

柚子基因组比较分析以及祖先染色体重构

袁嘉庆, 王金朋, 王希胤

(华北理工大学 生命科学学院, 河北 唐山 063210)

摘要: 柚子 (*Citrus grandis* Osbeck) 全基因组测序完成为柑橘植物乃至整个芸香科植物提供了研究机会。本研究通过对柚子基因组结构分析, 鉴定柚子基因组中存在的由多倍化产生的重复基因, 构建了葡萄基因组和柚子基因组之间与多倍化、物种分化相关联的同源共线性基因列表, 为柚子基因组进化和基因功能演化提供了重要的比较基因组学数据资源; 通过与外类群葡萄保留的同源染色体区域进行比较, 发现柚子基因组在多倍化之后发生了大量的片段化重组; 利用葡萄基因组保留有较完整的染色体结构相对于真双子叶六倍体 (ECH), 结合葡萄和柚子基因组之间的同源关系, 推断出柚子祖先基因组结构。本研究对理解柚子基因组乃至柑橘植物基因组以及其进化提供了重要的比较基因组学的基础。

关键词: 柚子; 共线性; 多倍化; 片段化; 染色体重构

中图分类号: Q949.752.7

开放科学 (资源服务) 标志码 (OSID):

文献标志码: A



Comparative analysis of pummelo genome and reconstruction of its ancestor

YUAN Jiaqing, WANG Jinpeng, WANG Xiyin

(School of Life Sciences, North China University of Science and Technology, Tangshan 063210, China)

Abstract: With rich nutrition in fruits, pummelo has very important economic value. The sequencing of genome structure of pummelo has been completed, which provides an opportunity to study *Citrus* plants and the Rutaceae plants. By comparatively analyzing the relationships among genomes and within genomes, we deduced the duplicated genes produced by polyploidization and indentified the orthologies between the compared genomes. After then, we performed a colinear list between grape and pummelo associated with polyploidization and speciation, which provided an important genomic comparative resource to study the genome evolution and gene functions of pummelo. Comparing with the homologous region of the outgroup grape, we found that the pummelo had suffered severe fragmentation recombination. Furthermore, considering the outgroup grape genome with a relatively complete structure as to ECH, we deduced the ancestor genome structure of pummelo. Finally, this study provides an important comparative genomics resource for understanding the evolution of pummelo, even of *Citrus* plants.

Keywords: pummelo; colinearity; polyploidization; fragmentation; chromosome reconstruction

柚子 (*Citrus grandis* Osbeck), 是芸香科 (Rutaceae)、柑橘属 (*Citrus*) 下重要的植物, 起源于东南亚, 现主要分布在北纬 35° 以南的亚热带地域^[1]。柚子营养物质丰富且具有重要经济价值^[2]

和一定的药用功效^[3]。柚子基因组测序的完成为其乃至柑橘植物基因组结构、物种进化以及重要功能的探索提供重要的基础。

物种多倍化 (Polyploidization) 对于物种分化

收稿日期: 2019-05-05

基金项目: 国家自然科学基金 (3117022); 华北理工大学研究生创新项目 (2018S42)。

第一作者: 袁嘉庆 (1989-) 男, 陕西佳县人, 硕士, 主要从事比较基因组学研究.E-mail: yuanjiaqing1013@hotmail.com

通信作者: 王希胤 (1972-) 男, 河北唐山人, 博士, 教授, 主要从事比较基因组学研究.E-mail: wangxiyin@vip.sina.com

本刊网址: <http://hauxb.hebau.edu.cn:8080/CN/volumn/home.shtml>

以及新功能的产生有着重要的作用^[4-5]。研究表明, 几乎所有的植物在其进化历史中都经历过全基因组加倍^[6] (WGD, Whole genome duplication), 影响较大的一次全基因组加倍事件, 即真双子叶共有祖先六倍化 (ECH, Core eudicots-common hexaploidization) 事件^[7]。例如, 葡萄在经历了 ECH 事件之后, 较双子叶六倍体祖先保留有比较完整的基因组结构^[8]。不同于葡萄、可可等基因组, 十字花科植物基因组在 ECH 事件之后, 又发生了多次全基因组加倍, 如模式植物拟南芥又经历了两次全基因组加倍 (即 α 和 β 事件), 现有的 5 条染色体结构表明其基因组结构发生了较大的变化^[9]。猕猴桃在多次全基因组加倍之后使其维生素 C 合成基因数量得到扩增^[10]。

多个柑橘基因组结构完成了测序, 包括甜橙 (*Citrus sinensis* cv. Valencia)^[11]、克莱门蒂小柑橘 (*Citrus clementine* cv. Clementines)^[12]、柚子^[13]、野生橘 (*Citrus reticulata* 'Mangshan')^[14] 等。其中由华中农业大学测序并组装完成的高质量的柚子基因组, 其 scaffold 统计的 N50 达到 4.21Mb, 预测基因总数为 30 123 个, 其中 28 043 个基因定位到了 9 条假染色体 (Pseudochromosome) 上。柚子基因组序列的完成对于研究柚子乃至柑橘植物的基因组结构, 功能进化等方面都有着重要的作用。柑橘植物的历史研究过程中, 主要是集中于物种的起源分化以及基因组结构的变化中, 通过表观遗传特征, 分子标记, 系统发育关系, 以及生物地理学方法进行研究^[15-16]。但是, 缺少一个全面地全基因组水平的深入分析, 特别是缺少参考基因组 (如葡萄) 来对柚子基因组比较分析, 揭示柚子基因组同源进化。同时缺少对于柚子为代表的柑橘植物基因组结构进化过程的研究。

