

引文格式: 魏超, 王美容, 麦秀玲, 等. 4个甘蓝型油菜白花品系的白花调控机制初探[J]. 云南农业大学学报(自然科学), 2023, 38(6): 913–920. DOI: [10.12101/j.issn.1004-390X\(n\).202211057](https://doi.org/10.12101/j.issn.1004-390X(n).202211057)

4个甘蓝型油菜白花品系的白花调控机制初探*

魏超, 王美容, 麦秀玲, 杨芷莹, 陈诗铭
(肇庆学院 生命科学学院, 广东 肇庆 526061)

摘要:【目的】甘蓝型油菜白花是一种较为常见的花色突变类型, 研究不同白花油菜的调控机制, 可为其育种和生产利用奠定基础。【方法】通过进化分析、克隆测序和基因表达量分析等方法对4个新型甘蓝型白花油菜品系(M50、M55、M58和M61)中的*BnaC3.CCD4*基因进行生物信息学分析和遗传变异分析, 并分析其类胡萝卜素路径的相关基因表达, 初步探究这4个白花油菜品种的白花形成调控机制。【结果】*BnaC3.CCD4*基因与甘蓝的*CCD4*序列亲缘关系最近, 该基因在4种白花材料中的序列完全一致, 均不存在TE1转座子的插入和其他突变, 但是在类胡萝卜素生物合成—降解路径上表现出一定的差异, 尤其是大花瓣期M61材料的*PSY*和*LCYB*基因高表达而表现出浅白色(或浅黄色)。【结论】4种白花材料白色花瓣的形成与类胡萝卜素降解路径和其他代谢路径上基因表达量的变化相关, 其中*BnaC3.CCD4*和*ZEP*基因发挥了一定的作用。

关键词: 甘蓝型油菜; 白花基因; *BnaC3.CCD4*; 调控机制; 类胡萝卜素路径

中图分类号: S565.401

文献标志码: A

文章编号: 1004-390X(2023)06-0913-08

A Preliminary Study on the White Flower Regulation Mechanism of Four White-flowered *Brassica napus* Varieties

WEI Chao, WANG Meirong, MAI Xiuling, YANG Zhiying, CHEN Shiming
(College of Life Sciences, Zhaoqing University, Zhaoqing 526061, China)

Abstract: [Purpose] White flower is an extremely familiar mutant type in *Brassica napus* L., the study on regulation mechanism of different white flower materials may lay the foundation of the breeding and production in *B. napus*. [Methods] Evolution analysis, clone sequencing and gene expression level analysis on the *BnaC3.CCD4* gene in four white flower varieties (M50, M55, M58 and M61) were used to study its bioinformatics and genetics characteristics. Meanwhile, selected genes related to the carotenoid pathway were analyzed to preliminary study the formation mechanism of white flower in the four *B. napus* varieties. [Results] *BnaC3.CCD4* had a closest relationship with *CCD4* in *B. oleracea*, both of them had no TE1 transposon insertion and other mutations. The sequences of *BnaC3.CCD4* gene in the four varieties were totally consistent. However, they showed differences in the carotenoid biosynthesis and metabolism pathways, particularly, the *PSY* and *LCYB* genes in the biosynthesis pathway showed high expression in blooming petals period of M61, which resulted in pale white or yellow petals. [Conclusion] The changes of gene expression related to the carotenoid biosynthesis and metabolism pathways lead to white flowers in the four varieties, in which *BnaC3.CCD4* and *ZEP* gene played a role to some extent.

收稿日期: 2022-11-28

修回日期: 2023-10-04

网络首发日期: 2023-11-08

*基金项目: 广东省大学生创新创业项目(S202010580045)。

作者简介: 魏超(1989—), 男, 安徽安庆人, 博士, 讲师, 主要从事油菜分子育种与多功能利用研究。

E-mail: weichaoing@126.com

网络首发地址: <https://link.cnki.net/urlid/53.1044.S.20231107.1132.001>



Keywords: *Brassica napus*; white flower gene; *BnaC3.CCD4*; regulation mechanism; carotenoid pathway

甘蓝型油菜 (*Brassica napus* L., AACC, $2n=38$) 是十字花科 (Brassicaceae) 芸薹属 (*Brassica*) 重要的油料作物, 是同属中二倍体物种白菜 (AA, $2n=20$) 和甘蓝 (CC, $2n=18$) 先通过天然的种间杂交, 再经过双二倍化进化后产生的异源四倍体物种, 目前已经对其中的 8 种生态型完成了基因组测序^[1]。近年来, 油菜的多功能利用潜力不断被开发^[2], 除榨油、饲料和菜用外, 不同花色的甘蓝型油菜也是具有特色的旅游资源^[3]; 此外, 对其不同花色资源的基因功能和代谢组学研究^[4-5]以及花色利用也备受关注, 因此, 研究甘蓝型油菜花色性状的遗传和分子机制具有一定的实践意义。白花性状是比较常见的花色突变类型, 其来源比较丰富, 产生机制也具有多样性和复杂性, 但是其分子机制间的差异和相关性研究并不完善, 具有一定的研究意义。

