网络出版时间:2026-05-11 DOI:10.13207/j.jnwafu.2026.11.011

低温胁迫下甘蓝型冬油菜光合作用-天线蛋白相关基因的表达及功能分析

金姣姣[1],刘海卿[1],任盼荣[1],王春林[1],孙万仓[2]

(1 陇东学院 农业与生物工程学院/甘肃省陇东生物资源保护利用与生态修复重点实验室,甘肃 庆阳 745000;
2 甘肃农业大学 农学院/甘肃省油菜工程研究中心,甘肃 兰州 730000)

[摘 要] 【目的】探究大田物候条件下甘蓝型冬油菜(*Brassica napus* L.)应答低温胁迫时光合作用-天线蛋白相关基因的表达及功能,为甘蓝型冬油菜抗寒品种的选育提供理论依据。【方法】以强抗寒的GZ9和弱抗寒的TSG两个甘蓝型冬油菜为试验材料,分别在适温(T1:10 ℃)—低温(T2:—4 ℃)—恢复适温(T3:20 ℃)处理下,通过转录组测序技术研究甘蓝型冬油菜大田种植响应低温胁迫的调控途径。【结果】共鉴定出1 192个温度敏感型差异表达基因(differentially expressed genes,DEGs),其中光合作用-天线蛋白通路富集显著。Lhcb6蛋白2个调控基因*BnaA03G0206900ZS*和*BnaC03G0243700ZS*在低温胁迫后显著上调,而Lhcb1、Lhcb2和Lhcb3蛋白的8个DEGs在低温胁迫下均下调。功能分析显示,Lhcb6蛋白的两个调控基因均编码稳定的亲水性蛋白,具有完整的开放阅读框,氨基酸序列相似度达97.67%,均定位于叶绿体,为PLN00089超家族成员,与岩藻黄素-叶绿素a/c结合蛋白相关,可能参与光保护及低温适应。【结论】甘蓝型冬油菜响应低温胁迫与岩藻黄素-叶绿素a/c结合蛋白相关基因调控有关。

[关键词] 甘蓝型冬油菜;低温胁迫;转录组分析;光合作用-天线蛋白;Lhcb6蛋白;差异表达基因
[中图分类号] S565.4 [文献标志码] A [文章编号] 1671-9387(2026)11-0113-13

Expression and functional analysis of photosynthesis-antenna protein-related genes in *Brassica napus* under low temperature stress

JIN Jiaojiao[1],LIU Haiqing[1],REN Panrong[1],WANG Chunlin[1],SUN Wancang[2]

(1 *School of Agriculture and Bioengineering,Longdong University/Gansu Key Laboratory of Conservation and Utilization of Biological Resources and Ecological Restoration in Longdong,Qingyang,Gansu* 745000,*China*;2 *Agronomy College,Gansu Agriculture University/Gansu Rapeseed Engineering Research Center,Lanzhou,Gansu* 730000,*China*)

Abstract:【Objective】This study investigated the expression and function of photosynthetic-antenna protein-related genes in *Brassica napus* L. in response to low-temperature stress under field phenological conditions,to provide a theoretical basis for breeding cold-resistant varieties of *Brassica napus* L..【Method】Using two rapeseed-type winter oilseed rape cultivars,namely GZ9 (high cold resistance) and TSG (low cold resistance),as experimental materials,this study investigated the transcriptional regulatory pathways underlying the cold stress response of field-grown rapeseed-type winter oilseed rape through transcriptome sequencing technology under three treatments:optimal temperature (T1:10 ℃),low temperature (T2:—4 ℃),and recovery to optimal temperature (T3:20 ℃).【Result】A total of 1 192 temperature-sensitive differentially expressed genes

[收稿日期] 2025-08-25 [修回日期] 2025-11-04
[基金项目] 甘肃省高校教师创新基金项目(2024B-173);庆阳市青年科技人才项目(2025RK1030);甘肃省科技计划项目(24JRRM025);陇东学院青年博士基金项目(XYBYZK2209)
[作者简介] 金姣姣(1995—),女,甘肃庆阳人,讲师,硕士,主要从事油菜遗传育种研究。E-mail:631981312@qq.com

(DEGs) were identified, with significant enrichment in the photosynthesis-antenna protein pathway. Two regulatory genes of Lhcb6 protein, *BnaA03G0206900ZS* and *BnaC03G0243700ZS*, showed significant upregulation under low-temperature stress, while eight DEGs of Lhcb1, Lhcb2, and Lhcb3 proteins were downregulated. Functional analysis revealed that both regulatory genes of Lhcb6 encode stable hydrophilic proteins with intact open reading frames, exhibiting 97.67% amino acid sequence similarity. These proteins are localized in chloroplasts, belonging to the PLN00089 superfamily, and are associated with fucoxanthin-chlorophyll a/c-binding proteins, suggesting their potential involvement in light protection and low-temperature adaptation.【Conclusion】The response of winter rapeseed (*Brassica napus* L.) to low-temperature stress is associated with the regulation of genes related to fucoxanthin-chlorophyll a/c binding protein.

Key words: winter rapeseed (*Brassica napus*); low temperature stress; transcriptome analysis; photosynthesis-antenna proteins; Lhcb6 protein; differentially expressed genes

油菜是我国主要的油料作物,国内自给率约35%[1]。油菜既是重要的食用植物油源和高蛋白饲料源,也是生物柴油最理想的原料来源之一[2],分为白菜型油菜、芥菜型油菜、甘蓝型油菜3种类型[3]。甘蓝型油菜(*Brassica napus* L.)具有耐肥、抗病毒病、高产等优良性状[2,4],富含脂肪酸、维生素等营养成分,具有极高的经济价值和营养价值[5]。但是抗寒性差是北方寒旱区种植甘蓝型冬油菜的主要影响因素[6],导致叶片萎蔫、黄化、卷曲,叶绿体膨胀变形、基粒片层结构紊乱等现象[7],进而引起产量降低[8]。因此深入研究甘蓝型冬油菜响应低温胁迫的机制,对于提高其抗寒能力、保障油菜产业的稳定发展具有重要意义。

近年来,随着分子生物学技术的飞速发展,转录组学作为一种强大的研究工具,为揭示植物响应逆境胁迫的分子机制提供了新的视角和方法。转录组分析能够全面、系统地研究生物体在特定条件下所有转录本的种类、结构和表达水平,有助于发现与逆境胁迫响应相关的关键基因和信号通路[9]。RNA-seq技术作为转录组研究的主要方法,凭借其高通量、高灵敏度、应用范围广等优势,已被广泛应用于植物逆境胁迫响应机制的研究中[10]。已有多项转录组学研究在其他植物中取得了重要成果。例如,有研究表明油菜素内酯能调控小麦叶夹角和根系构型,并鉴定出控制叶夹角和根系构型的关键候选基因[11];小麦低温胁迫过程中的差异表达基因主要涉及激素信号转导、光合作用、昼夜节律-植物、糖代谢、DNA复制等反应通路[9];MYB-related家族基因在苜蓿耐低温中可能发挥着重要作用[10];玉米根系的低温应答差异基因主要参与淀粉和蔗糖代谢、苯丙氨酸代谢[12]。甘蓝型冬油菜在冷冻胁迫下鉴定出大量DEGs[13-14],并进行基因组鉴定;郭志婷等[15]研究鉴定出14个BnAR基因家族成员均响应低温胁迫;赵飞雪[16]研究发现,BnaC07.CBL1通过影响植株CBF基因介导的低温响应信号通路负调控植株的抗寒性:这些研究为甘蓝型冬油菜低温胁迫响应机制提供了重要见解,揭示了低温胁迫下油菜转录组的变化规律和相关基因功能,为油菜抗寒育种提供了丰富的基因资源和理论依据。然而现有研究也存在一定局限性。在研究方法上,部分研究仅聚焦于单一时间点,可能无法全面反映油菜在整个低温胁迫过程中的动态响应。此外,试验材料大多来自实验室或者人工气候室培养条件下,缺乏甘蓝型冬油菜在自然物候条件下大田种植时植株响应低温胁迫的研究。为此,本研究主要以耐寒性强弱不同的两个大田栽培甘蓝型冬油菜为试验材料,分析鉴定出甘蓝型冬油菜不同生育时期在适温—低温—恢复适温条件下冷胁迫敏感基因和冷胁迫迟钝基因,为甘蓝型冬油菜低温胁迫分子响应机理研究提供一定的理论支撑。

