

番茄第9号染色体上抗晚疫病基因的发掘及表达模式

莫云容¹ 张培欣¹ 邓明华¹ 杨正安¹ 朱海山¹ 张宏¹
鲍继艳¹ 胡文岩¹ 汤晓倩¹ 马仲飞² 文玲³ 赵凯^{1*}

(1. 云南农业大学 园林园艺学院, 昆明 650201;

2. 昭通市昭阳区园艺技术推广所, 云南 昭通 657000)

摘要 为提供番茄晚疫病抗病育种候选基因,本研究以高抗晚疫病的 CLN2037E 自交系和感病 5[#] 自交系为实验材料,在前期使用分子标记将 CLN2037E 中存在的抗晚疫病基因定位在第9号染色体的基础上,利用晚疫病病菌诱导 CLN2037E 的 cDNA 文库、番茄基因组 CDS 数据库、本地 Blast 程序及实时荧光定量 PCR 技术,发掘与第9号染色体上 EST 最佳匹配的 CDS 以及对晚疫病病菌的响应模式。结果发掘出6条抗晚疫病的候选基因,其中 *Solyc09g097960*、*Solyc09g082810* 和 *Solyc09g065760* 在 5[#] 自交系和 CLN2037E 自交系中均响应晚疫病病菌, *Solyc09g092030* 和 *Solyc09g090430* 在2个自交系中分别被抑制和不响应晚疫病病菌, *Solyc09g008670* *STBZ* 的表达在 5[#] 自交系中被抑制,而在 CLN2037E 中被诱导。为验证该基因的功能,成功构建 *Solyc09g008670* 基因的过表达和 VIGS (Virus Induced Gene Silencing) 沉默载体。

关键词 番茄;晚疫病;抗病基因;响应模式;抗病育种

中图分类号 S 436.412

文章编号 1007-4333(2016)08-0052-07

文献标志码 A

Research on the excavation and response patterns of genes resistant to late blight located in the No. 9 chromosome of tomato

MO Yun-rong¹, ZHANG Pei-xin¹, DENG Ming-hua¹, YANG Zheng-an¹, ZHU Hai-shan¹, ZHANG Hong¹,
BAO Ji-yan¹, HU Wen-yan¹, TANG Xiao-qian¹, MA Zhong-fei², WEN Ling³, ZHAO Kai^{1*}

(1. College of Landscape and Horticulture, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China;

2. Horticultural Technology Extension Station of Zhaoyang District, Zhaotong 657000, China)

Abstract To provide candidate genes resistant to late blight fungus for disease resistance breeding, the high resistance inbred line CLN2037E and susceptible inbred line 5[#] of tomato were used as experimental materials. Based on the previous results that the late blight resistance genes were located in the No. 9 chromosome of CLN2037E by using molecular marker technique, we excavated the candidate genes optimally matching the EST in No. 9 chromosome and revealed their response patterns by employing the differential cDNA library, tomato genome CDS database, bioinformatics technology and real time fluorescence quantitative PCR. The results showed that: A total of six candidate genes were found resistant to late blight. *Solyc09g097960*, *Solyc09g082810* and *Solyc09g065760* were all induced in the 5[#] and CLN2037E tomato inbred lines; *Solyc09g092030* was inhibited in both lines. *Solyc09g090430* was not response to late blight in these two inbred lines; The expression of *Solyc09g008670* was suppressed in the 5[#] inbred line, but accelerated in CLN2037E. Furthermore, in order to verify its function, overexpression and VIGS vectors of *Solyc09g008670* were constructed. The results will provide the theory basis for understanding resistance mechanism and resistance breeding.

Keywords tomato; late blight; resistance genes; response patterns; disease resistance breeding

收稿日期: 2015-11-25

基金项目: 国家自然科学基金项目(31460525, 31260481); 云南省科技计划面上项目(2015FB144); 云南省教育厅项目(2015Y187)

