



辣椒重要农艺性状相关基因的发掘进展

袁欣捷, 方 荣, 周坤华, 石 博, 陈学军*

(江西省农业科学院 蔬菜花卉研究所, 南昌 330200)

摘 要: 该文对国内外近年来有关辣椒辣味、颜色、抗病和雄性不育等重要农艺性状相关基因的研究进展进行了概述, 指出了目前研究中存在的不足之处及今后研究方向, 并介绍了辣椒重要农艺性状相关基因发掘的常规方法, 以及随着辣椒基因组测序的完成和第二代测序技术的应用, 基因发掘的新技术及其在辣椒基因发掘中的应用及前景。

关键词: 辣椒; 重要农艺性状; 基因发掘
中图分类号: Q789 **文献标志码:** A

Research Progress on Genes of Important Agronomic Characters in Pepper (*Capsicum* spp.)

YUAN Xinjie, FANG Rong, ZHOU Kunhua, SHI Bo, CHEN Xuejun*

(Vegetable and Flower Institute, Jiangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanchang 330200, China)

Abstract: The article describes the research progress of genes related with important agronomic characters in pepper (*Capsicum* spp.), including pungency, color, disease resistance and male sterility. The classical approaches, and new technologies associated with next-generation sequencing for gene isolation and cloning are presented. Deficiencies and limitations of the present study are pointed out, and the prospect for future research in accompaniment with the completeness of the pepper genomic sequencing project is discussed.

Key words: pepper; important agronomic characters; gene discovery

辣椒 (*Capsicum* spp.) 是茄科重要经济作物, 在世界各地广泛种植, 也是中国主要蔬菜作物之一。辣椒含有丰富的维生素、胡萝卜素和矿物质成分, 其特有的辣椒素有降脂减肥和预防癌症的功效^[1-2], 除鲜食外, 还应用于观赏园艺、制药和天然染料中。辣椒蕴含丰富的基因宝藏, 这些基因协同作用, 调控辣椒的生长发育和代谢途径。对其重要基因的深入挖掘和功能解析, 有助于了解相关基因的作用机制, 指导

育种实践。与模式作物相比, 辣椒的基础研究相对滞后, 辣椒基因组数据的公布 (<http://peppergenome.snu.ac.kr>; <http://peppersequence.genomics.cn>), 为辣椒重要农艺性状相关基因的研究带来极大便利。本文概述了部分重要农艺性状相关基因的研究现状, 简述了辣椒基因组学研究对基因发掘的影响, 介绍了功能基因发掘的一些常规技术、基于第二代测序的新技术及其在辣椒中的应用和前景,

收稿日期: 2016-12-19; 修改稿收到日期: 2017-03-10

基金项目: 国家自然科学基金(31660574, 31460520, 31260479); 江西省自然科学基金(20133BAB20010); 江西省现代农业产业技术体系建设专项(JXARS-06); 江西省现代农业科研协同创新专项(JXXTCX2015005); 江西省农业科学院创新基金博士启动项目(20161CBS001)

作者简介: 袁欣捷(1987—), 女, 博士, 助理研究员, 主要从事蔬菜遗传育种与分子生物学研究。E-mail: yxinjie1115@163.com

* 通信作者: 陈学军, 博士, 研究员, 硕士生导师, 主要从事蔬菜种质创新与分子生物技术研究。E-mail: 19889766@163.com

农药虽能在一定程度上遏制病害,但该方法污染环境且危害人类健康。因而抗病基因的发掘以及抗性品种的培育显得尤为重要。

目前,人们已在辣椒中克隆了部分抗病基因,并对其抗病机制有较为深入的研究。例如 Tai 等^[15]通过定位克隆了辣椒中细菌性疮痂病抗性基因 *Bs2*,该基因为 NBS-LRR 类抗病基因,识别 *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* 的 *avrBs2*。另一个辣椒细菌性疮痂病抗病基因 *Bs3* 编码黄素单氧酶,*Bs3* 基因启动子特定区域与 *X. campestris* pv. *vesicatoria* 的 *avrBs3* 结合后,启动子被激活进而诱导 *Bs3* 基因的转录引发抗病反应^[16]。马铃薯 Y 病毒抗性基因 *eIF4E* 基因是自然界植物中报道的第一个隐性病毒抗性基因^[17],马铃薯 Y 病毒基因组连接蛋白 (potyvirus genome-linked protein, VPg) 与 *eIF4E* 互作对病毒的侵染性至关重要,变异 *eIF4E* 蛋白与 VPg 不亲和可阻碍病毒的侵染使植株抗病。辣椒中 *L* 基因为烟草花叶病毒组 (*Tobamovirus* spp.) 抗性基因,编码的 CC-NBS-LRR 类抗病蛋白能识别烟草花叶病毒组病毒的外壳蛋白引发抗病反应。目前辣椒中已克隆对烟草花叶病毒组抗性依次递增的等位基因 *L*¹ (抗 *P₀* 致病型病毒)、*L*² (抗 *P₀* 和 *P₁* 致病型病毒)、*L*³ (抗 *P₀*、*P₁* 和 *P_{1,2}* 致病型病毒) 和 *L*⁴ (抗 *P₀*、*P₁*、*P_{1,2}* 和 *P_{1,2,3}* 致病型病毒),它们的识别谱系差异由 *L* 基因 LRR 结构的不同亚区域决定^[18-20]。上述抗病基因的鉴定和研究加深了人们对植物抗病机制的认知,为辣椒的抗性育种奠定了坚实基础。

但是辣椒生产中,还有很多病害未能得到有效控制。辣椒疫病危害严重,感病幼苗茎部猝倒、叶片花蕾脱落、果实软腐,人们常用化学和生物方法控制病害,目前已鉴定了一些参与辣椒疫病防卫反应调控的基因如乙烯响应基因 *CaPTI1*^[21],但还没有鉴定出辣椒疫病的小种专化抗病基因,目前对辣椒疫病抗性位点的遗传定位有许多报道^[22-24],部分研究者对定位区间内的候选基因进行了功能验证,如王平勇^[24]通过 VIGS 等方法对定位区间的抗病候选基因进行初步功能验证,更多相关基因的克隆和详细功能验证有待开展。辣椒青枯病能使感病辣椒迅速枯死,在高温高湿条件下病害严重,已知 *CaWRKY6*^[25]、*CabZIP63*^[26] 和 *CaCDPK15*^[27] 等基因参与调控辣椒对青枯病菌的应答反应,对青枯病的抗性遗传也有一些初步研究^[28-29],相应的抗病基因有待分离,相关的抗病机制有待探索。此外,辣椒

