

评述与展望

Reviews and Progress

棉籽油含量及成分研究与改良

刘正杰¹, 郭宝生¹, 张园¹, 王玉美², 华金平¹

1 中国农业大学农学与生物技术学院/杂种优势研究与利用教育部重点实验室/作物遗传改良北京市重点实验室, 北京, 100193

2 湖北省农业科学院经济作物研究所, 武汉, 430064

✉ 通讯作者: jinping_hua@cau.edu.cn; ✉ 作者

分子植物育种, 2012 年, 第 10 卷, 第 6 篇 doi: 10.5376/mpb.cn.2012.10.0006

收稿日期: 2011 年 02 月 14 日

接受日期: 2012 年 02 月 28 日

发表日期: 2012 年 03 月 09 日

这是一篇采用 Creative Commons Attribution License 进行授权的开放取阅论文。只要对本原作有恰当的引用, 版权所有人允许并同意第三方无条件的使用与传播。

建议最佳引用格式:

引用格式(中文):

刘正杰等, 2012, 棉籽油含量与成分研究与改良, 分子植物育种(online) Vol.10 No.6 pp.1038-1048 (doi: 10.5376/mpb. cn.2012.10.0006)

引用格式(英文):

Liu et al., 2012, Research and improvement on the oil content and composition of cottonseed, Fenzi Zhiwu Yuzhong (online) (Molecular Plant Breeding) Vol.10 No.6 pp.1038-1048 (doi: 10.5376/mpb.cn.2012.10.0006)

摘 要 棉籽是棉花生产过程中的重要副产品, 其中, 棉籽油占棉籽仁 20%左右。棉籽油具有重要的经济价值, 其含量与组分特征是品种的重要特性之一。基于植物脂肪酸生物合成途径, 调控、提高棉籽油份含量并进行脂肪酸组分改良, 以及转基因改良种子(超)长链脂肪酸成分等取得显著进展。本文综述了棉籽含油量遗传研究进展, 探讨了棉籽油含量与其他性状的关系, 提出了构建多元载体、实现多个油脂合成与调控的关键基因协同表达等策略, 以指导高含油量棉花育种。

关键词 棉籽; 含油量; 脂肪酸组分; 高油育种

Research and Improvement on the Oil Content and Composition of Cottonseed

Liu Zhengjie¹, Guo Baosheng¹, Zhang Yuan¹, Wang Yumei², Hua Jinping¹

1 College of Agronomy and Biotechnology/Key Laboratory of Crop Heterosis and Utilization of Ministry of Education/Beijing Key Laboratory of Crop Genetic Improvement, China Agricultural University, Beijing, 100193

2 Institute of Cash Crops, Hubei Academy of Agricultural Sciences, Wuhan, 430064

✉ Corresponding author: jinping_hua@cau.edu.cn; ✉ Author

Abstract Cottonseed is a valuable byproduct of cotton. Cottonseed kernels contain approximately 20% cottonseed oil which has an important economic value. Oil content and fatty acid composition are the important characteristics of cottonseed species. Based on the pathway of fatty acid biosynthesis in plant, the genetic improvement of cottonseed on oil content, fatty acid composition, and (super) long chain fatty acid synthesis has achieved much progress. In this paper, the genetic models of cottonseed oil content were summarized, as well as the relationship between cottonseed oil content and other agronomic traits. Some new strategies for the construction of multiple vectors to realize multiple genes expression simultaneously in fatty acid synthesis and regulation were proposed, in order to guide the breeding program for the development of high oil content varieties.

Keywords Cottonseed; Oil content; Fatty acid composition; Breeding for high oil content

研究背景

棉花是重要的经济作物。我国常年植棉 6×10^6 hm², 约产皮棉 7.6×10^6 t、棉籽 1.3×10^6 t。棉籽综合利用直接关系到植棉的经济效益。作为棉花生产的主要副产品, 棉籽富含油脂与蛋白(许红霞等, 2009)。棉籽除去种壳和棉短绒外, 是占种子重量的55%~60%棉籽种仁。剥壳后的棉仁脂肪含量30%~40%, 可生产油脂, 作为食用油或者作为工业原料, 还可以利用榨

油剩余的棉子饼加工成饲料、提取棉酚等。棉籽油也是生产生物柴油的理想来源(王彦霞等, 2011)。植物油脂经甘油脱离, 分解成以油酸为主要成分的C18的不饱和脂肪酸, 再经过甲酯化形成15个左右碳链的高脂肪酸甲酯, 即生物柴油, 是一种新型的绿色生物能源(张欢等, 2007)。

开展高油育种、选育含油量高的棉花高油材料是开展综合利用、提高综合效益的重要途径。因此,



当前棉花遗传改良研究, 提高棉籽含油量、进行脂肪酸组分改良也是学科研究的重要方向。本文基于分析被子植物油脂代谢途径, 概述了棉籽油代谢的遗传基础, 讨论了利用基因工程开展高油育种的策略。

1 棉籽油及其组分

棉籽中含有15%~40%的油份, 不同棉花栽培种、同一个栽培种的不同品种棉仁油份含量差异较大。对2个主要栽培棉种共61个棉花材料的棉仁油份含量测定表明, 陆地棉和海岛棉材料的平均棉仁油份含量分别为30.42%和37.25% (宋俊乔等, 2010)。棉仁脂肪酸成分主要包括棕榈酸(C16:0)、硬脂酸

(C18:0)、油酸(C18:1)、亚油酸(C18:2)以及亚麻酸(C18:3) (表1), 还有部分20碳烯酸及芥酸等(王彦霞等, 2011)。棉籽油去棉酚精炼后得到棉清油; 人体对棉清油的消化吸收率达到98%以上(徐红霞等, 2009; Savanam et al., 2011)。棉清油含有大量人体必需的脂肪酸, 且亚油酸的含量是所有食用油中最高的, 可达50%以上(Savanam et al., 2011)。亚油酸能有效抑制人体血液中的胆固醇, 维护人体健康。通过比较不同植物食用油(表1), 包括大豆油、花生油、玉米油及菜籽油等脂肪酸成分, 可以看出棉籽油富含油酸与亚油酸, 是高质量的食用油。

