

HPLC 法分析油菜种子油中维生素 E 的组成与含量

吕培军, 薛 蕾, 伍晓明, 高桂珍, 李 丹, 陈碧云, 许 鲲, 闫贵欣

(中国农科院油料作物研究所/农业部油料作物生物学重点开放实验室, 湖北武汉 430062)

摘要: 利用 HPLC 法分析了 50 份遗传背景丰富的白菜型油菜、甘蓝型油菜、芥菜型油菜和芸芥种子油中维生素 E 的组成与含量。研究结果显示, 油菜种子油中主要含 α -生育酚和 γ -生育酚, 且 α -生育酚、 γ -生育酚和维生素 E 总量均存在明显的基因型差异, 甘蓝型油菜种子油中维生素 E 含量总体水平最高, 平均总量较高, 为 123.11 mg/100g 油, 维生素 E 含量最高的 Omega, 总量为 144.73 mg/100g 油, α/γ -生育酚比值最高可达 0.77。 α -生育酚、 γ -生育酚和维生素 E 总量与类胡萝卜素含量均呈现显著负相关, 种子油中 α -生育酚与含油量呈现显著正相关, α -生育酚、 γ -生育酚和维生素 E 总量与生育期均呈现显著或极显著正相关, α -生育酚和维生素 E 总量与株高均呈现显著正相关, 维生素 E 总量与千粒重呈显著正相关, 而 α -生育酚、 γ -生育酚和维生素 E 总量与全株角果数和每角粒数相关不显著。

关键词: 油菜; 维生素 E; 生育酚; 高效液相色谱法

Vitamin E Component of Oilseed Rape by HPLC Method

LV Pei-jun, XUE Lei, WU Xiao-ming, GAO Gui-zhen, LI Dan,

CHEN Bi-yun, XU Kun, YAN Gui-xin

(Key laboratory of Oil Crop Biology of the Ministry of Agriculture/ Oil Crops Research Institute, CAAS, Wuhan 430062)

Abstract: Seed oil tocopherol content in 50 divergent genotypes of oilseed rape of *Brassica campestris* L., *Brassica napus* L., *Brassica juncea* Coss. and *Eruca stiva* Mill. were analysed by HPLC method, the results indicated that α -tocopherol and γ -tocopherol are two dominant tocopherols in seed oil, which significant variation in both composition and content could be found among different genotypes. tocopherol content in seed oil of *Brassica napus* L. is the highest among all species, with a average content of 123.11 mg/100g oil, the genotype Omega has the highest total content of 144.73 mg/100g oil, the highest ratio of α -tocopherol and γ -tocopherol is 0.77. α -tocopherol, γ -tocopherol and total tocopherol content showed significant negative correlation with carotenoid content, a significant positive correlation were found between α -tocopherol content and oil content. α -tocopherol, γ -tocopherol and total tocopherol content presented significant positive correlation with growth peroid, α -tocopherol and total tocopherol content were significantly correlated with plant height, total tocopherol content demonstrated significant positive correlation with 1000 seeds weight. However, α -tocopherol, γ -tocopherol and total tocopherol content showed no correlation with number of siliques and Seeds number per silique.

Key words: Oilseed rape; Vitamin E; Tocopherol; HPLC

维生素 E, 又称生育酚 (tocopherol), 是维持人类多种正常生理活动的重要营养物质^[1-2]。植物中维生素 E 在质体内形成, 以 α -、 β -、 γ -和 δ -生育酚 4 种具有不同分子结构和功能的形式存在, α -、 γ -生育

酚是油料作物中最为丰富的维生素 E, 其中 α -生育酚是生理活性最强的维生素 E, 而 γ -生育酚具有最强的抗氧化能力。维生素 E 具有较强的脂溶性, 因此植物油中富含的维生素 E 是人类维生素 E 的主

收稿日期: 2010-06-26 修回日期: 2010-08-19

基金项目: 国家科技支撑计划 (2006BAD13B10-10); 国家“863”项目 (2006AA10Z1E4)

作者简介: 吕培军, 硕士, 主要从事油菜种质资源研究

通讯作者: 伍晓明, 研究员, 主要从事油菜种质资源研究。E-mail: wuxm@oilcrops.cn

要来源^[3-8]。自 1922 年被发现以来,人们越来越多地认识到维生素 E 的多重营养与保健功效。目前,在植物油中人工添加维生素 E,已成为强化食用油营养和抗氧化性的重要手段,市场上已有多个添加维生素 E 的植物油品牌。

研究表明,油料作物种子维生素 E 含量变异较大,这使通过育种途径提升种子油中天然维生素 E 含量成为可能,为提高油菜这一主要油料作物种子中维生素 E 的含量,国外已开展油菜维生素 E 遗传和分子育种等研究,期望培育出高维生素 E 的油菜新品种^[9-15]。

维生素 E 除对人体具有有益功效外,还对维持植物自身正常的生命活动意义重大,如维持种子寿命和

阻止种子发芽过程中的脂质氧化^[16]。因此,从育种实际应用到种子生理等基础研究,都需要对油菜种子油中维生素 E 的组成与含量进行分析,明确维生素 E 的组成特征,发掘出高维生素 E 优异种质。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料来源于国家油料作物种质资源中期库,包括遗传背景丰富的白菜型油菜 (*Brassica campestris* L.) 10 份,甘蓝型油菜 (*Brassica napus* L.) 30 份,芥菜型油菜 (*Brassica juncea* Coss.) 7 份,芸芥 (*Eruca sativa* Mill.) 3 份(表 1)。

