



不同产地的两种橙色大白菜类胡萝卜素积累差异分析

马 帅,王若凡,陈 霖,孟 艳,卢倩倩,张鲁刚

(西北农林科技大学 园艺学院,陕西杨凌 712100)

摘 要 为了进一步了解橙色大白菜类胡萝卜素积累与地域之间的关系,以国内 8 个不同地区生产的橙色大白菜‘14 杂 1’和‘15 杂 22’叶球为试验材料,利用高效液相色谱法对其类胡萝卜素进行定性和定量分析。结果表明,不同地区生产的两个橙色大白菜叶球的 β -胡萝卜素含量相对稳定, α -胡萝卜素和番茄红素的含量差异显著,且趋势不一致。在所有地区中,‘14 杂 1’叶球的 α -胡萝卜素含量均高于‘15 杂 22’,并且两个品种的 β -胡萝卜素含量均低于 α -胡萝卜素。有 7 个地区的‘14 杂 1’的番茄红素含量低于‘15 杂 22’,且含量差异显著,与产地关系密切,以湖北武汉地区生产的橙色大白菜番茄红素的含量最高。荧光定量 PCR 的方法分析发现两个品种叶球中 *LYCE* 表达与 α -胡萝卜素积累趋势相一致,番茄红素异构酶基因(*CRTISO*)的表达与番茄红素的积累趋势相似。试验还表明,橙色大白菜在关键基因番茄红素异构酶突变体(*Br crtiso*)存在下,其叶球中类胡萝卜素积累的组分和数量还受遗传背景、环境条件及其互作的综合影响,其机制有待进一步研究。

关键词 橙色大白菜;产地;类胡萝卜素;基因表达

中图分类号 S634.1

文献标志码 A

文章编号 1004-1389(2021)03-0395-11

大白菜(*Brassica rapa* L. spp. *pekinensis*)是十字花科芸苔属重要的蔬菜作物之一,大白菜叶球内叶颜色有白色、黄色和橙色。其中,橙色大白菜吸引了消费者和育种者的兴趣,因为其维生素 C、类胡萝卜素及矿质元素含量均高于常见的白色大白菜^[1-2]。类胡萝卜素是萜类色素物质,在生物体内通过类异戊二烯途径合成,呈现黄色、橙红色和红色。橙色大白菜正是积累了类胡萝卜素使叶片表现出橙色^[3],这种类胡萝卜素主要是前番茄红素和光异构而形成的番茄红素^[4],而番茄红素异构酶(*CRTISO*)是番茄红素合成的关键酶基因。有报道发现 *Br CRTISO* 功能的缺失会导致大白菜中前番茄红素的积累,并使大白菜内叶呈现橙红色^[5]。类似现象在其他园艺作物中也报道, Li 等^[6]发现花椰菜中通常含有少量的类胡萝卜素,但橙色花椰菜中由于 *Or* 基因的突变积累了较多的 β -胡萝卜素。Arango 等^[7]对橙色胡萝卜和白色胡萝卜的研究发现, *CYP97A3* 基因功能的缺失导致橙色胡萝卜中大量积累 α -胡萝卜素。陈奕聪等^[8]发现红色品种辣椒中的辣椒红素

含量显著高于紫色品种辣椒。有报道证明南瓜中 *CHYB* 影响叶黄素和紫黄质的合成, *LYCE* 影响类胡萝卜素含量^[9-10]。

类胡萝卜素在植物生长发育中有着多种重要的作用,如光吸收、光保护,作为脱落酸、独脚金内酯等植物激素的合成前体,同时类胡萝卜素在人体营养和健康方面也有着重要的作用,如 β -胡萝卜素是维生素 A 的合成前体,叶黄素、番茄红素等可以增强人体的抗氧化能力,预防一些癌症,叶黄素、玉米黄质可以减缓与年龄相关的视网膜损害等^[11-14]。因此培育高胡萝卜素蔬菜及研究类胡萝卜素积累机理有重要的实际意义和理论价值。

尽管在植物中类胡萝卜素的生物合成代谢途径已比较清楚,也已明确有些酶在类胡萝卜素积累中发挥着重要作用,如八氢番茄红素合成酶(*PSY*)、番茄红素 ϵ -环化酶(*LYCE*)、番茄红素 β -环化酶(*LCYB*)、 β -胡萝卜素羟化酶(*CHYB*)、类胡萝卜素异构酶(*CRTISO*)等。但有关不同地域条件下的植物类胡萝卜素积累方面的研究报道很少。Tuan 等^[15]发现光照条件下生长的大白菜中

收稿日期:2020-04-20 修回日期:2020-06-08

基金项目:国家重点研发计划(2017YFD0101802)。

第一作者:马 帅,女,硕士研究生,从事橙色大白菜类胡萝卜素研究。E-mail:MS@nwfau.edu.cn

通信作者:张鲁刚,男,教授,博士生导师,主要从事大白菜育种研究。E-mail:lugangzh@163.com

类胡萝卜素总量明显高于黑暗中生长的,且接受光照的大白菜外叶的类胡萝卜素总量是内叶和中叶的 30 倍。不同地域除了光照条件,光质、温度等也是重要环境因子,因此地域条件对植物类胡萝卜素合成积累的作用应该是多种因素的综合作用,它对发现类胡萝卜素特异积累地区及其栽培条件有重要参考价值。

本研究以两种橙色大白菜为材料,研究了不同地区种植下橙色白菜叶球的类胡萝卜素积累特点。以期了解两种橙色大白菜类胡萝卜素成分及含量在不同地域的差异、探索遗传背景和环境条件对其影响,从而为进一步研究环境因素调控类胡萝卜素的形成奠定基础、为选择橙色大白菜类胡萝卜素积累最适宜种植的地区提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

橙色大白菜‘14 杂 1’和‘15 杂 22’种子由西北农林科技大学园艺学院十字花科课题组提供。2018 年分别在陕西延安、阎良、汉中、杨凌,山西太原,河南郑州,湖北武汉,四川成都等地示范生产。待叶球成熟后取样,测定单株质量和叶球质量,随机选择 3 棵成熟叶球,取叶球从外向内数第 7 片叶的软叶部分 3 g 存放于离心管,于真空冷冻干燥仪中进行冻干后,放在 -80°C 贮藏,用于类胡萝卜素的提取及组分分析。