第一作者: 莫云容, 硕士研究生, E-mail: moyunrong0408@aliyun.com

通讯作者: 赵凯, 讲师, 主要从事蔬菜抗病研究, E-mail: kailixian1023@aliyun.com

番茄晚疫病(Tomato late blight)是由致病疫霉 [*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary] 侵染引起的一种真菌性病害,在世界范围内已成为番茄主要的、毁灭性的病害^[1-3]。番茄晚疫病在我国各省市时有发生,常导致番茄减产甚至绝收,该病害对露地和保护地番茄均能造成严重危害^[4]。目前,防治晚疫病的主要方法包括栽培制度的调整,化学农药的喷施以及抗性品种的使用,然而,在终年种植番茄的地区,改变栽培制度防御晚疫病并不实用,而化学农药的使用又会造成环境污染、农残超标及病原菌抗药性增强等一系列问题^[5]。因此,抗性品种的使用是一种预防番茄晚疫病有效的途径。然而,培育抗性品种,首先需要发掘有利用价值的抗晚疫病的候选基因,通过传统和现代的育种手段培育抗性新品种。

番茄晚疫病抗病育种始于 1946 年^[6]。之后,国内外研究者运用多种分子标记的方法鉴别出一系列抗番茄晚疫病不同生理小种的抗性基因,其中抗性较突出、研究较普遍的为 *ph-1*, *ph-2* 和 *ph-3* 基因^[1,7-8]。Zhang 等^[3,9]绘制了与 *ph-3* 基因连锁的精细遗传图谱并首次克隆出醋栗番茄第 9 号染色体上的 *ph-3* 基因,进一步通过互补分析试验发现该基因属于 CC-NBS-LRR 家族基因,并能提高感病番茄对晚疫病菌的抗性。课题组前期使用 SSR 分子标记将高抗晚疫病番茄自交系 CLN2037E 中抗性质量基因定位在第 9 号染色体上,并鉴别出 1 个与抗性基因连锁的 SSR 分子标记 Tom236^[10]。之后,建立了 CLN2037E 晚疫病诱导 cDNA 文库,发现分布在 9 号染色体上的 EST 序列最多^[11]。本研究拟以番茄第 9 号染色体上的 EST 序列为研究对象,结合番茄基因组 CDS 数据库,通过生物信息学和实时荧光定量 PCR 技术发掘与 EST 匹配的 CDS 及对晚疫病响应模式,旨在为番茄晚疫病抗病育种提供有利用价值的基因。

1 材料与方法

1.1 材料处理

高抗晚疫病番茄材料 CLN2037E 引自亚洲蔬菜研究发展中心(AVRDC),感病材料 5[#] 自交系为项目组培育的品系,晚疫病生理小种 T_{1,2,3} 由本实验室纯化保存。

番茄材料播种后置于人工气候培养箱,待幼苗长至 6 片真叶时,参照杨婷婷等^[11] 接种方法,通过喷雾法接种晚疫病生理小种 T_{1,2,3}。以无菌水作为对照,试验设置 3 次重复,接种 2、4、6 和 8 d 后,选取每株番茄感病叶片样品,液氮速冻后置于 -80 °C 冰箱保存备用。

接种 6 d 后参照冯兰香等^[12] 和蒋晓艳等^[13] 的方法调查番茄病情指数和感抗类型,单株病害分为 6 级,根据单株病害等级计算病级指数,再根据病级指数划分为高抗、中抗和感病类型。

1.2 方法

1.2.1 番茄晚疫病诱导 EST 对应 CDS 的筛选

进入 NCBI(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>),在搜索栏中选择数据库 BioSample,输入关键词 LIBEST_025492,打包下载本课题组之前提交的 107 条晚疫病诱导 EST 序列,然后进入番茄基因组数据库(ftp://ftp.solgenomics.net/tomato_genome/annotation/ITAG2.3_release/)下载 CDS 数据包,之后在 DOS 系统下,运行本地 Blast 程序^[14],找到与第 9 号染色体上 EST 序列最佳匹配的 CDS。

1.2.2 基因表达水平的鉴别

使用 Eppendorf AG 22331 Hamburg 实时荧光定量 PCR 仪并选择 SYBR Green I 荧光染料法验证基因表达水平的变化,每个时间点选取 3 次生物学重复,每次生物学重复采用 3 次技术重复。实时荧光定量 PCR 引物如表 1,具体操作及数据处理参照 Zhao 等^[15] 方法。运用 Excel 软件计算数据的平均值及标准偏差,并作出柱形图;利用 SPSS 10.0 软件中独立样本 T 检验比较各处理值与对照值差异的显著性。