表1 不同植物油的脂肪酸成分比较

Table 1 Comparison of fatty acid compositions of different vegetable oils

油脂来源 Source of vegetable oils	脂肪酸(%) Fatty acid (%)						
	肉豆蔻酸 Myristic acid	棕榈酸 Palmitic acid	硬脂酸 Stearic acid	油酸 Oleic acid	亚油酸 Linoleic acid	亚麻酸 Linolenic acid	其他* Others*
棉籽油 Cotton	0.6~1.0	21.4~26.4	2.1~3.3	14.7~21.7	46.7~58.2	ND~0.4	0.3~1.8
花生油 Peanut	ND~0.1	8.0~14.0	1.0~4.5	35.0~67.0	13.0~43.0	ND~0.3	3.7~11.8
菜籽油 Canola	ND~0.2	2.5~7.0	0.8~3.0	51.0~70.0	15.0~30.0	5.0~14.0	0.3~9.2
芝麻油 Sesame	ND~0.3	7.9~12.0	4.5~6.7	34.4~45.5	36.9~47.9	0.9~1.1	0.3~1.0
葵花油 Sunflower	ND~0.2	5.0~7.6	2.7~6.5	14.0~39.4	48.3~74.0	ND~0.3	0.4~4.3
茶籽油 Camellial	ND	ND	ND	74.0~87.0	7~14	ND	7.0~11.0
红花油 Safflower	ND~0.2	5.3~8.0	1.9~3.5	8.4~21.3	76.0~83.2	ND~0.1	0.3~3.5
大豆油 Soybean	ND~0.2	8.0~13.5	2.5~5.4	17.7~28.0	49.8~59.0	5.0~11.0	ND~3.4
玉米油 Com	ND~0.3	8.6~16.5	ND~0.3	20.0~42.2	34.0~65.6	ND~2.0	0.5~4.3

注: *: 包括花生酸、花生烯酸、山嵛酸及芥酸等脂肪酸的总和; ND: 不能检出

数据来源: GB1534-2003, GB1535-2003, GB1536-2004, GB1537-2003, GB10464-2003, GB11765-2003, GB19111-2003, GB19112-2003

Note: *: Amount of fatty acids including arachic acid, arachidonic acid, behenic acid and erucic acid, etc.; ND: Not-detected; Data resource: GB1534-2003, GB1535-2003, GB1536-2004, GB1537-2003, GB10464-2003, GB11765-2003, GB19111-2003, GB19112-2003

2 棉籽油份含量的遗传学研究

2.1 棉籽油份含量的遗传效应

棉花油份含量具有数量性状的遗传特点, 其遗传方式及遗传效应, 因试验材料不同而异, 包括: 加性效应(王国印等, 1991)、显性效应(季道藩等, 1988; Singh等, 1985)或上位性效应(Boghara等, 1985)影响。也有研究认为, 子代油脂含量受母体基因型的影响(秦利等, 2009); 油份含量遗传存在母体效应, 也存在上位性效应(Ye等, 2003)。

棉花油份含量遗传力不高。王国印等(1991)对棉籽营养品质性状进行了Hayman双列杂交遗传模型分析, 估算各营养品质的遗传参数, 发现油份含量的狭义遗传力中等偏上(66.92%), 油份指数的狭义遗传力中等(54.23%)。

2.2 棉籽油份相关分子标记与 QTL 定位

采用分子标记, 定位棉籽油份相关的QTLs也有报道。但是, 这些结果, 也因实验材料及标记不同而异, 可比性差。因此, 还需要增加遗传图谱的分子标记, 进行精细定位。Song等(2007)以棉花组合TM-1/Hai7124的BC1S1群体为材料, 发现棉仁油份含量QTL位于D8上的BNL3860-NAU1369标记区间, 可以解释29.35%的表型变异。陆地棉品种间杂交组合的188个重组近交系为材料, 获得交配两轮得到“永久F₂”群体, 检测到与种子油份含量相关的QTL和上位性位点各3个, 但受环境影响大(秦利等, 2009)。徐鹏等(2010)以构建的两个F₂陆地棉种内群体为材料, 复合区间作图分析结果: HY群体中, 控制油分含量的QTL位于LG2上的NAU4091-NAU3196标记区间, 可以解释15.5%的遗传变异; DY群体中, 控制油分含量的QTL位于Chr.13的TMB1216上, 可以解释6.04%的遗传变异。对于脂肪酸组分, 在渝棉1号与T586的分离群体, 检测到12个粗油含量QTLs, 单个QTL解释变异4.0%~23%; 检测到4个亚油酸含量QTLs, 单个QTL解释变异3.5%~5.5%; 检测到3个油酸含量QTLs, 单个QTL解释油酸含量变异的3.7%~11.3%; 检测到5个棕榈酸含量QTLs, 单个QTL解释棕榈酸含量变异的5.3%~7.0%; 检测到7个硬脂酸含量QTLs, 单个QTL解释硬脂酸含量变异的3.7%~9.3% (刘大军等, 2010)。

3 棉籽油份含量与棉花其他性状的关系

3.1 棉籽油份含量与产量的关系

棉籽油含量与棉花产量没有显著负相关。

Turner等(1976)和Kashalkar等(1988)认为种子含油量与籽指间呈正相关, 油份含量与籽棉产量不存在简单的相关。分析225个陆地棉品种的棉籽种仁含油量和棉花产量性状相关性, 结果表明, 含油量与铃重及籽指的相关系数分别为0.260和0.186, 分别为极显著和显著正相关(孙善康等, 1987)。采用二倍体种子遗传模型分析, 结果表明, 籽指与油份间存在极显著的母体加性负相关, 种仁率和油份间各项遗传相关系数均未达到显著水平, 可以根据籽指小和容重大等种子物理性状间接选择高油份材料(吴吉祥等, 1995)。王国建等(1996)认为, 籽指与油份指数以直接加性相关为主, 在不同环境下间接选择高籽指材料可提高油份指数。

3.2 棉籽油份含量与纤维品质的关系

提高棉籽油含量同时, 可以不影响或改良纤维品质。油份含量与各主要的纤维品质性状呈正相关, 但相关性不大。采用系谱法从以陆地棉2号为亲本的杂交组合中筛选出高含油量的材料, 发现棉纤维强度也有不同程度的提高(Singh等, 1991)。棉花种子含油量与棉花纤维2.5%跨长、比强度、整齐度、伸长率和麦克隆值等品质指标均为正相关, 说明提高棉子含油量可同时改良棉纤维品质(周有耀等, 1993)。

3.3 棉籽油份含量与棉籽蛋白质含量呈高度负相关

目前, 对于棉籽含油量与蛋白质含量的关系研究相对较多, 结论一致, 即: 棉籽油份含量与蛋白质含量呈高度负相关。棉花不同品种棉籽仁粗蛋白与粗脂肪含量间呈显著负相关, 有利于蛋白质提高的环境条件则不利于脂肪含量的提高(刘冬青等, 1995)。闫建庆和严秀莉(2000)研究新疆陆地棉棉籽粗脂肪和粗蛋白的含量与关系, 结果表明粗脂肪与粗蛋白之间为极显著负相关, 但也发现有双高品种。

综上所述, 棉籽油份含量与棉花产量、品质没有显著的负相关, 而与棉籽蛋白质含量呈高度负相关, 同时提高棉籽油与蛋白质的含量的难度较大。朱乾浩等(1995)认为低酚棉的籽指、仁指与蛋白质含量为负相关, 与油份含量为正相关, 其中籽指与蛋白质含量的负相关性很弱, 这表明油份含量和蛋白质含量虽较难同时提高, 但选择籽指较大的杂种后代, 油份含量能有较大的提高, 蛋白质含量也不会下降很多。因此, 育种过程中获得高产、优质、高油份指数及高蛋白品种是可能的。

