

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2015.06.005

芸薹属二倍体种、四倍体种及人工合成多倍体的基因表达差异^①

李晓荣^{1,2}, 李加纳²

1. 西南大学药学院, 重庆 400716; 2. 西南大学农学与生物科技学院, 重庆 400716

摘要: 植物的杂交和多倍化能够导致基因组结构发生变化并最终影响基因的表达. 以甘蓝型油菜自然四倍体、人工合成四倍体、五倍体、六倍体及其双亲白菜型油菜和甘蓝为试材, 比较研究了 35 个基因在不同倍性芸薹属材料中的转录表达特性, 探讨基因组剂量对基因表达的影响. 在研究的 35 个基因中, 80% 的基因表现为非加性表达; 60% 的基因在人工合成四倍体与自然四倍体中表达水平差异显著. 在人工合成四倍体、五倍体甘蓝型油菜中, 分别发现有 2 个和 1 个基因发生沉默. 相对于其二倍体亲本白菜和甘蓝, 发现 1 个基因在甘蓝型油菜中基因的表达被激活. 结果为探讨基因组剂量与基因表达的关系提供了参考.

关键词: 芸薹属; 多倍体; 基因表达

中图分类号: Q943.2

文献标志码: A

文章编号: 1673-9868(2015)06-0027-08

远缘杂交和倍性育种是芸薹属物种创造新种质的重要途径. 目前生产上广泛种植的油菜为甘蓝型油菜(*Brassica napus*, AACCC), 是由白菜型油菜(*B. rapa*, AA)与甘蓝(*B. oleracea*, CC)这两个二倍体物种天然杂交后进化形成的异源多倍体^[1]. 最近西南大学^[2]通过甘蓝型油菜与甘蓝杂交, 染色体加倍, 获得一种可育的六倍体材料(AACCCC). 该六倍体材料与自然甘蓝型油菜能正常杂交并获得五倍体材料(AACCC). 这种远缘杂交和倍性育种导致了植物体基因组剂量和基因组倍性的变化, 而这种变化可能导致基因的表达变化, 从而导致性状的变异^[3-5]. 拟南芥^[6-7]、棉花^[8]、小麦^[9-11]等作物的研究发现, 不同多倍体物种中基因的表达与倍性具有一定的相关性, 而且各种功能类别的基因在异源多倍体中都可能发生表达变化^[12]. 在芸薹属中, 缺乏对合成的四倍体(AACC), 六倍体(AACCCC)及其杂交获得五倍体(AACCC)材料的研究.

本研究以甘蓝型油菜自然四倍体、人工合成四倍体、五倍体、六倍体及其双亲白菜和甘蓝为试材, 比较研究了 35 个油脂相关基因在不同倍性材料中的转录表达特性, 探讨基因组剂量对这些基因表达的影响, 为下一步深入探讨芸薹属多倍体基因组剂量与基因表达的关系提供有用信息.

1 材料与方法

1.1 供试材料

本研究使用的材料列于表 1. 白菜型油菜、甘蓝和四倍体甘蓝型油菜品种中双 9 号是西南大学自交保存

① 收稿日期: 2014-11-24

基金项目: 国家自然科学基金(31401455).

作者简介: 李晓荣(1974-), 女, 河南洛阳人, 博士, 讲师, 主要从事植物分子生物学的研究.

通信作者: 李加纳, 教授.

的材料. 人工合成四倍体甘蓝型油菜是由白菜与甘蓝杂交后加倍获得, 人工合成五倍体是通过人工合成六倍体与中双 9 号杂交获得, 人工合成六倍体是通过中双 9 号与甘蓝杂交后加倍获得^[2]. 材料 2013 年种植在西南大学油菜中心试验基地, 按照常规方法进行田间管理. 采集各材料茎秆表皮, 所取材料经过液氮冷冻, $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存, 供提取 RNA.

表 1 研究所用的材料

材料名称	基因组	材 料 来 源	染色体数
白菜	AA	白菜型油菜	20
甘蓝	CC	羽衣甘蓝	18
人工四倍体	AACC	白菜与甘蓝杂交后加倍获得的四倍体	38
自然四倍体	AACC	甘蓝型油菜中双 9 号	38
人工五倍体	AACCC	六倍体甘蓝型油菜与中双 9 号杂交获得	47
人工六倍体	AACCCC	中双 9 号与甘蓝杂交后加倍获得	56

1.2 RNA 提取

总 RNA 的提取及纯化采用试剂盒 RNeasy Plant Kit(DP 432)[天根生化科技(北京)有限公司] 进行.

