

王翠平, 陈建伟. 甘蓝型油菜脯氨酸降解途径关键基因的进化分析[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(17): 28–31.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.17.006

# 甘蓝型油菜脯氨酸降解途径关键基因的进化分析

王翠平, 陈建伟

(宁夏林业研究院种苗生物工程国家重点实验室, 宁夏银川 750004)

**摘要:**作为一种保护机制, 胁迫情况下植物会迅速积累大量脯氨酸, 对自身起到保护作用, 而对于脯氨酸代谢相关基因在多倍体进化中的命运目前为止仍旧知之甚少。以异源四倍体甘蓝型油菜 (*Brassica napus*) 及其二倍体祖先白菜 (*B. rapa*)、甘蓝 (*B. oleracea*) 为研究对象, 数据库搜索和同源基因序列比对, 研究脯氨酸代谢途径关键酶基因 *PDHI* 和 *PDH2* 的进化命运。序列比对和进化分析表明, 甘蓝型油菜中 *PDHI*、*PDH2* 基因与其二倍体祖先的相对应基因高度同源; 进化上与二倍体亲本相比, 甘蓝型油菜 *PDHI* 基因可能发生了 1 个拷贝的丢失, 而 *PDH2* 基因没有发生基因丢失现象。以上研究结果表明, 与二倍体祖先相比, 甘蓝型油菜中脯氨酸合成基因序列和表达模式均存在高度保守性, 这说明脯氨酸积累在进化上可能对植物有利。

**关键词:**甘蓝型油菜; 多倍体; 脯氨酸代谢; 关键酶基因; 进化

**中图分类号:** S634.301 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)17-0028-04

在环境胁迫如干旱、盐、重金属、紫外线等条件下, 高等植物可以在短时间内通过迅速大量地积累脯氨酸等渗透调节物质对自身起到保护作用, 以此来增强植物对渗透胁迫的抵抗能力<sup>[1-5]</sup>。在胁迫条件下, 脯氨酸可以作为兼容性渗透调节物质、蛋白质和亚细胞结构、活性氧清除剂和氧化还原平衡剂<sup>[6-7]</sup>。近年来, 有研究发现脯氨酸参与了开花及胚胎发育过程<sup>[8-11]</sup>。高等植物中, 吡咯啉-5-羧酸合成酶 (P5CS) 是脯氨酸合成途径的关键酶<sup>[8-9]</sup>, 而脯氨酸脱氢酶 (proline dehydrogenase, PDH) 是脯氨酸降解途径的关键酶<sup>[10]</sup>。在拟南芥中, PDH 定位于线粒体, 由 2 个基因编码 (*AtPDH1*, At3g30775; *AtPDH2*, At5g30870), 脯氨酸处理会诱导 *PDH1* 表达, 而胁迫处理抑制 *PDH1* 表达<sup>[11]</sup>。

植物进化过程中多倍化是重要的进化动力, 并且许多作物经历了多倍化过程, 多倍体能够为新表型的出现提供原材料, 具有进化上的优势<sup>[12]</sup>。多倍化之后由于染色体重组和基因重排, 有一些基因表达模式会发生变化, 甚至会发生丢失<sup>[13-14]</sup>。芸薹属 (*Brassica*) 植物是研究由于多倍化引起的基因缺失、沉默和偏向表达的非常好的模式植物体系, 禹氏三角模型能够很好地解释芸薹属植物的进化关系<sup>[15]</sup>。甘蓝型油菜 (*Bassica napus*) 是最新形成的异源四倍体, 来源于 2 个二倍体白菜 (*B. rapa*) 和甘蓝 (*B. oleracea*) 种间杂交, 并且经历了染色体加倍的过程<sup>[16]</sup>。而白菜、甘蓝和拟南芥起源于共同的祖先, 大概在 1 450 万~2 040 万年之前这个祖先分化为拟南芥和白菜、甘蓝的祖先<sup>[17]</sup>。比较物理图谱结果表明, 白菜和甘蓝的祖先经历了三倍化和基因重排的过程<sup>[18]</sup>。且白菜基因组测序数据也表明, 白菜中大多数基因具有 2~3 个同源