1 材料与方法

1.1 试验材料

2024年在甘肃庆阳市西峰区陇东学院旱作试验站试验田,根据其他学者的研究结论[7]及本课题组前期研究,选择强抗寒冬油菜GZ9和弱抗寒冬油菜TSG为试验材料,分别在五叶苗期(T1:10 ℃,生育时期第63天)、越冬期(T2:−4 ℃,生育时期第118天)和返青抽薹期(T3:20 ℃,生育时期第228天)采集长势良好且生长状况一致的刚好完全展开的功能叶。每个处理设置3次生物学重复,将叶片用ddH_2O冲洗干净后,再用灭菌后的滤纸吸干表面水分,液氮速冻,−80 ℃保存备用。

1.2　总 RNA 提取及 cDNA 文库的构建

使用改良的 CTAB 法提取油菜叶片总 RNA，提取成功后的 RNA 使用 DEPC 水溶解；随后采用 Qubit 荧光定量仪对 RNA 进行精确定量，同时通过 Qsep400 高通量生物片段分析仪检测 RNA 完整性指数（RQN 值），确保样本质量符合建库标准。通过 Oligo（dT）磁珠富集带有 polyA 尾的 mRNA，将纯化后的 mRNA 在适当温度下用片段缓冲液裂解成小片段，使用随机六聚体引物反转录生成第一链 cDNA，然后加入缓冲液、dUTP 和 DNA 聚合酶合成第二链 cDNA，进行测序接头连接（adapter ligation），连接完成后进行 DNA 磁珠纯化和片段选择，获得插入片段 250～350 bp 的文库。将连接产物进行 PCR 扩增，并再次使用 DNA 磁珠纯化扩增产物，用 Nuclear Free Water 溶解产物，文库构建完成后，先使用 Qubit 荧光定量仪进行浓度检测，随后使用 Qsep400 高通量生物片段分析仪进行片段大小检测。

1.3　转录组测序及组装

将检测合格的样品提交 Illumina 平台进行测序（武汉迈维代谢生物科技股份有限公司）。对测序得到的原始测序数据（raw data），通过去低质量序列、接头污染、N 比例大于 10% 和低质量（Q≤20）碱基数超过 50% 的 reads 等过程完成数据处理，得到高质量的有效测序数据（clean reads）。利用 HISAT2 构建索引，将有效测序数据与参考基因组进行序列比对，获取其在参考基因组或基因上的位置信息，以及测序样品特有的序列特征信息。

1.4　差异表达基因的筛选及富集分析

用 FPKM（framents per ki-lobase per million mapped reads）表示转录本的表达水平，使用 DESeq2 进行两组之间的差异表达分析，使用 Benjamini-Hochberg 方法校正 P 值，以表达差异倍数（fold change，FC）和错误发生率（false discovery rate，FDR）为指标设定标准筛选 DEGs，具体为 $|\log_2 FC|\geq 1$ 且 $FDR<0.05$，基于超几何检验进行富集分析。

1.5　生物信息学分析

以 NCBI 寻找完整开放阅读框，DNAMAN 软件进行序列比对分析，通过 Expay 网站分析蛋白理化性质（https://web.expasy.org/protparam/）和测定氨基酸疏水性（https://web.expasy.org/protscale/），通过 NPS@ 网站预测蛋白二级结构（https://npsa.lyon.inserm.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=/NPSA/npsa_sopma.html），通过 TMHMM 网站预测跨膜结构（https://services.healthtech.dtu.dk/services/TMHMM-2.0/），通过 WOLF PSORT 网站预测亚细胞定位（https://wolfpsort.hgc.jp/），通过 NCBI 网站预测保守结构域（https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi）。

1.6　叶片总 RNA 提取及荧光定量 PCR（RT-qPCR）验证

叶片总 RNA 提取按照 Tiangen 试剂盒（DP419）说明书进行，采用 Nanodrop 2000 检测 RNA 浓度及纯度。将 RNA 稀释使终质量浓度为 200 ng/μL，采用反转录试剂盒反转录成 cDNA（SweScript All-in-One RT SuperMix for qPCR），用 Primer Premier 5.0 设计引物，内参基因为 *Bnactin*，由武汉赛维尔生物科技有限公司合成引物（表 1），采用 2×Universal Blue SYBR Green qPCR Master Mix（武汉赛维尔生物科技有限公司）试剂盒进行定量 PCR，每个反应均设置 3 个重复。荧光定量 PCR 反应体系为：cDNA 2.0 μL，2×Universal Blue SYBR Green qPCR Master Mix 7.5 μL，上下游引物（2.5 μmol/L）各 0.75 μL，超纯水 4.0 μL。反应程序为：95 ℃ 30 s；95 ℃ 15 s，60 ℃ 30 s，40 个循环。计算相对表达量：相对表达量 $=2^{-\Delta\Delta Ct}$。

表 1　本研究采用的荧光定量 PCR 引物

Table 1　Primers used for quantitative real-time PCR in this study

引物名称 Primer name	引物序列（5′→3′） Primer sequence（5′→3′）	片段长度/bp Length	退火温度/℃ Annealing temperature
Bnactin-F	ACTGTGCCAATCTACGAGGGT	185	60
Bnactin-R	AAGTCTAGAGCGACGTAAGCAAGTT		60
BnaA08G0207100ZS-F	AGCGAAGGAGGGCTTGATTACT	87	60
BnaA08G0207100ZS-R	CAAGATCACCTGAGTAGCCCAAATA		60
BnaA09G0414200ZS-F	TGAGCTAGAAGTTATCCACTGCAGA	140	60
BnaA09G0414200ZS-R	CTCCCTCGCTGAAGATTTGTG		60

表1(续) Table 1(continued)

引物名称 Primer name	引物序列(5′→3′) Primer sequence (5′→3′)	片段长度/bp Length	退火温度/℃ Annealing temperature
BnaC04G0124900ZS-F	TCCTGAACTCTTGGCCCGTAA	193	60
BnaC04G0124900ZS-R	TCCAGCGACTCTGTAACCCTCA		60
BnaC07G0134600ZS-F	AAGGTGAAGGAGGTCAAGAACG	159	60
BnaC07G0134600ZS-R	AACGAAGTTGGTTGCGAAGG		60
BnaC07G0308900ZS-F	AATCCAGCACTCCTCTTTCGC	302	60
BnaC07G0308900ZS-R	CCCATCTGCTGTGGATTACTTC		60
BnaA02G0345900ZS-F	ATCAGCAATCCAGCACTCCTCT	281	60
BnaA02G0345900ZS-R	CACGGTTCTTTGCGAAGGTTT		60
BnaA10G0105600ZS-F	GTTTCCGCATCAACGGTCTT	233	60
BnaA10G0105600ZS-R	AGGGTTATCAAGATGGTCAAGGAGA		60
BnaC09G0366900ZS-F	GCCGGTTCACAAATCTTCTCTG	265	60
BnaC09G0366900ZS-R	CCAACCTTCCATTCTTGATTTCC		60
BnaA03G0206900ZS-F	GTGACAGACAAGACAAAGGAGGC	172	60
BnaA03G0206900ZS-R	ATGCCTTTGTAGTGTCCTTATCCTCT		60
BnaC03G0243700ZS-F	CCGAGAAAGGTGATGGAAACA	152	60
BnaC03G0243700ZS-R	AGTGTCTTTGGCTTCAGCGTTT		60

1.7 数据处理

采用IBM SPSS Statistics 19统计软件对试验数据进行分析,通过Metware Cloud进行在线数据平台绘图(https://cloud.metware.cn)。

2 结果与分析

2.1 甘蓝型冬油菜转录组测序数据及质量分析

构建了10 ℃——4 ℃—20 ℃处理甘蓝型冬油菜叶片cDNA文库,去除低质量数据后,GZ9 T1、T2和T3 3个处理分别平均获得67 237 589.33,61 595 165.33和72 276 048.67条过滤后reads,同时,TSG T1、T2和T3 3个处理分别平均获得62 515 862.00,61 650 785.33和49 531 634.67条过滤后reads,高质量reads的碱基总数平均在7.43 G以上,Q20均在99.43%以上,Q30均在97.37%以上,平均GC占比为45.26%~47.70%(表2),表明转录组测序数据符合后续试验要求。