葡萄基因组在经历了 ECH 事件之后, 由原来的 21 条染色体结构变为现有葡萄染色体中的 19 条染色体, 其中只有 3 条染色体 (4、7 和 14 号) 经历了较明显的重组现象。因此, 葡萄基因组通常被选为研究真双子叶植物基因组结构及其进化的外类群。本研究借助葡萄作为参考基因组, 对已测序并组装质量高的柚子基因组主要包括所研究的柚子基因组中同源基因信息, 借助葡萄基因组推测获取的六倍体祖先结构, 进而对 3 个柑橘植物染色体结构变化进行推断, 重塑现有柑橘植物中祖先染色体内容及其结构。

1 材料与方法

1.1 基因组数据材料

选取柚子和葡萄 (外类群) 为研究对象, 他们之间的系统发育关系如图 1。基因组数据包括基因组注释 (GFF) 文件、基因蛋白 (PEP) 文件和基因编码序列 (CDS) 文件, 都来自于公共的数据库。其中, 葡萄基因组数据下载于 JGI (<https://phytozome.jgi.doe.gov/pz/portal.htm>) 数据库, 柚子基因组数据下载于 CSAP (<http://citrus.hzau.edu.cn/orange/index.php>) 数据库。

通过编写 Perl 语言程序对下载的基因组数据进行处理, 得到目标格式的文件以供后续分析利用。

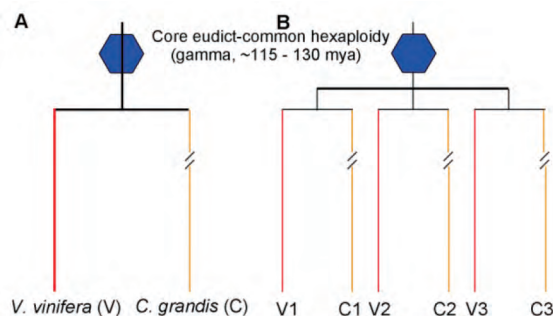


图 1 葡萄和柚子间的系统发育关系
Fig.1 Phylogenetic relationship between grape (V) and pummelo (C)

1.2 研究方法

1.2.1 基因组内、组间同源比对 将处理好的基因组数据, 利用蛋白序列比对工具 BLASTP 2.7.1+^[17] 对葡萄和柚子蛋白序列进行基因组内、组间相似性比对, 其中, 期望 (E-value) 限定为 $1e-3$ 。利用编写的 Perl 语言脚本, 结合蛋白比对结果和基因位置文件等信息, 绘制比较基因组之间的同源结构点阵图。

将比较基因组之间的蛋白比对结果和基因位置作为输入信息, 通过同源基因片段 (Block) 搜索软件 ColinearScan 1.01^[18] 来提取同源基因片段。根据不同的研究, 对运行的 ColinearScan1.01 中的参数进行设定, 将搜索过程中连续同源基因之间的基因 gap 数量设定为 50 个, 并且限定同源基因片段中基因数量不少于五对。

1.2.2 同源关系判定 在同一物种内, 由全基因组加倍形成的同源基因间称为旁系同源关系 (Paralogs); 而在不同物种间, 由分化产生的同源基因之间构成了直系同源关系 (Orthologs); 在

不同物种间，由加倍产生的同源基因之间构成了外旁系同源关系（Outparalogs）。如图 1 葡萄和柚子的比较分析中，葡萄中的 V1,V2 和 V3 是由 ECH 加倍事件形成的同源基因，其中 V1-V2 为旁系同源关系（类似地，V1-V3 和 V2-V3）；而葡萄同柚子之间，由于多倍化之后的分化，他们之间的同源基因 V1-C1 形成了旁系同源关系（类似地，V2-C2 和 V3-C3）；而分化之后由于多倍化形成的同源基因 V1-C2, 构成了种外旁系同源关系（类似地，V1-C3, V2-C1, V2-C3, V3-C1 和 V3-C2）。而这 3 种同源关系中直系同源基因间的相似度最高，旁系同源间次之，外旁系同源基因间最低。

1.2.3 同源基因共线性列表构建 基于同源点阵图以及同源基因片段之间的相似性关系，获取了比较基因组之间的对应关系（Correspondences），包括直系同源对应关系（Orthologous correspondence）和旁系同源对应关系（Paralogous correspondence）。借助葡萄基因组（参考基因组）的旁系同源对应关系，以及葡萄同柚子之间的直系同源对应关系，构建了一个共线性同源基因列表。共线性列表的构建对于研究柚子同源基因的结构变化，物种演化都可能有着重要的作用。以构建的共线性同源基因列表为基础，利用 Python 程序，结合绘图包 matplotlib 将葡萄同柚子之间的同源关系进行展示。