在十字花科植物中, 对白花性状的遗传研究成果最为突出。油菜中白花性状的来源较丰富, 包含自然突变、人工突变和远缘杂交等方式^[6-7]。研究发现: 不同来源的白花性状存在多种遗传模式, 在某些甘蓝^[8]、芥蓝^[9]和甘蓝型油菜^[10-11]中发现单基因显性遗传的模式, 而在一类芥菜型油菜中发现白花性状属于 2 对隐性基因的遗传调控模式^[12]; 也有文献表明某些白菜的白花性状受双隐性基因调控^[13]或单隐性基因调控^[14], 某些甘蓝型油菜的白花性状也受到单隐性基因调控^[15]。关于白花性状形成的分子机制也有一定的研究报道, 尤其是定位克隆了一部分白花形成的关键基因。在甘蓝型油菜中发现了 *BnaC3.CCD4*^[10]、*BnNCED4b*^[11]和 *PSD3*^[15]基因与白花性状相关; 也有研究利用二代测序技术定位了与白花连锁的 6 个 SSR 共分离标记^[16]; 在芥蓝中定位克隆的 *ckpc* 基因^[9]、甘蓝中定位的 *cpc-1* 基因^[8]、芥菜型油菜中定位克隆的 *Bjpc1/2* 基因^[12, 17]以及白菜中定位克隆的 *Brwfl*、*Brwf2*^[13]和 *BrWF3*^[14]等基因均与白花性状相关; 此外, 在萝卜中发现 1 个碱基的点突变导致红色花瓣变成白色^[18]。

白花属于黄花的一种常见突变类型, 研究黄花与白花的基因表达或代谢差异具有重要意义。黄花形成主要与类胡萝卜素代谢路径有关, 类胡

萝卜素是三大天然色素之一, 是花瓣颜色形成的主要因素之一, 其代谢路径主要包括合成转化、分解和储存, 每个过程包含了复杂的基因合成路径和代谢调控网络^[19]。类胡萝卜素合成路径主要的限速基因是八氢番茄红素合成酶基因 (*PSY*); 在合成转化过程中, 番茄红素 δ -环化酶基因 (*LCYE*)、番茄红素 β -环化酶基因 (*LCYB*) 和玉米黄质环化酶基因 (*ZEP*) 等发挥了重要的作用; 在分解代谢路径中, 双加氧裂解酶基因 (*CCD1*、*CCD4*、*CCD7* 和 *CCD8*) 和 9-顺式-环氧类胡萝卜素双加氧酶基因 (*NCEDs*) 发挥了关键作用^[19-20]。在油菜中, QU 等^[21]利用转录组学分析得到 18 个类胡萝卜素合成的位点; 此外, 还有研究利用组学分析得到白花和黄花材料中与类胡萝卜素路径相关的多个差异表达基因^[5, 11, 22]。目前在甘蓝型油菜中已经发现了多种白花类型, 也对部分白花材料进行了组学分析, 但是还没有比较和鉴定这些材料中白花基因的序列差异, 本研究以此为切入点, 分析白花材料中关键基因的序列和表达差异。

本研究以 4 个新型甘蓝型白花油菜品系为研究材料, 以 *BnaC3.CCD4* 基因为研究对象, 采用生物信息学的进化分析和基因 PCR 克隆测序等方法进行同源性和遗传变异分析, 同时对类胡萝卜素合成转化、分解和代谢路径的一些关键基因进行相对表达量的分析, 初步探究不同白花材料白花形成的机制和差异, 为确定不同材料中白色花瓣形成的关键基因和关键时期提供参考。

1 材料与方法

1.1 供试材料和主要试剂、仪器

供试的 5 个材料均为甘蓝型油菜品系, 4 个白花材料分别为 M50 (人工合成甘蓝型油菜)、M55、M58 和 M61; 对照黄花材料 M158 为中双 11, 所有材料于 2021 年 10 月种植于田间, 待现蕾时取花瓣或小花蕾提取 RNA, 并进行表型观察。此外, 为了确定不同材料中目标基因的变异形式, 选取多种白花、黄花和桃红花材料用于分子标记检测, 其中, 黄花材料包括 79、80、81、84、86、95、96-1、96-2、109、111、139、140、

141、143、147、158、166、187、188 和 Westar, 桃红花材料包括 75 和 76-1, 白花材料为 137。所有材料来自华中农业大学油菜研究中心。

主要试剂: I-5™ 2×High-Fidelity Master Mix、荧光定量 STBR qPCR Master Mix、大肠杆菌 DH5α 感受态以及其他生化试剂购自擎科生物科技有限公司; RNA 提取试剂盒和反转录试剂盒购自南京诺唯赞生物技术有限公司; 植物基因组提取试剂盒购自天根生化科技(北京)有限公司。主要仪器: 伯乐 PCR 仪、TGL-18 高速冷冻离心机、Nano-200 微量核酸蛋白分析仪、AFD4800 实时荧光定量 PCR 仪、Tanon-2500 凝胶成像系统等。

1.2 CCD4 基因的进化分析

CCD4 基因属于类胡萝卜素裂解途径中的 1 个基因, 在芸薹属植物中具有较多的同源序列。在甘蓝型油菜泛基因组数据库 (<http://cbi.hzau.edu.cn/bnapus/>) 中选择人工合成黄籽材料 No. 2127 为参考基因组, 并下载目标基因 *BnaC3.CCD4* 对应的蛋白质序列; 在 NCBI 数据库的十字花科基因库中比对并下载与该基因同源的所有序列, 选取相似度较高的 39 个蛋白质序列, 采用 MEGA 6.0 软件进行进化树分析, 再采用邻接法进行聚类分析, Bootstrap 设置为 1000。

