

油菜原花色素合成途径基因的克隆及进展

刘忠松^a, 孙东红^b, 刘显军^a, 官春云^a

(湖南农业大学 a.油料作物研究所; b.生物科学技术学院, 湖南 长沙 410128)

摘要:原花色素是类黄酮生物合成途径的终端产物,其基因调控网络在拟南芥、葡萄等基因组已经测序的植物中得到充分阐释。种皮中原花色素的积累与种子颜色、种子休眠和寿命有关。油菜种皮中原花色素的积累决定种皮颜色,同时影响种子的油分含量。本文综述了通过图位克隆、同源克隆和电子克隆等途径克隆油菜原花色素合成途径基因的进展,分析了在油菜中已经克隆的部分原花色素合成途径基因与种皮颜色的关系,提出了如何利用已经公开的油菜、白菜基因组序列通过筛选 BAC 文库得到基因不同拷贝的全长序列的综合路径,列举了笔者运用该方法已经克隆的部分原花色素合成途径基因拷贝数,以期揭示油菜原花色素形成积累的基因调控网络。

关键词:油菜;原花色素合成;基因克隆

中图分类号: S565.4; Q781 文献标志码: A 文章编号: 1007-1032(2012)04-0354-06

Advance in cloning of genes for proanthocyanidin biosynthesis from oilseed *Brassica* species

LIU Zhong-song^a, SUN Dong-hong^b, LIU Xian-jun^a, GUAN Chun-yun^a

(a.Oil Crop Research Institute; b.College of Bioscience and Biotechnology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

Abstract: Proanthocyanidins are the end products of flavonoid biosynthesis and the gene regulatory network of flavonoid biosynthesis has been fully uncovered in such species as *Arabidopsis thaliana* and grape whose genome has been sequenced. The accumulation of proanthocyanidins in seed coat is associated with seed color, seed dormancy and seed longevity and influences color and oil content of oilseed *Brassica* seeds. This review summarized progress in cloning of genes for proanthocyanidin biosynthesis by map-based cloning, homology cloning or by *in silico* cloning, analyzed the relationship between cloned genes for proanthocyanidin biosynthesis and seed coat color in oilseed *Brassica* species, proposed a new comprehensive approach to obtain full-length sequence of various gene copies by screening of bacterial artificial chromosome(BAC) library using publicly released genome sequences of *Brassica napus* and *B. rapa* and listed the copies of genes for proanthocyanidin biosynthesis cloned by the authors using the proposed method in order to uncover the gene regulatory network for proanthocyanidin accumulation in oilseed *Brassica* species.

Key words: *Brassica*; proanthocyanidin biosynthesis; gene cloning

种皮中原花色素的积累与种子的颜色、休眠和寿命有关。原花色素(PA)是类黄酮生物合成途径一个分支的末端产物,其合成涉及类黄酮生物合成途径的一系列酶促反应,其中,查尔酮合成酶(CHS)是PA合成途径中的第1个酶,也是限速酶,在它的作用下将1分子香豆酰辅酶A与3分子丙二酰辅酶A合成为1分子四羟基查尔酮,然后依次被查尔酮异

构酶(CHI)、黄烷酮3-羟化酶(F3H)、类黄酮3'-羟化酶(F3'H)、二氢黄酮醇-4-还原酶(DFR)、花青素合成酶(ANS)、花青素还原酶(ANR)催化,历经柚皮素、黄烷酮醇、无色花青素、花青素,最后生成表儿茶素。以上反应都是在细胞质中发生的。随后由谷胱甘肽-S-转移酶(TTI9基因编码)及位于液泡膜上的MATE家族蛋白(TTI2基因编码)将表儿茶素跨

收稿日期: 2012-03-29

基金项目: 国家自然科学基金项目(31101176); 教育部博士点专项科研基金项目(200805370003); 湖南省研究生科研创新基金项目(CX2010B307)

