



2022年第28期总61期

种质资源保护与创制专题

本期导读

➤ 前沿资讯

1. 杨淑华团队发现低温特异钙信号的感知和应答机制
2. 泛基因组与植物育种—黄三文团队同期发表Nature论文——利用图泛基因组找回丢失的遗传力和促进番茄育种
3. 泛基因组与植物育种—黄三文团队同期发表Nature论文——野生与栽培马铃薯的基因组进化与多样性

➤ 学术文献

1. 图泛基因组捕捉缺失的遗传力并支持番茄育种
2. 表达模式的比较揭示了黑葡萄和番茄中果实代谢产物的分子调控
3. 油菜孤雌基因对可溶性糖代谢影响很大
4. FIS1编码调控番茄果实硬度的GA2氧化酶

➤ 相关专利

1. 一种花粉发育相关基因及其应用

2. 一种与辣椒果实角质层缺乏基因连锁的分子标记及应用
3. 一种与辣椒叶色黄化基因连锁的分子标记及应用

中国农业科学院农业信息研究所
联系人：王丽娟，张玉玮，信丽媛
联系电话： 022-23678616
邮箱：agri@ckcest.cn
2022年7月15日

➤ 前沿资讯

1. 杨淑华团队发现低温特异钙信号的感知和应答机制

简介：钙离子 (Ca^{2+}) 作为重要的次级信号分子参与植物的生长发育及环境信号的应答。低温诱导的细胞膜固化可能被定位于细胞膜上的蛋白等感知，进而迅速诱导细胞质中 Ca^{2+} 浓度增加，产生特异的 Ca^{2+} 信号 (Ca^{2+} signature) (Ding et al., 2020; Liu et al., 2020; Wang et al., 2021)。很早之前的研究就表明低温特异 Ca^{2+} 信号是低温应答基因表达的重要调控因子 (Knight et al., 1996)。然而，植物是如何接收并传递低温诱导的特异 Ca^{2+} 信号还不清楚。

6月29日，杨淑华教授团队在 *Science Advances* 杂志发表了题为 “CPK28NLP7 module integrates cold-induced Ca^{2+} signal and transcriptional reprogramming in *Arabidopsis*” 的研究论文，详细阐释了钙离子依赖型蛋白激酶CPK28和转录因子NLP7组成的调控网络在植物低温特异 Ca^{2+} 信号的感知和传递中的作用。植物中主要含有三类钙离子感知蛋白，包括钙调素蛋白 (CaM)、类钙调神经磷酸酶B蛋白 (CBL) 和钙离子依赖型蛋白激酶 (CDPK/CPK) (Boudsocq et al., 2013)。其中，CPK蛋白既能结合钙离子又能通过其激酶域直接传递 Ca^{2+} 信号 (Boudsocq et al., 2013)。因此，杨淑华团队从基因表达入手，分析CPK家族成员低温下基因表达差异。研究发现，CPK28基因受低温显著诱导表达。表型分析发现，CPK28功能缺失突变体表现冻敏感表型。有意思的是，植物经过低温处理10秒后，CPK28激酶活性被迅速诱导激活，该过程依赖于低温诱导的 Ca^{2+} 信号。进一步研究发现，CPK28的 Ca^{2+} 结合活性和激酶活性是其调控植物低温应答所必须的。以上结果表明，CPK28是植物感知低温钙信号的重要组分。

CPK28定位于细胞质膜，因此猜测CPK28可能通过调控细胞膜或者细胞质中的蛋白传递低温 Ca^{2+} 信号。为了验证这个猜测，杨淑华团队进行质谱分析并发现细胞质/细胞核定位的转录因子NLP7可能和CPK28存在于同一个蛋白复合体中。研究人员通过pull-down实验、免疫共沉淀实验验证两者存在相互作用。双分子荧光互补实验表明两者在细胞膜附近互作。进一步研究发现CPK28磷酸化NLP7并促进NLP7从细胞膜转移至细胞核中，该过程依赖于 Ca^{2+} 。RNA-Seq结果表明，NLP7调控大量冷响应基因的表达，其中大约34%冷响应基因的表达依赖 Ca^{2+} 。这些结果表明，NLP7作用于CPK28下游解码低温特异 Ca^{2+} 信号并调控冷响应基因的表达。