中诸如灰霉病、炭疽病、软腐病和菌核病等病害危害严重,对这些病害的绿色防控还依赖于今后相关抗病基因的发掘及相关抗病品种的选育。

1.3 辣椒果实颜色相关基因

辣椒果实中的叶绿素、花青苷和类胡萝卜素具有清除人体自由基和抗癌等保健作用,辣椒红色素作为天然色素广泛用于食品加工和化妆品中。

辣椒成熟果实的颜色主要由 *y*、*cl*、*c1* 和 *c2* 位点控制;*y* 位点 *CCS* 基因编码的辣椒红素/辣椒玉红素合成酶是催化合成辣椒红素和辣椒玉红素形成的最后一个酶,控制着红色果实的形成,该基因缺失或突变后果实为黄色^[30];一般情况下,辣椒果实中叶绿素随着果实的成熟逐渐降解,而 *cl* 位点 *CaSGR* 基因发生突变的辣椒,果实成熟过程中叶绿素降解受到抑制,成熟果实因同时含叶绿素和红色类胡萝卜素(或黄色类胡萝卜素)而呈褐色(或绿色),目前 *CaSGR* 基因通过何种机制降解叶绿素还不清楚^[31]; *c1* 位点基因可能具有修饰 *y* 和 *c2* 位点基因的作用^[32],相关基因还未克隆;Huh 等^[33]鉴定 *c2* 位点决定果实为橙色或红色的是 *PSY* 基因,该基因编码类胡萝卜素生物合成途径中的限速酶——八氢番茄红素合成酶,Kim 等^[34]也证实橙色果实中 *PSY* 基因的移码突变使八氢番茄红素合成酶活性受损是该突变体果实显橙色的原因。不同胡萝卜素(如 β 胡萝卜素、玉米黄质、叶黄素)占色素主导成份都能使辣椒果实显橙色^[35],除 *c2* 位点外辣椒成熟果实的橙色还受其他位点控制,Borovsky 等^[32]通过 EMS 诱变发现辣椒 *β -CAROTENE HYDROXYLASE2* 基因突变体的果实为橙色,Rodriguez-Urbe 等^[36]认为辣椒显橙色的原因不限于生物合成中结构基因的变异,还涉及多层次的复杂调控机制,参与其中的基因及分子机理尚未探明。

辣椒未成熟果实的颜色变异也十分丰富。未成熟果实呈紫色的辣椒富含花青素,Borovsky 等^[37]通过连锁分析、表达模式和表型鉴定,推测辣椒 *A* 位点中的 *MYB* 基因是控制未成熟果实紫色的候选基因;前期研究对果实紫色深浅的遗传规律已有初步探索^[38-39],相关基因包括早鉴定的 *MoA* 基因^[40]还需后续研究加以确认;对花青素代谢途径的基因以及参与调控花青素生物合成途径的基因也有一定了解,如李珍^[39]通过 qRT-PCR 技术鉴定 *F3H*、*F3'5'H* 和 *GST* 等是辣椒花青素代谢途径的关键基因,Aguilar-Barragán 和 Ochoa-Alejo^[41]通过 VIGS 实验揭示 *MYB* 和 *WD40* 基因参与调控花青

素的生物合成,更多相关基因有待揭示。未成熟辣椒的绿色深浅存在差异,决定辣椒果实绿色深浅差异的基因,如 *pc8.1* 位点和 *pc10.1* 位点基因是通过调节质体大小来控制绿色深浅,目前已鉴定 *pc10.1* 位点的基因为 *CaGLK2* 基因,*pc8.1* 位点的基因还有待鉴定^[42-43],Han 等^[44] 定位的 6 个控制未成熟果实绿色深浅的 QTLs 也有待后续深入研究。此外,未成熟辣椒黄绿色和乳白色等相关基因未见报道^[45],辣椒未成熟果色的调控涉及不同代谢途径,机制复杂多样,给未来的研究带来诸多挑战。

1.4 辣椒雄性不育相关基因

辣椒因杂交优势明显,市场上销售的多为杂交 F_1 代种子,制种过程雄性不育辣椒的应用可大大降低劳动力费用,提高种子纯度。雄性不育包括细胞核雄性不育 (genic male sterility, GMS) 和胞质雄性不育 (cytoplasmic male sterility, CMS) 2 种类型^[46]。

GMS 的育性由核基因决定,遗传简单且育性恢复相对快速。GMS 一般由 1 对隐性基因控制,隐性核雄性不育系难以保持,以杂合可育株为父本、纯合不育株为母本,构建的后代群体既有可育株又有不育株,制种时需在开花前短时间内拔除两用系中 50% 的可育株^[47],应用受到一定限制。Wang 和 Bosland^[40] 提出基于 2 对核基因的核雄性不育系统,该系统中雄性不育株的比例增高到 75%,可减少拔除可育株的工作量。辣椒中超过 20 个核基因被报道与雄性不育相关,这些基因多处于遗传定位阶段^[48-49],目前已开发的与 *ms3* 和 *ms8* 等基因连锁的分子标记^[48, 50] 为 GMS 分子标记辅助育种带来了便利,相关基因的分离和克隆及其分子机制是未来的研究方向。

CMS 的育性由核基因 (*rfrf*) 和细胞质基因 (S) 共同决定。细胞质中线粒体基因组以突变、重排和重组等方式产生新 *orfs* 都可能引起 CMS^[51],在辣椒中 Jo 等^[52] 通过比较 CMS 辣椒和正常辣椒的线粒体基因组,发现 CMS 候选基因位于高度重排的 CMS 特异性 DNA 区域边缘且毗邻重复序列,推测由同源重组造成的序列重排是 CMS 相关基因进化的分子机制。Fang 等^[53] 通过细胞生物学和蛋白质组学等方法分析,认为辣椒花药发育过程中 CMS 系辣椒氨基酸合成受阻使绒毡层异常发育,很可能是辣椒雄性不育的重要原因。

