

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201512001

田恩堂, 李鲁峰, 贾世燕, 等. 芥菜型油菜脂肪酸含量的变异、相关性分析及芥酸调控基因 *FAE1* 特异引物设计 [J]. 广西植物, 2016, 36(12): 1445-1452

TIAN ET, LI LF, JIA SY, et al. Variation of fatty acids of *Brassica juncea* germplasm, correlation analysis and design of specific primer of *FAE1* gene for the control of erucic acid [J]. Guihaia, 2016, 36(12):1445-1452

# 芥菜型油菜脂肪酸含量的变异、相关性分析及芥酸调控基因 *FAE1* 特异引物设计

田恩堂<sup>1\*</sup>, 李鲁峰<sup>2</sup>, 贾世燕<sup>3</sup>, 林树春<sup>1</sup>

(1. 贵州大学 油料作物研究所, 贵阳 550025; 2. 杭州市萧山区农业科学技术研究所, 杭州 311200; 3. 杭州市萧山区种子管理站, 杭州 311200)

**摘要:** 芥菜型油菜是我国芸苔属的三大油料作物之一, 具有耐旱、抗病虫等优良特性; 而我国是芥菜型油菜的重要起源中心, 具有丰富的种质资源。该研究从全国各地搜集了 34 份芥菜型油菜, 在贵阳环境条件下种植, 其脂肪酸含量(芥酸、油酸、硬脂酸、亚麻酸和亚油酸)表现出丰富的变异, 并呈正态分布。结果表明: 这些芥菜型油菜种质资源的不同脂肪酸含量间的相关性发现, 芥酸和油酸间呈极显著负相关, 亚麻酸和硬脂酸呈极显著的正相关, 亚麻酸和亚油酸呈现负相关。利用这些材料的脂肪酸含量进行主成分分析, 发现绝大部分材料(30 份, 占 88.2%)集中在二维图的特定区域, 只有少数其它材料散落在图中其它区域, 他们分别是 SL63、棱角油菜、T6342 和长阳黄芥, 这些变异较大的材料在芥菜型油菜的育种中可以发挥特殊作用。此外, 运用来自甘蓝型油菜和甘蓝的芥酸调控基因 *FAE1* 的已知序列, 并设计了 *FAE1* 特异引物, 而引物在全部 34 份芥菜型油菜种质资源中均表现出了较好的扩增效果。因此证实芥菜型油菜中至少含有一个 *FAE1* 拷贝。该研究结果对于芥菜型油菜育种在我国的开展及其未来的分子育种具有重要的指导意义。

**关键词:** 芥菜型油菜, 脂肪酸, 引物设计, *FAE1*, 基因扩增

**中图分类号:** Q943 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2016)12-1445-08

## Variation of fatty acids of *Brassica juncea* germplasm, correlation analysis and design of specific primer of *FAE1* gene for the control of erucic acid

TIAN En-Tang<sup>1\*</sup>, LI Lu-Feng<sup>2</sup>, JIA Shi-Yan<sup>3</sup>, LIN Shu-Chun<sup>1</sup>

(1. Oil Crops Research Institute of Guizhou University, Guizhou University, Guiyang 550025, China; 2. Agricultural Science and Technology Institute of Xiaoshan District of Hangzhou City, Hangzhou 311200, China; 3. Seed Control station of Xiaoshan District of Hangzhou City, Hangzhou 311200, China)

**Abstract:** *Brassica juncea* (AABB, 2n=36) is one of the 3rd Brassica oil rape (the other two oil rapes are: *B. rapa* and *B. napus*) in China, the species has many desirable traits, such as strong drought resistance and strong resistance to dis-

收稿日期: 2015-12-01 修回日期: 2016-05-04

**基金项目:** 国家自然科学基金(31560422); 贵州省科学技术基金(黔科合 J 字 [2015]2052 号); 国家教育部留学回国人员科研启动基金(教外司留 [2015]1098 号); 贵州大学博士人才引进基金(贵大人基合字 [2014]14 号); 贵州省作物学省级重点学科建设计划项目(黔学位合字 ZDXK [2014]8 号) [Supported by the National Natural Science Foundation of China (31560422); Science and Technology Foundation of Guizhou Province of China ([2015]2052); Scientific Research Foundation for Returned Scholars, Ministry of Education of China ([2015]1098); Talent Introducing Foundation of Guizhou University ([2014]14); the Plan of Agronomy Priority Major Construction of Guizhou Province of China ([2014]8)].

**作者简介:** 田恩堂(1979-), 男, 山东潍坊人, 博士, 副教授, 主要从事油菜分子育种工作, (E-mail) erictian121@163.com。

\* 通讯作者

ease and pest. As the important origin of *B. juncea* worldwide, China has rich valuable germplasm resources. In this study, we collected 34 *B. juncea* accessions from all over China, and planted all these accessions with three randomized replications in Guiyang environment. The fatty acids, including erucic acid, oleic acid, linolenic acid, linoleic acid and stearic acid, was detected by NIR method in this study. All the detected fatty acids showed quantitative and normal distribution in Guiyang environment. Furthermore, we analyzed the correlations among the five above detected fatty acids, the erucic acid and oleic acid are significantly negatively correlated, the linolenic acid and stearic acid are significantly negative correlated, the linolenic acid and linoleic acid are negative correlated. To classify the 34 accessions for better utilization in *B. juncea* breeding, the principal component analysis (PCA) was used and the results indicated that most of the 34 accessions (30 accessions, about 88.2%) located on one same area, only several other accessions, that was SL63, Lengjiao YC, T6342 and Changyanghuangjie, located on the separate areas. These scattered accessions had special values in *B. juncea* breeding for their very different traits when compared with the other accessions. Besides, we BLAST two *FAE1* gene sequences in NCBI website from *B. napus* (AACCC, 2n=38) and *B. oleracea* (CC, 2n=18), respectively, which were further used for designing specific primer for *FAE1* gene, responsible for the regulation of erucic acid in Brassica species. The primer showed a good amplification in the all the 34 *B. juncea* accessions. So, this study proves that the *B. juncea* genome contains at least one *FAE1* copy. In conclusion, the study detected the fatty acid content of 34 *B. juncea* accessions in Guiyang environment and also provides the useful *FAE1* primer for the future gene clone in *B. juncea*, all of which are valuable in the future *B. juncea* molecular breeding of China.