1.3 目的基因扩增检测与测序比对

采用高保真酶在 5 个材料的基因组中设计特异扩增 *BnaC3.CCD4* 基因的引物。以 N2127_CCD4-F (5'-AGCAGTGCAATGTACTCTGTTT-3') 和 N-2127_CCD4-R (3'-ATTAAACAGACCGTGATTA-AACCT-5') 为上、下游引物, 分别从白花和黄花材料的基因组 DNA 中扩增 *BnaC3.CCD4*, 后续将 PCR 产物纯化回收, 再连接到 Pclone007 平末端载体上, 经过转化、复苏、涂平板和阳性克隆检测等步骤后, 将单克隆菌液送至擎科生物有限公司进行测序。测序完成后, 利用 ClustalX 对 5 个材料的目的基因进行比对分析, 利用 DNAMAN 对结果进行美化处理。引物 N2127_CCD4-F 和 N2127_CCD4-R 也是鉴定不同材料中 *BnaC3.CCD4* 基因的分子标记。

1.4 白花基因转座子 TE1 特异片段的分子标记设计

很多白花材料是由于 *BnaC3.CCD4* 基因序列发生突变产生的, 尤其是转座子 TE1 和 TE2 的插入^[10]。因此, 本研究还设计了 1 对引物 (TE1-

F 和 TE1-R) 检测 *BnaC3.CCD4* 基因序列中是否存在 TE1 转座子, 从而判断黄花材料的 *BnaC3.CCD4* 基因突变是否与 TE1 的插入有关。PCR 扩增产物利用琼脂糖凝胶电泳进行检测, 引物序列为 TE1-F: TTGATTCGCCGCGTTTAACAT, TE1-R: CCTGTTTGTGATCTCGACGTTGT。

1.5 RNA 提取与荧光定量 PCR

分别对 5 个材料 3 个不同时期 (小花蕾、小花瓣和大花瓣时期) 的花瓣或花蕾组织 RNA 进行提取和反转录。取反转录产物 5 μL, 加超纯水稀释 80 倍, 分装到 1.5 mL 离心管中, 并按照品系和花瓣或花蕾组织编号。利用 AFD4800 定量 PCR 仪进行扩增, 扩增体系与程序参照 2×Master qPCR Mix-SYBR (+UDG) (货号: TSE203) 试剂盒说明书进行。

根据前人研究结果^[5, 22], 本研究针对类胡萝卜素合成和裂解路径上的 7 个基因进行定量分析, 其中 *PSY* 和 *LCYB* 是合成路径中的重要基因, *CCD4*、*CCD7*、*NCED3* 和 *NCED5* 是裂解路径中的基因, *ZEP* 是类胡萝卜素参与叶黄素循环过程的相关基因。除 *CCD4* 只分析 *BnaC3.CCD4* 基因的表达量外, 其他基因分析了基因组中所有同源序列的表达量。表达量的分析以 β -actin7 作为内参基因。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法进行相对表达量的计算。

1.6 数据处理与作图

数据采用 Excel 和 IBM SPSS 软件进行分析; 采用 GraphPad Prism 5 和 Photoshop 软件作图。

2 结果与分析

2.1 白花材料的花瓣表型

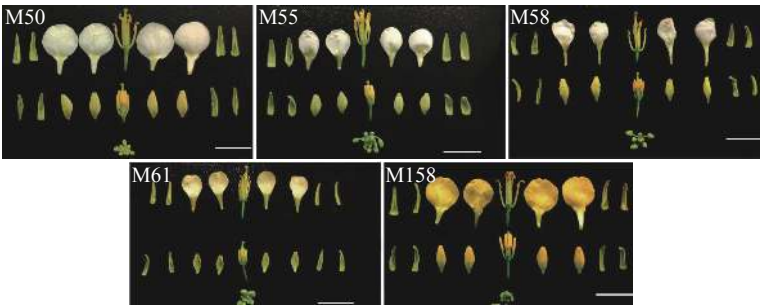
由图 1 可知: 黄花对照材料 (M158) 在花瓣发育早期就积累了丰富的类胡萝卜素, 花瓣完全展开时呈深黄色; M50、M55 和 M58 的表现基本相似, 花瓣在发育早期有一定的类胡萝卜素积累而呈浅黄色, 但在发育后期浅黄色消失, 花瓣变为白色; M61 的花瓣也表现类似的现象, 但最终盛开的花瓣上还表现出浅黄色。说明 4 种白花材料早期的类胡萝卜素合成路径基本正常, 但在花瓣发育过程中类胡萝卜素的积累出现了差异。

2.2 芸薹属植物的 CCD4 基因进化

白菜、拟南芥、芥菜和萝卜中均存在 *CCD4* 基因的同源蛋白序列, 该基因在生化过程中具有一定的基础功能, 在进化上具有一定的保守型。

在近缘物种中，甘蓝中的 XP013626299 序列与 *BnaC3.CCD4* 基因的亲缘关系最近。分析同源性较高的 39 条蛋白序列 (图 2) 可知：甘蓝型油菜和拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 有 6 条高度同源的蛋白序列，具备 CCD4 功能的序列有 16 条，其中，甘蓝型油菜 4 条，白菜 (*B. rapa*)、甘蓝 (*B.*

