

· 热点评 ·

中国科学家在番茄与黄瓜的驯化及品质形成的分子机理研究中取得突破性进展

邓磊, 杜敏敏, 李传友*

中国科学院遗传与发育生物学研究所, 植物基因组学国家重点实验室, 北京 100101

摘要 经过长期的人工选择和驯化过程, 番茄(*Solanum lycopersicum*)和黄瓜(*Cucumis sativus*)已经成为世界范围内广泛栽培且深受人们喜爱的可口蔬菜。最近, 中国科学家在番茄和黄瓜的人工驯化与品质形成的分子机理研究中取得了突破性进展。

关键词 番茄, 黄瓜, 驯化, 葫芦素

邓磊, 杜敏敏, 李传友 (2015). 中国科学家在番茄与黄瓜的驯化及品质形成的分子机理研究中取得突破性进展. 植物学报 50, 275–278.

番茄(*Solanum lycopersicum*)和黄瓜(*Cucumis sativus*)果实具有很高的营养价值和经济价值, 如今已成为全世界广泛种植并深受人们喜爱的大宗蔬菜作物。我国是世界第一大番茄和黄瓜生产国, 栽培面积和总产量均居世界首位。尽管人们对于番茄和黄瓜的人工驯化及品质形成机理已经有一定的认识, 但对若干重要问题的认识还非常局限或知之甚少。例如, 番茄和黄瓜是如何从各自的野生种驯化而来? 在驯化的过程中都有哪些基因受到了严格的选择? 二者优良的果实品质是如何在驯化过程中逐渐形成的? 最近, 我国科学家在相关问题的研究中取得了突破性进展(Lin et al., 2014; Shang et al., 2014)。

番茄起源于南美洲安第斯山脉, 随着人类迁移和驯化逐渐传到中美洲和墨西哥一带, 16世纪传到欧洲, 在随后的几百年中番茄被传播到世界各地。如今番茄已经成为品种多样且在世界范围内广泛种植的大宗蔬菜作物。在科研上, 番茄也是研究果实发育和抗性反应的重要模式系统。一般认为, 普通大果番茄的祖先很可能是樱桃番茄(*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*), 而樱桃番茄又是从野生醋栗番茄(*Solanum pimpinellifolium*)驯化而来。尽管如此, 迄今尚无以证实番茄驯化及改良历史的分子证据。最近, 由中国农业科学院黄三文研究员、杜永臣研究员、

华中农业大学叶志彪教授和东北农业大学李景富教授联合组织的国际番茄变异组研究团队, 通过对来自世界各地的360份番茄种质资源进行全基因组分析, 构建了单核苷酸分辨率的番茄变异组图谱, 重建了番茄驯化和育种的基因组历史(Lin et al., 2014)。

黄三文研究组对360份番茄种质材料进行了重测序, 包括333份分别代表不同地理来源、消费类型和改良状态的红果番茄、10份番茄野生种材料以及17份商业化的番茄一代杂种(F₁)。他们通过对360份番茄种质材料的重测序共获得了1 160多万个单核苷酸多态性位点(single nucleotide polymorphisms, SNPs)和130多万个插入和删除(indels)。他们还利用20 111个4倍简并位点上的SNP(代表中性或近中性变异)构建系统进化树支持基于番茄果重的分类结果, 即将331份红果番茄分为3类: PIM、CER和BIG。PIM包括53份醋栗番茄(果重(2.04±0.85) g), CER包括112份樱桃番茄(果重(13.29±9.54) g), 而BIG包括166份大果番茄(果重(111.33±68.19) g)。进一步分析显示, PIM的核苷酸多样性(π value=3.23×10⁻³)显著高于CER (π value=1.74×10⁻³)和BIG (π value=0.73×10⁻³) (Lin et al., 2014)。此外, 将野生番茄(*S. pennellii*)的基因组(Bolger et al., 2014)与普通栽培番茄Heinz 1706的基因组比对, 发现*S. pennellii*含有