1.3 cDNA 第一链的合成

cDNA 反转录试剂盒(iScriptTM cDNA Synthesis Kit)购自 BIO-RAD. 按照反转录试剂盒说明书, 取 RNA $0.8\text{ }\mu\text{g}$ 进行反转录. 将获得的 cDNA 稀释 50 倍, 用于 qRT-PCR 分析.

1.4 引物合成

基因序列参照白菜和甘蓝参考基因组, 采用 primer5 进行引物设计. 所用的引物及内参 Actin7 的序列见表 2. 由上海英潍捷基有限公司完成引物合成.

表 2 qRT-PCR 所用引物

基因名称	参考序列	正向引物序列	反向引物序列
KCS1-1	Bra033283, Bol040715	CAAACCTCAAAGTGAAGCCCT	TCTGAACCTCGTCAAGAACC
KCS1-2	Bra032621, Bol018447	TTTCAACTTCACCACCTTTC	AGCAGGAGAAATCCACTAAG
KCS1-3	Bra033283, Bol000521	TGGTTTCCCTCTGCTTCGTTT	TCTTTGCTGGAAGTGGACGGT
KCS1-4	Bra033283, Bol000520	TACACGCAGGTGGTAGAGC	AGCAATCTGCCAAAGTCTATC
KCS3-1	Bra018684, Bol041156	GAATGTTTLAGGGAATGTGTGG	ACTTGAACGTATCAGGGTCTT
KCS3-2	Bra030702, Bol023412	TCGTTAGTTCAGGTATCGGAGAG	AGAGAAGGTGTTGTGTGAGCAT
KCS2-1	Bra015296, Bol040874	CGCCTTAACTGCGTTTACC	ATCCAACACTGCTCTGCCTC
KCS2-2	Bra030559, Bol011606	AAGACAACCTCGCTTTCCAA	TTCACCACAAGTATCCCAAT
FDH-1	Bra023487, Bol021197	TGGTGAAGCGATGGAGAGT	TGGTGCCAGAGATGTGAGGG
FDH-2	Bra008737, Bol030407	AAAGGCGTTTTGATTGTAAA	GAGGAGTCATCGCTTGGTTC
KCR1	Bra012511, Bol043251	GAATCAAAGCGTTGAAGTT	AGAGAGGATGTGAAGGGACA
KCR2	Bra032801, Bol006162	CCTCTCTATGCCATCTACGCC	TGATCCAATTCGGATCTGCTC
KCR3	Bra033983, Bol010474	TTATCCCTTCCTATCCGTTCTACT	CCTTCTTATCTTGGTCATCTTTGT
KCR4	Bra004251, Bol026113	TTGGTTTCAGGCTTCGCTTGGGT	TGGAGGCTTTGTTGAGGTTTTAT
CER10	Bra007154, Bol044348	ATTTCGGCGACTGTTGCTGAT	GTGACTTCTTGCTGTTGAGG
PAS2-1	Bra006062, Bol008741	GTCTTTCTCCTTCGTCCGTC	TCATGTCCACTTTCCTTCAA
PAS2-2	Bra009029, Bol043655	ATTCGCTACTCCTTCTTTGG	ATCTCAGACGCCTTGATGTG
CER4-1	Bra011470, Bol013612	TGTCACCGAAGCCTCTCCTG	ATCCCCCTTTTTGCCCTA
CER4-2	Bra011470, Bol017561	ACAAGGTGGTGAAAGAGAA	AAATCCAAGACATTGAGGG
FAR1-1	Bra040696, Bol013290	GTGGTTACTATGGTCCTCAA	ATCTCAAATGCTCATCCTGT
FAR1-2	Bra020195, Bol036039	TTCAGCCTCTACATCACTCT	ATGCTCTGTCTTCTCCTTCG
FAR1-3	Bra002416, Bol035700	GAAACAGAACTGAAAGAGC	GTTGGACGAATGATAACAAG
FAR4-1	Bra002410, Bol036043	CTTCTCCATGTCTCAACTGCTT	GGCTTTTCAATTTCTGCTCTAC

