



植物遗传资源学报

Journal of Plant Genetic Resources

ISSN 1672-1810, CN 11-4996/S

## 《植物遗传资源学报》网络首发论文

题目：油茶种仁脂肪酸代谢关键基因的挖掘与分析  
作者：成新琪，吴诗颖，李欣悦，刘文超，刘宏涛，胡孝明，朱华国  
DOI：10.13430/j.cnki.jpgr.20240619003  
收稿日期：2024-06-19  
网络首发日期：2024-09-02  
引用格式：成新琪，吴诗颖，李欣悦，刘文超，刘宏涛，胡孝明，朱华国. 油茶种仁脂肪酸代谢关键基因的挖掘与分析[J/OL]. 植物遗传资源学报.  
<https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20240619003>



**网络首发：**在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

**出版确认：**纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188，CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

## 油茶种仁脂肪酸代谢关键基因的挖掘与分析

成新琪, 吴诗颖, 李欣悦, 刘文超, 刘宏涛, 胡孝明, 朱华国

(黄冈师范学院生物与农业资源学院/经济林木种质改良与资源综合利用湖北省重点实验室, 湖北黄冈, 438000)

**摘要:** 为挖掘油茶含油量及脂肪酸代谢的关键基因, 对三个关键发育时期的油茶种仁进行转录组分析, 并对富集的脂肪酸代谢关键基因表达量、含油量和各脂肪酸组分比例进行相关性分析。转录组分析表明, 共获得 17772 个差异表达基因(Differentially expressed genes, DEGs), 其中 11006 个基因上调表达, 6766 个基因下调表达。GO (Gene Ontology)分析表明, 三个比较组共有 1302 个 DEGs 富集到 195 个 GO terms, 每个比较组特有的 DEGs 分别富集到 14、1 和 17 个 GO terms。KEGG 分析显示, 三个比较组共有 DEGs 富集在类黄酮生物合成、苯丙烷生物合成、二芳基庚烷和姜酚生物合成、黄酮和黄酮醇生物合成以及谷胱甘肽代谢 5 条通路中。此外, 在脂肪酸合成关键时期的 Em0707vsEm1003 比较组中, DEGs 富集在脂肪酸生物合成、脂肪酸代谢、生物素代谢和丙酮酸代谢 4 条通路中, 其中 12 个 DEGs 基因参与脂肪酸代谢通路; 进一步测定不同时期种仁含油量和脂肪酸组分, 并进行相关性分析表明, ACC、KASIII、PATE、KAT2 和 SAD 基因的表达量与种仁含油量和 C18:1n-9c 呈显著正相关, KASIII、ACC、PATE 和 KAT2 基因与 C16:0 呈显著负相关性, 可能是调控油茶含油量及脂肪酸代谢相关的关键基因, 上述研究为油茶遗传改良提供了科学依据。

**关键词:** 油茶; 脂肪酸; 转录组; 基因表达; 相关性

## Exploration and Analysis of Key Genes Involved in Fatty Acid Metabolism in *Camellia oleifera* Seeds Kernel

CHENG Xinqi, WU Shiyang, LI Xinyue, LIU Wenchao, LIU Hongtao, HU Xiaoming, ZHU Huaguo

(College of Biology and Agricultural Resources, Huanggang Normal University/Hubei Key Laboratory of Economic Forest Germplasm Improvement and Resources Comprehensive Utilization, Huanggang 438000, Hubei)

**Abstract:** To explore the key genes involved in oil content and fatty acid metabolism in *Camellia oleifera*, transcriptome analysis was performed on the kernel of *camellia oleifera* at three key developmental stages, and correlation analysis was conducted on the expression levels, oil content, and proportion of each fatty acid component of the enriched fatty acid metabolism key genes. Transcriptome analysis showed that 17772 differentially expressed genes (DEGs) were obtained, of which 11006 genes were up-regulated, 6766 genes were down-regulated. GO (Gene Ontology) analysis showed that a total of 1302 DEGs were enriched with 195 GO terms in the three comparative groups, the unique DEGs were enriched with 14, 1, and 17 GO terms in each comparative group, respectively. KEGG analysis showed that the three comparative groups had DEGs enriched in Flavonoid biosynthesis, Phenylpropanoid biosynthesis, Diarylheptanoid and gingerol biosynthesis, and Glutathione metabolism at five pathways. In addition, in the Em0707vsEm1003 comparison group during the critical period of fatty acid synthesis, DEGs were enriched in four pathways of fatty acid biosynthesis, fatty acid metabolism, biotin metabolism and pyruvate metabolism, among which 12 DEGs genes involved in the fatty acid metabolism pathway; further determination of oil content and fatty acid composition in different stages of seed kernels, and correlation analysis showed that the expression levels of ACC, KASIII, PATE, KAT2 and SAD genes were significantly positively correlated with seed oil content and C18:1n-9c, while KASIII, ACC, PATE, and KAT2 genes were significantly negatively correlated with C16:0. They may be key

