

‘中油桃 9 号’及其黄肉突变体花和叶片中类胡萝卜素代谢及相关基因的时空表达

朱运钦^{1,2}, 曾文芳¹, 牛 良¹, 蔡祖国^{1,3}, 鲁振华¹, 潘 磊¹, 崔国朝¹, 王志强^{1,*}

(¹中国农业科学院郑州果树研究所, 郑州 450009; ²河南农业职业学院, 河南中牟 451450; ³河南科技学院, 河南新乡 453003)

摘 要: 以‘中油桃 9 号’及其黄肉芽变的花和叶片为试材, 采用 HPLC 法对类胡萝卜素的积累水平进行定性和定量分析, 实时荧光定量 PCR 法对类胡萝卜素代谢关键基因的表达水平进行分析。结果表明: 在花萼中, 黄肉突变体的总类胡萝卜素水平为‘中油桃 9 号’的 5.7 倍, 其中的 β -胡萝卜素为‘中油桃 9 号’的 19.6 倍; 除 *DXS* 和 *LCY-E* 外, 突变体花萼中无论是合成类胡萝卜素的基因, 还是降解类胡萝卜素基因的表达水平均显著高于‘中油桃 9 号’。在花瓣中, 两个材料的类胡萝卜素总量无显著差异, 但各类胡萝卜素成分含量存在显著差异; 突变体 *DXS*、*HDR*、*PDS*、*LCY-E*、*CHY-B* 和 *CCD1* 的表达量显著高于‘中油桃 9 号’, *ZDS*、*NCED1* 和 *CCD4* 的表达量显著低于‘中油桃 9 号’。在叶片中, ‘中油桃 9 号’和黄肉突变体均以 β -胡萝卜素、紫黄质、9-顺式-紫黄质和叶黄质为主, 幼果期时两个材料的类胡萝卜素总量无显著差异, 果实成熟后突变体的类胡萝卜素总量呈上升趋势, 显著高于‘中油桃 9 号’; 自花后 55 ~ 80 d, 仅 *CCD4* 的表达模式与类胡萝卜素的积累一致, 因而认为 *CCD4* 的表达差异是两个材料后期叶片类胡萝卜素含量差异的主要原因。

关键词: 油桃; 芽变; 白肉; 黄肉; 类胡萝卜素; 基因

中图分类号: S 662.1

文献标志码: A

文章编号: 0513-353X (2018) 10-1869-12

Temporal and Spatial Expression of Carotenoid Metabolism and Relative Genes in Flowers and Leaves of CN9 Nectarine and Its Yellow-fleshed Mutant

ZHU Yunqin^{1,2}, ZENG Wenfang¹, NIU Liang¹, CAI Zuguo^{1,3}, LU Zhenhua¹, PAN Lei¹, CUI Guochao¹, and WANG Zhiqiang^{1,*}

(¹Zhengzhou Fruit Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450009, China; ²Henan Vocational College of Agriculture, Zhongmu, Henan 451450, China; ³Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang, Henan 453003, China)

Abstract: Two nectarine cultivars, CN9 (white-fleshed) and its yellow-fleshed mutant CN9Y, were used as materials to investigate carotenoids metabolism and genes expression. Qualitative and quantitative

收稿日期: 2018-05-07; **修回日期:** 2018-09-06

基金项目: 中国农业科学院科技创新工程专项经费项目 (CAAS-ASTIP-2018-ZFRI); 国家科技支撑计划项目 (2014BAD16B04); 河南省现代农业产业技术体系建设专项资金项目 (Z2014-11-01)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: wangzhiqiang@caas.cn)

levels of carotenoids were analyzed by using HPLC, the expression of genes related to carotenoid accumulation were detected via real-time qPCR method. The results showed that the total carotenoid and β -carotene content of CN9Y nectarine were 5.7 and 19.6 times higher than that of CN9 respectively in calyxes. Carotenoid metabolism genes of both biosynthesis and degradation showed significant higher expression level in CN9Y calyxes than in CN9, except *DXS* and *LCY-E*. In petals, the total carotenoid content was similar between CN9 and CN9Y, but their carotenoid composition contents were different. The gene expression levels of *DXS*, *HDR*, *PDS*, *LCY-E*, *CHY-B* and *CCD1* were higher in CN9Y petals than in CN9, but *ZDS*, *NCED1* and *CCD4* were lower in CN9Y than in CN9. In leaves, the carotenoid compositions of CN9 and CN9Y were all dominated by β -carotene, violaxanthin, *cis*-9-violaxanthin and lutein, the total carotenoid content was similar between CN9 and CN9Y during early fruit development stage, but CN9Y obviously increased after fruits matured, however, CN9 was still stabilized. During 55 - 80 d after flowering, only the expression level of *CCD4* was in accordance with carotenoid accumulation, it is suggested that the difference of *CCD4* expression level may lead to the difference of carotenoid accumulation in leaves between the two materials in later stage.

Keywords: nectarine; mutant; white-flesh; yellow-flesh; carotenoid; gene

桃 (*Prunus persica*) 是全世界广泛种植的重要温带落叶果树之一, 在果树生产中占有非常重要的地位。黄肉桃中含有丰富的类胡萝卜素 (Andreaz et al., 2007; Vaio et al., 2008; Adami et al., 2013; Ma et al., 2014; 朱运钦 等, 2015), 对人体具有很好的保健作用。在植物的光合作用过程中, 类胡萝卜素担负着天线色素的功能, 并且能消耗掉过量摄入的光能, 从而使细胞器免受强光损伤 (Bartley & Scolnik, 1995; Moehs et al., 2001)。因而, 提高果实中的类胡萝卜素含量是黄肉桃育种的一个发展方向。

‘中油桃 9 号’ (CN9) 是由中国农业科学院郑州果树研究所培育出的白肉型油桃优良品种, 其黄肉突变体是 2008 年在安徽省砀山县一棵 ‘中油桃 9 号’ 桃树上发现的单枝黄肉型变异, 经多年多次高接鉴定, 确定其为 ‘中油桃 9 号’ 的突变体。从外部特征看, ‘中油桃 9 号’ 与突变体的果肉和花萼内壁颜色有十分明显的差异, 后期的叶色也稍有差异。类胡萝卜素是高等植物光合膜的组成成分, 主要存在于叶片的叶绿体以及花和果实等器官的有色体中, 是植物光合作用过程中的辅助色素 (Bartley & Scolnik, 1995; Moehs et al., 2001), 因而突变也可能会影响到叶片的类胡萝卜素代谢。本研究在对 ‘中油桃 9 号’ 及其黄肉突变体果实类胡萝卜素代谢和相关基因表达研究的基础上 (朱运钦 等, 2015), 更系统地研究了突变引起的花和叶片中类胡萝卜素代谢和相关基因的表达。