4 棉籽油份合成及其含量、脂肪酸成分改良

4.1 植物油脂生物合成途径

植物脂类合成代谢分三个阶段,即在质体中脂肪酸及脂肪酰-CoA的生物合成、在细胞质中生成3-磷酸甘油以及这两种产物在内质网中的脱水缩合(Nikolau et al., 2003; 张垚等, 2007)。

植物质体中,乙酰辅酶A羧化酶(acetyl-CoA carboxylase, ACCase)催化脂肪酸合成前体乙酰辅酶A(acetyl-CoA)形成丙二酸单酰辅酶A(malonyl CoA),丙二酸单酰CoA在脂肪酸合成酶复合体(fatty acid synthase complex, FAS)的作用下每次循环增加2个碳,聚合合成酰基碳链,并与酰基载体蛋白(acyl-carried proteins ACP)结合,保护其在延伸过程中不被其他酶降解;然后酰基-ACP硫酯酶(acyl-ACP thioesterase)终止其聚合反应,形成酰基ACP;最后酰基辅酶A合成酶(acyl-CoA synthetase)作用于不同碳链长度的酰基ACP,生成酰基辅酶A并被贮存于胞质(王彦霞等, 2011)。与此同时,胞质中3-磷酸甘油脱氢酶(glycerol-3-phosphate dehydrogenase, GPDH)催化糖酵解的中间产物磷酸二羟丙酮(dihydroxyacetone phosphate, DHAP)形成3-磷酸甘油(Buchanan et al., 2000)。然后,在内质网上酰基辅酶A通过3-磷酸甘油酰基转移酶(glycerol-3-phosphate acyltransferase, GPAT)、溶血磷脂酸酰基转移酶(lysophosphatidic acid acyl transferase, LPAAT)与二酰甘油转酰酶(diacylglycerol acyl transferase, DGAT)的催化,与3-磷酸甘油缩合,最终形成三酰甘油酯和结构磷脂(Jako et al., 2001)。

4.2 利用基因工程手段调控棉籽油份含量

植物油脂合成涉及多种酶类协同催化作用。油脂合成速率与参与油脂代谢相关基因的表达效率密切相关,提高或调控其中任何基因的表达都可能影响油脂合成速率,这一特点也成为提高棉籽油含量与改良脂肪酸成分的代谢基础。利用基因工程手段,采用的主要技术路线是过量表达或干扰抑制脂肪酸或油脂合成关键酶编码基因或转录因子,以激发或抑制相应酶活性,调节植物中的碳流走向油脂合成途径,从而提高含油量。目前,基于其他油料作物所取得的成果,棉花主要包括以下途径:

(1)调节脂肪酸合成途径关键酶类的活性,如乙酰-CoA羧化酶(acetyl-CoA carboxylase, ACCase)等,影响油脂合成速率(张煜星等, 2009; 刘正杰等, 2011)。异质型ACCase催化乙酰CoA形成丙二酰辅

酶A是棉花中脂肪酸合成途径中的第一个关键步骤,也是限速步骤。将CAC3基因转运肽序列与棉花异质型ACCase亚基accD基因进行体外重组,构建融合植物组成型表达载体pBICACtp-accD,并转化拟南芥与烟草(张煜星等, 2009);克隆陆地棉异质型ACCase四个亚基编码基因,并构建种子特异表达的过量表达载体,转化拟南芥获得抗性植株,经PCR检测均获得转基因阳性植株(刘正杰等, 2011),为利用异质型ACCase编码基因提高油份含量奠定了基础。

(2)过量表达或干扰抑制TAG的组装过程即Kennedy途径中关键酶类编码基因,提高油份含量。研究表明,二酰基甘油酰基转移酶编码基因在油份代谢基因工程中具有重要作用(Bouvier等, 2000; Taylor等, 2009; Zheng等, 2008)。二酰基甘油酰基转移酶(DGAT)是生物体内TAG合成过程中的限速酶,其作用是催化二酰甘油加上脂肪酸酰基形成三酰甘油。

利用酵母中甘油醛-3-磷酸脱氢酶(sn-glycerol-3-phosphate dehydrogenase, G3PDH)编码基因,以油菜为受体,并由种子特异性启动子驱动该酶编码基因过量表达,转基因植株种子油份含量比对照提高了40%(Vigeolas等, 2007)。甘油-3-磷酸酰基转移酶(GPAT)是三酰甘油酯合成途径中的第一个酰基酯化酶,将向日葵或大肠杆菌GPAT基因转化至拟南芥,转基因纯系材料的种子油份含量平均提高15%(Jain等, 2000)。溶血磷脂酸酰基转移酶(LPAAT)参与催化脂肪酸与甘油结合形成三酰甘油酯,Zou等(1997)将酵母sn-2乙酰转移酶基因(SLC1-1)转化至油菜,转基因后代种子中油份含量提高8%~48%;Sylvie等(2010)将油菜LPAAT编码基因导入拟南芥,有效提高了种子油份含量与生物量。

(3)干扰降低磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶(phosphoenolpyruvate carboxylase, PEPCase)表达量,减少蛋白质合成,提高油份含量。在三羧酸循环中,PEPCase是将丙酮酸进入蛋白质合成循环的关键酶。彭苗苗等(2010)从棉花中克隆得到PEPC基因,并将该基因的正反向片段与种子特异表达启动子连接,插入植物表达载体,成功构建种子特异性ihpRNA表达载体。本实验室2008年启动了相关研究,目前已经获得了1个干扰载体转2个受体基因型的棉花阳性植株34株(未发表)。

(4)转录因子调控。部分转录因子调控种子中油分和蛋白质的代谢,影响种子发育。*GmDof4*是大豆中Dof基因家族成员之一,提高乙酰辅酶A羧化酶活性并能引起储藏蛋白基因表达下调。将大豆

*GmDof4*基因转录因子转入拟南芥,能有效提高转基因植株种子含油量并增加千粒重(Wang et al., 2006)。*WRINKLED1(WRI1)*基因直接调控糖酵解和脂肪酸代谢过程,能提高脂肪酸合成相关基因的整体表达水平,提高脂肪酸和油脂含量(Baud et al., 2007)。本实验室克隆了棉花*GhDof1*及*GhWRI1*基因,并成功转化棉花、拟南芥与烟草,转基因后代鉴定正在进行中。

4.3 棉籽油长链脂肪酸组分的遗传改良

植物油中稳定且对人体健康的脂肪酸形式为硬脂酸(C18:0)与油酸(C18:1)。摄入油脂成分影响人体血清胆固醇水平;饮食摄入不同类型的脂肪酸,对血清中高密度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL)形式和低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)形式胆固醇相对水平的影响截然不同(图1)。植物的主要饱和脂肪酸中,肉豆蔻酸(C14:0)及棕榈酸(C16:0)对人体存在不良影响,它们能够导致血清低密度脂蛋白形式胆固醇水平的增加;而硬脂酸(C18:0)与其他饱和脂肪酸不同,它不会增加血清中低密度脂蛋白形式胆固醇水平,至少不会增加人体心血管疾病可能性。植物油中不饱和脂肪酸,包括单不饱和油酸(C18:1)、多不饱和亚油酸(C18:2)及亚麻酸(C18:3)能够降低血清中低密度脂蛋白形式胆固醇水平,从而降低人体心血管疾病发生的可能性。

