

油棕果实发育和采后脂肪酸合成转录代谢差异分析

吴秋妃, 杨程, 张淑岩, 韦露, 冯美利, 李睿, 周丽霞, 曹红星*

中国热带农业科学院椰子研究所/海南省热带油料作物生物学重点实验室, 海南文昌 571339

摘要: 油棕 (*Elaeis guineensis* Jacq.) 是世界上生产效率最高的产油植物, 果实发育是形成产量的基础, 但采收 24 h 后会出现酸败现象, 严重影响棕榈油品质, 目前对果肉发育和采后的游离脂肪酸代谢物合成差异的关键调控基因及途径尚未明确。本研究以油棕果实为实验材料, 果实取自授粉后 95 d (MS1)、125 d (MS2)、185 d (MS3)、采收后 24 h (MS4)、采收后 36 h (MS5) 5 个时期。采用第二代高通量转录组学技术 (RNA-Seq) 和液相色谱串联质谱代谢组学技术 (LC-MS/MS), 对其发育和采后的果实进行转录组和代谢组测定与分析。结果表明: 无籽种油棕在脂肪酸积累中后期不饱和脂肪酸显著高于饱和脂肪酸, 在油棕果实发育过程中, *LACS4*、*LACS4-X1*、*FATA*、*FATB*、*KAS I*、*KAS II*、*SAD1* 在果肉中高表达且与果肉中油酸、亚油酸、棕榈酸、棕榈油酸、硬脂酸、亚麻酸呈正相关关系, *DGAT*、*PDAT* 在果肉中高表达且与上述 6 种脂肪酸含量呈负相关关系, 说明上述酶基因的表达可能对油棕果实脂肪酸的合成和积累分别具有促进和抑制作用, 推测 *LACS4*、*LACS4-X1*、*FATA*、*FATB*、*KAS I*、*KAS II*、*SAD1* 可能是不饱和脂肪酸含量较高的关键基因; 在果实采后贮藏过程中, *GDSL2*、*GDSL7*、*SAD2*、*LACS9* 酶基因和 *GDSL1*、*KAT* 分别与油酸呈极显著正、负相关关系, 与棕榈酸、棕榈油酸、硬脂酸、亚油酸、亚麻酸呈负、正相关, 推测在酸败过程 *GDSL2*、*GDSL7*、*SAD2*、*LACS9* 酶基因可能促进油酸生成, 抑制棕榈酸、棕榈油酸、硬脂酸、亚油酸、亚麻酸合成, *GDSL1*、*KAT* 酶基因反之, 推测 *GDSL2*、*GDSL7*、*SAD2*、*LACS9* 可能是导致油棕采后酸败的关键基因。本研究结果旨在利用分子生物技术提升高不饱和脂肪酸含量和改变脂肪酸组成提供备选基因, 为筛选高不饱和脂肪酸和耐贮藏的品种提供理论参考。

关键词: 油棕; 游离脂肪酸; 合成; 转录组学; 代谢组学

中图分类号: S565.9 文献标识码: A

Differential Analysis of Fatty Acid Synthesis, Transcriptional Metabolism During Fruit Development and Postharvest in Oil Palm

WU Qiufei, YANG Cheng, ZHANG Shuyan, WEI Lu, FENG Meili, LI Rui, ZHOU Lixia, CAO Hongxing*

Coconut Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences / Hainan Key Laboratory of Tropical Oil Crops Biology, Wenchang, Hainan 571339, China

Abstract: Oil Palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) is the most efficient oil-producing plant in the world. Fruit development is the basis of yield formation, but rancidity occurs after 24 h of harvesting, which seriously affecting the quality of palm oil. At present, the key regulatory genes and pathways for the differences in the synthesis of free fatty acid metabolism in pulp development and postharvest fruits have not been identified. In this study, oil palm fruits were collected from 95 days (MS1), 125 days (MS2), 185 days (MS3), 24 h (MS4) and 36 h (MS5) after pollination. The second generation high-throughput transcriptomics (RNA-Seq) and liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) were used to analyze the transcriptomes and metabolomes of the fruits during the development and postharvest storage. The unsaturated fat of oil palm was significantly higher than that of fatty acid during the middle and late stages of fatty acid accumulation, *LACS4*, *LACS4-X1*, *FATA*, *FATB*, *KAS I*, *KASII*, *SAD1* were highly expressed in pulp and were positively

收稿日期 2022-12-06; 修回日期 2023-02-15

基金项目 海南省重点研发计划项目 (No. ZDYF2022XDNY207); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项 (No. 1630-152022001); 现代农业产业技术体系专项 (No. CARS-14-2-31)。

作者简介 吴秋妃 (1994—), 女, 硕士, 研究实习生, 研究方向: 油棕种质资源与遗传育种。*通信作者 (Corresponding author): 曹红星 (CAO Hongxing), E-mail: hongxing1976@163.com。

correlated with oleic acid, linoleic acid, palmitic acid, palmitoleic acid, stearic acid and linolenic acid, *DGAT* and *PDAT* were over-expressed in the pulp and negatively correlated with the content of the six fatty acids, indicating that the expression of the above-mentioned genes may promote and inhibit the synthesis and accumulation of the fatty acids in oil palm fruit, respectively, suggesting that *LACS4*, *LACS4-A1*, *FATA*, *FATB*, *KAS I*, *KASII* and *SAD1* may be the key genes with high content of unsaturated fat during postharvest storage. *GDSL2*, *GDSL7*, *SAD2*, *LACS9* genes and *GDSL1*, *KAT* were positively and negatively correlated with oleic acid, and negatively and positively correlated with palmitic acid, palmitoleic acid, stearic acid, linoleic acid and linolenic acid, respectively, suggesting that *GDSL2*, *GDSL7*, *SAD2* and *LACS9* might promote oleic acid production and inhibit palmitic acid, palmitoleic acid, stearic acid, linoleic acid and linolenic acid production during rancidity, while *GDSL1* and *KAT* might inhibit linolenic acid production, suggesting that *GDSL2*, *GDSL7*, *SAD2* and *LACS9* are the key genes causing oil palm rancidity after harvest. The aim of this study is to provide candidate genes for improving unsaturated fat content and altering fatty acid composition by using molecular biotechnology, and to provide theoretical reference for screening unsaturated fat and storability varieties.

Keywords: oil palm; free fatty acids; synthesis; transcriptomics; metabolomics

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2024.02.002

油棕是世界上产油效率最高的热带木本油料作物，其产油量可达 9 t/hm²。在中国，油棕主要分布在海南、云南、广东等地区^[1]。棕榈油是世界上生产、消费和贸易最大的植物油，可做食用油、高级人造奶油、肥皂、润滑油等，用途非常广泛^[2]。油棕果实的中果皮积累的油脂高达 90%^[3]。棕榈油主要含棕榈酸和硬脂酸等饱和脂肪酸（saturated fatty acid, SFA），油酸和亚油酸等不饱和脂肪酸（unsaturated fatty acid, UFA）。在油棕果实发育和成熟阶段，脂肪酶活性增加 4100 倍^[4]，果实采收后高脂肪酶活性促进释放游离脂肪酸（FFA），使油迅速酸化，油棕果穗采后 24 h 之内需加工处理，否则游离脂肪酸含量升高，引起棕榈油酸败，油品变差^[5]。

目前已有研究表明，编码长链脂肪酰基辅酶 A 合成酶（long chain acyl-CoA synthetase, LACS）、脂酰-酰基载体蛋白硫酯酶（fatty acyl-ACP thioesterase, FAT）、β-酮酰 ACP 合酶（β-ketoacyl-ACP synthase, KAS）、二酰甘油乙酰转移酶（diacylglycerol acyltransferase, DGAT）、磷脂二酰甘油酰基转移酶（Phospholipid diacylglycerol acyltransferase, PDAT）、硬脂酰-酰基载体蛋白脱饱和酶基因（stearoyl-ACP desaturase, SAD）、GDSL 脂肪酶（GDSL esterase/lipase, GDSL）、3-酮脂酰辅酶 A 硫解酶（3-ketoacyl-CoA thiolase, KAT）等基因调控脂肪酸合成。LACS 在脂质合成和降解过程中发挥关键作用^[6]，*EgLACS4*、*EgLACS9* 与油棕油脂代谢有关^[7]；*FAT* 分为 *FATA* 和 *FATB* 两类，在脂肪从头合成途径发挥重要作用，*AtFATB* 在 SFA 合成中至关重要^[8]，而 *AtFATA*