值得注意的是，NLP7是植物响应氮信号的关键转录因子。先前研究报道，CPK10、CPK30和CPK32在细胞核中磷酸化NLP7的第205位Ser，使NLP7在细胞核中滞留，进而激活氮应答基因的表达 (Liu et al., 2017)。杨淑华团队研究结果发现，低温激活的CPK28磷酸化NLP7的第783、793、807、808位Ser和第817位Thr，促进细胞质定位的NLP7迁移至细胞核中。NLP7S205A(模拟氮条件下非磷酸化形式) 不能回复nlp7氮敏感表型，但是能回复nlp7冻敏感表型。然而NLP75A(模拟低温条件下非磷酸化形式) 不能回复nlp7冻敏感表型，但是能回复nlp7氮敏感表型。以上结果表明，氮信号和低温信号会通过不同的CPK蛋白磷酸化NLP7不同的氨基酸残基，从而使植物做出正确的应答。综上所述，该研究不仅解析了植物感知和应答低温特异 Ca^{2+} 信号的分子机理，还阐释了低温信号快速从细胞膜传递至细胞核的分子机制。CPK28介导的磷酸化调控网络可能是植物感知低温早期信号的重要方式。

该研究在中国农业大学植物生理学与生物化学国家重点实验室完成，丁杨林和杨浩为论文的共同第一作者，杨淑华和丁杨林为论文的共同通讯作者。杨淑华团队成员吴时凤、傅迪毅和李岷泽参与了该工作。本研究得到巩志忠教授的指导。本研究得到国家自然科学基金及国家重点研发计划的资助。

来源：中国农业大学生物学院

更多资讯 尽在农业专业知识服务系统:<http://agri.ckcest.cn/>

发布日期:2022-07-01

全文链接:

http://cbs.cau.edu.cn/art/2022/7/1/art_35535_870004.html

2. 泛基因组与植物育种—黄三文团队同期发表Nature论文——利用图泛基因组找回丢失的遗传力和促进番茄育种

简介: 番茄的性状,如风味,是由遗传因素和环境因素共同决定的。育种前,需要全面评估遗传变异对遗传力的具体影响。然而,数量遗传学领域有一个重要的问题,被称为“遗传力丢失”(Missing heritability),即通过遗传标记估计的遗传力,以及通过全基因组关联分析(GWAS)发现的所有相关基因所贡献的遗传力总和,均低于实际的遗传力。找回这些“丢失的遗传力”,将有助于理解复杂性状的遗传机制,为相关的育种工作提供理论支持。该研究利用图泛基因组解决了遗传变异检测难题,并从遗传标记的不完全连锁,等位基因异质性和位点异质性三个方面找回“丢失的遗传力”,为解析生物复杂性状的遗传机制和番茄育种提供了新思路。为了展示找回的遗传力在育种中的实际作用,研究人员首先对可溶性固形物含量(SSC)进行了分析,共鉴定出了2个潜在的与SSC含量高度相关的SVs,可以用于未来的分子标记辅助选择。而对影响番茄风味的33种代谢物进行分析发现,利用全部的SVs作为分子标记进行基因组选择的效果最佳。研究人员进一步精心选择出一个不超过2.1万SVs的数据集,发现如果利用该数据集设计育种芯片,GS的准确率可能超过利用全部的SNPs该研究为基于SVs设计分子标记提供了理论支撑。审稿人评价说,“这项工作是对图泛基因组概念最全面的分析。图泛基因组将可能成为基因组分析和作物基因组育种的标准,在这个意义上,这篇论文是奠基性的(foundational)”。

来源: 基因组所

发布日期:2022-06-08

全文链接:

<https://agis.caas.cn/xwzx/kyjz/71a79a30e5fe49fc89d4f299b7826265.htm>

3. 泛基因组与植物育种—黄三文团队同期发表Nature论文——野生与栽培马铃薯的基因组进化与多样性

简介: 马铃薯种质资源丰富,自然界中70%的马铃薯是二倍体,其中大部分是野生材料,充分利用这些资源中的优异性状,有利于加快马铃薯的遗传改良。2017年,黄三文团队联合国内外优势单位发起了“优薯计划”,旨在用基因组学和合成生物学指导马铃薯产业的绿色革命,即用二倍体替代四倍体,并用杂交种子替代薯块,变革马铃薯的育种和繁殖方式。然而,目前已有马铃薯的基因组序列不足以全面了解马铃薯的多样性,并依此指导育种。6月8日,《自然(Nature)》杂志在线发表了“优薯计划”的最新研究成果,题为“Genome evolution and diversity of wild and cultivated potatoes”。该研究组装了多个高质量马铃薯参考基因组,鉴定得到多个高质量的结构变异,并且首次构建了栽培和近缘野生马铃薯的大片段倒位图谱,为马铃薯杂交改良提供了重要指导。研究人员挑选了有代表性的44份二倍体马铃薯种质进行基因组组装,用以探究马铃薯和近缘姊妹类群系统发生关系以及薯块的演化机制。分析发现马铃薯与近源物种番茄、*Etuberosum*之间以及马铃薯类群内部都存在广泛的不完全谱系分选和物种间杂交。研究人员进一步对马铃薯基因组的抗病基因(R gene)进行了系统的注释,发现马铃薯

中R基因拷贝数相比于番茄和Etuberosum存在明显扩张。与种子繁殖植物相比，无性繁殖的马铃薯更容易受到病原菌的侵染，推测这可能促使了R基因数量的扩张以应对病原菌对薯块的侵染。通过马铃薯、番茄和Etuberosum的多组学比较分析，研究人员鉴定到一个可能在薯块发育过程中发挥关键作用的TCP转录因子。后续Knockout实验证明，该基因在薯块发育的起始时期发挥关键作用，命名为薯块身份基因Identity of Tuber (IT1)。其突变体匍匐茎顶端无法正常膨大形成薯块，转而发育成了侧枝；IT1与结薯移动信号因子SP6A存在蛋白直接互作，不结薯种Etuberosum虽然有IT1却在SP6A上有突变。此外，研究人员鉴定出了561,433个高质量的结构变异，并且首次构建了栽培和近缘野生马铃薯的大片段倒位图谱。其中，马铃薯3号染色体5.8 Mb倒位事件与控制块茎中类胡萝卜素积累基因紧密连锁，并且在自交后代中该区域重组率显著降低，该现象为自交系的改良和去除潜在的连锁累赘提供了重要思路。审稿人评价，该研究解析了马铃薯和姊妹类群之间的进化关系，并且对块茎进化提出见解，更重要的是，发现了与农艺性状紧密关联的结构变异。这项研究将为其他作物泛基因组研究提供参考方法。

来源：基因组所

发布日期:2022-06-08

全文链接:

<https://agis.caas.cn/xwzx/ky.jz/71a79a30e5fe49fc89d4f299b7826265.htm>

➤ 学术文献

1. Graph pangenome captures missing heritability and empowers tomato breeding(图泛基因组捕捉缺失的遗传力并支持番茄育种)

简介：Missing heritability in genome-wide association studies defines a major problem in genetic analyses of complex biological traits^{1,2}. The solution to this problem is to identify all causal genetic variants and to measure their individual contributions^{3,4}. Here we report a graph pangenome of tomato constructed by precisely cataloguing more than 19?million variants from 838 genomes, including 32 new reference-level genome assemblies. This graph pangenome was used for genome-wide association study analyses and heritability estimation of 20,323 gene-expression and metabolite traits. The average estimated trait heritability is 0.41 compared with 0.33 when using the single linear reference genome. This 24% increase in estimated heritability is largely due to resolving incomplete linkage disequilibrium through the inclusion of additional causal structural variants identified using the graph pangenome. Moreover, by resolving allelic and locus heterogeneity, structural variants improve the power to identify genetic factors underlying agronomically important traits leading to, for example, the identification of two new genes potentially contributing to soluble solid content. The newly identified structural variants will facilitate genetic improvement of tomato through both marker-assisted selection and genomic selection. Our study advances the understanding of the heritability of complex traits and demonstrates the power of the graph pangenome in crop breeding.