作者简介: 刘忠松(1963—), 男, 湖南常宁人, 博士, 教授, 主要从事油菜遗传育种研究, zslu48@sohu.com

膜转运到液泡中。此时的表儿茶素还是单体,当它被聚合并由漆酶(*TT10*基因编码)氧化后便成为有颜色的PA聚合物^[1]。在拟南芥、葡萄等植物中,PA合成涉及许多基因,包括结构基因、转录因子基因和转运蛋白基因,其中*TT2*、*TT8*、*TT9*、*TT10*、*TT12*、*TT15*基因的突变只影响种皮的颜色,但也有部分基因还与其他性状有关,如*TTG1*、*TTG2*基因与植株表面的毛状体发育有关^[2]; *TT1*(WIP锌指蛋白基因)、*TT16*基因通过调控种皮细胞发育,既决定种皮色素的合成,也影响种皮厚度和种皮木质素的含量^[3-4]。

油菜的种皮颜色由原花色素决定,黄籽油菜比黑籽油菜种皮薄,油分含量高,无原花色素^[5-6]。研究油菜中控制原花色素合成的相关基因,对于揭示油菜种皮颜色形成的分子机理具有重要意义。近年来,油菜原花色素合成途径基因的定位、克隆研究十分活跃,也取得较大进展。笔者综述用不同方法克隆油菜原花色素合成途径基因所取得的进展,并针对最近公布的甘蓝型油菜(*Brassica napus*)转录组和白菜(*B. rapa*)基因组序列草图,提出利用基因组序列信息进行综合途径克隆的技术路线。

1 图位克隆原花色素合成途径基因

图位克隆是根据遗传连锁分析,通过染色体步移将基因定位到染色体的一个具体区域,进而克隆控制某性状的未知基因的方法。Zhang等^[7]运用图位克隆方法克隆了白菜A6染色体上*TTG1*基因拷贝,序列分析发现,无毛、黄籽双单倍体(DH)系与有毛、黑籽DH系相比,*TTG1*基因有94 bp的缺失,且位于外显子区域,从而导致*TTG1*功能丧失;将从黄籽和黑籽品系中克隆的*TTG1*基因分别转入拟南芥*TTG1*突变体中,只有黑籽的*TTG1*基因能恢复拟南芥的表型缺陷。

图位克隆的关键在于目标基因的精细定位。Zhang等^[7]在克隆*TTG1*基因时所用的标记是通过比对拟南芥序列设计引物,运用染色体步移找到最近的标记。Lipsa等^[8]运用同样的比较基因组学策略,用甘蓝型油菜黄籽与黑籽品系杂交构建的DH群体进行遗传定位,结果发现与拟南芥*TT1*基因紧密连锁的SSR标记Bntt1被定位在C1染色体。随着油菜DNA标记数量的迅速增加,精细定位基因已经成为可能。刘显军等^[5]以芥菜型油菜(*B. juncea*)2个BC₆F₂群体为作图群体,将控制种皮颜色的2个基因位点分别定位到A9和B3连锁群,前者距两侧标记

SCM08和Ni4-C09分别为0.5 cM和1.6 cM,后者距两侧标记CB10298和S1096-700分别为0.8 cM和3.3 cM,并且通过比较作图分析认为,A9连锁群上控制种皮颜色的基因在芸薹属植物中是保守的;进一步利用含5 434株的BC₈F₂群体对A9连锁群上控制种皮颜色基因的位点进行精细定位,将目标基因锁定在0.1 cM范围内(刘显军等,结果待发表)。此外,运用基因标记进行遗传定位,Panjabi等^[9]将*TT3*和*TT8*基因分别定位在芥菜型油菜A9和B3染色体上,Zhao等^[10]在甘蓝型油菜中将*TT4*基因定位在C9染色体上,Li等^[11]利用EST和BAC序列设计引物,定位了白菜*TT3*、*TT6*、*TTG1*等5个原花色素合成途径基因, Kim等^[12]根据白菜已测序的BAC开发标记,将188个BAC锚定在白菜连锁图上,将这188个BAC序列与拟南芥序列比对后发现30个共线性区域,其中包括*TT4*、*TT6*、*TT12*原花色素合成途径基因。