把油酸从 ACP 载体上水解成游离脂肪酸，催化质体中脂肪酸的生物合成过程中硬脂酸和油酸的形成^[9]，*EgFATB* 基因的表达促进油棕果肉中游离脂肪酸的生物合成^[10]；*KAS* 是启动脂肪酸合成的关键酶，*KAS II* 酶催化 C16:0-ACP 转化为 C18:0-ACP，决定 16C 和 18C 脂肪酸比例。*DGAT* 是甘油三酯合成途径中的限速酶，对植物甘油三酯和脂肪酸的积累至关重要^[11]；*PDAT* 是植物三酰甘油（TAG）合成的关键酶。大多数植物质体中合成的脂肪酸主要是油酸^[12]，重组油棕中果皮的油脂合成中，*EgDGAT* 和 *EgPDAT* 功能相似，且发挥重要作用^[13]；参与糖酵解、三羧酸循环和脂肪酸生物合成途径的 *EgKASI*、*EgKAS* 基因在高产油棕中表达上调^[14]；油料作物脂肪酸合成与代谢机制研究，可提高油料作物的含油量、品质和提取重要的脂肪酸代谢物^[15]；饱和脂肪酸所占比例的提高是由于不饱和脂肪酸减少所致^[16]；*KAT* 在脂肪酸合成和分解代谢中起至关重要的作用，是脂肪酸 β-氧化的最后一步；通过分子育种或基因工程的手段下调 *AtGDSL* 酶基因家族的表达可提高油料作物种子油脂含量^[17]。*EgSAD1* 促进油酸的合成^[18]，*EgSAD1* 可能催化棕榈酸转化为不饱和脂肪；随着果实成熟，油棕不饱和脂肪酸含量升高，饱和脂肪酸含量下降，更高的 C18:C16 水平和更高的去饱和脂肪酸是通过降低“坏脂质”饱和棕榈酸（C16:0）水平获得更健康棕榈油的 2 个关键育种目标^[19]；油棕油酸含量与棕榈酸呈极显著负相关，预示着棕榈酸含量的下降可能会促使油酸含量的升高^[20]。

不同类型油棕的不饱和脂肪酸含量差异显

著, 实验室前期研究结果显示无籽型油棕不饱和脂肪酸高达 70%。目前, 关于油棕脂肪酸的变化与不同发育时期的关系及调控其脂肪酸合成的关键基因的研究较少, 当前研究主要集中在自然发育阶段^[21-22], 且油棕脂肪酸代谢相关的研究多集中在脂肪酸种类组成和关键基因的表达调控上, 而果实发育及采后贮藏过程中关键酶基因与游离脂肪酸含量的关系的研究鲜有报道。本研究采用转录代谢联合分析油棕果实发育和采后贮藏过程中游离脂肪酸代谢物的差异变化和差异基因, 初步确定油棕果实中调控游离脂肪酸合成的关键候选基因, 为筛选高不饱和脂肪酸和抗酸败的品种提供理论参考, 也可作为油脂品质遗传改良的优异靶标。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为无籽型油棕果实, 采自海南省文昌市中国热带农业科学院椰子研究所基地。选取 3 个自然发育时期[授粉后 95 d (脂肪酸积累初期, MS1)、125 d (脂肪酸积累迅速增长期, MS2) 和 185 d (脂肪酸积累稳定期, MS3)] 和 3 个采后贮存时期[采后 0 h (MS3)、采后 24 h (MS4)、采后 36 h (MS5)] 的样品, 每个样品 3 个生物学重复。将采集的样品立刻置于液氮中冷却, 并保存于 -80 °C 冰箱中备用。

1.2 方法

1.2.1 脂质和酸败代谢组的测定及分析 参照张淑岩等^[10]的方法, 获得不同样本的质谱分析数据后, 对其进行定性和定量分析。通过正交偏最小二乘法判别分析和差异倍数相结合的方法筛选组间差异代谢物。对各游离脂肪酸代谢物含量归一化处理, 并进行聚类热图分析, 得到各种代谢物含量的变化趋势。

1.2.2 总 RNA 提取及高通量测序 使用植物总 RNA 提取试剂盒提取油棕 RNA。对构建好的测序文库进行质检, 库检合格后, 用 Illumina HiSeq 平台进行测序。

1.2.3 转录组数据分析及差异表达基因分析 使用 HISAT2 将原始序列与参考基因组进行比对, 采用 DESeq 2 软件包分析差异表达基因 (differentially expressed genes, DEGs), 筛选阈值为错误发现率 (false discovery rate, FDR) < 0.05 且 $|\log_2 \text{Fold Change}| \geq 1$ 。对筛选出的差异表达基

因进行 KEGG 生物途径显著性富集分析。

1.2.4 转录组学和代谢组学联合分析 京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 既是系统分析基因功能的数据库, 也是系统分析代谢功能的数据库。将获得的差异基因及代谢物同时映射到 KEGG 通路上, 利用基因和代谢物在所有样本中的定量值进行相关性分析, 选取相关性系数 ≥ 0.7 的差异基因和差异代谢物用于后续分析。通过 KEGG 富集通路找到关键的候选基因并通过 NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 数据库对酶基因进行注释。

1.3 数据处理

使用 SPSS 20.0 对数据进行单因素方差分析 (ANOVA) 和差异显著性检验 (Duncan's 法)。

2 结果与分析

2.1 油棕果肉的游离脂肪酸合成和酸败分析

2.1.1 油棕游离脂肪酸含量在不同发育时期的动态变化分析 由表 1 可知, 油棕果中游离脂肪酸代谢物主要是由棕榈酸 (palmitic acid, C16:0)、硬脂酸 (stearic acid, C18:0) 等 17 种饱和脂肪酸和棕榈油酸 (palmitoleic acid, C16:1)、油酸 (oleic acid, C18:1)、亚油酸 (linoleic acid, C18:2) 等 13 种不饱和脂肪酸组成。在油棕果肉生长发育过程中, 脂肪酸积累初期, 即 MS1 期, 主要以饱和脂肪酸 (SFA) 为主, 占总脂肪酸的 75.69%; 脂肪酸积累中后期 (MS3 期), 不饱和脂肪酸 (UFA) 为主要的脂肪酸类型, 占总脂肪酸的 81.74%; MS3~MS5 不饱和脂肪酸占总脂肪酸比例呈下降趋势, 其中 MS5 期时, 该比值下降至 73.12%, 而饱和脂肪酸, 在 MS5 时期上升至 26.88% (图 1A)。在 MS1~MS3 时期, UFA/SFA 呈上升趋势, 于 MS3 时期达到最高值 4.48, MS4~MS5 时期, UFA/SFA 呈下降趋势, 在 MS5 期为 2.72 (图 1B)。游离脂肪酸总含量及 UFA 总含量在 MS1~MS3 阶段逐渐增加, 而在 MS4 阶段呈现下降趋势, 而在 MS5 阶段又急剧升高, 分别达到 66 475.12 nmol/g 和 48 605.78 nmol/g。SFA 含量在 MS2 时期先显著增加后缓慢降低, 而在 MS5 阶段又上升至 17869.34 nmol/g, (如图 1C)。油酸、亚油酸、硬脂酸在 MS1~MS3 阶段含量显著升高, 其中, 油酸含量在 MS4~MS5 时期均减少, 而亚油酸与硬脂酸含量在 MS4 阶段减少, 却在 MS5 阶段显著增加。棕榈酸含量在 MS1~MS2 时期增加,

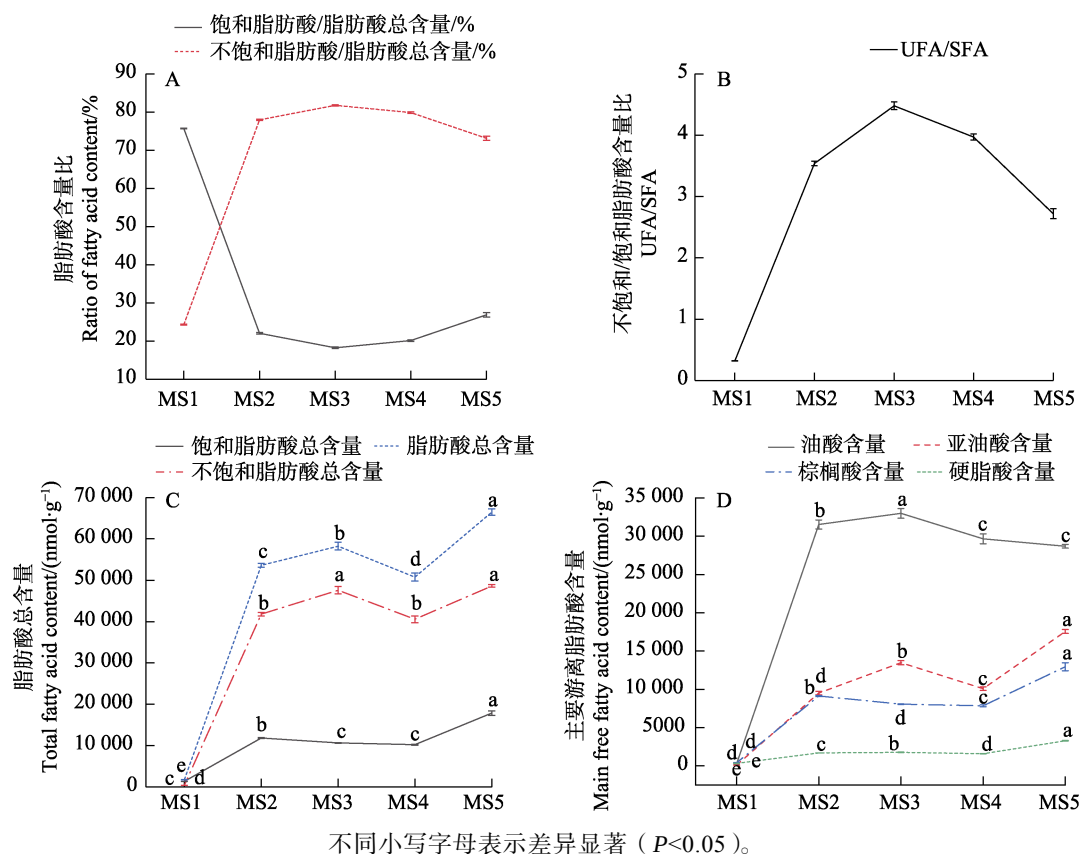
表 1 油棕果肉在不同时期各游离脂肪酸代谢物累积的动态变化
Tab. 1 Dynamic changes in the accumulation of free fatty acid metabolites during the different periods of the oil palm mesocarp