此外,油脂在烹饪过程中(如油炸)常常伴随氢化作用,即不饱和脂肪酸中碳链双键被打断成为单键的过程。同时,如果多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acids, PUFA)氢化作用不完全,会出现大量反式脂肪酸,反式脂肪酸对人体的危害与棕榈酸一样(Warner et al., 2001)。

棉花脂肪酸重要营养组分硬脂酸(C18:0)与油酸(C18:1)的含量,分别受硬脂酰基转运蛋白基因(*ghSAD-1*)和油酰卵磷脂基因(*ghFAD2-1*)表达量的影响。Liu等(2002)设计上述两个基因的ihpRNA载体,并利用种子特异表达启动子(soybean lectin promoter, Lec-P)驱动其在棉花受体材料Coker 315中表达,转基因后代种子硬脂酸含量与油酸含量分别从原来的占总脂肪酸含量的2%~3%增加到40%,从15%提高至77%。克隆棉花*FAD2-1*基因,构建该基因ihpRNA载体并转化棉花,获得的棉花优质材料中油

酸的含量高达58.5%~68.9% (Liu等, 2005)。赵立群等(2011)首次同时构建棉花*FAD2-1*基因ihpRNA和amiRNA干扰载体,启动棉籽油成分改良研究。

此外,棉籽油中游离棉酚含量必须降低到一定水平才可以食用。利用棉花杜松烯合成酶(δ -cadinene synthase, CS)基因的保守序列,设计该基因的RNA干涉载体,并由种子特异表达启动子(α -globulin B gene promoter)驱动其表达,以棉花Coker 312为受体材料进行转化,在转基因不同株系中检测到棉籽棉酚含量明显降低,满足联合国粮食与农业组织(food and agriculture organization, FAO)和世界卫生组织(world health organization, WHO)食用标准(Ganesan et al., 2006)。

4.4 种子油份的超长链脂肪酸组分改良

利用转基因技术建立棉花自身并不存在的超长链脂肪酸合成、运转及贮藏途径,可有效改良棉籽油品质、大幅度提高棉籽附加值。超长链脂肪酸(very long chain fatty acids, VLCFAs)是生物体中碳原子数目为20个及20个以上的脂肪酸,其中二十碳五烯酸(eicosapentaenoic acid, EPA, 20:5n-3)与二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid, DHA, 22:6n-3)已被证实是最有利于人体健康的脂肪酸成分,目前仅能从海鱼鱼油和海藻油份中获得。由于海鱼鱼油产量低、还可能受到环境污染,而海藻发酵获得长链多不饱和脂肪酸后期加工价格昂贵,因此,研究者开始尝试在含油种子中获取EPA与DHA。主要技术方案是,利用遗传转化在含油种子中构建合成超长链多不饱和脂肪酸途径,并使代谢途径的多个基因同时协调表达,即在油料植物中引入EPA与DHA合成途径(图2)。将等边金藻的C18 Δ 9延伸酶、高山被孢霉的 Δ 5去饱和酶和眼虫的 Δ 8去饱和酶基因转化至拟南芥,检测到3% EPA含量,首次在高等植物中实现超长链不饱和脂肪酸的异源合成(Qi et al., 2004)。将真菌*Saprolegnia diclina*的 Δ 6去饱和酶、高山被孢霉的 Δ 5去饱和酶和 Δ 6延伸酶、*Saprolegnia diclina*的 Δ 17(ω 3)去饱和酶和拟南芥的 Δ 15(ω 3)去饱和酶基因转化至大豆,检测发现种子中EPA含量最高达19.6% (Kinney等, 2004)。之后, Kinney等(2004)将除 Δ 15去饱和酶后的上述四个基因加上盐生巴夫藻的 Δ 5延伸酶和真菌*Schizochytrium aggregatum*的 Δ 4去饱和酶编码基因转入大豆,在大豆中获得了6.1%的EPA和3.1%的DHA。

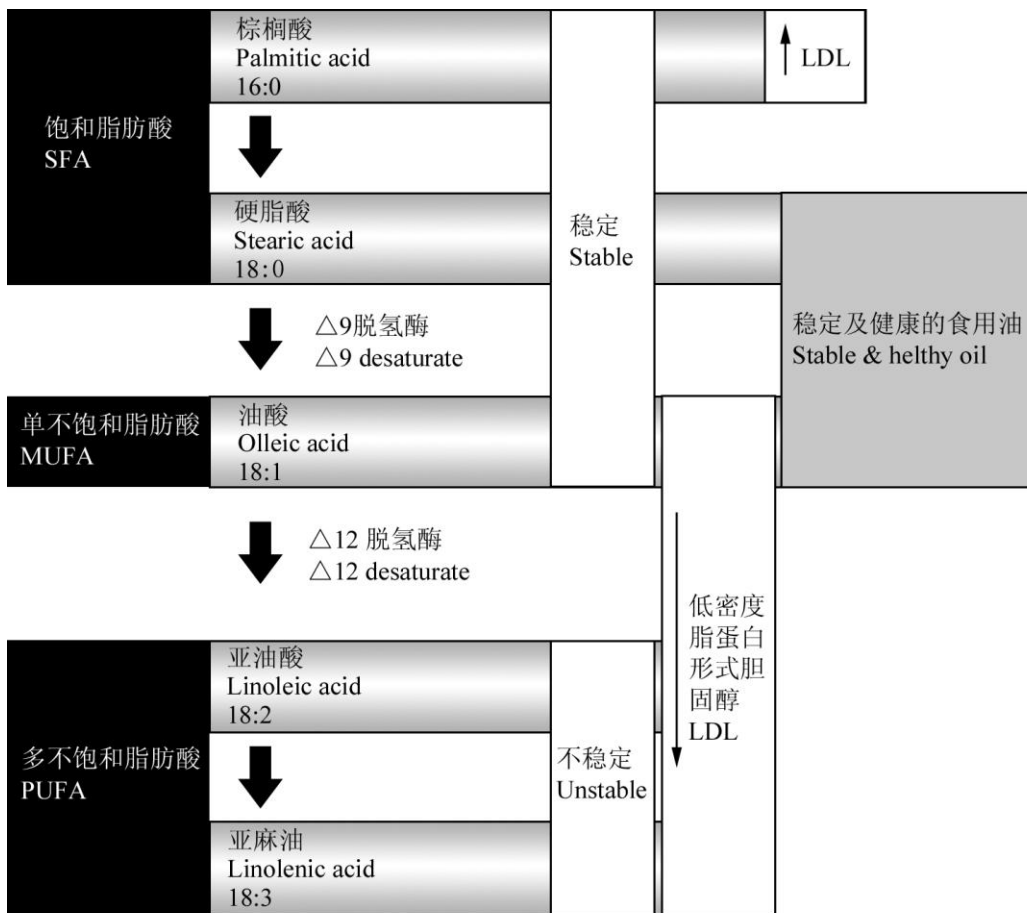


图1 种子油份中主要脂肪酸生物合成途径及其营养功能属性(根据Liu et al., 2001修改)

