失效, 从而导致西双版纳黄瓜在果实成熟期不能降解 β -胡萝卜素, 使得西双版纳黄瓜具有特有的橙色果肉, 而不是大部分黄瓜所呈现的白色或浅绿色果肉颜色。国际番茄变异组研究团队通过对世界各地的 360 份番茄种质进行了重测序分析, 构建了完整的番茄遗传变异组图谱。通过全基因组关联分析, 发现了决定粉果果皮颜色的关键变异位点, 此位点的变异导致 *SIMYB12* 基因启动子区域的缺失, 进而影响该基因的表达, 从而使得成熟的粉果番茄果皮中不能积累类黄酮, 这一发现为培育粉果番茄品种提供了有效的分子育种工具^[54]。2016 年, 胡萝卜全基因组测序完成。该研究利用两个作图群体, 确定了在黄色和暗橙色根中都是 *Y* 基因调节类胡萝卜素的大量累积, 精细的定位分析确定了 5 号染色体上含有 *Y* 基因的一段 75 Kb 区域, 但此区域预测的 8 个基因中没有一个是与已知异戊二烯生物合成基因具有同源性, 该区域中 *DCAR_032551* 是唯一含有突变而造成类胡萝卜素差异的基因。*DCAR_032551* 在其第二个外显子上含有一个 212 nt 的插入, 导致黄色和暗橙色胡萝卜中形成了移码突变^[55]。

7 展望

近 20 年来, 基于高通量分析的系统生物学研究飞速发展, 组学研究不断拓展。组学研究涉及核酸、蛋白、代谢物、表型等各个层次, 包括基因组学、蛋白组学和代谢组学等, 已成为系统生物学研究的重要方向。另外, 虽然转录组能够得到大量表达序列标签, 但鉴于基因表达调控发生在染色体、DNA 水平、转录后、翻译及翻译后水平, 且存在微效多

基因效应, 因此, 仅依靠转录组分析色素合成的节点基因仍存在困难。随着越来越多园艺植物全基因组框架的完成及多态性分子标记的开发, 利用 QTL 定位主效位点, 结合转录组测序分离重要基因, 是一条行之有效的办法。

参考文献

- [1] Tanaka Y, Sasaki N, Ohmiya A. Biosynthesis of plant pigments : anthocyanins, betalains and carotenoids [J]. *The Plant Journal*, 2008, 54 (4): 733-749.
- [2] Liu L, Shao Z, Zhang M, et al. Regulation of carotenoid metabolism in tomato [J]. *Molecular Plant*, 2015, 8 : 28-39.
- [3] 高慧君, 明家琪, 张雅娟, 等. 园艺植物中类胡萝卜素合成与调控的研究进展. *园艺学报* [J]. 2015, 42 : 1633-1648.
- [4] Jaakola L. New insights into the regulation of anthocyanin biosynthesis in fruits [J]. *Trends in Plant Science*, 2013, 18 (9): 477-483.
- [5] Li W, Liu Y, Zeng S, et al. Gene expression profiling of development and anthocyanin accumulation in kiwifruit (*Actinidia chinensis*) based on transcriptome sequencing [J]. *PLoS One*, 2015, 10 (8): e0136439.
- [6] Liu Y, Zeng S, Sun W, et al. Comparative analysis of carotenoid accumulation in two goji (*Lycium barbarum* L. and *L. ruthenicum* Murr.) fruits [J]. *BMC Plant Biology*, 2014, 14 (1): 269.
- [7] Ma J, Li J, Zhao J, et al. Inactivation of a gene encoding carotenoid cleavage dioxygenase (CCD4) leads to carotenoid-based yellow coloration of fruit flesh and leaf midvein in peach [J]. *Plant Molecular Biology Reporter*, 2014, 32 (1): 246-257.
- [8] Ohmiya A, Kishimoto S, Aida R, et al. Carotenoid cleavage Dioxygenase (CmCCD4a) contributes to white color formation in chrysanthemum petals [J]. *Plant Physiology*, 2006, 142 : 1193-1201.
- [9] Zhang B, Liu C, Wang YQ, et al. Disruption of a *CAROTENOID CLEAVAGE DIOXYGENASE 4* gene converts flower colour from white to yellow in *Brassica* species [J]. *New Phytologist*, 2015, 206 (4): 1513-1526.
- [10] Ahn JH, Kim JS, Kim S, et al. *De novo* transcriptome analysis to identify anthocyanin biosynthesis genes responsible for tissue-specific pigmentation in zoysiagrass (*Zoysia japonica*