1.2 仪器和试剂

仪器:高速冷冻离心机,高效液相色谱仪(岛津,日本),真空冷冻干燥仪,旋转蒸发仪等。

试剂:甲醇、乙腈(TEDIA,美国),甲基叔丁基醚(Aladdin,美国),乙醇、丙酮、二丁基羟基甲苯等。

1.3 方法

1.3.1 番茄红素异构酶基因突变体的检测 利用橙色大白菜番茄红素异构酶突变体 *Brctiso* 基因的 3'端插入片段设计的特异引物^[16]扩增检测‘14 杂 1’和‘15 杂 22’是否为携带 *Brctiso* 基因突变体,若是突变体则会出现一条 53 bp 的条带,说明携带该基因,反之则不是携带该基因的突变体。上游引物(F):5'-CAGAAACATCAGGGT-TGAAATC-3',下游引物(R):5'-TTACTGC-CGAAAGCGAAA-3'。

1.3.2 类胡萝卜素的提取 将冻干后的白菜叶片研磨并加入 5 mL 类胡萝卜素提取液[V(丙酮)

:V(乙醇)=1:1]充分混匀后,提取 70 min,取出后 12 000 r/min 离心 10 min,重复操作两次后合并上清液。将上清液置于圆底烧瓶中进行 35 $^{\circ}\text{C}$ 的减压蒸干,并用 1 mL 乙酸乙酯进行溶解,溶解后经 0.22 μm 滤器过滤到 1.5 mL 棕色进样瓶中等待上机检测(冻干过程应该避光)。

1.3.3 类胡萝卜素主要成分的定性和定量分析

采用高效液相色谱法测定类胡萝卜素组分,色谱检测系统为:LC-2010 型高效液相色谱仪(日本岛津),自动进样器,紫外检测器,C30 柱(4.6 mm $\times$ 250 mm,5 μm);检测波长为 450 nm,柱温为 35 $^{\circ}\text{C}$,流速为 1.0 mL/min,样品进样量为 20 μL ;流动相 A:V(甲醇):V(MTBE):V(水)=85:12:3,流动相 B:V(甲醇):V(MTBE):V(水)=12:84:4,各加体积分数 0.01% BHT。洗脱方法参照陈鹏飞等^[17]、李佩荣等^[18]的方法。洗脱条件为 0.01~1.01 min:A-B(99:1);1.01~24.01 min:A-B(82:18);24.01~65.01 min:A-B(42:58);65.01~75.01 min:A-B(18:82);75.01~77.01 min:A-B(18:82);77.01~78.01 min:A-B(99:1)。

1.3.4 橙色大白菜类胡萝卜素合成相关基因的表达分析 根据两个橙色大白菜叶球类中检测的胡萝卜素组分情况,进一步分析 *Br-PSY*、*Br-Brcrtiso*、*Br-LYCB*、*Br-LYCE*、*Br-CHYB* 基因的表达水平。

利用 DP419-RNA simple Total RNA Kit 试剂盒(TIANGEN,中国)提取橙色大白菜叶球组织总 RNA,并反转录合成 cDNA。用 Primer 5.0 软件设计定量引物(表 1)。以 GAPDH 作为内参基因,以杨凌地区各基因相对表达量较低的‘14 杂 1’为对照,利用 QuantStudio[®]5 荧光定量 PCR 仪对目的基因的表达水平进行相对定量分析。

RT-qPCR 反应体系为 20 μL ,其组分比例如下:10 μL 2 $\times$ RealStar Green Power mixture (TaKaRa,日本) 10 μL ,上游引物 0.5 μL ,下游引物 0.5 μL ,模板 cDNA(100 ng/ μL)2 μL ,双蒸水 7 μL 。扩增程序如下:95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 10 min;PCR 扩增反应:95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 5 s;58 $^{\circ}\text{C}$ 退火 1 min;72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 30 s,循环数为 40;熔解曲线:58 $^{\circ}\text{C}$,10 s,循环数为 75。所有数据均在鲜质量下测定,每个样品包含 3 次技术重复和 3 次生物学重复,计算不同样品的 C_t 值,采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 算法计算基因相对表达量。

表 1 实时荧光定量 PCR 引物序列

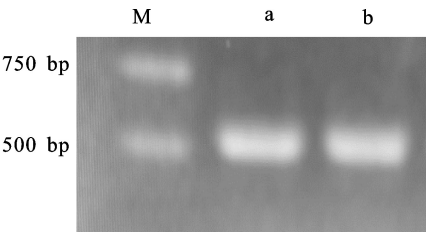
Table 1 Primer sequence used inreal-time fluorescence quantitative PCR

基因 Gene	上游引物(5'→3') Upstream primer(5' →3')	下游引物(5' →3') Downstream primer(5' →3')
<i>Br-PSY</i>	CTAATCCAGACCCGATGACCAC	CCTGCATGACTTGCTACTACGC
<i>Br-crtiso</i>	GTATGGACCAATGCCAAGAG	CAATGTCAGCAGCTACACGA
<i>Br-LYCB</i>	TGCGGTTGCTCCGATAGT	ACCCGAAGAACACCAAGTCC
<i>Br-LYCE</i>	AGCCAGATTCTCCTTCCCTT	CGAAATTGCGAGCATCAACA
<i>Br-CHYB</i>	CAGATGGAGGGAGGTGAGAT	CGCAGGAACAGCGTTGACTA
<i>GAPDH</i>	TAACTGCCTTGCTCCACTTGC	CGGTGCTGCTGGGAATGAT

2 结果与分析

2.1 两个橙色大白菜品种中番茄红素异构酶基因突变体的检测

图 1 是用橙色大白菜番茄红素异构酶突变体 *Brcrtiso* 基因的特异引物^[16]扩增‘14 杂 1’和‘15 杂 22’的 DNA 的结果,可以看出两个品种均扩增出大小为 530 bp 的条带,说明两个橙色大白菜



M. DNA marker; a. ‘14 杂 1’; b. ‘15 杂 22’
M. DNA marker; a. ‘14 za 1’; b. ‘15 za 22’

图 1 橙色大白菜 *Brcrtiso* 基因的分子标记检测结果

Fig.1 Molecular marker detection results of *Brcrtiso* gene in Chinese cabbage with orange color

表 2 两个品种在不同地区的生育期及叶球质量

Table 2 Growth period and leaf-head mass of two varieties in different areas

地区 Area	播种期/定植期 Sowing time/ Planting time	收获期 Harvest time	叶球净质量/kg Net mass	
			14za1	15za22
延安 Yan'an	07-24/08-14	11-04	2.24	2.15
阎良 Yanliang	08-15/09-03	11-11	3.46	2.90
太原 Taiyuan	08-06/	11-03	1.55	1.10
郑州 Zhengzhou	08-23/	11-22	4.80	4.43
武汉 Wuhan	08-15/09-05	11-22	6.25	5.03
汉中 Hanzhong	08-23/09-11	11-27	3.41	2.96
成都 Chengdu	08-29/09-25	12-18	2.24	2.20
杨凌 Yangling	07-31/08-31	12-08	2.32	2.28