1 材料与方法

1.1 试验材料及取样方法

供试材料种植在中国农业科学院郑州果树研究所桃育种圃内, ‘中油桃 9 号’ 及其黄肉突变体分别高接在同一株开心形桃树的两个主枝上, 共嫁接 5 株。所有试验树田间管理措施一致。于 2015 年盛花期取花朵, 随即分离为花萼和花瓣, 盛花后 25、35、45、55、65 (果实成熟期) 和 80 d 取新梢中部的成熟叶片, 取样均重复 3 次 (分别取自 3 株树), 每次重复取叶 40 片, 花朵 50 g, 所有样品均经快速整理后用液氮速冻, 置于 -80 °C 冰箱保存备用。

1.2 类胡萝卜素的提取和检测

称取叶片 1.0 g、花萼 2.0 g、花瓣 2.0 g, 用液氮研磨成粉末, 按照朱运钦等 (2015) 的方法提取类胡萝卜素。检测仪器为 Waters 1525 高效液相色谱 (HPLC) 系统 (美国), 仪器配置为 Waters 2996 二极管阵列检测器、Waters 717 自动进样器、Empower 色谱管理软件和 YMC C30 类胡萝卜素分析专用色谱柱 (250 mm × 4.6 mm I.D.)。类胡萝卜素标准品购自美国 Sigma 公司和瑞士 CaroteNature 公司。

HPLC 洗脱程序、类胡萝卜素标准曲线的制作和定性定量测定均采用刘庆 (2008) 的方法, 类胡萝卜素总量的测定采用分光光度法 (张学杰 等, 2007)。试验数据分析按两个样本平均数差异显著性检验方法进行。

1.3 RNA 的提取、反转录和实时荧光定量 PCR

叶片总 RNA 利用 RNeasy Pure 植物总 RNA 提取试剂盒 [天根生化科技 (北京) 有限公司] 提取, 花萼和花瓣总 RNA 利用 Sangon Biotech 柱式植物总 RNA 提取纯化试剂盒 [生工生物工程 (上海) 股份有限公司] 提取。提取的 RNA 经琼脂糖凝胶电泳检测其完整性, NANODROP 1000 核酸蛋白仪 (美国) 检测其浓度, 反转录反应利用 FastQuant RT Kit cDNA 第一链合成试剂盒 (TIANGEN 公司) 在 PCR 仪中完成。每个样品均重复 3 ~ 4 次。

根据文献 (Brandi et al., 2011) 合成 *DXS*、*HDR*、*PSY*、*PDS*、*ZDS*、*LCY-B*、*LCY-E*、*CHY-B*、*CHY-E*、*ZEP*、*CCD1*、*CCD4*、*NCED1*、*NCED2* 基因和内参基因 *rps28* 的引物。引物合成委托生工生物工程 (上海) 股份有限公司完成。荧光定量 PCR 反应在 LightCycler 480 II 型实时荧光定量 PCR 仪中进行, 采用 SYBR Green I Master 试剂盒 (Roche, 瑞士) 进行扩增, 反应程序为: 95 °C 5 min; 95 °C 30 s, 60 °C 30 s, 72 °C 30 s, 共 40 个循环。内参基因 *rps28* 作为对照基因, 与 14 个目标基因同时扩增。PCR 扩增结束后进行熔解曲线分析, 以确定正确扩增子的唯一性。每个样品重复 3 次。相对表达量的计算采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法 (Livak & Schmittgen, 2001), 并对 ‘中油桃 9 号’ 与黄肉突变体的基因表达相对值进行显著性检验。

2 结果与分析

2.1 花萼和花瓣的类胡萝卜素含量和基因表达分析

2.1.1 类胡萝卜素成分和含量

‘中油桃 9 号’ 与其黄肉突变体的花萼筒内壁颜色具有明显差异, ‘中油桃 9 号’ 为淡黄色至黄绿色, 突变体为橘红色 (图 1)。花萼和花瓣的类胡萝卜素成分及含量如表 1。在花萼中, ‘中油桃 9 号’ 共检测到 7 种类胡萝卜素成分, 以紫黄质、叶黄质和 β -胡萝卜素为主; 突变体共检测到了 11 种, 以 β -胡萝卜素为主 (占 71.32%)。‘中油桃 9 号’ 与突变体间除紫黄质和叶黄质的含量差异不显著外, 其他类胡萝卜素含量均存在显著差异, 其中差别最大的是 β -胡萝卜素, 突变体 ($115.70 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}\text{FW}$) 为 ‘中油桃 9 号’ 的 19.6 倍。在花瓣中, ‘中油桃 9 号’ 共检测到 9 种类胡萝卜素成分, 突变体检测到了 8 种, ‘中油桃 9 号’ 的多数类胡萝卜素组分含量显著高于突变体。



图1 ‘中油桃9号’ (CN9) 与其黄肉突变体 (CN9Y) 的花对比
Fig. 1 The comparison of flowers between CN9 and yellow-flesh mutant (CN9Y) nectarines

突变体花萼中的类胡萝卜素总量为 $133.73 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}\text{FW}$ ，为‘中油桃9号’ ($23.56 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}\text{FW}$) 的5.7倍；在花瓣中，突变体与‘中油桃9号’的类胡萝卜素总量差异不显著 (表1)。花萼与花瓣类胡萝卜素总量相比，‘中油桃9号’差别不大，但突变体的花萼远高于花瓣。

表1 ‘中油桃9号’ (CN9) 与其黄肉突变体 (CN9Y) 花萼和花瓣的类胡萝卜素成分及含量

Table 1 The carotenoid composition and content in calyces and petals of CN9 and CN9Y nectarines $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}\text{FW}$							
部位 Position	材料 Material	β -胡萝卜素 β -carotene	紫黄质 Violaxanthin	顺式- β -胡萝卜素 <i>cis</i> - β -carotene	9-顺式-紫黄质 <i>cis</i> -9-violaxanthin	叶黄质 Lutein	玉米黄质 Zeaxanthin
花萼 Calyx	CN9	5.91	12.04	1.03	2.24	7.87	1.21
	CN9Y	115.70**	12.24	9.67**	3.50**	7.16	5.83**
花瓣 Petal	CN9	13.41	2.59	17.62	0.31	3.40	1.68
	CN9Y	7.14**	0.98**	8.81**	—	2.55*	0.87*

部位 Position	材料 Material	β -隐黄质 β -cryptoxanthin	花药黄质 Antheraxanthin	新黄质 Neoxanthin	α -隐黄质 α -crypto-xanthin	α -胡萝卜素 α -carotene	总类胡萝卜素 Total carotenoid
花萼 Calyx	CN9	—	1.84	—	—	—	23.56
	CN9Y	2.33	2.64**	0.84	1.97	0.34	133.73**
花瓣 Petal	CN9	0.01	0.16	—	0.31	—	28.60
	CN9Y	0.08	0.02*	—	0.36	—	31.20

注：“*”表示‘中油桃9号’与突变体在0.05水平差异显著，“**”表示在0.01水平差异显著，“—”表示未检测到该物质。下同。
Note: “*” means significant difference at 0.05 level between ‘CN9’ and mutant, “**” means significant difference at 0.01 level, “—” means not detected. The same below.