2 同源克隆原花色素合成途径基因

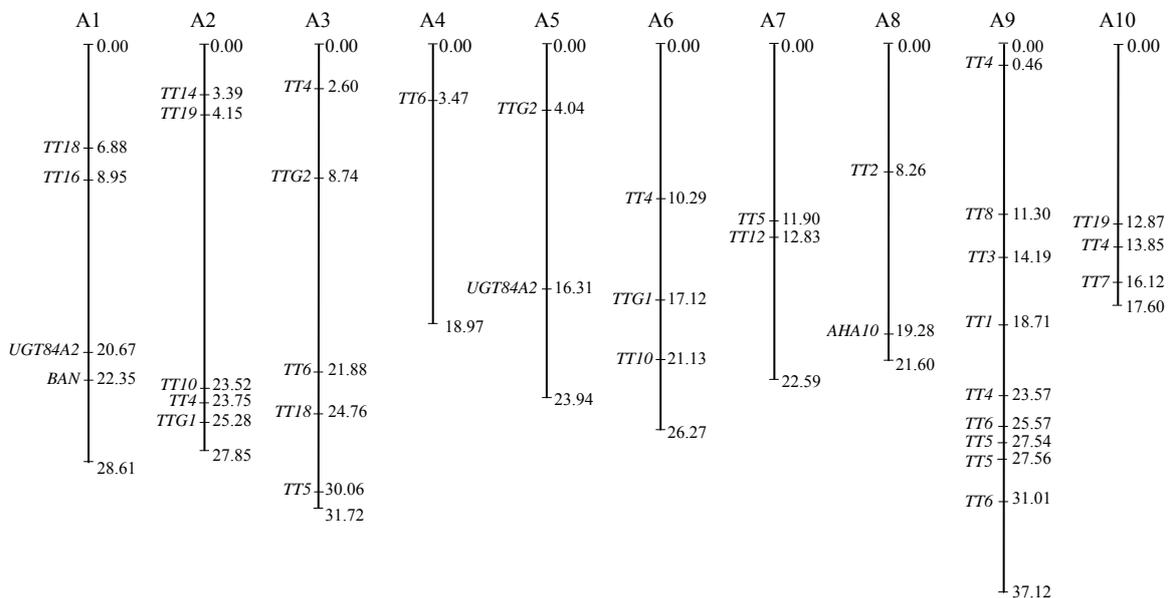
同源克隆是根据已在近缘植物中克隆的同源基因的序列设计引物进行基因克隆的方法。该方法具有快速、简便的优点。严明理等^[13-14]根据拟南芥同源基因序列设计引物,从芥菜型油菜中克隆了21个类黄酮合成途径基因的26个基因拷贝,其中*TT4*基因有3个拷贝,*TT5*基因有2个拷贝,其他基因各获得1个拷贝,表达分析表明,*TT3*、*TT18*基因在紫叶芥(黑籽材料)的叶片、胚和种皮以及四川黄籽(黄籽材料)的叶片、胚中都有表达,但在四川黄籽的种皮中不表达,认为*TT3*、*TT18*基因是油菜种皮颜色遗传调控网络中的关键基因^[15]。四川黄籽和紫叶芥的*TT1*基因序列之间存在差异,但这些变异都不在其编码的锌指蛋白结构域内,且*TT1*基因在四川黄籽及紫叶芥的种皮中都有表达,因而认为*TT1*基因不是导致芥菜型油菜种皮颜色变化的关键基因^[16]。在甘蓝型油菜中,*TT7*基因可能有2个拷贝^[17], Xu等使用rapid-amplification of cDNA ends(RACE)技术克隆了其中1个拷贝,Northern杂交证明该拷贝在花中的表达量最高,其次是在角果与种子,在其他器官的表达量较低,但RT-PCR分析表明,甘蓝型油菜近等基因系L1和L2的种皮颜色差异不是由*TT7*基因的表达引起的。Wei等^[18]从甘蓝型油菜中克隆出*TT2*基因所有3个拷贝,RT-PCR分析结果表明,其中的*BnTT2-2*拷贝在种子中的表达最高,与拟南芥不同的是该拷贝还在根中有表达,另外2个拷贝