表2 甘蓝型冬油菜叶片转录组测序数据结果

Table 2 Transcriptome sequencing data of *Brassica napus* leaves

样本 Sample	处理 Treatment	原始reads Raw reads	过滤后reads Clean reads	高质量reads碱基总数/G Clean base	Q20/%	Q30/%	GC占比/% GC proportion
GZ9	T1-1	61 523 338	60 725 724	9.11	99.56	97.75	47.11
	T1-2	70 693 790	69 744 616	10.46	99.59	97.87	47.70
	T1-3	72 029 066	71 242 428	10.69	99.55	97.70	47.31
	T2-1	65 278 316	64 619 486	9.69	99.57	97.85	46.54
	T2-2	59 446 612	58 817 362	8.82	99.54	97.68	46.50
	T2-3	61 969 192	61 348 648	9.20	99.54	97.67	46.42
	T3-1	73 621 190	73 116 314	10.97	99.56	97.76	46.04
	T3-2	87 416 160	86 667 628	13.00	99.59	97.95	46.13
	T3-3	57 400 924	57 044 204	8.56	99.57	97.81	46.41
TSG	T1-1	65 166 180	64 498 500	9.67	99.57	97.87	47.06
	T1-2	62 887 208	61 327 566	9.20	99.54	97.70	47.10
	T1-3	62 306 392	61 721 520	9.26	99.56	97.80	47.13
	T2-1	62 026 216	61 345 240	9.20	99.51	97.50	46.54
	T2-2	66 904 900	65 978 046	9.90	99.59	97.90	47.23
	T2-3	58 326 412	57 629 070	8.64	99.53	97.62	46.65
	T3-1	46 387 068	44 385 918	6.66	99.48	97.37	46.01
	T3-2	53 764 668	51 711 988	7.76	99.43	97.40	46.00
	T3-3	55 926 944	52 496 998	7.87	99.49	97.51	45.26

2.2　甘蓝型冬油菜差异表达基因的筛选

将 6 个处理组样品中表达的基因进行比较，结果（图 1）显示，随着温度的变化，以 $|\log_2 FC|\geq 1$ 且 FDR＜0.05 为筛选条件，GZ9-T2_vs_GZ9-T1、GZ9-T3_vs_GZ9-T1 和 GZ9-T3_vs_GZ9-T2 共同 DEGs 有 2 920 个（图 1-A），TSG-T2_vs_TSG-T1、TSG-T3_vs_TSG-T1 和 TSG-T3_vs_TSG-T2 共同 DEGs 有 3 368 个（图 1-B）。

对比分析 6 个处理组间的 DEGs，TSG-T1_vs_GZ9-T1、TSG-T2_vs_GZ9-T2 和 TSG-T3_vs_GZ9-T3 3 个比较组有 883 个共同 DEGs（图 1-C），说明 883 个 DEGs 是由于试验材料遗传背景因素引起的，与温度无关。对比 GZ9-T2_vs_GZ9-T1、GZ9-T3_vs_GZ9-T1、GZ9-T3_vs_GZ9-T2 3 个比较组的共同 DEGs（2 920）和 TSG-T2_vs_TSG-T1、TSG-T3_vs_TSG-T1、TSG-T3_vs_TSG-T2 3 个比较组的共同 DEGs（3 368），发现存在交集 DEGs 有 1 192 个（图 1-D），说明 1 192 个 DEGs 在 TSG 和 GZ9 两个试验材料中均是由于 T1、T2 和 T3 处理的变化引起的，与试验材料遗传背景无关。因此，6 个处理组研究共发现 883 个温度迟钝型 DEGs 和 1 192 个温度敏感型 DEGs。

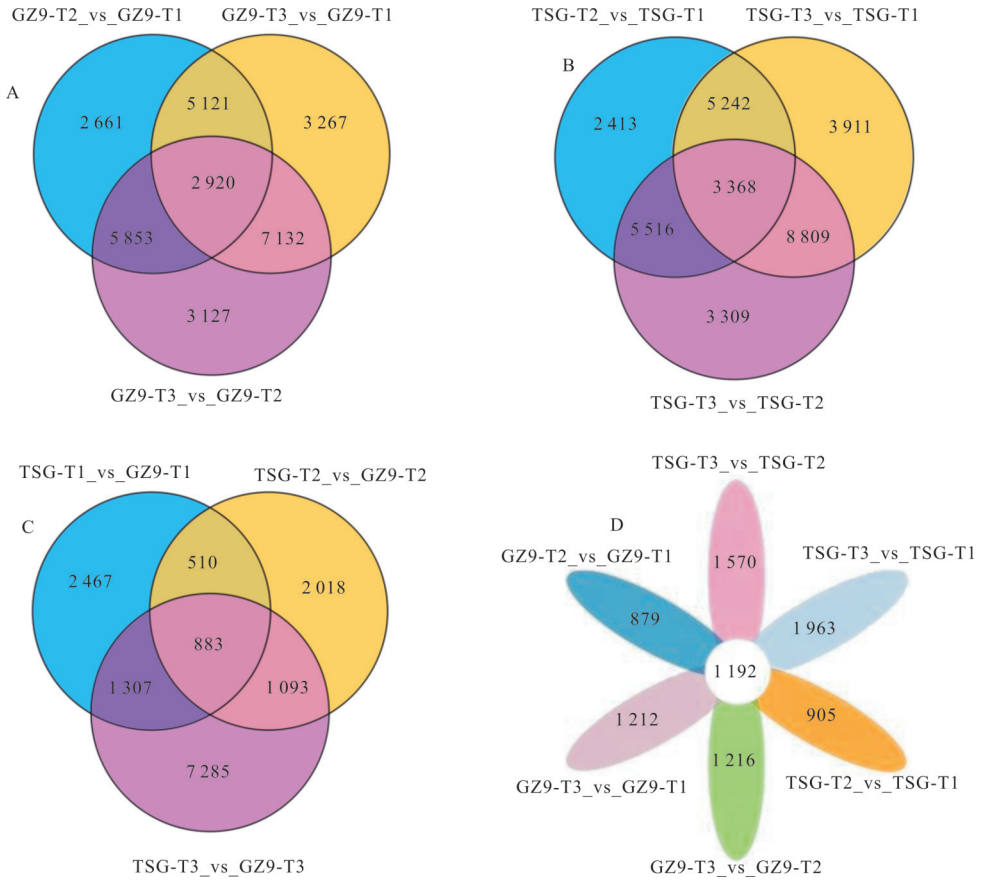


图 1　甘蓝型冬油菜叶片差异基因数量

Fig. 1　Number of differentially expressed genes (DEGs) in *Brassica napus* leaves of napa rapeseed

2.3　温度敏感型差异基因 GO 富集分析

GO 富集分析结果（图 2）表明，温度敏感型的 1 192 个 DEGs 分别富集在生物过程（biological process，BP）、细胞成分（cellular component，CP）和分子功能（molecular function，MF）3 大类，富集的 q 值最小的 50 个 GO-term 中 BP 有 36 条通路，CP 有 4 条通路，MF 有 10 条通路，富集 DEGs 最多的通路分别是对蓝光的反应（response to blue light，26 个 DEGs）、细胞质小核糖体亚基（cytosolic small ribosomal subunit，32 个 DEGs）、ATP-依赖蛋白质折叠分子伴侣（ATP-dependent protein folding chaperone，17 个 DEGs）和蛋白质折叠分子伴侣（protein folding chaperone，17 个 DEGs）。

GO 富集最显著的 20 条通路分析结果（图 3）表明，气泡点均表现为红色，富集显著，其中细胞质小核糖体亚基（cytosolic small ribosomal subunit）通路的点最大，富集的 DEGs 数量最多，为 32 个，细胞对 UV-A 的响应（cellular response to UV-A）和对 UV-A 的响应（response to UV-A）两条通路的富集因子（rich factor）最大，富集程度最高。