1.2.4 基因组片段化统计 将真双子叶共有六倍体祖先在葡萄基因组中保留的同源基因片段用 7 种不同的颜色表示。利用葡萄基因组为参考，结合柚子同葡萄之间的同源基因点阵图，提取出比较基因组之间的直系同源基因片段，进而对柚子基因组在 ECH 事件之后的基因组结构的变化探究。

1.2.5 基因组结构重塑 利用葡萄基因组结构推断真双子叶六倍体祖先基因组内容及结构，结合葡萄同柚子基因组之间的同源关系，对柚子基因组中同源片段定位。结合葡萄同柚子之间的同源点阵图，利用柚子染色体上与 ECH 祖先同源区域，推断由现有柚子基因组组成的祖先染色体结构。

2 结果与分析

2.1 基因组内同源基因点阵图

葡萄基因组内的同源基因点阵图能够清晰地展示出葡萄基因组近期发生过一次全基因组水平上的 3 倍乘事件，结果如图 2 所示。葡萄现有 19 条染色

体在下图中可以找到 3 组对应的同源关系，通过基因组内同源基因片段的对应关系可以分成 3 组，每组包含 7 个染色体片段（7 种颜色分别代表了真双子叶祖先的 7 条染色体）。其中葡萄现有染色体中 6 号同 8 号、13 号是由下图中标注的 6 号祖先染色体（Eu_chro6）加倍形成的同源染色体。类似地，祖先染色体 1 号（Eu_chro1），对应葡萄现有染色体的 1 号、14 号（后半部分）和 17 号；祖先 2 号染色体（Eu_chro2）对应葡萄的 2 号、15 号和 16 号染色体；祖先染色体 3 号（Eu_chro3）对应葡萄的 3 号、4 号（后半部分）、7 号（后半部分）和 18 号染色体；祖先染色体 4 号（Eu_chro4）对应葡萄的 4 号（前半部分）、9 号和 11 号染色体；祖先染色体 5 号（Eu_chro5）对应葡萄现有的 5 号、7 号（前半部分）和 14 号（前半部分）染色体；祖先染色体 7 号（Eu_chro7）对应葡萄现有的 10 号、12 号和 19 号染色体。相比于真双子叶六倍体祖先染色体结构，葡萄现有染色体中只有其中的 4 号、7 号和 14 号是由祖先染色体的重组形成。

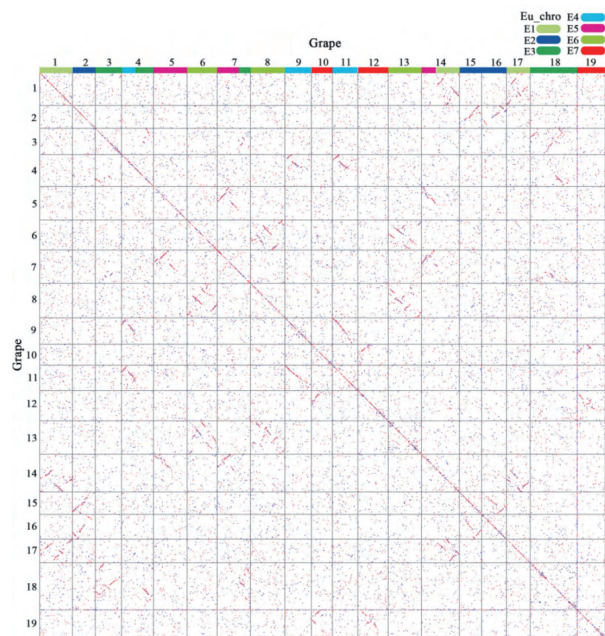


图 2 葡萄基因组点阵图

Fig.2 Homologous dotplot within the genome of grape

不同于葡萄基因组结构，柚子基因组中只保留了现有的 9 条染色体，而且其染色体在进化过程中发生过很大的变化。从柚子基因组内结构比对点阵图中（图 3），可以找到大量一对二的同源片段，而这种同源关系发生在整个基因组结构中，推断柚子基因组发生过一次近期的全基因组加倍。不同于

葡萄基因组, 柚子基因组发生了复杂的染色体结构的变化, 大量染色体之间发生作用, 导致同源基因以多个片段的形式分布在各个染色体上。同时可以发现, 柚子基因组中还有大量同源基因片段的丢失。例如, 柚子的 1 号染色体同 3 号染色体片段以及 4 号染色体片段形成了共线性同源关系 (图 3 中蓝色矩形框中片段); 另一组共线性同源基因集散乱地分布在了 2 号、4 号和 8 号等染色体之上 (图 3 黑色矩形框中片段), 其中存在同源片段的丢失, 总体形成了两组旁系同源关系。柚子的 2 号染色体同样也能找到两组对应的同源基因集, 其中一组在 2 号、5 号和 6 号等染色体上, 另一组分散在 4 号、5 号、6 号、7 号和 9 号等染色体上。同样地, 柚子其他染色体上也能找到对应的两组同源基因集。不同于葡萄染色体结构, 柚子基因组内同源结构存在大量片段段, 而且发生有大量的丢失, 如图 3 中可以发现 3 号、5 号等染色体对应的同源基因片段发生了丢失, 1 号、3 号、6 号等染色体的末端片段发生有丢失的现象。