来源：nature

发布日期:2022-06-08

全文链接:

<http://agri.ckcest.cn/file1/M00/03/38/Csgk0YcxDPQAQ206AIxGR1325QE824.pdf>

2. The comparisons of expression pattern reveal molecular regulation of fruit metabolites in *S. nigrum* and *S. lycopersicum* (表达模式的比较揭示了黑葡萄和番茄中果实代谢产物的分子调控)

简介：Solanum nigrum, known as black nightshade, is a medicinal plant that contains many beneficial metabolites in its fruit. The molecular mechanisms underlying the synthesis of these metabolites remain uninvestigated due to limited genetic information. Here, we identified 47,470 unigenes of *S. nigrum* from three different tissues by de novo transcriptome assembly, and 78.4% of these genes were functionally annotated. Moreover, gene ontology (GO) analysis using 18,860 differentially expressed genes (DEGs) revealed tissue-specific gene expression regulation. We compared gene expression patterns between *S. nigrum* and tomato (*S. lycopersicum*) in three tissue types. The expression patterns of carotenoid biosynthetic genes were different between the two species. Comparison of the expression patterns of flavonoid biosynthetic genes showed that 9 out of 14 enzyme-coding genes were highly upregulated in the fruit of *S. nigrum*. Using CRISPR-Cas9-mediated gene editing, we knocked out the R2R3-MYB transcription factor SnAN2 gene, an ortholog of *S. lycopersicum* ANTHOCYANIN 2. The mutants showed yellow/green fruits, suggesting that SnAN2 plays a major role in anthocyanin synthesis in *S. nigrum*. This study revealed the connection between gene expression regulation and corresponding phenotypic differences through comparative analysis between two closely related species and provided genetic resources for *S. nigrum*.

来源：Scientific Reports

发布日期：2022-03-22

全文链接：

http://agri.ckcest.cn/file1/M00/10/0A/Csgk0GLaYkuANoFPAHRdc-k_U1U679.pdf

3. *Brassica rapa* orphan genes largely affect soluble sugar metabolism (油菜孤雌基因对可溶性糖代谢影响很大)

简介：Orphan genes (OGs), which are genes unique to a specific taxon, play a vital role in primary metabolism. However, little is known about the functional significance of *Brassica rapa* OGs (BrOGs) that were identified in our previous study. To study their biological functions, we developed a BrOG overexpression (BrOGOE) mutant library of 43 genes in *Arabidopsis thaliana* and assessed the phenotypic variation of the plants. We found that 19 of the 43 BrOGOE mutants displayed a mutant phenotype and 42 showed a variable soluble sugar content. One mutant, BrOG1OE, with significantly elevated fructose, glucose, and total sugar contents but a reduced sucrose content, was selected for in-depth analysis. BrOG1OE showed reduced expression and activity of the *Arabidopsis* sucrose synthase gene (AtSUS); however, the activity of invertase was unchanged. In contrast, silencing of two copies of BrOG1 in *B. rapa*, BraA08002322 (BrOG1A) and BraSca000221 (BrOG1B), by the use of an efficient CRISPR/Cas9 system of Chinese cabbage (*B. rapa* ssp. *campestris*) resulted in decreased fructose, glucose, and total soluble sugar contents because of the upregulation of BrSUS1b, BrSUS3, and, specifically, the BrSUS5 gene in the edited BrOG1 transgenic line.

更多资讯 尽在农业专业知识服务系统：<http://agri.ckcest.cn/>

In addition, we observed increased sucrose content and SUS activity in the BrOG1 mutants, with the activity of invertase remaining unchanged. Thus, BrOG1 probably affected soluble sugar metabolism in a SUS-dependent manner. This is the first report investigating the function of BrOGs with respect to soluble sugar metabolism and reinforced the idea that OGs are a valuable resource for nutrient metabolism.

