

番茄迟熟基因突变体的研究进展

薛玉梅 穆欣 许明

摘要 综述了番茄迟熟基因的发现过程及遗传规律,着重探讨了番茄成熟突变体 *Nr rin, nor alc*材料与正常番茄品种及其一代杂种果实在成熟过程中的呼吸强度、乙烯释放量及多聚半乳糖醛酶(PG)活性的变化,并阐述了果实硬度和果实耐贮性的遗传规律,进一步对番茄迟熟基因的应用前景进行了展望。

关键词 番茄 迟熟基因 遗传规律 果实硬度 货架寿命

我国番茄育种研究开始较晚,但通过 20 多年的协作攻关取得了显著成绩,先后育成了一系列优良品种,在生物技术应用的一些方面已达到或接近世界先进水平。本文从番茄育种应用的角度,概述了番茄迟熟基因的研究进展。

1 番茄迟熟基因的发现

美国加利福尼亚大学的 Morris 首先发现永不成熟基因 *Nr*(never-ripe)^[1],为单个显性基因,位于第 9 条染色体上,与位于 9L-62 的大理石纹突变体 *mam*(mamorata)相连锁^[2-4]。魏绍冲等进行序列分析发现^[5],*Nr*突变体是由于 *NR*(LeEIR3)蛋白 36 位上单个碱基突变,使 Pro 变成 Leu。

成熟抑制基因 *rin*(ripening inhibitor)首先被康奈尔大学的 Munger 在 F_2 群体中发现,但是第一次被 Robinson 所描述^[1,6]。*rin* 是位于第 5 条染色体上的单个隐性基因,与位于 5S-0 的大花萼突变体 *mc*(macrocalyx)紧密连锁^[1,2,4]。

不成熟基因 *nor*(non-ripening),为单个隐性基因,位于第 10 条染色体上,由安大略园艺研究所的 Kerr 在 Italian Winter 品种中获得^[1,7],与位于第 10S-19 的果实均匀着色突变体 *u*(uniform ripening)紧密连锁(大约 3.5 个遗传单位)^[2,4,8]。

alc(Alobaca)是一个非正常的番茄成熟突变体^[9],为单个隐性基因,位于第 10 染色体短臂上^[10],与果实均匀着色突变体 *u*相距 20 个遗传单位,与纯黄突变体 *hy*(homogeneous yellow)相距 14 个遗传单位,与 *nor*相距 17 个遗传单

位^[11,12],首先被 Leal 所描述^[13],有非常长的货架寿命^[14]。

2 迟熟基因的遗传规律

Euphtica(1981)、Lobo(1984)、Marthar 等^[11]提出 *alc, nor rin* 都是单个隐性基因,*Nr* 是单个显性基因,符合质量性状遗传。Leal 和 Tabin 研究证实 *alc* × normal 杂交后果实贮藏期延长了,表明 *alc* 基因为不完全显性,与 *nor* 连锁,*alc* 携带的等位基因对 *nor* 呈上位,*nor* 基因本身含 *nor¹, nor², nor³* 等等位基因^[13,15]。

3 含迟熟基因番茄的特点

番茄成熟突变体 *Nr rin, nor* 及 *alc* 等的特性是果实成熟过程缓慢,产生的番茄红素很少,果实硬度大,不产生或产生微量果实软化酶——多聚半乳糖醛酶(PG),成熟过程无呼吸跃变,果实在常温下可贮藏 2~3 个月不腐烂。但这一特性常与果实品质下降相关联^[15,16]。

3.1 含迟熟基因番茄的呼吸特点

据 Sawamura(1990)报道,番茄成熟突变体 *rin, nor* 果实均属于无呼吸跃变型,主要表现在从绿熟期采收到贮藏 1 个多月,乙烯含量和呼吸强度均很低^[15],属于细胞质遗传^[9]。*alc* 是一个特殊的成熟突变体,它无呼吸跃变,但有一个小的乙烯峰出现,称之为“半跃变型”^[10],属于细胞核遗传^[17]。由于它们的呼吸作用和乙烯合成受到抑制,所以导致成熟延缓。