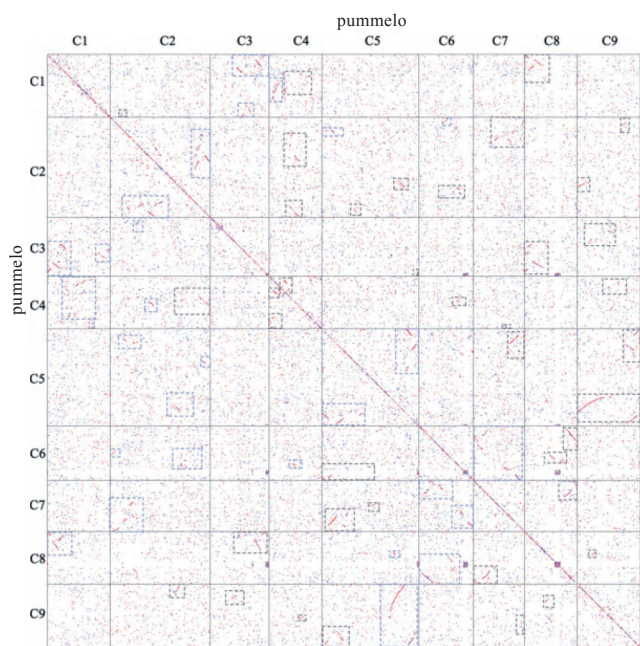


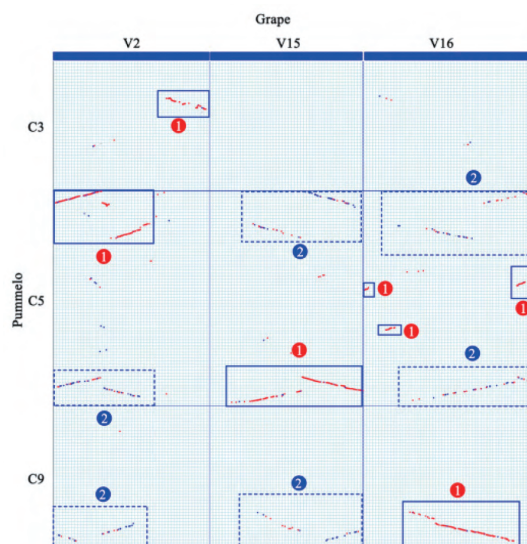
图 3 柚子基因组点阵图

Fig.3 Homologous dotplot within the genome of pummelo

2.2 基因组间同源基因点阵图

利用柚子基因组与葡萄基因组间的局部同源基因点阵图能够找到柚子基因组中由 ECH 事件产生的三组直系同源基因集 (图 4)。选取葡萄基因组中由真双子叶祖先染色体加倍形成的三组旁系同源基因集 (2 号、15 号和 16 号染色体对应图 4 中 V2、

V15 和 V16), 来研究柚子基因组对应的 3 组同源基因集。图中蓝色实线框中的基因片段代表了葡萄同柚子间的直系同源基因片段, 而虚线框中对应的是两组外旁系同源基因。其中葡萄 2 号染色体上的基因对应着柚子基因组中的同源基因, 主要分布在柚子的 3 号和 5 号等染色体上, 另外两组种外旁系同源基因集中在 5 号和 9 号, 后半部分发生严重的丢失。葡萄的 15 号染色体对应着柚子基因组中的直系同源基因集中分布在甜橙的 5 号染色体上; 而与其对应的两组外旁系同源基因集主要分布在 5 号和 9 号染色体。葡萄的 16 号染色体在柚子中的直系同源基因集, 主要集中在的 9 号染色体以及分散在 5 号染色体; 两组外旁系同源基因集主要都集中在 5 号染色体上。通过柚子同葡萄基因组之间的同源对应关系, 能够确定柚子近期发生的多倍化规模。



注: 图中选取葡萄 2、15 和 16 号染色体 (源于 ECH) 同甜橙比对, 实线框 (如, 红色序号 1) 中片段代表直系同源关系, 虚线框 (如, 蓝色序号 1 和 2) 中片段代表外旁系同源关系。

图 4 葡萄和柑橘基因组局部同源点阵图

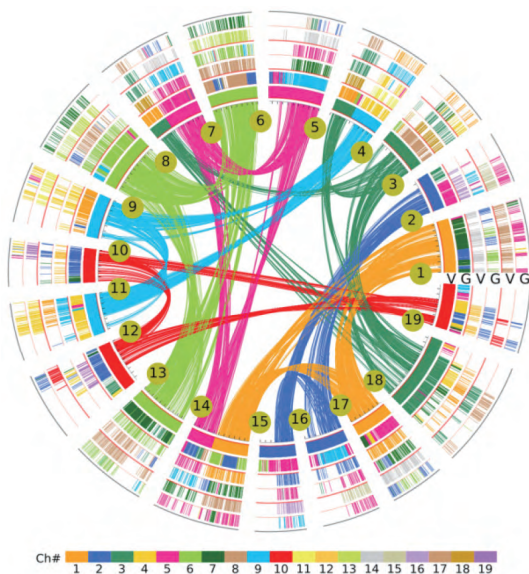
Fig.4 Local homologous dotplot between the genomes of grape and pummelo