1.2.3 基因 *Solyc09g008670* 启动子和内含子克隆

克隆引物如表 2,测序工作委托华大基因公司进行。

1.2.4 基因 *Solyc09g008670* 过表达和 VIGS 载体的构建

过表达载体为 pBI121,沉默载体为 pTRV1 和 pTRV2,上下游引物酶切位点均为 *Xba* I 和 *Sac* I。过表达和沉默载体构建分别参照 Zhao 等^[15] 和 Shen 等^[16] 的方法,引物序列如表 2。

表1 实时荧光定量 PCR 引物

Table 1 List of the primers used in RT-qPCR

引物名称 Primer names	上游引物 5'-3' Forward primers 5'-3'	下游引物 5'-3' Reverse primers 5'-3'
<i>RPL2</i> (内参)	CAGCGGATGTCGTGCTATGAT	GGGATGCTCCACTGGATTCA
<i>Solyc09g097960</i>	TTGAAGGGAGGAATGAGGG	TTATTGGATGAACAGCGTGTG
<i>Solyc09g008670</i>	AAGGGAGGAATTAGATAAAGGGG	CACCAACAGGTATAAACACAGCG
<i>Solyc09g090430</i>	GCTTAAACCTGAAACTGCACCA	CCATCAAAAGTCAAGACAACACG
<i>Solyc09g065760</i>	AACCACAAAAGAAGCCATAAAGG	ATAGAGGAGACGTACCCGCAC
<i>Solyc09g092030</i>	TGCAACTGCTCTGGGATATGT	GATGATGATGGCTCTACTGAAGG
<i>Solyc09g082810</i>	TCTAAAGCATTTCTGATTCTTGGC	TTCGGCTTCATGTACTTCATTTT

表2 基因克隆引物

Table 2 List of the primers used in gene cloning

引物名称 Primer names	上游引物 5'-3' Forward primers 5'-3'	下游引物 5'-3' Reverse primers 5'-3'
<i>Solyc09g008670</i>	GCTCCATCAATATCTCCATCCA	GATAGTGAATAAACCAACGGGG
<i>Solyc09g008670</i>	ATGGAATTCCTTTGTTTAG	TCACTCACTTACTACAAGGTT
<i>Solyc09g008670</i>	<u>TCTAGAATGGAATTCCTTTGTTTAGCC</u> (下划线为酶切位点 <i>Xba</i> I)	<u>GAGCTCTCACTCACTTACTACAAGGTTAAAAGC</u> (下划线为酶切位点 <i>Sac</i> I)
<i>Solyc09g008670</i>	<u>TCTAGATTAGGTTTCAGGCAAAGAGGC</u> (下划线为酶切位点 <i>Xba</i> I)	<u>GAGCTCGAGGAACTTGGAATCCCATC</u> (下划线为酶切位点 <i>Sac</i> I)

2 结果与分析

2.1 番茄材料接种晚疫病菌发病表现

番茄材料接种晚疫病菌 $T_{1,2,3}$ 后,如图 1 所示,5[#] 自交系表现为感病,CLN2037E 表现为抗病。接种 6 d 后,5[#] 自交系整片叶片全部发病,布满白色的晚疫病菌,而 CLN2037E 叶片部分发病,感病叶片上并未观察到晚疫病菌。进一步分析 5[#] 自交系与 CLN2037E 的病级指数与抗感类型,发现 5[#] 自交系病级指数为 6,抗感类型为感病,CLN2037E 病级指数为 2.1 抗感类型为高抗,如表 3 所示。

2.2 番茄第 9 号染色体上与晚疫病诱导 EST 匹配的 CDS 的发掘

结合番茄 CDS 数据库和本地 Blast 程序,发掘 6 条与番茄第 9 号染色体上 EST 最佳匹配的 CDS,它们编码的蛋白分别注释为醛酮还原酶家族蛋白、

苏氨酸脱氨酶、氰酸酯水解酶、植物特有结构域 TIGR01615 家族蛋白和紫外辐射抗性相关蛋白和 1 条未知蛋白,详见表 4。

2.3 与文库相映射的基因在晚疫病菌诱导下表达模式的变化

使用实时荧光定量 PCR 技术鉴别感病和抗病番茄自交系中发掘到的 6 条基因对晚疫病菌的响应模式,如图 2 所示,6 条基因表现为 4 种响应模式:*Solyc09g097960*、*Solyc09g065760* 和 *Solyc09g082810* 在感病和抗病自交系中均被晚疫病诱导;*Solyc09g008670* 在感病自交系中被抑制,而在抗病自交系中被诱导;*Solyc09g092030* 在 2 种自交系中都被晚疫病菌抑制;*Solyc09g090430* 在 5[#] 和 CLN2037E 自交系中对晚疫病菌均不响应。通过分析 6 条基因在不同抗性番茄自交系中对晚疫病菌响应水平的变化,推测 *Solyc09g008670* 可能在番茄晚疫病抗病路径中发挥作用。