据陆贵春等^[16]报道,正常成熟的品种,果实采收后第 7 或 8 天出现呼吸峰,而成熟突变体材料 *rin, nor* 在果实成熟过程中均无呼吸跃变,且乙烯含量一直很低;*alc* 呼吸作用、乙烯释放量均介于正常成熟品种与 *rin, nor* 之间,为“半跃变型”,其在贮藏后第 10 天出现 1 次小高峰,峰值是正常成熟番茄品种的 32%,而且成熟突变体材料与正常成熟品种杂交后 F_2 虽有呼吸跃变峰,但比正常成熟品种跃变峰推迟 5~7 d 出现,且峰值仅是正常成熟品种的 40%~60%,其中 *alc* 高峰比 *rin, nor* 提早 1~3 d。

3.2 含迟熟基因番茄的硬度特点

薛玉梅,女,硕士研究生,沈阳农业大学园艺学院,沈阳市东陵路 120 号,110161,电话:024-88492069, E-mail: xueyumei0820@163.com

穆欣,辽宁省农业科学院蔬菜研究所

许明(通讯作者),通讯地址同第 1 作者

收稿日期:2006-07-23;修回日期:2006-09-07

基金项目:国家“863”计划项目(2002AA244021-)

致谢:本项目得到了辽宁省农业科学院蔬菜研究所番茄课题组的指导,特表感谢

果实品质构成要素之一,与采后贮藏特性有密切关系,因此保持番茄硬度是提高番茄货架寿命的有效途径。影响番茄果实硬度的因素有表皮坚韧度、果肉硬度及果肉与心室的比例。果肉硬度是个数量性状,遗传变异是累加的^[18],一般果实硬度降到 750 kPa 以下、果肉硬度降到 150 kPa 以下时果实已软化,基本失去商品价值^[19]。

魏宝东等^[19]认为,果肉硬度与不溶性果胶呈极显著正相关,与可溶性果胶呈极显著负相关。不溶性果胶含量越高,果实越硬,则货架寿命越长,因此不溶性果胶含量是影响果实硬度进而影响货架寿命的最直接内因。

使果胶降解而影响果实硬度的酶主要有果胶甲酯酶(PE)和 PG。PE 可将酯化的果胶变成果胶酸,PG 可将果胶长链变成半聚乳糖醛酸,从而失去粘性,使果实变软^[20,21]。

PG 在番茄果实成熟中也起到决定作用。它能催化富含多聚半乳糖醛酸的果胶质水解,使解离的水溶性细胞壁组成遭受不同程度的降解,导致果实软化,硬度下降^[20,22]。陆春春等研究表明,正常成熟果实绿熟期 PG 活性几乎为 0,但随着果实发育,PG 活性呈直线上升,当果实全红时,PG 活性最高。但是含有成熟突变体的果实 PG 含量很低或不含 PG,果实变软很慢或不能变软,其 F₁ 表现有所不同,杂交后 F₁ 的 PG 活性均比突变体显著提高,至成熟期,PG 活性是突变体亲本的 2~7 倍,但比正常成熟的亲本品种低。由此可知,PG 含量越高,果实硬度越小,果实软化程度越高^[23]。

含迟熟基因的番茄果实硬度较普通类型的番茄果实硬度有显著的提高。据陆春春等研究表明:正常成熟的番茄品种在开花后 55 d 左右(果实绿熟期)的果实硬度为 6.7 kg·cm⁻²,到开花后 60~68 d(果实转红时),硬度迅速降低,果实很快变软。而几种突变体材料 *rin*、*nor*、*alc* 的果实在发育过程中,硬度值较高,变化较小,尤其是 *rin*、*nor* 在转色前 F₁ 的果实硬度与正常成熟番茄相近,转色后,正常成熟番茄的硬度迅速下降,而 F₁ 果实下降较为缓慢,至成熟期果实也软化,最终硬度维持在 3.50~4.76 kg·cm⁻²。其中含有迟熟基因 *alc* 的 F₁ 果实硬度较 *nor* 和 *rin* 的 F₁ 果实硬度低。

3.3 含迟熟基因番茄的耐贮性特点 果实耐贮性是番茄果实主要性状之一。目前主要通过两种途径来延长番茄的贮存期:一是通过提高 PG 的活性来抑制细胞壁果胶的降解,使果实抗软化;另一种是通过抑制乙烯的合成,提高果实耐受“成熟过度”的能力^[24~26]。