2.3 基因组联合比对

构建葡萄同柚子之间的共线性同源基因列表为基础来进行分析研究。通过选取葡萄基因组构建的 3 组旁系同源基因集 (由 ECH 事件形成) 为参考, 利用柚子同葡萄基因组之间的直系同源关系, 构建出葡萄同柚子之间的共线性同源基因列表。共线性列表中的 3 组 (6 列) 分别对应到了联合图谱上的 6 各圈。图 5 中由内到外的 3 组葡萄基因集就是 ECH 产生的旁系同源基因, 其中最内圈表示葡萄基因组

中的定位到染色体上的 24 283 个基因，并且按照染色体和基因在染色体上位置的顺序依次排列。葡萄基因组的 19 条染色体用代表祖先染色体的 7 中颜色来表示，例如图中 6 号、8 号和 13 号染色体共同使用了绿色来代表他们之间属于同源关系，类似地 10 号、12 号和 19 号染色体用同样的红色代表他们之间的同源关系。紧跟的柚子（第一组中）代表各个柑橘植物基因组中同葡萄的同源基因，且根据同源关系对应地排列在相应的图谱位置中。

第 2 组和第 3 组同共线性同源基因列表类似。在共线性列表的每一列中，一个格子中对应一个共线性基因（图中短杠表示）或者是一个“点”（图中用空白代替）来代表此处没用同葡萄匹配的同源基因。共线性列表第一组各个物种之间对应的共线性基因为直系同源基因，而各组之间的同一物种之间对应的基因之间是由物种加倍形成的旁系同源基因，不同物种之间对应的共线性基因之间为外旁系同源基因。



注：图中 V 和 G 分别代表了葡萄和柚子，图中的 6 圈依次展示了共线性列表中的同源基因，可以根据 ECH 加倍事件分为 3 组。彩色的短线代表了同参考基因组（葡萄）同源的基因。圈的最内部的曲线连接了葡萄基因组内由 ECH 形成的旁系同源基因。

图 5 葡萄和柚子之间的圈图

Fig.5 Circles of between grape (V) and pummelo (G)

2.4 事件相关联基因统计

由于柚子在 ECH 事件之后没有全基因组加倍发生，本研究仅对柚子中同 ECH 事件相关联的同源信息进行统计。其中，选取葡萄基因组进为参考，对柚子基因组中同 ECH 事件相关联的同源基因、同源

基因对以及同源基因片段进行了统计（表 1）。发现葡萄基因组中同 ECH 事件相关联的旁系同源基因对有 1 289 对，旁系同源基因片段有 66 个，包括 2 364 个同源基因；在柚子基因组中，同 ECH 事件相关联的旁系同源基因对有 1 402 对，旁系同源基因片段有 77 个，包括 2 604 个旁系同源基因。葡萄和柚子间由 ECH 事件产生的直系同源基因（只统计大于 4 个基因的片段）如下表，直系同源基因片段有 1 018 个，直系同源基因对有 16 394 对，直系同源基因在葡萄和柚子基因组中分别由 9 724 和 9 660 个。

表 1 ECH 事件相关联的重复基因

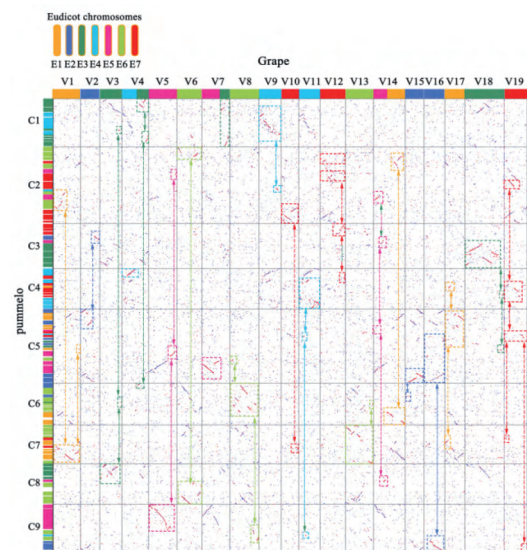
Table 1 Number of duplicated genes within a genome related to the ECH

物种	葡萄	柚子	葡萄 / 柚子 (BL>=4)
Species	Grape	Pummelo	Grape/pummelo
基因片段	66	77	1 018
基因对	1 289	1 402	16 394
基因数	2 364	2 604	9 724/9 660

注：BL: block，同源基因片段。

2.5 染色体结构片段化

基于比较基因组之间的同源基因共线性列表，通过对柑橘植物在同葡萄分化之后发生的片段化规模进行了统计分析。以葡萄基因组内容作为对照，柚子基因组中同样拥有 71 个同源基因片段，包含有 9 086 个基因，约占其同源基因的 37.50%（图 6）。结果表明，在柚子中有着大规模的基因片段化现象。