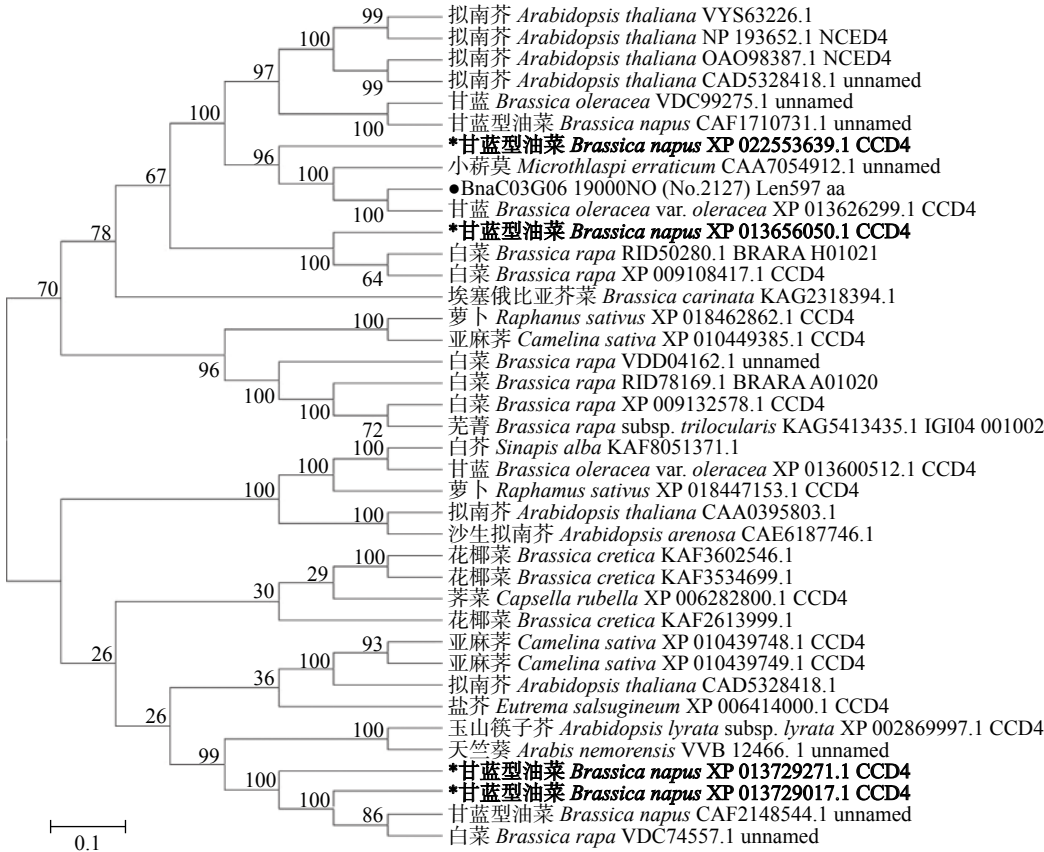
oleracea) 和萝卜 (*Raphanus sativus*) 各 2 条，亚麻芥 (*Camelina sativa*) 3 条，芥菜 (*Capsella rubella*)、盐芥 (*Eutrema salsugineum*) 和琴叶拟南芥 (*Arabidopsis lyrata*) 各 1 条。结果显示：在这 39 条序列中，甘蓝中的 1 个 CCD4 (XP013626299) 蛋白序列与目标蛋白的序列基本一致。



注：M50、M55、M58 和 M61 为白花材料，M158 为黄花材料；下同。
Note: M50, M55, M58 and M61 are white flower varieties, M158 is yellow flower variety; the same as below.

图 1 白花材料与黄花材料的花瓣表型 (标尺=1 cm)

Fig. 1 Phenotypes of petals of the white flower varieties and the yellow flower variety (scale bar=1 cm)



注：*. 具有 CCD4 预测功能的同源序列。
Note: *. The homologous sequences with CCD4 prediction function.

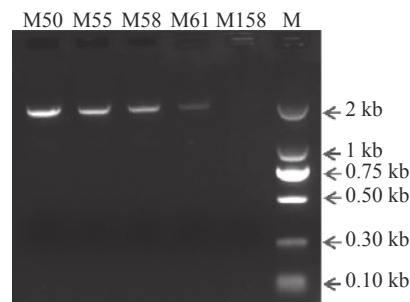
图 2 芸薹属 CCD4 基因的进化树

Fig. 2 Evolutionary tree of CCD4 in Brassicaceae

2.3 白花材料中 *CCD4* 基因的克隆与比对

BnaC3.CCD4 基因扩增结果 (图3) 显示: 4个白花材料均能扩增出专一的目标条带, 而黄花对照材料 M158 不能扩增出目标片段。由图4可知: 4个白花材料的序列完全一致, 且与人工合成白花材料 No. 2127 的 *CCD4* 基因序列完全一致, 说明白花的形成与功能性 *CCD4* 基因的存在一定关联。值得注意的是, C03 染色体上的 *CCD4* (*BnaC3.CCD4*) 序列与 A08 上的 *BnaA8.CCD4* 序列虽然具有一定的同源性, 但是在最终的蛋白质氨基酸序列上有一定的差异, 说明甘蓝型油菜 A08 染色体上的 *CCD4* 同源拷贝不具有明显的生物学功

能, 而 C03 上的同源拷贝才可发挥生物学功能。



注/Note: M. Marker; 下同/the same as below.