游离脂肪酸代谢物 Free fatty acid metabo- lites	游离脂肪酸含量 Free fatty acid content/(nmol·g ⁻¹)				
	MS1	MS2	MS3	MS4	MS5
C10:0 十烷酸	375.30±2.18 ^a	266.61±7.53 ^b	206.91±7.89 ^{cd}	235.79±27.84 ^c	181.36±5.92 ^d
C12:0 月桂酸	6.52±1.24 ^d	9.45±0.90 ^c	8.91±0.59 ^c	14.69±0.98 ^b	27.72±1.35 ^a
C14:0 肉豆蔻酸	20.10±1.12 ^d	112.27±9.57 ^b	101.73±6.41 ^b	74.94±1.63 ^c	256.81±16.17 ^a
C15:0 十五烷酸	6.49±0.71 ^d	26.89±3.02 ^c	36.51±3.20 ^b	33.05±1.20 ^b	104.44±4.09 ^a
C16:0 棕榈酸	401.84±4.91 ^d	9126.63±78.99 ^b	8060.21±29.05 ^c	7844.82±127.83 ^c	12946.03±515.78 ^a
C17:0 十七烷酸	14.20±2.04 ^c	96.47±2.40 ^b	103.22±6.84 ^b	98.20±7.08 ^b	282.87±23.12 ^a
C18:0 硬脂酸	320.25±7.25 ^c	1684.93±16.01 ^c	1756.83±33.08 ^b	1579.47±24.29 ^d	3270.60±35.02 ^a
C20:0 花生酸	0±0 ^d	133.86±2.21 ^b	75.33±7.70 ^c	77.28±3.13 ^c	330.68±17.26 ^a
C22:0 二十二烷酸	35.44±4.19 ^d	47.38±1.16 ^{bc}	42.29±3.76 ^c	51.82±1.28 ^b	134.03±3.51 ^a
C24:0 二十四烷酸	53.07±4.15 ^c	69.62±5.02 ^b	63.93±5.45 ^b	68.41±2.58 ^b	209.22±5.61 ^a
C28:0 二十八烷酸	42.90±3.71 ^c	65.53±3.91 ^{ab}	78.27±9.84 ^a	57.06±7.13 ^{bc}	59.38±5.61 ^b
C30:0 三十烷酸	51.42±6.80 ^a	57.87±2.61 ^a	11.78±0.54 ^b	5.40±0.21 ^b	6.22±1.14 ^b
C32:0 三十二烷酸	12.25±1.71 ^b	37.60±1.29 ^a	7.80±1.01 ^c	4.41±0.06 ^d	3.72±0.91 ^d
C33:0 三十三烷酸	2.25±0.40 ^d	12.34±0.49 ^a	9.23±0.55 ^b	9.12±0.83 ^b	6.48±0.24 ^c
C34:0 三十四烷酸	0±0 ^c	7.89±0.54 ^a	7.88±1.06 ^a	8.37±0.87 ^a	5.58±0.80 ^b
C35:0 三十五烷酸	0±0 ^d	37.46±2.07 ^a	33.83±2.82 ^{ab}	31.87±3.36 ^b	23.63±1.29 ^c
C36:0 三十六烷酸	0±0 ^c	30.67±1.60 ^a	29.48±2.47 ^a	27.66±3.27 ^a	20.57±1.11 ^b
饱和脂肪酸含量	1342.05±33.52 ^d	11823.46±117.77 ^b	10634.14±87.70 ^c	10222.36±151.03 ^c	17869.34±561.23 ^a
C16:1 棕榈油酸	3.22±0.41 ^c	182.91±9.05 ^c	247.14±2.43 ^b	153.08±4.42 ^d	615.26±23.37 ^a
C17:1 十七烯酸	0±0 ^c	54.57±2.21 ^d	125.01±4.82 ^b	89.95±7.91 ^c	264.69±13.90 ^a
C18:1 油酸	277.30±8.25 ^d	31 536.14±590.09 ^b	32 992.80±639.75 ^a	29 659.44±638.48 ^c	28 690.32±236.06 ^c
C18:2 亚油酸	88.94±2.96 ^c	9508.93±231.18 ^d	13 475.84±276.06 ^b	10 080.90±276.06 ^c	17 552.40±252.26 ^a
C18:3 亚麻酸	50.36±0.46 ^c	107.42±6.82 ^d	237.34±4.09 ^b	172.55±4.88 ^c	560.86±6.84 ^a
C19:1 十九碳一烯酸	0±0 ^d	16.40±3.06 ^c	29.67±3.29 ^b	21.72±0.48 ^c	71.95±4.65 ^a
C20:1 二十碳烯酸	0±0 ^d	301.53±6.07 ^c	395.73±7.06 ^b	300.02±5.12 ^c	726.46±7.22 ^a
C20:2 二十碳二烯酸	0±0 ^d	2.07±0.15 ^c	3.67±0.46 ^b	2.49±0.18 ^c	10.14±0.78 ^a
C22:3 二十二碳三烯酸	0±0 ^c	19.36±1.65 ^b	19.44±1.43 ^b	16.87±1.89 ^b	23.20±1.46 ^a
C22:4 二十二碳四烯酸	0±0 ^c	6.05±1.39 ^{ab}	5.60±0.73 ^{ab}	5.07±0.79 ^b	7.29±0.69 ^a
C22:6 二十二碳六烯酸	0±0 ^c	10.09±0.97 ^b	9.55±0.64 ^b	8.18±0.40 ^b	31.49±1.84 ^a
C24:5 二十四碳五烯酸	0±0 ^b	9.49±1.12 ^a	9.76±0.13 ^a	7.72±1.49 ^a	8.19±0.57 ^a
C24:6 二十四碳六烯酸	11.23±1.08 ^b	47.89±1.74 ^a	45.71±3.74 ^a	42.61±3.21 ^a	43.52±2.19 ^a
不饱和脂肪酸含量	431.06±9.29 ^c	41 802.85±403.30 ^b	47 597.27±878.18 ^a	40 560.59±832.90 ^b	48 605.78±312.90 ^a
脂肪酸总量	1773.11±42.73 ^c	53 626.31±465.61 ^c	58 231.41±939.06 ^b	50 782.95±956.43 ^d	66 475.12±736.86 ^a

注：同行数据后不同小写字母表示处理间差异显著（ $P<0.05$ ）。
Note: Different lowercase letters after the same line of data indicate significant difference among treatments ($P<0.05$).

MS3~MS4 时期减少，而 MS5 时期其含量又增加（图 1D）。
2.1.2 油棕果肉不同发育和酸败时期的游离脂肪酸代谢物差异分析 将油棕果实 MS1~MS5 时期进行两两比较，得到不同分组间游离脂肪酸代谢物的变化（图 2A）。MS1 与 MS2~MS5 的两两比较中，上调的差异代谢物分别为 24、23、23、25

个，下调的差异代谢物分别为 0、1、2、1 个；MS2 与 MS3~MS5 的比较中上调的差异代谢物分别是 2、0、14 个，而下调的差异代谢物分别为 2、2、2 个；MS3 与 MS4、MS5 的比较显示上调差异代谢物为 0、13 个，下调的分别有 1、1 个；MS4 vs MS5 显示有且仅有 13 个上调的差异代谢物。通过韦恩图分析发现，MS1 vs MS4 与 MS1 vs



不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ($P < 0.05$).