收稿日期: 2024-06-19

第一作者研究方向为植物遗传改良, E-mail: 360028055@qq.com

通信作者: 朱华国, 研究方向为作物遗传改良及生物技术利用, E-mail: zhuhuaguo@hgnu.edu.cn

基金项目: 国家自然科学基金(31660427); 湖北省教育厅科学技术研究项目(Q20222903); 湖北省中央引导地方科技发展专项(2022BGE229); 黄冈师范学院高级别重大项目培育计划项目(204202314304)

**Foundation projects:** National Natural Science Foundation of China(31660427); Hubei Provincial Department of Education Science and Technology Research Foundation (Q20222903); Hubei Provincial Central Leading Local Science and Technology Development Special Foundation (2022BGE229); High level Major Project Cultivation Plan Foundation of Huanggang Normal University (204202314304)

genes regulating oil content and fatty acid metabolism in *Camellia oleifera*, the above research provides a scientific basis for genetic improvement of *Camellia oleifera*.

**Key words:** *Camellia oleifera*; fatty acids; transcriptome; gene expression; correlation

油茶(*Camellia oleifera* Abel)是中国特有的木本食用油料树种, 与油橄榄(*Olea europaea* L.)、油棕(*Elaeis guineensis* Jacq.)和椰子(*Cocos nucifera* L.)并称为世界四大木本油料植物, 与油桐(*Vernicia fordii*)、乌桕(*Sapium sebiferum* L.)和核桃(*Juglans regia* L.)并称为中国四大木本油料植物。茶油含有 90% 以上的不饱和脂肪酸, 主要成分油酸和亚油酸是人体不可或缺但自身不能合成的多不饱和脂肪酸, 具有调节血压和抗氧化的作用, 还能有效地预防高血压、冠心病等疾病, 是世界上最优质的食用植物油之一<sup>[1-2]</sup>; 此外, 含有黄酮类与角鲨烯等物质, 具有极佳的抗炎、抗癌效果<sup>[3]</sup>。

在高等植物中, 脂肪酸从头生物合成主要发生在质体中。乙酰-CoA 羧化酶 (acetyl-CoA carboxylase, ACC) 作为脂肪酸生物合成的起始酶, 将乙酰-CoA 羧化成丙二酸单酰-CoA, 再在丙二酸单酰 CoA-ACP 转酰基酶 (MCAT) 催化丙二酸单酰-CoA 的转酰基作用, 生成丙二酸单酰-ACP。丙二酸单酰-ACP 在酮酰-ACP 合酶 (KAS) 和酮酰-ACP 还原酶 (KAR) 作用下生成羟丁醇-ACP 和 NADP<sup>+</sup>。在脂肪酸合成中, 通过“缩合-还原-脱水-还原”的循环反应, 每次增加两个碳来形成酰基碳链, 最终生成棕榈酰-ACP (C16:0-ACP), 在  $\beta$ -酮脂酰 ACP 合成酶 II ( $\beta$ -ketoacyl-acyl carrier protein synthase II, KASII) 的作用下, C16:0-ACP 将延伸两个碳形成硬脂酰-ACP (C18:0-ACP), 大部 C18:0-ACP 被  $\Delta^9$ -硬脂酰-脱氢 ACP 脱氢酶 ( $\Delta^9$ -stearoyl-ACP-desaturase, SAD) 产生单不饱和 C18:1-ACP。在内质网中,  $\Delta^{12}$ -脂肪酸去饱和酶 ( $\Delta^{12}$ -fatty acid desaturase, FAD2) 是单不饱和油酸 (C18:1) 向多不饱和脂肪酸亚油酸 (C18:2) 转变的关键基因, 直接影响高等植物体内亚油酸含量和比例<sup>[4]</sup>。

