

沙棘果肉发育期油脂合成积累的 源汇基因协同表达

丁 健¹, 阮成江^{1*}, 关 莹², 管文柯³, 单金友², 吴雨蹊², 吴天忠³

(1. 大连民族大学 资源植物研究所, 辽宁 大连 116600; 2. 黑龙江省农业科学院 浆果研究所, 黑龙江 绥化 152200;
3. 新疆林业科学院, 新疆 乌鲁木齐 830064)

摘要: [目的] 探讨沙棘果肉油脂合成积累与源汇基因表达的关系。 [方法] 以 8 个不同发育时期的近缘高油品系‘TF2-36’和低油品系‘杂 56’果肉为材料, 利用氯仿甲醇法测定含油率, 采用 qRT-PCR 技术分析油脂合成源基因(*GPD1*)和汇基因(*DGAT1*和*DGAT2*)在近缘高低油果肉间的表达差异及其对油脂合成积累的影响。 [结果] 研究表明: (1) 沙棘果肉含油率先上升后稳定趋势, ‘TF2-36’的果肉含油率一直高于‘杂 56’; (2) *GPD1*、*DGAT1*和*DGAT2*基因在‘TF2-36’果肉发育期间中均有明显高于‘杂 56’的表达量峰值, 但*GPD1*表达量峰值出现在油脂快速合成期, *DGAT1*和*DGAT2*表达量峰值出现在油脂稳定积累期。*GPD1*在发育前期高表达, 促进合成更多的 TAG 前体 G3P, 而*DGAT1*和*DGAT2*在发育后期高表达, 则促进了 TAG 的高积累。 [结论] 沙棘果肉高油脂积累源于源基因“*GPD1*”和汇基因“*DGAT1*和*DGAT2*”的协同高表达, 研究结果为理解沙棘非种子组织(果肉)油脂合成机理提供了理论依据。

关键词: 沙棘; 油脂合成; 源基因; 汇基因; 基因表达

中图分类号: S793.6

文献标识码: A

文章编号: 1001-1498(2017)06-0902-06

Coordinated Expression of Source and Sink Genes Involved in Lipid Biosynthesis and Accumulation During Seabuckthorn Pulp Development

DING Jian¹, RUAN Cheng-jiang¹, GUAN Ying², GUAN Wen-ke³, SHAN Jin-you², WU Yu-xi², WU Tian-zhong³

(1. Institute of Plant Resources, Dalian Nationalities University, Dalian 116600, Liaoning, China;

2. Institute of Berries, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Suiling 152200, Heilongjiang, China;

3. Xinjiang Academy of Forestry Sciences, Urumqi 830064, Xinjiang, China)

Abstract: [Objective] The objective of this study is to explore the relationship between lipid biosynthesis and source and sink genes' expression in seabuckthorn (*Hippophae* L.) pulp. [Method] Two close-related strains ‘TF2-36’ (with higher oil content) and ‘Za 56’ (with lower oil content) were selected as test samples. Their pulps were harvested in eight developmental stages. The oil content in pulp was tested by the method of chloroform methanol, and the differential expression of source gene ‘*GPD1*’ and sink genes ‘*DGAT1* and *DGAT2*’ involved in lipid biosynthesis between high and low oil content lines were determined using qRT-PCR, and the effects of the three genes on lipid biosynthesis and accumulation were analyzed. [Result] (1) The oil contents in pulp of ‘TF2-36’ were higher than that of ‘Za 56’ at all stages, but it first increased, and then kept stable for two lines; (2) the peak values of *GPD1*, *DGAT1* and *DGAT2* expression in pulp of TF2-36 were significantly higher than that in ‘Za 56’ during pulp development. The peaks of *GPD1* gene appeared in the period of rapid lipid biosynthesis, and the peaks

收稿日期: 2016-09-02

基金项目: 国家自然科学基金(31570681)

作者简介: 丁 健(1983—),男,博士,讲师,主要从事资源植物开发利用与遗传育种。

* 通讯作者: 阮成江(1972—),博士,教授,主要从事木本油料资源高效培育与利用研究。E-mail: ruan@dlmu.edu.cn

of *DGAT1* and *DGAT2* genes appeared in the period of stable lipid accumulation. The high expression of source gene (*GPD1*) contributed to synthesis more G3P of TAG precursor in early stages of pulp development, but the high expression of sink genes (*DGAT1* and *DGAT2*) accelerated high TAG accumulation in later stages of pulp development. [**Conclusion**] The high coordinated expression of source gene ‘*GPD1*’ and sink gene ‘*DGAT1* and *DGAT2*’ resulted in the high lipid biosynthesis and accumulation in seabuckthorn pulp. These results provided basis for understanding lipid biosynthesis mechanism in seabuckthorn non-seed (pulp) tissue.

