

申报 2024 年度陕西高等学校科学技术研究优秀成果公示内容

一、成果名称

叶片发育转录调控与耐密型油菜种质创新

二、成果简介

粮安天下，农稳社稷。食用油是粮食安全的重要组成。当前，我国食用油消费的 65% 以上依赖进口，国家食用油供给安全隐患突出。油菜作为我国第四大作物、第一大油料作物，常年种植面积 1.2 亿亩，是国产食用植物油的第一大来源，占国产油料作物产油量的 55% 以上。耐密型油菜品种对于提高油菜单产至关重要。叶片形态、衰老、代谢物合成等农艺性状显著影响油菜光合作用效能和养分吸收能力，是培育耐密型油菜品种的关键。叶片发育需要众多结构基因参与，而转录因子处于代谢通路上游，可同时对多个结构基因起关键调控作用。本项目在国家和陕西省重点研发计划等项目支持下，以叶片发育转录调控与耐密型油菜种质创新为方向，原创性挖掘了一批影响叶片发育的关键调节基因并解析了其分子机制，同时将基础研究与育种实践相结合，创制了一批耐密型油菜种质，为油菜等油料作物的基础研究和高产新品种培育奠定了重要基础。据此发表研究论文 19 篇，其中 SCI 论文 16 篇，出版专著 1 部，形成发明专利 1 件，参与登记油菜品种 5 个。主要创新性成果如下：

1、率先揭示了 AGL11 和 DELLA 调节基因调控叶片形态与衰老的分子机制。

油菜种植密度增加使得群体内竞争力增加，出现叶片形态变化和叶片遮挡等情况，进而显著影响群体光合效能。改良叶片形态并延缓叶片衰老是通过增加油菜种植密度提升群体产量的有效途径。

(1) MADS-box 家族转录因子 AGL11 调控叶片形态和衰老的分子机制。叶片形态和衰老状态显著影响油菜与外界环境进行碳、水等物质和能量的交换。本部分主要发现有：1) AGL11 在甘蓝型油菜衰老的叶片中大量表达，过量表达 *BnaC09.AGL11* 导致甘蓝型油菜叶片卷曲、叶面积减小且提前衰老。2) 利用 RNA-Seq、ChIP-qPCR、Dual-Luc 等技术证明 *Bna.C09.AGL11* 通过间接抑制 *Bna.A01.DWF4* 和 *Bna.C07.PGX3* 的表达，阻碍甘蓝型油菜叶

片的扩张进而改变其形状；通过直接激活 *Bna.C04.ABI5-2* 和 *Bna.C03.SEN4* 以及间接激活 *Bna.A04.ABI5* 和 *Bna.C01.SEN4* 等基因的表达，促进甘蓝型油菜叶片的衰老。3) TTG1 作用于 AGL11 下游，通过影响茉莉酸合成和信号转导调控叶片大小和形状。（代表性论文 1、2 和 3）

(2) 消除 DELLA 蛋白的负向调控作用促进叶片衰老的分子机制。叶片衰老是叶片细胞对发育年龄以及各种内部和环境信号的综合反应。本部分主要发现有：1) 同时敲除赤霉素转导通路上 5 个 DELLA 蛋白基因导致叶片衰老提前，赤霉素生物合成受阻导致叶片衰老延缓。2) DELLA 蛋白通过积累更多糖分，降低叶绿素含量和亚麻酸等脂肪酸含量抑制叶片衰老。3) DELLA 蛋白调控 *EDS1*、*OPR3*、*RNS1*、*EIN3* 和 *COS1* 等乙烯、水杨酸、脱落酸和茉莉酸合成和转导途径上的多个关键基因的表达，与这些激素互作延缓叶片衰老。（代表性论文 4）

2、系统解析了三类转录因子调控叶片表皮毛形成与花青素积累的分子机制。

油菜种植密度增加导致个体间的通透性差，容易滋生病虫害，后期易发生倒伏，进而导致粒瘪、储藏物质积累受阻，影响高产。表皮毛作为油菜叶片表面的附属物可有效防止病虫害侵害，花青素作为油菜叶片内的代谢物可显著提高油菜抵抗生物和非生物逆境的能力。