来源：Horticulture Research volume

发布日期:2020-12-01

全文链接:

<http://agri.ckcest.cn/file1/M00/10/0A/Csgk0GLaXQ2AFktuABesM3dVxTs420.pdf>

4. FIS1 encodes a GA2-oxidase that regulates fruit firmness in tomato (FIS1编码调控番茄果实硬度的GA2氧化酶)

简介：Fruit firmness is a target trait in tomato breeding because it facilitates transportation and storage. However, it is also a complex trait and uncovering the molecular genetic mechanisms controlling fruit firmness has proven challenging. Here, we report the map-based cloning and functional characterization of qFIRM SKIN 1 (qFIS1), a major quantitative trait locus that partially determines the difference in compression resistance between cultivated and wild tomato accessions. FIS1 encodes a GA2-oxidase, and its mutation leads to increased bioactive gibberellin content, enhanced cutin and wax biosynthesis, and increased fruit firmness and shelf life. Importantly, FIS1 has no unfavorable effect on fruit weight or taste, making it an ideal target for breeders. Our study demonstrates that FIS1 mediates gibberellin catabolism and regulates fruit firmness, and it offers a potential strategy for tomato breeders to produce firmer fruit.

来源：Nature Communications

发布日期:2020-11-17

全文链接:

<http://agri.ckcest.cn/file1/M00/03/38/Csgk0YcxE6GAIoCKABm3LuHHfSg281.pdf>

➤ 相关专利

1. 一种花粉发育相关基因及其应用

简介：本发明提供了花粉发育相关基因，为芜菁花粉发育相关基因BrbHLH046或BrbHLH046的拟南芥直系同源基因AT3G61950。通过转录组数据分析发现BrbHLH046可能与芜菁生殖发育相关。亚细胞定位发现BrbHLH046是定位在细胞核中的转录因子。对BrbHLH046在根、茎、叶、花、大蕾、中蕾和小蕾中的表达模式进行分析发现，该基因在生殖器官中有较高的表达量。启动子活性分析结果也表明，BrbHLH046在植物的生殖器官中有高表达。该基因在拟南芥中的直系同源基因是AT3G61950。通过双引物法筛选到AT3G61950的T-DNA插入纯合突变体。对突变体表型进行鉴定发现，拟南芥纯合突变体的花序经ABA处理后花粉败育率升高。表明AT3G61950在激素响应下调控植物生殖发育，也说明BrbHLH046确实是参与芜菁生殖发育的候选基因，可将该基因应用于白菜类蔬菜等园艺植物育种。

来源: 佰腾网

发布日期:2021-03-19

全文链接:

<http://agri.ckcest.cn/file1/M00/10/0A/Csgk0GLaZfeAHiMiAB.jQxzoF7QE203.PDF>

2. 一种与辣椒果实角质层缺乏基因连锁的分子标记及应用

简介: 本发明公开了一种与辣椒果实角质层合成基因连锁的分子标记及应用。利用野生型与突变型辣椒材料构建了F2群体。利用BSA群体定位的方法获得与辣椒果实角质层合成基因紧密连锁的染色体区域，并在候选区间内开发分子标记。根据单碱基突变设计了1个KASP分子标记，利用该标记对F2群体中的182个单株进行基因型鉴定，符合率达到100%。研究结果不仅有助于果实角质层缺乏型辣椒的鉴别及辅助育种，且为果实角质层合成基因的图位克隆及解析角质层合成的分子机理提供了基础，具有广泛的推广价值。

来源: 佰腾网

发布日期:2020-08-21

全文链接:

<http://agri.ckcest.cn/file1/M00/03/38/Csgk0YcxFb0AdD16AAxi08BRN24581.PDF>

3. 一种与辣椒叶色黄化基因连锁的分子标记及应用

简介: 本发明公开了一种与辣椒叶色黄化基因连锁的分子标记及应用。利用1份高度纯合的材料以及其辐射突变体库中的叶色黄化材料。利用BSA群体定位的方法获得与辣椒叶色黄化紧密连锁的染色体区域，并在候选区间内开发分子标记。根据候选基因的单碱基突变设计了1个KASP分子标记，利用该标记对F2群体500个单株进行基因型鉴定，符合率达到100%。研究结果不仅在杂交制种效率方面具有广阔的应用前景，还为辣椒叶色黄化突变体的筛选，鉴定和辅助筛选辣椒杂交种纯度鉴定等提供新的途径。

来源: 佰腾网

发布日期:2020-08-07

全文链接:

<http://agri.ckcest.cn/file1/M00/10/0A/Csgk0GLaZBWALiHxAAvLWe02y9M567.PDF>