注: MUFA: 单不饱和脂肪酸; PUFA: 多不饱和脂肪酸; LDL: 低密度脂蛋白

Figure 1 Schematic diagram of biosynthetic pathway for the major fatty acids in oilseeds and the nutritional function attributes (Modified from Liu et al., 2001)

Note: MUFA: Monounsaturated fatty acids; PUFA: Polyunsaturated fatty acids; LDL: Low density lipoprotein

多元载体构建及其转化是保证多个基因代谢途径协调表达的有效技术方案。孙传喜等(2011)用于生产EPA的植物表达载体pCamBAR-5EC, 用农杆菌侵染的方法转化玉米、棉花, 初步获得了PCR检测为阳性的转基因玉米和棉花植株。该载体包括四个脂肪酸去饱和酶基因——高山被孢霉 $\Delta 5$ 去饱和酶基因, 拟南芥 $\Delta 15$ 去饱和酶基因, 马铃薯致病疫霉 $\Delta 17$ 去饱和酶基因, 眼虫藻 $\Delta 8$ 去饱和酶基因以及和一个链延长酶基因球等鞭金藻 $\Delta 9$ 基因。

5 棉籽油遗传改良前瞻

5.1 棉籽油遗传改良应用潜力巨大

借鉴植物种子油份遗传改良在主要油料作物如油菜、花生、大豆等中取得的成果, 开展棉花

油份含量及油份品质遗传改良, 对于提高植棉的综合经济效益, 特别是开辟缓解食用油安全问题的新途径具有极其重要的意义。当前, 我国植物食用油消费量日益增加, 对外依存的比例也逐年提高, 部分油料作物(如大豆)市场已受国外企业的绝对控制, 食用油安全已经上升为事关国家安全战略的新课题(韩俊等, 2010)。我国常年棉籽产量达 1.3×10^6 t左右, 棉籽油含量15%~40%, 按含油量30%计算, 棉籽油年产量可达 3.9×10^4 t(许红霞等, 2009), 按照目前人年均消费10 kg的水平, 以我国当前棉籽油产量, 可解决约4亿人口的食油问题, 可使我国食用植物油进口量减少约40%以上; 棉籽含油量每提高1%, 能增产3.9万吨棉籽油, 可以满足390万人食用油需求。

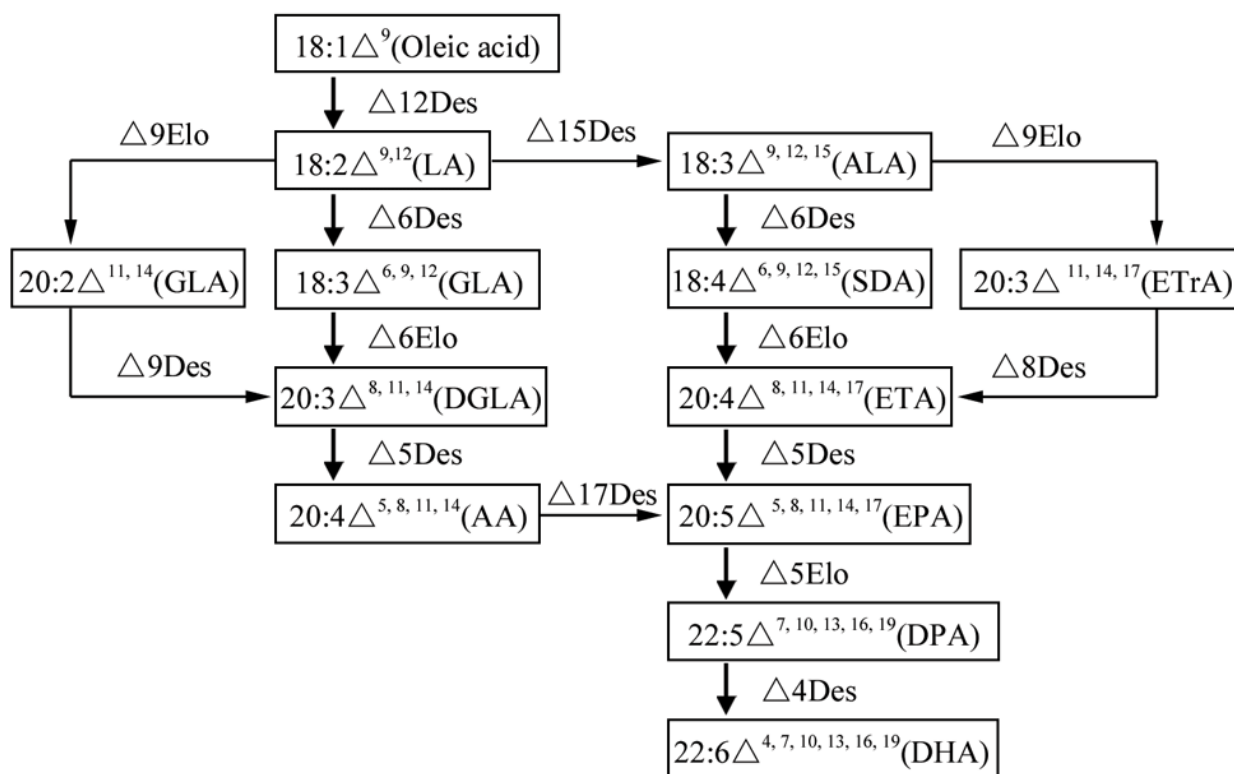


图2 超长链脂肪酸(VLCPUFAs)合成示意图(引自 Qi 等, 2004; 孙传喜等, 2011)

注: Des: 去饱和酶; Elo: 延伸酶; GLA: γ -亚麻酸; ALA: 亚麻酸; DGLA: 二高- γ -亚麻酸; AA: 花生四烯酸; SDA: 十八碳四烯酸; ETrA: 二十碳三烯酸; EDA: 二十碳二烯酸; ETA: 二十碳四烯酸; DPA: 二十二碳五烯酸

Figure 2 Schematic representation of VLCPUFAs biosynthesis (From Qi et al., 2004 and Sun et al., 2011)

Note: Des: Desaturase; Elo: Elongase; GLA: γ -linolenic acid; ALA: Alpha linolenic acid; DGLA: Dihomo- γ -linolenic acid; AA: Arachidonic acid; SDA: Stearidonic acid; ETrA: Eicosatrienoic acid; EDA: Eicosadienoic acid; ETA: Eicosatetraenoic acid; DPA: docosapentaenoic acid