- Steud.) [J]. PLoS One, 2015, 10 (4): e0124497.
- [11] Liu Y, Linwang K, Deng C, et al. Comparative transcriptome analysis of white and purple potato to identify genes involved in anthocyanin biosynthesis [J]. PLoS One, 2015, 10 (6): e0129148.
- [12] Fukushima A, Nakamura M, Suzuki H, et al. High-throughput sequencing and de novo assembly of red and green forms of the *Perilla frutescens* var. *crispa* transcriptome [J]. PLoS One, 2015, 10 (6): e0129154.
- [13] Hong Y, Tang X, Huang H, et al. Transcriptomic analyses reveal species-specific light-induced anthocyanin biosynthesis in chrysanthemum [J]. BMC Genomics, 2015, 16 (1): 1-18.
- [14] Wu ZG, Jiang W, Mantri N, et al. Transcriptome analysis reveals flavonoid biosynthesis regulation and simple sequence repeats in yam (*Dioscorea alata* L.) tubers [J]. BMC Genomics, 2015, 16 (1): 346.
- [15] Casimiro-Soriguer I, Narbona E, Buide M, et al. Transcriptome and biochemical analysis of a flower color polymorphism in *Silene littorea* (Caryophyllaceae) [J]. Frontiers in Plant Science, 2016, 7 (939): 204.
- [16] Mushtaq MA, Pan Q, Chen D, et al. Comparative leaves transcriptome analysis emphasizing on accumulation of anthocyanins in brassica: molecular regulation and potential interaction with photosynthesis [J]. Frontiers in Plant Science, 2016, 7: 311.
- [17] Lou Q, Liu Y, Qi Y, et al. Transcriptome sequencing and metabolite analysis reveals the role of delphinidin metabolism in flower colour in grape hyacinth [J]. Journal of Experimental Botany, 2014, 65 (12): 3157-3164.
- [18] Jin X, Huang H, Wang L, et al. Transcriptomics and metabolite analysis reveals the molecular mechanism of anthocyanin biosynthesis branch pathway in different *senecio cruentus* cultivars [J]. Frontiers in Plant Science, 2016, 7 (107): 1307.
- [19] 宿福园, 姚延兴, 李长林, 等. 中国园艺学会 2015 年学术年会论文摘要集: 黑柿花青苷累积的转录组和表达谱分析 [C]. 北京: 中国林业出版社, 2015.
- [20] Yamagishi M, Toda S, Tasaki K. The novel allele of the LhMYB12 gene is involved in splatter-type spot formation on the flower tepals of Asiatic hybrid lilies (*Lilium* spp.) [J]. New Phytologist, 2014, 201 (3): 1009-1020.
- [21] Yuan YW, Sagawa JM, Frost L, et al. Transcriptional control of floral anthocyanin pigmentation in monkeyflowers (*Mimulus*) [J]. New Phytologist, 2014, 204 (4): 1013-1027.