图 1 油棕果肉在不同时期各游离脂肪酸含量动态变化

Fig. 1 Dynamic changes in the accumulation of free fatty acid metabolites during the different periods of the oil palm mesocarp

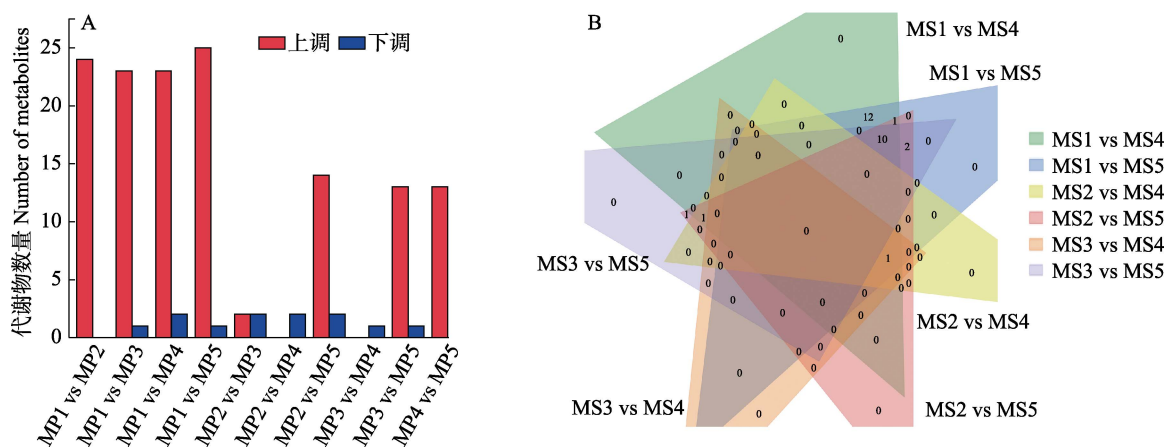


图 2 油棕果肉不同时期上/下调差异代谢物统计图 (A)、韦恩图 (B)

Fig. 2 Statistical map (A) and Venn diagram (B) of up/down-regulated differential metabolites in mesocarp of oil palm during different developments

MS5 存在差异代谢物最多, 为 24 个; MS1 vs MS4 与 MS2 vs MS5 存在 13 个差异代谢物; MS1 vs MS4 与 MS3 vs MS5 存在 11 个差异代谢物; MS3 vs MS4 与 MS4 vs MS5 存在 12 个差异代谢物; MS1 vs MS5 与 MS2 vs MS5 存在 14 个差异代谢物; MS1 vs MS5 和 MS3 vs MS5 存在 12 个差异

代谢物; MS2 vs MS5 和 MS3 vs MS5 存在 14 个差异代谢物 (图 2B)。

对油棕果肉 MS1~MS5 时期的各游离脂肪酸代谢物的含量进行聚类分析, 结果显示, 经过 Z-score 归一化处理的 30 种游离脂肪酸被分为 2 组。在第 1 组 (Group 1) 中, 3 种游离脂肪酸在

MS1~MS5 的变化呈下降趋势，即在 MS1 和 MS2 时期的含量较高，而 MS5 时期含量最低。第 2 组（Group 2）27 种游离脂肪酸含量在 MS1~MS5 时期总体呈现上升趋势，其中，MS1 时期含量最低，而 MS5 时期达最高值（图 3）。由此可知，MS4 为游离脂肪酸降解稳定时期，MS5 为游离脂肪酸快速降解时期，判别依据为油酸、亚油酸、亚麻酸、棕榈酸、硬脂酸、棕榈油酸的含量变化。

2.2 不同发育阶段的显著差异表达基因分析

将 MS1~MS5 时期的转录组文库的原始 Reads 进行数据过滤、比对和拼接以及将样品进行两两分组比较，依据筛选标准，分别得到显著上调和下调的 DEGs。如图 4 所示，MS1 与 MS2~MS5、MS2 与 MS3~MS5、MS3 与 MS4~MS4 及 MS4 vs MS5 的比较结果表明，上调 DEGs 分别为：2681、3046、3128、3580、1982、2387、

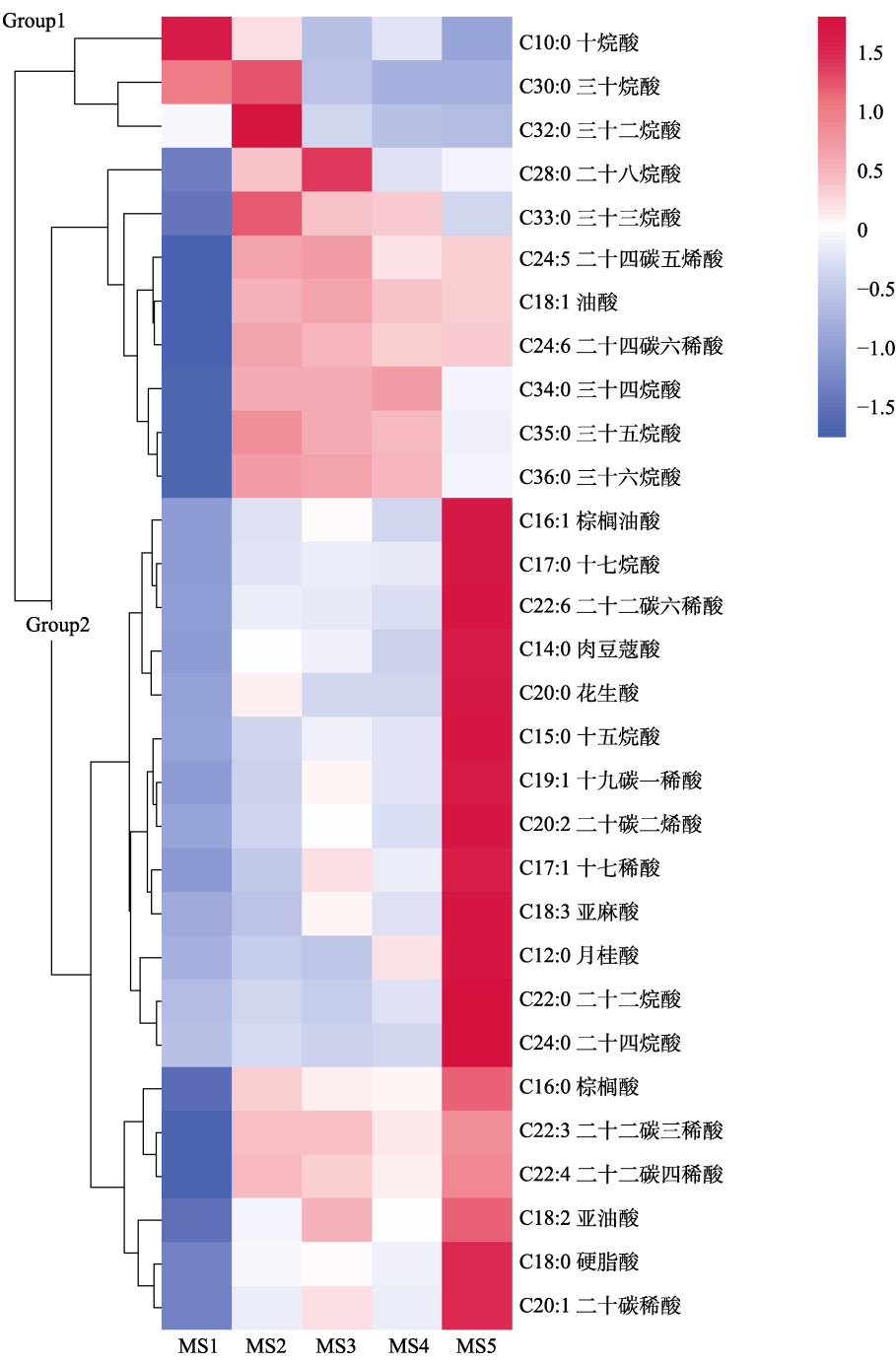


图 3 油棕果肉不同时期差异代谢的聚类热图

Fig. 3 Cluster heat map of differential metabolites clustering in mesocarp of oil palm during different developments

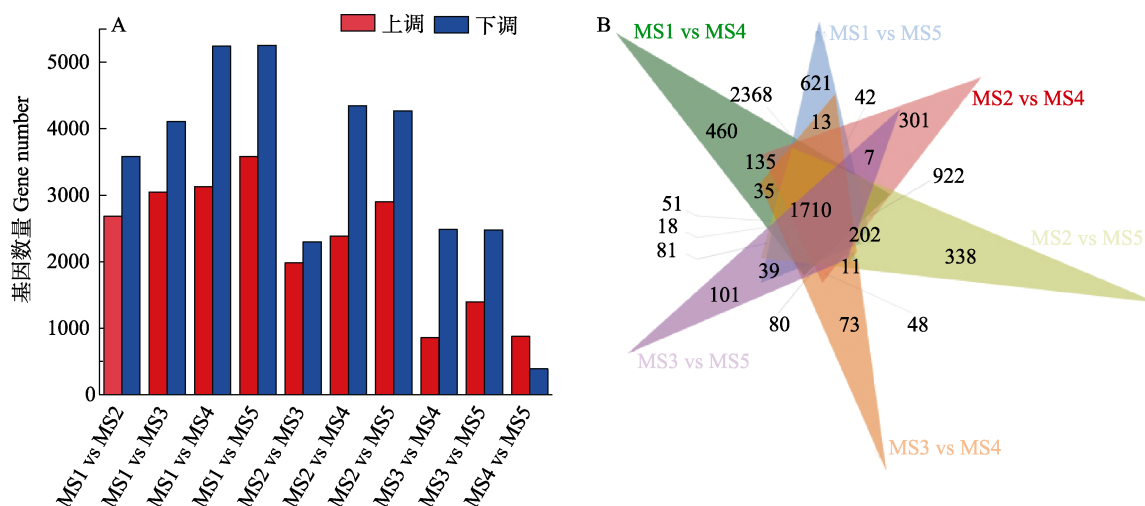


图 4 油棕果肉不同时期的差异基因统计

Fig. 4 Differential gene statistics of oil palm pulp in different periods

2902、858、1397、876 个；下调 DEGs 分别为：3584、4110、5243、5254、2299、4347、4269、2487、2476、389 个（图 4A）。随着果肉的成熟，DEGs 数量先上升再下降且表达下调基因的占比逐渐增加；随着果实的酸败时间增加，表达下调的 DEGs 数量增加，且下调的基因数量始终大于上调基因的数量，说明大部分基因的表达呈现下降趋势。根据上述两两分组比较的结果绘制韦恩图（图 4B），结果显示，在 MS1~MS5 时期各分组间共同存在 1710 个 DEGs。