2.3.1 α -胡萝卜素的含量差异及分析 由图 3 可以看出,‘14 杂 1’和‘15 杂 22’这两个品种叶球在不同产地的 α -胡萝卜素含量差异明显,但趋势

品种都携带 *Brcrtiso* 基因,为橙色突变体。

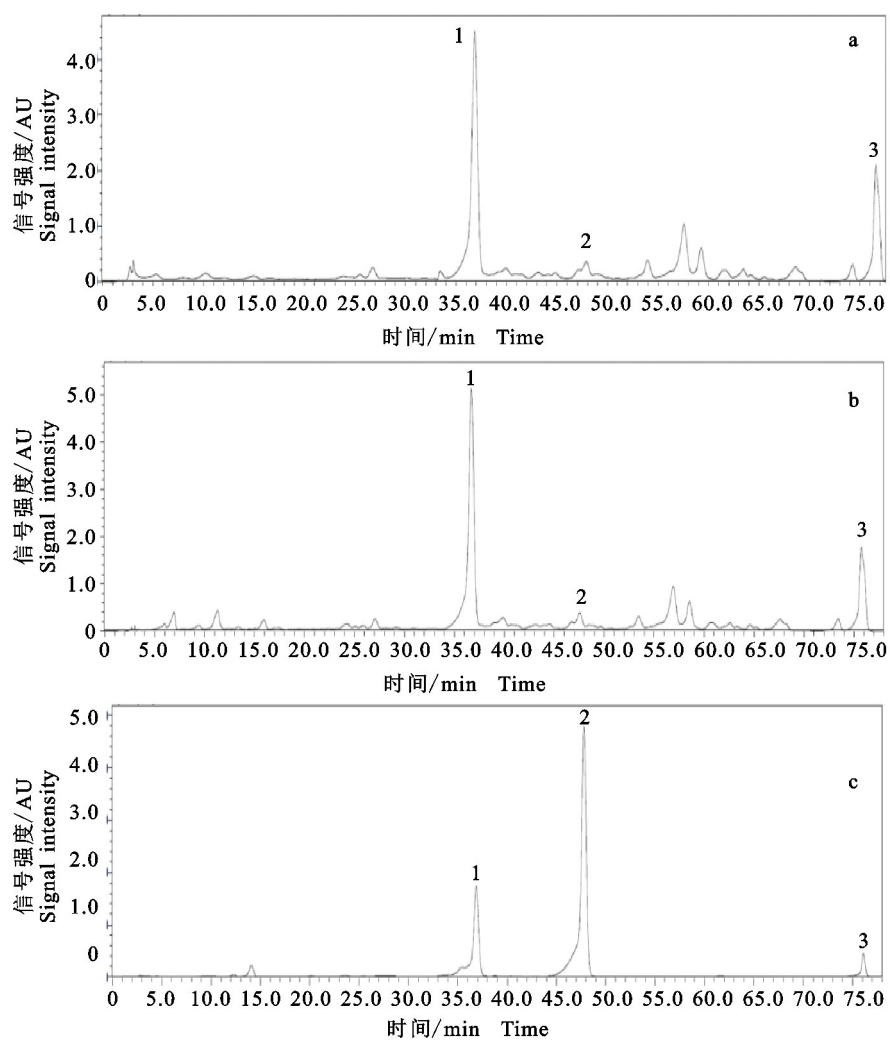
2.2 两个品种在不同产地生育期及叶球质量比较

从表 2 可以看出,‘14 杂 1’在武汉地区的叶球质量最大,净质量达到 6.25 kg ;在太原地区叶球质量最小,净质量只有 1.55 kg,相差 4 倍。同样,‘15 杂 22’也是在武汉地区的叶球质量最大,净质量达到 5.03 kg ;在太原地区叶球质量最小,净质量只有 1.1 kg,相差 4.6 倍。可见,不同地区提供的生长条件对这两个橙色大白菜叶球的生长有着至关重要的作用。另外,笔者发现在所选择的 8 个供试地点中,‘14 杂 1’的叶球质量均高于‘15 杂 22’,这说明‘14 杂 1’的生长势强于‘15 杂 22’。

2.3 不同产地种植的两个品种中类胡萝卜素的含量差异及分析

不同产地‘14 杂 1’和‘15 杂 22’两个品种中均检测出 α -胡萝卜素、 β -胡萝卜素以及少量的番茄红素。图 2 为武汉地区的两个品种叶球的高效液相色谱图。

相同,‘14 杂 1’叶球 α -胡萝卜素含量高于‘15 杂 22’。其中,‘14 杂 1’在阎良地区的 α -胡萝卜素含量最高,达到 26.15 $\mu\text{g/g}$;在郑州地区的含量最



1 号峰为 α -胡萝卜素; 2 号峰为 β -胡萝卜素; 3 号峰为番茄红素; a. '14 杂 1'; b. '15 杂 22'; c. 标准品
Peak 1. α -carotene, Peak 2. β -carotene, Peak 3. lycopene; a. '14 za 1'; b. '15 za 22'; c. The prototype

图 2 类胡萝卜素的 HPLC 分析

Fig. 2 HPLC analysis of carotenoids

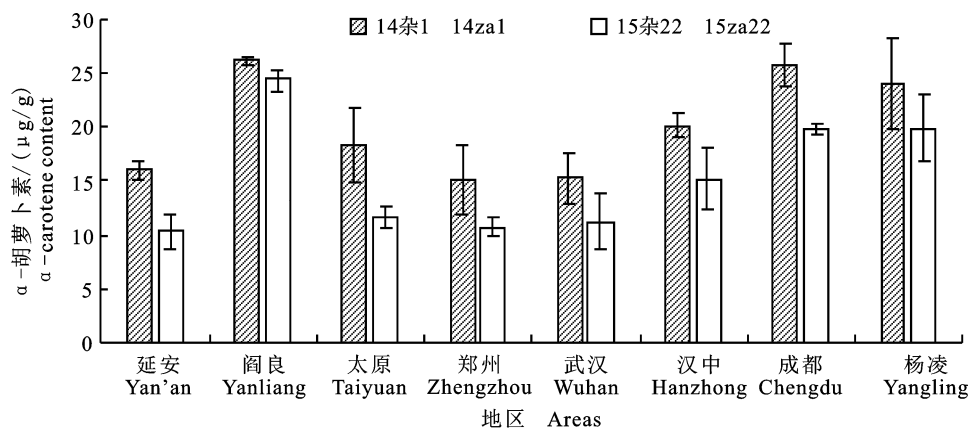


图 3 不同地区两个品种叶球中 α -胡萝卜素的含量

Fig. 3 α -carotene content in head leaves of two varieties

低,为 $15.00 \mu\text{g/g}$ 。‘15 杂 22’在阎良地区的 α -胡萝卜素含量也最高,达到 $24.37 \mu\text{g/g}$;在延安地区的含量最低,为 $10.28 \mu\text{g/g}$ 。各个地区中‘14 杂 1’的 α -胡萝卜素含量均高于‘15 杂 22’,说明遗传背景对 α -胡萝卜素的积累有相对稳定的作用,同时不同地方生产的两个品种叶球的 α -胡萝卜素含量差异明显,说明生长条件对 α -胡萝卜素的积累有重要作用。