Keywords: *Hippophae* L.; lipid biosynthesis; source gene; sink gene; gene expression

沙棘 (*Hippophae* L.) 为胡颓子科 (Elaeagnaceae) 沙棘属多年生灌木或小乔木, 其果实油脂中高积累多种人体必需的脂肪酸 (ω -3、 ω -6 和 ω -7 脂肪酸), 在预防和治疗胃肠疾病、冠心病和癌症等方面具有显著疗效^[1]。但较低的含油率 (种子为 7%~11%, 鲜果肉为 1%~5%) 制约了沙棘油的高效开发利用^[2-3], 目前关于沙棘果肉油脂合成积累机制的研究较少, 其中的关键基因及代谢途径尚未清晰^[4]。

甘油三酯 (Triacylglycerols, TAG) 是沙棘油脂中的主要成分, 其含量与果肉含油率密切相关^[2,5]。内质网上的 3-磷酸甘油 (glycerol-3-phosphate, G3P) 连续组装来自于细胞质的 acyl-CoA 脂肪酸合成 TAG^[6], 而 G3P 是由糖酵解的中间产物磷酸二羟丙酮 (dihydroxyacetone phosphate, DHAP) 被 3-磷酸甘油脱氢酶还原而来^[7], *GPD1* (glycerol-3-phosphate dehydrogenase) 编码 3-磷酸甘油脱氢酶, 在碳水化合物和脂类代谢中起关键作用^[8], 是脂类合成的限速酶^[9]。*GPD1* 基因表达量增加 2 倍可使油菜 (*Brassica napus* L) 种子中 G3P 水平增加 3~4 倍, 含油率提高 40%^[7,10]。TAG 的最后组装是以二酰甘油 (diacylglycerol, DAG) 为直接前体, 经二酰甘油转移酶 (diacylglycerol acyltransferases, DGAT) 酰基化而成^[11]。DGAT 是影响脂类积累的限速酶^[12-13], 在许多植物体中编码两类非同源的 *DGAT* 基因 (*DGAT1* 和 *DGAT2*)^[14-15]。*DGAT1* 基因突变体可限制野生型拟南芥 (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.) 的 TAG 合成, 而过量表达 *DGAT1* 基因则可增加种子含油率 11%~28%^[13]。*DGAT2* 基因在 TAG 合成过程中具有使 DAG 特异结合某些特殊脂肪酸的作用, 如油桐 (*Vernicia fordii* Airy-Shaw.) 中的桐油酸 (eleostearic acid)^[16]。Chen 等^[17] 将油桐的 *VfDGAT2* 基因导入红酵母 (*Rhodotorula glutinis*) 和拟南芥中, 发现 *VfDGAT2* 基因表达量与总脂肪酸含量呈线性相关性。

阮成江等^[18] 研究表明 TAG 的生物合成与源基因“*GPD1*”和汇基因“*DGAT*”相关。*GPD1* 基因是甘油酯合成通路中的关键限速酶基因, 是油脂合成的“源基因”, 具有调控 TAG 合成底物 3-磷酸甘油含量的作用^[9,18]; DGAT 为甘油二酯酰基转移酶, 是催化合成 TAG 的关键限速酶, 也是植物油脂合成的“汇基因”^[12,18]。同时调控源汇基因的表达可提高植物种子含油率, 解析二者的相互作用机制对提高油脂产量和品质具有重要作用。随后有学者将脂肪酸的生物合成功能形容为“推”, 将脂肪酸组装合成 TAG 形容为“拉”^[19], 共同表达“推”和“拉”基因可明显提高油脂含量。因此, 分析沙棘果肉油脂合成积累的源基因“*GPD1*”和汇基因“*DGAT1* 和 *DGAT2*”的表达与含油率的关系, 对提高沙棘果肉油脂具有重要意义。