2.3 代谢组学和转录组学关联分析

采用 KEGG 联合分析脂肪酸代谢组及转录组数据，结果显示，30 种游离脂肪酸中，有 17 种存在显著差异，这些脂肪酸分别注释到脂肪酸代谢、亚油酸代谢、脂肪酸降解、脂肪酸生物合

成及不饱和脂肪酸的生物合成等代谢通路上。其中，棕榈油酸、油酸、棕榈酸等 6 种游离脂肪酸注释到脂肪酸生物合成途径中，脂肪酸代谢和脂肪酸降解途径中仅发现棕榈酸这一类脂肪酸。不饱和脂肪酸的生物合成途径相关的游离脂肪酸包括油酸、亚油酸等 6 种 UFA 与棕榈酸、硬脂酸等 5 种 SFA。通过比较差异表达基因的代谢途径，脂肪酸生物合成途径中富集了 57 个显著差异表达基因，脂肪酸代谢途径中富集了 71 个显著差异表达基因，脂肪酸降解途径中富集了 50 个显著差异表达基因，亚麻酸代谢途径中富集了 59 个显著差异表达基因（图 5）。从脂肪酸生物合成、脂肪酸代谢、脂肪酸降解、不饱和脂肪酸生物合成、 α -亚麻酸代谢 5 条途径上共 99 个显著差异表达基因，挑选了 32 个显著差异基因用于后续分析。

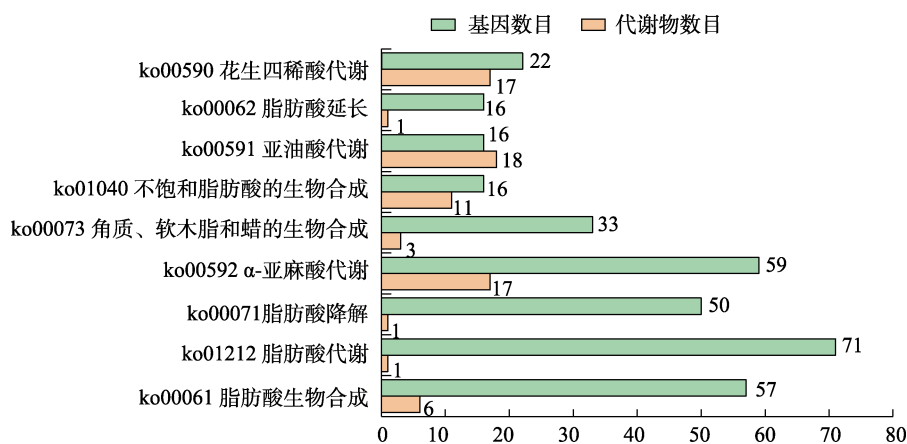


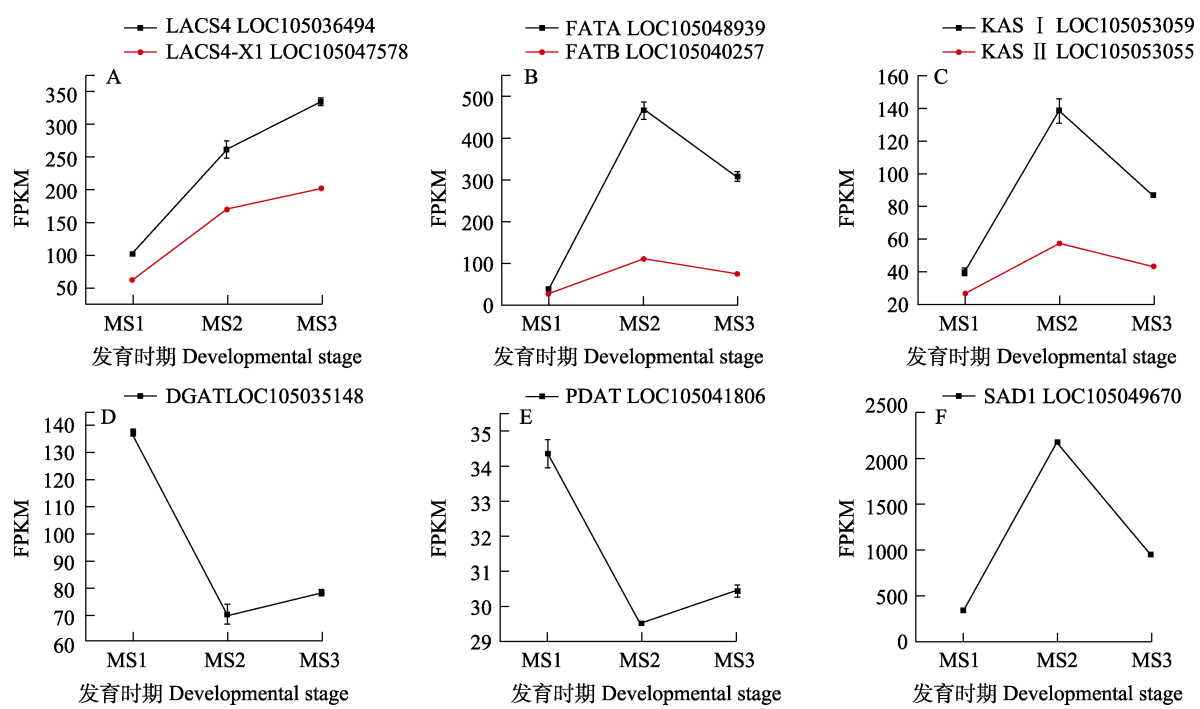
图 5 油棕果实不同发育时期代谢物及差异基因的 KEGG 富集通路统计

Fig. 5 KEGG enrichment pathway statistics of metabolites and differential genes in oil palm at different development stages

根据 32 个显著差异表达基因的 Nr 注释结果发现, 油棕果 MS1~MS5 过程中高表达量的酶基因有 *LACS*、*FAT*、*KAS*、*DGAT*、*PDAT*、*SAD*、*GDSL*、*KAT*。从 15 个关键基因表达量动态变化可知, 在 MS1~MS3 时期, *LACS4*、*LACS4-X1* 酶基因表达量的变化趋势基本一致, 均在 MS3 时期高表达; *FATA*、*FATB*、*KAS I*、*KAS II*、*SAD1* 酶基因表达先上调后下调, 最高表达出现在 MS2 时期; *DGAT*、*PDAT* 表达量变化趋势呈先降低后升高, 在 MS1 时期最高, MS2 时期最低。在 MS3~MS5 阶段, 随着采后储藏时间延长, *GDSL2*、*GDSL7* 基因表达量降低, MS5 时期达到最低, *GDSL1*、*KAT* 基因的表达与之相反; *LACS9*、*SAD2* 基因在 MS3 期表达显著上调, 在 MS4 时期后表达显著下调 (图 6~图 8)。

将 15 个酶基因与筛选到的差异代谢物进行相关性分析 (表 2 和表 3), 结果表明, 15 个关

键酶基因的表达量与油棕果实的 6 种主要游离脂肪酸含量呈显著相关性。在 MS1~MS3 时期, *LACS4*、*LACS4-X1*、*FATA*、*FATB*、*KAS I*、*KAS II*、*SAD1* 的表达与油酸、亚油酸、棕榈油酸、棕榈酸、硬脂酸、亚麻酸含量呈显著正相关, 即这 7 个酶基因的表达对油棕果实脂肪酸的合成和累积具有促进作用; *DGAT*、*PDAT* 的表达与之相反, 起到抑制作用。在 MS3~MS5 时期, *GDSL1*、*KAT* 酶基因在油棕果实中高表达, 与棕榈酸、棕榈油酸、硬脂酸、亚油酸及亚麻酸这 5 种脂肪酸含量呈正相关, 与油酸呈显著负相关; *GDSL2*、*GDSL7*、*SAD2*、*LACS9* 表达与上述 5 种脂肪酸含量呈负相关, 与油酸呈极显著正相关。说明 *GDSL1*、*KAT* 的表达对这 5 种游离脂肪酸合成具有促进作用, 对油酸合成具有抑制作用; 而 *GDSL2*、*GDSL7*、*SAD2*、*LACS9* 的表达抑制 5 种游离脂肪酸积累, 而促进油酸合成。



不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ($P<0.05$).