目前, 关于油茶脂肪酸代谢的研究越来越多。Zeng 等<sup>[5]</sup>发现 *CoFBA* 和 *CoSAD* 基因控制了茶油产量及油酸的合成, 而 *CoFAD2* 基因可能影响茶油中的脂肪酸组成。林萍等<sup>[6]</sup>通过转录组测序技术发现 *CoFAD2-2* 基因是调控底物油酸和产物亚油酸相对含量的关键基因。吕晓杰等<sup>[7]</sup>研究发现, *ACCase*、*KASIII*、*LACS2* 和 *GPAT4* 等四个基因随着油茶籽的成熟, 其表达水平呈上升趋势, 且与种仁的含油量的变化趋势相一致。Lin 等<sup>[8]</sup>利用转录组技术研究发现, 脂肪酸去饱和酶 (*FADs*) 和硬脂酰-ACP 去饱和酶 (*SADs*) 基因作为调控油酸生物合成的关键酶基因, 参与了油茶成熟后期油酸的积累过程。张帆航<sup>[9]</sup>发现 *ACCase*、*MCAT*、*ACPR*、*AR*、*ACPS*、*FabZ*、*SAD*、*FAT*、*LACS* 等 9 个蛋白家族的 26 个基因参与了脂肪酸生物合成。此外, Wu 等<sup>[10]</sup>发现了 *ABI3*、*FUS3*、*LEC1*、*WR11*、*TTG2* 和 *DoF4.6* 等 6 个关键 TFs 在油茶种子发育过程中发挥着重要作用, Wang 等<sup>[11]</sup>进一步研究发现, *ERF*、*GRAS*、*GRF*、*MADS*、*MYB*、*WRKY* 等转录因子可能参与脂肪酸的合成及细胞内脂质的转运。最近, 沈军等<sup>[12]</sup>采用定量蛋白质组学技术对油茶‘闽 43’成熟过程中 3 个时期的籽仁进行分析, 研究发现不饱和脂肪酸含量的调控与油脂代谢相关蛋白表达模式和酶活性的变化密切相关, 硬脂酰-ACP 去饱和酶 (*SAD*) 和胆碱激酶 (*CK*) 蛋白表达量的下调, 可能与不饱和脂肪酸生成速率减缓有关。上述研究结果为深入认识茶油脂肪酸代谢提供了

重要见解。

本研究采集‘长林 40 号’三个不同发育时期油茶种仁进行转录组分析，同时对富集获得的脂肪酸代谢相关差异基因表达量、三个发育时期的种仁含油量和各脂肪酸组分比例进行相关性分析，挖掘分析油茶脂肪酸合成与代谢关键基因，可为油茶遗传改良、新品种选育和分子育种提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

研究材料采集于湖北省黄冈市黄梅县湖北省林业科学研究院油茶林基地，基地地理坐标为东经 115°59′，北纬 30°9′，实验材料‘长林 40 号’作为湖北省长林系列主栽品种，具有长势旺、抗性强，高产、稳产且极少染病的特点。分别选取 7 月 7 日、8 月 14 日和 10 月 3 日的‘长林 40 号’油茶果实，将其分别命名为 Em0707、Em0814 和 Em1003，剥去果皮和种壳，液氮速冻，保存于 -80 °C 中用于转录组测序、含油量和脂肪酸组分分析。

### 1.2 RNA 提取、文库构建和 RNA 测序

采集三个时期的油茶种仁，送往北京贝瑞和康生物技术有限公司进行转录组测序。通过纳米分光光度计和安捷伦 2100 生物分析仪测定 RNA 样品的纯度和完整性。通过 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 完整性。每个样品总共使用 3 μg 总 RNA 用于文库的制备(每个时期设置 3 个生物重复)。使用 Illumina HiSeq 4000 测序平台进行测序。