本研究以近缘高油品系‘TF2-36’和低油品系‘杂 56’果肉为材料, 分析不同时期的果肉含油率, 利用 qRT-PCR 研究源基因“*GPD1*”和汇基因“*DGAT1* 和 *DGAT2*”的表达模式及其在高低油果肉中的表达差异, 揭示高低油果肉的油脂合成积累与源汇基因表达的关系, 为深入理解沙棘非种子组织 (果肉) 油脂合成提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

以‘TF2-36’ (蒙古沙棘亚种) 和‘杂 56’ (蒙古沙棘和中国沙棘杂交种) 为试验材料, 二者间基于 ISSR 标记分析的遗传相似系数为 0.752^[20], 果实分别于 2015 年 6 月 25 日、7 月 6 日、7 月 17 日、7 月 28 日、8 月 8 日、8 月 19 日、8 月 30 日和 9 月 10 日采自黑龙江省农业科学院浆果研究所。各品系样品采自 3 株无性繁殖植株的多个部位, 同植株果实混合, 用锡纸包裹后置于液氮中速冻。样品运抵大连民族大学资源植物研究所, 保存于 -80℃ 冰箱备用。

1.2 方法

1.2.1 果肉含油率测定 采用氯仿甲醇法^[2,21-22]

测定不同时期沙棘果肉含油率:冷冻干燥的果肉粉末转移至玻璃试管中,加入甲醇和氯仿(均为色谱纯,Honeywell公司)漩涡混匀后超声30 min,上清液转移到新试管中,残渣用氯仿甲醇(体积浓度百分比2:1)再次提取,合并的上清液加入其1/4体积的氯化钾溶液(质量浓度0.88%),收集下层液至玻璃样品瓶中,挥发至恒质量。含油率(%) = $(m_1 - m_2) / m \times 100$; m_1 为油脂和玻璃样品瓶的质量/g; m_2 为玻璃样品瓶的质量/g; m 为干燥样品粉末的质量/g,实验设3次生物学重复。

1.2.2 qRT-PCR检测 参照柱式植物总RNA提取试剂盒(上海生物工程有限公司)方法提取沙棘果

肉总RNA,根据PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser试剂盒(大连宝生物公司)方法合成第一链cDNA^[23]。本研究前期构建了沙棘种子、果肉、叶、茎和根转录组,获得了大量的功能基因注释以及差异表达基因信息。利用筛选获得的目的基因片段和PrimerQuest在线软件设计特异引物(表1)。参照SYBR Premix Ex Taq™ II(Tli RNaseH Plus)试剂盒(大连宝生物公司)方法和ABI7500 Real time PCR仪(美国Applied Biosystems公司)推荐程序进行qRT-PCR^[11],以沙棘UBQ5为内参基因^[4],采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法分析目的基因相对表达量^[24]。实验设3次生物学重复。

表1 基因名称及qRT-PCR引物

Table 1 Gene names and primers for qRT-PCR

| 基因名称 Gene name | 蛋白名称 Protein name | 引物序列 primer sequences(5'→3') | | 扩增长度 The length of the amplification/bp |
|-------------------|--|------------------------------|-----------------------|---|
| | | 上游 upstream | 下游 downstream | |
| UBQ5 | 泛素蛋白5 Ubiquitin 5 | GCGAGTTTGACCTTCTTCTT | CCACCTGTCTTCGTCTCC | 103 |
| GPD1 | 甘油-3-磷酸脱氢酶 1 Glycerol-3-phosphate dehydrogenase | AATCAACCGGACCAATGAAA | CATGTTTGCATCCTTTGCTG | 106 |
| DGAT1 | 二酰甘油酰基转移酶 1 Diacylglycerol acyltransferase | GCTGGTAGCATAATGTTGCTG | AGGGAGATGTCCAACCCAAT | 102 |
| DGAT2 | 二酰甘油酰基转移酶 2 Diacylglycerol acyltransferase | TCTTCTGGGATTGTTTGA | CAAACCTGACCATGTGCCTCA | 132 |

1.2.3 数据统计分析 利用SPSS 20.0软件进行单因素方差分析和LSD法进行差异性检验,采用EXCEL2010进行作图。

2 结果与分析

2.1 沙棘果肉发育过程中含油率的动态变化

随着果实的增大,果肉颜色由绿色转为黄绿

色,再转为黄色(‘杂56’)或桔黄色(‘TF2-36’,图1)。果肉含油率总体呈上升趋势,‘TF2-36’干果肉含油率一直高于‘杂56’(图2),最大增幅均发生在7月28日至8月8日期间,但‘TF2-36’干果肉含油率增速明显大于‘杂56’。8月30日‘TF2-36’干果肉含油率达高峰(37.19%),约为‘杂56’的3.9倍(图2)。