- [22] Lee JM, Joung JG, McQuinn R, et al. Combined transcriptome, genetic diversity and metabolite profiling in tomato fruit reveals that the ethylene response factor SlERF6 plays an important role in ripening and carotenoid accumulation [J]. Plant Journal, 2012, 70 (2): 191-204.
- [23] Bashandy H, Pietiäinen M, Carvalho E, et al. Anthocyanin biosynthesis in gerbera cultivar 'Estelle' and its acyanic sport 'Ivory' [J]. Planta, 2015, 242 (3): 601-611.
- [24] El-Sharkawy I, Liang D, Xu K. Transcriptome analysis of an apple (*Malus × domestica*) yellow fruit somatic mutation identifies a gene network module highly associated with anthocyanin and epigenetic regulation [J]. Journal of Experimental Botany, 2015, 47 Suppl 1 (22): 218-225.
- [25] Xu Y, Feng S, Jiao Q, et al. Comparison of *MdMYB1* sequences and expression of anthocyanin biosynthetic and regulatory genes between *Malus domestica* Borkh. cultivar 'Ralls' and its blushed sport. [J]. Euphytica, 2012, 185 (2): 157-170.
- [26] Saminathan T, Bodunrin A, Singh NV. Genome-wide identification of microRNAs in pomegranate (*Punica granatum* L.) by high-throughput sequencing [J]. BMC Plant Biology, 2016, 16(1): 1-16.
- [27] Xu Q, Liu Y, Zhu A, et al. Discovery and comparative profiling of microRNAs in a sweet orange red-flesh mutant and its wild type [J]. BMC Genomics, 2010, 11 (1): 1-17.
- [28] Tzuri G, Zhou X, Chayut N, et al. A 'golden' SNP in CmOr governs the fruit flesh color of melon (*Cucumis melo*) [J]. Plant Journal for Cell & Molecular Biology, 2015, 82 (2): 267-279.
- [29] Sagawa JM, Stanley LE, Lafountain AM, et al. An R2R3-MYB transcription factor regulates carotenoid pigmentation in *Mimulus lewisii* flowers [J]. New Phytologist, 2016, 209 (3): 1049-1057.
- [30] Zhou Y, Zhou H, Linwang K, et al. Transcriptome analysis and transient transformation suggest an ancient duplicated MYB transcription factor as a candidate gene for leaf red coloration in peach [J]. BMC Plant Biology, 2014, 14 (1): 1-13.
- [31] Zhou H, Linwang K, Wang H, et al. Molecular genetics of blood-fleshed peach reveals activation of anthocyanin biosynthesis by NAC transcription factors [J]. Plant Journal, 2015, 82 (1):