基因<sup>[19]</sup>。那么, 推测异源四倍体油菜中同源基因拷贝数应该更多。有报道称, 油菜中基因拷贝数目可能由于进化过程中基因丢失的原因而减少<sup>[20]</sup>。

胁迫条件下脯氨酸积累是一个非常保守且有效的过程, 然而迄今为止仍不清楚四倍体中脯氨酸代谢相关基因的进化模式及其与二倍体祖先脯氨酸代谢相关基因的关系。之前研究发现, 油菜中含有 6 个脯氨酸合成途径关键基因 *P5CS1*, 即该基因没有发生丢失, 并且在不同器官中与胁迫诱导情况下不同来源的 *P5CS1* 基因表达模式不同<sup>[21]</sup>。本研究集中探讨了甘蓝型油菜中脯氨酸降解代谢相关基因 *PDH1* 和 *PDH2* 的进化命运, 包括二倍体亲本进化上的来源、与二倍体亲本物种的基因序列差异和重复基因是否发生丢失。研究结果能够加深多倍化对脯氨酸代谢相关基因影响的理解, 为多倍体表型和重复基因调控的关系提供理论依据。

## 1 基因序列分析

白菜和甘蓝的相应基因序列由中国农业科学院蔬菜花卉研究所王晓武研究员提供, 并且通过数据库检索和比对 (<http://www.brassica.info/>; <http://www.ocri-genomics.org/bolbase/index.html>)。油菜基因序列来自于开放的油菜基因组序列网站 (<http://www.genoscope.cns.fr/brassicapnapus/>)。核酸序列分析应用 DNAMAN 软件 (Lynnon Biosoft, Vaudreuil, Quebec, Canada)。通过对同源基因对应位置的部分基因组 DNA 进行比对和序列分析, 应用 MEGA4 软件中邻位相连法构建进化树<sup>[22]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 油菜中脯氨酸合成代谢相关重复基因

2.1.1 白菜、甘蓝、油菜中的 *PDHI* 基因概况 序列分析结果表明, 白菜中存在 3 个 *PDHI* 的同源基因 (<http://www.brassica.info/>) (ChrA2, Bra020731; ChrA6, Bra025421; ChrA9, Bra036196), 甘蓝中存在 3 个 *PDHI* 基因 (<http://www.ocri->

收稿日期: 2017-03-28

基金项目: 宁夏自然科学基金 (编号: NZ16215)。

作者简介: 王翠平 (1984—), 女, 山东临清人, 博士, 助理研究员, 主要从事植物分子生物学研究。Tel: (0951) 5667119; E-mail: wangcuipingcas@163.com。

genomics. org/bolbase/index. html ) ( Bol033129; Bol043056; Bol032297), 甘蓝型油菜中存在 5 个 *PDHI* 基因 ( http://www. genoscope. cns. fr/brassicnapus/ ) ( ChrC7, NC\_027773. 1; ChrC5, NC\_027771. 1; ChrC5, NC\_027771. 1; ChrA9, NC\_027765. 1; unplaced genomic scaffold, NW\_013650408. 1)。根据系统命名法则<sup>[23]</sup>, 将白菜的 3 个 *PDHI* 同源基因分别命名为 *BraA. PDHI. a*、*BraA. PDHI. b*、*BraA. PDHI. c*; 将甘蓝的 3 个 *PDHI* 基因分别命名为 *BolC. PDHI. a*、*BolC. PDHI. b*、

*BolC. PDHI. c*; 将甘蓝型油菜的 5 个 *PDHI* 基因分别命名为 *BnaA. PDHI. a*、*BnaA. PDHI. b*、*BnaC. PDHI. c*、*BnaC. PDHI. d*、*BnaC. PDHI. e*。与拟南芥相同, 芸薹属植物的 *PDHI* 基因也具有 4 个外显子和 3 个内含子, 除第 1 外显子比拟南芥第 1 外显子少 3 个碱基以外, 其他外显子碱基数目一致 (表 1)。芸薹属植物白菜、甘蓝和甘蓝型油菜的基因组序列 (从 ATG 到终止密码子) 长度为 2 201 ~ 2 671 bp, 然而编码区 (CDS) 长度一致, 均为 1 497 bp, 所编码的蛋白质都含有 498 个氨基酸。