图 1 番茄材料接种晚疫病菌后抗性表现

Fig. 1 Resistant performance of tomato materials inoculated by late blight fungus

表 3 番茄材料的病级指数及抗感类型

Table 3 Disease index and resistant and susceptible classify of tomato materials

番茄材料 Tomato materials	病级指数 Disease index	抗感类型 Resistant/susceptible
5# 自交系	6.0	感病(S)
CLN2037E	2.1	高抗(HR)

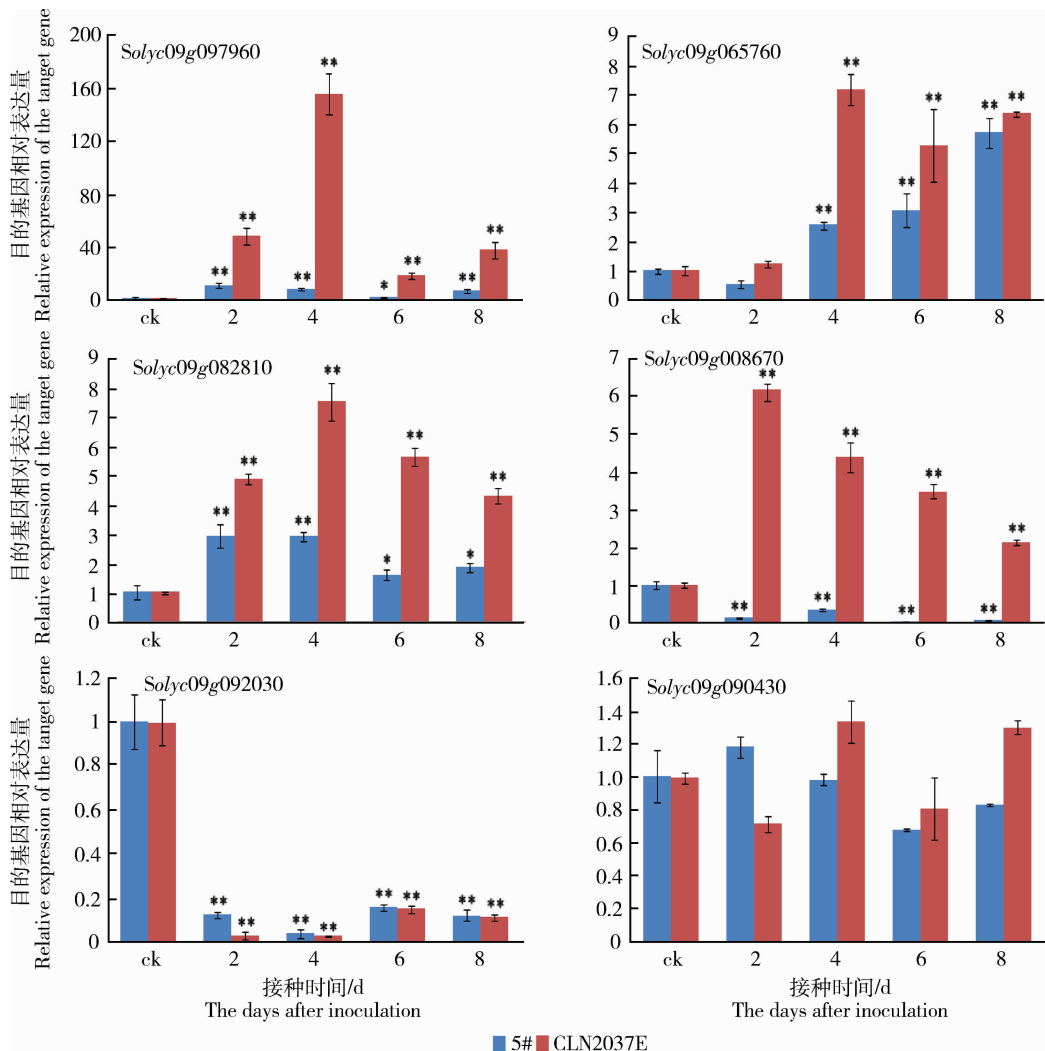
表 4 番茄第 9 号染色体上晚疫病诱导 EST 对应的 CDS

Table 4 CDS matching EST induced by tomato late blight located in the No. 9 chromosome of tomato