- 105-121.
- [32] 朱满兰, 王亮生, 张会金, 等. 耐寒睡莲花瓣中花青素苷组成及其与花色的关系 [J]. 植物学报, 2012, 47 (5): 437-453.
- [33] Wu Q, Wu J, Li SS, et al. Transcriptome sequencing and metabolite analysis for revealing the blue flower formation in waterlily [J]. BMC Genomics, 2016, 17 (1): 897.
- [34] Weiss D. Regulation of flower pigmentation and growth: Multiple signaling pathways control anthocyanin synthesis in expanding petals [J]. *Physiologia Plantarum*, 2000, 110 (2): 152-157.
- [35] 胡可, 韩科厅, 戴思兰. 环境因子调控植物花青素苷合成及呈色的机理 [J]. 植物学报, 2010, 45 (3): 307-317.
- [36] Zhang HN, Li WC, Wang HC, et al. Transcriptome profiling of light-regulated anthocyanin biosynthesis in the pericarp of litchi [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2016, 07 (225).
- [37] Wu BH, Cao YG, Guan L, et al. Genome-wide transcriptional profiles of the berry skin of two red grape cultivars (*Vitis vinifera*) in which anthocyanin synthesis is sunlight-dependent or -independent [J]. *PLoS One*, 2014, 9 (9): e105959.
- [38] Li P, Li YJ, Zhang FJ, et al. The *Arabidopsis* UDP-glycosyltransferases UGT79B2 and UGT79B3, contribute to cold, salt and drought stress tolerance via modulating anthocyanin accumulation [J]. *The Plant Journal*, 2017, 89 (1): 85-103.
- [39] Qiu Z, Wang X, Gao J, et al. The tomato hoffman' s anthocyaninless gene encodes a bHLH transcription factor involved in anthocyanin biosynthesis that is developmentally regulated and induced by low temperatures [J]. *PLoS One*, 2016, 11 (3): e0151067.
- [40] Movahed N, Pastore C, Cellini A, et al. The grapevine VviPrx31 peroxidase as a candidate gene involved in anthocyanin degradation in ripening berries under high temperature [J]. *Journal of Plant Research*, 2016, 129 (3): 513-526.
- [41] Loreti E, Povero G, Novi G, et al. Gibberellins, jasmonate and abscisic acid modulate the sucrose-induced expression of anthocyanin biosynthetic genes in *Arabidopsis* [J]. *New Phytologist*, 2008, 179 (4): 1004-1016.
- [42] Ji XH, Zhang R, Wang N, et al. Transcriptome profiling reveals auxin suppressed anthocyanin biosynthesis in red-fleshed apple callus (*Malus sieversii* f. *niedzwetzkyana*) [J]. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 2015, 123 (2): 389-404.
- [43] Ito S, Nozoye T, Sasaki E, et al. Strigolactone regulates anthocyanin accumulation, acid phosphatases production and plant growth under low phosphate condition in *Arabidopsis* [J]. *PLoS One*, 2015, 10 (3): e0119724.
- [44] Hsieh L-C, Lin S-I, Shih AC-C, et al. Uncovering small RNA-mediated responses to phosphate deficiency in *Arabidopsis* by deep sequencing [J]. *Plant Physiology*, 2009, 151 (4): 2120-2132.
- [45] Mardis ER. The impact of next-generation sequencing technology on genetics [J]. *Trends in Genetics*, 2008, 24 (3): 133-141.
- [46] 王云生. 基于高通量测序的植物群体基因组学研究进展 [J]. 遗传, 2016, 38 (8): 688-699.
- [47] Craig DW, Pearson JV, Szelinger S, et al. Identification of genetic variants using bar-coded multiplexed sequencing [J]. *Nature Methods*, 2008, 5 (10): 887-893.
- [48] Ming R, Vanburen R, Wai CM, et al. The pineapple genome and the evolution of CAM photosynthesis [J]. *Nature Genetics*, 2015, 47 (12): 1435-1442.
- [49] Huang S, Li R, Zhang Z, et al. The genome of the cucumber, *Cucumis sativus* L. [J]. *Nature Genetics*, 2009, 41 (12): 1275-1281.
- [50] Bolger A, Scossa F, Bolger ME, et al. The genome of the stress-tolerant wild tomato species *Solanum pennellii* [J]. *Nature Genetics*, 2014, 46 (9): 1034-1038.
- [51] Zhang Q, Chen W, Sun L, et al. The genome of *Prunus mume* [J]. *Nature Communications*, 2011, 3 (4): 187-190.
- [52] Velasco R, Zharkikh A, Affourtit J, et al. The genome of the domesticated apple (*Malus × domestica* Borkh.) [J]. *Nature Genetics*, 2010, 42 (10): 833-839.
- [53] Qi JJ, Liu X, Shen D, et al. A genomic variation map provides insights into the genetic basis of cucumber domestication and diversity [J]. *Nature Genetics*, 2013, 45 (12): 1510-1515.
- [54] Lin T, Zhu G, Zhang J, et al. Genomic analyses provide insights into the history of tomato breeding [J]. *Nature Genetics*, 2014, 46 (11): 1220-1226.
- [55] Iorizzo M, Ellison S, Senalik D, et al. A high-quality carrot genome assembly provides new insights into carotenoid accumulation and asterid genome evolution [J]. *Nature Genetics*, 2016, 48 (6): 657.