**Key words:** *Brassica juncea*, fatty acids, primer design, *FAE1*, gene amplification

甘蓝型油菜 (*Brassica napus*, AACCC, 2n=38)、芥菜型油菜 (*B. juncea*, AABB, 2n=36) 和白菜型油菜 (*B. rapa*, AA, 2n=20) 是我国芸苔属的三大油料作物(何余堂等, 2002)。耐旱、耐贫瘠、黄籽、抗病虫、可做调料和蔬菜等独特品性是芥菜型油菜的重要特征。我国是芥菜型油菜的重要起源中心, 具有丰富的种质资源。加强芥菜型油菜的理论和应用研究有利于抗性基因资源在甘蓝型油菜和白菜型油菜中的应用, 及促进山地农业的发展和保障我国油料安全。芥菜型油菜在我国西南地区广泛种植, 如贵州、四川、云南, 因部分基因型表现出独特的口味, 可以作为蔬菜食用, 也可作为调料用芥末。脂肪酸是芥菜型油菜重要的品质性状, 包括芥酸、硬脂酸、油酸、亚油酸和亚麻酸等。其中, 芥酸是油料作物重要的有害脂肪酸, 大量饮食对心肌纤维、发育、生殖力等都有危害(张书芬等, 2008)。我国规定甘蓝型油菜新品种的芥酸含量  $\leq 3\%$  (李培武等, 2003)。而芥菜型油菜由于低芥酸种质资源的匮乏, 导致低芥酸芥菜型油菜品种还没有出现。硬脂酸是饱和脂肪酸, 长期食用可降低体内胆固醇含量(刘立侠等, 2005)。油酸是单不饱和脂肪酸, 具有降低胆固醇、降血糖, 降酯密度等的作用(张宏军等, 2008)。此外, 亚麻酸和亚油酸属于多不饱和脂肪酸, 具有抗血栓、降血压、抗老化等功效, 但如果含量过高会导致食用油易氧化而缩短货架期(Tian et al, 2014)。因

此, 加强脂肪酸的研究对于指导芥菜型油菜的育种, 增强人们的身体健康具有重要的意义。

油菜种质资源脂肪酸含量的变异及不同含量之间的相关性分析在甘蓝型油菜中开展较多(高志宏等, 2013; 黄桃翠, 2014; 刘念等, 2014; 王健胜和侯桂玲, 2015; 王健胜等, 2015)。蔡东芳(2013)搜集 192 份甘蓝型油菜品种和自交系的自然群体, 分析不同材料的脂肪酸变异, 对不同脂肪酸间的相关性及主成分进行了分析, 同时还获得了与这些品质性状紧密连锁的 SSR 和 AFLP 标记。陈碧云(2014)对 488 份从全球搜集的甘蓝型油菜的种质资源进行了脂肪酸含量变异和农艺性状的评价, 从中发现了许多优良的育种材料, 同时获得了与部分重要农艺和品质性状相关联的 SNP 标记。林宝刚等(2010)对 117 份国外甘蓝型油菜种质资源的脂肪酸含量进行了聚类分析, 并研究了它们之间的遗传亲缘关系, 通过分析获得了大量优异育种材料。相对而言, 芥菜型油菜中脂肪酸含量的相关研究较少。

*FAE1* 基因是调控长链脂肪酸芥酸合成的基因, 其最早是在拟南芥的突变体中被发现和鉴定出来的(James & Dooner, 1990; Lemieux et al, 1990)。在甘蓝型油菜中, Fourmann et al (1998) 根据拟南芥中 *FAE1* 的基因序列设计了兼并引物, 并对此基因进行扩增和测序, 共获得了 2 个 *FAE1* 基因拷贝, 分别是 BN-*FAE1*.1 和 BN-*FAE1*.2。Barret et al (1998)

表 1 参试材料编号、名称及来源

Table 1 Serial numbers, accession names and origins of the *B. juncea* resources

编号 Code	品种名称 Accession name	来源地 Origin	编号 Code	品种名称 Accession name	来源地 Origin
1	贵定苦油菜 Guidingku YC	贵州 Guizhou	18	平陆黄芥 Pinglu huangjie	陕西 Shaanxi
2	贵州苦油菜 Guizhouku YC	贵州 Guizhou	19	SL63	四川 Sichuan
3	黄平苦油菜 Huangpingku YC	贵州 Guizhou	20	川 163 Chuan 163	四川 Sichuan
4	龙里苦油菜 Longliku YC	贵州 Guizhou	21	简阳油菜 Jianyang YC	四川 Sichuan
5	石阡苦油菜 Shiqianku YC	贵州 Guizhou	22	棱角油菜 Lengjiao YC	四川 Sichuan
6	遵义牛耳朵 Zunyi niuerduo	贵州 Guizhou	23	神农油菜 Shennong YC	四川 Sichuan
7	原阳苦菜 Yuanyang kucai	河南 Henan	24	余丰榨菜 Yufeng zhancai	四川 Sichuan
8	T6342	湖北 Hubei	25	马尾油菜 Mawei YC	西藏 Xizang
9	沮水小菜籽 Jushui xiaocaizi	湖北 Hubei	26	富源油菜 Fuyuan YC	云南 Yunnan
10	长阳黄芥 Changyang huangjie	湖北 Hubei	27	花叶苦菜 Huaye kucai	云南 Yunnan
11	长阳黄芥 Changyang huangjie	湖北 Hubei	28	昆明高脚 Kunming gaojiao	云南 Yunnan
12	黔阳苦油菜 Qianyangku YC	湖南 Hunan	29	昆明高棵 Kunming gaoke	云南 Yunnan
13	石门油菜 Shimeng YC	湖南 Hunan	30	昆阳油菜 Kunyang YC	云南 Yunnan
14	溧阳苦菜 Liyang kucai	江苏 Jiangsu	31	南充油菜 Nanchong YC	云南 Yunnan
15	波阳苦油菜 Boyangku YC	江西 Jiangxi	32	黔江马尾油菜 Qianjiang mawei YC	重庆 Chongqing
16	乌室油菜 Wushi YC	内蒙古 Inner Mongolia	33	铜梁黄芩油菜 Tongliang huanglin YC	重庆 Chongqing
17	汉中高油菜 Hanzhonggao YC	陕西 Shaanxi	34	铜梁油菜 Tongliang YC	重庆 Chongqing