Unigene ID	CDS ID	Function
GT742148	<i>Solyc09g097960</i>	Aldo/keto reductase family protein
GT866019	<i>Solyc09g008670</i>	Threonine deaminase
GT866045	<i>Solyc09g090430</i>	Cyanate hydratase
GT866047	<i>Solyc09g065760</i>	Plant-specific domain TIGR01615 family protein
GT866075	<i>Solyc09g092030</i>	UV radiation resistance-associated gene protein
GT866094		
GT866093		
GT866067		
GT866065		
GT866064		
GT866041		
GT866039		
GT866036		
GT866035		

表4(续)

Unigene ID	CDS ID	Function
GT866034	<i>Solyc09g082810</i>	Uunknown Protein
GT866033		
GT866031		
GT866030		
GT866029		
GT866024		
GT866023		
GT866013		
GT866012		
GT742146		



** 表示 $P < 0.01$ 为极显著, * 表示 $P < 0.05$ 为显著。

** Indicates significance at the 0.01 level, * indicates significance at the 0.05 level.

图2 基因在感病和抗病番茄自交系中对晚疫病菌的响应模式

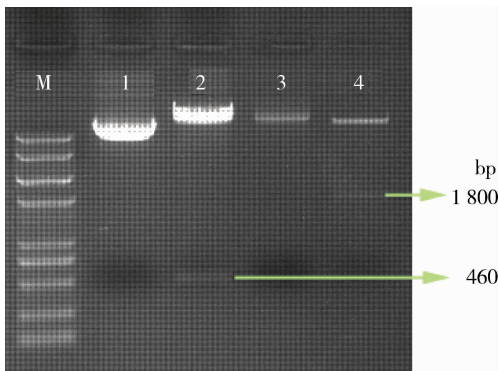
Fig. 2 Response patterns of genes in susceptible and resistant tomato inbred lines inoculated by late blight fungus

2.4 *Solyc09g008670* 的克隆及序列分析

为初步探讨 *Solyc09g008670* 在感病和抗病自交系中对晚疫病响应模式不同的原因,分别克隆 5[#] 和 CLN2037E 自交系中 *Solyc09g008670* 的 CDS、基因全长(外显子和内含子)和启动子序列。结果显示在 2 种不同抗性番茄自交系中 CDS、基因全长(外显子和内含子)和启动子序列完全相同,如附件 1。*Solyc09g008670* 的 CDS 包含 1 788 个碱基,编码 595 个氨基酸;三段外显子加 2 段内含子共长 3 811 bp,其中内含子为 2 023 bp;启动子克隆了起始密码子上游 2 213 个碱基。

2.5 *Solyc09g008670* 过表达和 VIGS 载体构建

为验证 *Solyc09g008670* 在番茄晚疫病抗病路径中的作用,构建了该基因的过表达和 VIGS 载体,如图 3 所示。过表达载体 pBI121 酶切出一条 2 000 bp 大小的条带,经测序发现该条带含有 1 800 个碱基,1 788 bp 的 CDS 加 12 bp 的酶切位点。沉默载体 pTRV2 酶切出一条 500 bp 左右大小的条带,经测序发现含有 460 个碱基,448 bp 沉默互补片段加 12 bp 的酶切位点。



M: Marker 8 000(100,250,500,750,1 000,2 000,3 000,5 000,8 000 bp); 1: 融合质粒 pBI121 + *Solyc09g008670*; 2: 融合质粒 pBI121 + *Solyc09g008670* 酶切; 3: 融合质粒 pTRV2 + *Solyc09g008670* 沉默片段; 4: 融合质粒 pTRV2 + *Solyc09g008670* 沉默片段酶切。

M: Marker 8 000(100,250,500,750,1 000,2 000,3 000,5 000,8 000 bp); 1: Fusion plasmid pBI121 + *Solyc09g008670*; 2: Fusion plasmid pBI121 + *Solyc09g008670* digested by *Xba* I and *Sac* I; 3: Fusion plasmid pTRV2 + *Solyc09g008670* silencing fragment; 4: Fusion plasmid pTRV2 + *Solyc09g008670* silencing fragment digested by *Xba* I and *Sac* I.