(1) TTG1-bHLH-MYB 复合体促进叶片表皮毛形成和花青素积累的分子机制。本部分主要发现有：1) WD40 重复序列调节基因 *TTG1* 在发育叶片中稳定高表达，其功能缺失导致叶片表皮毛数量、花青素含量均显著下降，幼苗的抗逆能力显著降低。2) 通过 RNA-Seq、糖皮质激素受体诱导、ChIP-qPCR 等技术证实 TTG1-bHLH-MYB 复合体通过直接调控 *BLT*、间接调控 *SPL8*、*ETC1*、*HDG11* 和 *SVB* 等基因的表达促进表皮毛形成；通过直接调控 *TTG2*、*TT8*、*F3'H* 和 *DFR* 等基因的表达促进花青素积累。（代表性论文 2、3 和 5）

(2) WRKY 家族转录因子 WRKY41 负向调控叶片花青素积累的分子机制。本部分主要发现有：1) WRKY41 在叶片发育早期高表达，其功能缺失导致叶片花青素含量显著增加，幼苗抗逆能力显著上升；过量表达甘蓝型油菜 *BnWRKY41-1* 导致叶片花青素含量显著下降。

2) 通过 RNA-Seq 和 RT-qPCR 等技术证实 WRKY41 通过抑制 *MYB75*、*MYB111*、*MYBD* 和 *GSTF12* 等调节和结构基因的表达抑制花青素的积累。3) 十字花科油菜和拟南芥中的 WRKY41 在调控叶片花青素积累方面功能高度保守。（代表性论文 6）

（3）bHLH 家族转录因子 GL3 促进叶片表皮毛形成和花青素积累分子机制。本部分主要发现有：1) GL3 在发育叶片中稳定高表达，其功能缺失导致叶片表皮毛数量、花青素含量均显著下降，幼苗的抗逆能力显著降低。过量表达甘蓝型油菜 *BnGL3-1* 导致叶片表皮毛数量、花青素含量均显著增加。2) 通过 RNA-Seq 和 RT-qPCR 等技术证实 GL3 通过促进 *GL2* 和 *UGT78D2* 等、抑制 *BEE1* 和 *LBD38* 等基因的表达促进叶片表皮毛形成；通过促进 *GL2* 和 *ZFP8* 等、抑制 *TEM2* 和 *CML42* 等基因的表达促进叶片花青素积累。3) 十字花科油菜和拟南芥中的 GL3 在调控叶片表皮毛形成和花青素积累方面功能高度保守。（代表性论文 7 和 8）

3、创制了有较大应用前景的耐密型油菜种质资源

（1）通过 EMS（甲基磺酸乙酯）诱变技术，建立了遗传背景一致的甘蓝型油菜突变体库 1 套，经过多年多点田间性状调查与试验验证，结合 *AGL11*、*TTG1*、*WRKY41* 和 *GL3* 等优异单倍型与分子标记，获得了系列叶片光合效能提升、衰老延迟、表皮毛增多、花青素增加的油菜优异种质材料，为深入解析油菜耐密调控机制和耐密型高产育种实践提供了新思路和新材料。（代表性论文 1、3、6-8）

（2）优化转基因和基因编辑技术在油菜种质资源创新中的应用，形成发明专利 2 件（一种基于 CRISPR/Cas9 的甘蓝型油菜基因编辑材料，已授权，授权号为 CN 111560371 B；一种具有多种优良性状的甘蓝型油菜的育种方法和载体，已受理，申请号为 2023105265154），通过基因过表达和基因编辑等技术分子操纵 *AGL11*、*DELLA*、*TTG1*、*WRKY41* 和 *GL3* 等油菜重要调节因子，结合双单倍体育种、杂交育种、回交转育和穿梭育种等策略，对油菜叶片发育相关的基因、性状进行优化聚合，在高油基础上创制了一批新型耐密型优异种质，为油菜耐密调控机制研究和耐密型高产育种体系构建提供了重要参考。（代表性论文 1-3，5-8）

三、代表性论文专著或知识产权（标准规范等），总数不超过 10 项，其中代表性论文专著不超过 8 篇（部）

(1) Shuangcheng He, Rong Ma, Zijin Liu, Da Zhang, Shixiang Wang, Yuan Guo, Mingxun Chen*. Overexpression of *BnaAGL11*, a MADS-Box transcription factor, regulates leaf morphogenesis and senescence in *Brassica napus*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2022, 70(11): 3420-3434.

(2) Kaige Liu, Shuanghui Qi, Dong Li, Changyu Jin, Chenhao Gao, Shaowei Duan, Baili Feng, Mingxun Chen*. TRANSPARENT TESTA GLABRA 1 ubiquitously regulates plant growth and development from Arabidopsis to foxtail millet (*Setaria italica*). Plant Science, 2017, 254: 60-69.