表 1 分析测试材料

Table 1 Materials used in the experiment

| 序号 No. | 总编号 Genbank code | 品种名称 Varieties | 来源 Origin | 类型 Species | 序号 No. | 总编号 Genbank code | 品种名称 Varieties | 来源 Origin | 类型 Species |
|-----------|------------------------|-------------------|---------------|---------------|-----------|------------------------|-------------------|--------------|---------------|
| 1 | 120 | 蒲城油菜 | 陕西蒲城县 | 白菜型 | 26 | 2936 | 黔阳 29 | 黔阳地区农科所 | 甘蓝型 |
| 2 | 270 | 慈利白油菜 | 湖南慈利县 | 白菜型 | 27 | 2941 | 早丰 50(二) | 黔阳地区农科所 | 甘蓝型 |
| 3 | 566 | 镇源新塘黑红油菜 | 云南镇源县 | 白菜型 | 28 | 3287 | greep cabbage | 塞拉里昂 | 甘蓝型 |
| 4 | 1384 | 高脚白菜 | 浙江余杭县 | 白菜型 | 29 | 3323 | Doral | 西德 | 甘蓝型 |
| 5 | 1536 | 南郑塘口黄油菜 | 陕西南郑县 | 白菜型 | 30 | 3382 | P7 | 波兰 | 甘蓝型 |
| 6 | 1825 | 德兴皎大油菜 | 江西德兴县 | 白菜型 | 31 | 3464 | Omega | 瑞典 | 甘蓝型 |
| 7 | 2026 | 西双版纳曼 景兰乡中籽 | 云南景洪县 | 白菜型 | 32 | 5992 | 牛角油菜 | — | 甘蓝型 |
| 8 | 2044 | 多油 | 西藏拉萨市 | 白菜型 | 33 | 1225 | 424 | 湖北油料所 | 甘蓝型 |
| 9 | 2100 | 祁连小油菜 | 青海祁连县 | 白菜型 | 34 | 6043 | 中双 4 号 | 中国农科院油料所 | 甘蓝型 |
| 10 | 2110 | 加合小黑油菜 | 青海化隆县 | 白菜型 | 35 | 1256 | 慈油二号 | 湖南慈利县 | 甘蓝型 |
| 11 | 1193 | 沪油二号 | 上海农科院 | 甘蓝型 | 36 | 1276 | 文油八号 | 四川温江农林局 | 甘蓝型 |
| 12 | 2683 | 睢 1-4 | 江苏 | 甘蓝型 | 37 | 1311 | 青油八号 | 青海农科院 | 甘蓝型 |
| 13 | 2691 | 3151 | 江苏省农科院 | 甘蓝型 | 38 | 2651 | 白花 | 上海农科院 | 甘蓝型 |
| 14 | 2705 | 44 | 安徽省农科院 | 甘蓝型 | 39 | 2657 | 695 | 浙江农科院 | 甘蓝型 |
| 15 | 2735 | 陕油 3 号 | 陕西省农科院 特作所 | 甘蓝型 | 40 | 2682 | 丰油 1 号 | 江苏 | 甘蓝型 |
| 16 | 2813 | 0979AB | 中国农科院 油料所 | 甘蓝型 | 41 | 931 | 泸西直鱼乡细菜子 | 云南泸西县 | 芥菜型 |
| 17 | 2816 | 甘油五号恢 | 中国农科院 油料所 | 甘蓝型 | 42 | 949 | 师宗黄菜子 | 云南师宗县 | 芥菜型 |
| 18 | 2819 | 华油 14 号 | 华中农业大学 | 甘蓝型 | 43 | 1030 | 丽江卦峰乡黄菜子 | 云南丽江县 | 芥菜型 |
| 19 | 2821 | 华油 16 号 | 华中农业大学 | 甘蓝型 | 44 | 1068 | 霍城黄油菜 | 新疆霍城县 | 芥菜型 |
| 20 | 2832 | 5702B | 湖南省农科院 | 甘蓝型 | 45 | 1111 | 昭苏黄油菜 | 新疆昭苏县 | 芥菜型 |
| 21 | 2738 | 早丰 4 号 | 陕西汉中农科所 | 甘蓝型 | 46 | 2498 | 851333 | 新疆农科院 | 芥菜型 |
| 22 | 1194 | 沪油三号 | 上海农科院 | 甘蓝型 | 47 | 2541 | 乌兰二牛尾 | 青海乌兰县 | 芥菜型 |
| 23 | 2848 | 意选 142-2 | 湖南省农科院 | 甘蓝型 | 48 | 3141 | 华池芸芥 | 甘肃华池县 | 其他 |
| 24 | 2877 | 6013-3 | 湖南省农科院 | 甘蓝型 | 49 | 3143 | 静宁芸芥 | 甘肃静宁县 | 其他 |
| 25 | 2880 | 6019-3 | 湖南省农科院 | 甘蓝型 | 50 | 3149 | 卓尼芸芥 | 甘肃卓尼县 | 其他 |

1.2 维生素 E 含量组成与含量分析

维生素 E 标准样品 α -生育酚、 γ -生育酚、 δ -生育酚标准样品购自美国 Sigma 公司, 色谱纯。

分析样品的前处理 5g 磨碎的油菜试样粉用索氏抽提法提取油样, 精确称取 0.5g 油样(精确到 0.001)于 5ml 干洁容量瓶中, 参照李桂华等^[17]介绍的方法, 制备 HPLC 分析样品。