表 1 芸薹属 *PDHI* 基因结构对比

芸薹属植物	基因	E1 长度 (bp)	I1 长度 (bp)	E2 长度 (bp)	I2 长度 (bp)	E3 长度 (bp)	I3 长度 (bp)	E4 长度 (bp)	gDNA 长度 (bp)	CDS 长度 (bp)	编码蛋白质的 氨基酸数 (个)
白菜	<i>Bra. PDHI. a</i>	564	666	652	91	241	147	40	2401	1497	498
	<i>Bra. PDHI. b</i>	564	642	652	93	241		40	2232	1497	498
	<i>Bra. PDHI. c</i>	564	620	652	254	241	76	40	2447	1497	498
甘蓝	<i>Bol. PDHI. a</i>	564	600	652	93	241	102	40	2292	1497	498
	<i>Bol. PDHI. b</i>	564	643	652	91	241		40	2201	1497	498
	<i>Bol. PDHI. c</i>	564	653	652	252	241	77	40	2479	1497	498
甘蓝型油菜	<i>BnaA/C. PDHI. a</i>	564	636	652	92	241		40	2225	1497	498
	<i>BnaA/C. PDHI. b</i>	564	600	652	93	241	102	40	2292	1497	498
	<i>BnaA/C. PDHI. c</i>	564	845	652	252	241	77	40	2671	1497	498
	<i>BnaA/C. PDHI. d</i>	564	649	652	93	241	106	40	2345	1497	498
	<i>BnaA/C. PDHI. e</i>	564	620	652	254	241	76	40	2447	1497	498
拟南芥	<i>AtPDHI</i>	567	564	652	92	241	91	40	2247	1500	499

2.1.2 白菜、甘蓝和甘蓝型油菜中 *PDH2* 基因概况 基因组测序结果表明, 白菜中存在 1 个 *PDH2* 基因 (Bra028202), 位于白菜 A4 号染色体上, 命名为 *BraA. PDH2. a*; 甘蓝中存在 1 个 *PDH2* 基因, 命名为 *BolC. PDH2. a*; 甘蓝型油菜中存在 2 个

*PDH2* 基因, 分别命名为 *BnaA. PDH2. a*、*BnaC. PDH2. b*。芸薹属植物 *PDH2* 基因 cDNA 编码区长度为 1 431 bp, 含有 4 个外显子 3 个内含子, 和拟南芥一致 (表 2)。

表 2 芸薹属 *PDH2* 基因结构对比

芸薹属植物	基因	E1 长度 (bp)	I1 长度 (bp)	E2 长度 (bp)	I2 长度 (bp)	E3 长度 (bp)	I3 长度 (bp)	E4 长度 (bp)	cDNA 长度 (bp)	编码蛋白质的 氨基酸数 (个)
白菜	<i>BraA. PDH2. a</i>	504	853	652	290	241	111	34	1431	476
甘蓝	<i>BolC. PDH2. a</i>	504	881	652	294	241	76	34	1431	476
甘蓝型油菜	<i>BnaA/C. PDH2. a</i>	504	889	652	290	241	79	34	1431	476
	<i>BnaA/C. PDH2. b</i>	504	886	652	294	241	76	34	1431	476
拟南芥	<i>AtPDH2</i>	504	873	652	83	241	173	34	1431	476

2.2 脯氨酸合成酶基因的同源性和进化关系

2.2.1 *PDHI* 基因的同源性和进化关系 为研究甘蓝型油菜中的 5 个 *PDHI* 基因的二倍体祖先在甘蓝型油菜染色体加倍过程中来自于白菜基因组还是甘蓝基因组, 将 5 个基因分别与白菜及甘蓝的 *PDHI* 基因的基因组序列及编码区序列做两两序列比对, 结果如表 2 所示。同时, 将甘蓝型油菜、白菜、甘蓝和拟南芥的同源 *PDHI* 基因的基因组 DNA 序列作多重比对, 构建该基因的系统发生树 (图 1)。