2.1.2 类胡萝卜素代谢相关基因的表达

花萼和花瓣类胡萝卜素代谢相关基因的表达如图2。
在花萼中，除 *DXS* 和 *LCY-E* 外，突变体中无论是合成类胡萝卜素相关的基因 (*HDR*、*PSY*、*PDS*、*ZDS*、*LCY-B*、*CHY-B*、*CHY-E*、*ZEP*)，还是降解类胡萝卜素基因 (*NCED1*、*NCED2*、*CCD1*、*CCD4*) 的表达水平均显著高于‘中油桃9号’，同时类胡萝卜素总量及大多数组分含量也远高于‘中油桃9号’。由此看来，突变体花萼合成类胡萝卜素的速率远大于降解。
在花瓣中，突变体的 *DXS*、*HDR*、*PDS*、*LCY-E*、*CHY-B* 和 *CCD1* 的表达量均显著高于‘中油桃9号’，*ZDS*、*NCED1* 和 *CCD4* 的表达量显著低于‘中油桃9号’，这些基因的共同表达导致类胡萝卜素总量最终无显著差异。

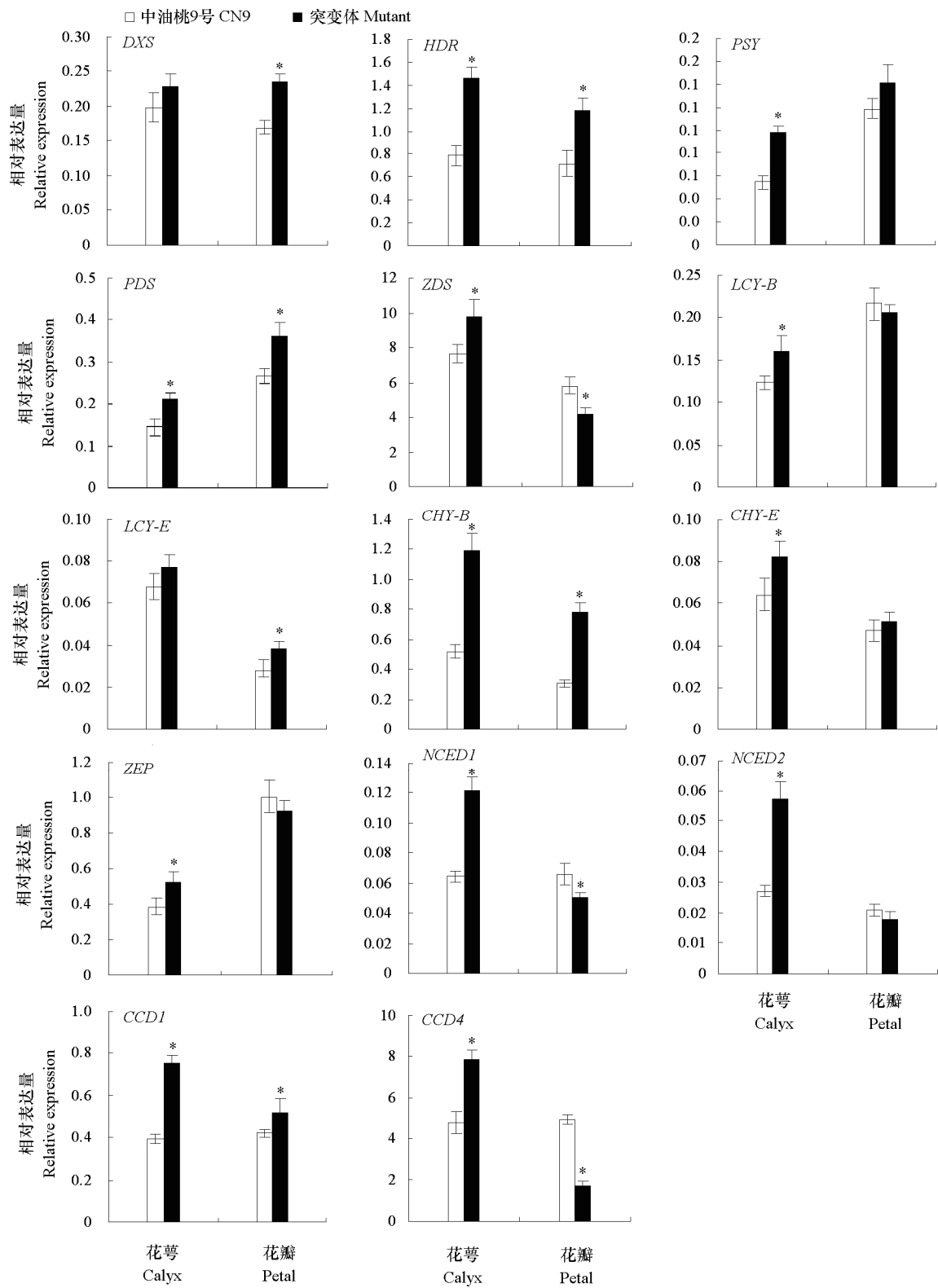


图 2 ‘中油桃 9 号’ (CN9) 与其黄肉突变体 (CN9Y) 花萼和花瓣类胡萝卜素代谢相关基因的表达

Fig. 2 The expression of genes related to carotenoid accumulation in calyxes and petals of CN9 and CN9Y nectarines

2.2 叶片的类胡萝卜素含量和基因表达分析

2.2.1 类胡萝卜素成分和含量

各时期叶片的类胡萝卜素组分及含量如表 2。‘中油桃 9 号’和突变体均以 β -胡萝卜素、紫黄质、9-顺式-紫黄质和叶黄质为主。果实采收（花后 65 d）至采收后 15 d（花后 80 d），突变体叶片的类胡萝卜素总量及大多数类胡萝卜素组分含量显著高于‘中油桃 9 号’，并且差距有增大趋势。

‘中油桃 9 号’与突变体的类胡萝卜素总量及各组分含量的积累趋势相似。 β -胡萝卜素、顺式- β -胡萝卜素、玉米黄质、新黄质和 β -隐黄质在两个材料中均表现为花后 45 d 或 55 d 之前呈下降趋势，之后至果实成熟期（花后 65 d）为上升趋势；紫黄质自花后 25~80 d（果实采收后 15 d）呈缓慢下降趋势；9-顺式-紫黄质、叶黄质和花药黄质的含量变化不大； α -隐黄质在花后 45 d 之前无积累，花后 45~80 d 呈快速上升趋势； α -胡萝卜素自花后 25 d 开始呈下降趋势，花后 45 d 之后不再积累。