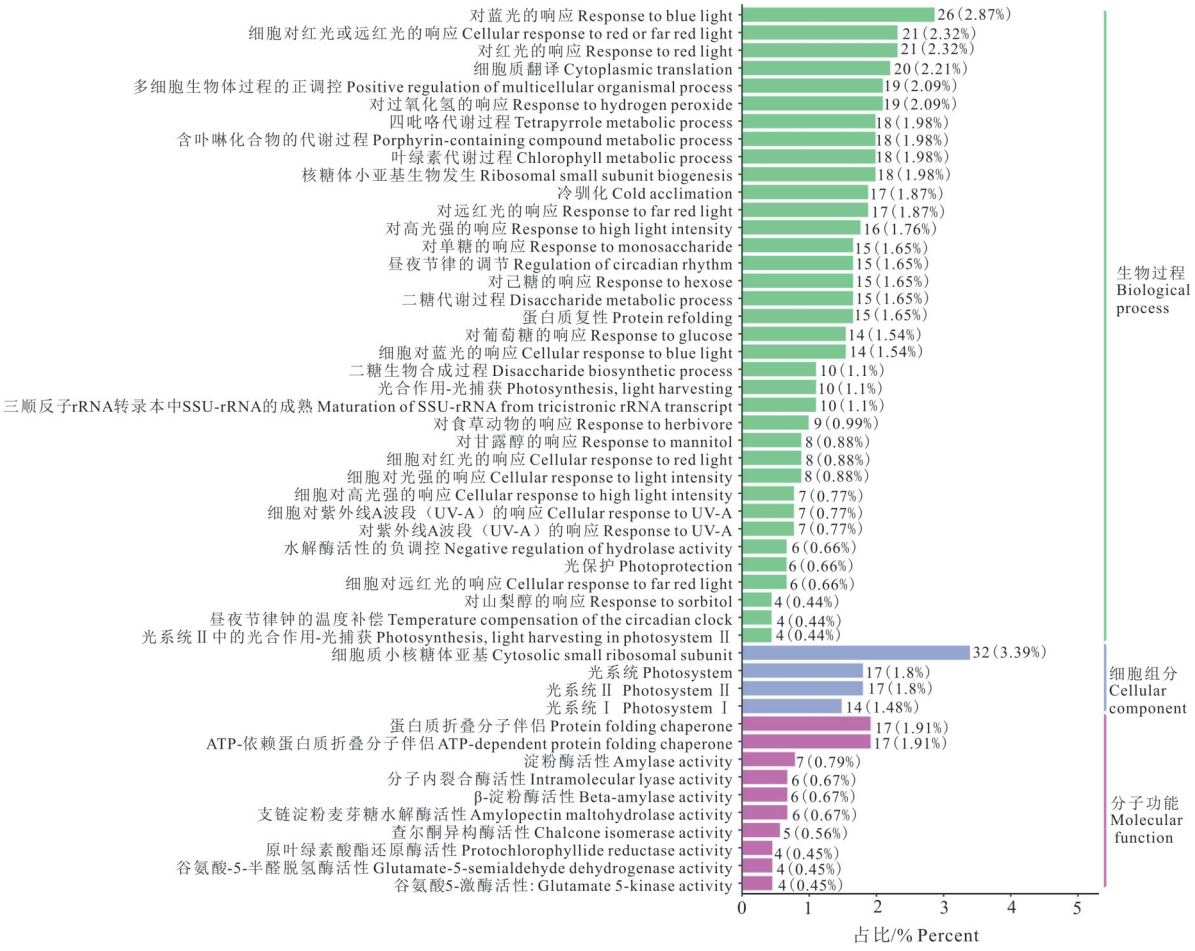


图 2 甘蓝型冬油菜温度敏感型 DEGs 的 GO 富集分析

Fig. 2 GO enrichment analysis of temperature-sensitive DEGs in *Brassica napus*

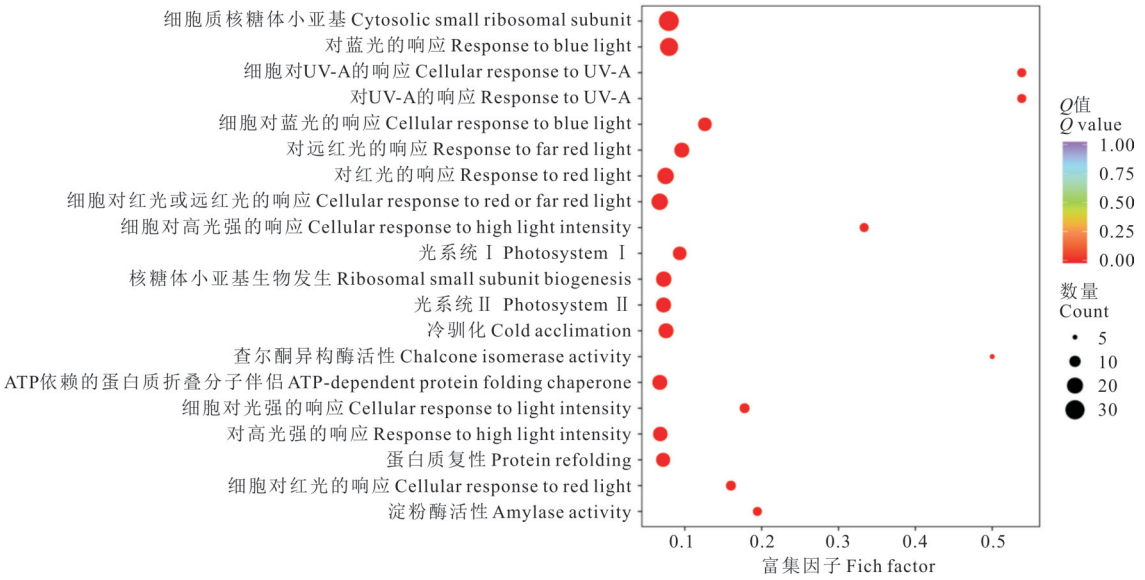


图 3 甘蓝型冬油菜温度敏感型 DEGs 的 GO 富集散点图

Fig. 3 GO enrichment analysis of temperature-sensitive DEGs in *Brassica napus*

2.4 温度敏感型差异基因 KEGG 富集分析

KEGG 富集分析结果(图 4)表明,温度敏感型的 1 192 个 DEGs 分别富集到细胞过程(cellular processes,CP)、环境信息处理(environmental informa-

tion processing，EIP）、遗传信息处理（genetic information processing，GIP）、代谢作用（metabolism，M）和有机体系统（organismal systems，OS）5大类。其中代谢作用中富集最多的是代谢途径（207 DEGs）和次生代谢物生物合成途径（148 DEGs），遗传信息中富集最多的是核糖体途径（84 DEGs）。

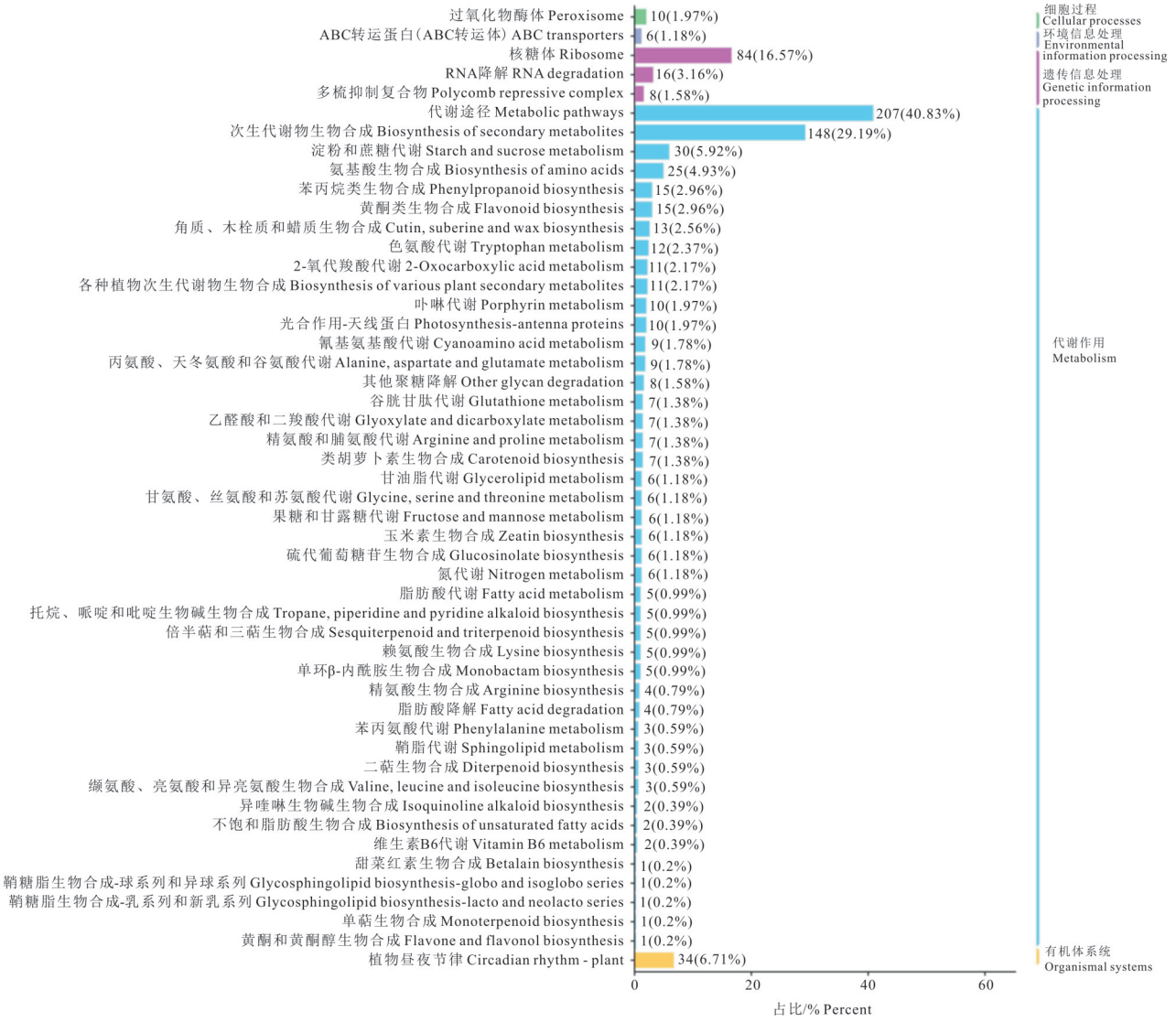


图4　甘蓝型冬油菜温度敏感型DEGs的KEGG富集分析

Fig. 4　KEGG enrichment analysis of temperature-sensitive DEGs in *Brassica napus*