序列相似性分析结果 (表 3) 表明, *BnaA. PDHI. a* 和 *BraA. PDHI. a*、*BnaA. PDHI. b* 和 *BraA. PDHI. c*、*BnaC. PDHI. c* 和 *BolC. PDHI. a*、*BnaC. PDHI. d* 和 *BolC. PDHI. b*、*BnaC. PDHI. e* 和 *BolC. PDHI. c* 之间的基因组 DNA 相似性分别为 96.34%、99.67%、99.78%、98.48%、91.62%, 而它们之间编码区相似性更高, 分别为 99.20%、99.67%、99.80%、99.20%、99.53%, 无论是基因组序列还是编码区序列均高于同系列其他比对。因此, 推断 *BnaA. PDHI. a*、*BnaA. PDHI. b*、*BnaC. PDHI. c*、*BnaC. PDHI. d* 和 *BnaC. PDHI. e* 可能分别来

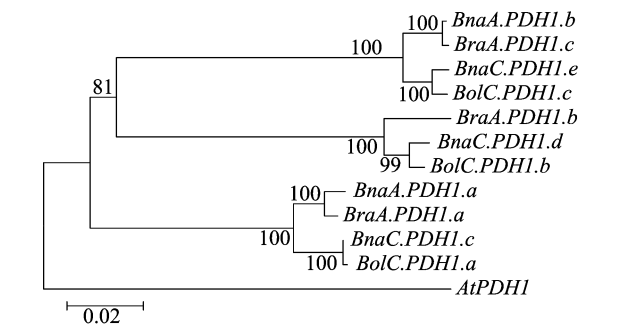


图 1 芸薹属植物 *PDHI* 基因进化关系分析

源于 *BraA. PDHI. a*、*BraA. PDHI. c*、*BolC. PDHI. a*、*BolC. PDHI. b* 和 *BolC. PDHI. c*。而白菜的 *BraA. PDHI. b* 在甘蓝型油菜中发生丢失。

而基于相对应的基因组序列的进化关系分析表明, *BnaA. PDHI. a*、*BnaA. PDHI. b*、*BnaC. PDHI. c*、*BnaC. PDHI. d*、*BnaC. PDHI. e* 分别为白菜 *BraA. PDHI. a*、*BraA. PDHI. c* 和甘

表 3 甘蓝型油菜 *PDH1* 基因的基因组序列和编码区序列与二倍体亲本白菜和甘蓝 *PDH1* 基因序列相似性分析

分类	基因	相似性(%)											
		甘蓝型油菜					白菜			甘蓝			拟南芥
		<i>BnaA. PDH1. a</i>	<i>BnaA. PDH1. b</i>	<i>BnaC. PDH1. c</i>	<i>BnaC. PDH1. d</i>	<i>BnaC. PDH1. e</i>	<i>BraA. PDH1. a</i>	<i>BraA. PDH1. b</i>	<i>BraA. PDH1. c</i>	<i>BolC. PDH1. a</i>	<i>BolC. PDH1. b</i>	<i>BolC. PDH1. c</i>	<i>AtPDH1</i>
基因组序列	<i>BnaA. PDH1. a</i>	100	74.40	92.99	77.00	70.63	96.34	75.82	74.40	92.87	77.12	74.63	75.61
	<i>BnaA. PDH1. b</i>		100	74.51	72.00	87.99	72.72	71.34	99.67	74.43	72.10	94.74	70.58
	<i>BnaC. PDH1. c</i>			100	76.09	70.07	92.49	75.84	74.35	99.78	76.67	74.39	75.28
	<i>BnaC. PDH1. d</i>				100	67.87	76.05	95.98	72.00	75.88	98.48	72.53	71.42
	<i>BnaC. PDH1. e</i>					100	69.25	68.23	87.82	70.03	68.53	91.62	65.84
编码区序列	<i>BnaA. PDH1. a</i>		89.38	98.00	89.85	89.45	99.20	89.45	89.31	97.80	89.98	89.38	86.93
	<i>BnaA. PDH1. b</i>			100	89.18	89.25	99.13	89.51	89.25	99.67	89.11	89.31	99.06
	<i>BnaC. PDH1. c</i>				100	89.58	99.11	98.13	89.51	89.11	99.80	89.71	89.04
	<i>BnaC. PDH1. d</i>					100	89.45	89.98	98.46	89.18	89.51	99.20	89.45
	<i>BnaC. PDH1. e</i>						100	89.58	89.45	99.06	89.04	89.51	99.53