维生素 E 的 HPLC 分析 定性分析依据 α -生育酚、 γ -生育酚、 δ -生育酚标准样品的保留时间确定, β -生育酚则根据文献报道的保留时间与试验所得的保留时间判定。定量分析采用外标法进行定量, 具体步骤参照李桂华等^[17]介绍的方法。分析条件为高效液相色谱仪(10Avp 系列, 日本岛津); 双泵系统(LC-10ATvp); 荧光检测仪(RF-10AXL); 色谱柱(依利特)为 NH2 柱(4.6 * 250 * 5 μ); 流动相为正己烷-异丙醇(98:2 v/v); 柱温 40 $^{\circ}$ C; 进样量 5 μ l; EX 波

长 298nm; EM 波长 350nm; 流速 1ml/min。

1.3 种子含油量和类胡萝卜素含量分析

种子含油量采用索氏抽提法分析(粗脂肪含量的测定, GB/T14488.1-93), 类胡萝卜素含量分析采用分光光度法^[18]。

1.4 数据分析

用 SPSS9.0 分析各种维生素 E 含量与含油量、类胡萝卜素含量和千粒重等农艺性状的相关性。农艺性状数据采用种子繁殖时的记载和考种数据。

2 结果与分析

2.1 不同类型油菜种子油中维生素 E 的组成与含量

β -生育酚和 δ -生育酚含量很低, 芸芥种子油中维生素 E 的组成特征与三大类型油菜有较大差异, 主要含 γ -生育酚, α -生育酚, 但含量很低(图 1)。

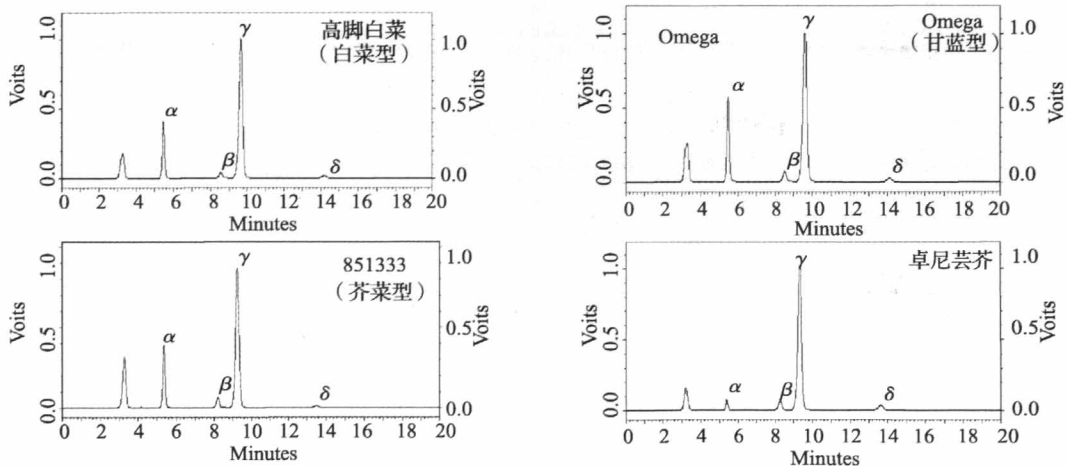


图 1 白菜型、甘蓝型、芥菜型油菜和芸芥种子油中维生素 E 高效液相色谱图

Fig. 1 HPLC chromatogram of seed Vitamin E of *B. campestris* L., *B. napus* L., *B. juncea* Coss. and *E. stiva* Mill.

白菜型油菜种子油中, γ -生育酚含量最高, 平均值为 69.26 mg/100g 油, 最高达 78.94 mg/100g 油; 其次为 α -生育酚, 平均值为 28.41 mg/100g 油, 且品种间含量变异显著, 最高与最低之间可相差 13 倍; δ -生育酚含量极低; 维生素 E 平均总量为 101.02 mg/100g 油, 最高与最低之间相差 1 倍, 平均 α/γ -生育酚为 0.4, 品种间比值相差可达 12 倍(表 2)。

甘蓝型油菜种子油中, γ -生育酚含量最高, 平均值为 73.20 mg/100g 油, 最高的黔阳 29 含量达 86.56 mg/100g 油; α -生育酚含量较高, 平均值为 44.75 mg/100g 油, 6013-3 α -生育酚含量高达

57.04 mg/100g 油; δ -生育酚含量极低, 仅 2 份材料能检测出; 维生素 E 平均总量较高, 为 123.11 mg/100g 油, 最高的 Omega 总量为 144.73 mg/100g 油; 沪油三号 α/γ -生育酚比值为 0.77, 在 4 个种中最高(表 3)。

芥菜型油菜种子油中, γ -生育酚含量最高, 平均值为 64.58 mg/100g 油, 最高的丽江卦峰乡黄菜子含量为 72.43 mg/100g 油; α -生育酚平均含量 20.93 mg/100g 油, 明显低于甘蓝型和白菜型油菜, α -生育酚含量高的是 851333 达 31.42 mg/100g 油; δ -生育酚含量极低, 7 份材料都未能检测出; 维生素 E 平均总量为 92.06 mg/100g 油, α/γ -生育酚比值为 0.32, 均低于甘蓝型和白菜型油菜(表 4)。

表 2 白菜型油菜种子油中维生素 E 的组成与含量

Table 2 Seed oil vitamin E composition and content of *B. campestris* L.