5.2 棉籽油份改良策略选择存在的问题

棉籽油份改良策略选择要关注整个代谢网络的调节。利用基因工程的手段来提高棉籽油含量, 需要深入剖析油脂合成代谢相关分子机制, 鉴定更多的油脂合成相关基因, 特别是关键的调控基因。通常, 技术路线是在棉花中导入影响油脂代谢的外源基因, 或将受体中的内源目标基因过量表达或干涉(张焱等, 2007)。利用转基因技术调节脂肪酸合成关键基因, 已经在不同物种中进行研究, 并使受体植株中的油脂含量或组分发生不同程度的变化。但油脂合成过程极其复杂, 是由质体、内质网及细胞质等细胞结构参与、多个基因的众多酶协同表达作用的结果, 油脂合成代谢过程还受到糖酵解、碳代谢与蛋白质代谢等过程的影响, 因此, 以调控油脂含量或组分的转基因研究可能会遇到困难。例如,

脂肪酸合成酶(fatty acid synthase, FAS)是酰基链延长过程中关联酶类, 将大肠杆菌中该酶编码的*fabH*基因在油菜中过量表达, 转基因后代中的油份含量和组分并没有发生显著变化(Verwoert et al., 1995)。某些研究中, 甚至造成转基因受体植株的油份含量降低(Dehesh et al., 2001)。从而, 依赖于单基因的导入及表达调控, 大幅度提高棉籽油份含量难度很大。

5.3 棉籽油遗传改良的重点方向

多元载体构建及其遗传转化技术的发展与完善(Liu et al., 2003; 别晓敏等, 2010; 孙传喜, 2011), 可以有效地实现新代谢途径建立与新组份的合成。因此, 将油脂合成和调控的多个关键基因构建多元载体, 遗传转化并实现其协同表达, 可充分提高棉籽油份含量, 并实现在高等作物中生产不饱和和长链脂肪酸, 改善种子油份营养品质。

植物中转录因子具备广泛调节下游基因的功能。近年来,以调节与脂肪酸合成相关转录因子表达水平,提高受体材料中油脂含量的研究越来越受重视。目前,应用较多的转录因子编码基因包括 *LEC1 (LEAFY COTYLEDON1)*、*LEC1-LIKE* 以及 *WR11*等,已经在玉米(Shen et al., 2010)和油菜(Tan et al., 2011)等作物中获得良好改良效果。故而,转录因子研究为植物油脂遗传改良开辟了新的路径。

总之,棉籽油份改良工作还有很大空间。长期以来,棉籽只作为棉花的副产品对待;棉籽油份含量遗传及其品质改良研究滞后的局面,随着油脂合成的分子机理研究深入、油脂合成相关基因及其功能鉴定工作推进,将会大有改观。

作者贡献

刘正杰,完成文献检索、论文初稿写作,参与论文修改;郭宝生,参与文献检索、论文初稿写作;张园,参与论文讨论、文字修改;王玉美,参与论文讨论、文字修改;华金平,项目的构思者及负责人,指导论文选题、设计、写作,论文修改定稿。全体作者都阅读并同意最终的文本。

致谢

本研究由国家自然科学基金(30871563)项目、国家重大专项(2009ZX08005-024B)和教育部“新世纪优秀人才支持计划”(NCET-06-0106)共同资助。感谢中国农业大学郭仰东教授、康定明教授、孔谨博士,山东农业大学亓宝秀教授、李新征博士及河北农林科学院耿军义研究员的有益讨论。感谢两位匿名的同行评审人的评审建议和修改建议。

参考文献

- Baud S., Mendoza M.S., To A., Erwana H., Lepiniec L., and Bertrand D., 2007, *WRINKLED1* specifies the regulatory action of *LEAFY COTYLEDON2* towards fatty acid metabolism during seed maturation in *Arabidopsis*, *Plant Journal*, 50(5): 825-838
- Bie X.M., Yu M.Y., Du L.P., Lin Z.S., Yin G.X., Xu H.J., and Ye X.G., 2010, Research progress on multi-gene transformation in plant, *Zhongguo Nongye Keji Daobao (Journal of Agricultural Science and Technology)*, 12(6): 18-23 (别晓敏, 余茂云, 杜丽璞, 林志珊, 殷桂香, 徐惠君, 叶兴国, 2010, 植物多基因转化研究进展, 中国农业科技导报, 12(6):18-23)
- Boghara D.G., 1985, Genetic studies of oil content on upland cotton, *Gujarat Agriculture University Research*, 1985 (2): 1
- Bouvier N.P., Benveniste P., Oelkers P., Sturley S.L., and

- Schaller H., 2000, Expression in yeast and tobacco of plant cDNAs encoding acyl CoA: diacylglycerol acyltransferase, *European Journal of Biochemistry*, 267: 85-96
- Buchanan B.B., Gruissem W., and Jones R.L., 2000, *Biochemistry and molecular biology of plants*, Rockville MD: American Society of Plant Physiology, 457
- Dehesh K., Tai H., Edwards P., Byrne J., and Jaworski J.G., 2001, Overexpression of 3-ketoacyl-acyl-carrier protein synthase IIIs in plants reduces the rate of lipid synthesis, *Plant Physiology*, 125: 1103-1114
- Ganesan S., Leanne M.C., Lorraine P., Robert D.S., and Keerti S.R., 2006, Engineering cottonseed for use in human nutrition by tissue-specific reduction of toxic gossypol, *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 103: 18054-18059
- Han J., Xie Y., and Zhang Y.H., 2010, Chinese oil supply and demand: status, future and strategies, *Zhongguo Fazhan Pinglun (China Development Review)*, 12(1): 38-44 (韩俊, 谢扬, 张云华, 2010, 中国油料供求现状与前景与对策, 中国发展评论, 12(1): 38-44)
- Jain R.K., Coffey M., Lai K., Kumar A., and MacKenzie S.L., 2000, Enhancement of seed oil content by expression of glycerol-3-phosphate acyltransferase genes, *Biochemical Society Transactions*, 28: 958-961
- Jako C., Kumar A., Wei Y., Zou J., Barton D.L., and Giblin E.M., 2001, Seed-specific over-expression of an *Arabidopsis* cDNA encoding a diacylglycerol acyltransferase enhances seed oil content and seed weight, *Plant Physiology*, 126: 861-874
- Ji D.F., and Zhu J., 1988, Genetic analysis of oil and amino acid content in shelled seed of upland cotton hybrids, *Zuowu Xuebao (Acta Agronomica Sinica)*, 14(1): 1-6 (季道藩, 朱军, 1988, 陆地棉品种间杂种的种仁油分和氨基酸成分的遗传分析, 作物学报, 14(1): 1-6)
- Kashalkar P.D., Weginwar D.G., and Dani R.G., 1988, Variability of oil and lint trait and effects of harvest in upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.), *Indian Journal of Agricultural Science*, 58(7): 554-555
- Kinney A.J., Cehoon E.B., Damude H.G., Hiltz W.D., Kolar C.W., and Liu Z.B., 2004, Production of very long chain polyunsaturated fatty acids in oilseed plants, *World Patent*, W020040172682
- Liu D.J., Zhang J., Zhang K., Wang W., and Zhang Z.S., 2010,