迟熟基因对番茄果实货架寿命有显著的延长。Poovaiah 等(1979)指出,含 *rin* 的果实之所以很难成熟,产生极少量乙烯,可能是由于不能形成 PG 的缘故;Pressey(1989)和 Baldwin 等^[27]曾用外源 PG 处理跃变前的绿色果实,诱导产生了大量乙烯,乙烯调节 PG 产生,PG 又能诱导乙烯产生,总之突变体果实耐贮性与 PG 和乙烯作用强弱紧密相关。同时经过对多种成熟突变体特性的分析、鉴定,发现 *nor* 突变体基因材料 Long Keeper 在室温下可贮藏两个多月,果实在转色期采收贮藏,最终果实颜色呈橙黄色,且品质与正常番茄相近^[28,29];而 *alc* 成熟突变体,除具有较好的耐贮性外,果实品质也与正常成熟番茄相近,尤其是果色最终能转红,

这对鲜食番茄育种有较高的利用价值。

陆春春等^[17]的研究为迟熟基因对番茄果实货架寿命的影响提供了有力的证据:在突变体材料 *alc*、*rin*、*nor* 中,*rin* 番茄果实贮藏指数最高,其次是 *nor* 和 *alc*。正常成熟的品种,一般仅能贮藏 1 周左右,而 *rin*、*nor* 和 *alc* 可贮藏 2~3 个月。含耐贮基因的品种与正常成熟品种杂交后其贮藏性显著下降,但比正常成熟品种的贮期长 10~15 d。

3.4 含迟熟基因番茄的细胞超微结构特点 据刘愚等报道,果皮细胞中作为核质之间物质和信息交换重要通道——核孔,其数量和大小在番茄成熟过程中发生显著变化,同时与乙烯的生成有着密切的联系^[30,31]。含有 *rin* 基因的番茄成熟突变体材料的果实具有极强的耐贮性,果实不变软,不着色,可贮藏 3~4 个月。所以,研究番茄成熟突变体果实在贮藏过程中细胞超微结构的变化对揭示果实耐贮性的细胞学机理具有重要的意义^[32,33]。含有 *rin* 基因的番茄成熟突变体材料的果实,果肉细胞中叶绿体片层在贮藏前期结构致密、整齐,基粒通过基粒片层相互连接,在贮藏末期,双层膜有降解的迹象,但整个叶绿体的结构仍保持完整;在整个贮藏过程中,果实细胞壁层次清晰可见,中胶层结构紧密、均匀而连续,胞壁纤维排列整齐;细胞线粒体结构一直保持完好,内脊数目众多^[33]。

4 迟熟基因在番茄育种中的应用

通过转基因技术获得的耐贮番茄是最早实现商品化生产的转基因蔬菜作物。1994 年 4 月美国加利福尼亚基因公司培育的 Flavr Savr 耐贮番茄已通过美国食品和药物管理局的使用安全性检验,并开始在美国加利福尼亚和伊利诺斯州的超级市场上出售,这是首例通过基因工程获得的食物^[34]。

叶志彪等将氨基环丙烷羧酸(ACC)合成酶 EFE 反义基因转入番茄,获得的耐贮番茄华番 1 号在 13~30 ℃ 下可贮藏 45 d,在 1996 年被批准为我国第一个商品化生产的农业基因工程产品^[35,36]。

经过对多种成熟突变体特性的分析、鉴定,发现 *nor* 突变体基因材料 Long Keeper 果实在转色期采收,在室温下可贮藏两个多月,最终果实呈橙黄色,且品质与正常番茄相近^[28]。耐贮番茄长龄就是含有隐性纯合耐贮基因(*nor/nor*)的一代杂种,其母本双黄 5 号是矮黄品种与含纯合 *nor* 基因的材料杂交,经后代分离选择而成。它既含有 *Tm-2^{rs}* 抗病基因,又含有耐贮 *nor* 基因;其父本 139F₂₋₉₋₂₋₁₋₀₋₁ 由园艺性状优良、不耐贮材料 84-142 与含有 *nor* 基因的材料 Long-keeper 杂交,经 7 代系统选择而成^[37]。

alc 来自葡萄牙 Alcobaca 地区,是非正常成熟突变体,除具有较好的耐贮性外,果实品质也与正常成熟番茄相近,尤其是果色最终能转红,这对鲜食番茄育种有较高的利用价值。*alc* 材料与正常成熟品种或其它突变体基因型材料杂交后, F₁ 果实颜色表现正常,果实贮藏期明显延长。但是 *alc* 材料坐果率低、果型小、不抗病,所以目前从改善 *alc* 园艺性状着手,用大果型、抗病性好、产量高、坐果率高、品质佳的正常成熟番茄品种与 *alc* 杂交,从后代中选育出稳定的耐贮性强、园艺性状优良的 *alc* 材料,再用改良后的 *alc* 与园艺性状