续表 2

基因名称	参考序列	正向引物序列	反向引物序列
FAR4-2	Bra006625, Bol025833	ATCTACTGCCTATGTTTGTG	CGATATCTACCTTGTTTTGTG
FAR4-3	Bra019464, Bol013804	ATCTTGTCCACTATGTCTCA	ATGTCTTTGTATTTATTTCC
FAR5	Bra019431, Bol035655	TCAGCCTGTACATGACCCTA	GTCTCCGTATTTATCTCCGC
FAR6-1	Bra014676, Bol044295	TCATAGCCACAAGCAACGCC	TCCCCCAGTGGTCTCAGTC
FAR6-2	Bra007264, Bol044404	ATGGCTATTTCTAATCTCT	ACTCTTTGTATCTGTCTCA
FAR6-3	Bra007263, Bol044403	TTTATGGAGCTAGAGCGTA	TCTTTGTATTGGTGTCTGTC
FAR6-4	Bra003248, Bol004207	TTTGACGACAGATACGACC	TTTTTTCCAACGCAGAGAG
CER7	Bra003416, Bol001092	AGTTTCTGGACCTATTGTAGTTGT	AGAGTCGTTTGTCTTTCCCTTG
CER1	Bra032670, Bol018504	CCTCGTATTGCCCTTCTTGCTC	TTGGTCATCCCAGTTGGTCTCC
CER3-1	Bra020412, Bol015584	GCAAGCAATAATAGCGAGCAT	ATGGGATGTGGAACAGGAGAT
CER3-2	Bra006799, Bol026015	GAGTTCCTTTGATTGGGTCT	CGAGTTTGGGTTTAGTGTGT
CER3-3	Bra002692, Bol012187	TGTTCTTTGGAGCGTTTAC	TCCCAGTGCCATTCTGTGAT
Actin7	At5g09810	TGGGTTTGTGGTGACGAT	TGCTTAGGACGACCAACAATACT

1.5 qRT-PCR

利用实时荧光定量 PCR 分析 35 个油脂相关基因在不同倍性材料中的转录表达水平. 共设 3 次生物学重复. 以 ACTIN 基因(GenBank 登录号 At5g09810)为内参照对表达数据进行标准化. qRT-PCR 试剂盒(GO Taq® qPCR MasterMix, Promega)购于 BIO-RAD, 于应用生物公司 Stratagene Mx3000P 检测系统进行 PCR 扩增并记录荧光信号值. 20 μ L 反应体系 (Go Taq qPCR mix 10 μ L, H₂O 4 μ L, F primer 0.4 μ L, R primer 0.4 μ L, CXR reference Dye 0.2 μ L 和 cDNA 5 μ L). 定量 RT-PCR 程序为 95 $^{\circ}$ C 10 min; 95 $^{\circ}$ C 15 s, 60 $^{\circ}$ C 1 min, 40 个循环; 以 0.2 $^{\circ}$ C/s 的速度从 65 $^{\circ}$ C 逐渐升至 95 $^{\circ}$ C 来制作溶解曲线. 为了确保定量 PCR 结果的可信度, 对研究的 35 个基因与内参照 ACTIN 基因均制作标准曲线来确定基因的扩增效率, 确保标准曲线 $R^2 > 0.98$. 基因相对表达量参照 Livak 等的方法进行计算^[13].

1.6 加性表达基因的确定

根据所研究基因在白菜与甘蓝两亲本中的表达量值, 假设基因为加性表达, 计算出人工合成四倍体在理论上的基因表达量. 通过比较人工合成四倍体实际基因的表达量与其理论上只有加性效应时基因的表达量来确定研究的基因是否为加性表达的基因.