(mg/100g 油)

| 品种 Varieties | α -生育酚 α -tocopherol | β -生育酚 β -tocopherol | γ -生育酚 γ -tocopherol | δ -生育酚 δ -tocopherol | 总量 Total content | α/γ |
|-----------------|---------------------------------------|-------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------|-----------------|
| 蒲城油菜 | 32.52 | 4.78 | 77.01 | - | 113.79 | 0.42 |
| 慈利白油菜 | 28.87 | 3.29 | 68.88 | - | 99.83 | 0.42 |
| 镇源新塘黑红油菜 | 30.08 | 8.16 | 66.54 | - | 103.67 | 0.45 |
| 高脚白菜 | 32.73 | 3.66 | 78.94 | - | 114.60 | 0.41 |
| 南郑塘口黄油菜 | 32.65 | 4.84 | 75.17 | - | 112.20 | 0.43 |
| 德兴皎大油菜 | 32.34 | 5.46 | 69.17 | - | 105.86 | 0.47 |
| 西双版纳曼景兰乡中子 | 31.51 | 3.58 | 66.78 | - | 100.86 | 0.47 |
| 多油 | 32.83 | 3.96 | 68.12 | - | 103.98 | 0.48 |
| 祁连小油菜 | 28.11 | 3.74 | 64.41 | - | 94.90 | 0.44 |
| 加合小黑油菜 | 2.43 | 2.07 | 57.62 | - | 60.55 | 0.04 |
| 平均值 Mean | 28.41 | 4.35 | 69.26 | - | 101.02 | 0.40 |
| 变幅 Range | 2.43 ~ 32.83 | 2.07 ~ 8.16 | 57.62 ~ 78.94 | - | 60.55 ~ 114.60 | 0.04 ~ 0.48 |

“-” 未检出 (undetectable), 下同, The same as below

表 3 甘蓝型油菜种子油中维生素 E 的组成与含量

Table 3 Seed oil vitamin E composition and content of *B. napus* L.

(mg/100g 油)

| 品种 Varieties | α -生育酚 α -tocopherol | β -生育酚 β -tocopherol | γ -生育酚 γ -tocopherol | δ -生育酚 δ -tocopherol | 总量 Total content | α/γ |
|-----------------|---------------------------------------|-------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------|-----------------|
| 沪油二号 | 36.48 | - | 70.54 | - | 105.12 | 0.52 |
| 睢 1-4 | 35.21 | 3.98 | 66.22 | - | 104.00 | 0.53 |
| 3151 | 43.83 | 4.31 | 66.58 | - | 113.67 | 0.66 |
| 44 | 53.04 | 5.21 | 78.25 | - | 136.05 | 0.68 |
| 陕油 3 号 | 47.00 | 3.59 | 63.13 | - | 112.34 | 0.74 |
| 0979AB | 40.77 | 6.59 | 65.87 | - | 112.46 | 0.62 |
| 甘油五号恢 | 38.12 | 6.89 | 73.88 | - | 118.55 | 0.52 |
| 华油 14 号 | 54.86 | 10.13 | 78.15 | - | 141.82 | 0.70 |
| 华油 16 号 | 37.93 | 8.91 | 70.60 | - | 116.44 | 0.54 |
| 5702B | 35.76 | 3.85 | 82.55 | - | 122.03 | 0.43 |
| 早丰 4 号 | 50.49 | 8.32 | 75.49 | - | 133.50 | 0.67 |
| 沪油三号 | 45.42 | 3.19 | 59.37 | - | 106.67 | 0.77 |
| 意选 142-2 | 42.81 | 8.49 | 78.85 | 0.23 | 130.38 | 0.54 |
| 6013-3 | 57.04 | 7.80 | 76.66 | - | 140.09 | 0.74 |
| 6019-3 | 47.16 | 5.74 | 78.21 | - | 129.61 | 0.60 |
| 黔阳 29 | 51.04 | 4.01 | 86.56 | - | 140.36 | 0.59 |
| 早丰 50(二) | 34.46 | 16.28 | 65.99 | - | 115.40 | 0.52 |
| green cabbage | 48.25 | 3.23 | 66.32 | - | 116.95 | 0.73 |
| Doral | 39.74 | 6.20 | 73.75 | - | 118.90 | 0.54 |
| P7 | 38.80 | 15.58 | 72.84 | - | 126.26 | 0.53 |
| Omega | 50.71 | 8.23 | 85.63 | 0.17 | 144.73 | 0.59 |
| 牛角油菜 | 47.22 | 4.67 | 72.17 | - | 122.70 | 0.65 |
| 424 | 42.47 | 0.28 | 80.10 | - | 122.09 | 0.53 |
| 中双 4 号 | 51.25 | 6.42 | 69.32 | - | 125.97 | 0.74 |
| 慈油二号 | 54.45 | 1.58 | 77.86 | - | 132.35 | 0.70 |
| 文油八号 | 52.97 | 2.20 | 72.99 | - | 126.61 | 0.73 |
| 青油八号 | 37.84 | 17.89 | 72.41 | - | 127.89 | 0.52 |
| 白花 | 43.25 | 3.90 | 62.35 | - | 108.04 | 0.69 |
| 695 | 39.11 | 3.36 | 86.46 | - | 127.57 | 0.45 |
| 丰油 1 号 | 45.00 | 4.85 | 66.76 | - | 114.81 | 0.67 |
| 平均值 Mean | 44.75 | 6.19 | 73.20 | 0.01 | 123.11 | 0.61 |
| 变幅 Range | 34.46 ~ 57.04 | 0 ~ 16.28 | 59.37 ~ 86.56 | 0 ~ 0.23 | 104 ~ 144.73 | 0.45 ~ 0.77 |

表 4 芥菜型油菜种子油中维生素 E 的组成与含量

Table 4 Seed oil vitamin E composition and content of *B. juncea* Coss.