*BnTT2-1*和*BnTT2-3*的表达量相对较低,且无组织特异性。在甘蓝型油菜种皮颜色近等基因系L1和L2中含有相同的*TT2*基因,因此认为近等基因系L2中的黄籽性状可能是由*TT2*以外的基因位点所引起的。Chai等^[19]从甘蓝型油菜中克隆了*TT12*基因的2个拷贝,并从甘蓝型油菜祖先种甘蓝(*B. oleracea*)和白菜各得到1个拷贝,这些拷贝在种子中的表达量均最高, Southern杂交及共线性分析证明,白菜和甘蓝的*TT12*基因均是甘蓝型油菜*TT12*基因的祖先。Auger等^[4]在甘蓝型油菜中克隆了*BAN*基因的4个拷贝,其中2个拷贝分别被定位在A1和C1染色体上。*BAN*基因启动子的激活具有空间特异性,只在种皮的最内层及合点、珠孔处被激活,通过遗传转化及功能互补验证了这4个拷贝都可以恢复拟南芥*BAN*基因突变体的表型缺陷,同时拟南芥*BAN*基因的启动子可以在甘蓝型油菜中被激活^[20]。

3 电子克隆原花色素合成途径基因

电子克隆是基于表达序列标签或同源基因序列快速克隆基因的新技术,其关键在于利用生物信息技术组装延伸ESTs或基因组序列,获得基因全

长序列。随着甘蓝型油菜转录组序列图的发表^[21]、白菜基因组序列草图的相继公布^[22]以及EST数据库的逐渐丰富,根据基因序列信息克隆芸薹属植物同源基因将更加方便、快捷。Mun等^[23]对白菜A3染色体进行共线性分析和基因注释,发现在A3染色体上存在*TT4*、*TT7*、*TT18*和*TTG2*基因。笔者在TAIR网站下载拟南芥原花色素生物合成途径基因序列后,在白菜网站(<http://brassicadb.org/brad/>)进行BLAST比对(*E*值 $1E-10$,相似度 80%,覆盖度 75%),得到各基因所在染色体的位置,并运用软件GGT2作图,白菜A基因组原花色素合成途径基因所在染色体位置见图1。虽然电子克隆技术在原花色素合成途径基因克隆上的应用刚刚起步,但在其他基因的克隆上已经广泛采用,如Zang等^[24]、Wang等^[25]采用电子克隆方法分别克隆了白菜的56和102个硫代葡萄糖苷合成途径基因,且这些基因与拟南芥的同源基因有相同的剪接方式,Kong等^[26]在甘蓝型油菜中克隆了反向转运蛋白基因*BnNHX6*,说明电子克隆是一种有效、可靠的克隆方法。



10条直线代表A基因组的10条染色体;每条染色体的左侧为基因名称,右侧数字为各基因在染色体上的位置(Mbp)。

图1 白菜(A基因组)原花色素生物合成途径基因所在染色体位置

Fig.1 Chromosomal position of genes for proanthocyanidin biosynthesis in *Brassica rapa* with A genome

4 油菜原花色素合成途径基因拷贝数分析

由于在进化过程中基因丢失等原因,油菜等芸薹属植物基因的拷贝数往往比比较基因组学预期的6个拷贝要少^[25,27-29],这一点在原花色素合成途径基

因上得到证实,如白菜除*TT4*有6个拷贝、*TT5*和*TT6*各有4个拷贝外,其他基因只有1个或2个拷贝(图1)。Lotz等^[30]用Southern杂交筛选BAC文库,预测异源四倍体的甘蓝型油菜*TT4*基因有10个以上拷贝,*TT1*和