也在甘蓝型油菜中扩增出了芥酸调控基因 *FAE1* 的 2 个拷贝: CE7 (1 647 bp, 编码 506 个氨基酸) 和 CE8 (1 654 bp, 编码 505 个氨基酸), 同时还进一步证实了其是甘蓝型油菜中芥酸的调控基因。Das et al (2002) 在白菜 (*B. campestris*, AA, 2n=20) 和甘蓝 (*B. oleracea* CC, 2n=18) 中分别克隆一个调控芥酸的 *FAE1* 基因拷贝, 同时发现这两个拷贝与甘蓝型油菜中克隆的 *FAE1* 基因有 98% 的序列相似性。此外, 我们还需要关注芥菜型油菜中不同脂肪酸之间的相关性, 如在甘蓝型油菜中芥酸和油酸呈负相关 (周永明和刘后利, 1987), 从而指导芥菜型油菜的育种工作。脂肪酸调控机理研究及其生物合成途径解析, 对于从分子水平上指导芥菜型油菜的分子育种和充分挖掘利用其潜在的商业价值, 保障人们的身体健康具有重要的意义。

本研究选用 34 份来自全国各地的芥菜型油菜种质资源, 在贵阳环境条件下种植并测定它们的脂肪酸含量, 同时对不同脂肪酸间的相关性进行分析, 此外还对调控芥酸含量的基因进行了初步扩增。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

本研究选用的 34 份芥菜型油菜种质资源分别来自贵州 (6 份)、四川 (6 份)、云南 (6 份)、湖北 (4 份)、重庆 (3 份)、湖南 (2 份)、陕西 (2 份)、河南 (1 份)、江苏 (1 份)、江西 (1 份)、内蒙古 (1 份)、西藏 (1 份) (表 1), 并且具有丰富的表型变异和品质性状变异。我们于 2014 年 10 月份将这 34 份芥菜型油菜种质资源种植于贵州大学农场, 每份材料播种 2 行, 每个材料于开花期随机选取 3 个单株套袋自交并收取自交种子。

### 1.2 方法

每份芥菜型油菜取 3 g 饱满的种子, 利用近红外方法测定其种子的脂肪酸含量。每份材料重复测定 2 次, 并取其均值作为该材料最终分析用数据。脂肪酸含量以 % 表示。

在苗期, 采集全部材料的幼嫩叶片提取 DNA

(Somers et al,1998)。根据美国国立生物技术信息中心 (NCBI, National Center for Biotechnology Information, 网址为 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 的基因序列信息, 分别搜索到芥酸调控的关键基因“*FAE1*”的关联序列, 然后利用引物设计软件 Primer Premier 6 设计其特异引物, 并在全部 34 份研究材料中进行了 PCR 扩增。PCR 产物在 2% 的琼脂糖胶上检测并照相。

### 1.3 统计分析

所得的数据利用 SPSS 20 软件进行分析, 包括描述性统计、正态分布图、相关性分析等。

## 2 结果与分析

### 2.1 群体性状变异

来自贵阳以外的 34 份芥菜型油菜种质资源群体在贵阳环境条件下的重要脂肪酸: 芥酸、油酸、硬脂酸、亚油酸和亚麻酸含量变异丰富, 均呈现正态分布 (图版 I)。从图版 I 可以看出, 此群体材料的芥酸含量均值为 52.5%, 变异系数为 6.3%; 油酸含量均值为 12.4%, 变异系数为 27.1%; 硬脂酸含量均值为 0.1%, 变异系数为 175.6%; 亚油酸含量均值为 16.0%, 变异系数为 8.7%; 亚麻酸含量均值为 9.2%, 变异系数为 2.7%。

从表 2 可以看出, 芥酸含量在 44%~48% 间的材料有 3 份, 占全部材料的 8.8%; 芥酸含量在 48%~52% 间的材料有 9 份, 占全部材料的 26.5%; 芥酸含量在 52%~56% 间的材料有 18 份, 占全部材料的 52.9%; 芥酸含量在 56%~60% 间的材料有 4 份, 占全部材料的 11.8%。硬脂酸含量在 0.0%~0.2% 间的材料有 21 份, 占全部材料的 61.8%; 硬脂酸含量在 0.2%~0.4% 间的材料有 8 份, 占全部材料的 23.5%; 硬脂酸含量大于 0.4% 的材料有 4 份, 占全部材料的 11.8%。亚油酸含量在 13%~15% 间的材料有 10 份, 占全部材料的 29.4%; 亚油酸含量在 15%~17% 间的材料有 16 份, 占全部材料的 47.1%; 亚油酸含量大于 17% 的材料有 8 份, 占全部材料的 23.5%。油酸含量在 6%~10% 间的材料有 8 份, 占全部材料的 23.5%; 油酸含量在 10%~14% 间的材料有 15 份, 占全部材料的 44.1%; 油酸含量在 14%~18% 间的材料有 8 份, 占全部材料的 23.5%; 油酸含量大于 18% 的材料有 3 份, 占全部材料的 8.8%。亚麻酸含量在 8.4%~8.7% 间的材料有 1 份,