表 2 不同时期叶片的类胡萝卜素成分和含量
Table 2 The carotenoid composition and content in leaves at different stages $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$

花后天数 Days after full bloom	油桃 Nectarine	β -胡萝卜素 β -carotene	顺式- β -胡萝卜素 <i>cis</i> - β -carotene	紫黄质 Violaxanthin	9-顺式-紫黄质 <i>cis</i> -9-violaxanthin	叶黄质 Lutein	β -隐黄质 β -cryptoxanthin
25	CN9	92.22	8.02	190.08	67.09	136.03	1.09
	CN9Y	101.31	8.81	223.23*	76.54	136.68	1.73*
35	CN9	84.99	7.11	176.99	65.85	131.43	0.50
	CN9Y	84.33	6.98	205.55*	68.89	127.15	0.91*
45	CN9	56.10	4.77	159.26	64.56	115.61	—
	CN9Y	74.21*	6.14*	178.18	70.38	119.40	0.54
55	CN9	61.26	3.58	145.84	66.52	113.03	—
	CN9Y	78.79*	5.52*	172.61*	72.89	133.20*	0.76
65	CN9	76.96	4.46	146.71	65.45	128.32	0.15
	CN9Y	88.21*	5.41*	177.09*	75.79*	124.59	0.90*
80	CN9	69.19	5.08	108.93	62.19	114.83	0.23
	CN9Y	94.87*	7.36*	145.11*	77.06*	115.44	1.01*

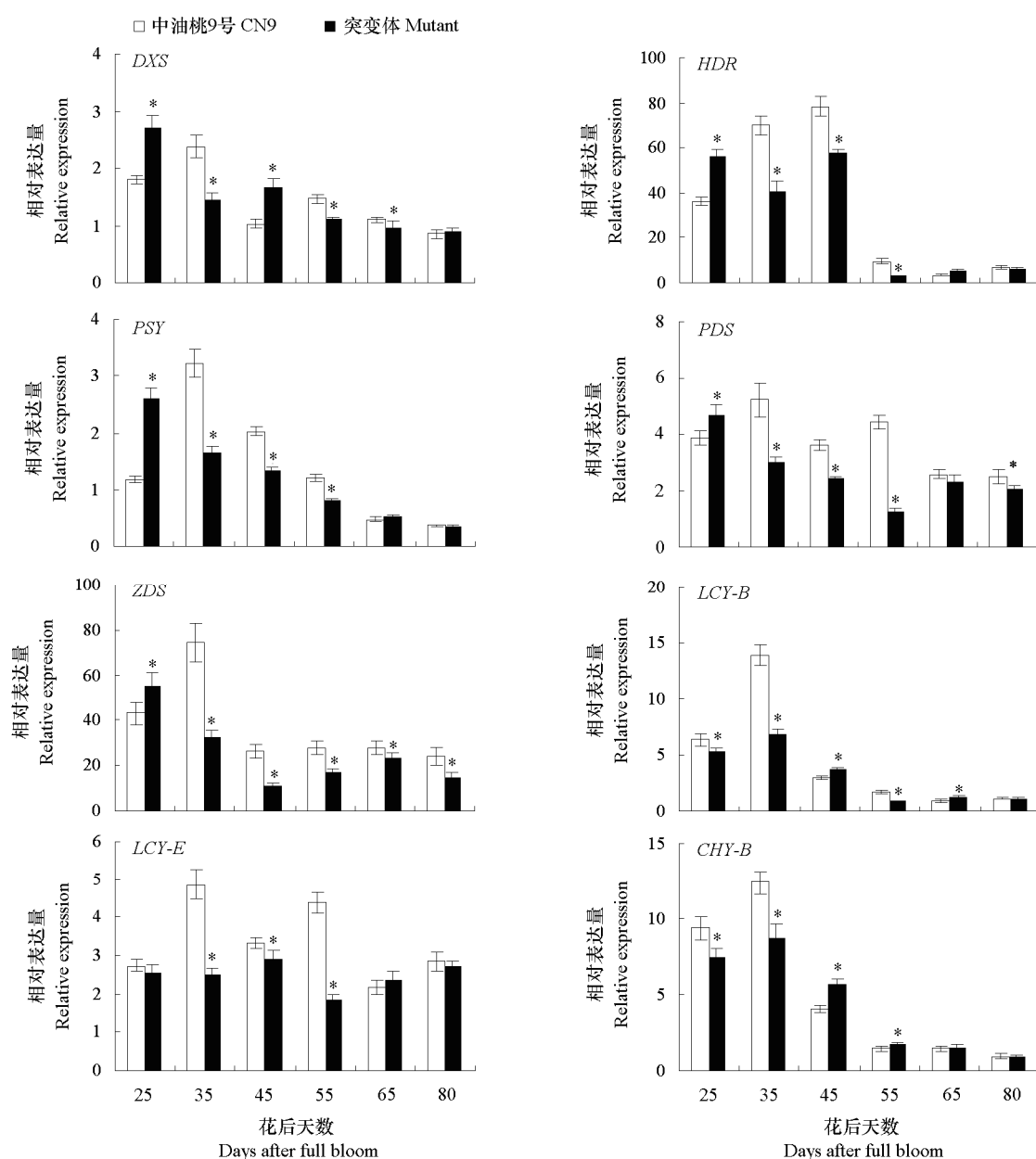
花后天数 Days after full bloom	油桃 Nectarine	玉米黄质 Zeaxanthin	花药黄质 Antheraxanthin	新黄质 Neoxanthin	α -隐黄质 α -crypto-xanthin	α -胡萝卜素 α -carotene	总类胡萝卜素 Total carotenoid
25	CN9	11.23	15.72	3.12	—	0.52	225.79
	CN9Y	10.08	27.47*	2.61*	—	0.45	227.35
35	CN9	4.13	15.07	2.52	—	0.28	219.67
	CN9Y	10.19*	27.99*	2.33	—	0.13*	226.22
45	CN9	0.91	16.45	0.54	0.17	—	198.85
	CN9Y	1.42*	26.52*	1.99*	0.34*	—	228.87*
55	CN9	3.58	16.52	—	0.27	—	157.35
	CN9Y	5.17*	24.34*	1.96	0.46*	—	187.99*
65	CN9	5.53	17.73	—	0.75	—	211.92
	CN9Y	7.25*	22.24*	2.11	1.47*	—	232.92*
80	CN9	1.86	13.41	0.79	1.71	—	209.42
	CN9Y	5.52*	22.20*	2.64*	2.58*	—	261.41*

2.2.2 类胡萝卜素代谢相关基因的表达

叶片类胡萝卜素代谢相关基因的表达如图 3。除 *PDS* 和 *LCY-E* 外，‘中油桃 9 号’与突变体各基因的表达模式均相似。除 *LCY-E* 和 *CCD4* 外，其余基因自花后 35 d 或 45 d 至花后 80 d 均呈明显下调表达模式，与类胡萝卜素积累的趋势不一致，类胡萝卜素的积累可能受多种调控机制的影响。