*TT5*有4个以上拷贝,但研究表明,甘蓝型油菜*BAN*基因只有4个拷贝^[4],*TT2*基因只有3个拷贝^[18],*TT3*^[31]和*TT12*基因^[19]各只有2个拷贝。异源四倍体的芥菜型油菜原花色素合成途径基因各有多少拷贝尚不清

楚,应采用Southern杂交等方法进行分析。表1汇总了油菜中已克隆的原花色素合成途径基因,对比电子克隆(图1)、Lotz等^[30]的预测结果,发现*TT4*、*TT5*、*TT6*等多个基因仍未能克隆全部拷贝。

表 1 油菜、甘蓝及白菜中已克隆的原花色素合成途径基因或登录号

Table 1 Cloned genes for proanthocyanidin biosynthesis from *Brassica rapa*, *B. oleracea*, *B. napus* and *B. juncea* and their Genbank accession numbers

基因类型	基因	白菜	甘蓝	甘蓝型油菜	芥菜型油菜	
结构基因	<i>TT3</i> /DFR	AY953249.1	AY228487	DQ767950.1	EF128034.1 ^{b[15]} DQ363857.1	
	<i>TT4</i> /CHS	EF101136 ^{b[32]} EF370482 ^{b[32]} GQ983031.1	EF408921 GQ983032.1	GQ983005.1	<i>BJTT4-1</i> ^{b[13]} <i>BJTT4-2</i> ^{b[13]} <i>BJTT4-3</i> ^{b[13]} EF408926 GQ983004.1	
	<i>TT5</i> /CHI	EU402416.1			<i>BJTT5-1</i> ^{b,e[13]} <i>BJTT5-2</i> ^{b,e[13]} <i>BJTT5-3</i> ^d <i>BJTT5-4</i> ^d <i>BJTT5-5</i> ^d	
	<i>TT6</i> /F3H	DQ167185.1		DQ288238.1 DQ513328.1	DQ986946.1 ^c <i>BJTT6-1</i> ^d <i>BJTT6-2</i> ^d <i>BJTT6-3</i> ^d <i>BJTT6-4</i> ^d	
	<i>TT7</i> /F3'H	EU402420.1		DQ324378 ^{b[17]} DQ324379 ^{b[17]}		
	<i>TT10</i>	HM805064.1 HM805068.1 HM805066.1	HM805070.1 HM805072.1	HM805058.1 HM805060.1 HM805062.1		
	<i>TT18</i> /ANS	EU402414.1	AY228485.1		EU927146.1 ^{e[33]} <i>BJANS-1</i> ^d <i>BJANS-2</i> ^d <i>BJANS-3</i> ^d	
	<i>BAN</i>	FJ938339 ^[4] FJ938340 ^[4]	AF320985 ^[34] FJ938337 ^[4] FJ938338 ^[4]	FJ938333 ^{c[4]} FJ938334 ^{c[4]} FJ938335 ^{c[4]} FJ938336 ^{c[4]}	<i>BJBAN-1</i> ^d <i>BJBAN-2</i> ^d DQ363856.1	
	转录因子基因	<i>TT1</i>				<i>BJTT1-1</i> ^{b,e[16]} <i>BJTT1-2</i> ^d
		<i>TT2</i>			DQ778643 ^{b[18]} DQ778644 ^{b[18]} DQ778645 ^{b[18]}	<i>BJTT2-1</i> ^d <i>BJTT2-2</i> ^d
		<i>TT8</i>	HQ337791.1	GU219990.1	EU192027.1	
		<i>TT16</i>			EU192028.1 EU192029.1	
		<i>TTG1</i>	EF434562 ^{a[7]}	GU219991.1	EF175929.1 ^{b[35]} EF175931.1 ^{b[35]}	
<i>TTG2</i>				FJ012166.1		
转运蛋白类基因	<i>TT12</i>	EU818788 ^{b[19]}	EU818790 ^{b[19]}	EU818784 ^{b[19]} EU818786 ^{b[19]}		
	<i>TT19</i>				<i>BJTT19-1</i> ^d <i>BJTT19-2</i> ^d <i>BJTT19-3</i> ^d	