图 6 关键酶基因在油棕果肉不同发育时期 (MS1~MS3) 表达量的动态变化

Fig. 6 Dynamic changes of key enzyme gene expression at different developmental stages (MS1~MS3) of oil palm pulp

3 讨论

油棕含油量与脂肪酸代谢相关酶基因表达水平有关^[12]。油棕果实收获后, 高活性的脂肪酶会导致果肉产生大量游离脂肪酸, 当游离脂肪酸含量大于 5% 时, 将严重影响商品油的质量^[8]。本研

究中, 在自然发育过程中, 不饱和脂肪酸占比呈上升趋势, 采后储藏过程中, 不饱和脂肪酸占总脂肪酸含量比呈下降趋势, 可能是在油棕果实贮藏过程中脂质在脂肪酶的催化作用下发生水解反应, 游离脂肪酸发生降解, 转化为其他物质。

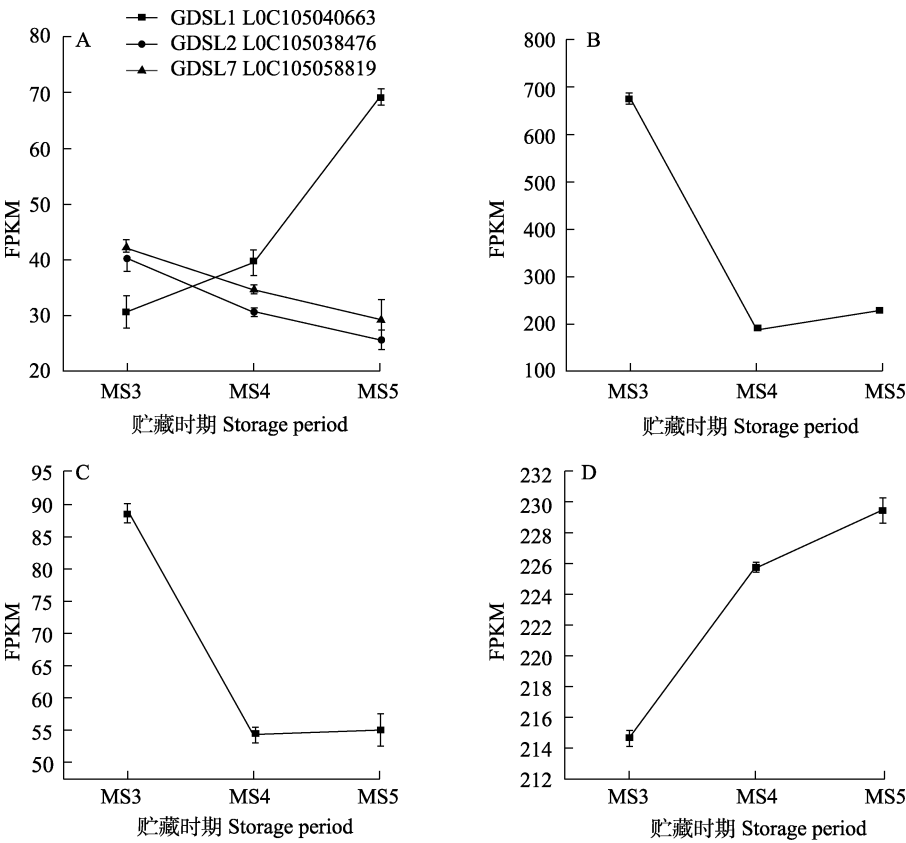


图 7 关键酶基因在油棕果肉不同采后贮藏时期 (MS3~MS5) 表达量的动态变化
Fig. 7 Dynamic changes of key enzyme gene expression at different postharvest storage time (MS3-MS5) of oil palm pulp

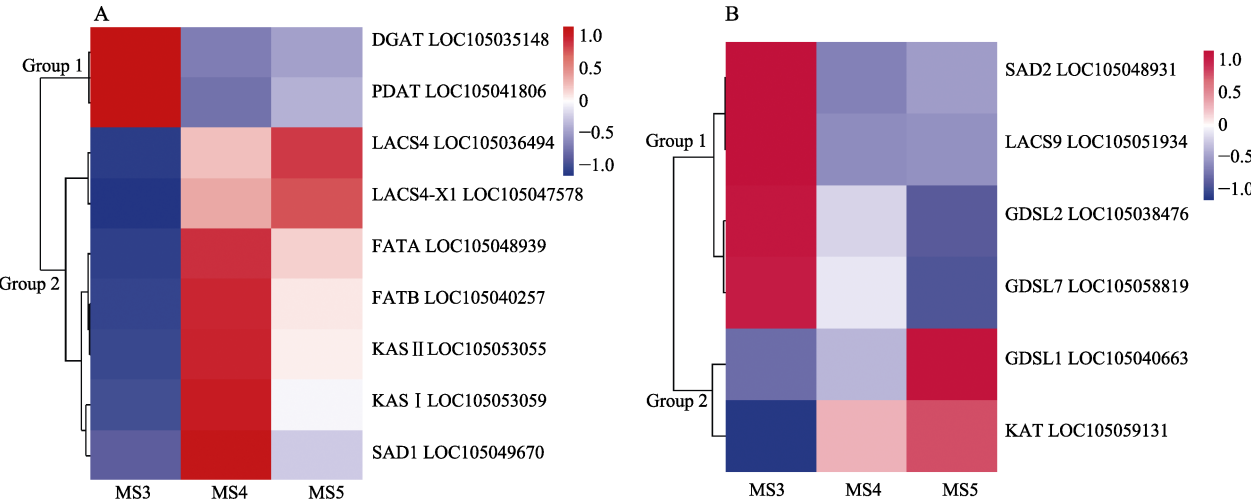


图 8 关键酶基因在油棕果肉不同发育 (A) 和采后 (B) 时期表达量的聚类热图
Fig. 8 Clustering heat map of expression levels of key enzyme genes in different developmental and postharvest of oil palm pulp

UFA/SFA 在自然发育时期呈上升趋势, 酸败过程中, SFA 与 UFA 总量在采后 24 h 降到最低, 而在采后 36 h 时升高且高于刚采收时, 推测 24 h 为油棕氧化酸败的临界点, 需要后期实验进一步验证。

前人研究发现 *BnLACS4* 与 *AtLACS9* 参与甘蓝

型油菜及拟南芥种子脂质生物合成^[23-24]。本研究表明 *LACS4*、*LACS4-X1* 表达量与油棕果实成熟度密切相关, *LACS4* 正向调控 6 种游离脂肪酸合成。 *LACS9* 对 6 种游离脂肪酸的调控表现出多效性, 即高表达 *LACS9* 促进油酸合成, 而抑制其他 5 种游离脂肪酸的合成。 *TcFATA* 和 *TcFATB1* 表达量与

表 2 油棕果肉脂肪酸在发育过程中关键酶基因表达量与主要游离脂肪酸含量相关性分析
Tab. 2 Correlation analysis of key enzyme genes FPKM value and main free fatty acids content during development stage

基因编号 Gene ID	酶基因 Enzyme gene	棕榈酸 Palmitic acid	棕榈油酸 Palmitoleic acid	硬脂酸 Stearic acid	油酸 Oleic acid	亚油酸 Linoleic acid	亚麻酸 Linolenic acid
LOC105036494	<i>LACS4</i>	0.912**	0.999**	0.965**	0.963**	1.000**	0.908**
LOC105047578	<i>LACS4-X1</i>	0.948**	0.999**	0.986**	0.985**	0.997**	0.861**
LOC105048939	<i>FATA</i>	0.967**	0.809**	0.915**	0.917**	0.787*	0.439
LOC105040257	<i>FATB</i>	0.945**	0.764*	0.883**	0.885**	0.741*	0.372
LOC105053059	<i>KAS I</i>	0.906**	0.693	0.829**	0.832**	0.666	0.274
LOC105053055	<i>KAS II</i>	0.937**	0.748*	0.871**	0.873**	0.723*	0.349
LOC105035148	<i>DGAT3</i>	-1.000**	-0.934**	-0.988**	-0.989**	-0.920**	-0.656
LOC105041806	<i>PDAT1</i>	-0.998**	-0.906**	-0.975**	-0.976**	-0.890**	-0.602
LOC105049670	<i>SAD1</i>	0.818**	0.556	0.719*	0.998**	0.526	0.101

注：*表示显著相关 ($P<0.05$)，**表示极显著相关 ($P<0.01$)。
Note: * indicates significant correlation ($P<0.05$), ** indicates extremely significant correlation ($P<0.01$).