2.3.2 β -胡萝卜素的含量差异及分析 由图 4 可以看出,不同产地的‘14 杂 1’和‘15 杂 22’两个品种叶球的 β -胡萝卜素含量差异较小,与 α -胡萝卜素相比较,两个品种中 β -胡萝卜素的含量都低

于 α -胡萝卜素含量。其中‘14 杂 1’在阎良地区的 β -胡萝卜素含量最高,达到 $8.55 \mu\text{g/g}$;在武汉地区含量最低,为 $7.80 \mu\text{g/g}$ 。‘15 杂 22’在阎良地区的 β -胡萝卜素含量最高,达到 $9.18 \mu\text{g/g}$;在延安地区含量最低,为 $7.39 \mu\text{g/g}$ 。除了阎良,在其他地区也表现出‘14 杂 1’叶球的 β -胡萝卜素含量高于‘15 杂 22’的现象,但差异较小。总体而言, β -胡萝卜素含量表现为‘14 杂 1’和‘15 杂 22’品种间差异不明显,不同地区间差异也不明显,这一方面说明‘14 杂 1’和‘15 杂 22’的遗传背景对 β -胡萝卜素含量具有相同影响,另一方面说明这几个栽培地方的条件对 β -胡萝卜素含量没有显著影响。

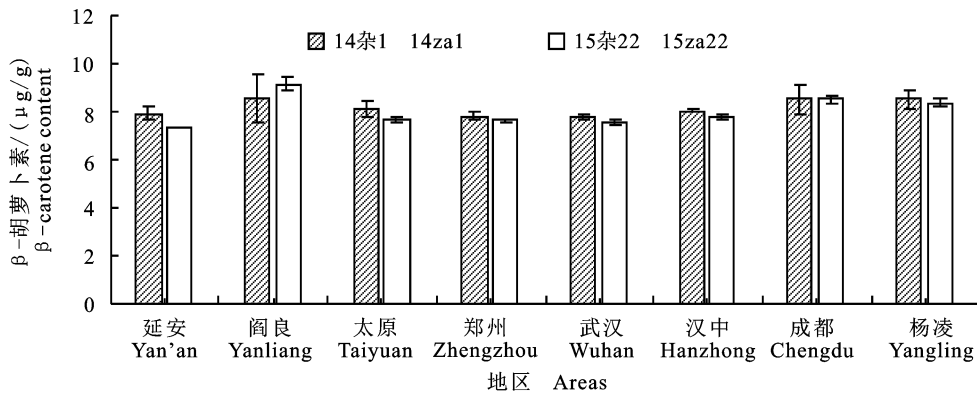


图 4 两个品种叶球中 β -胡萝卜素的含量

Fig. 4 β -carotene content in head leaves of two varieties

2.3.3 番茄红素的含量差异及分析 图 5 可以看出,不同地区‘14 杂 1’和‘15 杂 22’两个品种叶球的番茄红素含量差异很大,而且两个品种在不同地方表现也不一致。在‘14 杂 1’叶球中,只有在阎良、郑州、武汉、成都 4 个地区生产的叶球检测出番茄红素,在延安、太原、汉中、杨凌 4 个地区

没有检测出番茄红素。在‘15 杂 22’叶球中,除了太原地区没有检测到番茄红素,其余地区均有不同含量的番茄红素。其中,‘14 杂 1’在武汉地区的番茄红素含量最高,达到 $23.26 \mu\text{g/g}$;在阎良地区含量最低,为 $0.57 \mu\text{g/g}$,相差 40 倍;‘15 杂 22’在武汉地区的番茄红素含量最高,达到 $22.78 \mu\text{g/g}$

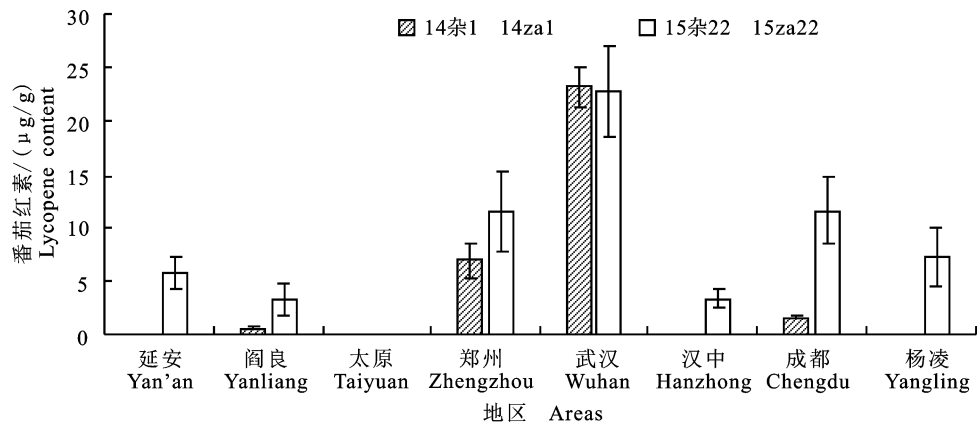


图 5 两个品种叶球中番茄红素的含量

Fig. 5 Lycopene content in head leaves of two varieties

$\mu\text{g/g}$;在阎良地区含量最低,为 $3.35 \mu\text{g/g}$,相差 6.8 倍。番茄红素是橙色大白菜的特有色素。总体而言,番茄红素含量表现为‘14 杂 1’和‘15 杂 22’品种间差异显著、不同地区间差异显著,特别是品种与地区间交互差异显著,说明影响‘14 杂 1’和‘15 杂 22’叶球番茄红素含量的因素,除了遗传背景和栽培地方的条件外,基因型与栽培条件的交互尤为重要。

2.4 不同产地种植的两个橙色大白菜品种叶球中胡萝卜素合成相关基因表达分析

根据‘14 杂 1’和‘15 杂 22’两个品种叶球中检测到的类胡萝卜素成分,进一步检测胡萝卜素合成相关基因(*PSY*、*LYCE*、*LYCB* 和 *CRTISO*、*CHYB*)表达情况。