(mg/100g 油)

| 品种 Varieties | α -生育酚 α -tocopherol | β -生育酚 β -tocopherol | γ -生育酚 γ -tocopherol | δ -生育酚 δ -tocopherol | 总量 Total content | α/γ |
|-----------------|---------------------------------------|-------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------|-----------------|
| 泸西直鱼乡细菜子 | 21.28 | 9.47 | 70.62 | - | 100.51 | 0.30 |
| 师宗黄菜子 | 23.80 | 6.24 | 57.16 | - | 85.87 | 0.42 |
| 丽江卦峰乡黄菜子 | 22.63 | 5.73 | 72.43 | - | 99.33 | 0.31 |
| 霍城黄油菜 | 13.77 | 11.69 | 61.25 | - | 85.12 | 0.22 |
| 昭苏黄油菜 | 17.74 | 11.19 | 66.69 | - | 94.40 | 0.27 |
| 851333 | 31.42 | 6.66 | 67.13 | - | 103.65 | 0.47 |
| 乌兰二牛尾 | 15.89 | 4.47 | 56.76 | - | 75.55 | 0.28 |
| 平均值 Mean | 20.93 | 7.92 | 64.58 | - | 92.06 | 0.32 |
| 变幅 Range | 13.77 ~ 31.42 | 4.47 ~ 11.69 | 57.16 ~ 72.43 | - | 75.55 ~ 103.65 | 0.22 ~ 0.47 |

芸芥种子油中维生素 E 的组成特征是 α -生育酚含量很低, γ -生育酚含量相对较高, 如 α -生育酚平均含量仅为 5.33 mg/100g 油, 而 γ -生育酚平均含

量为 77.54mg/100g 油, 高于甘蓝型、白菜型和芥菜型油菜(表 5)。

表 5 芸芥种子油中维生素 E 的组成与含量

Table 5 Seed oil vitamin E composition and content of *Eruca stiva* Mill.

(mg/100g 油)

| 品种 Varieties | α -生育酚 α -tocopherol | β -生育酚 β -tocopherol | γ -生育酚 γ -tocopherol | δ -生育酚 δ -tocopherol | 总量 Total content | α/γ |
|-----------------|---------------------------------------|-------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------|-----------------|
| 华池芸芥 | 5.41 | 10.54 | 70.02 | 0.22 | 86.18 | 0.08 |
| 静宁芸芥 | 4.43 | 7.51 | 81.19 | 0.64 | 93.77 | 0.05 |
| 卓尼芸芥 | 6.15 | 8.45 | 81.41 | - | 95.99 | 0.08 |
| 平均值 Mean | 5.33 | 8.83 | 77.54 | 0.29 | 91.98 | 0.07 |
| 变幅 Range | 4.43 ~ 6.15 | 7.51 ~ 10.54 | 70.02 ~ 81.41 | 0 ~ 0.64 | 86.18 ~ 95.99 | 0.05 ~ 0.08 |

2.2 油菜种子油中维生素 E 含量与类胡萝卜素含量和含油量的相关性

α -生育酚、 γ -生育酚和维生素 E 总量与类胡萝卜素含量均呈现显著负相关; α -生育酚与含油量呈现显著正相关, 而 γ -生育酚和维生素 E 总量与含油量相关不显著(表 6)。

2.3 油菜种子油中维生素 E 含量与主要农艺性状的相关性

α -生育酚、 γ -生育酚和维生素 E 总量与生育期均呈现显著以上正相关, α -生育酚和维生素 E 总量与株高均呈现显著正相关, 维生素 E 总量与千粒重呈显著正相关, α -生育酚、 γ -生育酚和维生素 E 总量与全株角果数和每角粒数相关不显著(表 7)。

表 6 种子油中维生素 E 含量与类胡萝卜素含量和含油量的相关性

Table 6 Correlation among tocopherol contents, carotenoid content and oil content in 50 rapeseed genotypes

| 性状 Trait | 类胡萝卜素总量 Carotenoid content | | | 含油量 Oil content |
|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|------------------------------|--------------------|
| | α -生育酚 α -tocopherol | γ -生育酚 γ -tocopherol | 维生素 E 总量 Total tocopherol | |
| α -生育酚 α -tocopherol | -0.328* | | | 0.284* |
| γ -生育酚 γ -tocopherol | -0.486** | 0.305* | | -0.087 |
| 维生素 E 总量 Total tocopherol | -0.464** | 0.873** | 0.683** | 0.215 |

*, ** 分别表示 0.05, 0.01 水平上差异显著, 下同。

表 7 种子油中维生素 E 含量与主要农艺性状的相关性

Table 7 Correlation between tocopherol contents and agronomic traits in 50 rapeseed genotypes

| 性状 Trait | 生育期 Growth period | 株高 Plant height | 千粒重 1000 seeds weight | 全株角果数 Number of siliques | 每角粒数 Seeds/silique |
|---------------------------------------|----------------------|--------------------|--------------------------|-----------------------------|-----------------------|
| α -生育酚 α -tocopherol | 0.668** | 0.291* | 0.233 | 0.231 | -0.042 |
| γ -生育酚 γ -tocopherol | 0.274* | 0.179 | 0.167 | 0.210 | -0.032 |
| 维生素 E 总量 Total tocopherol | 0.589** | 0.317* | 0.314* | 0.258 | -0.080 |