前期研究鉴定了一些与辣椒 CMS 相关的线粒体基因组基因。如 Dong 和 Kim^[54] 通过 Northern 杂交分析发现 CMS 系和恢复系辣椒的线粒体 *atp6*

基因 mRNA 条带有差异,认为 *atp6* 基因为辣椒 CMS 候选基因。Kim 等^[55] 通过 Southern 等杂交分析鉴定的线粒体 *orf456* 基因导入拟南芥后,45% T_1 代转基因种子雄性不育,证明此基因是 CMS 相关基因。水稻和向日葵等作物的研究中显示 F_1F_0 -ATP 合酶活性的改变会诱使植物产生 CMS^[56-57],辣椒中与 F_1F_0 -ATP 合酶活性相关基因的变化也会使辣椒雄性不育;如线粒体 *Ψatp6-2* 基因能使线粒体 F_1F_0 -ATP 合酶的 ATP 水解活性增高,辣椒雄性不育^[58];Ji 等^[59] 将 CMS 系的线粒体 *orf507* 基因转入保持系辣椒中,*atp6-2* 基因的表达受到抑制,细胞色素 c 氧化酶和线粒体 F_1F_0 -ATP 合酶的 ATP 水解活性增高,绒毡层细胞提前进入程序性细胞死亡,转基因辣椒半不育。还有一些在雄性不育辣椒中差异表达或 DNA 序列存在变异的线粒体基因推测与雄性不育相关^[60],后续研究将进一步阐明其作用机制。

CMS 系的花粉育性能被核基因恢复,因此 CMS 是研究线粒体基因组与核基因组互作的理想模型系统。利用不育系 *S(rfrf)*、恢复系 *N/S(RfRf)* 和保持系 *N(rfrf)* 三系配套方便大量制备高纯度杂交种子,在生产上被广泛应用。不同研究者对辣椒的育性恢复进行研究,分析其遗传规律及基因所处染色体位置,并开发了一些与恢复基因连锁的分子标记^[61-62],因所选材料不同找到的遗传因子可能不尽相同,但比较一致的观点是认为辣椒育性恢复由 1~2 对主效基因和微效多基因控制,同时也受环境的影响^[63],且恢复基因多分布于辣椒材料中,甜椒中分布较少^[64]。在其它作物的研究显示许多 *Rf* 基因编码 PRRs 蛋白^[65],Barchenger 等^[66] 通过在辣椒全基因组中鉴定并定位包含 PPR 区域的基因,找到 14 个与其他作物中 *Rf* 基因相似的基因,后续研究将开发相应标记并揭示这些基因的作用。Jo 等^[62] 通过精细定位认为定位区间内的 *CaP-PR6* 基因很可能是 *Rf* 基因,该基因的功能有待进一步验证。郭爽等^[67] 通过抑制消减杂交技术鉴定了 CMS 辣椒中一些育性恢复相关 EST。在此基础上发现辣椒中 MADS-box 基因 *PAP3* 参与调控雄蕊的发育,研究结果显示 *PAP3* 基因可能在辣椒雄性不育中起重要作用^[68],其作用机制还需进一步研究,该研究中鉴定的其他育性恢复相关 EST 为后续研究提供了有利线索。

2 辣椒基因组学研究对基因发掘的影响

随着测序技术的日益改进和测序成本的降低,基因组学研究成为近年人们关注的热点。辣椒基因组测序的完成^[5, 8]使人们能更全面了解辣椒基因组特征,方便人们开展辣椒基因组学研究,解码辣椒中各基因的功能。

辣椒基因组数据的公布方便了辣椒重要农艺性状相关基因的定位及后续研究。遗传图谱的构建一直是重要农艺性状相关基因定位和克隆的重要基础,利用基因组单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNPs)构建的遗传图谱与传统方法构建的遗传图谱相比精度更高,免去了传统遗传图谱构建所需的分子标记开发和群体基因型鉴定等大量重复劳动。Han 等^[44]利用辣椒基因组 SNPs 构建了全长为 1 372 cM 的分子遗传图谱,重组单元(bin)之间的平均间距为 0.53 cM,超高密度遗传图谱的建立为辣椒农艺性状的定位提供了便利条件。传统图位克隆过程中,需要构建高质量 DNA 文库并通过文库筛选获取定位区间内的序列信息,在辣椒基因组数据公布后,可直接调取标记间序列信息用于后续分析,在定位区间内没有大缺口的情况下,可免去 DNA 文库构建及文库筛选的繁琐过程。如 Li 等^[69]在用图位克隆法将 *sy-2* 位点温度敏感基因精细定位在 138.8 kb 区间后,利用辣椒基因组数据基于表达分析在该区间快速鉴定 2 个候选基因。

茄科中马铃薯^[70]、番茄^[71]、茄子^[72]等基因组测序的完成,利于通过比较基因组学分析发掘辣椒重要农艺性状相关基因。Kim 等^[8]通过比较番茄和辣椒基因组序列,发现它们具有高度保守的共线性区域。这种保守的共线性关系利于人们通过番茄中的已知基因来克隆辣椒中具有相似功能的基因。如 Barry 等^[31]通过图位克隆和共线性分析,将辣椒中番茄 *GF* 同源基因(*CL* 基因)作为候选基因,通过研究确认 *CL* 基因中 1 个氨基酸的变异是辣椒果实颜色变异原因。在全基因组范围内比较辣椒与近缘物种中直系同源基因,可以找出区别两物种生理差异的相关基因。Kim 等^[8]通过比较番茄和辣椒果实成熟过程的直系同源基因,推测参与抗坏血酸盐生物合成和再循环利用中的差异表达基因(如 *GGP1*、*APX2* 和 *DHAR* 基因)与辣椒更高的抗坏血酸含量有关,野生辣椒受损的 *PG* 基因可能在影响果实软化和细胞壁相关基因转录调控中起关键作用。