NCED1 和 *NCED2* 都是降解紫黄质和新黄质的基因, 花后 25 ~ 35 d, *NCED1* 和 *NCED2* 在 ‘中油桃 9 号’ 中的表达量远高于突变体, 与此时期 ‘中油桃 9 号’ 叶片中的紫黄质含量显著低于突变体基本一致, 但与新黄质含量不一致。*CCD4* 也是降解类胡萝卜素的基因, 花后 55 ~ 80 d, 在 ‘中油桃 9 号’ 中的表达量远高于突变体, 与该时期 ‘中油桃 9 号’ 的类胡萝卜素总量及大多数类胡萝卜素组分含量显著低于突变体一致, 因而认为 *CCD4* 的表达差异是两个材料后期叶片类胡萝卜素含量差异的主要原因。

LCY-E 在突变体各时期叶片中的表达量变化不大, 与其控制的下游产物叶黄质的积累趋势基本一致; 但在 ‘中油桃 9 号’ 的叶片中, 该基因在花后 35 d 和 55 d 出现了明显的高表达, 这与其叶黄质积累趋势不一致。



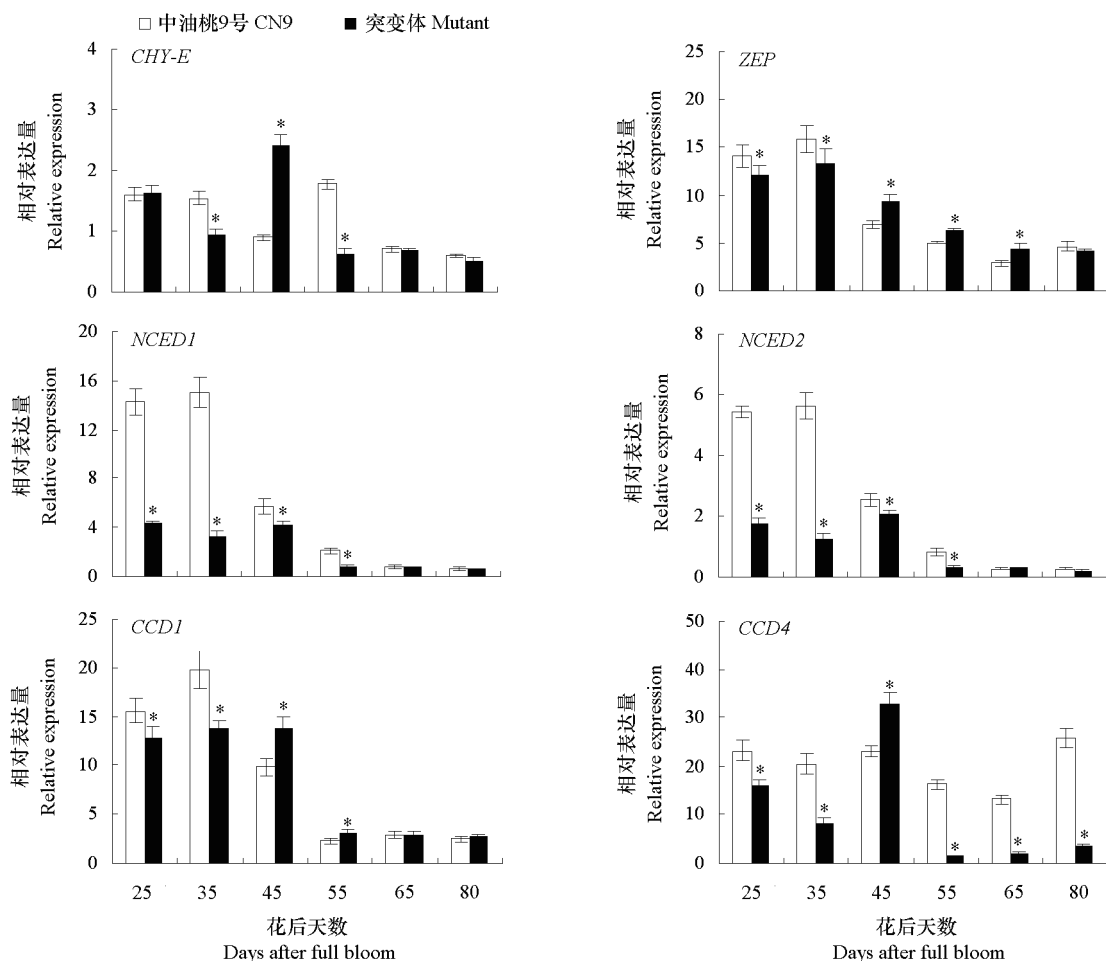


图 3 不同时期 ‘中油桃 9 号’ (CN9) 与黄肉突变体 (CN9Y) 叶片类胡萝卜素代谢相关基因的表达
Fig. 3 The expression of genes related to carotenoid accumulation in CN9 and CN9Y nectarine leaves at different stages

3 讨论

在类胡萝卜素的代谢途径中, 形成 β -胡萝卜素之前的上游基因表达能促进 β -胡萝卜素的积累, 而下游基因的表达则促进 β -胡萝卜素向其他类胡萝卜素成分的转化或降解。本试验中, 黄肉突变体花萼的类胡萝卜素成分主要是 β -胡萝卜素, 其含量远高于 ‘中油桃 9 号’, 同时突变体中合成 β -胡萝卜素的大多数基因以及 4 个降解类胡萝卜素的基因 *NCED1*、*NCED2*、*CCD1* 和 *CCD4* 的表达水平均显著高于 ‘中油桃 9 号’, 这表明其合成类胡萝卜素的速率远大于降解, 可能是类胡萝卜素代谢流的增加引起了 β -胡萝卜素含量和类胡萝卜素总量的增加。‘中油桃 9 号’ 花瓣中 *CCD4* 的表达量显著高于突变体, 但两个材料的类胡萝卜素总量水平无显著差异, 这与 *CCD4* 的表达不一致, Yamamizo 等 (2010) 在研究牵牛花类胡萝卜素组成与基因表达相关性时也有类似的报道, 具体原因尚需进一步深入研究。在叶片中, 花后 35 d 或 45 d 之后, 类胡萝卜素合成途径中的大部分基因呈下调表达模式, 而色素的积累并没有表现出明显下降趋势, 可能与光合作用的加强以及叶绿体的发育有关 (Bartley et al., 1995; Moehs et al., 2001); 也有一些研究者认为代谢产物的反馈机制会