注：图中 7 种颜色代表真双子叶六倍体的祖先，横坐标中葡萄现有染色体可以用祖先染色体表示。虚线框中的片段表示柚子同葡萄之间的直系同源基因片段。

图 6 葡萄和柚子之间同源点图

Fig.6 Homologous dotplot between grape and pummelo

2.6 柑橘植物染色体重构

2.6.1 葡萄祖先基因组结构推断 通过对葡萄同源基因结构点阵图 (图 2) 的分析发现, 葡萄现有染色体中 4 号、7 号和 14 号染色体是由真双子叶六倍体祖先中的染色体重组形成。其中真双子叶六倍体祖先染色体 (E1-E7), 其中每一条祖先染色体经过六倍化事件之后形成了 a, b 和 c 3 个同源染色体 (例如, E1 加倍形成了 E1a, E1b 和 E1c 3 条同源染色体)。可以根据葡萄 (V) 基因组内同源点阵图发现, 由于葡萄染色体中 4 号、7 号和 14 号由祖先染色体重组形成, 为了后续表述方便, 将染色体片段重新定义为 A 和 B (即, 4A 和 4B; 7A 和 7B; 14A 和 14B)。推断发现, 祖先染色体 E3b (V14B+V7B), E4a (V4A) 同 E5a (V5A) 三者之间通过染色体之间作用形成了, 葡萄中 V4 和 V7 染色体。同时, 祖先染色体中的 E5c (V14A) 和 E1a (V1) 相互作用形成了葡萄的 V14 染色体。

进而能够将葡萄现有染色体片段对应到真双子叶六倍体祖先染色体当中, 即, E1 (V1/E1a; V14A/E1b; V17/E1c), E2 (V2/E2a; V15/E2b; V16/E2c), E3 (V3/E3a; V4B-V7B/E3b; V18/E3c), E4 (V4/E4a; V9/E4b; V11/E4c), E5 (V5/

E5a; V7A/E5b; V14A/E5c), E6 (V6/E6a; V8/E6b; V13/E6c), E3 (V10/E7a; V12/E7b; V19/E7c)。

2.6.1 柚子祖先基因组结构推断 利用葡萄同柚子之间的直系同源关系, 可以得到柚子现有染色体上同葡萄之间的直系同源基因片段 (图 6), 结合构建的葡萄同柑橘之间的共线性同源基因列表, 用葡萄染色体中基因表示祖先染色体, 将柚子同葡萄对应的直系同源基因对应到祖先染色体位置, 从而构建出以柚子基因组表示的真双子叶六倍体祖先结构 (如下图 7)。其中, 柚子现有染色体 C1 主要对应到 E3b 和 E4b, 以及小片段位于 E3a 染色体上; C2 染色体分散在 E1、E5a、E5c、E6a、E7a 和 E7b 染色体之上; C3 染色体对应 E2a、E3c、E5c、E6c、E7b 和 E7c 之上; C4 染色体对应 E1a、E1c、E3c、E4a、E4c、E6c、E7a 和 E7c 之上, 详细结果见图 7。可以发现, 柚子不同于葡萄染色体结构, 其在经过 ECH 事件之后, 基因组内发生了复杂的变化, 从祖先的 21 条到现在保存的 9 条染色体, 其历史进化过程中不仅发生了复杂的片段化, 也存在大量染色体片段的丢失, 尤其是染色体之间的重组过程中更容易发生。

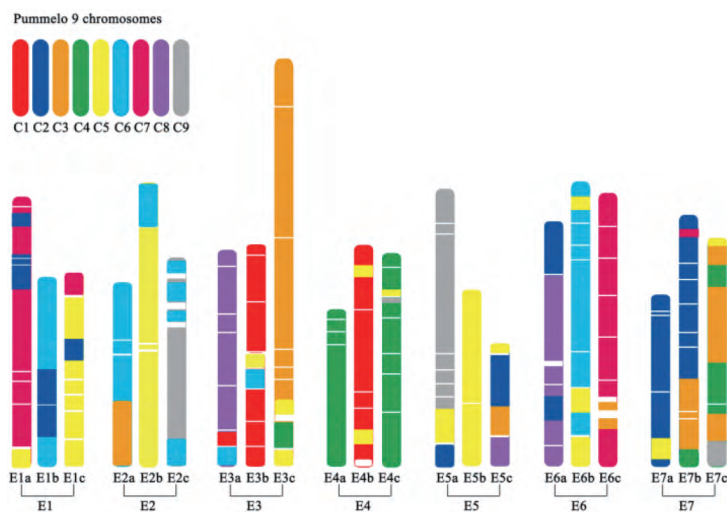


图 7 柚子现有基因重构六倍体祖先染色体

Fig.7 Reconstruct ECH using extant pummelo gene contents

3 讨论

研究中选取柚子基因组来对柑橘植物进行分析, 源于柚子基因组结构测序和组装较其他柑橘 (野生橘、宜昌橘等) 质量更高, 且基因定位到了染色体水平, 同时由于柚子较甜橙和克莱门蒂小柑橘基因组杂交水平更低^[20]。通过葡萄与柚子基因组深入

比较分析能够为研究柑橘植物乃至芸香科植物基因组结构以及进化提供重要的基础。

在构建共线性列表的过程中, 需要对 ECH 事件加倍产生的 3 组同源基因集进行分组。将 ECH 事件产生地 3 组同源基因集进行准确地分类, 对于后续研究物种进化时间推断, 基因置换研究以及其他