蓝 *BolC. PDH1. a*、*BolC. PDH1. b*、*BolC. PDH1. c* 的直向同源基因(图 1)。

2.2.2 *PDH2* 基因的同源性和进化关系 甘蓝型油菜基因组中含有 2 个同源的 *PDH2* 基因,为了研究这 2 个基因的祖先来源,将 2 个基因分别与白菜及甘蓝的 *PDH2* 基因基于基因组序列和编码区序列做两两序列比对,比对结果如表 4 所示。同时,将甘蓝型油菜、白菜、甘蓝和拟南芥的所有已知序列的同源 *PDH2* 基因的基因组 DNA 序列作多重比对,构建该基因的系统发生树(图 2)。

序列相似性分析结果表明,*BnaA. PDH2. a* 与 *BraA. PDH2. a*、*BnaC. PDH2. b* 与 *BolC. PDH2. a* 基因组 DNA 序列相似性分别高达 96.73%、99.67%(表 4),而它们之间编码区相似性更高,分别为 99.86%、99.93%(表 4),无论是基因组序

列还是编码区序列均高于同系列其他比对,推测 *BnaA. PDH2. a*、*BnaC. PDH2. b* 可能分别来源于 *BraA. PDH2. a*、*BolC. PDH2. a*。

且基于相对应的基因组序列的进化关系分析也表明,*BnaA. PDH2. a*、*BnaC. PDH2. b* 分别为白菜 *BraA. PDH2. a*、甘蓝 *BolC. PDH2. a* 的直向同源基因(图 2)。

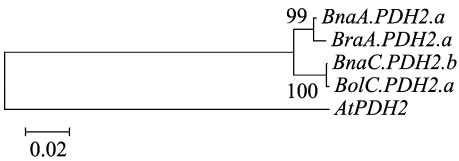


图2 芸薹属植物 *PDH2* 基因进化关系分析

表 4 甘蓝型油菜中 *PDH2* 基因的基因组片段与二倍体祖先中相对应的基因核苷酸序列相似性

分类	基因	相似性(%)				
		甘蓝型油菜		白菜	甘蓝	拟南芥
		<i>BnaA. PDH2. a</i>	<i>BnaC. PDH2. b</i>	<i>BraA. PDH2. a</i>	<i>BolC. PDH2. a</i>	<i>AtPDH2</i>
基因组序列	<i>BnaA. PDH2. a</i>	100	96.08	96.73	95.97	62.19
	<i>BnaC. PDH2. b</i>		100	92.05	99.67	61.68
编码区序列	<i>BnaA. PDH2. a</i>	100	97.97	99.86	97.90	88.68
	<i>BnaC. PDH2. b</i>		100	97.97	99.93	88.19

3 讨论

3.1 油菜的 *PDH1* 基因可能发生了 1 个拷贝的丢失

甘蓝型油菜(*B. napus*)起源于白菜(*B. rapa*)和甘蓝(*B. oleracea*)的杂交,并且经过了染色体加倍,而其祖先白菜和甘蓝自身也经历了基因组三倍化和重排的过程<sup>[16]</sup>,这样推测甘蓝型油菜中每个基因同源基因的拷贝数最多可以达到 6 个。然而研究发现,由于基因丢失现象的存在,甘蓝型油菜中同源基因的拷贝数平均为 4 个<sup>[20]</sup>。研究表明,甘蓝型油菜中存在 3 个 *ALCATRAZ (ALC)* 基因<sup>[24]</sup>、3 个 *GPAT4* (sn - glycerol - 3 - phosphate acyltransferase 4) 基因,然而存在的 6 个 *PSY* (Phytoene Synthase) 基因中有 3 个来源于白菜,另外 3 个来源于甘蓝<sup>[25]</sup>,而笔者之前的研究发现,甘蓝型油菜中存在 6 个 *P5CS1* 基因<sup>[21]</sup>。本研究中,甘蓝型油菜中存在 5 个 *PDH1* 基