2 结果与分析

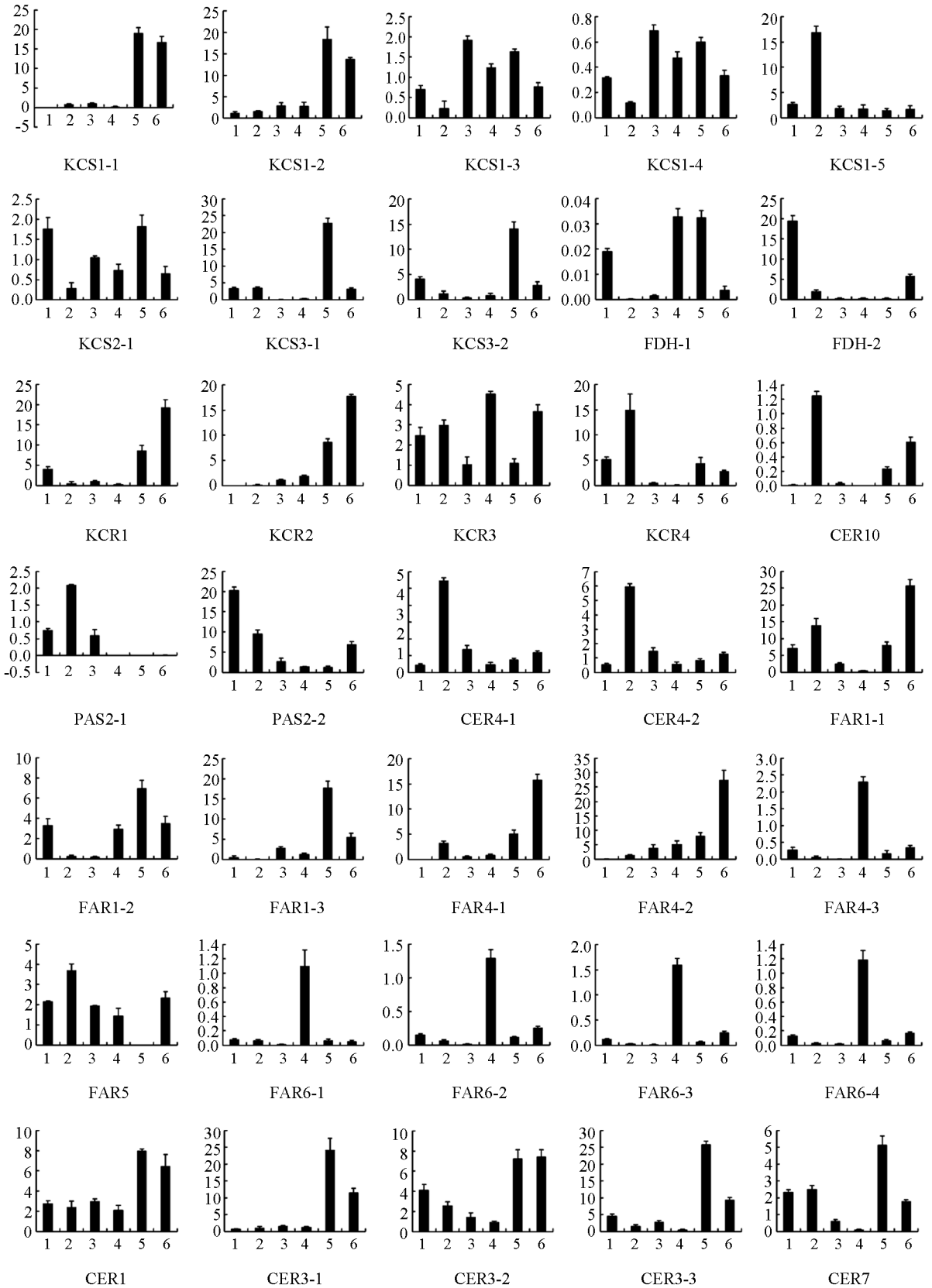
2.1 35 个油脂相关基因的转录表达特征

在供试的不同倍性的 6 种材料中, 本研究涉及的 35 个基因的转录表达模式不相同, 不同基因的表达可能会表现出截然相反的基因组剂量效应(图 1). 在 35 个基因中, KCS1-5, KCR4, CER10, CER4, FAR5, PAS2-1 在甘蓝中表达量最高; FDH-2, PAS2-2 在白菜中表达量最高; KCS1-3 在自然加倍的四倍体甘蓝型油菜中表达量最高; FDH-1, KCR3, FAR4-3 在人工合成四倍体甘蓝型油菜中表达量最高; KCS1-1, KCS1-2, KCS2-1, KCS3-1, KCS3-2, CER7, CER1, CER3-1, CER3-3, FAR1-2, FAR1-3 在人工合成五倍体中表达量最高; KCR1, KCR2, CER3-2, FAR1-1, FAR4-1, FAR4-2 在人工合成六倍体中表达量最高. 从这 35 个基因的转录表达谱看, 还发现有一些功能相同的基因表现为相似的表达模式, 如 KCS1-1 与 KCS1-2, KCS1-3 与 KCS1-4, KCS3-1 与 KCS3-2, KCR1 与 KCR2, CER4-1 与 CER4-2, FAR4-1 与 FAR4-2, FAR6-1, FAR6-2, FAR6-3 与 FAR6-4, CER3-1 与 CER3-3.

2.2 加性表达基因与非加性表达基因

在研究的 35 个基因中, 28 个基因的表达表现为非加性效应($p \leq 5\%$), 占研究基因总数的 80.00%, 7 个基因的表达表现为加性效应($p > 5\%$), 占研究基因总数的 20.00%. 即大多数基因的表达量并非随着倍性的增加而增长, 而是出现偏离. 在非加性表达的 28 个基因中, 有 8 个基因表现为上调表达, 即基因的实际表达量大于理论值, 占研究基因总数的 22.86%; 有 20 个基因表现为下调表达, 即基因的实际表达量小

于理论值, 占研究基因总数的 57.14%(表 3).



1. 白菜; 2. 甘蓝; 3. 自然四倍体; 4. 人工合成四倍体; 5. 人工合成五倍体; 6. 人工合成六倍体.

图 1 不同倍性材料中基因的表达

表 3 人工合成四倍体基因的表达模式

实际表达量与理论值的比较	基因数目	基因名称