KEGG富集最显著的20条通路分析结果（图5）表明，代谢途径（metabolic pathways）、次生代谢物生物合成（biosynthesis of secondary metabolites）的占比最大，富集的DEGs数量最多，分别为207和148，光合作用-天线蛋白（photosynthesis-antenna proteins）的富集因子最大，富集程度最高。

2.5　参与光合作用-天线蛋白调控的DEGs

对KEGG富集通路光合作用-天线蛋白相关差异基因表达模式进行进一步分析。由图6可以看出，光合作用-天线蛋白通路主要包括光系统Ⅱ（PSⅡ）和光系统Ⅰ（PSⅠ）。PSⅡ是类囊体膜中的一种光合作用单位，由外周捕光（天线）色素蛋白复合体LHCⅡ（Lhcb1～Lhcb6）、内周捕光色素蛋白复合体（CP43和CP47等）、D1蛋白、D2蛋白和外周蛋白等组成，主要通过将LHCⅡ吸收的光能传递给PSⅡ反应中心，其中*Lhcb*1（4个DEGs）、*Lhcb*2（2个DEGs）、*Lhcb*3（2个DEGs）和*Lhcb*6（2个DEGs）共10个调控基因，在TSG和GZ9的6个处理组之间均呈现差异化表达趋势。PSⅠ是由LHCI（Lhca1－Lhca4）和多个蛋白亚基组成的色素蛋白复合物组成，主要有PsaA和PsaB两个亚基，3个外周蛋白PsaC、PsaD和PsaE，以及膜内周蛋白PsaL、PsaK、

PsaF、PsaI、PsaG 和 PsaH 等。

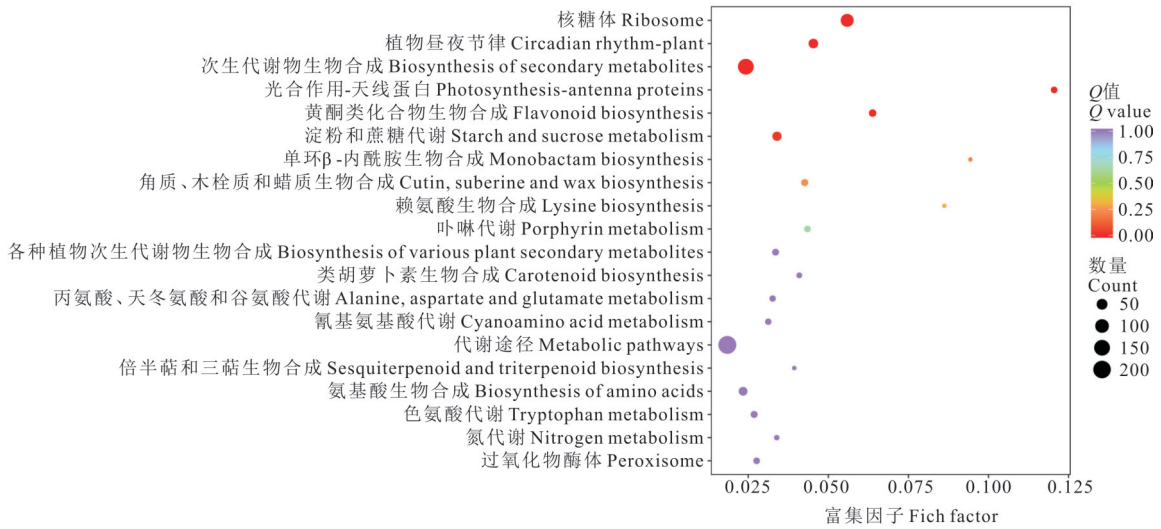


图 5 甘蓝型冬油菜温度敏感型 DEGs 的 KEGG 富集散点图

Fig. 5 Scatter plot of KEGG enrichment analysis of temperature-sensitive DEGs in *Brassica napus*

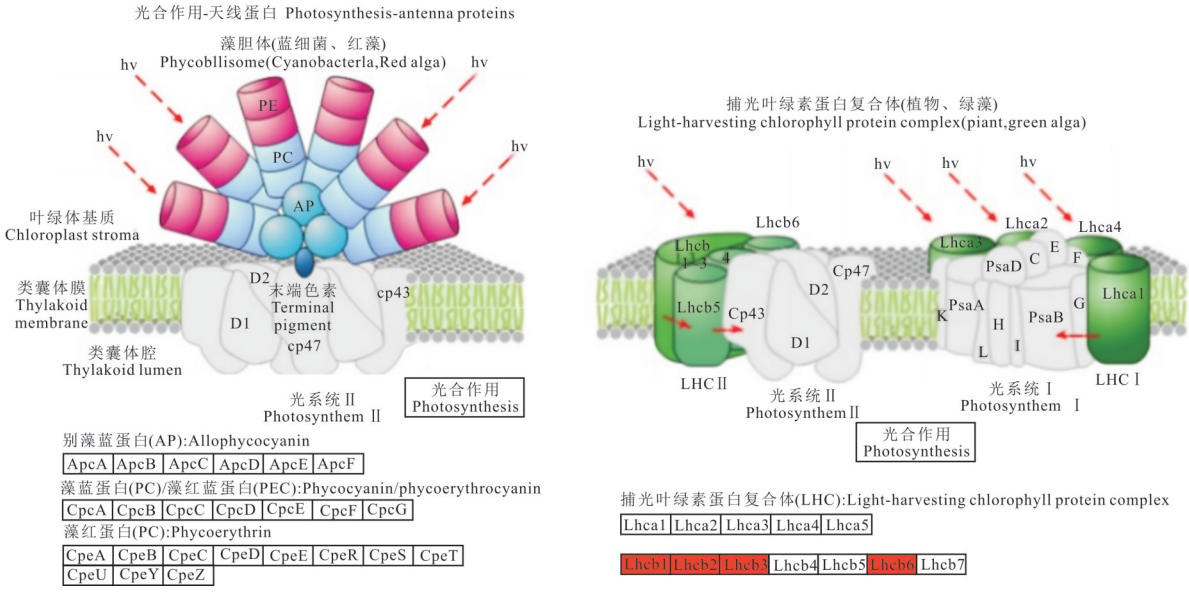


图 6 甘蓝型冬油菜光合作用-天线蛋白调控通路

Fig. 6 Regulation pathway of photosynthetic antenna protein in *Brassica napus*

2.6 光合作用-天线蛋白调控 DEGs 的表达分析

分析参与光合作用-天线蛋白通路的 10 个 DEGs 的表达，结果(图 7)发现，Lhcb6 的调控基因 *BnaA03G0206900ZS* 和 *BnaC03G0243700ZS* 在低温胁迫(T2)时上调表达，而在恢复适温(T3)后下调表达；但 Lhcb1 的调控基因 *BnaA08G0207100ZS*、*BnaA09G0414200ZS*、*BnaC04G0124900ZS* 和 *BnaC07G0134600ZS*，Lhcb2 的调控基因 *BnaA02G0345900ZS* 和 *BnaC07G0308900ZS*，以及 Lhcb3 的调控基因 *BnaA10G0105600ZS* 和 *BnaC09G0366900ZS* 等 8 个 DEGs 在低温胁迫(T2)时下调表达，在恢复适温(T3)后表达下调趋势更明显。聚类树结果也表明，Lhcb6 的 2 个调控 DEGs 可以聚为第Ⅰ类，Lhcb1、Lhcb2 和 Lhcb3 的 8 个 DEGs 可以聚为第Ⅱ类。RT-qPCR 检测结果(图 8)表明，10 个 DEGs 表达的变化趋势与 RNA-Seq 分析结果一致，Lhcb6 的调控基因 *BnaA03G0206900ZS* 和 *BnaC03G0243700ZS* 在低温胁迫(T2)时显著上调表达，而在恢复适温(T3)后显著下调表达，Lhcb1、Lhcb2 和 Lhcb3 的 8 个 DEGs 在低温胁迫后显著下调，证实了 RNA-Seq 结果的可靠性。