优良的品系杂交,便可选育出品质好、耐贮性强,其它园艺性状也优良的新品种^[11]。

5 建议

目前我国番茄生产在数量上已经满足或接近于满足市场的需求,下一步的主要目标是提高番茄产品质量,包括提高果实的外观质量和风味品质,如无畸形果和裂果、果实着色好、花痕细小、糖度高、糖酸比高、VC含量高;提高耐贮性和延长货架期。

含迟熟基因的番茄果实较普通型番茄果实在硬度和耐贮性等方面存在很大的优势。*alc*、*nor*是良好的耐贮育种材料,但这类基因型材料园艺性状普遍较差:植株徒长,节间长,坐果率低,果型小,抗性弱,易感病,果实转色慢,成熟时番茄红素显著不足,果实品质和商品性欠佳。因此,在耐贮番茄育种中,首先要改善 *alc*、*nor*果实成熟突变体本身的园艺性状,选用大果型、抗病性强、产量高、坐果率高、品质佳的正常成熟番茄品种与成熟突变体稳定品系杂交,从后代中选育出稳定的耐贮性强、品质佳,其它园艺性状也优良的番茄新品种。另外采用基因工程手段,将反义 *PG*、*ACC*基因导入正常番茄中,使之表达,育成既耐贮藏,品质又优良的番茄品种。

由于 *rin*与位于 5S-0的大花萼突变体 *mc*紧密连锁,在迟熟基因的番茄育种中可以充分利用这一特性(花萼通常较正常者大,并长于花冠,似囊状,花冠发育次于正常,并在花药上方展开)作为苗期标记性状,但是大花萼突变体 *mc*的可育性大大降低,区分标准变异较大。所以,在保持原有优良性状的基础上要克服迟熟基因番茄育性低的缺点。

突变体基因材料 *rin*果实在室温下可贮藏两个多月,果实在转色期采下贮藏,品质与正常番茄相近,但是最终果实仍然呈现绿色,这就要求在今后的育种过程中要改善 *rin*突变体基因材料果实颜色缺陷,提高其商品性。