- Mapping of seed physical traits in upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.), *Zuowu Xuebao* (*Acta Agronomica Sinica*), 36(1): 53-60 (刘大军, 张建, 张轲, 王威, 张正圣, 2010, 陆地棉种子物理性状QTL定位, *作物学报*, 36(1): 53-60)
- Liu D.Q., Pang J.Q., Ge F.Z., Li Q.Z., Ma C.L., and Zhao J.H., 1995, Analysis of discrepancy on protein and fat content of different genotypes of cotton at different place, *Jiangxi Mianhua* (*Jiangxi Cotton*), 4: 11-12 (刘冬青, 庞居勤, 葛逢珠, 李庆珍, 马春兰, 赵金辉, 1995, 棉花不同品种棉籽仁粗蛋白粗脂肪含量在不同地点差异的分析, *江西棉花*, 4: 11-12)
- Liu L., Liu Y.G., Xu X.P., and Li B.J., 2003, Efficient linking and transfer of multiple genes by a multigene assembly and transformation vector system. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 100: 5962-5967.
- Liu Q., Singh S.P., and Green A.G., 2002, High-oleic and high-stearic cottonseed oils: nutritionally improved cooking oils developed using gene silencing, *Journal of the American College of Nutrition*, 3: 205-211
- Liu Q., Singh S.P. and Green A.G., 2005, Method of modifying the content of cottonseed oil, United States Patent, US006974898A
- Liu Z.J., Zhang Y., Wang Y.X., Li P.B., SU Y., Zhang X., Wang Y.M., and Hua J.P., 2011, Construction of seed specific expression vectors and genetic transformation for genes of heteromeric ACCase in upland cotton, *Fenzi Zhiwu Yuzhong* (*Molecular Plant Breeding*), 9(3): 270-277 (刘正杰, 张园, 王彦霞, 李朋波, 苏莹, 张曦, 王玉美, 华金平, 2011, 陆地棉异质型ACCase基因的种子特异表达载体构建与遗传转化, *分子植物育种*, 9(3): 270-277)
- Nikolau B.J., Ohlroge J.B., and Wurtele E.S., 2003, Plant biotin-containing carboxylases, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 414: 211-222
- Peng M.M., Yu J.W., Zhai H.H., Huang S.L., Li X.L., Zhang H.W. and Yu S.X., 2010, Construction and Identification of a Seed-specific Expression ihpRNA Vector Targeting the PE PC Gene of Cotton, *Jiyin Zuxue Yu Ying yong Shengwuxue* (*Genomics and Applied Biology*), 29(2): 233-238 (彭苗苗, 于霁雯, 翟红红, 黄双领, 李兴丽, 张红卫, 喻树迅, 2010, 棉花PEPC基因种子特异性ihpRNA表达载体的构建及鉴定, *基因组学与应用生物学*, 29(2): 233-238)
- Qin L., Shen X.J., Chen J.H., Xu H.M., and Zhu S.J., 2009, Analysis of genetic effect and correlation for seed quality traits in transgenic *Bt* insect-resistant cotton, *Mianhua Xuebao* (*Cotton Science*), 21(6): 442-447 (秦利, 沈晓佳, 陈进红, 徐海明, 祝水金, 2009, 转基因抗虫棉种子品质性状的遗传效应及相关性分析, *棉花学报*, 21(6): 442-447)
- Savanam C.S., and Bhaskara R.V., 2011, Cottonseed oil as health oil, *Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science*, 34(1): 17-24
- Shen B., Allen W.B., Zheng P., Li C., Glassman K., Ranch J., Nubel D., and Tarczynski MC., 2010, Expression of ZmLEC1 and ZmWRI1 increases seed oil production in maize, *Plant Physiology*, 153: 980-987
- Singh M., Singh T.H., and Chahal G.S., 1985, Genetic analysis of some seed characters in upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.), *Theoretical and Applied Genetics*, 71: 126-128
- Song J.Q., Sun P.J., Zhang X., Zhang X.L., Nie Y.C., Guo X.P., and Zhu L.F., 2010, Screening of cotton materials with high content of seed oil and development of seed fatty acid, *Mianhua Xuebao* (*Cotton Science*), 22(4): 291-296 (宋俊乔, 孙培均, 张霞, 张献龙, 聂以春, 郭小平, 朱龙付, 2010, 棉仁高油分材料筛选及其脂肪酸发育分析, *棉花学报*, 22(4): 291-296)
- Song X.L., and Zhang T.Z., 2007, Identification of quantitative traits loci controlling seed physical and nutrient traits in cotton, *Seed Science Research*, 17: 243-251
- Sun S.K., Chen J.H., Xiang S.K., and Wei S.J., 1987, Study on the nutritional quality of cotton seeds, *Zhongguo Nongye Kexue* (*Scientia Agricultura Sinica*), 20(50): 12-16 (孙善康, 陈建华, 项时康, 魏守军, 1987, 棉花种子营养品质研究, *中国农业科学*, 20(50): 12-16)
- Sun C.X., 2011, Cloning and characterization of genes involved in the biosynthesis of very long chain polyunsaturated fatty acids and the reconstitution of this pathway in crop plants, Thesis for Ph.D., Shandong Agriculture University, Supervisor: Qi B.X., pp.86-92 (孙全喜, 2011, 超长链多不饱和脂肪酸合成相关酶基因的克隆与鉴定及其在作物中的异源合成, 博士学位论文, 山东农业大学, 导师: 亓宝秀, pp.86-92)
- Sylvie M., Jean J.B., Rene L., Michel D., and Thomas J.R.,