收稿日期: 2015-04-27; 接受日期: 2015-04-28

* 通讯作者。E-mail: cyli@genetics.ac.cn

350多万个特有的SNP。这些SNP在PIM中保留了30.4%，在CER中保留了6.6%，而在BIG中仅保留了2.8%。上述证据支持樱桃番茄(CER)是由醋栗番茄(PIM)驯化(domestication)而来，而大果栽培番茄(BIG)则是由樱桃番茄(CER)进一步改良(improvement)而来(Lin et al., 2014)。

在由野生醋栗番茄驯化改良成大果栽培番茄的进化过程中，番茄果重这一性状受到了严格的选择而变大100多倍。利用群体遗传学分析手段，黄三文研究组发现由醋栗番茄形成樱桃番茄(驯化)，最终成为大果栽培番茄(改良)的两步进化过程中，分别有64.6 Mb和54.5 Mb的基因组序列受到严格的选择。进一步分析发现5个果重相关的QTLs (*fw1.1*、*fw5.2*、*fw7.2*、*fw12.1*和*lc12.1*) 在PIM到CER的驯化过程中受到选择，另外13个果重相关QTLs则在CER到BIG的改良过程中受到了人类的定向选择(Lin et al., 2014)。

番茄在世界各地被广泛种植，由于不同的消费习惯产生了不同类型的分化。黄三文研究组运用群体分化的分析算法，发现第5号染色体是决定鲜食番茄与加工番茄差异的主要基因组区域，此区域含有多个控制番茄可溶性固形物(*ssc5.1*、*ssc5.2*和*ssc5.3*)和果实硬度(*fir5.1*)的QTLs，这些QTLs赋予了加工番茄显著的特征(Lin et al., 2014)。粉果番茄在中国北方和日本备受偏爱，尽管控制其果皮颜色的*y*基因已经被克隆，该基因编码SIMYB12，控制果皮中类黄酮的积累(Adato et al., 2009; Ballester et al., 2010)，但决定粉果番茄果皮颜色的关键变异位点仍不清楚。黄三文研究组通过全基因组关联分析(genome-wide association study, GWAS)，发现了1个决定粉果番茄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1个603 bp片段的缺失，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(Lin et al., 2014)。该发现为培育粉果番茄品种提供了有效的分子育种工具。

在现代番茄育种中，野生种质资源被广泛应用。通过比较分析，黄三文研究组准确地界定了各类来源于不同野生番茄的渐渗片段在栽培番茄基因组中的位置和长度。他们通过对297份栽培番茄基因组进行分析，发现番茄的驯化和野生资源的利用共导致约25% (200 Mb)的基因组区域被固定(Lin et al., 2014)，这严重地限制了对番茄的进一步改良。因此，番茄基

因组框架的重新构建将是番茄改良的新途径。

与番茄一样，黄瓜也是人们日常生活中不可或缺的蔬菜。然而在黄瓜生产中，特别是在保护地条件下，干旱、低温和高温等逆境因素会导致黄瓜果实变苦，严重影响果实的品质和销售前景。黄瓜果实的苦味是由一类称为葫芦素(cucurbitacins)的次生代谢产物引起的(Chen et al., 2005)。葫芦素属于四环三萜化合物，广泛存在于葫芦科蔬菜中。虽然葫芦素对果实的口感起负面作用，但却可以作为一类天然杀虫剂保护葫芦科植物免受众多植食性动物和病原菌的侵害(Da Costa and Jones, 1971)。此外，葫芦素还具有很好的药用价值。最早在《本草纲目》中就记载富含葫芦素的甜瓜瓜蒂具有催吐和消炎的功效。最新研究发现葫芦素能够有效抑制癌细胞的生长，可与其它抗癌药物一起应用于癌症的治疗(Thoennissen et al., 2009)。