表 2 贵阳环境条件下芥菜资源材料脂肪酸含量变异情况统计表

Table 2 Conclusions of variations of the detected fatty acids in Guiyang

脂肪酸 Fatty acid	范围 Range (%)	份数 No.	比率 Ratio (%)
芥酸 Erucic acid	44~48	3	8.8
	48~52	9	26.5
	52~56	18	52.9
	56~60	4	11.8
油酸 Oleic acid	6~10	8	23.5
	10~14	15	44.1
	14~18	8	23.5
	>18	3	8.8
硬脂酸 Stearic acid	0.0~0.2	21	61.8
	0.2~0.4	8	23.5
	>0.4	4	11.8
亚油酸 Linoleic acid	13~15	10	29.4
	15~17	16	47.1
	>17	8	23.5
	13~15	10	29.4
亚麻酸 Linolenic acid	8.4~8.7	1	2.9
	8.7~9.0	5	14.7
	9.0~9.3	14	41.2
	>9.3	14	41.2

表 3 脂肪酸间 Pearson 相关性分析

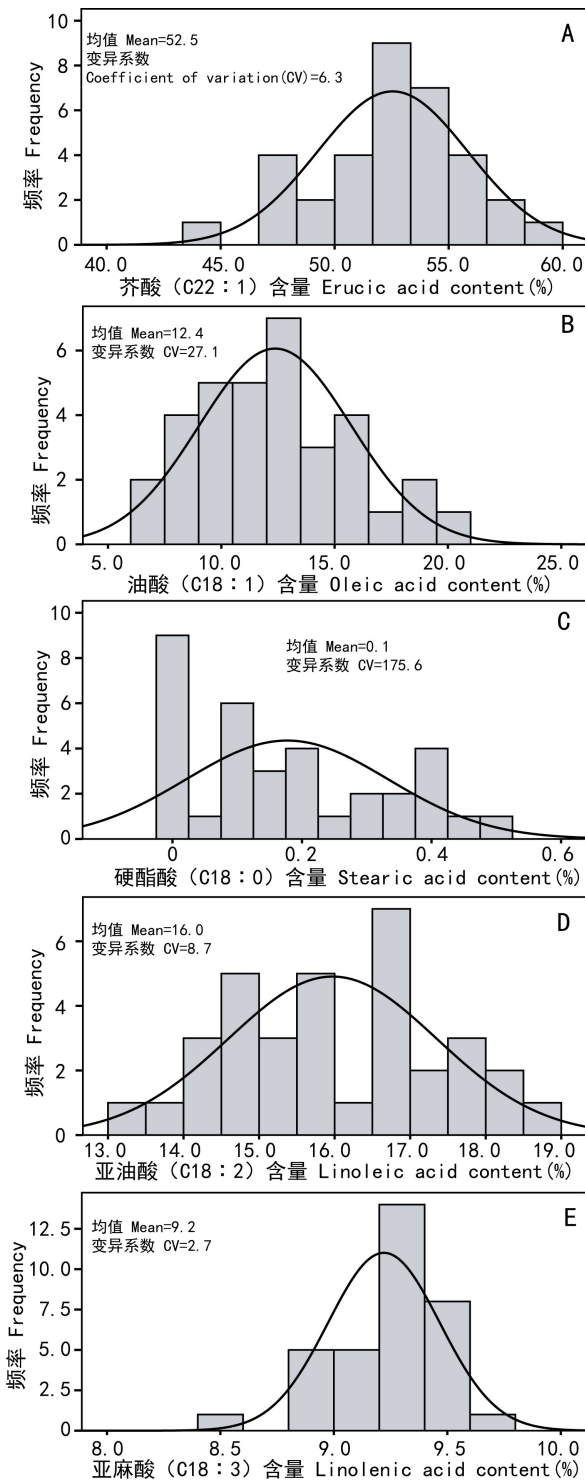
Table 3 Pearson correlations among the detected fatty acids

性状 Trait	芥酸 Erucic acid	油酸 Oleic acid	硬脂酸 Stearic acid	亚油酸 Linoleic acid
油酸 Oleic acid	-0.70** ( <i>P</i> =0.00)			
硬脂酸 Stearic acid	-0.28 ( <i>P</i> =0.11)	0.34 ( <i>P</i> >0.05)		
亚油酸 Linoleic acid	-0.15 ( <i>P</i> =0.38)	-0.10 ( <i>P</i> =0.56)	-0.21 ( <i>P</i> =0.24)	
亚麻酸 Linolenic acid	0.12 ( <i>P</i> =0.48)	0.10 ( <i>P</i> =0.59)	0.50** ( <i>P</i> =0.00)	-0.36* ( <i>P</i> =0.04)

注: \*\* . 在 0.01 水平 (双侧) 上显著相关。\* . 在 0.05 水平 (双侧) 上显著相关。

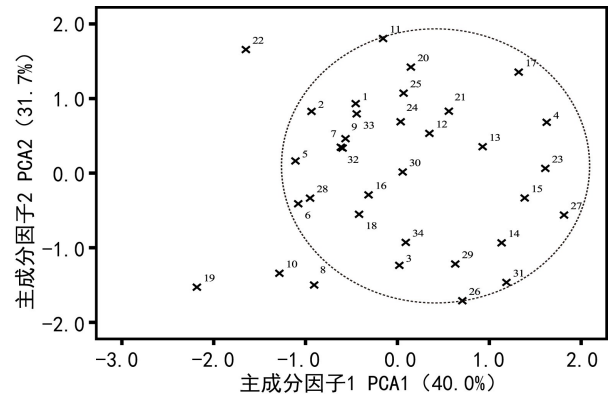
Note: \*\* . Significant correlation at 0.01 level. \* . Significant correlation at 0.05 level.

占全部材料的 2.9%; 油酸含量在 8.7%~9.0% 间的材料有 5 份, 占全部材料的 14.7%; 油酸含量在



图版 I 芥菜型油菜种质资源群体脂肪酸含量的正态分布 A. 芥酸; B. 油酸; C. 硬脂酸; D. 亚油酸; E. 亚麻酸。  
Plate I Normal distribution of the fatty acids of *B. juncea* germplasm resources A. Erucic acid; B. Oleic acid; C. Stearic acid; D. Linoleic acid; E. Linolenic acid.