3 讨论

研究结果显示,油菜种子油中主要含 α -生育酚和 γ -生育酚,且 α -生育酚、 γ -生育酚和维生素 E 总量存在明显的基因型差异,与 Goffman 等^[10-12] 研究结果一致,说明通过育种提高油菜种子油中维生素 E 总量是可行的。油菜种子油中维生素 E 含量水平与大豆、向日葵相近^[17,19-21]。

α -生育酚是生理活性最强的维生素 E,活性是 γ -生育酚的 10 倍,而 γ -生育酚是抗氧化能力最强的维生素 E,鉴于 α -生育酚和 γ -生育酚是主要的维生素 E 组分,提升油中维生素 E 总量、优化 α/γ -生育酚比率对改良菜子油的生理和理化特性都十分重要^[14]。比较不同种类维生素 E 组成与含量差异,甘蓝型油菜中维生素 E 总量与 α -生育酚含量水平都是最高的, α/γ -生育酚的变幅也最大,这使得高维生素 E 甘蓝型油菜育种更为便利。目前,国外已对控制油菜和拟南芥等植物维生素 E 含量变异的遗传机制进行了较为深入的研究^[11-12,14,22-24],这为高维生素 E 甘蓝型油菜的分子育种创造了有利条件。

α -生育酚、 γ -生育酚和维生素 E 总量与类胡萝卜素含量均呈现显著负相关,这可能与二类化合物在合成中竞争性地利用相同底物有关^[4,7-8,23]。本研究种子油中 α -生育酚与含油量呈现显著正相关, γ -生育酚和维生素 E 总量与含油量相关不显著,而 Goffman 等^[12] 研究中种子中 α -生育酚与含油量相关不显著, γ -生育酚与含油量呈现显著负相关,结果不同,说明种子油中和种子中维生素 E 含量遗传是不同的;但大豆和向日葵种子维生素 E 总量与含油量呈现直线正相关^[19-20];总体看,提高维生素 E 含量与高含油量育种并不矛盾。

值得注意的是, α -生育酚、 γ -生育酚和维生素 E 总量与生育期均呈现显著或极显著正相关,高维生素 E 与早熟育种是否存在矛盾还有待进一步研究;

α -生育酚和维生素 E 总量与株高均呈现显著正相关,维生素 E 总量与千粒重呈显著正相关;而 α -生育酚、 γ -生育酚和维生素 E 总量与全株角果数和每角粒数相关不显著,说明提高维生素 E 含量对主要产量或产量相关性状并无不利影响。

从不同作物维生素 E 分析方法看,HPLC 法目前是最为准确和有效的方法^[17,19,21,25],但这一方法较为复杂耗时,在今后高维生素 E 油菜品质育种中,需要研究建立更为快速、简便和高效的速测方法,如近红外法等。

参考文献

- [1] Grusak M A, DellaPenna D. Improving the nutrient composition of plants to enhance human nutrition and health[J]. *Annu Rev Plant Physiol*, 1999, 50:133-161
- [2] Traber M G, Sies H. Vitamin E in humans: demand and delivery [J]. *Annu Rev Nutr*, 1996, 16:321-347
- [3] Bramley P M, Elmadfa A, Kafatos F J, et al. Vitamin E-a review[J]. *Sci Food Agric*, 2000, 80:913-938
- [4] Brigelius-Flohe R, Traber M G. Vitamin E: function and metabolism[J]. *FASEB J*, 1999, 13:1145-1155
- [5] Fryer M J. The antioxidant effects of thylakoid vitamin E (α -tocopherol) [J]. *Plant Cell Environ*, 1992, 15:381-392
- [6] Kamal-Eldin A, Appelqvist L A. The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols[J]. *Lipids*, 1996, 31: 671-701
- [7] Kruk J, Strzalka K. Occurrence and function of α -tocopherol quinone in plants[J]. *Plant Physiol*, 1995, 145:405-409
- [8] Schultz G. Biosynthesis of α -tocopherol in chloroplasts of higher plants[J]. *Fat Sci Technol*, 1990, 92: 86-90
- [9] Goffman F D, Velasco L, Becker H C. Tocopherols accumulation in developing seeds and pods of rapeseed (*Brassica napus*) [J]. *Lipid-Fett*, 1999, 101:400-403
- [10] Goffman F D, Becker H C. Diallel analysis for tocopherol contents in seeds of rapeseed[J]. *Crop Sci*, 2001, 41:1072-1079
- [11] Goffman F D, Becker H C. Genetic analysis of tocopherol content and composition in winter rapeseed [J]. *Plant Breeding*, 2001, 120:182-184
- [12] Goffman F D, Becker H C. Genetic variation of tocopherol content in a germplasm collection of *Brassica napus* L. [J]. *Euphytica*, 2002, 125:189-196
- [13] Kumar R, Raclaru N, SchBelar T, et al. Characterisation of plant tocopherol cyclases and their overexpression in transgenic

(下转第 645 页)

建提供一个最便捷、最有效的方法。结果表明云新核桃中的 Y7 和 Y10 具有相同的指纹印记,遗传相似度最高,通过田间初步评价,这 2 份材料从表型和生物学特性基本一致,因此推断这 2 个样本可能种质相同,可以视为同一份种质材料。

此外,在这 61 份核桃资源中,陕西核桃居群遗传多样性程度最高,其多态位点百分率、基因多样性指数和 Shannon 信息指数分别为 66.29%、0.2111 和 0.3239,通过聚类分为 II 和 III 2 个组,S64 和 S85 单独聚为一组,表明其遗传信息与其他陕西核桃存在着差异,具有独特的基因资源,而元丰核桃居群遗传分化程度最低,其多态位点百分率和基因多样性指数分别为 25.84% 和 0.0927。因此在进行核心种质构建的过程中,应充分考虑到不同居群的遗传多样性和遗传分化程度,以最少的材料保存最大的遗传资源,以避免重复、减少缺失。