图 3 *Solyc09g008670* 过表达和 VIGS 载体酶切(*Xba* I, *Sac* I)凝胶电泳

Fig. 3 Gel electrophoresis of overexpression and VIGS vectors of *Solyc09g008670* digested by restrictive enzymes *Xba* I and *Sac* I

3 讨论

番茄第 9 号染色体上的 *ph-3* 基因已被克隆出,该基因属于植物 CC-NBS-LRR 家族基因^[3,9]。本研究发现的 *Solyc09g008670* 基因也位于番茄第 9 号染色体上,然而与 *ph-3* 基因属于不同的基因家族,2 个基因可能参与了不同的抗病通路,并通过不同的抗病机制提高番茄对晚疫病菌的抗性。

基因 *Solyc09g008670* 在番茄 CDS 数据库及 nr (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 数据库中注释为苏氨酸脱氨酶,该基因的表达在感病 5[#] 自交系中被显著抑制,而在抗病自交系 CLN2037E 中被显著诱导。*Solyc09g008670* 的启动子、外显子和内含子碱基序列在 2 种番茄自交系中完全相同,本研究推测差异表达的原因可能是由表观遗传学中启动子甲基化造成的^[17-18]。分析在正常生长条件下 5[#] 和 CLN2037E 自交系中 *Solyc09g008670* 表达水平的差异,发现该基因的表达水平在 5[#] 自交系中为 CLN2037E 自交系的 33.7 倍,晚疫病诱导后,CLN2037E 接种 6 d 后 *Solyc09g008670* 的转录水平为 5[#] 自交系的 153.5 倍,表明 *Solyc09g008670* 在自交系 CLN2037E 中初始水平很低,经过晚疫病菌接种后,该基因表达水平快速提高,验证了 *Solyc09g008670* 与 CLN2037E 高抗晚疫病存在某种联系。课题组进一步使用番茄基因组基因表达数据库 (<http://www.solgenomics.net/ted>) 分析 *Solyc09g008670* 的探针芯片信息,发现 *Solyc09g008670* 受葡萄孢菌(*Botrytis Cinerea*) 诱导,基因上调表达 13.782 倍,番茄晚疫病菌也为真菌,因此推测 *Solyc09g008670* 基因在番茄晚疫病抗病路径中也发挥作用。张玉叶等^[19] 发现甘蔗中苏氨酸脱氨酶基因在水杨酸和茉莉酸甲酯处理下,表达量分别为对照的 43.16 和 4.40 倍,表明该基因的表达可能与甘蔗抗病虫胁迫有关。

参 考 文 献

- [1] Chunwongse J, Chunwongse C, Black L, Hanson P. Molecular mapping of the *Ph-3* gene for late blight in tomato[J]. *Journal of Horticultural & Biotechnology*, 2002, 77(3): 281-286
- [2] Elsayed A Y, Da Silva Henriques D, Mizubuti E S G, Carneiro C P. Combining the monogenic and polygenic resistant genes to late blight in tomato[J]. *Journal of Plant Breeding and Crop Science*, 2011, 3(10): 251-259