9.0%~9.3%间的材料有 14 份, 占全部材料的 41.2%; 油酸含量大于 9.3%的材料有 14 份, 占全部



图版 II 芥菜型油菜种植资源材料主成分分析聚类图  
Plate II PCA analysis of 34 *B. juncea* accessions

材料的 41.2%。

## 2.2 相关性分析

对芥菜型油菜群体的芥酸、油酸、硬脂酸、亚麻酸和亚油酸含量间的相关性进行了分析(表 3)。由表 3 可知, 芥酸和油酸间表现出极显著负相关, 相关系数为 $-0.70$ 。亚麻酸和硬脂酸表现出极显著的正相关, 相关系数为 $0.50$ 。亚麻酸和亚油酸呈现显著负相关, 相关系数为 $-0.36$ 。此外, 芥酸与硬脂酸、芥酸与亚油酸、油酸与亚油酸、硬脂酸与亚油酸之间均呈负相关, 但相关性不显著。油酸与硬脂酸、芥酸与亚麻酸、油酸与亚麻酸之间均呈正相关, 且相关性不显著。

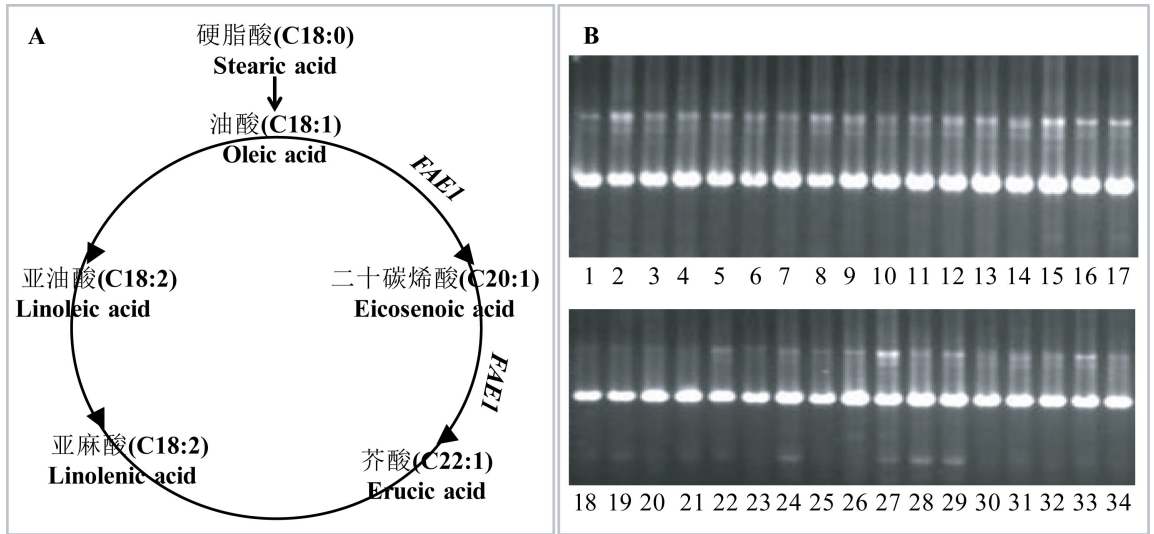
## 2.3 聚类分析

以芥菜型油菜群体材料的脂肪酸含量(芥酸、硬脂酸、亚油酸、油酸和亚油酸)为主要参考指标, 对 34 份材料进行了主成分分析。其中, 主成分因子 1 (PCA1)能解释群体材料 40.0%的表型变异, 而主成分因子 2 (PCA2)能解释群体材料 31.7%的表型变异, 二者一起可以解释群体材料 71.7%的表型变异。

以 PCA1 为 X 轴, 以 PCA2 为 Y 轴做散点图(图版 II)。从图版 II 可以发现, 绝大部分材料(30 份, 占 88.2%)集中在图中虚线圆圈所示的区域, 而少数其它材料散落在图中, 他们分别是 T6342 (图中编号: 8)、长阳黄芥(10)、SL63 (19)和棱角油菜(22)。这些变异较大的脱离群体的材料, 在芥菜型油菜的育种中可以发挥特殊作用。

## 2.4 *FAE1* 基因引物设计

芸苔属的芥酸、油酸、硬脂酸、亚麻酸和亚油酸处在同一个代谢调控网络中(Jadhav et al, 2005)(图版 III)。其中, 芥酸主要受基因 *FAE1* 的调控, 为深



图版 III 脂肪酸代谢调控网络及 *FAE1* 基因片段的扩增 A. 脂肪酸代谢调控网络;

B. *FAE1* 基因片段的扩增, 数字 1~34 分别代表 34 份芥菜型油菜种质资源。

Plate III Metabolism network for fatty acids and the amplification of *FAE1* gene A. Metabolism network for fatty acids; B. Amplification of *FAE1* gene, number 1~34 indicates the 34 accessions of *B. juncea*.

人研究芥菜型油菜中芥酸调控的分子机理及克隆芥酸调控基因, 我们特意选取甘蓝型油菜 (GU325731.1) 和来自甘蓝 (HM362927.1) 中 *FAE1* 基因的表达序列并设计了 *FAE1* 基因的特异引物 (正义链: 5'-CAACAAGGAGACGATGAGA-3'; 反义链: 5'-CAACAAGGAGACGATGAGA-3')。同时, 利用此引物对群体中芥菜型油菜的种质资源进行了 PCR 扩增, 琼脂糖胶显示此引物在全部 34 份材料中都能扩增出 378 bp 的条带来, 且效果较好 (图版 III; B 中的第 1~34 泳道)。甘蓝型油菜包含 A 和 C 基因组, 而甘蓝只含有 C 基因组。因此, 以上引物在芥菜型油菜中扩增的 *FAE1* 拷贝的一部分等同于芸苔属 C 基因组上的 *FAE1* 拷贝。本研究也证实, 芥菜型油菜中至少含有一个 *FAE1* 基因拷贝。

### 3 讨论与结论

环境条件可以显著地影响油菜的品质性状, 例如温度 (钱钧, 2004)、生态区差异 (王月等, 2015)、气候条件 (付三雄等, 2014; 黄华磊等, 2015)、栽培因素 (赵继献, 2014) 等。而贵阳地区具有独特的气候条件, 如夏季凉爽和年降水量大, 不同来源的芥菜型油菜在贵阳环境下肯定会表现出不同于其来源地的特性。因此, 尽可能多地搜集国内外的有关种质