a 通过图位克隆方法得到的拷贝; b 通过同源克隆方法得到的拷贝; c 通过筛选 BAC 文库得到的拷贝; d 作者克隆的尚未公布的基因拷贝; e 作者克隆的基因与 NCBI GenBank 已有的序列为同一拷贝(本次 BLAST 日期为 2011 年 11 月 14 日); 芥菜型油菜中部分基因拷贝未录入 NCBI 库, 采用基因名称(斜体)标注。

鉴于白菜基因组序列及大量的表达序列标签数据库BrEMD及mRNA序列的公布,可运用电子克隆方法预测油菜每个基因的所有拷贝,并建立电子表达分析平台,预测所得拷贝是否表达^[22]。此外,还可将电子克隆技术和BAC文库筛选等同源克隆

技术相结合,快速克隆基因的所有拷贝(图2)。笔者采用该方法对芥菜型油菜原花色素合成途径基因进行BAC文库筛选,已获得TT1和TT2基因各2个拷贝,TT19基因3个拷贝,TT18基因4个拷贝,TT5和TT6基因各5个拷贝(表1)。

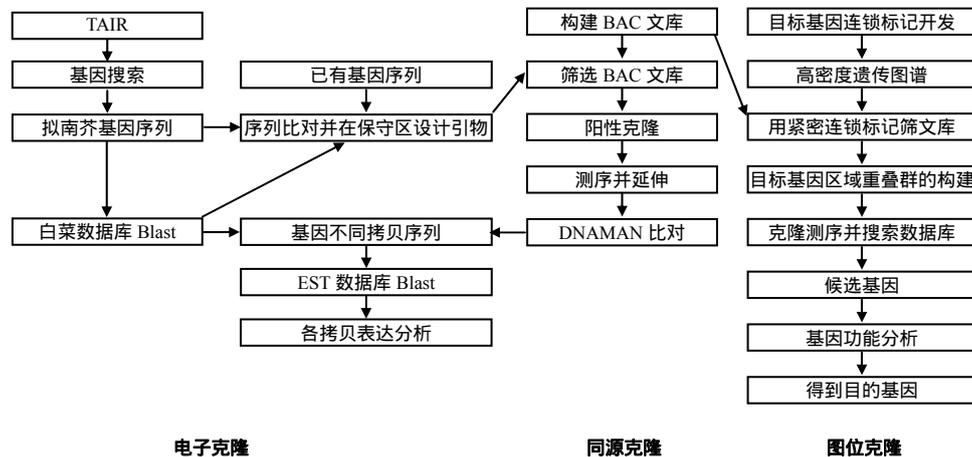


图2 油菜原花色素生物合成途径基因克隆流程

Fig.2 A flow chart for cloning of genes for proanthocyanidin biosynthesis from oilseed *Brassica* species

5 展望

虽然油菜原花色素合成途径多数基因的全部或部分拷贝已被克隆,但在油菜种皮颜色的调控过程中,哪个基因调控种皮颜色还没有定论。将图位克隆与同源克隆、电子克隆等多种克隆方法有效结合,并通过油菜黄籽、黑籽材料的序列比对和表达分析等手段来阐释候选基因,通过遗传互补分析候选基因的功能,同时采用酵母单杂、双杂技术揭示油菜中原花色素合成途径各基因的相互关系,将成为后续研究的重点。

参考文献:

- [1] Johnson C S, Kolevski B, Smyth D R, et al. *TRANSPARENT TESTA GLABRA2*, a trichome and seed coat development gene of *Arabidopsis*, encodes a wrky transcription factor[J]. *Plant Cell*, 2002, 14(6): 1359–1375.
- [2] Auger B, Baron C, Lucas M O, et al. *Brassica* orthologs from *BANYULS* belong to a small multigene family, which is involved in procyanidin accumulation in the seed[J]. *Planta*, 2009, 230(6): 1167–1183.
- [3] Sagasser M, Lu G H, Hahlbrock K, et al. *A. thaliana* *TRANSPARENT TESTA1* is involved in seed coat development and defines the WIP subfamily of plant zinc

finger proteins[J]. *Genes and Development*, 2002, 16: 138–149.