影响相应基因的表达和总类胡萝卜素代谢流 (Beyer et al., 2002; Cazzonelli & Pogson, 2010; Arango & Welsch, 2014)。叶黄质是叶片类胡萝卜素的主要成分之一。王慧等 (2014) 认为, 在胡萝卜叶中 *LCYE* 表达量与叶黄素、总类胡萝卜素含量之间呈负相关, 但在本研究中没有观察到类似的结果。本研究中 '中油桃 9 号' 叶片中 *CCD4* 的表达量在大多数时期显著高于突变体, 并且 *CCD4* 在突变体后期叶片中呈明显下调表达, 但两个材料的叶黄质含量在大多数时期无显著差别, 并且突变体中叶黄质的积累量变化不大, 这表明叶黄质的积累不受 *CCD4* 表达水平的影响。Ma 等 (2014) 认为 *CCD4* 酶主要以 β -胡萝卜素为底物, 并且 *CCD4* 只控制桃叶片中脉类胡萝卜素的形成。

桃叶片、花萼、花瓣、果肉、果皮等组织在不同时期的叶绿素和类胡萝卜素含量及组分显著不同 (许建兰 等, 2010; Brandi et al., 2011; 颜少宾 等, 2013; Ma et al., 2014; 朱运钦 等, 2015), 因此, 在研究这些组织的类胡萝卜素含量及组分时, 首先要保证取材时各种组织的纯净性, 尽量减少其他组织的干扰; 二是在提取和皂化过程中尽量减少色素的丢失及降解、转化; 三是针对不同组织继续探索和开发新的类胡萝卜素的提取方法。

类胡萝卜素代谢的调节机制极其复杂, 包括类胡萝卜素代谢途径的基因突变、基因表达、转录因子的调控、质体发育及类胡萝卜素的存储、光合作用能力、代谢途径中产物的反馈机制等。Toledo-Ortiz 等 (2010) 认为光敏色素作用因子 (PIFs) 能直接抑制八氢番茄红素合成酶活性, 导致类胡萝卜素积累下降; 李佩荣等 (2014) 发现, 大白菜橘红心的出现是由于编码类胡萝卜素异构酶的基因 *CRTISO* 的编码区存在 53 个 SNP 和 6 个碱基缺失; Marty 等 (2005) 报道, 乙烯能调节杏果实类胡萝卜素的积累和类胡萝卜素合成基因的表达; Nogueira 等 (2013) 认为, 类胡萝卜素水平的变化可能激发不同的调节机制, 导致信号级联反应的活化, 最后在细胞中产生适应性反应。叶绿体和有色体是合成和贮存类胡萝卜素代谢物的主要细胞器, 其类型、大小、形态和发育阶段影响类胡萝卜素的积累水平 (Lopez-Juez & Pyke, 2005; Hannoufa & Hossain, 2012; Kilcrease et al., 2013; Li & Yuan, 2013; 郑益平 等, 2013); 在叶绿体中, 由于类囊体膜和质体小球具有很强的固定和贮存类胡萝卜素的能力, 导致在绿色组织中积累高水平的类胡萝卜素 (Li et al., 2001; Lu et al., 2006; 郑益平 等, 2013; Nisar et al., 2015)。本试验中, '中油桃 9 号' 和突变体叶片的类胡萝卜素水平远高于花瓣和花萼, 并且在叶片中类胡萝卜素合成基因呈下调表达模式, 与类胡萝卜素的积累不一致, 这是否与叶绿体固定和贮存类胡萝卜素的能力及随季节变化引起的光合作用变化有关, 仍需进一步研究。

类胡萝卜素剪接加双氧酶 (CCDs) 催化类胡萝卜素的氧化和剪接, 形成各种脱辅基类胡萝卜素 (Auldrige et al., 2006)。在植物中, 类胡萝卜素加双氧酶基因是一个多基因家族 (Tan et al., 2003; Kato et al., 2006), *CCD1* 和 *CCD4* 调节类胡萝卜素含量的作用已被人们证实, 在拟南芥种子、玉米、菊花、马铃薯块茎、草莓果实、草原龙胆、桃和苹果果肉等植物组织中, 均发现了类胡萝卜素的积累与 *CCD4* 或 *CCD1* 的表达呈负相关的现象 (Ohmiya et al., 2006; Vallabhaneni et al., 2010; Brandi et al., 2011; Liu et al., 2013; Ma et al., 2014; Nisar et al., 2015; 朱运钦 等, 2015; 宋成秀 等, 2017); *CCD7* 和 *CCD8* 也降解类胡萝卜素, 与独脚金内酯的形成有关 (Gomez-Roldan et al., 2008; Umehara et al., 2008; Alder et al., 2012; Ruyter-Spira et al., 2013)。NCED 家族剪接环氧类胡萝卜素的 9-顺式异构体, 形成脱落酸 ABA 的前体物质 (Tan et al., 2003)。本试验中, 花后 55 d 之后, *NCED1*、*NCED2* 和 *CCD1* 的表达量在 '中油桃 9 号' 与突变体叶片间均无显著差异, 而 *CCD4* 在 '中油桃 9 号' 中的表达量远高于突变体, 表明这是造成 '中油桃 9 号' 后期叶片的类胡萝卜素总量显著低于突变体的主要原因, 这一点与前人研究桃果肉类胡萝卜素积累的报道 (Brandi et al.,

2011; Ma et al., 2014; 朱运钦 等, 2015) 相似。关于 *CCD4* 的突变机理, 前人认为在不同的植物之间是不同的, 在黄色菊花中类胡萝卜素的形成是由于基因组中丢失了 *CCD4* (Ohmiya et al., 2006); 在黄肉桃中则是由于 *CCD4* 中增加了一个 TC 重复序列, 导致提前出现一个终止密码子, 从而使 *CCD4* 失活 (Falchi et al., 2013); 还有一些报道认为, 单个核苷酸的替换和逆转录转座子的插入也会导致 *CCD4* 突变而失去功能 (Adami et al., 2013; Falchi et al., 2013)。