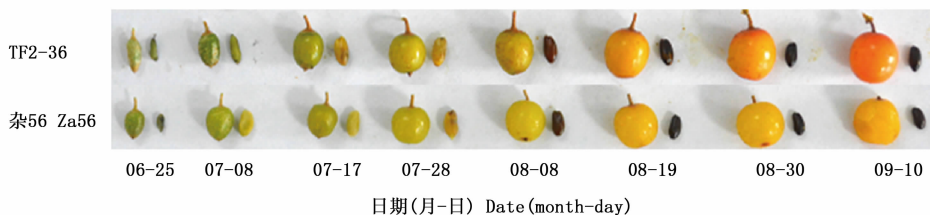


图1 品系‘TF2-36’和‘杂56’果实形态和颜色变化

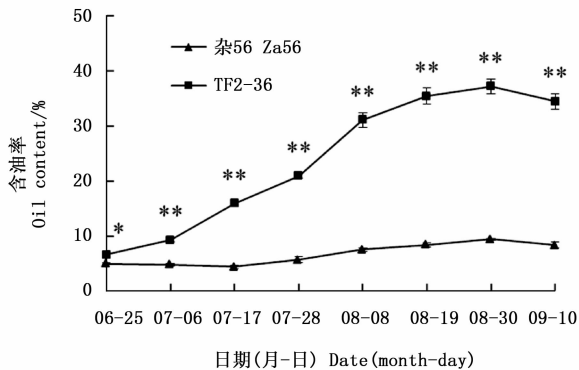
Fig. 1 Morphology and color of fruits of lines ‘TF2-36’ and ‘Za56’

2.2 GPD1、DGAT1和DGAT2基因表达分析

GPD1基因在‘TF2-36’果肉中先上调表达,在7月28日到达峰值;随后,表达下调,并逐渐稳定。GPD1基因在‘杂56’果肉中呈总体下调表达模式。‘TF2-36’果肉的GPD1基因表达量一直显著高于

‘杂56’,且在7月28日达峰值(图3A),两个品系的GPD1基因表达量峰值约相差3.4倍,与含油率峰值相差倍数相似。

DGAT1基因在‘TF2-36’果肉中先下调表达后上调再微量下调,而在‘杂56’果肉中呈先下调再上

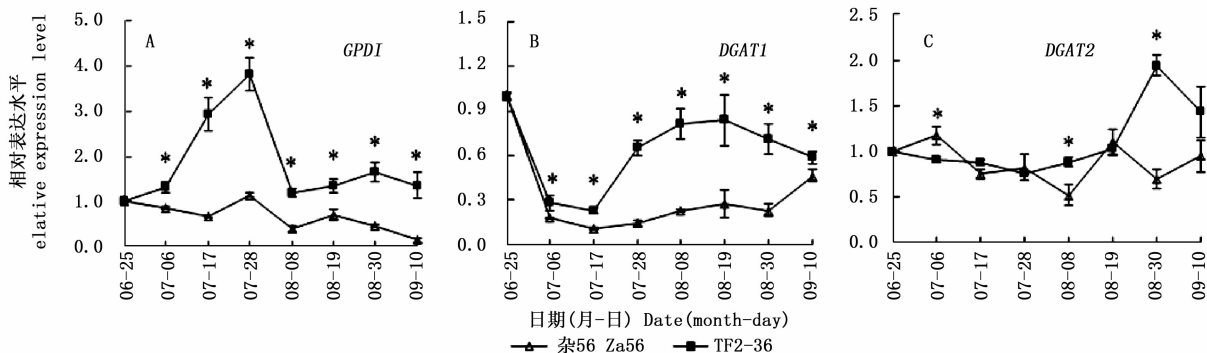


注: * 和 ** 分别表示同一时期两个品系间含油率在 0.05 和 0.01 水平上的显著差异

Note: * and ** indicated significant differences of oil content between two lines at the same harvest time at the level of 0.05 and 0.01, respectively

图2 品系‘TF2-36’和‘杂56’果肉发育期间的含油率变化

Fig.2 Changes of oil contents in fruit pulp of lines ‘TF2-36’ and ‘Za56’