- [4] Nesi N, Debeaujona I, Jonda C, et al. The *TRANSPARENT TESTA 16* locus encodes the ARABIDOPSIS BSISTER MADS domain protein and is required for proper development and pigmentation of the seed coat[J]. *Plant Cell*, 2002, 14(10): 2463–2479.
- [5] 刘显军, 袁谋志, 官春云, 等. 芥菜型油菜黄籽性状的遗传、基因定位和起源探讨[J]. *作物学报*, 2009, 35(5): 839–847.
- [6] 陆赢, 刘忠松. 油菜原花色素形成与种皮颜色的关系[J]. *作物研究*, 2009, 23(5): 328–331.
- [7] Zhang J F, Lu Y, Yuan Y X, et al. Map-based cloning and characterization of a gene controlling hairiness and seed coat color traits in *Brassica rapa*[J]. *Plant Molecular Biology*, 2008, 69(5): 553–563.
- [8] Lipsa F D, Snowdon R, Friedt W. Quantitative genetic analysis of condensed tannins in oilseed rape meal[J]. *Euphytica*, 2011, 184(2): 195–205.
- [9] Panjabi P, Jagannath A, Bisht N C, et al. Comparative mapping of *Brassica juncea* and *Arabidopsis thaliana* using intron polymorphism (IP) markers: Homoeologous relationships, diversification and evolution of the A, B and C *Brassica* genomes[J]. *BMC Genomics*, 2008, 9: 113–131.
- [10] Zhao J Y, Huang J X, Chen F, et al. Molecular mapping of *Arabidopsis thaliana* lipid-related orthologous genes in *Brassica napus*[J]. *Theoretical and Applied Genetics*,