加性表达基因(实际表达量=理论值)($p>5\%$)	7(20.00%)	KCS1-2, KCS1-3, KCS1-4, FDH-1, KCR3, FAR1-2, CER3-1
非加性表达基因($p\leq 5\%$)	28(80.00%)	
上调表达基因(实际表达量>理论值)	8(22.86%)	KCR2, FAR1-3, FAR4-2, FAR4-3, FAR6-1, FAR6-2, FAR6-3, FAR6-4
下调表达基因(实际表达量<理论值)	20(57.14%)	KCS1-1, KCS3-1, KCS3-2, KCS2-1, KCS2-2, FDH-2, KCR1, KCR4, CER10, PAS2-1, PAS2-2, CER4-1, CER4-2, FAR1-1, FAR4-1, FAR5, CER7, CER1, CER3-2, CER3-3

2.3 人工合成四倍体与自然四倍体基因表达的比较

将所研究的 35 个基因在人工合成四倍体与自然四倍体甘蓝型油菜中的表达水平进行比较, 发现有 14 个基因的表达水平在人工合成四倍体与自然四倍体中相差不大($p>5\%$), 占总基因数的 40.00%, 有 21 个基因的表达水平差异有统计学意义($p\leq 5\%$), 占总基因数的 60.00%, 其中 11 个基因在人工合成四倍体中的表达水平显著低于在自然四倍体中的表达, 10 个基因在人工合成四倍体中的表达水平显著高于在自然四倍体中的表达(表 4)。

表 4 人工合成四倍体与自然四倍体基因表达的比较

人工合成四倍体与自然四倍体基因表达的比较	基因数目	基因名称
人工合成四倍体等于自然四倍体($p>5\%$)	14(40.00%)	KCS1-2, KCS1-3, KCS1-4, KCS2-1, KCS2-2, FDH-2, KCR2, PAS2-2, FAR4-1, FAR4-2, FAR5, CER1, CER3-1, CER3-2
人工合成四倍体低于自然四倍体($p\leq 5\%$)	11(31.43%)	KCS1-1, KCR1, KCR4, CER10, PAS2-1, CER4-1, CER4-2, FAR1-1, FAR1-3, CER7, CER3-3
人工合成四倍体高于自然四倍体($p\leq 5\%$)	10(28.57%)	KCS3-1, KCS3-2, FDH-1, KCR3, FAR1-2, FAR4-3, FAR6-1, FAR6-2, FAR6-3, FAR6-4