表 3 油棕果肉脂肪酸采后关键酶基因表达量与主要游离脂肪酸含量相关性分析
Tab. 3 Correlation analysis between expression levels of key enzymes and contents of major free fatty acids in postharvest oil palm pulp

基因编号 Gene ID	酶基因 Enzyme gene	棕榈酸 Palmitic acid	棕榈油酸 Palmitoleic acid	硬脂酸 Stearic acid	油酸 Oleic acid	亚油酸 Linoleic acid	亚麻酸 Linolenic acid
LOC105040663	<i>GDSL1</i>	0.967**	0.916**	0.951**	-0.818**	0.772*	0.931**
LOC105038476	<i>GDSL2</i>	-0.737*	-0.625	-0.698	0.992**	-0.387	-0.654
LOC105058819	<i>GDSL7</i>	-0.797*	-0.693	-0.76*	0.976**	-0.469	-0.719*
LOC105048931	<i>SAD2</i>	-0.694	-0.574	-0.651	0.998**	-0.328	-0.604
LOC105051934	<i>LACS9</i>	-0.778*	-0.670	-0.739*	0.982**	-0.441	-0.697
LOC105059131	<i>KAT</i>	0.664	0.539	0.619	-1.000**	0.083**	0.570

注：*表示显著相关 ($P<0.05$)，**表示极显著相关 ($P<0.01$)。
Note: * indicates significant correlation ($P<0.05$), ** indicates extremely significant correlation ($P<0.01$).

可可果实中的油酸及棕榈酸含量呈正相关^[25]，而干扰拟南芥 *AtFATB1* 基因的表达，会降低棕榈酸和总饱和脂肪酸的含量^[8]，本研究与前人研究结果一致，即 *LACS9* 表达高，油酸含量也增加；*FATA* 和 *FATB* 表达量变化趋势与棕榈酸和总饱和脂肪酸含量变化趋势相同，说明 *FATA* 和 *FATB* 可能是调控棕榈酸和总饱和脂肪的关键酶基因。*KAS II* 在许多植物中被证实能催化 16C 脂肪酸延长，生成了 18C 脂肪酸，进而促进不同脂肪酸之间的转换。在拟南芥、烟草、大豆中过表达 *KAS II* 基因，可以显著提高硬脂酸、油酸、亚麻酸含量，降低棕榈酸含量^[26-27]，本研究结果与前人研究大体一样，说明 *KAS* 酶将油棕脂肪酸 16C 催化为 18C。*AsPDAT* 和 *AsDGAT* 共同调控白沙蒿种子 TAG 的合成，过表达的 *DGAT2*、*PDAT* 促进亚油酸的积累^[28]。本研究结果显示，随着果实成熟，不饱和脂肪酸含量升高，饱和脂肪酸含量下降。*DGAT*、*PDAT* 表达量随着油棕果实成熟而下降，与 6 个

游离脂肪酸呈负相关，这与前人报道的不同，表明 *DGAT*、*PDAT* 在油棕中具有与其他物种不同的调控模式。*SAD* 在调控植物油脂中饱和脂肪酸与不饱和脂肪酸的比例中发挥重要作用^[29]，提高 *SAD* 基因表达水平，可增加油酸含量^[30]。本研究中，自然发育过程中 *SAD1* 随着果实成熟表达量上升，不饱和脂肪酸上升，饱和脂肪酸下降，棕榈酸变化趋势相同，预示着 *SAD1* 可能催化棕榈酸转化为不饱和脂肪酸。随着采后时间增加，*SAD2* 表达下调，联合代谢分析显示该基因与油酸呈显著正相关，说明 *SAD2* 低表达阻碍油棕果实油酸合成。*GDSL* 基因能够分解油脂，通过提高其表达量可提高油料作物种子油脂含量^[17, 31-32]。*GDSL* 还参与小麦胚芽脂质水解酸败反应^[33]。本研究中，*GDSL1* 与油酸呈极显著负相关关系，即随着采后时间延长，其表达量上升，暗示 *GDSL1* 抑制油棕果实油酸氧化速率。本研究发现油棕 *GDSL* 家族中的 *GDSL1* 和 *GDSL2*、*GDSL7* 的作

用不同,且 *GDSL1* 表达量明显高于 *GDSL2* 和 *GDSL7*,这可能是导致采后油棕果实油酸下降的关键原因,预示同一家族基因可能存在不同的生物学功能。*KAT* 基因编码分解硫解酶,在脂肪酸合成和分解代谢中起到至关重要的作用。研究发现,抑制金藻中 *KAT* 基因的表达量可提高其脂肪酸的含量^[34]。本研究中,*KAT* 随着采后时间增加,其表达量上升,而油酸含量下降,预示 *KAT* 是影响油棕果实采后油酸氧化的关键酶之一。

综上所述,推测 *LACS4*、*LACS4-X1*、*SAD1* 上调在果实发育过程中促进不饱和脂肪酸合成,*DGAT*、*PDAT* 下调可能与不饱和脂肪酸积累密切相关,*FAT* 和 *KAS* 基因家族促进脂肪酸积累;*GDSL1*、*KAT* 可能是抑制油酸氧化的关键酶基因,*LACS* 和 *SAD* 基因家族在油棕自然发育和采后贮藏中同时调控脂肪酸代谢。本研究筛选出的 *LACS4*、*LACS4-X1*、*SAD1*、*GDSL1*、*DGAT*、*PDAT* 有望作为油棕油脂品质遗传改良的关键候选基因,为培育高不饱和脂肪酸和抗酸败油棕品种提供理论基础。

参考文献

- [1] 熊惠波,李瑞,李希娟,范海阔,马子龙. 油棕产业调查分析及中国发展油棕产业的建议[J]. 中国农学通报, 2009, 25(24): 114-117.
XIONG H B, LI R, LI X J, FAN H K, MA Z L. Investigation analysis and the advice of palm industry in China[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2009, 25(24): 114-117. (in Chinese)
- [2] SUNDRAM K, SAMBANTHAMURTH R, TAN Y A. Palm fruit chemistry and nutrition[J]. Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition, 2003, 12(3): 355-362.
- [3] DUSSERT S, GUERIN C, ANDERSSON M, FOT T, TRANBARGER T J, PIZOT M, SARAH G, OMORE A, DURAND-GASSELIN T, MORCILLO F. Comparative transcriptome analysis of three oil palm fruit and seed tissues that differ in oil content and fatty acid composition[J]. Plant Physiology, 2013, 162(3): 1337-1358.
- [4] MORCILLO F, CROS D, BILLOTTE N, NGANDO-EBO-NGUE G F, DOMONHEDO H, PIZOT M, CUELLAR T, ESPEOUT S, DHOUUB R, BOURGIS F, CLAVEROL S, TRANBARGER T J, NOUY B, ARONDEL V. Improving palm oil quality through identification and mapping of the lipase gene causing oid deterioration[J]. Nature Communications, 2013, 4(1): 1-8.
- [5] 雷新涛,曹红星. 油棕[M]. 北京: 中国农业出版社, 2013.
LEI X T, CAO H X. Oil palm[M]. Beijing: China Agricultural Press, 2013. (in Chinese)
- [6] FULDA M, SHOCHEY J, WERBER M, WOLTER F P, HEINZ E. Two long-chain acyl-CoA synthetases from *Arabidopsis thaliana* involved in peroxisomal fatty acid beta-oxidation[J]. Plant, 2002, 32(1): 93-103.
- [7] 陈红. 油棕长链脂肪酰基 CoA 合成酶 (*LACS*) 基因克隆及功能分析[D]. 海口: 海南大学, 2018.
CHEN H. Cloning and functional analysis of long chain fatty acyl-CoA synthase (*LACS*) gene from oil palm[D]. Haikou: Hainan University, 2018. (in Chinese)
- [8] BONAVENTURE G, SALAS J J, POLLARD M R, OHLROGGE J B. Disruption of the *FATB* gene in *Arabidopsis* demonstrates an essential role of saturated fatty acids in plant growth[J]. The Plant Cell, 2003, 15(4): 1020-1033.
- [9] WANG Q, HUANG W D, JIANG Q, LIAN J P, SUN J L, XU H, ZHAO H X, LIU Z L. Lower levels of expression of *FATA2* gene promote longer siliques with modified seed oil content in *Arabidopsis thaliana*[J]. Plant Molecular Biology Reporter, 2013, 31(6): 1368-1375.
- [10] 张淑岩,傅小鹏,冯美利,张安妮,张为圣,韦露,杨其存,曹红星. 油棕果肉和核仁游离脂肪酸合成的转录代谢差异机制分析[J/OL]. 分子植物育种: 1-12 [2023-12-29]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20220916.1052.012.html>.
ZHANG S Y, FU X P, FENG M L, ZHANG A N, ZHANG W S, WEI L, YANG Q C, CAO H X. Analysis of the differential mechanism of transcription and metabolism in the synthesis of free fatty acid in the mesocarp and kernel of oil palm[J/OL]. Molecular Plant Breeding: 1-12 [2023-12-29]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20220916.1052.012.html>. (in Chinese)
- [11] 郭宁馨,张丽玲,张雅坤,葛星辰,刘永琪,任雪梅,高建华,韩渊怀. 谷子 *DGAT* 基因家族分析及基于 WGCNA 发掘甘油三酯合成与调控相关基因[J]. 山西农业大学学报(自然科学版), 2021, 41(5): 1-12.
GUO N X, ZHANG L L, ZHANG Y K, GE X C, LIU Y Q, REN X M, GAO J H, HAN Y H. Analysis of millet *DGAT* gene family and discovery of genes related to triglyceride synthesis and its regulation based on WGCNA[J]. Journal of Shanxi Agricultural University (Natural Science Edition), 2021, 41(5): 1-12. (in Chinese)
- [12] 石鹏,曹红星,金龙飞. 油棕分子育种[M]. 北京: 中国农业出版社, 2019.
SHI P, CAO H X, JIN L F. Oil palm molecules[M]. Beijing: China Agricultural Press, 2019. (in Chinese)