- 2010, Expression of rapeseed microsomal lysophosphatidic acid acyltransferase isozymes enhances seed oil content in *Arabidopsis*, *Plant Physiology*, 152: 670-684
- Tan H.L., Yang X.H., Zhang F.X., Zheng X., Qu C.M., Mu J.Y., Fu F.Y., Li J.N., Guan R.Z., Zhang H.S., Wang G.D., and Zuo J.R., 2011, Enhanced seed oil production in canola by conditional expression of *Brassica napus* LEAFY COTYLEDON1 and LEC1-LIKE in developing seeds, *Plant Physiology*, 156: 1577-1588
- Taylor D.C., Zhang Y., Kumar A., Francis T., Giblin E.M., and Barton D.L., 2009, Molecular modification of triacylglycerol accumulation by over-expression of *DGAT1* to produce canola with increased seed oil content under field conditions, *Botany*, 87: 533-543
- Turner J.H., Ramcy H.H., and Worley S., 1976, Relationship of field, seed quality and fiber properties in upland cotton, *Crop Science*, 16: 578-580
- Verwoert I.I., Linden K.H.V., Walsh M.C., Nijkamp H.J., and Stuitje A.R., 1995, Modification of *Brassica napus* seed oil by expression of the *Escherichia coli fabH* gene, encoding 3-ketoacyl-acyl carrier protein synthase III, *Plant Molecular Biology*, 27: 875-886
- Vigeolas H., Waldeck P., Zank T., and Peter G., 2007, 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, *Plant Biotechnology Journal*, 5: 431-441
- Wang G.Y., and Li M.E., 1991, Genetic study of cottonseed quality traits, *Huabei Nongxue Bao (Acta Agriculture Boreali-Sinica)*, 6(2): 20-25 (王国印, 李蒙恩, 1991, 棉子品质性状的遗传研究, *华北农学报*, 6(2): 20-25)
- Wang H.W., Zhang B., Hao Y.J., Hao Y.J., Huang J., Tian A.G., Liao Y., Zhang J.S., and Chen S.W., 2007, The soybean Dof-type transcription factor genes, *GmDof4* and *GmDof11*, enhance lipid content in the seeds of transgenic *Arabidopsis* plants. *Plant Journal*, 52(4): 716-729
- Wang Y.X., Liu Z.J., Ma Z.Y., Li Z.H., and Hua J.P., 2011, RNA interference and genetic improvement for high content of cottonseed oil, *Mianhua Xuebao (Cotton Science)*, 23(2): 178-183 (王彦霞, 刘正杰, 马峙英, 李召虎, 华金平, 2011, RNA干涉技术与棉花高油育种, *棉花学报*, 23(2): 178-183)
- Warner K., Neff W.E., Byrdwell W.C., and Gardner H.W., 2001, Effect of oleic and linoleic acids on the production of deep-fried odor in heated triolein and triolinolein, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 899-905
- Wu J.X., Zhu J., and Xu F.H., 1995, Genetic analysis for heterosis of fiber traits in upland cotton, *Mianhua Xuebao (Cotton Science)*, 7(4):217-222 (吴吉祥, 朱军, 许馥华, 1995, 陆地棉F2纤维品质性状杂种优势的遗传分析, *棉花学报*, 7(4): 217-222)
- Xu H.X., Yang W.H., Wang Y.Q., Zhou D.Y., Kuang M., and Feng X.A., 2009, Quality analysis of cottonseed oil in China, *Zhongguo Mianhua (China Cotton)*, 36(7): 2-3 (许红霞, 杨伟华, 王延琴, 周大云, 匡猛, 冯新爱, 2009, 我国油用棉子质量状况分析, *中国棉花*, 36(7): 2-3)
- Xu P., Guo T.T., Zhang X.G., Ni W.C., and Shen X.L., 2010, QTL mapping of seed oil content in upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.), http://d.g.wanfangdata.com.cn/Conference_7306053.aspx, pp.120-124 (徐鹏, 郭婷婷, 张香桂, 倪万潮, 沈新莲, 2010, 陆地棉棉子油分含量 QTL 的定位, *中国棉花学会2010年年会论文汇编*, pp.120-124)
- Yan J.Q., and Yan X.L., 2000, Study on fat and protein of cotton seeds in Xinjiang, *Xinjiang Nongye Kexue (Xinjiang Agricultural Science)*, 3: 106-109 (闫建庆, 严秀莉, 2000, 新疆陆地棉棉子粗脂肪和粗蛋白的研究, *新疆农业科学*, 3: 106-109)
- Ye Z.H., Lu Z.Z., and Zhu J., 2003, Genetic analysis for developmental behavior of some seed quality traits in Upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.), *Euphytica*, 129: 183-191
- Zhang H., and Meng Y.B., 2007, Mass production of bio-diesel from cottonseed oil via transesterification, *Chemical industry and engineering progress*, 26(1): 86-89 (张欢, 孟永彪, 2007, 用棉籽油制备生物柴油, *化工进展*, 26(1): 86-89)
- Zhang Y., Li Y.C., Mei D.S., and Hu Q., 2007, Advances in lipid research of rapeseed, *Zhiwuxue Tongbao (Chinese bulletin of botany)*, 24(4): 435-443 (张焱, 李云昌, 梅德圣, 胡琼, 2007, 油菜油脂研究进展, *植物学通报*, 24(4): 435-443)
- Zhang Y.X., Cui Y., Zhu J.B., and Zhou P., 2009, Construction of plant expression vector on accd gene from *Gossypium hirsutum* and its genetic transformation, *Zhongguo Nongxue Tongbao (Chinese Agricultural Science Bulletin)*,

- 25(18): 36-40 (张煜星, 崔燕, 祝建波, 周鹏, 2009, 棉花accD基因植物表达载体的构建与遗传转化的研究, 中国农学通报, 25(18): 36-40)
- Zhao L.Q., Li R., Li W., Tan X.L., Yang Y.M., Hua J.P., and Guo Y.D., 2011, Cloning of Delta-12 oleate desaturase gene *FAD2-1* and construction of its ihpRNA and amiRNA interference vectors from *Gossypium hirsutum*, *Mianhua Xuebao (Cotton Science)*, 23(2): 189-cover No. 3 (赵立群, 李仁, 李蔚, 谭小力, 杨佑明, 华金平, 郭仰东, 2011, 棉花FAD2-1基因的克隆及其ihpRNA和amiRNA干扰载体的构建, 棉花学报, 23(2): 189-封三)
- Zheng P., Allen W.B., Roesler K., Williams M.E., Zhang S., Li J., Glassman K., Ranch J., Nubel D., Solawetz W., Bhatramakki D., Llaca V., Deschamps S., Zhong G., Tarczynski M.C., and Shen B., 2008, A phenylalanine in DGAT is a key determinant of oil content and composition in maize, *Natural Genetics*, 2008, 40: 367-72
- Zhu Q.H., Xu F.H., and Yu B.X., 1995, Genetic analysis of heterosis for cottonseed quality traits in glandless cotton, *Zhengjiang Nongye Xuebao (Acta Agriculturae Zhejiangensis)*, 7(4): 274-278 (朱乾浩, 许馥华, 俞碧霞, 1995, 低酚棉品种间杂种棉籽品质性状的杂种优势及其遗传分析, 浙江农业学报, 7(4): 274-278)
- Zhou Y.Y., 1993, Relation between nutritional quality of cotton seeds and fiber quality in upland cotton, *Zhongguo Mianhua (China Cotton)*, 20(2): 13-14 (周有耀, 1993, 棉子营养品质与纤维品质的关系, 中国棉花, 20(2):13-14)
- Zou J., Katavic V., Giblin E.M., Barton D.L., MacKenzie S.L., Keller W.A., Hu X., and Taylor D.C., 1997, Modification of seed oil content and acyl composition in *Brassicaceae* by expression of a yeast sn-2 acyltransferase gene, *Plant Cell*, 9: 909-923



5thPublisher是一个致力于科学与文化传播的中文出版平台

在5thPublisher上发表论文, 任何人都可以免费在线取阅您的论文

- ※同行评审, 论文接受严格的高质量的评审
- ※在线发表, 论文一经接受, 即刻在线发表
- ※开放取阅, 任何人都可免费取阅无限使用
- ※快捷搜索, 涵盖谷歌学术搜索与知名数据库
- ※论文版权, 作者拥有版权读者自动授权使用

在线投稿: <http://5th.sophiapublisher.com>