2.4 人工合成多倍体与其亲本间基因表达的变化

对人工合成四倍体甘蓝型油菜与其亲本白菜和甘蓝的比较研究发现, 有 3 个基因在四倍体中的表达水平与双亲白菜和甘蓝相近($p>5\%$), 10 个基因在四倍体中的表达水平低于双亲, 8 个基因在四倍体中的表达水平高于双亲。对人工合成五倍体甘蓝型油菜与其亲本六倍体和甘蓝进行基因表达水平的比较, 发现有 8 个基因在五倍体中的表达水平与双亲均相近($p>5\%$), 3 个基因在五倍体中的表达水平低于双亲, 3 个基因在五倍体中的表达水平高于双亲。对人工合成六倍体甘蓝型油菜与其亲本四倍体甘蓝型油菜中双 9 号和甘蓝进行了基因表达水平的比较, 发现有 1 个基因在六倍体中的表达水平与双亲相近($p>5\%$), 1 个基因在人工合成六倍体中的表达水平低于双亲, 19 个基因在人工合成六倍体中的表达水平高于双亲(表 5)。

此外, 通过对人工合成多倍体与其亲本基因表达的比较, 发现有一部分基因在其中一个亲本中上调表达, 即在人工合成多倍体中, 这些基因在其中一个亲本中的表达贡献要大, 似乎存在基因表达的显性效应。例如, KCS2-1, KCR4, CER10, CER4, FAR5, PAS2-1 基因在亲本甘蓝中的表达量高于另一亲本白菜和四倍体, FDH-2, PAS2-2 基因在亲本白菜中表达量高于另一亲本甘蓝和四倍体。

表 5 人工合成多倍体及其亲本中基因表达的比较

人工合成多倍体及其亲本中基因表达比较		基因数目	基因名称
人工合成四倍体	等于双亲($p > 5\%$)	3(8.57%)	KCR3, CER1, CER3-1
	低于双亲($p \leq 5\%$)	10(28.57%)	KCS3-1, FDH-2, KCR4, CER10, PAS2-1, PAS2-2, FAR1-1, CER7, CER3-2, CER3-3
	高于双亲($p \leq 5\%$)	8(22.86%)	KCR2, FAR1-3, FAR4-2, FAR4-3, FAR6-1, FAR6-2, FAR6-3, FAR6-4
人工合成五倍体	等于双亲($p > 5\%$)	8(22.86%)	KCS1-4, KCS2-1, CER4-1, CER4-2, FAR1-3, CER7, CER3-1, CER3-3
	低于双亲($p \leq 5\%$)	3(8.57%)	PAS2-1, PAS2-2, FAR5
	高于双亲($p \leq 5\%$)	3(8.57%)	KCS3-1, KCS3-2, FDH-1
人工合成六倍体	等于双亲($p > 5\%$)	1(2.86%)	FAR5
	低于双亲($p \leq 5\%$)	1(2.86%)	PAS2-1
	高于双亲($p \leq 5\%$)	19(54.29%)	KCS1-1, KCS1-2, KCS3-2, KCS2-2, FDH-1, FDH-2, KCR1, KCR2, FAR1-2, FAR4-1, FAR4-2, FAR4-3, FAR6-2, FAR6-3, FAR6-4, CER1, CER3-1, CER3-2, CER3-3

2.5 基因沉默与基因激活

在研究的 35 个基因中, 有 2 个基因在人工合成四倍体甘蓝型油菜中发生沉默(CER10, PAS2-1), 有 1 个基因(FAR5)在人工合成五倍体甘蓝型油菜中发生沉默, 在人工合成六倍体甘蓝型油菜和自然四倍体中没有发现基因发生沉默.

除了有基因沉默的发生, 还发现了多倍体中基因表达的激活现象. 发现 KCR2 基因在亲本中几乎不表达, 而在自然四倍体、人工合成四倍体、五倍体及六倍体甘蓝型油菜中 KCR2 基因的表达被激活.

3 讨论

近年来, 植物多倍体基因表达研究相当活跃也取得了很大进展^[14-15]. 研究表明, 染色体的倍性能改变基因的表达模式. 而表观遗传变化是多倍体基因组中基因表达调控模式改变的主要原因^[16]. 基因表达模式的改变和功能的变化最终会导致表型的变化. 异源多倍体常表现出不同于其二倍体祖先且不能用孟德尔定律解释的新表型, 如耐旱性的增强、抗病虫能力、开花时间的变化、器官大小的变化等. 这些变化为育种提供了丰富的资源, 对品种改良具有重要的意义^[12].