(3) 刘凯歌, 齐双慧, 段绍伟, 李东, 金倡宇, 高晨浩, 刘绚霞, 陈明训*. 甘蓝型油菜 *BnTTG1-1* 基因的功能分析. 植物学报, 2017, 52(6): 713-722.

(4) Mingxun Chen, Antony Maodzeka, Longhua Zhou, Essa Ali, Zhong Wang, Lixi Jiang*. Removal of DELLA repression promotes leaf senescence in Arabidopsis. Plant Science, 2014, 219-220: 26-34.

(5) Zelou Wei, Yalong Cheng, Chenchen Zhou, Dong Li, Xin Gao, Shuoxin Zhang, Mingxun Chen*. Genome-wide identification of direct targets of the TTG1-bHLH-MYB complex in regulating trichome formation and flavonoid accumulation in *Arabidopsis thaliana*. International Journal of Molecular Sciences, 2019, 20(20): 5014.

(6) Shaowei Duan, Jianjun Wang, Chenhao Gao, Changyu Jin, Dong Li, Danshuai Peng, Guomei Du, Yiqian Li, Mingxun Chen*. Functional characterization of a heterologously expressed *Brassica napus WRKY41-1* transcription factor in regulating anthocyanin biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*. Plant Science, 2018, 268: 47-53.

(7) Chenhao Gao, Yuan Guo, Jianjun Wang, Dong Li, Kaige Liu, Shuanghui Qi, Changyu Jin, Shaowei Duan, Jingyun Gong, Zixiong Li, Mingxun Chen*. *Brassica napus* GLABRA3-1 promotes anthocyanin biosynthesis and trichome formation in true leaves when expressed in *Arabidopsis thaliana*. Plant Biology, 2018, 20(1): 3-9.

(8) Chenhao Gao, Dong Li, Changyu Jin, Shaowei Duan, Shuanghui Qi, Kaige Liu, Hanchen Wang, Haoli Ma, Jiangbo Hai, Mingxun Chen*. Genome-wide identification of GLABRA3 downstream genes for anthocyanin biosynthesis and trichome formation in Arabidopsis. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2017, 485(2): 360-365.

(9) 陈明训，王建军，刘华，李东，郭媛. 一种基于 CRISPR/Cas9 的甘蓝型油菜基因编辑材料. 授权号：ZL202010339208.1

四、主要完成人情况

姓名	排名	行政/技术职称	工作单位/完成单位
陈明训	1	副院长/教授	西北农林科技大学
刘子金	2	无/副教授	西北农林科技大学
王世祥	3	博士研究生	西北农林科技大学
何双呈	4	博士研究生	西北农林科技大学
郭媛	5	无/讲师	西北农林科技大学
王建军	6	博士研究生	西北农林科技大学
龚静云	7	无/助理研究员	新疆农业科学院/西北农林科技大学
高晨浩	8	科长/讲师	郑州大学/西北农林科技大学
刘凯歌	9	副科长/助理农艺师	河南省巩义市农业农村工作委员会/西北农林科技大学
魏泽楼	10	SCI 期刊编辑	曼迪匹艾（武汉）科技服务有限公司/西北农林科技大学

段绍伟	11	博士后	美国加州大学河滨分校/西北农林科技大学
-----	----	-----	---------------------

五、主要完成单位

单位名称	排名
西北农林科技大学	1

六、完成人合作关系情况

完成人合作关系情况表					
序号	合作方式	合作者/项目排名	合作时间	合作成果	证明材料
1	论文合著	陈明训 (1) , 刘子金 (2) , 王世祥 (3) , 何双呈 (4) , 郭媛 (5)	2019. 1- 2022. 3	Overexpression of <i>BnaAGL11</i> , a MADS-Box transcription factor, regulates leaf morphogenesis and senescence in <i>Brassica napus</i>	1 代表性论文
2	论文合著	陈明训 (1) , 郭媛 (5) , 王建军 (6) , 龚静云 (7) , 高晨浩 (8) , 刘凯歌 (9) , 段绍伟 (11)	2014. 1- 2016. 10	<i>Brassica napus</i> GLABRA3-1 promotes anthocyanin biosynthesis and trichome formation in true leaves when expressed in <i>Arabidopsis thaliana</i> (<i>italica</i>)	7 代表性论文
3	论文合	陈明训 (1) ,	2017. 8-	Genome-wi	代表性论文

	著	魏泽楼 (10)	2019. 10	de identificatio n of direct targets of the TTG1-bHLH-MYB complex in regulating trichome formation and flavonoid accumulation in <i>Arabidopsis thaliana</i>	5
--	---	----------	----------	---	---