参考文献

- [1] 郝荣庭,张毅萍.中国果树志核桃卷[M].北京:中国林业出版社,1996:47-53
- [2] Fjellstrom R C, Parfitt D E. RFLP inheritance and linkage in walnut [J]. *Theor Appl Genet*, 1994, 89: 665-670
- [3] Nicese F P, Hormaza J I, Mcgrarahan G H. Molecular characterization and genetic relatedness among walnut (*Juglans regia* L.) genotypes based on RAPD markers [J]. *Euphytica*, 1998, 101 (2): 199-206
- [4] Potter D, Gao F Y, Aiello G, et al. Intersimple sequence repeat markers for fingerprinting and determining genetic relationships of Walnut (*Juglans regia*) cultivars [J]. *J Am Soc. Hort. Sci*, 2002, 127(1): 75-81
- [5] Gerald S. Dang L, Keith W, et al. Characterization of 14 microsatellite markers for genetic analysis and cultivar identification of Walnut [J]. *J Am Soc Hort Sci*, 2005, 130(3): 348-354
- [6] Bayazit S, Kazan K, Gulbitti S, et al. AFLP analysis of genetic diversity in low chill requiring walnut (*Juglans regia* L.) genotypes from Hatay, Turkey [J]. *Scientia Horticulturae*, 2007, 111: 394-398
- [7] 吴燕民,刘英,董凤祥,等.应用 RAPD 对我国栽培核桃不同地理生态型的研究[J].北京林业大学学报,2000,22(5): 23-27
- [8] 王滑,郝俊民,王宝庆,等.中国核桃 8 个天然居群遗传多样性分析[J].林业科学,2007,43(7):120-124
- [9] 陈良华,胡庭兴,张帆,等.用 AFLP 技术分析四川核桃资源的遗传多样性[J].植物生态学报,2008,32(6):1362-1372
- [10] 杨克强,马明,孙彩玲,等.核桃早实基因的 RAPD 标记及其序列分析研究[J].中国农业科学,2007,40(9):2021-2027
- [11] 朱元娣,李光晨,李春雨,等.苹果柱型基因的 ISSR 分子标记研究[J].园艺学报,2003,30(5):505-510
- [12] 易琼,殷海滨,龚丽琼,等.8 个云南主要栽培梨品种亲缘关系的 ISSR 分析[J].安徽农业科学,2009,37(2):506-509
- [13] Fang D Q, Roose M L. Identification of closely related citrus cultivars with inter-simple sequence repeat markers [J]. *Theor Appl Genet*, 1997, 95(3): 408-417
- [14] 艾呈祥,张力思,李国田,等. ISSR 标记对 34 份樱桃种质资源的遗传分析[J].中国农学通报,2008,24(4):47-51
- [15] 艾呈祥,张力思,魏海蓉,等.山东实生板栗居群遗传多样性 ISSR 分析[J].生物工程学报,2007,23(4):628-633
- [16] 孙芳,杨敏生,张军,等.刺槐不同居群遗传多样性的 ISSR 分析[J].植物资源遗传学报,2009,10(1):91-96
- [17] 黄文霞,何仪,何觉民,等.高效能源植物绿玉树种质资源遗传多样性的 ISSR 分析[J].植物遗传资源学报,2010,11(4): 487-490
- [18] 刘本英,王丽鸳,周健,等.云南大叶种茶树种质资源 ISSR 指纹图谱构建及遗传多样性分析[J].植物遗传资源学报, 2008,9(4):458-464
- [19] Doyle J J, Doyle J H. Isolation of plant DNA from fresh tissue [J]. *Focus*, 1990, 12: 13-15
- [20] Ai C X, Li C T, Zhang L S, et al. Study on the Genetic Diversity of Natural Chestnut Populations in Shandong China by SSR Markers [J]. *Acta Hort*, 2009, 844: 257-266
- [21] Wright S. Evolution in mendelian population [J]. *Genetics*, 1931, 16: 97-159
- [22] 徐崇志,廖胜刚.分子标记技术在果树种质资源及遗传育种研究中的应用[J].塔里木大学学报,2006,18(3):39-44
- [23] Foroni I, Woeste K, Monti L M, et al. Identification of 'Sorrento' walnut using simple sequence repeats (SSRs) [J]. *Genet Resour Crop Evol*, 2007, 54: 1081-1094
- [20] 董贵俊,刘公社,潘卫东.向日葵种质资源维生素 E 含量及相关变量的初步评价[J].植物遗传资源学报,2005,6(2): 178-181
- [21] 王丽,宋志峰,金卫东,等.栽培大豆与野生大豆维生素 E 含量的比较分析[J].作物杂志,2005(5):23-24
- [22] Gilliland L U, Magallanes Lundback M, Hemming C, et al. Genetic basis for natural variation in seed vitamin E levels in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103: 18834-18841
- [23] Sattler S E, Gilliland L U, Magallanes Lundback M, et al. Vitamin E is essential for seed longevity and for preventing lipid peroxidation during germination [J]. *Plant Cell*, 2004, 16, 1419-1432
- [24] Shintani D, DellaPenna D. Elevating the vitamin E content of plants through metabolic engineering [J]. *Science*, 1998, 282: 2098-2100
- [25] 李国营,范志影,刘方,等.高效液相色谱法测定谷子种质资源中维生素 E 的研究[J].中国农业科技导报,2009,11(1): 129-133

