

• 导读 •

## 加强分子生物学研究，促进苹果产业持续发展

丛佩华，张彩霞，韩晓蕾，张利义

(中国农业科学院果树研究所/农业部园艺作物种质资源利用重点实验室/国家苹果育种中心，辽宁兴城 125100)

### Strengthen the Research of Molecular Biology, Promote the Sustainable Development of Apple Industry

CONG PeiHua, ZHANG CaiXia, HAN XiaoLei, ZHANG LiYi

(Research Institute of Pomology, Chinese Academy of Agricultural Sciences/Key Laboratory of Fruit Germplasm Resources Utilization, Ministry of Agriculture/National Apple Breeding Center, Xingcheng 125100, Liaoning)

随着高质量苹果多品种基因组全序列及重测序数据不断涌现，其对苹果乃至蔷薇科作物分子育种产生十分重要的影响<sup>[1-5]</sup>，也昭示苹果分子生物学研究步入后基因组时代。如何基于基因组所提供的信息，发展和利用新的技术手段，如最新的基因编辑技术，在全基因组水平上全面分析基因的功能至关重要<sup>[6]</sup>。同时，多组学联合发展使生物学研究从对单一研究基因表达模式转向多个基因或多个家族基因系统分析，包括研究基因间的相互关系及其网络关系。然而，由于苹果基因组存在高度杂合、遗传背景复杂、自交不亲和与童期长等特点，使苹果重要性状相关的基因功能验证等分子生物学研究较其他农作物仍然落后<sup>[7]</sup>。在苹果分子生物学研究上，需要从多个层面解决一些特色如柱状性状、氮素等营养元素利用以及生物胁迫和非生物胁迫等一系列重要生物学问题背后的分子机制，以促进苹果产业可持续发展<sup>[8-10]</sup>。

在后基因组时代，转录因子家族的研究仍然是分子生物学热点，这是由于功能基因调控分子机制的解析离不开转录因子。本栏目以“苹果分子生物学研究”专题的形式刊发4篇与转录因子基因克隆和表达分析的相关文章，其中《苹果LIM基因家族生物信息学及表达分析》一文开展苹果LIM转录因子家族成员的生物信息学及表达分析研究。发现MdLIM8和MdLIM11可能与果锈的形成有关，为进一步从分子水平上研究果锈的调控提供了线索。《苹果乙烯响应因子

MdERF72对非生物胁迫的响应分析》一文通过转基因技术获得MdERF72过表达苹果愈伤组织，在对MdERF72的表达量与高盐、低温等非生物胁迫之间的关联分析基础上，探究MdERF72对非生物胁迫的响应，这有助于为苹果砧木的遗传改良提供理论参考。

《苹果NLP转录因子基因家族全基因组鉴定及表达模式分析》一文首次对苹果NLP转录因子全基因组成员进行鉴定，并从基因和蛋白水平上系统地检测MdNLPs的组织表达、氮响应过程及非生物胁迫变化情况，这可对提高果树氮肥利用效率与提质增效带来新的思考。《柱状苹果Co基因的筛选与候选基因分析》一文在前期基因定位的基础上，通过转录组在柱状和普通型苹果茎尖中筛选到一个候选转录因子基因MdMYB15，其在柱状苹果中显著上调表达，推测该基因可能与柱状苹果树型形成有关。

另外，CRISPR/Cas9基因组编辑系统突破性的问世，使其必然成为生命科学研究领域的助力器。目前，该系统已成功应用于多种植物基因功能研究和新种质创制<sup>[11-15]</sup>，在分子育种中表现出巨大的前景。其中，驱动U6 snRNA转录的U6启动子常作为CRISPR/Cas9基因编辑载体中驱动sgRNA转录的重要元件。但是，目前还未有苹果内源U6启动子介导的CRISPR/Cas9基因编辑体系。《苹果U6启动子的克隆及功能分析》一文从苹果基因组克隆6条U6启动子，并筛选出一条转录活性高且片段长度较短的U6启动子，将促进CRISPR/

收稿日期：2019-11-22；接受日期：2019-11-29

基金项目：农业部现代农业产业技术体系建设专项资金（CARS-27）、中国农业科学院科技创新工程（CAAS-ASTIP-2016-RIP-02）

联系方式：丛佩华，congph@163.com

Cas9 基因编辑体系在苹果育种方面发挥工具的作用。

以上 5 篇论文围绕苹果产业面临的主要科学和实践问题, 从分子水平深入研究苹果响应非生物逆境胁迫的调控机制, 为苹果抗逆种质的创制、定向遗传改良和基因编辑提供了理论参考。希望上述论文的发表能够给苹果分子生物学研究奠定更多基础, 进一步推动苹果分子育种技术的发展。