资源, 加速所收集种质资源在不同地区的及不同环境条件下的筛选工作 (谢永俊和曾彪, 2007), 是芥菜型油菜育种开展的基本工作。本研究从全国 13 个省市搜集了 34 份芥菜型油菜的种质资源, 在贵阳环境条件下, 这些材料表现出了丰富的脂肪酸变异, 并获得部分可以用于芥菜育种工作的优异材料。此外, 我们还应加强变异种质资源的人工创造工作, 其方法包括: 生化试剂 (如 EMS) (孙妍妍等, 2015)、物理因素 (如紫外照射)、分子工程 (洪林等, 2012; 马忠岩, 2013) 和太空育种等。

芥酸、油酸、硬脂酸、亚麻酸和亚油酸的碳原子数目都超过 18 个, 均为超长链脂肪酸, 且处在同一脂肪酸合成网路中。本研究发现芥菜型油菜的脂肪酸中芥酸和油酸含量呈显著负相关关系、亚麻酸和硬脂酸含量呈显著正相关关系、亚麻酸和亚油酸含量呈显著负相关关系, 这与甘蓝型油菜等其它油料作物中获得的结论相一致 (谢立华等, 2004; 林涛等, 2015; 温娟, 2015)。不同脂肪酸间错综复杂的相关性 (刘兴媛等, 1981), 有利于油菜特定的育种目标的开展, 如低芥酸和硬脂酸育种, 高油酸育种, 适中的亚麻酸和亚油酸育种 (涂金星等, 2007)。主成分分析作为研究不同种质资源表型相似性的一种重要工具, 可以用于划分种质资源的类群和鉴别特异的育种材料 (刘海卿等, 2015; 塔娜等, 2015; 王健

胜等,2015)。本研究通过主成分分析,获得了不同种质资源的相似性关系,同时获得了部分优良的育种材料。除了表型数据可以用于主成分分析外,基于分子标记的基因型数据也可以用于不同种质资源在基因组水平上的相似性研究,这些分子标记技术包括:AFLP、SSR、RFLP、SNP、RAPD。

芥酸是由油酸经过2次碳链延长最终合成的,其合成的每一步均需要 *FAE1* 基因的参与。*FAE1* 基因在拟南芥中有1个拷贝 (James & Dooner, 1990; Lemieux et al, 1990),在甘蓝型油菜中有2个拷贝 (Fourmann et al, 1998; Barret et al, 1998),在白芥和甘蓝中有1个拷贝 (Das et al, 2002)。本文选取了来自甘蓝型油菜和甘蓝的 *FAE1* 基因已知序列,设计并获得了能快速高效应用的PCR引物并证实芥菜型油菜中至少存在一个 *FAE1* 拷贝。研究芥菜型油菜中 *FAE1* 基因的分子特性和调控机理对于芥酸的分子育种具有重要意义。例如,在甘蓝型油菜中 *FAE1* 基因的超表达,可以将芥酸的含量由47%提高到60% (淮东欣, 2015); 而 *FAD2* 基因也被证实可以影响甘蓝型油菜中芥酸的含量,转 *FAD2* 基因株系可以将芥酸含量提高13.15% (陈松等, 2015)。随着更多芥菜调控基因的获得,分子设计育种将在未来发挥越来越大的作用。

## 参考文献:

BARRET P, DELOURM R, RENARD M, et al, 1998. A rapeseed *FAE1* gene is linked to the E1 locus associated with variation in the content of erucic acid [J]. *Theor Appl Genet*, 96(2): 177-186.

CAI DF, 2013. The association analysis of yield and quality traits in *Brassica napus* [D]. Wuhan: Huazhong Agriculture University. [陈东芳, 2013. 甘蓝型油菜产量和品质相关性状关联分析 [D]. 武汉: 华中农业大学.]

CHEN BY, 2014. The analysis of phenotypic traits and whole-genome association for worldwide *Brassica napus* germplasm [D]. Wuhan: China Academy of Agricultural Sciences Institute of Oil Crops. [陈碧云, 2014. 全球多样性甘蓝型油菜种质表型性状的评价与全基因组关联分析 [D]. 武汉: 中国农科院油料作物研究所.]

CHEN S, PENG Q, GAO JQ, et al, 2015. *FAD2* gene down regulated expression of fatty acid and quality of Brassica W-4 [J]. *Agric Sci Technol*, 16(8): 1769-1774. [陈松, 彭琦, 高建芹, 等, 2015. *fad2* 基因下调表达的甘蓝型油菜 W-4 株系脂肪酸及品质分析 [J]. *农业科学与技术*, 16(8): 1769-1774.]

DAS S, ROSCOE TJ, DELSENY M, et al, 2002. Cloning and molecular characterization of the *Fatty Acid Elongase 1 (FAE 1)* gene from high and low erucic acid lines of *Brassica campestris* and *Brassica oleracea* [J]. *Plant Sci*, 162(2): 245-250.

FORUMANN M, BARRET P, RENARD M, et al, 1998. The two genes homologous to *Arabidopsis FAE1* co-segregate with the two

loci governing erucic acid content in *Brassica napus* [J]. *Theor Appl Genet*, 96(6-7): 852-858.

FU SX, LI CL, NIMA ZM, et al, 2014. The influence of meteorological factors on seed oil accumulation [J]. *J Integr Plant Biol*, 49(1): 41-48. [付三雄, 李成磊, 尼玛卓玛, 等, 2014. 气象因子对油菜种子中油分积累的影响 [J]. *植物学报*, 49(1): 41-48.]

GAO JQ, PU HM, QI CK, et al, 2009. The variation and oil cultivation of oil in seed and seed coat in high-oil content of *Brassica napus* [J]. *Chin J Oil Crop Sci*, 2: 173-179. [高建芹, 浦惠明, 戚存扣, 等, 2009. 高含油量油菜种子和果皮油份积累及主要脂肪酸的动态变化 [J]. *中国油料作物学报*, 2: 173-179.]