葫芦素的种类很多，根据分子式的不同，可分为14种(葫芦素A、B、C……N)。黄瓜主要含有葫芦素C(cucurbitacins C)。尽管最近几年人们对于葫芦素的生物学以及药理学功能有了一定的认识，也筛选到一些与葫芦素相关的突变体，但对于其生物合成、调控以及驯化等若干重大问题还知之甚少。最近，黄三文研究员带领的团队综合利用基因组学、分子生物学、生物化学和遗传学等多种技术手段对这些重大问题进行了深度解析，并取得了突破性进展。

前人的研究表明，2个相互作用的基因座控制了黄瓜葫芦素C的生物合成。其中*Bi* (Bitter)基因参与了叶片和果实的苦味形成，而*Bt* (Bitter fruit)基因则只与果实的葫芦素C的合成有关(Huang et al., 2009; Qi et al., 2013)。通过对115份不同的黄瓜品系的全基因组关联性分析，黄三文研究组鉴定了1个与*Bi*基因座共定位的SNP，该SNP造成黄瓜*Csa6G088690*基因编码蛋白393位氨基酸残基从半胱氨酸到酪氨酸的突变(C393Y)。遗传分析表明*Csa6G088690*即为*Bi*基因。而来自生化实验的结果表明，*Csa6G088690*编码葫芦烯二醇合成酶，该酶催化2,3-氧鲨烯的环化反应，产生1分子的葫芦二烯醇。该反应是葫芦素C生物合成的第1个关键步骤。*Bi*基因C393Y的变异使其丧失了催化功能。此外，研究小组还鉴定到7个细胞色素P450基因(*Csa1G044890*、*Csa3G698490*、*Csa3G903540*、*Csa3G903550*、*Csa6G088160*、*Csa6G-*

088170和Csa6G088710)和1个酰基转移酶基因ACT (Csa6G088700)可能参与葫芦素C的生物合成。体外酶活实验证明, Csa3G903540、Csa6G088160和Csa6G088700分别催化葫芦二烯醇到19-羟基葫芦二烯醇、19-羟基葫芦二烯醇到19,15-二羟基葫芦二烯醇以及去酰基葫芦素C到葫芦素C的酶促反应。

为了进一步阐明黄瓜葫芦素C合成的调控机制, 黄三文研究团队对众多葫芦素相关突变体进行了重测序和遗传学分析。分析结果表明, 2个bHLH家族的转录因子(Csa5G157230和Csa5G156220)分别调控果实和叶片的苦味形成。其中Csa5G157230基因特异在苦味果实中表达, 并与*Bi*基因的表达呈正相关。农杆菌瞬时转化实验表明, Csa5G157230基因的过表达可以激活*Bi*基因以及其它合成基因的转录, 并促进葫芦素C在黄瓜果实中的积累。加之其与*Bt*基因的共同定位, Csa5G157230很可能就是先前报道的*Bt*基因。Csa5G156220是Csa5G157230的同源基因, 其在叶片中特异表达。酵母单杂交、染色质免疫共沉淀以及烟草荧光酶素瞬时报告实验表明, Csa5G156220也可以特异结合到*Bi*基因的启动子区域并激活后者的表达。R85K或内含子3'剪切位点的突变均会影响该蛋白与*Bi*基因启动子的结合能力, 进而产生黄瓜叶片不苦的表型。鉴于Csa5G156220特异性调控叶片中*Bi*基因的表达以及葫芦素C的生物合成, 该基因又被命名为*BI* (*Bitter leaf*)基因。