3 辣椒重要农艺性状相关基因的发掘方法

3.1 辣椒中已成功运用的基因发掘常规方法

辣椒重要农艺性状相关基因的发掘是辣椒功能基因组研究和遗传改良的基础,其中图位克隆和候选基因法是相关基因分离和克隆的常规方法。

图位克隆是基因遗传定位和克隆的经典方法。比如辣椒中细菌性疮痂病抗性基因 *Bs3* 是基于图位克隆法分离鉴定的;Pierre 等^[73]对细菌性疮痂病抗性基因 *Bs3* 进行精细定位,Jordan 等^[74]鉴定了包含 *Bs3* 基因的 BAC (bacterial artificial chromosome) 克隆,Romer 等^[16]基于前期研究结果分离克隆了 *Bs3* 基因并通过转基因和瞬时表达等方式解析了该基因的功能。当研究者对所研究目标性状的生物背景掌握有限的情况下,通过图位克隆方法可以有效地找到目标基因,但该方法需要开发大量分子标记构建高密度遗传图谱并构建高质量的 DNA 文库,因而研究周期长、效率较低。

如果已掌握控制目标性状相关基因的充分信息,可通过候选基因法发掘相关基因。例如 Huh 等^[33]将参与类胡萝卜素生物合成的 *FPS*、*PSY*、*PDS* 和 *CCS* 等基因作为候选基因,通过遗传分析结果发现 *PSY* 基因为 *c2* 位点控制辣椒成熟果实红色或橙色的基因。在辣椒马铃薯 Y 病毒抗性、疫病抗性、叶绿素降解和花青苷合成等方面也运用到候选基因法开展相关研究^[17, 75]。近年,Castellote 等^[76]开发的 SOLNetMiner (<https://ondex.rothamsted.ac.uk/SOLNetMiner/>)为包括辣椒在内的茄科作物重要性状候选基因的鉴定和选择提供了理想工具。随着越来越多基因的功能被解析,方便了候选基因法的运用,该方法可缩短研究周期、节省劳动力,特别是结合连锁分析的候选基因法因兼具准确性和高效性已被广泛应用。

3.2 基于第二代测序技术的基因发掘方法及其在辣椒中的应用和前景展望

作物大多数重要农艺性状是由多基因控制的数量性状,定位和克隆数量性状位点(quantitative trait loci, QTLs)基因是作物遗传改良和研究相关基因作用分子机理的重要前提。近年来第二代测序(next generations sequencing, NGS)成本逐年下降,降低了应用该技术的门槛,基于 NGS 的基因发掘方法因其快捷、高效等特点越来越受人们的青睐。

3.2.1 简化基因组测序方法 简化基因组测序能

得到代表部分基因组的序列信息,这些序列分散于整个基因组,从中挖掘的分子标记利于基因的快速定位和克隆。目前简化基因组测序方法有 RAD-seq(restriction-site associated DNA sequencing)、CRoPS(complexity reduction of polymorphic sequences)、GBS (genotyping by sequencing) 和 SLAF-seq(specific length amplified fragment sequencing)等^[77-80],它们已应用于不同物种(包括辣椒)的基因发掘中。例如段蒙蒙等^[81]采用 SLEF-seq 方法挖掘 SNP 标记,结合 SSR(simple sequence repeats)标记构建高密度遗传图谱,图谱总平均图距为 0.27 cM,该图谱的建立为辣椒重要农艺性状 QTL 定位奠定了基础。Xu 等^[23]运用 SLAF-seq 与 BSA 相结合的方法,将辣椒中疫霉根腐病抗病基因 *PhR10* 定位于 2.57 Mb 物理距离内,该区间内的 31 个与抗性相关的基因为候选基因,为下一步基因的克隆提供了参考。Guo 等^[82]运用 SLAF-seq 结合 BSA、传统 QTL 分析和表达分析等方法,鉴定辣椒中 CA02g19570 为 *qCmr2.1* 位点抗黄瓜黄叶病毒的候选基因。辣椒的基因组比较大,用简化基因组测序方法定位目标基因能降低成本,利用该方法鉴定的高密度分子标记便于快速定位发掘目标基因,具有广阔的应用前景。

3.2.2 基于 NGS 的全基因组关联分析 基于 NGS 的全基因组关联分析(genome-wide association study, GWAS)以连锁不平衡(linkage disequilibrium, LD)为基础,通过对整个基因组的遗传变异数据(包括 SNPs、插入缺失和拷贝数变异等)与表型变异间的关系进行统计分析,找到与目标性状有关联的染色体位点^[83]。在辣椒中, Nimmakayala 等^[84]基于 SSR 标记对辣椒种质资源的连锁不平衡和群体结构进行分析,检测到来自 7 条不同染色体的 8 个标记与果重显著相关,证实了在辣椒中进行全基因组关联分析的有效性。但是,通过传统 GWAS 定位基因的精细度有限,在辣椒中通过 NGS 技术开展 GWAS 研究,利于提高定位的精细度。Taranto 等^[85]通过 GBS (genotyping by sequencing)鉴定辣椒全基因组 SNP 并分析辣椒群体结构,高密度的 SNP 标记将提高下一步运用 GWAS 方法定位农艺性状相关基因的精细程度。随着高通量测序技术的不断进步以及测序成本的急剧降低,应用 NGS-GWAS 方法发掘辣椒重要农艺性状基因将成为未来研究的重要方法。

3.2.3 其他可应用的方法 在其他作物中,人们已成功应用 QTL-seq^[86-87] 和 BSR-seq^[88] 等方法快速定位感兴趣的农艺性状 QTLs。QTL-seq 结合 BSA (bulk segregant analysis, BSA)法和第二代测序技术的优势,对所研究性状分离群体中具有相对极端表型的 2 个 DNA 混池进行全基因组重测序,根据 2 个混池的 $\Delta(\text{SNP-index})$ 找到目标性状 QTLs 的染色体位置置信区间^[86-87]。运用 BSR-seq^[88]快速定位目标基因的思路与 QTL-seq 基本一致,主要区别在于 BSR-seq 是对 2 个混池进行 RNA-seq。辣椒中鲜有利用 QTL-seq 或 BSR-seq 方法定位基因的报道,随着测序技术的进步和测序成本的降低,未来它们将在辣椒重要农艺性状相关基因的发掘中发挥重要作用。辣椒基因组中有超过 81%约 2.7 Gb 为转座元件^[5],在辣椒中利用 BSR-seq 方法定位和克隆基因可有效避免基因组中大量重复序列,节省测序费用,同时得到的差异表达数据能为候选基因的选择提供参考,具有良好的应用前景。