- 2011, 124(2): 407–421.
- [11] Li F, Kitashiba H, Inaba K, et al. A *Brassica rapa* linkage map of EST-based SNP markers for identification of candidate genes controlling flowering time and leaf morphological traits[J]. DNA Research, 2009, 16(6): 311–323.
- [12] Kim H R, Choi S R, Bae J, et al. Sequenced BAC anchored reference genetic map that reconciles the ten individual chromosomes of *Brassica rapa*[J]. BMC Genomics, 2009, 10: 432.
- [13] 严明理, 刘忠松, 官春云, 等. 芥菜型油菜类黄酮合成相关基因的克隆和序列分析[J]. 中国农业科学, 2007, 40(12): 2688–2695.
- [14] 严明理. 芥菜型油菜黄籽形成的分子机理研究[D]. 长沙: 湖南农业大学农学院, 2007.
- [15] 严明理, 刘显军, 刘忠松, 等. 芥菜型油菜4-二氢黄酮醇还原酶基因的克隆和表达分析[J]. 作物学报, 2008, 34(1): 1–7.
- [16] 严明理, 刘显军, 官春云, 等. 芥菜型油菜TTI基因的克隆和SNP分析[J]. 作物学报, 2010, 36(10): 1634–1641.
- [17] Xu B B, Li J N, Zhang X K, et al. Cloning and molecular characterization of a functional flavonoid 3'-hydroxylase gene from *Brassica napus*[J]. Journal of Plant Physiology, 2007, 164(3): 350–363.
- [18] Wei Y L, Li J N, Lu J, et al. Molecular cloning of *Brassica napus* TRANSPARENT TESTA2 gene family encoding potential MYB regulatory proteins of proanthocyanidin biosynthesis[J]. Molecular Biology Reports, 2006, 34(2): 105–120.
- [19] Chai Y R, Lei B, Huang H L, et al. TRANSPARENT TESTA12 genes from *Brassica napus* and parental species: Cloning, evolution, and differential involvement in yellow seed trait[J]. Molecular Genetics and Genomics, 2009, 281(1): 109–123.
- [20] Nesi N, Lucas M O, Auger B, et al. The promoter of the *Arabidopsis thaliana* BAN gene is active in tannin-accumulating cells of the *Brassica napus* seed coat[J]. Plant Cell Reports, 2009, 28(4): 601–617.
- [21] Bancroft I, Morgan C, Fraser F, et al. Dissecting the genome of the polyploid crop oilseed rape by transcriptome sequencing[J]. Nature Biotechnology, 2011, 29: 762–766.
- [22] Wang X W, Wang H Z, Wang J, et al. The genome of the mesopolyploid crop species *Brassica rapa*[J]. Nature Genetics, 2011, 43: 1035–1039.
- [23] Mun J H, Kwon S J, Seo Y J, et al. Sequence and structure of *Brassica rapa* chromosome A3[J]. Genome Biology, 2010, 11(9): 1–12.
- [24] Zang Y X, Kim H U, Kim J A, et al. Genome-wide identification of glucosinolate synthesis genes in *Brassica rapa*[J]. FEBS Journal, 2009, 276(13): 3559–3574.
- [25] Wang H, Wu J, Sun S L, et al. Glucosinolate biosynthetic genes in *Brassica rapa*[J]. Gene, 2011, 487(2): 135–142.
- [26] Kong L N. Electronic cloning and sequence analysis of a novel Na⁺/H⁺ antiporter gene *BnNHX6* from *Brassica napus*[J]. Journal of Biology, 2010, 27: 26–30.
- [27] Parkin I A P, Gulden S M, Sharpe A G, et al. Segmental structure of the *Brassica napus* genome based on comparative analysis with *Arabidopsis thaliana*[J]. Genetics, 2005, 171(2): 765–781.
- [28] Lysak M A, Berr A, Pecinka A, et al. Mechanisms of chromosome number reduction in *Arabidopsis thaliana* and related *Brassicaceae* species[J]. Proceedings of National Academy of Science USA, 2006, 103(13): 5224–5229.
- [29] Town C D, Cheung F, Maiti R, et al. Comparative genomics of *Brassica oleracea* and *Arabidopsis thaliana* reveal gene loss, fragmentation, and dispersal after polyploidy[J]. Plant Cell, 2006, 18(6): 1348–1359.
- [30] Lotz T, Snowdon R, Horn R, et al. Molecular analysis of *Arabidopsis thaliana* transparent genes in *Brassica napus*[J]. Proceedings of the 11th International Rapeseed Congress, 2003, 1: 109–111.
- [31] Akhov L, Ashe P, Tan Y F, et al. Proanthocyanidin biosynthesis in the seed coat of yellow-seeded, canola quality *Brassica napus* YN01-429 is constrained at the committed step catalyzed by dihydroflavonol 4-reductase [J]. Botany, 2009, 87(6): 616–625.
- [32] Jiang M, Cao J S. Sequence variation of chalcone synthase gene in a spontaneous white-flower mutant of Chinese cabbage-pak-choi[J]. Molecular Biology Reports, 2008, 35(4): 507–512.
- [33] Yan M L, Liu X J, Guan C Y, et al. Cloning and expression analysis of an anthocyanidin synthase gene homolog from *Brassica juncea*[J]. Molecular Breeding, 2011, 28: 313–322.
- [34] 赵志伟, 曾凡亚, 赵云, 等. 甘蓝型油菜BAN同源基因片段克隆与序列分析[J]. 中国油料作物学报, 2001, 23(4): 7–10.
- [35] Lu J, Li J N, Wang S G, et al. Molecular cloning of two ortholog genes of *Arabidopsis thaliana* TTG1 from oilseed rape (*Brassica napus* L.) [C]// Fu T D, Guan C Y. Proceedings of the 12th International Rapeseed Congress. Beijing: Science Press, 2007: 170–172.

责任编辑: 杨盛强