PSY 基因是类胡萝卜素代谢的限速酶基因^[19],表达分析表明,同一品种不同地区生产的橙色大白菜叶球的 *PSY* 基因的表达水平差异明显,同一地区不同品种 *PSY* 基因的表达水平的差异因地区不同而异。以杨陵的‘14 杂 1’为标

准,除了成都的‘14 杂 1’、杨陵的‘15 杂 22’中相对表达量下调外,其他地区两个品种 *PSY* 基因的表达水平均上调,而且‘15 杂 22’中的上调幅度大于‘14 杂 1’,尤其是在延安、阎良、汉中和成都‘15 杂 22’中的上调幅度更大(图 6),说明‘15 杂 22’中的类胡萝卜素代谢流较‘14 杂 1’强。

LYCE 催化番茄红素转化为 α -胡萝卜素。品种比较而言,不同地方的‘15 杂 22’中的表达整体低于在‘14 杂 1’,这与 α -胡萝卜素含量的趋势一致。两个品种在不同地方的表达规律不同,‘14 杂 1’表现为在杨陵、成都、汉中的叶球中表达水平较低,在郑州、延安、太原地区的叶球中表达量较高,可达到杨陵地区的 2~6 倍;‘15 杂 22’表现为在太原、郑州、武汉、成都的叶球中表达量最低,在阎良、杨陵地区的叶球中表达中等,在延安、汉中的表达最大。

LYCB 催化番茄红素转化为 β -胡萝卜素。品种比较来看,两个品种在延安、阎良、郑州、杨陵 4 个地方的表达差异不显著,在太原、武汉、成都、汉

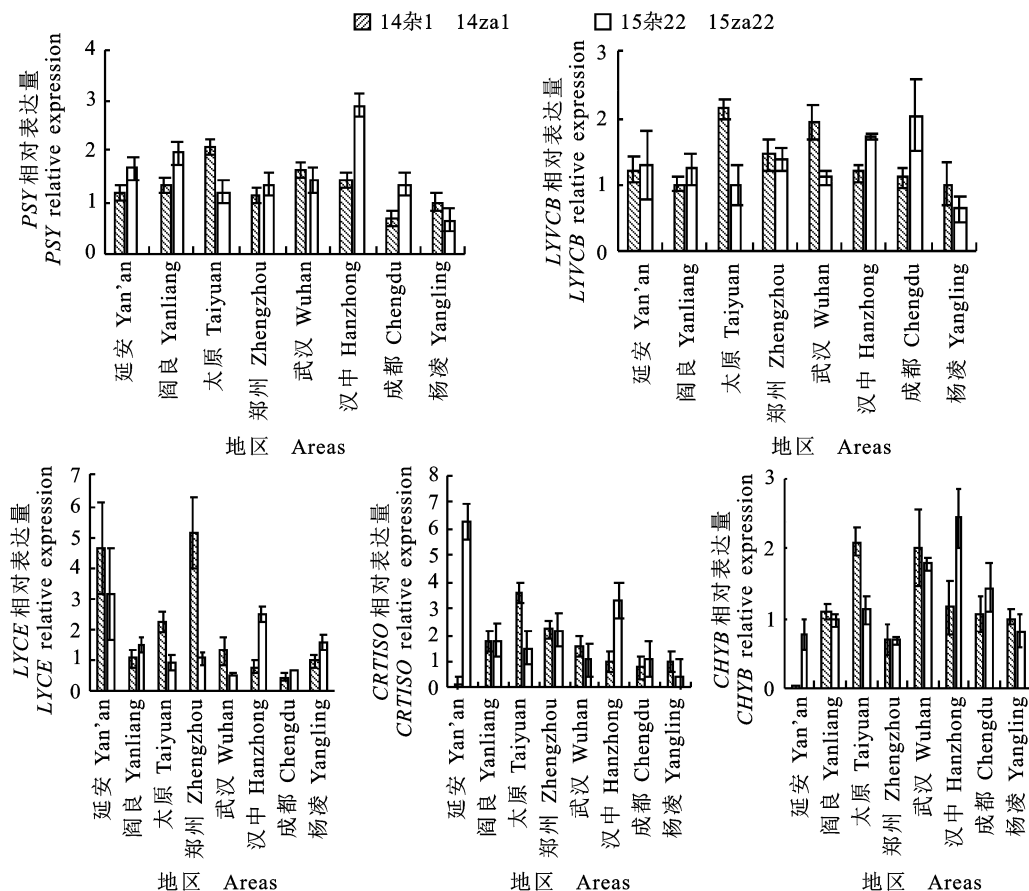


图 6 类胡萝卜素生物代谢相关基因在橙色大白菜球叶中的表达分析

Fig. 6 Carotenoid biosynthetic genes expression in head leaves of Chinese cabbage with orange color

中 4 个地方的表达差异显著,这与 β -胡萝卜素含量的趋势不一致。两个品种在不同地方的表达规律各有特点,在各地区的‘14 杂 1’中相对表达量差异不大,其中在太原、武汉地区样本中相对表达量较高;在延安、阎良、郑州、杨凌、成都、汉中地区相对表达量低且差异不大。*LYCB* 在各地区的‘15 杂 22’中的相对表达量差异较大,其中在杨凌的表达水平最低,在成都的表达水平最高。

CRTISO 催化前番茄红素转化为前番茄红素。品种比较来看,除了杨凌、太原和武汉,其他 5 个地方的表达都是‘15 杂 22’高于‘14 杂 1’,这与番茄红素的含量趋势基本一致。但是两个品种在不同地方的表现各不相同,‘14 杂 1’中相对表达量是太原地区的最高,在成都、汉中、杨凌的相对表达量较低,在延安地区样本未检测到表达;‘15 杂 22’中相对表达量表现为延安地区的最高,达到最低表达水平杨凌地区该样本的 10 倍。

CHYB 催化植物中 β -胡萝卜素经中间产物 β -黄素合成玉米黄素的过程。品种比较来看,两个品种的表达没有规律。不同品种在不同地方的表达各有特点,在‘14 杂 1’中相对表达量在武汉、太原地区较高,在郑州、阎良、杨凌、成都、汉中表达量较低,延安没有检测到表达;在‘15 杂 22’中相对表达量表现为汉中地区的最高,郑州地区表达最低。两品种表达差异显著的地区是延安、成都、汉中、太原,其中延安、成都、汉中都是‘15 杂 22’的相对表达量高于‘14 杂 1’,而太原表现相反。