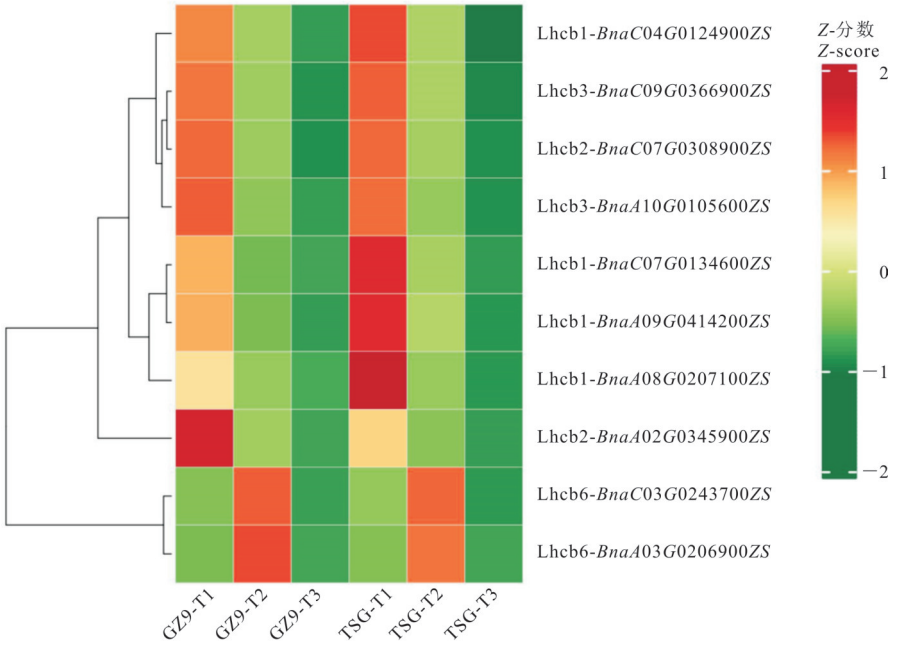
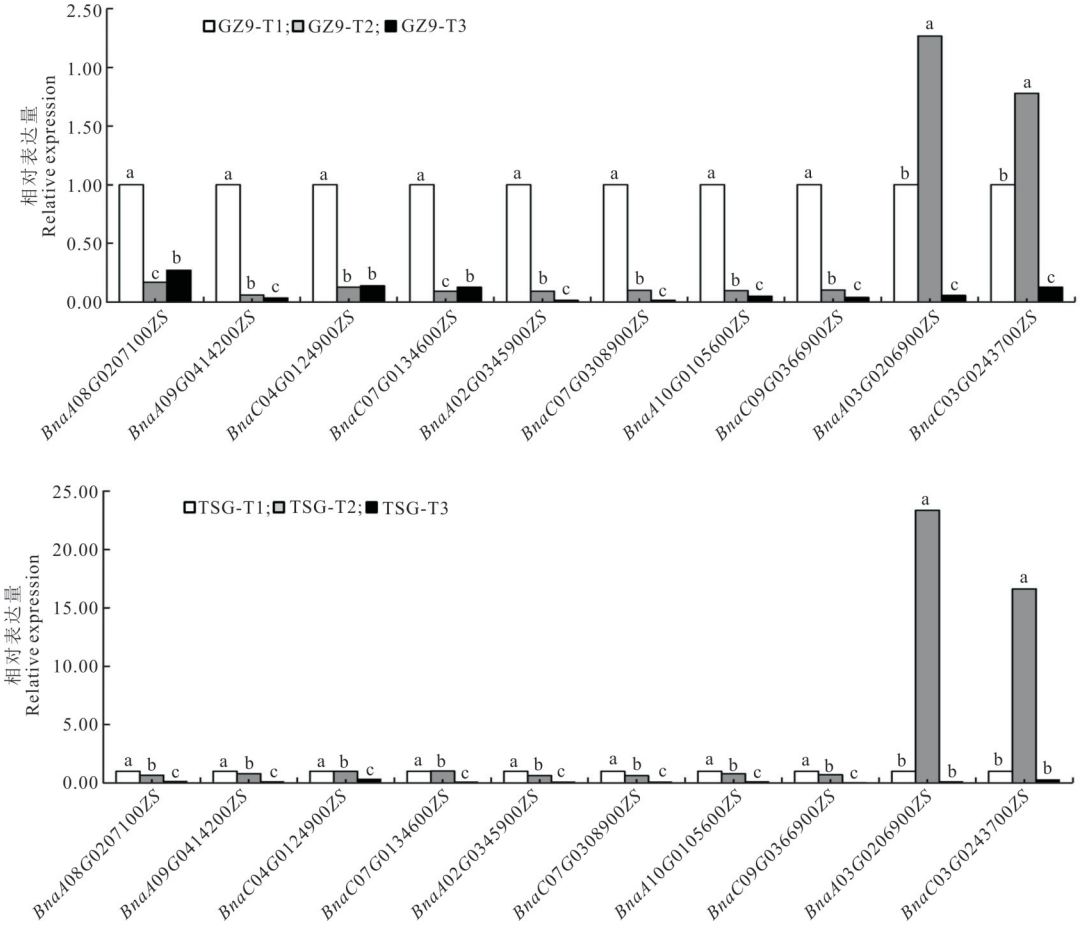


图 7　甘蓝型冬油菜光合作用-天线蛋白通路的DEGs表达模式

Fig. 7　Expression patterns of DEGs in the photosynthesis-antenna protein pathway of *Brassica napus*



图柱上不同小写字母表示相同基因在不同处理下存在显著差异($P<0.05$)。

Different lowercase letters on the column indicate significant differences for the same gene under different treatments($P<0.05$).

图 8　甘蓝型冬油菜光合作用-天线蛋白通路DEGs的RT-qPCR验证

Fig. 8　RT-qPCR validation of DEGs in the photosynthesis antenna protein pathway of *Brassica napus*

2.7 低温胁迫下光合作用-天线蛋白上调应答基因功能分析

根据转录组测序数据发现,光合作用-天线蛋白代谢通路中响应低温上调表达的两个基因 *BnaA03G0206900ZS* 和 *BnaC03G0243700ZS* 均有 390 bp 的编码序列。通过NCBI预测开放阅读框(ORF)发现,*BnaA03G0206900ZS* 和 *BnaC03G0243700ZS* 均含有长度为 390 bp 的完整ORF,序列相似度达到 98.97%(图 9),仅存在 4 个差异碱基。蛋白质理化性质分析结果表明,*BnaA03G0206900ZS* 和 *BnaC03G0243700ZS* 基因均编码 129 个氨基酸,氨基酸序列相似度达到 97.67%(图 10),仅存在 3 个差异氨基酸,均属于稳定的亲水蛋白。