比较基因组学研究有着重要的意义。同时,对于多倍化事件(如 ECH)属于同源加倍或者异源加倍这一问题能够更加准确地做出判定。多倍化,特别是三倍化以及更大规模的加倍,异源加倍通常比同源加倍更容易发生^[19],通过多种方式可以对多倍化性质进行探索,包括基因组结构的差异分析,子基因组间的表达差异分析^[20],子基因组之间的进化速率比较等。但是,子基因组进化不同步竞争导致子基因组间存在较大的差异^[21];近缘物种间由于杂交引起大量基因入侵使得子基因组之间出现差异^[22];基因丢失发生不平衡导致的差异^[23];同时由于缺乏一个近缘的参照物种来探索多倍化的发生性质,这些问题都会对探索多倍化的发生性质造成影响。由于被子植物基部物种基因组测序、组装质量,在 ECH 事件之前发生的加倍事件更加古老,导致现有物种基因组中保留古老加倍事件的同源基因信息很少,导致深入研究 ECH 加倍事件变得更加困难。

全基因组加倍后的基因组结构通常很不稳定,染色体间会有大量重组的现象,同时会出现大量基因的丢失来维持其稳定性进化^[24-25]。如在豆科、禾本科、棉花等基因组中发现,多倍化之后的基因组同源基因出现大量的丢失^[26-27]。推断柚子为代表的柑橘植物祖先基因组过程中,源于多倍化之后物种基因组结构的不稳定,大量的同源基因使得基因之间容易发生作用。柚子基因组中发生的这种大量的片段化(71 个同源基因片段相对于葡萄基因组),会导致大量同源基因甚至是同源基因片段的丢失,如葡萄和柚子同源结构点阵图中,出现对应的空白的区域表明存在大的同源基因片段丢失。在对现有柚子基因组结构中祖先染色体片段的推断的过程中,由于基因组结构变化复杂,包括小片段的丢失、倒位等通常将其视为同一个片段,一些小的同源片段发生了跨染色体的转移,当作染色体片段的断裂,染色体末端小片段的丢失可能源于测序质量导致的找不到对应的片段。同时,考虑到柚子基因组的进化过程中存在同其近缘物种杂交的现象,进而导致基因以及基因片段的渗入^[23],这样对推断其祖先染色体结构及其变化造成了困难。

参考文献:

- [1] Liu Y, Heying E, Tanumihardjo S A. History, global distribution, and nutritional importance of citrus fruits [J]. Comprehensive Reviews in Food Science & Food Safety, 2012, 11(6): 530-545.
- [2] 张怡,曾绍校,冯翀,等.福建省主栽柚子品种营养与保健成分的分析[J].营养学报,2008,30(5):520-522.
- [3] 张怡,曾绍校,郑宝东.柚子降血脂作用的研究[J].营养学报,2010(4):100-102.
- [4] Soltis D E, Albert V A, Leebensmack J, et al. Polyploidy and angiosperm diversification [J]. American Journal of Botany, 2009, 96(1): 336-348.
- [5] Soltis D E, Soltis P S. Polyploidy: recurrent formation and genome evolution [J]. Trends in Ecology & Evolution, 1999, 14(9): 348-352.
- [6] Adams K L, Wendel J F. Polyploidy and genome evolution in plants [J]. Current Opinion in Plant Biology, 2005, 8(2): 135-141.
- [7] Jiao Y, Wickett N J, Ayyampalayam S, et al. Ancestral polyploidy in seed plants and angiosperms [J]. Nature, 2011, 473(7345): 97-100.
- [8] Jaillon O, Aury J M, Noel B, et al. The grapevine genome sequence suggests ancestral hexaploidization in major angiosperm phyla [J]. Nature, 2007, 449(7161): 463-467.
- [9] Arabidopsis Genome Initiative. Analysis of the genome sequence of the flowering plant *Arabidopsis thaliana* [J]. Nature, 2000, 408(6814): 796-815.
- [10] Wang J, Yu J, Li J, et al. Two likely auto-tetraploidization events shaped kiwifruit genome and contributed to establishment of the actinidiaceae Family [J]. Science, 2018, 7(1): 230-240.
- [11] Xu Q, Chen L, Ruan X, et al. The draft genome of sweet orange (*Citrus sinensis*) [J]. Nature Genetics, 2013, 45(1): 59-67.
- [12] Wu G A, Prochnik S, Jenkins J, et al. Sequencing of diverse mandarin, pummelo and orange genomes reveals complex history of admixture during citrus domestication [J]. Nature Biotechnology, 2014, 32(7): 656-663.
- [13] Wang X, Xu Y, Zhang S, et al. Genomic analyses of primitive, wild and cultivated citrus provide insights into asexual reproduction [J]. Nature Genetics, 2017, 49(5): 765-773.
- [14] Wang L, He F, Huang Y, et al. Genome of wild mandarin and domestication history of mandarin [J]. Molecular Plant, 2018, 11(8): 1024-1037.
- [15] Curk F, Ollitrault F, Garcia-Lor A, et al. Phylogenetic origin of limes and lemons revealed by cytoplasmic and nuclear markers [J]. Annals of Botany, 2016, 117(4): 565-583.
- [16] Wu G A, Terol J, Ibanez V, et al. Genomics of the origin and evolution of *Citrus* [J]. Nature, 2018, 554(7692): 530-535.