3 结论与讨论

3.1 不同橙色大白菜品系和品种叶球的类胡萝卜素含量

有关橙色大白菜类胡萝卜素种类及含量的差异分析研究较少。陈鹏飞等^[20]在橙色大白菜自交系 160、161 中检测到了番茄红素、 β -胡萝卜素及叶黄素混合物,未检测到 α -胡萝卜素。张俊祥等^[4]报道在橙色叶球大白菜自交系中主要积累前番茄红素和番茄红素及少量的 γ -胡萝卜素,但是没有检测到 β -胡萝卜素和叶黄素。李娟^[21]测定了橙色大白菜杂交种‘金冠 1 号’和‘金冠 2 号’叶球中类胡萝卜素成分和含量,在两个品种中均检测到叶黄素、番茄红素、 α -胡萝卜素和 β -胡萝卜素,进一步分析表明‘金冠 1 号’ β -胡萝卜素含量比‘金冠 2 号’低,叶黄素、番茄红素、 α -胡萝卜素

都较‘金冠 2 号’高。‘金冠 1 号’中的叶黄素、番茄红素、 α -胡萝卜素及‘金冠 2 号’中的叶黄素在植株结球过程中整体呈下降趋势。‘金冠 2 号’的番茄红素含量在结球期先下降后上升,整体含量有所提高。‘金冠 1 号’中的 β -胡萝卜素和‘金冠 2 号’中的 α -胡萝卜素、 β -胡萝卜素在结球期先上升后下降。

本研究中,对种植在不同地区的两个橙色大白菜新品种所积累的类胡萝卜素成分及含量进行分析,结果在两个品种中均检测到 α -胡萝卜素、 β -胡萝卜素和番茄红素,进一步分析发现两个品种中 β -胡萝卜素的含量在品种间差异不明显。在所有产地中,两个品种中 β -胡萝卜素的含量均低于 α -胡萝卜素含量,且在这两种类胡萝卜素含量上,几乎所有的‘14 杂 1’均高于‘15 杂 22’。在两个品种中也检测到少量的番茄红素,其含量与地区相关。在山西太原地区种植的两个品种中未检测出番茄红素,在武汉地区种植的两个品种中番茄红素含量均显著高于其他地区,结合两个地方的叶球生长情况,武汉地区种植的两个品种叶球坚实,单球分别达到 6.25 kg 和 5.03 kg,而太原地区种植的两个品种叶球紧实度低,单球分别为 1.55 kg 和 1.1 kg,可能说明番茄红素在叶球发育后期积累、且与叶球紧实度有关。比较两个供试品种,在其他 6 个地区中‘15 杂 22’的番茄红素含量均高于‘14 杂 1’,这与 α -胡萝卜素含量相反,这与两种成分位于同一代谢通路相一致。

与前人研究比较看出,不同橙色大白菜其叶球类胡萝卜素的组分和含量有所差异,其主要原因可能与所选择的供试材料遗传背景不同有关,如有的研究者采用的试验材料是各自的自交系材料^[4,17],有的是杂交种材料。不同自交系间其遗传背景不同,由于亲本遗传背景不同、其杂交种遗传结构必然不同。笔者在育种实践也发现不同橙色大白菜自交系的球叶颜色也有深浅之分,说明不同橙色大白菜虽然带有相同的突变基因 *Brcrtiso*,由于遗传背景不同,其叶球类胡萝卜素的组分和含量有所不同,因此可能还存在其他调控类胡萝卜素代谢的因子,有待进一步研究。

3.2 不同产地的橙色大白菜叶球中类胡萝卜素组分与含量

关于类胡萝卜素成分及含量与环境间的关系,也有不少研究。Adalid 等^[22]发现在大田栽培的野生樱桃番茄的雄性亲本 β -胡萝卜素含量高于

保护地栽培,母本则相反,其 F_1 、 F_2 代的在保护地栽培 β -胡萝卜素含量高于大田栽培,这些结果表明该品种的 β -胡萝卜素积累特性可能受基因型和环境相互作用的影响。Wimalasiri 等^[23]发现不同气候的不同国家种植的同一品种苦瓜具有不同的类胡萝卜素含量,这可能是由于温度、海拔、降水量 3 个因素通过影响类胡萝卜素代谢途径进一步影响了类胡萝卜素含量。Salvador 等^[24]通过相关性分析发现当地樱桃型番茄 β -胡萝卜素的积累表现出非常高的基因型和环境相互作用的结果。李娟^[21]对不同地区生产的橙色大白菜‘金冠 1 号’和‘金冠 2 号’叶球中类胡萝卜素成分和含量进行分析,结果发现甘肃定西生产的‘金冠 1 号’中未检测出叶黄素和番茄红素, β -胡萝卜素含量也较低, α -胡萝卜素含量较高,但低于同地区生产的‘金冠 2 号’,也低于陕西生产的‘金冠 1 号’;而甘肃定西生产的‘金冠 2 号’中未检出番茄红素,叶黄素含量很低, β -胡萝卜素含量较高,但低于陕西的‘金冠 2 号’,而 α -胡萝卜素含量很高,并高于陕西的‘金冠 2 号’大白菜。

本研究发现不同地区生产的‘14 杂 1’和‘15 杂 22’这两个品种叶球的 α -胡萝卜素含量和番茄红素含量与生产地关系密切,一方面表现为同一品种不同生产地的同一类胡萝卜素的含量不同,如不同产区‘14 杂 1’和‘15 杂 22’的 α -胡萝卜素含量的差异最大达到 1.74 倍和 2.37 倍;另一方面表现为同一品种不同类胡萝卜素与生产地区互动不同,如‘15 杂 22’的 3 种类胡萝卜素含量在不同地区的变化不一致,表现为 β -胡萝卜素含量受栽培环境影响小, α -胡萝卜素含量在陕西阎良含量最高,武汉最低;而番茄红素含量与其相反,说明 α -胡萝卜素代谢分支与番茄红素关系密切。在 8 个供试地点中,阎良这一地区的 α -胡萝卜素和 β -胡萝卜素含量高于其他地区,可以说明阎良地区所提供的环境条件较其他地区更适于这两类类胡萝卜素的积累,而湖北武汉地区生产的橙色大白菜更适于番茄红素的积累。

前人研究报道往往只分析了一个地方的样品^[25],不能了解环境要素对类胡萝卜素积累的影响,本研究对不同地区两种橙色大白菜类胡萝卜素的分析,发现遗传背景和环境因素都是影响橙色大白菜类胡萝卜素积累的重要因素,这为全面深入研究大白菜类胡萝卜素积累规律指明了方向,也为橙色大白菜专用功能品种的选育提出了