图3 白花材料与黄花材料 *BnaC3.CCD4* 基因的扩增结果

Fig. 3 PCR amplification result of *BnaC3.CCD4* in white and yellow flower varieties



注: No. 2127 和 A08.Ref 均为参考基因组。

Note: No. 2127 and A08.Ref are reference genome.

图4 白花材料 *BnaC3.CCD4* 的核苷酸序列

Fig. 4 Nucleotide sequence alignments of *BnaC3.CCD4* in white flower varieties

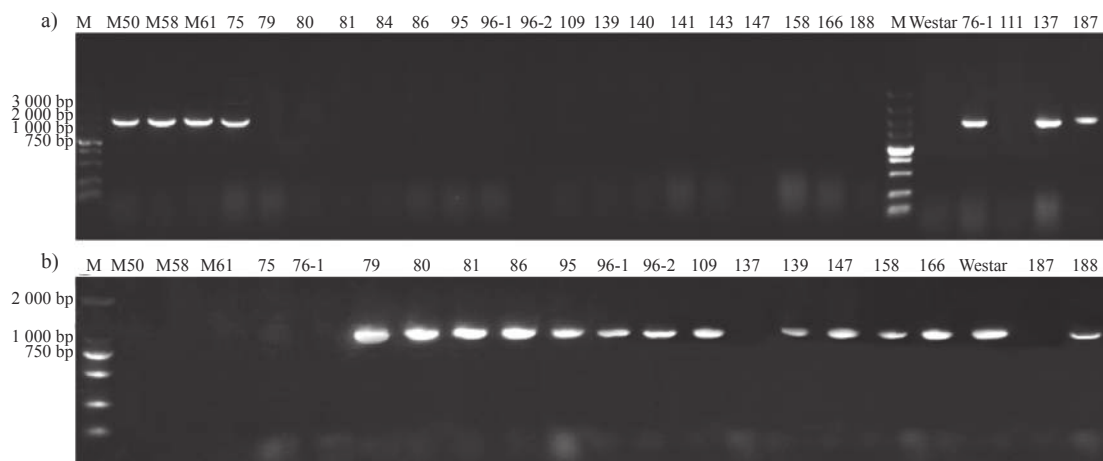
2.4 *BnaC3.CCD4* 的基因鉴定以及 TE1 转座子检测

BnaC3.CCD4 序列的特异引物检测结果 (图5a) 显示: 白花材料 M50、M58、M61 和 M137, 桃红花材料 75 和 76-1 以及黄花材料 187 均能扩增出目标条带。由图5b可知: 除黄花材料 187 外, 其他黄花材料中均检测到 TE1 序列, 而在白花和桃红花材料中没有检测到该特异序列。进一步对黄花材料 187 和桃红花材料 76-1 的目的基因 (*BnaC3.CCD4*) 测序比对发现: 76-1 中的目的基因与 M50 等白花材料一致, 而 187 的该基因虽然没有 TE1 插入, 但是在编码区存在几个碱基的转变而导致发生突变。以上结果说明桃红花材料中目的基因 *BnaC3.CCD4* 发挥了生物学功能, 黄花材

料 187 的 *BnaC3.CCD4* 基因发生了碱基突变, 而其他黄花材料中该目标基因由于转座子 TE1 的插入发生了突变。

2.5 类胡萝卜素代谢路径中部分基因的表达

由图6可知: 在小花蕾期, 黄花材料 M158 的类胡萝卜素合成基因 *PSY* 的表达量较低; 到小花瓣期, 已经明显观察到黄色形成 (图1), *PSY* 基因表达量显著增高, 其他降解和代谢路径继续保持较低水平; 到大花瓣期, *PSY* 基因表达量显著下降, 代谢路径的 *ZEP* 基因表达量显著增高, 降低了类胡萝卜素含量的积累速度, 但花瓣依然保持黄色。说明油菜黄花的形成主要是类胡萝卜素的积累, 即类胡萝卜素的生物合成大于其降解和代谢。



注: 79、80、81、84、86、95、96-1、96-2、109、111、139、140、141、143、147、158、166、187、188 和 Westar 为黄花材料; 75 和 76-1 为桃红花材料; 137 为白花材料。

Note: 79, 80, 81, 84, 86, 95, 96-1, 96-2, 109, 111, 139, 140, 141, 143, 147, 158, 166, 187, 188 and Westar are yellow flower varieties; 75 and 76-1 are peach red flower varieties; 137 is white flower variety.