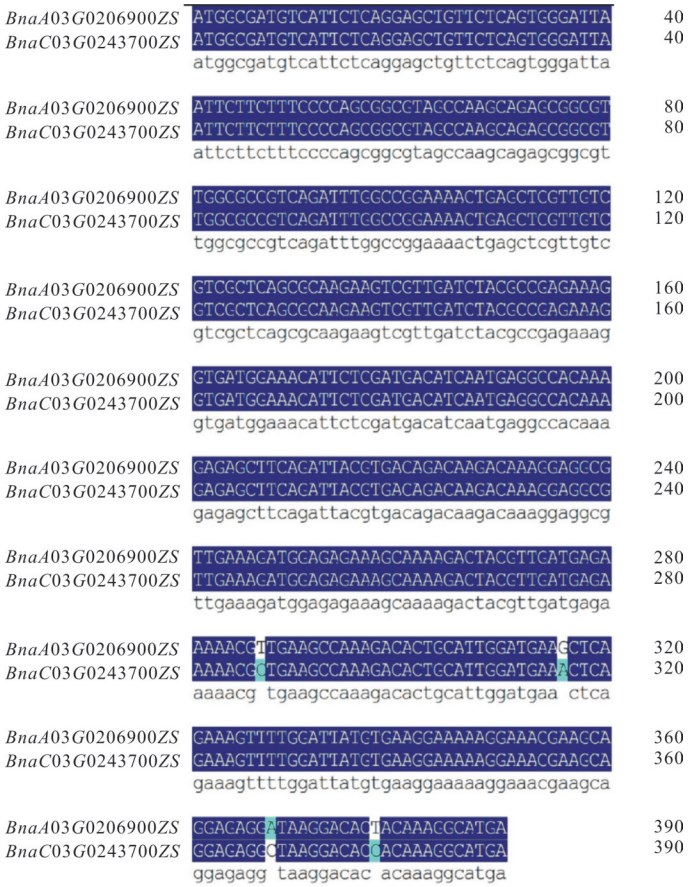


图 9 *BnaA03G0206900ZS* 和 *BnaC03G0243700ZS* 基因的 CDs 序列比对

Fig. 9 CDs sequence alignment of *BnaA03G0206900ZS* and *BnaC03G0243700ZS* genes

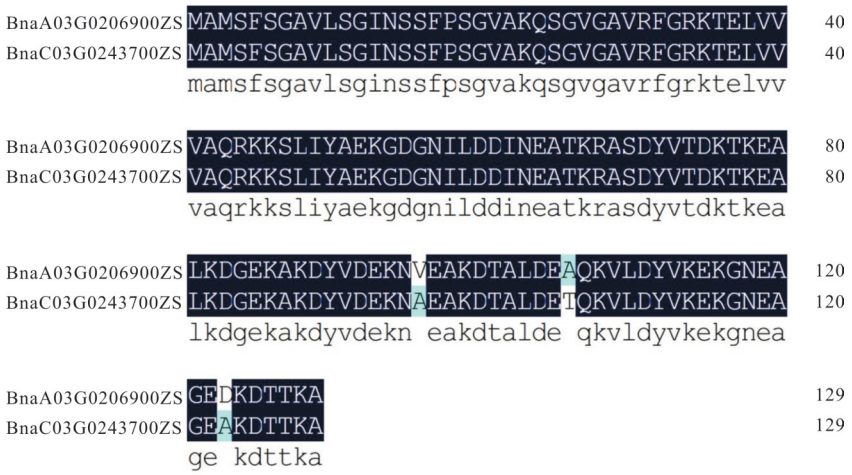


图 10 BnaA03G0206900ZS 和 BnaC03G0243700ZS 氨基酸序列比对

Fig. 10 Amino acid sequence alignment of BnaA03G0206900ZS and BnaC03G0243700ZS

二级结构预测显示，BnaA03G0206900ZS 蛋白的 α-螺旋占比 55.04%，无规则卷曲占比 34.11%，延伸链占比 10.85%；BnaC03G0243700ZS 蛋白的 α-螺旋占比 55.81%，无规则卷曲占比 33.33%，延伸链占比 10.85%。亚细胞定位预测显示，BnaA03G0206900ZS 和 BnaC03G0243700ZS 蛋白均主要在叶绿体中，无跨膜结构，在第 1～180 个碱基存在一个 PLN00089 超家族与岩藻黄素-叶绿素 a/c 结合蛋白相关的保守结构域。

3　讨　论

低温是限制农业生产的主要因子之一，会使叶绿素分解降低[17]，削弱植物通过光合作用利用光能的能力[18-20]。捕光天线蛋白系统在植物光合作用中起着至关重要的作用，能够捕获光能并将其高效传递给反应中心。Lchb（light-harvesting chlorophyll a/b-binding proteins）蛋白是光合作用-天线蛋白的重要组成部分。在高等植物中，Lchb 蛋白家族包括 Lchb1～Lchb6 等成员，其主要存在于类囊体膜上，与叶绿素 a 和叶绿素 b 结合形成捕光复合物（LHC），参与光能的捕获和传递[21]，在植物适应环境胁迫方面发挥着重要作用[22]。研究表明，LHCB 成员的下调降低了植物对环境胁迫的耐受性，影响光合作用和叶绿素合成，导致种子产量降低[22-24]。本研究发现，甘蓝型冬油菜响应低温胁迫的 1 192 个 DEGs 通过 KEGG 富集程度最大的是光合作用-天线蛋白通路，其中 Lchb1、Lchb2 和 Lchb3 蛋白中的 8 个 DEGs 在低温胁迫（T2）后下调表达，在恢复适温（T3）后下调趋势更明显，但 Lchb6 蛋白中的 2 个 DEGs 在低温胁迫（T2）后上调表达，在恢复适温（T3）后较 T1 下调表达，说明长时间的严重低温胁迫可能使 Rubisco 活性丧失，导致 *Lhcb2* 基因表达下降，从而抑制了光呼吸[25]。Lchb6 蛋白作为光合作用-天线蛋白家族的重要成员，又称 CP24[26]，其影响叶绿体中的电子传递效率[27]。低温胁迫（T2 处理）下 Lchb6 蛋白调控基因上调表达，说明 Lhcb6 可能参与缓解自然条件下的氧化应激和光保护[28]，也可能是存在其他补偿机制，如 CBF 和 WRKY 等[29]。但恢复适温（T3 处理）后 Lchb6 蛋白调控基因下调表达，可能是大田中长时间的低温对植物细胞造成损伤，而 Lchb6 蛋白（CP24）可以缓解低温叶片的光合损伤[30]。进一步对 Lchb6 蛋白调控基因 *BnaA03G0206900ZS* 和 *BnaC03G0243700ZS* 的分析发现，Lchb6 蛋白主要是叶绿体中稳定的亲水性蛋白，与 PLN00089 超家族相关基因的表达调控密切相关，过表达 MYB 能有效减轻低温胁迫对植株光合作用的影响，从而增强植株的抗寒能力[31]。PLN00089 超家族保守结构域存在岩藻黄素-叶绿素 a/c 结合蛋白相关基因，暗示着岩藻黄素可以有效捕获绿光，并高效传递至叶绿素[32]。*BnaA03G0206900ZS* 和 *BnaC03G0243700ZS* 基因的表达变化可能有助于甘蓝型冬油菜调整光合天线系统的组成和功能，以适应低温环境下的光能利用需求。然而，甘蓝型冬油菜中捕光天线蛋白的具体功能以及精确调控关系，还需要进一步的试验验证。

4　结　论

本研究通过转录组分析，深入探究了甘蓝型冬油菜在低温胁迫下光合作用-天线蛋白相关基因的表达变化，尤其聚焦于 Lchb6 蛋白调控基因 *BnaA03G0206900ZS* 和 *BnaC03G0243700ZS* 在低温胁迫后上调表达，功能分析发现这两个基因是 PLN00089 超家族岩藻黄素-叶绿素 a/c 结合蛋白相关基因，为理解甘蓝型冬油菜低温响应机制提供了重要理论基础。

[参考文献]

[1] 张琪祺，陈杰昌，蒯婕，等. 高密度直播对油菜冷榨菜籽油品质的影响[J]. 作物学报，2024，50(9)：2358-2370.
ZHANG Q Q，CHEN J C，KUAI J，et al. Effect of high-density direct seeding on the quality of cold-pressed rapeseed oil[J]. Acta Agronomica Sinica，2024，50(9)：2358-2370.

[2] 吴兴，肖晶晶. 热量资源对浙江甘蓝型冬油菜生育期及产量的影响[J]. 中国农学通报，2024，40(13)：83-90.
WU X，XIAO J J. Effect of thermal resources on growth period and yield of winter *Brassica napus* in Zhejiang Province[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin，2024，40(13)：83-90.

[3] 杨晶晶，赵小光，王丽萍，等. 不同生态区甘蓝型油菜自交种和自然种的品质性状分析[J]. 黑龙江农业科学，2025(9)：51-57.
YANG J J，ZHAO X G，WANG L P，et al. Analysis on quality traits of self-bred and natural varieties of *Brassica napus* in different ecological regions[J]. Heilongjiang Agricultural Sciences，2025(9)：51-57.

[4] 撒二梅，崔俊美，魏家萍，等. 覆膜对甘蓝型冬油菜返青生理特性的影响[J]. 核农学报，2025，39(11)：2525-2533.
SA E M，CUI J M，WEI J P，et al. Effect of plastic film mulching on physiological characteristics of winter rape in *Brassica napus* L.[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences，2025，39(11)：2525-2533.

[5] 米超，李施蒙，华水金，等. 西藏优质甘蓝型油菜种质资源的脂肪酸组成及含量[J]. 云南农业大学学报（自然科学版），2025

(3):1-10.
MI C,LI S M,HUA S J,et al. Fatty acid composition and content of high-quality germplasm resources of *Brassica napus* in Xizang[J]. Journal of Yunnan Agricultural University (Natural Science),2025(3):1-10.

[6] 刘海卿,李静,刘海霞,等. 北方寒旱区甘蓝型冬油菜的春化特性与抗寒性[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2024,52(9):62-71.
LIU H Q,LI J,LIU H X,et al. Vernalization characteristics and cold resistance of winter *Brassica napus* in arid and cold regions of northern China[J]. Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition),2024,52(9):62-71.