注: * 表示同一采收期两个品系间的基因相对表达量在 0.05 水平上的显著差异

Note: * indicated significant differences of gene relative expression level between two lines at the same harvest time at the level of 0.05

图3 GPD1、DGAT1 和 DGAT2 基因在‘TF2-36’和‘杂56’果肉中的表达差异

Fig.3 Differences of GPD1, DGAT1 and DGAT2 genes expression in fruit pulp between the lines ‘TF2-36’ and ‘Za56’

效开发利用。

‘TF2-36’果肉的 *GPD1* 基因表达量一直显著高于‘杂56’,且于7月28日达峰值,促使‘TF2-36’的干果肉含油率在8月30日达峰值且显著高于‘杂56’,含油率的峰值滞后于 *GPD1* 基因表达量的峰值,而且两个品系的干果肉含油率峰值相差倍数(3.9倍)与 *GPD1* 基因表达量峰值相差倍数(3.4倍)相近。可见, *GPD1* 基因在‘TF2-36’果肉发育前期的高表达,为油脂合成积累了更多的 G3P^[7],进而提升其果肉含油率。近年来,在麻疯树 (*Jatropha curcas* L.) 和印加果 (*Plukenetia volubilis* L.) 种子中也发现 *GPD* 基因表达量与 TAG 含量变化相关^[23,25],且注射

调表达模式。‘TF2-36’果肉的 *DGAT1* 基因表达量一直显著高于‘杂56’(图3B),且与‘TF2-36’干果肉含油率显著高于‘杂56’相一致。*DGAT2* 基因在‘TF2-36’果肉中先稳定表达,在8月30日达峰值且显著高于‘杂56’。‘TF2-36’果肉的 *DGAT2* 基因表达量和干果肉含油率达峰值的时间相同(图2)。

与低果肉油品系‘杂56’相比,源基因 *GPD1* 在高果肉油品系‘TF2-36’发育初期的高表达(图3A),为 TAG 合成提供了更多的前体 G3P;且汇基因 *DGAT1* 在 *GPD1* 高表达后,仍维持高表达水平(图3B),加速 TAG 组装。可见,源汇基因的协同高表达促进了 TAG 合成积累。

3 讨论

沙棘非种子组织(果肉)高积累棕榈油酸的特性在自然界中非常罕见,它是我国唯一高积累棕榈油酸的植物,但果肉较低的含油率严重限制了其有

外源甘油的油菜种子油脂含量高峰也滞后于 G3P 高峰^[10]。

高油品系‘TF2-36’果肉的汇基因 *DGAT1* 和 *DGAT2* 在源基因 *GPD1* 的前期高表达后出现表达量高峰,且显著高于低果肉油品系‘杂56’,表明 *DGAT1* 和 *DGAT2* 基因在果肉发育期间的高表达也促进了油脂高积累。发育期的麻疯树和蓖麻 (*Ricinus communis* L.) *DGAT1* 基因以及印加果 *DGAT2* 基因表达量呈明显的单峰曲线变化规律,且与油脂合成相关^[23,25-26]。发育期文冠果胚的油脂积累与 *Xs-DGAT1* 和 *XsDGAT2* 基因表达模式相关,与非转基因植株相比,异源表达文冠果 *XsDGAT1* 和 *XsDGAT2*

基因的拟南芥种子油脂含量分别提高 $71.6 \mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$ (20.3%) 和 $30.9 \mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$ (8.8%)^[11]。不同物种和组织对 *DGAT1* 和 *DGAT2* 基因的响应程度存在一定差异,而它们对沙棘果肉含油率的影响程度还需要进一步验证。吴永美等^[27]将猫爪草 (*Doxantha unguis-cati*) 的 $\Delta 9D$ (delta-9 desaturase) 基因(催化棕榈酸去饱和为棕榈油酸)和对棕榈油酸有特异选择性的 *DGAT* 酶基因在大豆中共同表达发现,大豆体细胞胚的棕榈油酸含量上升到 19%,比单独转化 $\Delta 9D$ 基因高 7%。Li 等^[16]发现油桐中有催化桐油酸(十八碳三烯酸)与 TAG 特异结合的 *DGAT2* 基因。因此在后续研究中获得对棕榈油酸有特异选择性的 *DGAT* 基因对进一步解析沙棘果肉油脂合成积累机理具有重要意义。