## References

- [1] VELASCO R, ZHARKIKH A, AFFOURTIT J, DHINGRA A, CESTARO A, KALYANARAMAN A, FONTANA P, SATISH K B, TROGGIO M, PRUSS D, *et al.* The genome of the domesticated apple (*Malus×domestica* Borkh.). *Nature Genetics*, 2010, 42(10): 833-839.
- [2] LI X W, KUI L, ZHANG J, XIE Y P, WANG L P, YAN Y, WANG N, XU J D, LI C Y, WANG W, VAN NOCKER S, DONG Y, MA F W, GUAN Q M. Improved hybrid *de novo* genome assembly of domesticated apple (*Malus×domestica*). *GigaScience*, 2016, 5(1): 35.
- [3] DACCORD N, CELTON J M, LINSMITH G, BECKER C, CHOISNE N, SCHIJLEN E, GEEST H, BIANCO L, MICHELETTI D, VELASCO R, PIERRO A D, GOUZY J, REES D J G, GUÉRIF P, MURANTY H, DUREL C E, LAURENS F, LESPINASSE Y, GAILLARD S, AUBOURG S, QUESNEVILLE H, WEIGEL D, WEG E, TROGGIO M, BUCHER E. High-quality *de novo* assembly of the apple genome and methylome dynamics of early fruit development. *Nature Genetics*, 2017, 49(7): 1099-1106.
- [4] ZHANG L Y, HU J, HAN X L, LI J J, GAO Y, RICHARDS C M, ZHANG C X, TIAN Y, LIU G M, GUL H, WANG D J, TIAN Y, YANG C X, MENG M H, YUAN G P, KANG G D, WU Y L, WANG K, ZHANG H T, WANG D P, CONG P H. A high-quality apple genome assembly reveals a retrotransposon controlling red fruit colour. *Nature Communications*, 2019, 10(1): 1494.
- [5] DUAN N B, BAI Y, SUN H H, WANG N, MA Y M, LI M J, WANG X, JIAO C, NOAH L, MAO L Y, WAN S B, WANG K, HE T M, FENG S Q, ZHANG Z Y, MAO Z Q, SHEN X, CHEN X L, JIANG Y M, WU S J, YIN C M, GE S F, YANG L, FEI Z J, CHEN X S. Genome re-sequencing reveals the history of apple and supports a two-stage model for fruit enlargement. *Nature Communications*, 2017(8): 249.
- [6] PEACE C, BIANCO L, TROGGIO M, VAN DE WEG E, HOWARD N P, CORNILLE A, DUREL C E, MYLES S, MIGICOVSKY Z, SCHAFFER R J, COSTES E, FAZIO G, YAMANE H, VAN NOCKER S, GOTTSCHALK C, COSTA F, CHAGNE D, ZHANG X Z, PATOCCHI A, GARDINER S E, HARDNER C, KUMAR S, LAURENS F, BUCHER E, MAIN D, JUNG S, VANDERZANDE S. Apple whole genome sequences: Recent advances and new prospects. *Horticulture Research*, 2019, 6(1): 59.
- [7] 李兴亮, 丁宁, 贾美茹, 魏灵芝, 姜金铸, 李冰冰, 贾文锁. 苹果果实愈伤转化体系的建立及其在基因功能研究中的应用. *中国农业大学学报*, 2015, 20(2): 108-113.  
LI X L, DING N, JIA M R, WEI L Z, JIANG J Z, LI B B, JIA W S. Establishment of gene transformation system in fruit callus and its application in gene functional analysis for apple plant. *Journal of China Agricultural University*, 2015, 20(2): 108-113. (in Chinese)
- [8] 梁美霞, 乔绪强, 郭笑彤, 张洪霞. 柱型苹果生长特性及 *Co* 基因定位研究进展. *中国农业科学*, 2017, 50(22): 4421-4430.  
LIANG M X, QIAO X Q, GUO X T, ZHANG H X. Research progresses in mechanisms of growth habits and *Co* gene mapping of columnar apple (*Malus domestica* × Borkh.). *Scientia Agricultura Sinica*, 2017, 50(22): 4421-4430. (in Chinese)
- [9] YANAGISAWA S. Transcription factors involved in controlling the expression of nitrate reductase genes in higher plants. *Plant Science*, 2014, 229: 167-171.
- [10] EVANS K. The apple genome-harbinger of innovation for sustainable apple production, in achieving sustainable cultivation of apples. Burleigh Dodds Science Publishing Limited, Cambridge, 2017.
- [11] FENG Z Y, ZHANG B T, DING W N, LIU X D, YANG D L, WEI P L, CAO F Q, ZHU S H, ZHANG F, MAO Y F, ZHU J K. Efficient genome editing in plants using a CRISPR/Cas system. *Cell Research*, 2013, 23: 1229-1232.
- [12] LIU X J, XIE C X, SI H J, YANG J X. CRISPR/Cas9-mediated genome editing in plants. *Methods*, 2017, 121/122: 94-102.
- [13] XING H L, DONG L, WANG Z P, ZHANG H Y, HAN C Y, LIU B, WANG X C, CHEN Q J. A CRISPR/Cas9 toolkit for multiplex genome editing in plants. *BMC Plant Biology*, 2014, 14(1): 327.
- [14] 霍晋彦, 李姣, 荆雅峰, 冯宝民, 于宗霞. CRISPR/Cas9 系统在植物基因功能研究中的应用进展. *植物生理学报*, 2019, 55(3): 241-246.  
HUO J Y, LI J, JING Y F, FENG B M, YU Z X. Progress on the application of CRISPR/Cas9 system in the functional study of plant genes. *Plant Physiology Communications*, 2019, 55(3): 241-246. (in Chinese)
- [15] 严芳, 周焕斌. CRISPR/Cas9 技术在植物基因功能研究和新种质创制中的应用与展望. *中国科学: 生命科学*, 2016, 6(5): 498-513.  
YAN F, ZHOU H B. Overviews and applications of the CRISPR/Cas9 system in plant functional genomics and creation of new plant germplasm. *Scientia Sinica Vitae*, 2016, 6(5): 498-513. (in Chinese)

(责任编辑 赵伶俐)