4 展 望

随着辣椒基因组测序的完成^[5, 8],辣椒的研究进入了基因功能解析的后基因组学时代。模式植物拟南芥中已有上万个基因的功能被科研工作者解码(<https://www.arabidopsis.org/>),与辣椒亲缘关系相近的番茄中,也有许多重要农艺性状相关基因的功能被阐明。辣椒作为茄科的重要蔬菜作物,在形态、发育等方面与模式植物既有相似性又存在许多差异。辣椒的辣味、颜色、抗病、雄性不育相关基因的研究已有一定基础,辣椒的果实形状和花形成等性状相关基因也有报道^[89-90],然而辣椒基因组中预测的约 3.5 万个基因^[5]中还有很多重要农艺性状相关基因有待发掘,功能有待解析。QTL-seq、BSR-seq、NGS-GWAS 等方法的应用和相关公共资源的共享,为人们对辣椒重要农艺性状相关基因进行精细定位、克隆、功能解析和比较基因组学分析提供了良好的平台,为辣椒功能基因组学的深入研究带来便利。辣椒重要功能基因的高效挖掘为我们了解辣椒的重要农艺性状调控机理奠定了基础,是“全基因组导航分子模块设计育种”^[91]的重要前提,方便人们从庞大育种群体中快速精准地选择兼备多种优良性状的理想基因型个体,具有重要的科研和应用价值。

参考文献:

- [1] MORI A, LEHMANN S, O'KELLY J, *et al.* Capsaicin, a component of red peppers, inhibits the growth of androgen-independent, p53 mutant prostate cancer cells [J]. *Cancer Research*, 2006, **66**(6): 3 222-3 229.
- [2] WHITING S, DERBYSHIRE E J, TIWARI B. Could capsaicinoids help to support weight management? A systematic review and meta-analysis of energy intake data [J]. *Appetite*, 2014, **73**: 183-188.
- [3] CATERINA M J, SCHUMACHER M A, TOMINAGA M, *et al.* The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway [J]. *Nature*, 1997, **389**(6 653): 816-824.
- [4] MAZOUREK M, PUJAR A, BOROVSKY Y, *et al.* A dynamic interface for capsaicinoid systems biology [J]. *Plant Physiology*, 2009, **150**(4): 1 806-1 821.
- [5] QIN C, YU C S, SHEN Y O, *et al.* Whole-genome sequencing of cultivated and wild peppers provides insights into *Capsicum* domestication and specialization [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2014, **111**(14): 5 135-5 140.
- [6] MA A J, MA R G, L PEZ M G, *et al.* Virus-induced silencing of *Comt*, *pAmt* and *Kas* genes results in a reduction of capsaicinoid accumulation in chili pepper fruits [J]. *Planta*, 2008, **227**(3): 681-695.
- [7] STELLARI G M, MAZOUREK M, JAHN M M. Contrasting modes for loss of pungency between cultivated and wild species of *Capsicum* [J]. *Heredity*, 2010, **104**(5): 460-471.
- [8] KIM S, PARK M, YEOM S I, *et al.* Genome sequence of the hot pepper provides insights into the evolution of pungency in *Capsicum* species [J]. *Nature Genetics*, 2014, **46**(3): 270-278.
- [9] KOEDA S, SATO K, TOMI K. Analysis of non-pungency, Aroma, and origin of a *Capsicum chinense* cultivar from a Caribbean island [J]. *Japanese Society for Horticultural Science*, 2014, **83**(3): 244-251.
- [10] KOEDA S, SATO K, TAKISAWA R, *et al.* Inheritance of Non-pungency in 'No. 3341' (*Capsicum chinense*) [J]. *Horticulture Journal*, 2015, **84**(4): 323-326.
- [11] YARNES S C, ASHRAFI H, REYES-CHIN-WO S, *et al.* Identification of QTLs for capsaicinoids, fruit quality, and plant architecture-related traits in an interspecific *Capsicum* RIL population [J]. *Genome*, 2013, **56**(1): 61-74.
- [12] LEE J, PARK S J, HONG S C, *et al.* QTL mapping for capsaicin and dihydrocapsaicin content in a population of *Capsicum annuum* 'NB1' $\times$ *Capsicum chinense* 'Bhut Jolokia' [J]. *Plant Breeding*, 2016, **135**: 376-383.
- [13] 王 宁, 张正海, 王立浩, 等. 不同栽培条件下辣椒果实辣椒素含量的分析与 QTL 定位 [J]. 中国蔬菜, 2016, (3): 19-25.
WANG N, ZHANG Z H, WANG L H, *et al.* Analysis and QTL mapping for capsaicin content of pepper fruits under different cultivation conditions [J]. *China Vegetables*, 2016, (3): 19-25.
- [14] ATTUQUAYEFIO V K, BUCKLE K A. Rapid sample preparation method for HPLC analysis of capsaicinoids in *Capsicum* fruits and oleoresins [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1987, **35**(5): 777-779.
- [15] TAI T H, DAHLBECK D, CLARK E T, *et al.* Expression of the *Bs2* pepper gene confers resistance to bacterial spot disease in tomato [J]. *Proceedings of the National Academy of Science*, 1999, **96**(24): 14 153-14 158.
- [16] ROMER P, HAHN S, JORDAN T, *et al.* Plant pathogen recognition mediated by promoter activation of the pepper *Bs3* resistance gene [J]. *Science*, 2007, **318**(5 850): 645-648.
- [17] RUFFEL S, DUSSAULT M H, PALLOIX A, *et al.* A natural recessive resistance gene against potato virus Y in pepper corresponds to the eukaryotic initiation factor 4E (eIF4E) [J]. *Plant Journal*, 2002, **32**(6): 1 067-1 075.
- [18] SAWADA H, TAKEUCHI S, HAMADA H, *et al.* A new *Tobamovirus*-resistance gene, *L^{1a}*, of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) [J]. *Engei Gakkai Zasshi*, 2004, **73**(6): 552-557.
- [19] ANTIGNUS Y, LACHMAN O, PEARLSMAN M, *et al.* A new pathotype of pepper mild mottle virus (PMMoV) overcomes the *L4* resistance genotype of pepper cultivars [J]. *Plant Disease*, 2008, **92**(92): 1 033-1 037.
- [20] TOMITA R, SEKINE K T, MIZUMOTO H, *et al.* Genetic basis for the hierarchical interaction between *Tobamovirus* spp. and *L* resistance gene alleles from different pepper species [J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2010, **24**(1): 108-117.
- [21] JIN J H, ZHANG H X, TAN J Y, *et al.* A new ethylene-responsive factor *CaPTI1* gene of pepper (*Capsicum annuum* L.) involved in the regulation of defense response to *Phytophthora capsici* [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2016, **6**: 1 217-1 228.
- [22] WANG P, WANG L, GUO J, *et al.* Molecular mapping of a gene conferring resistance to *Phytophthora capsici* Leonian race 2 in pepper line PI201234 (*Capsicum annuum* L.) [J]. *Molecular Breeding*, 2016, **36**: 66-76.
- [23] XU X M, CHAO J, CHENG X L, *et al.* Mapping of a novel race specific resistance gene to phytophthora root rot of pepper (*Capsicum annuum*) using bulked segregant analysis combined with specific length amplified fragment sequencing strategy [J]. *PLoS One*, 2016, **11**(3): e0151401.
- [24] 王平勇. 辣椒抗疫病基因的定位及相关基因的克隆与功能分析 [D]. 北京: 中国农业大学, 2016.
- [25] CAI H Y, YANG S, YAN Y, *et al.* CaWRKY6 transcriptionally activates CaWRKY40, regulates *Ralstonia solanacearum* resistance, and confers high-temperature and high-humidity