[7] 史洋洋,蒲媛媛,武军艳,等. 冷冻胁迫对不同抗寒性甘蓝型冬油菜叶片结构和生理指标的影响[J]. 干旱地区农业研究,2024,42(5):128-138.
SHI Y Y,PU Y Y,WU J Y,et al. Effects of freezing stress on leaf structure and physiological indices of *Brassica napus* L. with different cold resistance[J]. Agricultural Research in the Arid Areas,2024,42(5):128-138.

[8] 柴鹏,罗梅,王娜,等. 甘蓝型冬油菜品种(系)在庆阳市的适应性比较试验[J]. 中国农技推广,2023,39(11):30-32.
CHAI P,LUO M,WANG N,et al. Comparative trial on the adaptability of winter *Brassica napus* L. varieties (lines) in Qingyang City[J]. China Agricultural Technology Extension,2023,39(11):30-32.

[9] 马新,王娟,姚丹妤,等. 小麦幼穗在减数分裂期响应低温胁迫的转录组分析[J]. 麦类作物学报,2025,45(11):1451-1461.
MA X,WANG J,YAO D Y,et al. Transcriptome analysis of wheat young spikes in response to low temperature stress at meiosis stage[J]. Journal of Triticeae Crops,2025,45(11):1451-1461.

[10] 穆乙鑫,云岚,贾苗苗,等. 紫花苜蓿低温响应机制的转录组学分析[J]. 植物遗传资源学报,2025,26(11):2249-2263.
MU Y X,YUN L,JIA M M,et al. Transcriptomic analysis of the cold response mechanism in alfalfa[J]. Journal of Plant Genetic Resources,2025,26(11):2249-2263.

[11] 马圣洁. 油菜素内酯调控小麦叶夹角和根构型的关键基因鉴定及分子机制解析[D]. 郑州:郑州大学,2023.
MA S J. Identification and molecular mechanism analysis of key genes regulated by brassinosteroids in controlling wheat leaf angle and root architecture[D]. Zhengzhou: Zhengzhou University,2023.

[12] 杨爱清,杨小艺,徐辰武,等. 低温胁迫下玉米根系转录组和代谢组分[J]. 江苏农业学报,2025,41(6):1063-1071.
YANG A Q,YANG X Y,XU C W,et al. Transcriptome and metabolome analysis of maize roots under low-temperature stress[J]. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences,2025,41(6):1063-1071.

[13] 李浩东. 甘蓝型油菜花期低温生理响应及候选基因分析[D]. 陕西杨凌:西北农林科技大学,2022.
LI H D. Physiological response and candidate gene analysis of *Brassica napus* L. to low-temperature stress during flowering[D]. Yangling,Shaanxi:Northwest A&F University,2022.

[14] RAZA A. 甘蓝型油菜响应低温胁迫的转录组与代谢组学分析[D]. 北京:中国农业科学院,2021.
RAZA A. Transcriptomic and metabolomic analysis of *Brassica napus* L. in response to low-temperature stress[D]. Beijing:Chinese Academy of Agricultural Sciences,2021.

[15] 郭志婷,秦梦凡,李浩东,等. 甘蓝型油菜BnAR基因家族全基因组鉴定与响应低温胁迫的表达分析[J]. 干旱地区农业研究,2024,42(6):27-37.
GUO Z T,QIN M F,LI H D,et al. Genome-wide identification and expression analysis of the BnAR gene family in response to low-temperature stress in *Brassica napus*[J]. Agricultural Research in the Arid Areas,2024,42(6):27-37.

[16] 赵飞雪. 甘蓝型油菜抗寒候选基因BnaC07.CBL1和BnaC02.ZIM17的克隆及功能验证[D]. 陕西杨凌:西北农林科技大学,2025.
ZHAO F X. Cloning and functional verification of cold-resistant candidate genes BnaC07.CBL1 and BnaC02.ZIM17 in *Brassica napus*[D]. Yangling,Shaanxi:Northwest A&F University,2025.

[17] 崔翠,王利鹃,周清元,等. 低温胁迫下烤烟幼苗叶片光合作用和抗氧化能力基因差异表达谱[J]. 生态学报,2014,34(21):6076-6089.
CUI C,WANG L J,ZHOU Q Y,et al. Expression profiling of genes related to photosynthesis and antioxidant capacity in flue-cured tobacco seedlings subjected to chilling stress[J]. Acta Ecologica Sinica,2014,34(21):6076-6089.

[18] HART J J,STEMLER A. High light-induced reduction and low light-enhanced recovery of photon yield in triazine-resistant *Brassica napus* L[J]. Plant Physiology,1990,94(3):1301-1307.

[19] ZHOU J,YANG L F,HAO F G,et al. Photosynthesis and chlorophyll-fluorescence of magnolia grandiflora seedlings under low temperature stress[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica,2009,29(1):136-142.

[20] WU X X,CHEN J L,ZHA D S. Effects of low temperature stress on chlorophyll fluorescence characteristics and excitation energy dissipationn eggplant seedling leaves[J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science,2009,15(1):164-169.

[21] 吴美静. 猕猴桃捕光叶绿素a/b结合蛋白基因*AcLhcb1.1/3.1*的克隆及功能验证[D]. 成都:四川农业大学,2024.
WU M J. Cloning and functional verification of light-harvesting chlorophyll a/b binding protein genes *AcLhcb1.1/3.1* in kiwifruit[D]. Sichuan:Sichuan Agricultural University,2024.

[22] 胡志航,秦志远,李静文,等. 茶树捕光色素蛋白复合体基因*CsLhcb2*的鉴定及低温响应分析[J]. 茶叶科学,2023,43(2):183-193.
HU Z H,QIN Z Y,LI J W,et al. Identification of the light-harvesting chlorophyll-protein complex gene *CsLhcb2* and its response to low temperature in tea[J]. Plants Journal of Tea Science,2023,43(2):183-193.

[23] MENG A J,WEN D X,ZHANG C Q. Maize seed germina-

tion under low-temperature stress impacts seedling growth under normal temperature by modulating photosynthesis and antioxidant metabolism[J]. Frontiers in Plant Science, 2022, 13: 843033.

[24] ANDERSSON J, WALTERS R G, HORTON P, et al. Antisense inhibition of the photosynthetic antenna proteins CP29 and CP26: implications for the mechanism of protective energy dissipation[J]. The Plant Cell, 2001, 13(5): 1193-1204.

[25] ALLEN D J, ORT D R. Impacts of chilling temperatures on photosynthesis in warm-climate plants[J]. Trends in Plant Science, 2001, 6(1): 36-42.

[26] JANSSON S, PICHERSKY E, BASSI R, et al. A nomenclature for the genes encoding the *Chlorophylla*/b-binding proteins of higher plants[J]. Plant Molecular Biology Reporter, 1992, 10(3): 242-253.

[27] 李韵佳. 低温胁迫下三倍体枇杷微量捕光天线蛋白基因EjLhcb4. 1/5/6的功能分析[D]. 重庆：西南大学，2021.
LI Y J. Functional analysis of the minor light-harvesting antenna protein genes EjLhcb4. 1/5/6 in triploid loquat under low-temperature stress [D]. Chongqing: Southwest University, 2021.

[28] CHEN Y E, MA J, WU N, et al. The roles of *Arabidopsis* proteins of Lhcb4, Lhcb5 and Lhcb6 in oxidative stress under natural light conditions [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2018, 130: 267-276.

[29] 高松，王鹤潼. 低温胁迫下植物调控转录因子家族研究进展[J]. 世界热带农业信息，2025(6)：111-114.
GAO S, WANG H T. Research progress on plant regulatory transcription factor families under low-temperature stress[J]. World Tropical Agriculture Information, 2025(6): 111-114.

[30] 谷家茂. SlCAS介导Ca^{2+}缓解低夜温对番茄叶片PSⅡ损伤的作用[D]. 沈阳：沈阳农业大学，2021.
GU J M. The role of SlCAS in mediating Ca^{2+} to alleviate PSⅡ damage in tomato leaves under low night temperature stress [D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2021.

[31] 李佳佳，赵若竹，杨文文，等. 过表达*SlMYB1R1*对低温胁迫下番茄幼苗光合特性的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版)，2025，53(11)：142-150.
LI J J, ZHAO R Z, YANG W W, et al. Effects of overexpressing *SlMYB1R1* on photosynthetic characteristics of tomato seedlings under low-temperature stress[J]. Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition), 2025, 53(11): 142-150.

[32] 徐才哲. 三角褐指藻岩藻黄素-叶绿素a/c蛋白复合体的结构和功能研究[D]. 石家庄：河北科技大学，2015.
XU C Z. Structural and functional studies on the fucoxanthin-chlorophyll a/c protein complex in phaeodactylum tricornutum [D]. Shijiazhuang: Hebei University of Science and Technology, 2015.

（责任编辑：屈李纯）