### 1.3 数据处理

FASTq 格式的原始数据使用 Perl 脚本进行处理以确定数据的质量，包括 GC 含量、Q20 比例和 Q30 比例。过滤并消除低质量数据，获得过滤后的数据用于后续分析。从二倍体油茶数据库下载基因模型注释文件([https://github.com/Hengfu-Yin/CON\\_genome\\_data](https://github.com/Hengfu-Yin/CON_genome_data))作为参考基因组。HTSeq v0.9.1 用于计数映射到每个基因的读数，然后根据基因的长度计算每个基因的 FPK。使用 TopHat v2.0.12 将生成的过滤数据对比到油茶基因组上。使用 Cufflinks 软件计算 FPKM 单个基因的表达水平。通过 DESeq 软件用于确定负二项分布差异表达基因(DEGs)，并利用 Benjamini 和 Hochberg 方法计算错误发现率(false discovery rate, FDR)以及  $q_{value}$  (校正后的  $p_{value}$ )。使用 DESeq R 软件包 (1.18.0) 对 3 个重复进行差异表达分析， $|\log_2(\text{Fold Change})| \geq 2$  且  $q_{value} < 0.05$  用作样本中 DEGs 识别的阈值。

### 1.4 DEGs 和 KEGG 通路的功能注释

Cluster Profiler R 软件用于 GO 功能富集分析，利用二倍体油茶数据库([https://github.com/Hengfu-Yin/CON\\_genome\\_data](https://github.com/Hengfu-Yin/CON_genome_data))对 DEGs 进行功能注释， $q_{value} < 0.05$  用作样本中 GO 功能显著富集的筛选标准。通过 KOBAS 2.0 软件对 KEGG 富集通路进行分析，以拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) TAIR10 版本数据库对 DEGs 进行近源 Blast 和富集通路注释。挑选  $q_{value}$  值富集程度排名前 20 的通路进行统计作图，所有 KEGG 通路显著富集的阈值为  $q_{value} < 0.05$ ，满足上述条件的定义为显著富集。OmicShare Tools 软件进行基因表达量热图分析。

### 1.5 qRT-PCR 分析

使用 Trizol 试剂提取样品中总 RNA, 利用 NCBI Primer-BLAST 在线软件设计特异性引物(表 1)。使用 Power SYBR Green Master 在 Roche Light Cycler 480 系统上进行 qRT-PCR, 反应如下: 94°C 预变性 2 min, 94°C 20 s, 40 个循环, 58°C 20 s, 72°C 20 s。以 *CoEF1 $\alpha$*  用作油茶内参基因<sup>[13]</sup>, 2<sup>- $\Delta$ ct</sup> 方法用于评估相对定量变化, 实验进行 3 次生物重复。

表 1 qRT-PCR 引物列表

Table 1 qRT-PCR primers list

基因	正向引物序列 (5'-3')	反向引物序列 (5'-3')
Gene	Forward primer sequence (5'-3')	Reverse primer sequence (5'-3')
<i>CoEF1<math>\alpha</math></i>	CACGATCACTGGTACCTCACAG	ACCCACCCAATGAAGCAAG
<i>SAD</i>	TACCTATCTGGGCGTGTGGA	ATGGAACGGTGCGTACTTGT
<i>KASIII</i>	CACCAGAGCGGGTCATTCT	TGATTGCACCTTCCCACCTC
<i>PATE</i>	TGGAGCTGTTAGCACACAG	CCTGATGCTCCAACCCATGT
<i>KAR</i>	GAGCTTCCATGGCTGCTTCT	GCCGGTGATCGGAGAGAAAT
<i>ACC</i>	CGGAGGTTTTGGATCAGCCT	CCTGCCTTAGCAACCTCCAA
<i>SDR</i>	GAAGGTACGGCCAACCAGAA	GGGCCTGCACAAACCTCTAT

## 1.6 油茶种仁脂肪酸组成分析

试剂配制: 5% (体积百分比) 浓硫酸/甲醇溶液; 5 mg/mL 碳十七脂肪酸甲酯/石油醚 (90~120°C) 溶液; 0.9% (质量百分比) NaCl/水溶液。