tolerance in pepper[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2015, **66**(11):3 163-3 174.

[26] LEI S, LIU Z, SHENG Y, *et al.* Pepper CabZIP63 acts as a positive regulator during *Ralstonia solanacearum* or high temperature-high humidity challenge in a positive feedback loop with CaWRKY40[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2016, **67**(8):2 439-2 451.

[27] SHEN L, YANG S, YANG T, *et al.* CaCDPK15 positively regulates pepper responses to *Ralstonia solanacearum* inoculation and forms a positive-feedback loop with CaWRKY40 to amplify defense signaling[J]. *Scientific Reports*, 2016, **6**: 22 439.

[28] TRAN N H, KIM B S. Inheritance of resistance to bacterial wilt(*Ralstonia solanacearum*) in pepper (*Capsicum annuum* L.) [J]. *Horticulture Environment and Biotechnology*, 2010, **51**(5):431-439.

[29] SHARMA S, SINGH Y, SHARMA A. Genetics of bacterial wilt resistance in sweet pepper[J]. *Bioinfolet*, 2013, **10**(3a): 795-799.

[30] LI Z, WANG S, GUI X L, *et al.* A further analysis of the relationship between yellow ripe-fruit color and the capsanthin-capsorubin synthase gene in pepper(*Capsicum* sp.) indicated a new mutant variant in *C. annuum* and a tandem repeat structure in promoter region [J]. *PLoS One*, 2013, **8** (4):e61996.

[31] BARRY C S, MCQUINN R P, CHUNG M Y, *et al.* Amino acid substitutions in homologs of the STAY-GREEN protein are responsible for the *green-flesh* and *chlorophyll retainer* mutations of tomato and pepper[J]. *Plant Physiology*, 2008, **147**(1):179-187.

[32] BOROVSKY Y, TADMOR Y, BAR E, *et al.* Induced mutation in β -CAROTENE HYDROXYLASE results in accumulation of β -carotene and conversion of red to orange color in pepper fruit[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2013, **126** (3):557-565.

[33] HUH J H, KANG B C, NAHM S H, *et al.* A candidate gene approach identified phytoene synthase as the locus for mature fruit color in red pepper (*Capsicum* spp.) [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2001, **102**(4):524-530.

[34] KIM O R, CHO M C, KIM B D, *et al.* A splicing mutation in the gene encoding phytoene synthase causes orange coloration in Habanero pepper fruits[J]. *Molecules and Cells*, 2010, **30**(6):569-574.

[35] GUZMAN I, HAMBY S, ROMERO J, *et al.* Variability of carotenoid biosynthesis in orange colored *Capsicum* spp. [J]. *Plant Science*, 2010, **179**(1/2):49-59.

[36] RODRIGUEZ-URIBE L, GUZMAN I, RAJAPAKSE W, *et al.* Carotenoid accumulation in orange-pigmented *Capsicum annuum* fruit, regulated at multiple levels[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2012, **63**(1):517-526.

[37] BOROVSKY Y, OREN-SHAMIR M, OVADIA R, *et al.* The A locus that controls anthocyanin accumulation in pepper encodes a MYB transcription factor homologous to *Anthocyanin2* of Petunia[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2004, **109**(1):23-29.

[38] STOMMEL J R, PUSHKO M, HAYNES K G, *et al.* Differential inheritance of pepper (*Capsicum annuum*) fruit pigments results in black to violet fruit colour[J]. *Plant Breeding*, 2014, **133**(6):788-793.

[39] 李 珍. 辣椒花青素合成相关基因的表达与紫色性状遗传分析[D]. 南京:南京农业大学, 2014.

[40] WANG D, BOSLAND P W. The genes of *Capsicum* [J]. *Hortscience*, 2006, **41**(5):1 169-1 187.

[41] AGUILAR-BARRAG N A, OCHOA-ALEJO N. Virus-induced silencing of MYB and WD40 transcription factor genes affects the accumulation of anthocyanins in chilli pepper fruit [J]. *Biologia Plantarum*, 2014, **58**(3):567-574.

[42] BRAND A, BOROVSKY Y, MEIR S, *et al.* *pc8. 1*, a major QTL for pigment content in pepper fruit, is associated with variation in plastid compartment size[J]. *Planta*, 2012, **235** (3):579-588.

[43] BRAND A, BOROVSKY Y, HILL T, *et al.* *CaGLK2* regulates natural variation of chlorophyll content and fruit color in pepper fruit[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2014, **127**(10):2139-2148.