新的课题。

3.3 不同产地的两个橙色大白菜叶球中类胡萝卜素积累与相关基因表达的关系

在不同基因型玉米中,*LYCE* 基因的多态性是造成籽粒 β -胡萝卜素含量差异的主要原因^[26-27]。在甘薯块根中,*LCYB* 是 β -胡萝卜素合成途径的关键酶基因^[28]。在胡萝卜叶片中,*LYCE* 表达量与叶黄素、总类胡萝卜素含量之间呈负相关,说明 *LYCE* 对叶中主要类胡萝卜素的积累起着关键性作用^[29]。刘英明等^[30]发现在两个番茄品种的成熟果实中,*PSY* 基因表达量存在差异,红果中的表达量高于粉果,且 *PSY* 基因在番茄不同组织器官中的表达也具有明显差异,这说明 *PSY* 基因可能在调控番茄果肉颜色形成中起重要作用。本研究对不同地区生长的两个橙色大白菜新品种叶球类胡萝卜素合成相关基因表达进行了分析发现,不同地方的‘15 杂 22’中 *LYCE* 的表达整体低于在‘14 杂 1’,这与 α -胡萝卜素含量的趋势一致。除了杨凌和太原,6 个地方‘15 杂 22’的 *CRTISO* 表达都是高于‘14 杂 1’,这与番茄红素的含量趋势基本一致。而两个品种的 *LYCB* 和 *CHYB* 表达没有规律。相关性分析发现,两个品种叶球中各种类胡萝卜素成分含量和总含量与单个基因的表达都没有达到显著相关性,说明单个基因表达不是决定类胡萝卜素含量的主要因素,某种类胡萝卜素的积累是其合成与转化及其整体代谢流共同作用的结果,也可能还存在其他未发现的基因参与类胡萝卜素含量积累。

总体而言,本试验从两个橙色大白菜品种叶球产品类胡萝卜素组分与含量变化分析中发现橙色大白菜类胡萝卜素代谢受遗传背景、栽培条件及其互作作用影响的多样性和复杂性,但具体的环境条件如何从分子水平影响橙色大白菜类胡萝卜素代谢有待于进一步研究。

参考文献 Reference:

- [1] TUAN P A, KIM J K, PARK N I, et al. Carotenoid content and expression of phytoene synthase and phytoene desaturase genes in bitter melon (*Momordica charantia*) [J]. *Food Chemistry*, 2011, 126(4): 1686-1692.
- [2] 张德双, 徐家炳, 张凤兰. 不同球色大白菜主要营养成分分析[J]. 中国蔬菜, 2004(3): 37.
ZHANG D SH, XU J B, ZHANG F L. Analysis of main nutrient components of Chinese cabbage with different heading colors [J]. *China Vegetables*, 2004(3): 37.

- [3] ZHU C F, CHAO B, SANAHUJA G, *et al.* The regulation of carotenoid pigmentation in flowers[J]. *Archives of Biochemistry & Biophysics*, 2010, 504(1): 0-141.
- [4] 张俊祥. 大白菜橙色叶球和拟南芥黄色幼叶突变体形成的分子机理[D]. 陕西杨凌: 西北农林科技大学, 2015.
- ZHANG J X. The Molecular mechanisms on formation of orange head Chinese cabbage and arabidopsis young yellow leaves mutants [D]. Yangling Shaanxi: Northwest A&F University, 2015.
- [5] SU T B, YU SH C, WANG J, *et al.* Loss of function of the carotenoid isomerase gene *BrCRTISO* confers orange color to the inner leaves of Chinese cabbage (*Brassica rapa* L. spp. *pekinensis*) [J]. *Plant Molecular Biology Reporter*, 2015, 33(3): 648-659.
- [6] LI L, PAOLILLO D J, PARTHASARATHY M V, *et al.* A novel gene mutation that confers abnormal patterns of beta-carotene accumulation in cauliflower (*Brassica oleracea* var. *botrytis*) [J]. *The Plant Journal*, 2001, 26(1): 59-67.
- [7] ARANGO J, JOURDAN M, GEOFFRIAU E, *et al.* Carotene hydroxylase activity determines the levels of both α -carotene and total carotenoids in orange carrots [J]. *The Plant Cell*, 2014, 26(5): 2223-2233.
- [8] 陈奕聪, 杜澄澄, 许杰纯, 等. 不同果色辣椒类胡萝卜素积累差异分析[J]. 仲恺农业工程学院学报, 2018, 31(4): 1-6, 14.
- CHEN Y C, DU F CH, XU J CH, *et al.* Carotenoids accumulative difference in pepper fruit with different colour [J]. *Journal of Zhongkai University of Agriculture and Engineering*, 2018, 31(4): 1-6, 14.
- [9] NAKKANONG K, YANG J H, ZHANG M F. Carotenoid accumulation and carotenogenic gene expression during fruit development in novel interspecific inbred squash lines and their parents [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2012, 60(23): 5936-5944.
- [10] OBRERO A, CLARA I GONZALEZ-VERDEJO, DIE J V, *et al.* Carotenogenic gene expression and carotenoid accumulation in three varieties of *Cucurbita pepo* during fruit development [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2013, 61(26).
- [11] CAZZONELLI C I. Carotenoids in nature: insights from plants and beyond [J]. *Functional Plant Biology*, 2011, 38(11): 833-847.
- [12] HANNOUFA A, HOSSAIN Z. Regulation of carotenoid accumulation in plants [J]. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 2012, 1(3): 10.
- [13] 王永华, 梁世中. 类胡萝卜素的结构和生理功能研究 [J]. 现代食品科技, 2000(4): 1-4.
- WANG Y H, LIANG SH ZH. Study on the structure and physiological function of carotenoids [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2000(4): 1-4.
- [14] 黄 贝, 王 鹏, 温明霞, 等. 柑橘果实色素—类胡萝卜素的研究进展 [J]. 果树学报, 2019, 36(6): 793-802.
- HUANG B, WANG P, WEN M X, *et al.* Advances in the study of carotenoid pigments in citrus fruits [J]. *Journal of Fruit Trees*, 2019, 36(6): 793-802.
- [15] TUAN P A, PARK N I, PARK W T, *et al.* Carotenoids accumulation and expression of carotenogenesis genes during seedling and leaf development in Chinese cabbage (*Brassica rapa* L. spp. *pekinensis*) [J]. *Plant Omics*, 2012, 5(2): 143-148.
- [16] 马晓敏. 不同球色大白菜类胡萝卜素差异分析及光质对其代谢影响的研究 [D]. 陕西杨凌: 西北农林科技大学, 2018.
- MA X M. Study on the difference of carotenoids in different colors of Chinese cabbage and the effect of light quality on its metabolism [D]. Yangling Shaanxi: Northwest A&F University, 2018.
- [17] 陈鹏飞, 刘栓桃, 张志刚, 等. 大白菜的类胡萝卜素种类鉴定 [J]. 中国农学通报, 2011, 27(19): 137-143.
- CHEN P F, LIU SH T, ZHANG ZH G, *et al.* Category identification of carotenoids in Chinese cabbage [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2011, 27(19): 137-143.
- [18] 李佩荣, 张淑江, 章时蕃, 等. 大白菜橘红心类胡萝卜素组分及其基因分析 [J]. 园艺学报, 2014, 41(3): 469-478.
- LI P R, ZHANG SH J, ZHANG SH F, *et al.* Analysis of the carotenoids pigments and orange inner leaf gene in Chinese cabbage (*Brassica rapa*) [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2014, 41(3): 469-478.
- [19] 高慧君, 明家琪, 张雅娟, 等. 园艺植物中类胡萝卜素合成与调控的研究进展 [J]. 园艺学报, 2015, 42(9): 1633-1648.
- GAO H J, MING J Q, ZHANG Y J, *et al.* Regulation of carotenoids biosynthesis in horticultural crops [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2015, 42(9): 1633-1648.
- [20] 陈鹏飞. 大白菜类胡萝卜素分离鉴定和积累机理与调控研究 [D]. 江苏扬州: 扬州大学, 2008.
- CHEN P F. The study of identify and accumulation mechanisms and regulation control of carotenoid on Chinese cabbage [D]. Yangzhou Jiangsu: Yangzhou University, 2008.
- [21] 李 娟. 橙色大白菜类胡萝卜素和黄酮提取测定方法及其积累规律的研究 [D]. 陕西杨凌: 西北农林科技大学, 2007.
- LI J. The study of extraction and determination of carotenoid and flavonoids in orange-heading Chinese cabbages and its accumulation [D]. Yangling Shaanxi: Northwest A&F University, 2007.