图 5 不同材料中 *BnaC3.CCD4* (a) 和转座子 TE1 (b) 的检测结果

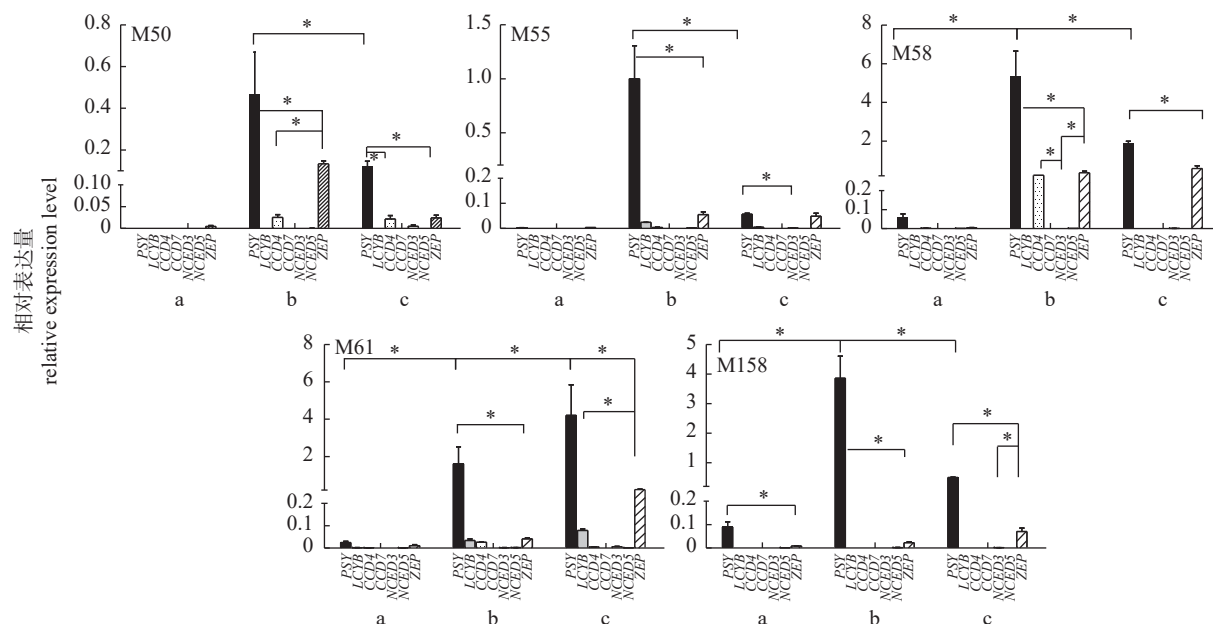
Fig. 5 Detection results of *BnaC3.CCD4* (a) and TE1 transposon (b) in different materials

不同时期白花材料不同基因的表达量也有所差异 (图 6)。对 M50 而言, 花瓣发育早期 7 个基因的表达量非常低; 小花瓣期, *PSY* 基因的表达量显著高于其他基因, 但此时 *ZEP* 基因和 *CCD4* 基因也具有较高的表达量; 大花瓣期, 合成路径的 *PSY* 基因表达量相对于小花瓣期显著降低, 但依然高于其他基因的表达量, *ZEP* 和 *CCD4* 基因仍有微弱的表达, 说明 M50 小花瓣期因类胡萝卜素部分降解故花瓣表现为浅黄色, 而大花瓣期类胡萝卜素合成显著减少、降解增多而表现为白色。对 M55 而言, 花瓣发育早期基因表达量极低; 小花瓣期 *PSY*、*LCYB* 和 *ZEP* 基因有所表达, 但 *PSY* 表达量处于绝对优势; 大花瓣期, *PSY* 表达量显著下降, *ZEP* 基因仍然具有较高水平的表达, 说明 M55 的小花瓣期存在其他基因参与了类胡萝卜素的降解和代谢使得花瓣表现为浅白色, 到大花瓣期合成基因表达量极显著减少而表现为白色。对 M58 而言, 花瓣发育早期 *PSY* 基因有微弱表达; 小花瓣期 *PSY*、*CCD4* 和 *ZEP* 基因具有较高的表达量, 且 *PSY* 表达量显著高于其他基因; 大花瓣期, *PSY* 表达量虽然下降显著, 但仍然显著高于其他基因, *ZEP* 的表达量也显著高于其他基因, 表明其白花的形成可能是由于 *CCD4* 裂解基因和 *ZEP* 基因的高表达, 导致类胡萝卜素不能大量积累。对 M61 而言, 花瓣发育早期 7 个基因表达量均很低, 小花瓣

期, *PSY* 基因表达量较其他基因显著升高, *LCYB*、*CCD4* 和 *ZEP* 基因也有所表达; 大花瓣期, *PSY*、*LCYB* 和 *ZEP* 基因的表达量较小花瓣期显著提高, 但 *PSY* 和 *ZEP* 基因的表达量仍显著高于 *LCYB* 等基因, 表明 M61 小花瓣期类胡萝卜素合成大于降解从而表现为浅黄色, 到大花瓣期类胡萝卜素含量维持在较低水平, 推测还存在其他降解或代谢路径的基因发挥作用, 导致其花瓣表现为浅白色。

3 讨论

CCD4 基因序列在十字花科近缘物种中具有较高的同源性。有研究以拟南芥 *AtCCD* 基因的编码区序列为依据, 在甘蓝型油菜中找到 30 个 *CCD* 的位点, 其中 14 个位于 A 亚基因组, 16 个位于 C 亚基因组; 这些同源序列可分化为 9 大亚群, 而且具有不同的组织或器官表达特异性^[23]。此外, 甘蓝型油菜中有 4 条 *CCD4* 基因的同源序列, 分别是 *BnaA1.CCD4*、*BnaC1.CCD4*、*BnaA8.CCD4* 和 *BnaC3.CCD4*, 其中 C03 染色体上的 *CCD4* 基因主要在花瓣中表达, 其他染色体上的 *CCD4* 基因优先在光合作用的组织和器官中表达^[10]。本研究表明: 白菜、甘蓝和萝卜中具有与 *BnaC3.CCD4* 基因同源的多条序列, 甘蓝中的同源序列与之亲缘关系最近, 而在甘蓝型油菜的基因组中也具有 4 条同源序列。虽然存在一定的功



注: a. 小花蕾期, b. 小花瓣期, c. 大花瓣期; “*”表示在 0.05 水平上差异显著。

Note: a. little buds period, b. little petals period, c. blooming petals period; “*” indicates significant differences at 0.05 level.