(下转第 61 页)

- 壤重金属形态分布及风险评估 [J]. 环境科学研究, 2013, 26(1):88-96.
- [18] Berch S M, Kendrick B. Vesicular-arbuscular mycorrhizae of southern ontario ferns and fern-allies [J]. Mycologia, 1982, 74(5): 769-776.
- [19] Barrow J, Aaltonen R. Evaluation of the internal colonization of *Atriplex canescens* (Pursh) Nutt. roots by dark septate fungi and influence of host physiological activity [J]. Mycorrhiza, 2001, 11(4): 199-205.
- [20] 刘克, 和文祥, 张红, 等. 镉在小麦各部位的富集和转运及籽粒镉含量的预测模型 [J]. 农业环境科学学报, 2015, 34(8):1441-1448.
- [21] 王凤, 王梦露, 许堃, 等. 生物炭施用对棕壤重金属镉赋存形态及油菜吸收镉的影响 [J]. 农业环境科学学报, 2017, 36(5):907-914.
- [22] 侯青叶, 杨忠芳, 杨晓燕, 等. 成都平原区水稻土成土剖面 Cd 形态分布特征及影响因素研究 [J]. 地学前缘, 2008, 15(5):36-46.
- [23] Zhan F, He Y, Li T, et al. Tolerance and antioxidant response of a dark septate endophyte (DSE), *Exophiala pisciphila*, to cadmium stress [J]. Bull environ contam toxicol, 2015, 94(1): 96-102.
- [24] Zhao D, Li T, Shen M, et al. Diverse strategies conferring extreme cadmium (Cd) tolerance in the dark septate endophyte (DSE), *Exophiala pisciphila*: Evidence from RNA-seq data [J]. Microbiol Res, 2015, 170: 27-35.
- [25] Bolan N S, Adriano D C, Mani P A, et al. Immobilization and phytoavailability of cadmium in variable charge soils. II. Effect of lime addition [J]. Plant and Soil, 2003, 251(2):187-198.
- [26] 钟晓兰, 周生路, 李江涛, 等. 模拟酸雨对土壤重金属镉形态转化的影响 [J]. 土壤, 2009, 41(4):566-571.
- [27] 刘霞, 刘树庆, 王胜爱. 河北主要土壤中重金属镉、铅形态与土壤酶活性的关系 [J]. 河北农业大学学报, 2002, 25(1):33-37, 60.
- [28] Li T, Liu M J, Zhang X T, et al. Improved tolerance of maize (*Zea mays* L.) to heavy metals by colonization of a dark septate endophyte (DSE) *Exophiala pisciphila* [J]. Sci Total Environ, 2011, 409(6): 1069-1074.

(编辑: 梁虹)

(上接第 54 页)

- 311-318.
- [17] Wang H, Ong T H, Ooi B C, et al. BLAST++: A tool for blasting queries in batches [J]. Asia-Pacific Bioinformatics Conference on Bioinformatics, 2003, 19: 71-79.
- [18] Wang X, Shi X, Li Z, et al. Statistical inference of chromosomal homology based on gene colinearity and applications to *Arabidopsis* and rice [J]. BMC bioinformatics, 2006, 7: 447-450.
- [19] Ramsey J, Schemske D W. Pathways, mechanisms, and rates of polyploid formation in flowering plants [J]. Annual Review of Ecology and Systematics, 1998, 29: 467-501.
- [20] Edger P P, Smith R, McKain, M R, et al. Subgenome dominance in an interspecific hybrid, synthetic allopolyploid, and a 140-year-old naturally Established neo-allopolyploid monkeyflower [J]. The Plant Cell, 2017, 29: 2150-2167.
- [21] Tang H, W M R, Cheng F, et al. Altered patterns of fractionation and exon deletions in brassica rapa support a two-step model of paleohexaploidy [J]. Genetics, 2012, 190: 1563-1574.
- [22] Chester M, Gallagher J P, Symonds V V. Extensive chromosomal variation in a recently formed natural allopolyploid species, *Tragopogon miscellus* (Asteraceae) [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences 2012, 109(4): 1176-1181.
- [23] Buggs R J, Chamala S, Wu W, et al. Rapid, repeated, and clustered loss of duplicate genes in allopolyploid plant populations of independent origin [J]. Current Biology, 2012, 22(3): 248-252.
- [24] Schnable J C, Freeling M, Lyons E. Genome-wide analysis of syntenic gene deletion in the grasses [J]. Genome Biology and Evolution, 2012, 4(3): 265-277.
- [25] Freeling M, Scanlon M J, Fowler J E. Fractionation and subfunctionalization following genome duplications: mechanisms that drive gene content and their consequences [J]. Current Opinion in Genetics & Development, 2015, 35: 110-118.
- [26] Wang X, Guo H, Wang J, et al. Comparative genomic deconvolution of the cotton genome revealed a decaploid ancestor and widespread chromosomal fractionation [J]. New Phytologist, 2016, 209(3): 1252-1263.
- [27] Wang J, Sun P, Li Y, et al. Hierarchically aligning 10 legume genomes establishes a family-level genomics platform [J]. Plant Physiology, 2017, 174(1): 284-300.

(编辑: 梁虹)