GAO ZH, ZHAO JX, REN YB, et al, 2013. Correlation analysis of yield and quality traits of high quality hybrid rapeseed [J]. *Guizhou Agric Sci*, 41(7): 1737-1741. [高志宏, 赵继献, 任廷波, 等, 2013. 甘蓝型优质杂交油菜产量与品质性状的相关分析 [J]. *贵州农业科学*, 41(7): 1737-1741.]

HANG HL, ZHOU Y, LI HM, et al, 2015. Effects of climate change on rape production [J]. *Chin Agric Sci Bull*, 9: 105-111. [黄华磊, 周燕, 李焕梅, 等, 2015. 气候变化对重庆油菜生产的影响 [J]. *中国农学通报*, 9: 105-111.]

HE YT, TU JX, FU TD, et al, 2002. The analysis of genetic diversity of Chinese *B. campestris* germplasm resources [J]. *Crop J*, 28(5): 697-703. [何余堂, 涂金星, 傅廷栋, 等, 2002. 中国白菜型油菜种质资源的遗传多样性研究 [J]. *作物学报*, 28(5): 697-703.]

HONG L, YAN XH, LIU ZF, et al, 2012. Ac/Ds system and its application in the construction of rapeseed mutant library [J]. *J Southern Agric*, 43(6): 738-743. [洪林, 闫晓红, 刘正富, 等, 2012. Ac/Ds 系统及其在油菜突变体库构建中的应用策略 [J]. *南方农业学报*, 43(6): 738-743.]

HUAI DX, 2015. Effect of key genes controlling the synthesis of super long chain fatty acids on fatty acid composition of plant seeds [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University. [淮东欣, 2015. 调控超长链脂肪酸合成关键基因对植物种子中脂肪酸组成的影响 [D]. 武汉: 华中农业大学.]

HUANG TC, 2014. Correlation and path analysis of seed traits in *Brassica napus* [J]. *Anhui Agric Sci*, 35: 12451-12454. [黄桃翠, 2014. 甘蓝型油菜种子性状间的相关与通径分析 [J]. *安徽农业科学*, 35: 12451-12454.]

JADHAV A, KATAVIC V, MARILLIA EF, et al, 2005. Increased levels of erucic acid in *Brassica carinata* by co-suppression and antisense repression of the endogenous *FAD2* gene [J]. *Metab Eng*, 7: 215-220.

JAMES DW, DOONER HK, 1990. Isolation of EMS-induced mutants in *Arabidopsis* altered in seed fatty acid composition [J]. *Theor Appl Genet*, 80: 241-245.

JIANG GL, CHEN ZX, LIU SJ, et al, 1998. Pre-harvest sprouting in white wheats and its resistant characteristics of cultivars [J]. *Acta Agron Sin*, 24(6): 793-798.

Lemieux B, Miquel M, Somerville C, 1990. Mutants of *Arabidopsis* with alterations in seed lipid fatty acid composition [J]. *Theor Appl Genet*, 80: 234-240.

LI PW, YANG M, CHEN H, et al, 2003. The current situation of quality stand of *B. napus* in China comparing with foreign countries [J]. *Chin J Oil Crop Sci*, 25(3): 104-108. [李培武, 杨湄, 陈洪, 等, 2003. 我国油菜质量标准现状及与国外对比分析 [J]. *中国油料作物学报*, 25(3): 104-108.]

LIN BG, DIING HD, ZHANG XF, et al, 2014. The clustering analysis of agricultural and quality traits in *Brassica napus* germ-