对油茶种仁进行清洁、干燥和研磨。通过 0.5 mm 筛过筛后, 称重 1 g 样品粉末转移至提取瓶中, 加入内标 100  $\mu$ L (碳十七脂肪酸甲酯, 5 mg/mL), 再加入 5% 浓硫酸/甲醇溶液 2 mL, 甲苯 300  $\mu$ L。用压盖器将顶空瓶用带聚四氟乙烯垫的铝盖封好, 将上述混合物轻微晃动混匀, 然后于恒温水浴锅中 95°C 水浴 1.5 h 提取; 提取结束后取出冷却至室温, 加入 0.9% NaCl 溶液 2 mL, 稍微振荡, 用 1 mL 正己烷萃取, 离心 (5000 r/min, 5 min) 分层, 取上清于上样瓶中进行气相色谱分析。气相色谱仪的工作条件: FID 氢火焰离子化检测器, DB-FastFAME 色谱柱, 进样口温度 250°C, 分流比 20:1, 检测器温度 260°C, 色谱柱初温 80°C, 保持 0.5 min, 以 40°C/min 程序升温至 165°C, 保持 1 min, 以 4°C/min 程序升温至 230°C, 并在此温度下维持 6 min。油脂含量 = (S1/S2)  $\times$  N/M, S1-总峰面积; S2-内标峰面积; N-内标用量; M-样本质量。利用 SPSS 11.5 软件对数据进行相关性分析。

## 2 结果与分析

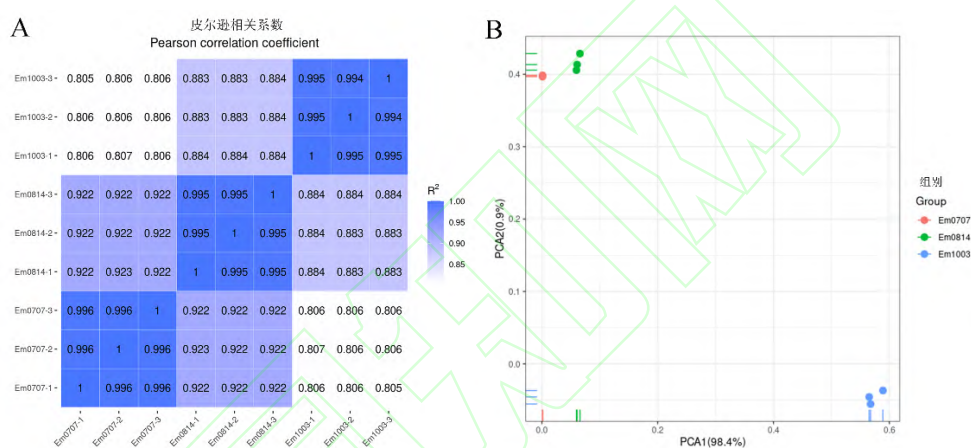
### 2.1 转录组数据分析

9 个文库 (3 个发育时期  $\times$  3 个生物重复) 测序的原始数据进一步精细过滤, 共产生 416635122 个过滤后的数据, 过滤后的碱基数 62495268300 bp, GC 含量的平均值为 46.26%, Q20 和 Q30 平均比例分别为 96.81% 和 92.15% (表 2)。不同样本之间皮尔相关系数的热图显示, 3 个重复之间的系数为 0.994~0.9996 (图 1A), 主成分分析 (Principal Component Analysis, PCA) 表明, 不同时期的重复之间差异较小 (图 1B), 所有数据显示, 测序结果可靠, 能够用于后续的分析。

表 2 数据产出和质量统计

**Table 2 Transcriptome sequencing data quality and genome mapping**

样品 Sample	过滤后数据 Clean Reads	过滤后碱基数 Clean bases (bp)	GC 含量 (%) GC content (%)	Q20 比例 (%) Q20 ratio (%)	Q30 比例 (%) Q30 ratio (%)
Em0707-1	39335052	5900257800	45.69	96.86	92.17
Em0707-2	50018672	7502800800	45.74	96.74	91.84
Em0707-3	49993570	7499035500	45.71	96.76	92.05
Em0814-1	45610422	6841563300	45.22	96.98	92.50
Em0814-2	43330344	6499551600	45.30	96.96	92.43
Em0814-3	48184132	7227619800	45.31	96.86	92.28
Em1003-1	48376708	7256506200	47.73	96.72	91.99
Em1003-2	45230518	6784577700	47.70	96.94	92.48
Em1003-3	46555704	6983355600	47.92	96.46	91.65
总计 Total	416635122	62495268300	46.26	96.81	92.15