[44] HAN K, JEONG H J, YANG H B, *et al.* An ultra-high-density bin map facilitates high-throughput QTL mapping of horticultural traits in pepper (*Capsicum annuum*) [J]. *DNA Research*, 2016, **23**(2):81-91.

[45] 李大伟, 郝万江, 巩振辉. 辣椒果色遗传与分子生物学研究进展[J]. 辣椒杂志, 2014, **12**(2):1-5.

LI D W, HAO W J, GONG Z H. Advances in genetics and molecular biology of fruit colour in hot pepper[J]. *Journal of China Capsicum*, 2014, **12**(2):1-5.

[46] DHALIWAL M S, JINDAL S K. Induction and exploitation of nuclear and cytoplasmic male sterility in pepper (spp.): a review[J]. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, 2014, **89**(5):471-479.

[47] CHEN S. Male sterility in pepper (*Capsicum annuum* L.) [J]. *Euphytica*, 1996, **93**(1):83-88.

[48] BARTOSZEWSKI G, WASZCZAK C, GAWRO ŃSKI P, *et al.* Mapping of the *ms8* male sterility gene in sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) on the chromosome P4 using PCR-based markers useful for breeding programmes[J]. *Euphytica*, 2012, **186**(2):453-461.

[49] AULAKH P S, DHALIWAL M S, JINDAL S K, *et al.* Mapping of male sterility gene *ms10* in chilli pepper (*Capsicum annuum* L.) [J]. *Plant Breeding*, 2016, **135**(4):531-535.

- [50] LEE J D, YOON J B, HAN J-H, *et al.* Three AFLP markers tightly linked to the genic male sterility *ms₃* gene in chili pepper (*Capsicum annuum* L.) and conversion to a CAPS marker [J]. *Euphytica*, 2010, **173**(1): 55-61.
- [51] HENG S, CHAO W, BING J, *et al.* Comparative analysis of mitochondrial genomes between the hau cytoplasmic male sterility (CMS) line and its iso-nuclear maintainer line in *Brassica juncea* to reveal the origin of the CMS-associated gene *orf288* [J]. *BMC Genomics*, 2014, **15**: 322.
- [52] JO Y D, CHOI Y, KIM D H, *et al.* Extensive structural variations between mitochondrial genomes of CMS and normal peppers (*Capsicum annuum* L.) revealed by complete nucleotide sequencing [J]. *BMC Genomics*, 2014, **15**(1): 1-14.
- [53] FANG X, FU H F, GONG Z H, *et al.* Involvement of a universal amino acid synthesis impediment in cytoplasmic male sterility in pepper [J]. *Scientific Reports*, 2016, **6**: 23 357-23 371.
- [54] DONG H K, KIM B D. The organization of mitochondrial *atp6* gene region in male fertile and CMS lines of pepper (*Capsicum annuum* L.) [J]. *Current Genetics*, 2006, **49**(1): 59-67.
- [55] KIM D H, KANG J G, KIM B-D. Isolation and characterization of the cytoplasmic male sterility-associated *orf456* gene of chili pepper (*Capsicum annuum* L.) [J]. *Plant Molecular Biology*, 2007, **63**(4): 519-532.
- [56] SABAR M, GAGLIARDI D, BALK J, *et al.* ORFB is a subunit of F₁F₀-ATP synthase; insight into the basis of cytoplasmic male sterility in sunflower [J]. *EMBO Reports*, 2003, **4**(4): 381-386.
- [57] ZHANG H, LI S Q, YI P, *et al.* A Honglian CMS line of rice displays aberrant F₀ of F₀F₁-ATPase [J]. *Plant Cell Reports*, 2007, **26**(7): 1 065-1 071.
- [58] JI J J, HUANG W, LI D W, *et al.* A CMS-related gene, *Ψatp6-2*, causes increased ATP hydrolysis activity of the mitochondrial F₁F₀-ATP synthase and induces male sterility in pepper (*Capsicum annuum* L.) [J]. *Plant Molecular Biology Reporter*, 2014, **32**(4): 888-899.
- [59] JI J J, HUANG W, LI Z, *et al.* Tapetum-specific expression of a cytoplasmic *orf507* gene causes semi-male sterility in transgenic peppers [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2015, **6**: 272-285.
- [60] LIU C, MA N, WANG P Y, *et al.* Transcriptome sequencing and de novo analysis of a cytoplasmic male sterile line and its near-isogenic restorer line in chili pepper (*Capsicum annuum* L.) [J]. *PLoS One*, 2013, **8**(6): e65209.
- [61] 王 宁. 辣椒胞质雄性不育恢复性 QTL 定位及不同栽培环境对其影响分析 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2015.
- [62] JO Y D, HA Y, LEE J H, *et al.* Fine mapping of *Restorer-of-fertility* in pepper (*Capsicum annuum* L.) identified a candidate gene encoding a pentatricopeptide repeat (PPR)-containing protein [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2016, **129**(10): 2 003-2 017.
- [63] 魏兵强, 张 森, 王兰兰, 等. 辣椒胞质雄性不育及其育性恢复研究进展 [J]. 生物技术通报, 2016, **32**(4): 1-5.
- WEI B Q, ZHANG M, WANG L L, *et al.* Research progress on cytoplasmic male sterility and its restorer of fertility in pepper [J]. *Biotechnology Bulletin*, 2016, **32**(4): 1-5.
- [64] 王述彬, 刘金兵, 潘宝贵. 辣(甜)椒细胞质雄性不育恢复基因的遗传与分布 [J]. 华北农学报, 2007, **22**(1): 86-89.
- WANG S B, LIU J B, PAN B G. Inheritance and distribution of fertility restoring gene of cytoplasmic male sterile pepper [J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2007, **22**(1): 86-89.
- [65] DAHAN J, MIREAU H. The Rf and Rf-like PPR in higher plants, a fast-evolving subclass of PPR genes [J]. *RNA Biology*, 2012, **10**(9): 1 469-1 476.
- [66] BARCHENGER D W, SAID J I, ORTEGA F A, *et al.* Genome-wide identification of chile pepper pentatricopeptide repeat (PPR) domains provides insight into restoration of fertility [C]. Annual New Mexico Chile Conference. Las Cruces: Chile Pepper Institute, 2016.
- [67] 郭 爽, 沈火林, 杨文才, 等. 利用抑制消减杂交技术分离辣椒胞质雄性不育育性恢复相关 EST [J]. 园艺学报, 2009, **36**(10): 1 443-1 449.
- GUO S, SHEN H L, YANG W C, *et al.* Isolation of fertility restoration-related ESTs in pepper cytoplasmic male sterility lines using SSH [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2009, **36**(10): 1 443-1 449.
- [68] MA N, LIU C, YANG W, *et al.* PAP3 regulates stamen but not petal development in *Capsicum annuum* L. [J]. *Horticultural Plant Journal*, 2016, **2**(2): 91-96.
- [69] LI L, VENKATESH J, JO Y D, *et al.* Fine mapping and identification of candidate genes for the *sy-2* locus in a temperature-sensitive chili pepper (*Capsicum chinense*) [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2016, **129**(8): 1 541-1 556.
- [70] The Potato Genome Sequencing Consortium. Genome sequence and analysis of the tuber crop potato [J]. *Nature*, 2011, **475**(7 355): 189-195.
- [71] The Tomato Genome Consortium. The tomato genome sequence provides insights into fleshy fruit evolution [J]. *Nature*, 2012, **485**(7 400): 635-641.
- [72] HIDEKI H, KENTA S, KOJI M, *et al.* Draft genome sequence of eggplant (*Solanum melongena* L.): the representative solanum species indigenous to the old world [J]. *DNA Research*, 2014, **21**(6): 649-660.
- [73] PIERRE M, NO L L, LAHAYE T, *et al.* High-resolution genetic mapping of the pepper resistance locus *Bs3* governing recognition of the *Xanthomonas campestris* pv *vesicatora* AvrBs3 protein [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2000,