因,而其祖先白菜和甘蓝中各存在 3 个 *PDH1* 基因,进化过程中甘蓝型油菜可能发生了 *PDH1* 基因 1 个拷贝的丢失,而根据序列比对和进化分析结果,推测来自于二倍体祖先白菜的 *PDH1* 基因的 1 个拷贝发生丢失。而甘蓝型油菜中存在 2 个 *PDH2* 基因,其祖先白菜和甘蓝中各存在 1 个 *PDH2* 基因,甘蓝型油菜中 *PDH2* 基因没有发生丢失。

3.2 油菜中脯氨酸代谢相关基因与二倍体亲本来源基因高度同源

根据白菜和甘蓝全基因组测序结果,白菜和甘蓝中 *PDH1* 和 *PDH2* 同源基因拷贝数都分别为 3、1,而甘蓝型油菜中拷贝数为 5、2。序列比对结果表明,甘蓝型油菜脯氨酸代谢途径相关基因均与其亲本白菜和甘蓝来源的基因高度同源,*PDH1* 和 *PDH2* 同源基因和亲本来源基因的基因组 DNA 同源性分别为 91.62% ~ 99.78%、96.73% ~ 99.67%。说明

这些基因在甘蓝型油菜进化过程中高度保守。这与之前的甘蓝型油菜基因克隆的相关研究报道一致,甘蓝型油菜中克隆得到 3 个 *PISTILLATA* 基因,两两序列相似性为 96.49% ~ 98.72%<sup>[26]</sup>。脯氨酸合成途径上不同基因拷贝数的不同或许说明了这些基因在进化上的重要程度。

#### 4 结论

以甘蓝型油菜、白菜和甘蓝为试验材料,研究了甘蓝型油菜中脯氨酸代谢途径同源基因的进化命运,探讨了多倍化对同源基因进化的影响。主要结论如下:通过白菜、甘蓝和甘蓝型油菜的基因组数据库搜索和序列比对,确定了脯氨酸降解途径关键基因(*PDH1*、*PDH2*)在甘蓝型油菜中均存在多个拷贝,序列比对结果表明,它们和二倍体亲本白菜及甘蓝的对应基因高度同源,和亲本相比,甘蓝型油菜的 *PDH1* 基因来自于二倍体祖先甘蓝的 1 个拷贝发生了丢失,而 *PDH2* 基因没有发生丢失。

#### 参考文献:

- [1] Kishor P K, Hong Z L, Miao G H, et al. Overexpression of  $\Delta 1$  - pyrroline - 5 - carboxylate synthetase increases proline production and confers osmotolerance in transgenic plants [J]. *Plant Physiology*, 1995, 108(4): 1387 - 1394.
- [2] Schat H, Sharma S S, Vooijs R. Heavy metal - induced accumulation of free proline in a metal - tolerant and a nontolerant ecotype of *Silene vulgaris* [J]. *Physiologia Plantarum*, 1997, 101(3): 477 - 482.
- [3] Yang S L, Lan S S, Gong M. Hydrogen peroxide - induced proline and metabolic pathway of its accumulation in maize seedlings [J]. *Journal of Plant Physiology*, 2009, 166(15): 1694 - 1699.
- [4] Tavakoli M, Poustini K, Alizadeh H. Proline accumulation and related genes in wheat leaves under salinity stress [J]. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 2016, 18(3): 707 - 716.
- [5] Dar M I, Naikoo M I, Rehman F, et al. Proline accumulation in plants: roles in stress tolerance and plant development [M] // Iqbal N, Nazar R, Khan NA. *Osmolytes and plants acclimation to changing environment: emerging omics technologies*. New Delhi: Springer India, 2016: 155 - 166.
- [6] Chaves M M, Flexas J, Pinheiro C. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell [J]. *Annals of Botany*, 2009, 103(4): 551 - 560.
- [7] Wu H H, Zou Y N, Rahman M M, et al. Mycorrhizas alter sucrose and proline metabolism in trifoliate orange exposed to drought stress [J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 42389.
- [8] Kishor P K, Sangam S, Amrutha R N, et al. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: its implications in plant growth and abiotic stress tolerance [J]. *Current Science*, 2005, 88(3): 424 - 438.
- [9] Wang L, Guo Z H, Zhang Y B, et al. Characterization of *LhSorP5CS*, a gene catalyzing proline synthesis in Oriental hybrid lily Sorbonne: molecular modelling and expression analysis [J]. *Botanical Studies*, 2017, 58(1): 10.
- [10] Verbruggen N, Hermans C. Proline accumulation in plants: a review [J]. *Amino Acids*, 2008, 35(4): 753 - 759.
- [11] Kiyosue T, Yoshiba Y, Yamaguchi - Shinozaki K, et al. A nuclear