References

- Adami M, Franceschi P D, Brandi F, Liverani A, Giovannini D, Rosati C, Dondini L, Tartarini S. 2013. Identifying a carotenoid cleavage dioxygenase (*CCD4*) gene controlling yellow/white fruit flesh color of peach. *Plant Molecular Biology Reporter*, 31: 1166 – 1175.
- Alder A, Jamil M, Marzorati M, Bruno M, Vermathen M, Bigler P, Ghisla S, Bouwmeester H, Beyer P, Al-Babili S. 2012. The path from β -carotene to carlactone, a strigolactone-like plant hormone. *Science*, 335: 1348 – 1351.
- Andreaz D V, Ilaria M, Anna S, Fabio G, Salvatore C. 2007. The antioxidant profile of three different peaches cultivars (*Prunus persica*) and their short-term effect on antioxidant status in human. *European Food Research and Technology*, 225: 167 – 172.
- Arango J, Welsch R. 2014. Carotene hydroxylase activity determines the levels of both α -carotene and total carotenoids in orange carrots. *Plant Cell*, 26: 2223 – 2233.
- Auldridge M E, Mccarty D R, Klee H J. 2006. Plant carotenoid cleavage oxygenases and their apocarotenoid products. *Current Opinion in Plant Biology*, 9: 315 – 321.
- Bartley G E, Scolnik P A. 1995. Plant carotenoids: pigments for photoprotection, visual attraction, and human health. *Plant Cell*, 7: 1027 – 1038.
- Beyer P, Albabili S, Ye X, Lucca P, Schaub P, Welsch R, Potrykus I. 2002. Golden rice: introducing the β -carotene biosynthesis pathway into rice endosperm by genetic engineering to defeat vitamin A deficiency. *Journal of Nutrition*, 132: 5065 – 5105.
- Brandi F, Bar E, Mourgues F, Horváth G, Turcsi E, Giuliano G, Liverani A, Tartarini S, Lewinsohn E, Rosati C. 2011. Study of ‘Redhaven’ peach and its white-fleshed mutant suggests a key role of *CCD4* carotenoid dioxygenase in carotenoid and norisoprenoid volatile metabolism. *BMC Plant Biology*, 11: 1 – 14.
- Cazzonelli C I, Pogson B J. 2010. Source to sink: regulation of carotenoid biosynthesis in plants. *Trends in Plant Science*, 15: 266 – 274.
- Falchi R, Vendramin E, Zanon L, Scalabrin S, Cipriani G, Verde I, Vizzotto G, Morgante M. 2013. Three distinct mutational mechanisms acting on a single gene underpin the origin of yellow flesh in peach. *The Plant Journal*, 76: 175 – 187.
- Gomez-Roldan V, Fermas S, Brewer P B, Puech-Pages V, Dun E A, Pillot J P, Letisse F, Matusova R, Danoun S, Portais J C, Bouwmeester H, Bécard G, Beveridge C A, Rameau C, Rochange S F. 2008. Strigolactone inhibition of shoot branching. *Nature*, 455: 189 – 194.
- Hannoufa A, Hossain Z. 2012. Regulation of carotenoid accumulation in plants. *Biocatalysis & Agricultural Biotechnology*, 1: 198 – 202.
- Kato M, Matsumoto H, Ikoma Y, Okuda H, Yano M. 2006. The role of carotenoid cleavage dioxygenases in the regulation of carotenoid profiles during maturation in citrus fruit. *Journal of Experimental Botany*, 57: 2153 – 2164.
- Kilcrease J, Collins A M, Richins R D, Timlin J A, O’Connell M A. 2013. Multiple microscopic approaches demonstrate linkage between chromoplast architecture and carotenoid composition in diverse *Capsicum annuum* fruit. *Plant Journal for Cell & Molecular Biology*, 76: 1074 – 1083.
- Liu H, Kishimoto S, Yamamizo C, Fukuta N, Ohmiya A. 2013. Carotenoid accumulations and carotenogenic gene expressions in the petals of *Eustoma grandiflorum*. *Plant Breeding*, 132: 417 – 422.
- Li L, Paolillo D J, Parthasarathy M V, Dimuzio E M, Garvin D F. 2001. A novel gene mutation that confers abnormal patterns of β -carotene accumulation in cauliflower (*Brassica oleracea* var. *botrytis*). *Plant Journal for Cell & Molecular Biology*, 26: 59 – 67.
- Li L, Yuan H. 2013. Chromoplast biogenesis and carotenoid accumulation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 539: 102 – 109.
- Li Pei-rong, Zhang Shu-jiang, Zhang Shi-fan, Li Fei, Zhang Hui, Liu Xin-yan, Wu Jian, Wang Xiao-wu, Sun Ri-fei. 2014. Analysis of the carotenoids pigments and orange inner leaf gene in Chinese cabbage (*Brassica rapa*). *Acta Horticulturae Sinica*, 41 (3): 469 – 478. (in Chinese)
- 李佩荣, 张淑江, 章时蕃, 李 菲, 张 慧, 刘新艳, 武 剑, 王晓武, 孙日飞. 2014. 大白菜橘红心类胡萝卜素组分及其基因分析. 园

- 艺学报, 41 (3): 469 – 478.
- Liu Qing. 2008. Molecular mechanism for the altered traits of the red flesh bud sport of ‘Anliu’ sweet orange [Ph. D. Dissertation]. Wuhan: Huangzhong Agricultural University. (in chinese)
- 刘 庆. 2008. ‘暗柳’甜橙红色突变体性状形成的分子机理研究 [博士论文]. 武汉: 华中农业大学.
- Livak K J, Schmittgen T D. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. *Methods*, 25: 402 – 408.
- Lopez-Juez E, Pyke K A. 2005. Plastids unleashed: their development and their integration in plant development. *The International Journal of Developmental Biology*, 49: 557 – 577.
- Lu S, Van Eck J, Zhou X, Lopez A B, O'Halloran D M, Cosman K M, Conlin B J, Paolillo D J, Garvin D F, Vrebalov J, Kochian L V, Küpper H, Earle E D, Cao J, Li L. 2006. The cauliflower *Or* gene encodes a DnaJ cysteine-rich domain-containing protein that mediates high levels of β -carotene accumulation. *Plant Cell*, 18: 3594 – 3605.
- Ma J J, Li J, Zhao J B, Zhou H, Ren F, Wang L, Gu C, Liao L, Han Y P. 2014. Inactivation of a gene encoding carotenoid cleavage dioxygenase (CCD4) leads to carotenoid-based yellow coloration of fruit flesh and leaf midvein in peach. *Plant Molecular Biology Reporter*, 32: 246 – 257.
- Marty I, Bureau S, Sarkissian G, Gouble B, Audergon J M, Albagnac G. 2005. Ethylene regulation of carotenoid accumulation and carotenogenic gene expression in colour-contrasted apricot varieties (*Prunus armeniaca*). *Journal of Experimental Botany*, 56: 1877 – 1886.
- Moehs C P, Tian Li, Osteryoung K W, DellaPenna D. 2001. Analysis of carotenoid biosynthetic gene expression during marigold petal development. *Plant Molecular Biology*, 45: 281 – 293.
- Nisar N, Li L, Lu S, Khin N C, Pogson B J. 2015. Carotenoid metabolism in plants. *Molecular Plant*, 8: 68 – 82.
- Nogueira M, Mora L, Enfissi E M A, Bramley P M, Fraser P D. 2013. Subchromoplast sequestration of carotenoids affects regulatory mechanisms in tomato lines expressing different carotenoid gene combinations. *Plant Cell*, 25: 4560 – 4579.
- Ohmiya A, Kishimoto S, Aida R, Yoshioka S, Sumitomo K. 2006. Carotenoid cleavage dioxygenase (CmCCD4) contributes to white color formation in chrysanthemum petals. *Plant Physiology*, 142: 1193 – 1201.
- Ruyter-Spira C, Al-Babili S, Krol S V D, Bouwmeester H. 2013. The biology of strigolactones. *Trends in Plant Science*, 18: 72 – 83.
- Song Cheng-xiu, Zhang Li-yi, Zhang Cai-xia, Tian Yi, Cong Pei-hua. 2017. Differential expression analysis of the fruits of yellow-fleshed apple and exploits genes involved in carotenoid pigmentation. *Acta Horticulturae Sinica*, 44 (2): 205 – 214. (in Chinese)
- 宋成秀, 张利义, 张彩霞, 田 义, 丛佩华. 2017. 黄肉苹果转色期前后类胡萝卜素合成相关差异表达基因鉴定. *园艺学报*, 44 (2): 205 – 214.
- Tan B C, Joseph L M, Deng W T, Liu L J, Li Q B, Cline K, McCarty D R. 2003. Molecular characterization of the *Arabidopsis* 9-*cis* epoxycarotenoid dioxygenase gene family. *Plant Journal for Cell & Molecular Biology*, 35: 44 – 56.
- Toledo-Ortiz G, Huq E, Rodríguez-Concepción M. 2010. From the cover: direct regulation of phytoene synthase gene expression and carotenoid biosynthesis by phytochrome-interacting factors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*, 107: 11626 – 11631.
- Umehara M, Hanada A, Yoshida S, Akiyama K, Arite T, Takeda-Kamiya N, Magome H, Kamiya Y, Shirasu K, Yoneyama K, Kyoizuka J, Yamaguchi S. 2008. Inhibition of shoot branching by new terpenoid plant hormones. *Nature*, 455: 195 – 200.
- Vaio C D, Graziani G, Marra L, Cascone A, Ritieni A. 2008. Antioxidant capacities, carotenoids and polyphenols evaluation of fresh and refrigerated peach and nectarine cultivars from Italy. *European Food Research and Technology*, 227: 1225 – 1231.
- Vallabhaneni R, Bradbury L M, Wurtzel E T. 2010. The carotenoid dioxygenase gene family in maize, sorghum, and rice. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 504: 104 – 111.
- Wang Hui, Ou Cheng-gang, Zhuang Fei-yun, Zhao Zhi-wei, Ma Zhen-guo. 2014. Relationship of carotenoid accumulation and transcript of main genes in carotenoid biosynthesis in carrot. *Acta Horticulturae Sinica*, 41 (12): 2513 – 2520. (in Chinese)
- 王 慧, 欧承刚, 庄飞云, 赵志伟, 马振国. 2014. 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. *园艺学报*, 41 (12): 2513 – 2520.