与低果肉油品系‘杂 56’相比,高果肉油品系‘TF2-36’的源基因 *GPD1* 在发育前期高表达,而汇基因 *DGAT1* 和 *DGAT2* 在发育后期出现高表达,源和汇基因的协同高表达促进了沙棘果肉油脂的高积累。在烟草中共表达拟南芥的 *WRI1* 和 *DGAT1* 基因可产生协同作用,转基因烟草的干叶 TAG 含量可提高约 100 倍(2.48%),是转化单一基因的 5 倍左右^[19]。Chen 等^[17]将油桐的 *VjFAD2* 和 *VjDGAT2* 基因融合导入红酵母和拟南芥中,发现它们具有协同促进不饱和脂肪酸积累的作用,且可获得更高含量的 C18:3(红酵母中提高 174%,拟南芥中提高 14.6%)。非种子组织(果肉)的油脂生物合成途径复杂,同时涉及到种子油脂的合成,这些结构基因和调节基因对沙棘果肉油脂积累的影响正在进一步的研究验证之中。

4 结 论

(1) 品系‘TF2-36’的果肉含油率一直显著高于‘杂 56’,两个品系的果肉油脂积累模式相似;(2) *GPD1*、*DGAT1* 和 *DGAT2* 基因在‘TF2-36’果肉中均有明显高于‘杂 56’的表达量峰值,但 *GPD1* 表达量峰值出现在油脂快速合成期,*DGAT1* 和 *DGAT2* 表达量峰值出现在油脂稳定积累期,源基因“*GPD1*”在发育前期高表达,促进合成更多的 TAG 前体 G3P,而汇基因“*DGAT1* 和 *DGAT2*”在发育后期高表达,则促进了 TAG 的高积累。(3) 源基因“*GPD1*”和汇基因“*DGAT1* 和 *DGAT2*”的协同高表达在促进 TAG 合成底物 G3P 积累的同时加速 acyl-CoA 脂肪酸与 DAG 组装成 TAG。这不仅首次揭示了非种子组织(果

肉)的油脂合成积累的源汇基因协同表达机制,而且为提高沙棘果肉含油量提供理论依据。

参 考 文 献:

- [1] Cenkowski S, Yakimishen R, Przybylski R, et al. Quality of extracted sea buckthorn seed and pulp oil[J]. Canadian Biosystems Engineering, 2006, 48(3): 9-16.
- [2] Yang B R, Kallio H. Fatty acid composition of lipids in sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) berries of different origins[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2001, 49(4): 1939-1947.
- [3] Ruan C J, Rumpunen K, Nybom H. Advances in improvement of quality and resistance in a multipurpose crop: sea buckthorn[J]. Critical Reviews in Biotechnology, 2013, 33(2): 126-144.
- [4] Fatima T, Snyder C L, Schroeder W R, et al. Fatty acid composition of developing sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) berry and the transcriptome of the mature seed[J]. Plos One, 2012, 7(4): e34099.
- [5] Yang B R, Kallio H. Analysis of Triacylglycerols of seeds and berries of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) of different origins by mass spectrometry and tandem mass spectrometry[J]. Lipid, 2006, 41(4): 381-392.
- [6] Ramli U S, Baker D S, Quant P A, et al. Use of control analysis to study the regulation of plant lipid biosynthesis[J]. Biochemical Society Transactions, 2002, 30(6): 1043-1046.
- [7] Vigeolas H, Waldeck P, Zank T, et al. Increasing seed oil content in oil-seed rape (*Brassica napus* L.) by over-expression of a yeast glycerol-3-phosphate dehydrogenase under the control of a seed-specific promoter[J]. Plant Biotechnology Journal, 2007, 5(3): 431-441.
- [8] 张 霞, 张 桦, 张富春. 盐胁迫下盐穗木甘油醛-3-磷酸脱氢酶基因的表达与亚细胞定位分析[J]. 西北植物学报, 2015, 35(7): 1283-1288.
- [9] Remize F, Barnavon L, Dequin S. Glycerol export and glycerol-3-phosphate dehydrogenase, but not glycerol phosphatase, are rate limiting for glycerol production in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Metabolic Engineering, 2001, 3(4): 301-312.
- [10] Vigeolas H, Geigenberger P. Increased levels of glycerol-3-phosphate lead to a stimulation of flux into triacylglycerol synthesis after supplying glycerol to developing seeds of *Brassica napus* L. in planta[J]. Planta, 2004, 219(5): 827-835.
- [11] Guo H H, Wang T T, Li Q Q, et al. Two novel diacylglycerol acyltransferase genes from *Xanthoceras sorbifolia* are responsible for its seed oil content[J]. Gene, 2013, 527(1): 266-274.
- [12] Zheng P, Allen W B, Roesler K, et al. A phenylalanine in DGAT is a key determinant of oil content and composition in maize[J]. Nature Genetics, 2008, 40(3): 367-372.
- [13] Jako C, Kumar A, Wei Y D, et al. Seed-specific over-expression of an *Arabidopsis* cDNA encoding a diacylglycerol acyltransferase enhances seed oil content and seed weight[J]. Plant Physiology, 2001, 126(2): 861-874.