图6 不同材料3个时期相关基因的表达

Fig. 6 Expression of relative genes at three periods in different materials

能冗余, 但 *BnaC3.CCD4* 基因主要在花瓣中表达, 是与花色相关的主要基因, 能够以胡萝卜素为底物裂解产生 α -紫罗酮和脱辅基类胡萝卜素, 从而改变花色^[11, 22]。值得注意的是, 本研究中2个桃红花材料的基因组中也存在 *BnaC3.CCD4* 基因, 推测桃红花材料的该基因位点处于杂合状态, 且在育种过程中利用了含该基因的白花材料作为上一代亲本, 以便于色素的积累与观察。

有研究发现: 在甘蓝、埃塞俄比亚芥菜和甘蓝型油菜中均发现不同的单倍型 *C3.CCD4* 基因具有不同的突变类型^[10]。甘蓝中具有4种突变类型, 包括转座子插入、碱基插入和序列缺失等, 最终导致黄花, 而很多甘蓝型油菜黄花材料的产生是由于 *CCD4* 基因存在 TE1 转座子的插入^[10]。本研究显示: 黄花材料 187 也能扩增出与野生型长度相似的 *CCD4* 片段, 说明该黄花材料中 *CCD4* 基因的突变并不是由于 TE1 转座子的插入, 因此, 本研究发现了1种新的 *CCD4* 单倍型类型, 最终使其没有降解类胡萝卜素的功能。

类胡萝卜素分解代谢路径增强是本研究中白花材料形成的主要因素。已有研究表明: *PSY*、*LCYB* 和 *ZEP* 等基因在胡萝卜素及其叶黄素等衍生物的合成路径中发挥着重要作用, *NCED* 基因

主要在类胡萝卜素代谢产生脱落酸中发挥重要作用, 而 *CCDs* 基因主要在其降解上发挥重要作用^[19-20]。不同时期油菜花瓣的类胡萝卜素含量不同, 在即将开花前或花蕾早期达到顶峰^[22], 这与本研究结果基本一致。小花瓣期, M50、M55、M58 和 M158 材料的 *PSY* 基因相对表达量达到最大, 说明此时类胡萝卜素的合成大于分解, 处于积累阶段; 大花瓣期, M61 材料的 *PSY* 和 *LCYB* 基因高表达说明仍然存在一定量的类胡萝卜素积累, 但花瓣整体上仍呈浅白色, 需要进一步研究 M61 材料中究竟还存在哪些降解路径基因的高效表达。总之, 白色花瓣的形成与类胡萝卜素的分解、转化等代谢路径密切相关, 并非合成路径发生明显改变, 这与前人研究认为 *PSY* 基因的表达差异影响花色^[5]不一致, 可能是因为白花材料类型比较丰富, 产生的途径和机制存在一定差异。此外, 白花材料在代谢物和转录水平上的差异也是下一步研究的方向。

4 结论

BnaC3.CCD4 蛋白在十字花科中具有较多的同源序列, 与甘蓝中的1个蛋白质序列亲缘关系最近。供试4种白花材料的 *BnaC3.CCD4* 基因序

列完全一致, 均不存在 TE1 转座子插入, 白色花瓣的形成与类胡萝卜素降解路径和代谢路径上的基因表达量密切相关, 其中 *BnaC3.CCD4* 和 *ZEP* 基因发挥了一定的作用。

[参考文献]