- [22] ADALID A M, SALVADOR ROSELLO, MERCEDES VALCERCAL, *et al.* Analysis of the genetic control of β -carotene and L-ascorbic acid accumulation in an orange-brownish wild cherry tomato accession[J]. *Euphytica*, 2012, 184(2): 251-263.
- [23] WIMALASIRI D, BRKLJACA R, PIVA T J, *et al.* Comparative analysis of carotenoid content in *Momordica cochinchinensis* (Cucurbitaceae) collected from Australia, Thailand and Vietnam[J]. *Journal of Food Science & Technology*, 2017, 54(9): 2814-2824.
- [24] SALVADOR ROSELLO, ADALID A M, CEBOLLA-CORNEJO J, *et al.* Evaluation of the genotype, environment and their interaction on carotenoid and ascorbic acid accumulation in tomato germplasm[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2011, 91(6): 1014-1021.
- [25] 张立志. 橙色大白菜球叶中类胡萝卜素积累机理及其合成途径中相关酶基因的表达研究[D]. 陕西杨凌: 西北农林科技大学, 2010.
- ZHANG L ZH. The Mechanism of carotenoid accumulation and key gene expression in orange-heading Chinese cabbages[D]. Yangling Shaanxi: Northwest A&F University, 2010.
- [26] HARJES C E, ROCHEFORD T R, BAI L, *et al.* Natural genetic variation in lycopene epsilon cyclase tapped for maize biofortification[J]. *Science*, 2008, 319(5861): 330-333.
- [27] YAN J, KANDIANIS C B, HARJES C E, *et al.* Rare genetic variation at *Zea mays* crtRB1 increases beta-carotene in maize grain[J]. *Nature Genetics*, 2010, 42(4): 322-327.
- [28] 陈选阳, 张招娟. 甘薯生长期块根 β -胡萝卜素合成基因的表达分析[J]. 热带作物学报, 2011, 32(10): 1838-1842.
- CHEN X Y, ZHANG ZH J. Study on the relationship between accumulation of β -carotene and expression of genes for β -carotene biosynthesis in the storage roots of sweet potato [*Ipomoea batatas* L. (Lam)] [J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2011, 32(10): 1838-1842.
- [29] 王 慧, 欧承刚, 庄飞云, 等. 胡萝卜中类胡萝卜素积累与主要合成基因转录水平相关性分析[J]. 园艺学报, 2014, 41(12): 2513-2520.
- WANG H, OU CH G, ZHUANG F Y, *et al.* Relationship of carotenoid accumulation and transcript of main genes in carotenoid biosynthesis in carrot[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2014, 41(12): 2513-2520.
- [30] 刘英明, 姜 晶, 王 晶, 等. 番茄果实成熟过程中番茄红素含量及合成相关基因表达的分析[J]. 植物生理学报, 2013, 49(1): 47-52.
- LIU Y M, JIANG J, WANG J, *et al.* Analysis of lycopene content and biosynthetic related gene expression during maturation of tomato fruit[J]. *Plant Physiology Journal*, 2013, 49(1): 47-52.

Analysis of Carotenoid Accumulation Differences between Two Kinds of Chinese Cabbage with Orange Head in Different Production Areas

MA Shuai, WANG Ruofan, CHEN Lin, MENG Yan,

LU Qianqian and ZHANG Lugang

(College of Horticulture, Northwest A&F University, Yangling Shaanxi 712100, China)

Abstract In order to further study the relationship between carotenoid accumulation and environment in Chinese cabbage with orange head, the leaves of Chinese cabbage with orange head ‘14 za 1’ and ‘15 za 22’ from 8 different regions of China were used as materials in this paper, the qualitative and quantitative analysis of carotenoids were conducted by use of high efficiency liquid chromatography. The results showed that the content of β -carotene in the leaves of the two varieties from different areas are relatively stable, and the contents of α -carotene and lycopene were significantly different, and the trends were not consistent. In all regions, ‘14 za 1’ had a higher content of α -carotene than ‘15 za 22’, and both varieties had lower content of β -carotene than α -carotene. In 7 regions, the content of lycopene in ‘14 za 1’ was lower than that in ‘15 za 22’, and the content was significantly different among regions, which reached the highest level in Wuhan, Hubei province. It was found that the expression of LYCE in the two cultivars was consistent with the accumulation trend of α -carotene, and the expression of crtiso was similar to the accumulation trend of lycopene. The results indicated that the accumulation of carotenoids in Chinese cabbage with orange head is influenced by the genetic background, environmental conditions and their interaction under the presence of the key gene Br crtiso mutation. The mechanism is needed to further studied.

Key words Chinese cabbage with orangehead; Production areas; Accumulation of carotenoids; Gene expression

Received 2020-04-20

Returned 2020-06-08

Foundation item The National Key Research and Development Projects(No. 2017YFD0101802).

First author MA Shuai, female, master student. Research area: orange Chinese cabbage, carotenoids. E-mail: MS@nwafu.edu.cn

Corresponding author ZHANG Lugang, male, professor, doctoral supervisor. Research area: Chinese cabbage breeding. E-mail: lugangzh@163.com

(责任编辑:潘学燕 Responsible editor: PAN Xueyan)