- [3] Zhang C Z, Liu L, Zheng Z, Sun Y Y, Zhou L X, Yang Y H, Cheng F, Zhang Z H, Wang X W, Huang S W, Xie B Y, Du Y C, Bai Y L, Li J M. Fine mapping of the *Ph-3* gene conferring resistance to late blight (*Phytophthora infestans*) in tomato [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2013, 126(10): 2643-2653
- [4] 李君明, 宋燕, 杨宇宏, 杜永臣, 冯兰香, 谢丙炎, 徐和金. 番茄苗龄对晚疫病生理小种 T1 的抗性表现差异研究[J]. 植物遗传资源学报, 2007, 8(2): 231-233
- Li J M, Song Y, Yang Y H, Du Y C, Feng L X, Xie B Y, Xu H J. Age-related resistance to main strains T₁ of late blight (*Phytophthora infestans*) in China during tomato seedlings [J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2007, 8(2): 231-233 (in Chinese)
- [5] Merk H L, Ashrafi H, Foolad, M R. Selective genotyping to identify late blight resistance genes in an accession of the tomato wild species *Solanum pimpinellifolium* [J]. *Euphytica*, 2012, 187(1): 63-75
- [6] Richards M C, Raymond W, Barratt A. Partial survey of the genus *Lycopersicon* for resistance to *Phytophthora infestans* [J]. *Plant Disease Reporter*, 1946, 30(1): 16-20
- [7] Peirce L C. Linkage test with *Ph* conditioning resistance to race *Phytophthora infestans* [J]. *Report of the Tomato Genetic Cooperative*, 1971(21): 30
- [8] Moreau P, Thoquet P, Olivier J, Laterrot H, Grimsley N. Genetic mapping of *Ph-2*, a single locus controlling partial resistance to *Phytophthora infestans* in tomato [J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 1998, 11(4): 259-268
- [9] Zhang C Z, Liu L, Wang X X, Vossen J, Li G C, Li T, Zheng Z, Gao J C, Guo Y M, Visser R, Li J M, Bai Y L, Du Y C. The *Ph-3* gene from *Solanum pimpinellifolium* encodes CC-NBS-LRR protein conferring resistance to *Phytophthora infestans* [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2014, 127: 1353-1364
- [10] Zhu H S, Wu T, Zhang Z X. Inheritance analysis and identification of SSR markers linked to late blight resistant gene in tomato [J]. *Agricultural Sciences in China*, 2006, 5(7): 517-521
- [11] 杨婷婷, 赵凯, 朱海山. 晚疫病诱导的番茄叶片 cDNA 文库构建及序列分析[J]. 中国农业大学学报, 2010, 15(5): 65-70
- Yang T T, Zhao K, Zhu H S. Construction of a cDNA library from *Phytophthora infestans* infected tomato leaves and sequence analysis of the Expressed Sequenced Tags [J]. *Journal of China Agricultural University*, 2010, 15(5): 65-70 (in Chinese)
- [12] 冯兰香, 杨宇红, 谢丙炎, 冯东昕, 杨翠荣. 中国 18 省市番茄晚疫病生理小种的鉴定[J]. 园艺学报, 2004, 31(6): 758-761
- Feng L X, Yang Y H, Xie B Y, Feng D X, Yang C R. Identification of physiological races of *Phytophthora infestans* on tomato in eighteen provinces of China [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2004, 31(6): 758-761 (in Chinese)
- [13] 姜晓艳, 李海涛, 张子君, 邹庆道. 番茄晚疫病人工接种技术研究及抗病种质资源筛选[J]. 沈阳农业大学学报, 2008, 39(4): 408-411
- Jiang X Y, Li H T, Zhang Z J, Zou Q D. Artificial inoculation of tomato late blight and screening of resistant sources of tomato [J]. *Journal of Shenyang Agricultural University*, 2008, 39(4): 408-411 (in Chinese)
- [14] Yuan H Z, Zhao K, Lei H J, Shen X J, Liu Y, Liao X, Li T H. Genome-wide analysis of the GH3 family in apple (*Malus × Domestica*) [J]. *BMC Genomics*, 2013, 14: 297
- [15] Zhao K, Shen X J, Yuan H Z, Liu Y, Liao X, Wang Q, Liu L L, Li T H. Isolation and characterization of dehydration-responsive element-binding factor 2C (MsDREB2C) from *Malus sieversii* Roem [J]. *Plant Cell and Physiology*, 2013, 54(9): 1415-1430
- [16] Shen X J, Zhao K, Liu L L, Zhang K C, Yuan H Z, Liao X, Guo X W, Li F, Li T H. A role for *PacMYBA* in ABA-regulated anthocyanin biosynthesis in red-colored sweet cherry cv. Hong Deng (*Prunus avium* L) [J]. *Plant Cell and Physiology*, 2014, 55(5): 862-880
- [17] Holliday R. Epigenetics: A historical overview [J]. *Epigenetics*, 2006, 1(2): 76-80
- [18] Vanyushin B F. DNA methylation and epigenetics [J]. *Theoretical Papers and Reviews*, 2006, 42(9): 985-997
- [19] 张玉叶, 黄宁, 苏炜华, 肖新换, 罗俊, 阙友雄. 甘蔗苏氨酸脱氨酶基因的克隆与表达分析[J]. 热带作物学报, 1994, 35(1): 059-067
- Zhang Y Y, Huang N, Su W H, Xiao X H, Luo J, Que Y X. Cloning and expression analysis of threonine deaminase gene in sugarcane [J]. *Chinese Journal of Tropical Crop*, 1994, 35(1): 059-067 (in Chinese)

责任编辑: 王燕华