参考文献

- 1 Tigchelaar E C. Tomato ripening mutants HortScience, 1978, 13: 502
- 2 Tigchelaar E C, McGlasson W B, Buescher R W. Genetic regulation of tomato fruit ripening HortScience, 1978, 13: 508 ~ 513
- 3 Kerr E A. Linkage relations of never ripe (*Nr*). Rpt Tom Genet Coop, 1969, 19: 120
- 4 余诞年,吴定华,陈竹君. 番茄遗传学. 长沙:湖南科学技术出版社, 1999. 77 ~ 102
- 5 魏绍冲,陈昆松,罗云波. 乙烯受体与果实成熟调控. 园艺学报, 2004, 31 (4): 543 ~ 548
- 6 Robinson R W, Tomes M L. Ripening inhibitor: a gene with multiple effects on ripening Rpt Tom Genet Coop, 1968, 18: 36 ~ 37
- 7 Tigchelaar E C, Tomes M L, Kerr E A, et al A new fruit ripening mutant non-ripening (*nor*). Rpt Tom Genet Coop, 1973, 23: 33 ~ 34
- 8 Tigchelaar E C, Baman R J. Linkage of the non-ripening (*nor*) and uniform ripening (*u*) genes Rpt Tom Genet Coop, 1978, 28: 20
- 9 Kopeliovitch E, Robinowitch H D, Mizrahi Y. Mode of inheritance of *alcobaca*, a tomato fruit ripening mutant Euphytica, 1981, 30: 223 ~ 225
- 10 Lobo M, Basset H J, Harrah L C. Inheritance and characterization of the fruit ripening mutation in 'Alcobaca' tomato J Amer Soc Hort Sci, 1984, 109: 741 ~ 745
- 11 Marthar A, Mutschler. Inheritance and linkage of the 'Alcobaca' ripening mutant in tomato J Amer Soc Hort Sci, 1984, 109: 500 ~ 503
- 12 Mutschler M A, Guttieri M, Kinzer S, et al Changes in ripening related processes in tomatoes conditioned by the *alc* mutant Theor Appl Genet, 1988, 76: 285 ~ 292
- 13 Leal N R. Herança da conservação natural p ó-colheita de frutos do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill). Conservação de frutos e anatomia do pericarpio de híbridos entre a introdução Alcobaca e alguns cultivares UFV Viçosa MG-Brazil, 1973, 66
- 14 Mutschler M A. Ripening and storage characteristics of the 'Alcobaca' ripening mutant in tomato J Amer Soc Hort Sci, 1984, 109: 504 ~ 507
- 15 李树德. 中国主要蔬菜抗病育种进展. 北京:科学出版社, 1995. 296 ~ 301
- 16 陆春贵,徐鹤林,杨荣昌,等. 含耐贮基因番茄的贮藏生理特性及在育种上的应用. 江苏农业学报, 1994, 10 (3): 5 ~ 10
- 17 Hemer R C, Sink K C Jr. Ethylene production and respiratory behavior of the *rin* tomato mutant Plant Physiology, 1973, 52: 38 ~ 42
- 18 赵冰. 蔬菜品质学概论. 北京:化学工业出版社, 2003. 248 ~ 252
- 19 魏宝东,姜炳义,冯辉. 番茄果实货架期硬度变化及其影响因素的研究. 食品科学, 2005, 26 (3): 249 ~ 252
- 20 李曜东,魏玉凝,顾淑荣. PG与番茄果实成熟的关系. 植物学通报, 2004, 21 (1): 79 ~ 83
- 21 薛炳辉,束怀瑞. 多聚半乳糖醛酸酶 (PG)与果实成熟软化研究进展. 山东农业大学学报(自然科学版), 2002, 33 (2): 252 ~ 256
- 22 沈全光,刘存德. 番茄果实中多聚半乳糖醛酸酶的纯化及其基本性质. Acta Botanica Sinica, 1991, 33 (3): 243 ~ 247
- 23 陆春贵,徐鹤林,周立新. PG、ACC、乙烯对番茄果实成熟的影响. 园艺学报, 1995, 22 (1): 57 ~ 60
- 24 孟祥栋,张卫华,马红. 番茄基因工程研究进展. 中国蔬菜, 1997 (6): 52 ~ 54
- 25 王傲雪,李景富. 转基因番茄的机理及现状. 辽宁农业科学, 1998 (6): 33 ~ 36
- 26 陈玉辉,许向阳,李景富. 转基因技术在番茄育种上的应用. 分子植物育种, 2004, 2 (1): 133 ~ 138
- 27 Baldwin E A, Pressey R. Exopolysaccharonase elicits ethylene production in tomato fruit HortScience, 1990, 25 (7): 779 ~ 780
- 28 Pressey R, Avants J K. Pectic enzymes in 'Long Keeper' tomatoes HortScience, 1982, 17 (3): 398 ~ 400
- 29 Cobb J W, Lambeth V N. Firmness and storage life of *nor* and Long-keeper, hybrid tomatoes HortScience, 1981, 16 (3): 46 ~ 48
- 30 刘愚,吴郭肃,吴有梅,等. 番茄成熟过程中果皮细胞核孔变化及其与乙烯生成的关系. 植物生理学报, 1988, 14 (4): 362 ~ 366
- 31 刘愚,吴郭肃,吴有梅,等. 乙烯对番茄成熟过程中果皮细胞核超微结构的影响. 植物生理学报, 1990, 16 (1): 43 ~ 48
- 32 胡胜武,王鸣. 番茄果实耐贮藏性与品种(系)解剖结构的关系. 陕西农业科学, 1992 (3): 6 ~ 7
- 33 张玉,许向阳,李景富. 番茄成熟突变体果实贮藏过程中细胞超微结构的变化. 园艺学报, 2005, 32 (4): 707 ~ 709
- 34 张国树. 果实成熟的分子生物学及基因工程研究概况. 莱阳农学院学报, 1992, 9 (1): 22 ~ 26
- 35 叶志彪,李汉霞,刘勋甲,等. 利用转基因技术育成耐贮藏番茄—华番1号. 中国蔬菜, 1999 (1): 6 ~ 10
- 36 叶志彪,李汉霞. 两个反义基因在番茄工程植株中的生理抑制效应分析. 植物生理学报, 1996, 22 (2): 157 ~ 160
- 37 徐鹤林,杨荣昌,余文贵,等. 耐贮番茄'长龄'选育简报. 中国蔬菜, 1992 (3): 35 ~ 36