- [13] TRANBARGER T J, DUSSERT S, JOET T, ARGOUT X, SUMMO M, CHAMPON A, CROS D, OMORE A, NOUY B, MORCILLO F. Regulatory mechanisms underlying oil palm fruit mesocarp maturation, ripening, and functional specialization in lipid and carotenoid metabolism[J]. *Plant Physiology*, 2011, 156: 564-584.
- [14] WONG Y C, TEH H F, MEBUS K, OOI T E K, KWONG Q B, KOO K L, ONG C K, MAYES S, CHEW F T C, APPLETON D R, KULAVEERASINGAM H. Differential gene expression at different stages of mesocarp development in high and low-yielding oil palm[J]. *BMC Genomics*, 2017, 18(1): 1-13.
- [15] 陈四龙. 花生油脂合成相关基因的鉴定与功能研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2012.
CHEN S L. Identification and functional study of genes related to peanut oil synthesis[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2012. (in Chinese)
- [16] 韩立英. 高油玉米青贮中脂肪酸的降解与抑制[D]. 北京: 中国农业大学, 2014.
HAN L Y. Degradation and inhibition of fatty acids in high oil corn silage[D]. Beijing: China Agricultural University, 2014. (in Chinese)
- [17] CHEN M, DU X, ZHU Y, WANG Z, HUA S J, LI Z L, GUO W L, ZHANG G P, PENG J R, JIANG L X. Seed fatty acid reducer acts downstream of gibberellin signalling pathway to lower seed fatty acid storage in *Arabidopsis*[J]. *Plant, Cell and Environment*, 2012, 35(12): 2155-2169.
- [18] GUERIN C, THIERRY J, SERRET J, LASHERMES P, VAISSAYRE V, AGBESSI M D T, THIERRY B, SEVERAC D, AMBLARD P, TREGGAR J, TRISTAN D G, MORCILLO F, DUSSERT S. Gene coexpression network analysis of oil biosynthesis in an interspecific backcross of oil palm[J]. *Plant Journal*, 2016, 87(5): 423-441.
- [19] JIN J J, SUN Y W, QU J, SYAH R, LIM C H, ALFIKO Y, RAHMAN N, SUWANTO A, YUE G, WONG L, CHUA N H, YE J. Transcriptome and functional analysis reveals hybrid vigor for oil biosynthesis in oil palm[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7(1): 1-12.
- [20] LI J, YANG Y D, SUN X W, LIU R, XIA W, SHI P, ZHOU L X, WANG Y, WU Y, LEI X T, XIAO Y. Development of intron polymorphism markers and their association with fatty acid component variation in oil palm[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2022, 13: 885418.
- [21] XIAO Y, XIA W, MASON A S, CAO Z Y, FAN H K, ZHANG B, ZHANG J L, MA Z L, PENG M, HUANG D Y. Genetic control of fatty acid composition in coconut (*Cocos nucifera*), African oil palm (*Elaeis guineensis*) and date palm (*Phoenix dactylifera*)[J]. *Planta*, 2018, 249(2): 333-350.
- [22] XIA W, LUO T T, DOU Y J, ZHANG W, MASON A S, HUANG D Y, HUANG X L, TANG W Q, WANG J H, ZHANG C Y, XIAO Y. Identification and validation of candidate genes involved in fatty acid content in oil palm by genome-wide association analysis[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2019, 10: 1263.
- [23] TAN X L, ZHENG X F, ZHANG Z Y, WANG Z, XIA H C, LU C M, GU S L. Long-chain acyl-coenzyme a synthetase 4 (*BnLACS4*) gene from *Brassica napus* enhances yeast lipid contents[J]. *Journal of Integrative Agriculture*, 2014, 13(1): 54-62.
- [24] KATAVIC V, SHI L, YU Y Y, ZHAO L F, HAUGHN G W, KUNSTL J. Investigation of the contribution of oil biosynthetic enzymes to seed oil content in *Brassica napus* and *Arabidopsis thaliana*[J]. *Canadian Journal of Plant Science*, 2014, 94(6): 1109-1112.
- [25] 李付鹏, 邓云梅, 伍宝朵, 秦晓威, 闫林, 赖剑雄. 可可 *FAT* 基因家族进化及表达模式分析[J]. *热带作物学报*, 2020, 41(5): 947-954.
LI F P, DENG Y M, WU B D, QIN X W, YAN L, LAI J X. Analysis of coco *FAT* gene family evolution and expression pattern[J]. *Chinses Journal of Tropical Crops*, 2020, 41(5): 947-954. (in Chinese)
- [26] 孙墨楠. 大豆 *GmKAS II* 家族基因的克隆及功能鉴定[D]. 长春: 吉林大学, 2022.
SUN M N. Cloning and functional identification of *GmKASII* family genes in soybean[D]. Changchun: Jilin University, 2022. (in Chinese)
- [27] 郝青婷. 陆地棉 β -酮脂酰-ACP 合成酶 II (KAS II) 家族基因鉴定与功能分析[D]. 太原: 山西农业大学, 2018.
HAO Q T. Identification and functional analysis of β -ketoacyl-ACP synthase II (KASII) family genes in upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.)[D]. Taiyuan: Shanxi Agricultural University, 2018. (in Chinese)
- [28] 南淑珍. 白沙蒿种子发育过程中脂质和生育酚积累及转录调控研究[D]. 兰州: 兰州大学, 2021.
NAN S Z. Accumulation and transcriptional regulation of lipids and tocopherols in *Artemisia sphaerocephala* during seed development[D]. Lanzhou: Lanzhou University, 2021. (in Chinese)
- [29] MCKEON T A, STUMPF P K. Purification and characterization of the stearyl-acyl carrier protein desaturase and the acyl-acyl carrier protein thioesterase from maturing seeds of safflower[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1982, 257(20): 12141-12147.
- [30] 黄春颖, 黄有军, 吴建峰, 黄仁, 栾雨濛, 张深梅, 王正加, 张启香, 黄坚钦. *SAD* 和 *FAD* 家族基因调控山核桃不饱和脂肪酸组分配比[J]. *园艺学报*, 2018, 45(2): 250-260.

- HUANG C Y, HUANG Y J, WU J F, HUANG R, LUAN Y M, ZHANG S M, WANG Z J, ZHANG Q X, HUANG J Q. SAD and FAD genes regulate the unsaturated fat distribution of hickory[J]. Journal of Horticulture, 2018, 45(2): 250-260. (in Chinese)
- [31] MA R, YUAN H, AN J, HAO X Y, LI H B. A *Gossypium hirsutum* GDSL lipase/hydrolase gene (*GhGLIP*) appears to be involved in promoting seed growth in *Arabidopsis*[J]. PloS One, 2018, 13(4): e0195556.
- [32] 李志兰. 拟南芥与油菜 GDSL 类脂肪酶基因的 insilico 分析及其对种子油脂积累影响的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2014.
- LI Z L. In silicoanalysis of GDSL lipase like genes in *Arabidopsis* and *rape* and their effects on seed oil accumulation[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2014. (in Chinese)
- [33] 严永红, 郑召君, 李波, 李进伟. 小麦胚芽贮藏期内脂质水解酸败机理解析[J]. 中国油脂, 2021, 46(2): 41-47.
- YAN Y H, ZHENG Z J, LI B, LI J W. Mechanism of lipid hydrolysis and rancidity during wheat germ storage[J]. Chinese Oils, 2021, 46(2): 41-47. (in Chinese)
- [34] 岳燕燕, 万文文, 梁科鹏, 黄一江, 田金虎, 陈计雷, 郑立, 郑明刚. 球等鞭金藻 CCMM5001 两种硫解酶基因对不同浓度生物素的响应表达[J]. 海洋湖沼通报, 2013(3): 89-94.
- YUE Y Y, WAN W W, LIANG K P, HUANG Y J, TIAN J H, CHEN J L, ZHENG L, ZHENG M G. Expression of two thiolases genes in *isochrysis galbana* CCMM5001 in response to different biotin concentrations[J]. Ocean and Marsh Bulletin, 2013(3): 89-94. (in Chinese)