- [1] SONG J M, GUAN Z L, HU J L, et al. Eight high-quality genomes reveal pan-genome architecture and ecotype differentiation of *Brassica napus*[J]. *Nature Plants*, 2020, 6(1): 34. DOI: [10.1038/s41477-019-0577-7](https://doi.org/10.1038/s41477-019-0577-7).
- [2] 魏超, 王美容, 刘骥骥, 等. 中国多功能油菜利用的研究现状与前景分析[J]. *肇庆学院学报*, 2021, 42(5): 59. DOI: [10.3969/j.issn.1009-8445.2021.05.011](https://doi.org/10.3969/j.issn.1009-8445.2021.05.011).
- [3] 蒲晓斌, 冯林, 张德发, 等. 彩花油菜研究现状及进展[J]. *四川农业科技*, 2020(1): 11. DOI: [10.3969/j.issn.1004-1028.2020.01.004](https://doi.org/10.3969/j.issn.1004-1028.2020.01.004).
- [4] YIN N W, WANG S X, JIA L D, et al. Identification and characterization of major constituents in different-colored rapeseed petals by UPLC-HESI-MS/MS[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2019, 67(40): 11053. DOI: [10.1021/acs.jafc.9b05046](https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b05046).
- [5] 吴宁柔, 韦云婷, 官梅. 甘蓝型油菜不同花色转录组分析[J]. *分子植物育种*, 2018, 16(22): 7234. DOI: [10.13271/j.mpb.016.007234](https://doi.org/10.13271/j.mpb.016.007234).
- [6] 阴长发, 官春云. 油菜花色研究进展[J]. *作物研究*, 2013(4): 403. DOI: [10.3969/j.issn.1001-5280.2013.04.27](https://doi.org/10.3969/j.issn.1001-5280.2013.04.27).
- [7] 朱吉凤, 张俊英, 杨立勇, 等. 甘蓝型油菜基因组与花色遗传研究进展[J]. *作物研究*, 2019, 33(1): 77. DOI: [10.16848/j.cnki.issn.1001-5280.2019.0118](https://doi.org/10.16848/j.cnki.issn.1001-5280.2019.0118).
- [8] HAN F Q, YANG C, FANG Z Y, et al. Inheritance and InDel markers closely linked to petal color gene (*cpc-1*) in *Brassica oleracea*[J]. *Molecular Breeding*, 2015, 35(8): 160. DOI: [10.1007/s11032-015-0354-x](https://doi.org/10.1007/s11032-015-0354-x).
- [9] XU X M, LUO W L, GUO J X, et al. Fine mapping and candidate gene analysis of the yellow petal gene *ckpc* in Chinese kale (*Brassica oleracea* L. var. *alboglabra* Bailey) by whole-genome resequencing[J]. *Molecular Breeding*, 2019, 39(7): 96. DOI: [10.1007/s11032-019-1011-6](https://doi.org/10.1007/s11032-019-1011-6).
- [10] ZHANG B, LIU C, WANG Y Q, et al. Disruption of a CAROTENOID CLEAVAGE DIOXYGENASE 4 gene converts flower colour from white to yellow in *Brassica* species[J]. *New Phytologist*, 2015, 206(4): 1513. DOI: [10.1111/nph.13335](https://doi.org/10.1111/nph.13335).
- [11] JIA L D, WANG J S, WANG R, et al. Comparative transcriptomic and metabolomic analyses of carotenoid biosynthesis reveal the basis of white petal color in *Brassica napus*[J]. *Planta*, 2021, 253(1): 8. DOI: [10.1007/s00425-020-03536-6](https://doi.org/10.1007/s00425-020-03536-6).
- [12] ZHANG X X, LI R H, CHEN L, et al. Fine-mapping and candidate gene analysis of the *Brassica juncea* white-flowered mutant *Bjpc2* using the whole-genome resequencing[J]. *Molecular Genetics & Genomics*, 2017, 293(2): 359. DOI: [10.1007/s00438-017-1390-5](https://doi.org/10.1007/s00438-017-1390-5).
- [13] ZHANG N, CHEN L, MA S, et al. Fine mapping and candidate gene analysis of the white flower gene *Brwf* in Chinese cabbage (*Brassica rapa* L.)[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10(1): 6080. DOI: [10.1038/s41598-020-63165-7](https://doi.org/10.1038/s41598-020-63165-7).
- [14] YANG S J, TIAN X X, WANG Z Y, et al. Fine mapping and candidate gene identification of a white flower gene *BrWF3* in Chinese cabbage (*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis*) [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2021, 12: 646222. DOI: [10.3389/fpls.2021.646222](https://doi.org/10.3389/fpls.2021.646222).
- [15] ZHAO C J, SAFDAR L B, XIE M L, et al. Mutation of the *PHYTOENE DESATURASE 3* gene causes yellowish-white petals in *Brassica napus*[J]. *The Crop Journal*, 2021, 9(5): 1124. DOI: [10.1016/j.cj.2020.10.012](https://doi.org/10.1016/j.cj.2020.10.012).
- [16] 陈雪, 王瑞, 井付钰, 等. 基于二代测序的甘蓝型油菜白花基因候选区间定位及连锁标记验证[J]. *中国农业科学*, 2020, 53(6): 1108. DOI: [10.3864/j.issn.0578-1752.2020.06.003](https://doi.org/10.3864/j.issn.0578-1752.2020.06.003).
- [17] ZHANG X X, LI R H, LI C, et al. Inheritance and gene mapping of the white flower trait in *Brassica juncea*[J]. *Molecular Breeding*, 2018, 38(2): 20. DOI: [10.1007/s11032-017-0771-0](https://doi.org/10.1007/s11032-017-0771-0).
- [18] LIU D M, WEI X C, SUN D L, et al. An SNP mutation of gene *RsPP* converts petal color from purple to white in radish (*Raphanus sativus* L.)[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2021, 12: 643579. DOI: [10.3389/fpls.2021.643579](https://doi.org/10.3389/fpls.2021.643579).
- [19] 陆晨飞, 刘钰婷. 类胡萝卜素代谢调控与植物颜色变异[J]. *北方园艺*, 2016, 40(16): 193. DOI: [10.11937/bfyy.201616049](https://doi.org/10.11937/bfyy.201616049).
- [20] 张宁. 大白菜橙花和白花基因克隆及其形成的分子机理研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2019.
- [21] QU C M, ZHAO H Y, FU F Y, et al. Molecular mapping and QTL for expression profiles of flavonoid genes in *Brassica napus*[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2016, 7: 1691. DOI: [10.3389/fpls.2016.01691](https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01691).
- [22] 曾德志, 郭世星, 张星星, 等. 甘蓝型油菜花瓣发育过程中类胡萝卜素含量变化[J]. *广东农业科学*, 2015, 42(21): 25. DOI: [10.16768/j.issn.1004-874x.2015.21.021](https://doi.org/10.16768/j.issn.1004-874x.2015.21.021).
- [23] ZHOU X T, JIA L D, DUAN M Z, et al. Genome-wide identification and expression profiling of the carotenoid cleavage dioxygenase (*CCD*) gene family in *Brassica napus* L.[J]. *PLoS One*, 2020, 15(9): e0238179. DOI: [10.1371/journal.pone.0238179](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0238179).

责任编辑: 何馨成