- Xu Jian-lan, Ma Rui-juan, Yu Ming-liang, Shen Zhi-jun, Yin Shou-fang. 2010. Changes of flesh pigment contents of blood-flesh peach during fruit development. Jiangsu Journal of Agricultural Science, 26: 1347 - 1351. (in Chinese)
- 许建兰, 马瑞娟, 俞明亮, 沈志军, 殷守防. 2010. 红肉桃果实发育过程中果肉色素含量的变化. 江苏农业学报, 26: 1347 - 1351.
- Yamamizo C, Kishimoto S, Ohmiya A. 2010. Carotenoid composition and carotenogenic gene expression during *ipomoea* petal development. Journal of Experimental Botany, 61: 709 - 719.
- Yan Shao-bin, Zhang Yu-yan, Ma Rui-juan, Yu Ming-liang. 2013. Changes of carotenoids composition of yellow peach during fruit development. Journal of Fruit Science, 30: 260 - 266. (in Chinese)
- 颜少宾, 张好艳, 马瑞娟, 俞明亮. 2013. 黄肉桃果实发育阶段类胡萝卜素的变化. 果树学报, 30: 260 - 266.
- Zhang Xue-jie, Zhao Yong-bin, Yin Ming-an. 2007. Effect of drying technologies on the content of moisture and carotenoids in carrot pomace. Scientia Agricultura Sinica, 40 : 995 - 1001. (in Chinese)
- 张学杰, 赵永彬, 尹明安. 2007. 胡萝卜渣干燥过程中水分、类胡萝卜素的变化规律及工艺比较. 中国农业科学, 40: 995 - 1001.
- Zheng Yi-ping, Wu Xue-qin, Zeng Li-hui. 2013. Preliminary studies on the formation of red pigmentation in corona of *narcissus*. Acta Horticulturae Sinica, 40 (12): 2479 - 2488. (in Chinese)
- 郑益平, 吴雪琴, 曾黎辉. 2013. 水仙红色副冠形成机理的初步研究. 园艺学报, 40 (12): 2479 - 2488.
- Zhu Yun-qin, Zeng Wen-fang, Lu Zhen-hua, Niu Liang, Cui Guo-chao, Wang Zhing-qiang. 2015. Carotenoid metabolism and gene expression analysis of 'CN9' nectarine and its yellow flesh mutant 'CN9Y'. Acta Horticulturae Sinica, 42 (4): 623 - 632. (in Chinese)
- 朱运钦, 曾文芳, 鲁振华, 牛良, 催国朝, 王志强. 2015. '中油桃9号'及其黄肉芽变的类胡萝卜素代谢和基因表达分析. 园艺学报, 42 (4): 623 - 632.
-

《园艺学报》第九届编委会第一次会议召开

2018年10月18日,《园艺学报》第九届编委会第一次会议在山东青岛召开。中国园艺学会理事长杜永臣介绍了《园艺学报》编委会换届的工作情况,宣读了第十三届园艺学会理事长会议做出的“关于《园艺学报》第八届编委会换届的决定”,依据“兼顾学术水平、学科平衡、年龄结构和个人意愿”等综合因素,第九届编委会由84人组成,由中国园艺学会秘书长、中国农业科学院蔬菜花卉研究所所长孙日飞担任主编,第八届编委会中有20位专家不再担任编委,有21位专家增补为新一届编委。主编孙日飞表示将努力为学报的发展贡献力量,并强调编委的重要职责是积极宣传《园艺学报》、积极提供优质稿件和认真负责审稿等。

编辑部主任陈洁对期刊的工作进行了汇报:在上一届编委会和编辑部的共同努力下,《园艺学报》始终保持了较高学术水平和编辑出版质量,综合评价指标多年保持学科第一,2017年《园艺学报》在全国2 008种核心期刊中排名第18位,复合影响因子为1.498。

编委们充分肯定了上一届编委会和编辑部的工作成绩并重点围绕如何办好《园艺学报》进行了深入讨论:指出编委要带头审稿和投稿,增强编委的责任感和荣誉感;编辑部继续加强组稿约稿,挖掘创新性稿源;进一步缩短审稿和出版周期;加强综述、新方法等栏目的选题策划;重视国际园艺学科重大进展和前沿报道,增加中国园艺产业、生产技术等方面的报道。

此次会议使编辑们拓宽了办刊思路,进一步明确了工作方向,对办刊具有十分重要的指导意义。