- [14] Cases S, Smith S J, Zheng Y, *et al.* Identification of a gene encoding an acyl CoA:diacylglycerol acyltransferase, a key enzyme in triacylglycerol synthesis[J]. *Proceedings of National Academy of Sciences of the United States of America*, 1998, 95(22): 13018 - 13023.
- [15] Kroon J T M, Wei W X, Simon W J, *et al.* Identification and functional expression of a type 2 acyl-CoA: diacylglycerol acyltransferase (*DGAT2*) in developing castor bean seeds which has high homology to the major triglyceride biosynthetic enzyme of fungi and animals[J]. *Phytochemistry*, 2006, 67(23): 254 - 259.
- [16] Li R, Yu K, Hildebrand D F. *DGAT1*, *DGAT2* and *PDAT* expression in seeds and other tissues of epoxy and hydroxy fatty acid accumulating plants[J]. *Lipids*, 2010, 45(2): 145 - 157.
- [17] Chen Y C, Cui Q Q, Xu Y J, *et al.* Effects of tung oilseed *FAD2* and *DGAT2* genes on unsaturated fatty acid accumulation in *Rhodotorula glutinis* and *Arabidopsis thaliana*[J]. *Molecular Genetics and Genomics*, 2015, 290(4): 1605 - 1613.
- [18] 阮成江, 李 群. 基因调控种子含油量研究进展及生物柴油用海滨锦葵遗传改良策略[J]. *可再生能源*, 2008, 26(4): 35 - 40.
- [19] Vanhercke T, El Tahchy A, Shrestha P, *et al.* Synergistic effect of *WRI1* and *DGAT1* coexpression on triacylglycerol biosynthesis in plants[J]. *FEBS Letters*, 2013, 587(4): 364 - 369.
- [20] Ding J, Ruan C J, Bao Y H, *et al.* Analysis of genetic relationships in sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) germplasm from China and other countries using ISSR markers[J]. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, 2015, 90(6): 599 - 606.
- [21] Christie W W. Fatty acids and lipids: Structures, extraction and fractionation into classes[M]// Christie W W. *Gas Chromatography and Lipids*. Glasgow, UK: The Oily Press Ltd., 1989: 11 - 42.
- [22] Vuorinen A L, Markkinen N, Kalpio M, *et al.* Effect of growth environment on the gene expression and lipids related to triacylglycerol biosynthesis in sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) berries [J]. *Food Research International*, 2015, 77(3): 608 - 619.
- [23] Wang X J, Liu A Z, Expression of genes controlling unsaturated fatty acids biosynthesis and oil deposition in developing seeds of Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) [J]. *Lipids*, 2014, 49(10): 1019 - 1031.
- [24] Schmittgen T D, Livak K J. Analyzing real-time PCR data by the comparative CT method[J]. *Nature Protocols*, 2008, 3(6): 1101 - 1108.
- [25] Xu R H, Wang R L, Liu A Z. Expression profiles of genes involved in fatty acid and triacylglycerol synthesis in developing seeds of *Jatropha* (*Jatropha curcas* L.) [J]. *Biomass and Bioenergy*, 2011, 35(5): 1683 - 1692.
- [26] Chen G Q, Turner C, He X H, *et al.* Expression profiles of genes involved in fatty acid and triacylglycerol synthesis in castor bean (*Ricinus communis* L.) [J]. *Lipids*, 2007, 42(3): 263 - 274.
- [27] 吴永美, 毛 雪, 王书建, 等. 植物 ω -7 脂肪酸的系统代谢工程[J]. *植物学报*, 2011, 46(5): 575 - 585.

(责任编辑:张 研)