A: 样本之间皮尔逊相关系数热图; B: 样本之间主成分分析

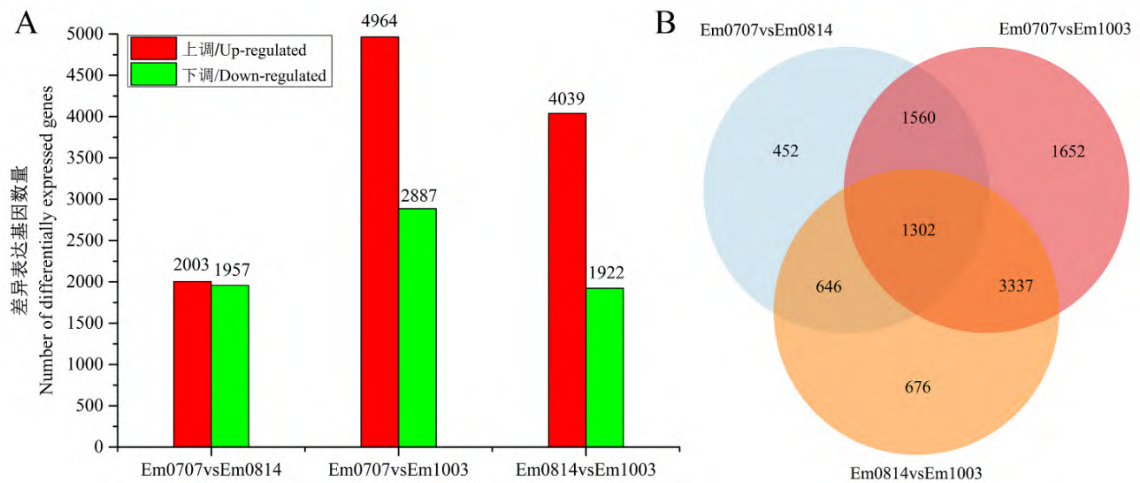
A: Heat map of Pearson correlation coefficient between samples; B: Principal component analysis between samples

**图 1 样本之间皮尔逊相关系数热图和主成分分析**

**Fig. 1 Heat map of Pearson correlation coefficient and Principal Component Analysis between samples**

## 2.2 差异表达基因分析

利用 DESeq 软件分析差异表达基因 (DEGs) 显著性, 分析参数为  $|\log_2(\text{Fold Change})| \geq 2$  且  $q_{\text{value}} < 0.05$ 。三个不同发育时期种仁中, 共获得 17772 个 DEGs, 在这些 DEGs 中, 上调表达的基因有 11006 个 (61.93%), 下调表达的基因有 6766 个 (38.07%), 其中每个时期上调表达的 DEGs 数量高于下调表达的 DEGs 数量, 并且在 Em0707vsEm1003 中 DEGs 数量最多 (图 2A)。韦恩图显示, 去除重复后共获得 9625 个 DEGs, 其中三个比较组共有的 DEGs 有 1302 个, 在 Em0707vsEm0814、Em0707vsEm1003 和 Em0814vsEm1003 中每个比较组特有的 DEGs 分别为 452 个、1652 个和 676 个 (图 2B)。