(上接第 639 页)

Brassica napus seeds [J]. *FEBS Letters*, 2005, 579: 1357-1364

- [14] Marwede V, Gul M K, Becker H C, et al. Mapping of QTL controlling tocopherol content in winter rapeseed [J]. *Plant breeding*, 2005, 124: 20-26
- [15] Raclaru M, Gruber J, Kumar R, et al. Increase of the tocopherol content in transgenic *Brassica napus* seeds by overexpression of key enzymes involved in prenylquinone biosynthesis [J]. *Mol Breeding*, 2006, 18: 93-107
- [16] Sattler S E, Cheng Z, DellaPenna D. From Arabidopsis to agriculture: Engineering improved vitamin E content in soybean [J]. *Trends Plant Sci*, 2004, 9: 365-367
- [17] 李桂华,代红丽,傅黎敏.高压液相色谱测定我国大豆种子中维生素 E 含量 [J]. 中国粮油学报, 2006, 21(3): 292-295
- [18] 高桂珍,伍晓明,陆光远,等.油菜种子类胡萝卜素总量测定方法的研究 [J]. 植物遗传资源学报, 2005, 6(4): 414-417
- [19] 王丽,宋志峰,纪锋,等.高效液相色谱法测定大豆中的维生素 E 含量及其与粗脂肪含量的线性回归分析 [J]. 大豆科学, 2006, 25(2): 113-117

HPLC法分析油菜种子油中维生素E的组成与含量

作者: 吕培军, 薛蕾, 伍晓明, 高桂珍, 李丹, 陈碧云, 许鲲, 闫贵欣, LV Pei-jun, XUE Lei, WU Xiao-ming, GAO Gui-zhen, LI Dan, CHEN Bi-yun, XU Kun, YAN Gui-xin
作者单位: 中国农科院油料作物研究所/农业部油料作物生物学重点开放实验室, 湖北武汉, 430062
刊名: 植物遗传资源学报 ISTIC PKU
英文刊名: Journal of Plant Genetic Resources
年, 卷(期): 2011, 12(4)

参考文献(25条)

1. 李国营;范志影;刘方 [高效液相色谱法测定谷子种质资源中维生素E的研究](#) 2009(01)
2. Shintani D;DellaPenna D [Elevating the vitamin E content of plants through metabolic engineering](#) 1998
3. Sattler S E;Gilliland L U;Magallanes Lundback M [Vitamin E is essential for seed longevity and for preventing lipid peroxidation during germination](#) 2004
4. Gilliland L U;Magallanes Lundback M;Hemming C [Genetic basis for natural variation in seed vitamin E levels in Arabidopsis thaliana](#) 2006
5. 王丽;宋志峰;金卫东 [栽培大豆与野生大豆维生素E含量的比较分析](#) 2005(05)
6. 董贵俊;刘公社;潘卫东 [向日葵种质资源维生素E含量及相关变量的初步评价](#) 2005(02)
7. 王丽;宋志峰;纪锋 [高效液相色谱法测定大豆中的维生素E含量及其与粗脂肪含量的线性回归分析](#) 2006(02)
8. 高桂珍;伍晓明;陆光远 [油菜种子类胡萝卜素总量测定方法的研究](#) 2005(04)
9. Kumar R;Raclaru N;SchBeler T [Characterisation of plant tocopherol cyclases and their overexpression in transgenic Brassica napus seeds](#) 2005
10. Goffman F D;Becker H C [Genetic variation of tocopherol content in a germplasm collection of Brassica napus L](#) 2002
11. Goffman F D;Becker H C [Genetic analysis of tocopherol content and composition in winter rapeseed](#) 2001
12. Goffman F D;Becker H C [Diallel analysis for tocopherol contents in seeds of rapeseed](#) 2001
13. Goffman F D;Velasco L;Becker H C [Tocopherols accumulation in developing seeds and pods of rapeseed \(Brassica napus\)](#) 1999
14. 李桂华;代红丽;傅黎敏 [高压液相色谱测定我国大豆种子中维生素E含量](#) 2006(03)
15. Sattler S E;Cheng Z;DellaPenna D [From Arabidopsis to agriculture:Engineering improved vitamin E content in soybean](#) 2004
16. Raclaru M;Gruber J;Kumar R [Increase of the tocopherol content in transgenic Brassica napus seeds by overexpression of key enzymes involved in prenylquinone biosynthesis](#) 2006
17. Marwede V;Gul M K;Becker H C [Mapping of QTL controlling tocopherol content in winter rapeseed](#) 2005
18. Schultz G [Biosynthesis of \$\alpha\$ -tocopherol in chloroplasts of higher plants](#) 1990
19. Kruk J;Strzalka K [Occurrence and function of \$\alpha\$ -tocopherol quinone in plants](#) 1995
20. Grusak M A;DellaPenna D [Improving the nutrient composition of plants to enhance human nutrition and health](#) 1999
21. Kamal-Eldin A;Appelqvist L A [The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols](#) 1996
22. Fryer M J [The antioxidant effects of thylakoid vitamin E \(\$\alpha\$ -tocopherol\)](#) 1992
23. Brigelius-Flohe R;Traber M G [Vitamin E: function and metabolism](#) 1999
24. Bramley P M;Elmadfa A;Kafatos F J [Vitamin E—a review](#) 2000
25. Traber M G;Sies H [Vitamin E in humans: demand and delivery](#) 1996