在阐明黄瓜葫芦素C合成以及调控的分子机理时, 研究小组还发现黄瓜野生种的叶片和果实都是十分苦的, 这一性状由*BI*和*Bt*基因共同控制。在野生黄瓜向栽培黄瓜驯化的过程中, *Bt*基因受到了选择, 导致无苦味黄瓜的出现。但这一驯化过程并不完全, 干旱、低温和高温等逆境条件可促进*Bt*基因的表达, 产生苦味黄瓜。进一步研究发现, *Bt*基因启动子区域有1个新的突变体——*SNP-1601*, 能够使*Bt*基因在逆境中不表达, 可控制黄瓜不变苦, 从而彻底避免苦味对黄瓜品质的影响。因此, 通过精确调节果实和叶片中*Bt*和*BI*的表达模式, 可以确保黄瓜果实中不积累苦味物质, 保证黄瓜的商品品质; 同时提高叶片中的葫芦素含量用于抵御害虫的侵害, 减少农药的使用, 并为葫芦素C的提取提供丰富的资源。

上述两项研究回答了番茄与黄瓜驯化过程中2个关键的科学问题。第1项研究通过基因组水平的分子

证据重现了番茄的驯化及改良历史, 为番茄生物学研究提供了新的工具, 也奠定了番茄全基因组设计育种的基础。第2项研究通过对黄瓜葫芦素合成调控机制的解析, 阐明了驯化过程中无苦味黄瓜的调控途径, 同时解决了长期影响黄瓜生产的一个重大应用问题, 是蔬菜基因组研究直接用于品种改良的优秀范例。然而作物品种的优良与否, 不仅仅是由大小或苦味等单一因素所决定的, 还涉及产量、品质和抗性等诸多性状。因此, 对更多关键农艺性状调控基因的挖掘和解析以及分子模块化设计是使我国真正成为育种强国的必由之路。黄三文研究组的研究成果为我们树立了标杆, 也为后续研究工作的展开提供了值得借鉴的方法和思路。

参考文献

- Adato A, Mandel T, Mintz-Oron S, Venger I, Levy D, Yativ M, Domínguez E, Wang Z, De Vos RC, Jetter R, Schreiber L, Heredia A, Rogachev I, Aharoni A (2009). Fruit-surface flavonoid accumulation in tomato is controlled by a SIMYB12-regulated transcriptional network. *PLoS Genet* 5, e1000777.
- Ballester A, Molthoff J, de Vos R, Hekkert BL, Orzaez D, Fernández-Moreno JP, Tripodi P, Grandillo S, Martin C, Heldens J, Ykema M, Granell A, Bovy A (2010). Biochemical and molecular analysis of pink tomatoes: deregulated expression of the gene encoding transcription factor SIMYB12 leads to pink tomato fruit color. *Plant Physiol* 152, 71–84.
- Bolger A, Scossa F, Bolger ME, Lanz C, Maumus F, Tohge T, Quesneville H, Alseekh S, Sørensen I, Lichtenstein G, Fich EA, Conte M, Keller H, Schneeberger K, Schwacke R, Ofner I, Vrebalov J, Xu Y, Osorio S, Aflitos SA, Schijlen E, Jiménez-Gómez JM, Ryngajillo M, Kimura S, Kumar R, Koenig D, Headland LR, Maloof JN, Sinha N, van Ham RC, Lankhorst RK, Mao L, Vogel A, Arsova B, Panstruga R, Fei Z, Rose JK, Zamir D, Carrari F, Giovannoni JJ, Weigel D, Usadel B, Fernie AR (2014). The genome of the stress-tolerant wild tomato species *Solanum pennellii*. *Nature Genet* 46, 1034–1038.
- Chen JC, Chiu MH, Nie RL, Cordell GA, Qiu SX (2005). Cucurbitacins and cucurbitane glycosides: structures and biological activities. *Nat Prod Rep* 22, 386–399.
- Da Costa CP, Jones CM (1971). Cucumber beetle resistance and mite susceptibility controlled by the bitter gene in *Cucumis sativus* L. *Science* 172, 1145–1146.