gene encoding mitochondrial proline dehydrogenase, an enzyme involved in proline metabolism, is upregulated by proline but downregulated by dehydration in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell*, 1996, 8(8): 1323 - 1335.

- [12] Soltis P S, Soltis D E. The role of genetic and genomic attributes in the success of polyploids [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2000, 97(13): 7051 - 7057.
- [13] Buggs R J, Doust A N, Tate J A, et al. Gene loss and silencing in *Tragopogon miscellus* (Asteraceae): comparison of natural and synthetic allotetraploids [J]. *Heredity*, 2009, 103(1): 73 - 81.
- [14] Wang J, Tian L, Lee H S, et al. Nonadditive regulation of *FRI* and *FLC* loci mediates flowering - time variation in *Arabidopsis* *allopolyploids* [J]. *Genetics*, 2006, 173(2): 965 - 974.
- [15] Nagaharu U. Genome analysis in *Brassica* with special reference to the experimental formation of *B. napus* and peculiar mode of fertilisation [J]. *The Journal of Japanese Botany*, 1935, 7: 389 - 452.
- [16] Blanc G, Wolfe K H. Functional divergence of duplicated genes formed by polyploidy during *Arabidopsis* evolution [J]. *Plant Cell*, 2004, 16(7): 1679 - 1691.
- [17] Yang Y W, Lai K N, Tai P Y, et al. Rates of nucleotide substitution in angiosperm mitochondrial DNA sequences and dates of divergence between *Brassica* and other angiosperm lineages [J]. *Journal of Molecular Evolution*, 1999, 48(5): 597 - 604.
- [18] Park J Y, Koo D H, Lee S J, et al. Physical mapping and microsynteny of *Brassica rapa* ssp. *pekinensis* genome corresponding to a 222 kbp gene - rich region of *Arabidopsis* chromosome 4 and partially duplicated on chromosome 5 [J]. *Molecular Genetics and Genomics*, 2005, 274(6): 579 - 588.
- [19] Wang X, Wang H, Wang J, et al. The genome of the mesopolyploid crop species *Brassica rapa* [J]. *Nature Genetics*, 2011, 43(10): 1035 - 1039.
- [20] Udall J A, Wendel J F. Polyploidy and crop improvement [J]. *Crop Science*, 2006, 46(Suppl): 3 - 14.
- [21] Wang C P, Lin B, Zhang Y Q, et al. The evolutionary fate of  $\Delta 1$  - pyrroline - 5 - carboxylate synthetase 1 (P5CS1) genes in allotetraploid *Brassica napus* [J]. *Journal of Systematics and Evolution*, 2014, 52(5): 566 - 579.
- [22] Tamura K, Dudley J, Nei M, et al. MEGA 4: molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0 [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2007, 24(8): 1596 - 1599.
- [23] Østergaard L, King G J. Standardized gene nomenclature for the *Brassica* genus [J]. *Plant Methods*, 2008, 4(1): 10.
- [24] Hua S J, Shamsi I H, Guo Y, et al. Sequence, expression divergence, and complementation of homologous *ALCATRAZ* loci in *Brassica napus* [J]. *Planta*, 2009, 230(3): 493 - 503.
- [25] Cardenas P D, Gajardo H A, Huebert T A, et al. Retention of triplicated phytoene synthase (*PSY*) genes in *Brassica napus* L. and its diploid progenitors during the evolution of the Brassicaceae [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2012, 124(7): 1215 - 1228.
- [26] Deng W, Zhou L, Zhou Y T, et al. Isolation and characterization of three duplicated *PISTILLATA* genes in *Brassica napus* [J]. *Molecular Biology Reports*, 2011, 38(5): 3113 - 3120.