在本研究中, 80% 的基因在异源多倍体中非加性表达, 这表明这些基因表达对异源多倍化更为敏感. 57% 的基因在异源多倍体甘蓝型油菜中被抑制了, 这可能会影响到与这些基因所涉及的生化途径. 前人研究也证实在拟南芥^[6-7]、棉花^[8]、千里光^[17]和小麦^[9-11]等异源多倍体中, 基因非加性表达的广泛存在. 这种多倍体基因非加性表达可能是由于多倍化后产生了剧烈而又快速的遗传和表观遗传变异, 改变了基因的表达水平, 出现表达水平升高、降低, 甚至基因沉默或被激活等现象^[16].

对于天然甘蓝型油菜来说, 经历了多轮多倍化与杂交事件, 起源亲本和时间也不是非常明确, 因而很难在自然多倍体及其起源亲本间进行准确的比较研究. 人工多倍体起源亲本与时间都明确, 避免了这一缺陷, 然而人工多倍体与自然多倍体起源方式是不同的, 研究结果可能与自然真实情况存在差异. 本研究中, 采用了自然四倍体与人工合成四倍体, 定量表达分析结果发现, 在人工合成四倍体甘蓝型油菜与自然四倍体甘蓝型油菜中, 60% 的研究基因在基因表达上存在显著差异, 这进一步暗示了人工与自然多倍体间可能

存在不同表达调控机理.

本研究发现的多倍体基因表达的沉默和激活现象, 可能由于受到多倍性和杂合性所带来的基因组冲击, 新形成的甘蓝型油菜基因组构成和基因的表达发生了变化, 甚至是基因的沉默和激活. 前人研究发现, 拟南芥转基因沉默在二倍体和四倍体中发生, 而在三倍体中基因又重新得到了表达^[18], 对人工四倍体小麦的研究也发现, 有 2% 的基因在多倍体中发生基因表达的激活^[9]. 这些结果表明, 基因沉默和激活在异源多倍化过程中普遍发生, 杂交和基因组加倍可能诱发基因组内编码及调控序列发生迅速的表观遗传变化, 最终导致基因沉默或基因激活的发生. 本研究发现 2 个基因在人工合成四倍体中发生沉默, 而在自然四倍体中却是表达的, 这种人工合成和自然四倍体基因沉默发生的差异, 一方面可能是自然异源四倍体的祖先种与所选的两个亲本种本身在这些基因表达中存在差异; 另一种可能是自然异源四倍体在进化的过程中, 与人工合成四倍体相比较, 基因发生了表达变化. 前人在拟南芥中的研究发现^[19], 人工异源四倍体和天然异源四倍体基因沉默的发生频率存在差异, 拟南芥人工四倍体中, 大约有 0.4% 的基因发生沉默, 而在天然异源四倍体中, 约有 2.5% 的基因发生沉默.

参考文献:

- [1] 刘后利. 油菜遗传育种学 [M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2000: 77—78.
- [2] LI Qin-fei, MEI Jia-qing, ZHANG Yong-jing, et al. A Large-Scale Introgression of Genomic Components of *Brassica rapa* into *B. napus* by the Bridge of Hexaploid Derived from Hybridization Between *B. napus* and *B. oleracea* [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2013, 126(8): 2073—2080.
- [3] 牛 义, 张盛林, 刘好霞, 等. 不同倍性白魔芋植株的细胞学形态观察与核型分析 [J]. *西南大学学报: 自然科学版*, 2008, 20(12): 79—84.
- [4] 周鸿凯, 何觉民, 莫俊杰, 等. 纯合甘蓝型油菜核不育系 117AB 与菜薹杂交的亲性和研究 [J]. *西南大学学报: 自然科学版*, 2010, 32(6): 1—5.
- [5] SCHRANZ M E, OSBORN T C. De Novo Variation in Life-History Traits and Responses to Growth Conditions of Re-synthesized Polyploid *Brassica napus* (Brassicaceae) [J]. *American Journal of Botany*, 2004, 91(2): 174—183.
- [6] WANG J L, TIAN L, MADLUNG A, et al. Stochastic and Epigenetic Changes of Gene Expression in Arabidopsis Polyploids [J]. *Genetics*, 2004, 167(8): 1961—1973.
- [7] WANG J L, TIAN L, LEE H S, et al. Genomewide Nonadditive Gene Regulation in Arabidopsis Allotetraploids [J]. *Genetics*, 2006, 172(1): 507—517.
- [8] ADAMS K L, PERCIFIELD R J, WENDEL J F. Organ-Specific Silencing of Duplicated Genes in a Newly Synthesized Cotton Allotetraploid [J]. *Genetics*, 2005, 168(4): 2217—2226.
- [9] KASHKUSH K, FELDMAN M, LEVY A A. Gene Loss, Silencing and Activation in a Newly Synthesized Wheat Allo-tetraploid [J]. *Genetics*, 2002, 160(4): 1651—1659.
- [10] HE P, FRIEBE B R, GILL B S, et al. Allopolyploidy Alters Gene Expression in the Highly Stable Hexaploid Wheat [J]. *Plant Molecular Biology*, 2003, 52(2): 401—414.
- [11] VERONIQUE C, JEREMY J, IMEN M, et al. Genome-Wide Gene Expression Changes in Genetically Stable Synthetic and Natural Wheat Allohexaploids [J]. *New Phytologist*, 2010, 187(4): 1181—1194.
- [12] 彭 海, 张 静, 吴先军. 植物基因表达中的倍性效应: 研究进展、问题与展望 [J]. *中国科学 C 辑: 生命科学*, 2008, 38(1): 1—7.
- [13] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C_T}$ Method [J]. *Methods*, 2001, 25: 402—408.
- [14] WENDEL J F. Genome Evolution in Polyploids [J]. *Plant Molecular Biology*, 2000, 42(1): 225—249.

- [15] LIU B, WENDEL J F. Epigenetic Phenomena and the Evolution of Plant Allopolyploids [J]. *Mol Phylogenet Evol*, 2003, 29(3): 365–379.
- [16] COMAI L. Genetic and Epigenetic Interactions in Allopolyploid Plants [J]. *Plant Molecular Biology*, 2000, 43(2/3): 387–399.
- [17] HEGARTY M J, JONES J M, WILSON I D, et al. Development of Anonymous cDNA Microarrays to Study Changes to the *Senecio floral* Transcriptome During Hybrid Speciation [J]. *Molecular Ecology*, 2005, 14(8): 2493–2510.
- [18] GUO M, BIRCHLER J A. Trans-Acting Dosage Effects on the Expression of Model Gene Systems in Maize Aneuploids [J]. *Science*, 1995, 266(5193): 1999–2002.
- [19] COMAI L, TYAGI A P, WINTER K, et al. Phenotypic Instability and Rapid Gene Silencing in Newly Formed Arabidopsis Allotetraploids [J]. *Plant Cell*, 2000, 12(9): 1551–1568.

Differential Expression of Genes in Diploid, Tetraploid and Synthesized Polyploids of *Brassica*

LI Xiao-rong^{1,2}, LI Jia-na²

1. School of Pharmaceutical Sciences and Chinese Medicine;

2. School of Agronomy and Biotechnology, Southwest University, Chongqing 400716, China

Abstract: Interspecific hybridization and polyploidy can trigger changes in the genome structure and cause alterations in gene expression. In this study, polyploid effects on the expression of 35 fat-related genes were studied among natural *Brassica napus*, synthetic tetraploid, pentaploid, hexaploid, *B. rapa* and *B. oleracea*. Of these genes 80% were non-additively expressed (28 out of 35) and 60% were differentially expressed between natural and synthetic tetraploids (21 out of 35). Compared with their parental species, the natural and synthetic tetraploids had 11 genes which showed quite different expression patterns. Two and one genes were silent in the synthetic tetraploid and pentaploid, respectively, while one gene became active in *B. napus*. Our data suggest that alteration of ploidy can induce difference in gene expression in *Brassica*. This study provides an insight into understanding the relationship between genome dosage and gene expression in *Brassica*.

Key words: *Brassica*; polyploid; gene expression

责任编辑 周仁惠