- plasm resources [J]. Chin Seed, 4: 47-49. [林宝刚, 丁厚栋, 张尧锋, 等, 2014. 国外甘蓝型油菜种质资源农艺性状和品质性状的聚类分析 [J]. 中国种业, 4: 47-49.]
- LIN T, LI HL, FENG B, et al, 2015. Correlation analysis of seed traits and main fatty acid composition of different resources in Guizhou [J]. Guizhou Agric Sci, 11: 1-4. [林涛, 李惠琳, 奉斌, 等, 2015. 贵州不同苏麻资源种子性状及主要脂肪酸成分的相关分析 [J]. 贵州农业科学, 11: 1-4.]
- LIU HQ, SUN WC, LIU ZG, et al, 2015. The northern cold and arid region of cold hardiness in winter *Brassica rapa* and drought resistance evaluation and its relationship [J]. J Integr Agric, 48 (18): 3743-3756. [刘海卿, 孙万仓, 刘自刚, 等, 2015. 北方寒旱区白菜型冬油菜抗寒性与抗旱性评价及其关系 [J]. 中国农业科学, 48(18): 3743-3756.]
- LIU LX, LIU Q, XU SM, 2005. The utilization of gene engineering project in improving plant oil nutrition [J]. J Integr Plant Biol, 22(5): 623-631. [刘立侠, 柳青, 许守民, 2005. 基因工程在改善植物油营养价值中的应用 [J]. 植物学通报, 22(5): 623-631.]
- LIU N, FAN QX, MENG DQ, et al, 2014. Accumulation pattern and correlation analysis of fatty acid in rapeseed kernel development [J]. Jiangsu Agric Sci, 30(1): 21-26. [刘念, 范其新, 蒙大庆, 等, 2014. 油菜籽粒发育过程中脂肪酸累积模式及相关分析 [J]. 江苏农业学报, 30(1): 21-26.]
- LIU XY, LIU GM, LI ZY, et al, 1981. The research of fatty acid content in Chinese rapeseed varieties [J]. Oil Technol, 6: 71-79. [刘兴媛, 刘桂梅, 李尊一, 等, 1981. 我国油菜品种脂肪酸含量研究 [J]. 油脂科技, 6: 71-79.]
- MA ZY, 2013. Preliminary construction of the mutant library of *Brassica napus* [D]. Zhenjiang: Jiangsu University. [马忠岩, 2013. 激活标签法初步构建甘蓝型油菜突变体库 [D]. 镇江: 江苏大学.]
- QIAN J, 2004. The effect of environment to the growth and development and quality formation [D]. Wuhan: Huazhong Agriculture University. [钱钧, 2004. 环境因子对油菜生长发育及品质形成的影响 [D]. 武汉: 华中农业大学]
- SOMERS DJ, FRIESEN KRD, RAKOW G, 1998. Identification of molecular markers associated with linoleic acid desaturation in *Brassica napus* [J]. Theor Appl Genet, 96: 897-903.
- SUN YY, QU GP, HUANG QX, et al, 2015. The mutant ALS gene analysis and SNP marker of resistance to tribenuron methyl in *Brassica napus* [J]. Chin J Oil Crop Sci, 37(5): 589-595. [孙妍妍, 曲高平, 黄谦心, 等, 2015. 甘蓝型油菜抗苯磺隆突变体 ALS 基因分析与 SNP 标记 [J]. 中国油料作物学报, 37(5): 589-595.]
- TA N, WANG H, CHEN WJ, 2015. Principal component analysis of yield and yield related traits in the DH lines of *Brassica napus* [J]. Shaanxi Agric Sci, 10: 35-39. [塔娜, 王灏, 陈文杰, 等, 2015. 甘蓝型油菜 DH 系产量及产量相关性状的主成分分析 [J]. 陕西农业科学, 10: 35-39.]
- TIAN E, ZENG F, MACKAY K, et al. 2014. Detection and molecular characterization of two *fad3* genes controlling linolenic acid content and development of allele-specific markers in yellow mustard (*Sinapis alba*) [J]. PLoS ONE, 9(5): e97430. doi: 10.1371/journal.pone.0097430.
- TU JX, ZHANG DX, ZHANG Y, et al, 2007. The discussion of the questions about the variety certification and the breeding plan of Chinese rape seed [J]. Chin J Oil Crop Sci, 29(3): 350-352 [涂金星, 张冬晓, 张毅, 等, 2007. 我国油菜育种目标和品种审定问题的商榷 [J]. 中国油料作物学报, 29(3): 350-352.]
- WANG JS, LIANG YH, HOU GL, et al, 2015a. The correlation and PCA analysis of main traits of the rapeseed parents [J]. Chin Agric Sci Bull, 27: 147-152. [王健胜, 梁亚红, 侯桂玲, 等, 2015a. 油菜育种亲本主要性状相关性分析及主成分分析 [J]. 中国农学通报, 27: 147-152]
- WANG JS, HOU GL, 2015b. Correlation analysis of main agronomic traits and breeding strategy of winter oil in China [J]. Jiangsu Agric Sci, (8): 94-97. [王健胜, 侯桂玲, 2015b. 中国冬油菜品系主要农艺性状相关性分析及油菜育种策略 [J]. 江苏农业科学, (8): 94-97.]
- WANG Y, SUN WC, LIU ZG, et al, 2015. Adaptability and physiological and biochemical responses of winter rapeseed in different ecological regions in the northwest of China [J]. Agric Res Arid Areas, 4: 197-205. [王月, 孙万仓, 刘自刚, 等, 2015. 甘蓝型冬油菜在西北不同生态区适应性及生理生化反应 [J]. 干旱地区农业研究, 4: 197-205.]
- WEN J, 2015. The QTL location of seed embryo and maternal plant in beneficial fatty acid composition of *Brassica napus* [D]. Hangzhou: Zhejiang University. [温娟, 2015. 甘蓝型油菜籽有益脂肪酸组分的种子胚和母体植株 QTL 定位 [D]. 杭州: 浙江大学.]
- WU YH, WU G, XIAO L, et al, 2009. The function verification of *FAE1* gene in low-erucic acid wild species of *Brassica* species [J]. J Integr Agric, 11: 3819-3827. [武玉花, 吴刚, 肖玲, 等, 2009. 十字花科植物中低芥酸野生种的发掘和 *FAE1* 基因的功能验证 [J]. 中国农业科学, 11: 3819-3827.]
- XIE LH, LI PW, ZHANG W, et al. 2004. The fatty acid analysis and the correlation analysis in Chinese *Brassica napus* [C]. Wuhan: the fifth academic meeting of China Academy of Agricultural Sciences Institute of oil crops. [谢立华, 李培武, 张文, 等, 2004. 我国甘蓝型油菜脂肪酸成分及其相关性分析 [C]. 武汉: 中国作物学会油料作物专业委员会第五届学术年会.]
- XIE YJ, ZENG B, 2007. The research and utilization of the foreign *Brassica juncea* excellent germplasm resources [J]. J SW Agric, 4: 611-614. [谢永俊, 曾彪, 2007. 外国芥菜型油菜优异种质资源的研究与利用 [J]. 西南农业学报, 4: 611-614.]
- ZHANG HJ, XIAO G, TANG TL, et al, 2008. The obtainment of high oleic acid germplasm resources of *Brassica napus* treating by EMS method [J]. J Integr Agric, 41(12): 4016-4022. [张宏军, 肖钢, 谭大龙, 等, 2008. EMS 处理甘蓝型油菜 (*Brassica napus*) 获得高油酸材料 [J]. 中国农业科学, 41(12): 4016-4022.]
- ZHANG SF, FU TD, ZHU JL, et al, 2008. The gene analysis of erucic acid content of *B. napus* [J]. J Integr Agric, 41(10): 3343-3349. [张书芬, 傅廷栋, 朱家成, 等, 2008. 甘蓝型油菜芥酸含量的基因分析 [J]. 中国农业科学, 41(10): 3343-3349.]
- ZHAO JX, DU CF, REN YB, 2014. Effects of main cultivation factors on oil quality and stability of hybrid rapeseed oil [J]. Agric Sci Technol, (5): 795-800. [赵继献, 杜才富, 任廷波, 等, 2014. 主要栽培因素对甘蓝型杂交油菜品质及稳定性的影响 [J]. 农业科学与技术, 5: 795-800.]
- ZHOU YM, LIU HL, 1987. The inheritability of several main fatty acid content in the seed of *Brassica napus* [J]. Crop J, 13(1): 1-10. [周永明, 刘后利, 1987. 甘蓝型油菜种子中几种主要脂肪酸含量的遗传 [J]. 作物学报, 13(1): 1-10.]