101(1/2):255-263.

[74] JORDAN T,ROMER P,MEYER A,*et al.* Physical delimitation of the pepper *Bs3* resistance gene specifying recognition of the AvrBs3 protein from *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2006, **113** (5):895-905.

[75] WANG P,LIU X,GUO J,*et al.* Identification and expression analysis of candidate genes associated with defense responses to *Phytophthora capsici* in pepper line “PI 201234”[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2015, **16**(5):11 417-11 438.

[76] CASTELLOTE M,HASSANI-PAK K,RAWLINGS C,*et al.* SOLNetMiner,a tool for finding candidate genes in potato (*Solanum tuberosum*) and tomato (*Solanum lycopersicum*) [C]. The 10th Solanaceae Conference. Beijing: Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences,2013.

[77] VAN ORSOUW N J,HOGERS R C,JANSSEN A,*et al.* Complexity reduction of polymorphic sequences(CRoPS): a novel approach for large-scale polymorphism discovery in complex genomes[J]. *PLoS One*, 2007, **2**(11):e1172.

[78] BAIRD N A,ETTER P D,ATWOOD T S,*et al.* Rapid SNP discovery and genetic mapping using sequenced RAD markers [J]. *PLoS One*, 2008, **3**(10):e3376.

[79] ELSHIRE R J,GLAUBITZ J C,SUN Q,*et al.* A robust, simple genotyping-by-sequencing(GBS)approach for high diversity species[J]. *PLoS One*, 2011, **6**(5):e19379.

[80] SUN X W,LIU D Y,ZHANG X F,*et al.* SLAF-seq:an efficient method of large-scale de novo SNP discovery and genotyping using high-throughput sequencing [J]. *PLoS One*, 2013, **8**(3):e58700.

[81] 段蒙蒙,王 宁,毛胜利,等. 辣椒种内高密度遗传图谱的构建[J]. 园艺学报, 2014, **41**(S):2705.

DUAN M M,WANG N,MAO S L,*et al.* Construction of an high-density intraspecific genetic map of pepper [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2014, **41**(S):2705.

[82] GUO G,WANG S,LIU J,*et al.* Rapid identification of QTLs underlying resistance to cucumber mosaic virus in pepper (*Capsicum frutescens*)[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2016:1-12.

[83] SI L,CHEN J,HUANG X,*et al.* *OsSPL13* controls grain size in cultivated rice[J]. *Nature Genetics*, 2016, **48**(4):447-456.

[84] NIMMAKAYALA P,ABBURI V L,ABBURI L,*et al.* Linkage disequilibrium and population-structure analysis among *Capsicum annum* L. cultivars for use in association mapping [J]. *Molecular Genetics and Genomics*, 2014, **289** (4): 513-521.

[85] TARANTO F,D’AGOSTINO N,GRECO B,*et al.* Genome-wide SNP discovery and population structure analysis in pepper(*Capsicum annum*)using genotyping by sequencing[J]. *BMC Genomics*, 2016, **17**(1):943-955.

[86] DAS S,UPADHYAYA H D,BAJAJ D,*et al.* Deploying QTL-seq for rapid delineation of a potential candidate gene underlying major trait-associated QTL in chickpea[J]. *DNA Research*, 2015, **22**(3):193-203.

[87] SINGH V K,KHAN A W,JAGANATHAN D,*et al.* QTL-seq for rapid identification of candidate genes for 100-seed weight and root/total plant dry weight ratio under rainfed conditions in chickpea [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2016, **14**(11):2 110-2 119.

[88] LI L,LI D,LIU S,*et al.* The maize *glossy13* gene,cloned via BSR-seq and seq-walking encodes a putative ABC transporter required for the normal accumulation of epicuticular waxes [J]. *PLoS One*, 2013, **8**(12):e82333.

[89] TSABALLA A,PASENTSIS K,DARZENTAS N,*et al.* Multiple evidence for the role of an Ovate-like gene in determining fruit shape in pepper[J]. *BMC Plant Biology*, 2011, **11**: 46-61.

[90] COHEN O,BOROVSKY Y,DAVID-SCHWARTZ R,*et al.* *Capsicum annum* *S* (CaS) promotes reproductive transition and is required for flower formation in pepper(*Capsicum annum*)[J]. *New Phytologist*, 2014, **202**(3):1 014-1 023.

[91] XUE Y,CHONG K,HAN B,*et al.* New chapter of designer breeding in China:update on strategic program of molecular module-based designer breeding systems[J]. *Bulletin of Chinese Academy of Sciences*, 2015, **30**:393-410.

(编辑:宋亚珍)