Huang S, Li R, Zhang Z, Li L, Gu X, Fan W, Lucas WJ, Wang X, Xie B, Ni P, Ren Y, Zhu H, Li J, Lin K, Jin W, Fei Z, Li G, Staub J, Kilian A, van der Vossen EA, Wu Y, Guo J, He J, Jia Z, Ren Y, Tian G, Lu Y, Ruan J, Qian W, Wang M, Huang Q, Li B, Xuan Z, Cao J, Asan, Wu Z, Zhang J, Cai Q, Bai Y, Zhao B, Han Y, Li Y, Li X, Wang S, Shi Q, Liu S, Cho WK, Kim JY, Xu Y, Heller-Uszynska K, Miao H, Cheng Z, Zhang S, Wu J, Yang Y, Kang H, Li M, Liang H, Ren X, Shi Z, Wen M, Jian M, Yang H, Zhang G, Yang Z, Chen R, Liu S, Li J, Ma L, Liu H, Zhou Y, Zhao J, Fang X, Li G, Fang L, Li Y, Liu D, Zheng H, Zhang Y, Qin N, Li Z, Yang G, Yang S, Bolund L, Kristiansen K, Zheng H, Li S, Zhang X, Yang H, Wang J, Sun R, Zhang B, Jiang S, Wang J, Du Y, Li S (2009). The genome of the cucumber, *Cucumis sativus* L. *Nat Genet* **41**, 1275–1281.

Lin T, Zhu G, Zhang J, Xu X, Yu Q, Zheng Z, Zhang Z, Lun Y, Li S, Wang X, Huang Z, Li J, Zhang C, Wang T, Zhang Y, Wang A, Zhang Y, Lin K, Li C, Xiong G, Xue Y, Mazzucato A, Causse M, Fei Z, Giovannoni JJ, Chetelat RT, Zamir D, Städler T, Li J, Ye Z, Du Y, Huang S (2014).

Genomic analyses provide insights into the history of tomato breeding. *Nature Genet* **46**, 1220–1226.

Qi JJ, Liu X, Shen D, Miao H, Xie BY, Li XX, Zeng P, Wang SH, Shang Y, Gu XF, Du YC, Li Y, Lin T, Yuan JH, Yang XY, Chen JF, Chen HM, Xiong XY, Huang K, Fei ZJ, Mao LY, Tian L, Stadler T, Renner SS, Kamoun S, Lucas WJ, Huang SW (2013). A genomic variation map provides insights into the genetic basis of cucumber domestication and diversity. *Nat Genet* **45**, 1510–1149.

Shang Y, Ma YS, Zhou Y, Zhang HM, Duan LX, Chen HM, Zeng JG, Zhou Q, Wang SH, Gu WJ, Liu M, Ren JW, Gu XF, Zhang SP, Wang Y, Yasukawa K, Bouwmeester HJ, Qi XQ, Zhang ZH, Lucas WJ, Huang SW (2014). Biosynthesis, regulation, and domestication of bitterness in cucumber. *Science* **346**, 1084–1088.

Thoennissen NH, Iwanski GB, Doan NB, Okamoto R, Lin P, Abbassi S, Song JH, Yin D, Toh M, Xie WD, Said JW, Koeffler HP (2009). Cucurbitacin B induces apoptosis by inhibition of the JAK/STAT pathway and potentiates anti-proliferative effects of gemcitabine on pancreatic cancer cells. *Cancer Res* **69**, 5876–5884.

Chinese Scientists Made Breakthrough Progresses in Studies on Domestication and Fruit Quality in Tomato and Cucumber

Lei Deng, Minmin Du, Chuanyou Li*

State Key Laboratory of Plant Genomics, Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

Abstract Tomato and cucumber are both nutritious and delicious vegetables, which are widely cultivated in the world. Recently, Chinese scientists have made breakthrough advances toward our understanding on the molecular mechanisms of how tomato was domesticated and how bitterness was regulated in cucumber.

Key words tomato, cucumber, domestication, cucurbitacins

Deng L, Du MM, Li CY (2015). Chinese scientists made breakthrough progresses in studies on domestication and fruit quality in tomato and cucumber. *Chin Bull Bot* **50**, 275–278.

* Author for correspondence. E-mail: cyli@genetics.ac.cn