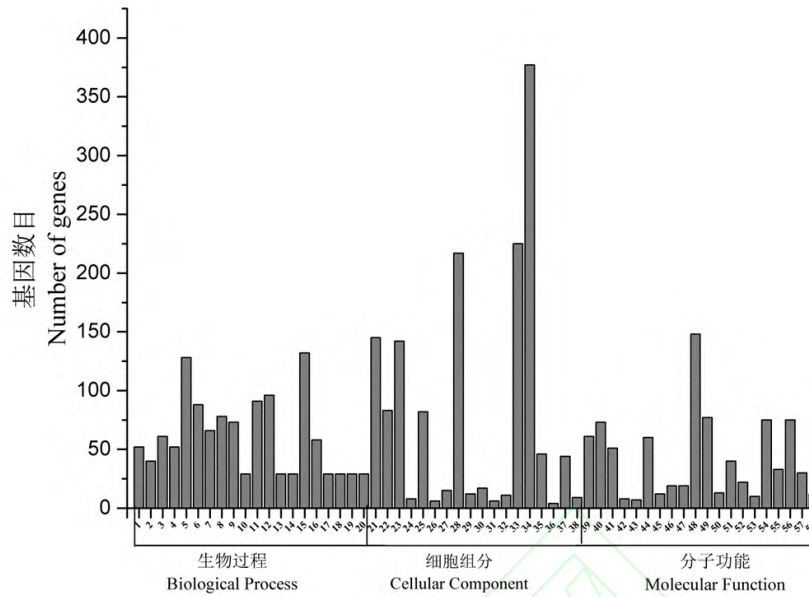
A: 种仁三个发育时期上调或下调的 DEGs 数量; B: 维恩图显示在不同种仁发育时期共有的 DEGs 或每个发育阶段特有的 DEGs  
A: The number of DEGs that were up-regulated or down-regulated in the three seed kernel development stages; B: Venn diagram showing DEGs overlapping in different seed kernel development stages or unique to each developmental stage

图 2 差异表达基因的数量和分布

Fig. 2 The number and distribution of differentially expressed genes

### 2.3 差异表达基因的 GO 富集分析

用  $q_{value} < 0.05$  为筛选标准, 对三个比较组共有的 DEGs 和每个比较组特有的 DEGs 进行 GO (Gene Ontology) 富集分析。三个比较组共有的 1302 个 DEGs 中, 共获得 195 个 GO terms, 选取富集最显著的 20 条 GO terms 进行分析, 结果显示, 生物过程方面主要富集半纤维素代谢过程、木聚糖代谢过程、细胞壁大分子代谢过程、细胞壁多糖代谢过程和次生代谢过程等代谢过程等; 细胞组分方面主要富集于外部封装结构、植物型细胞壁、细胞壁、单层包围脂质储存体和质外体等; 分子功能主要富集在葡糖转移酶、转移酶活性, 转移己糖基、UDP 葡糖基转移酶活性、木聚糖 O-乙酰转移酶活性和茉莉酰基-异亮氨酸-12-羟化酶活性等催化活性方面(图 3)。对每个比较组特有的 DEGs 进行 GO 富集分析显示, Em0707vsEm0814 中 452 个特有的 DEGs 共富集 14 个 GO terms, 包括 10 个生物过程和 4 个分子功能; Em0707vsEm1003 中 1652 个特有的 DEGs 富集 1 个分子功能方面的 GO terms, 为 3-氧代酰基-酰基载体蛋白还原酶(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase, NADPH)活性; Em0814vsEm1003 中 676 个特有的 DEGs 共富集了 17 个 GO terms, 包括 10 个生物过程和 7 个分子功能(表 3)。



1: 半纤维素代谢过程; 2: 木聚糖代谢过程; 3: 细胞壁大分子代谢过程; 4: 细胞壁多糖代谢过程; 5: 次生代谢过程; 6: 苯丙烷代谢过程; 7: 类黄酮生物合成过程; 8: 苯丙素生物合成过程; 9: 类黄酮代谢过程; 10: 木聚糖生物合成过程; 11: 植物型细胞壁组织或生物发生; 12: 次生代谢产物生物合成过程; 13: 对冻结的反应; 14: 细胞壁多糖生物合成过程; 15: 细胞壁组织或生物发生; 16: 植物型细胞壁组织; 17: 细胞壁大分子生物合成过程; 18: 细胞组分大分子生物合成过程; 19: 黄酮醇代谢过程; 20: 黄酮代谢过程; 21: 外部封装结构; 22: 植物型细胞壁; 23 细胞壁; 24: 单层包围的脂质储存体; 25: 质外体; 26: 核小体; 27: 脂滴; 28: 细胞外区; 29:DNA 包装复合体; 30: 蛋白质-DNA 复合物; 31: 中央液泡; 32: 核小体; 33: 膜的固有成分; 34: 细胞外围; 35: 植物型液泡; 36:MCM 复合体; 37: 质膜的固有成分; 38: 蛋白质储存液泡; 39: 葡萄糖基转移酶活性; 40: 转移酶活性; 41:UDP 葡萄糖基转移酶活性; 42: 木聚糖 O-乙酰转移酶活性; 43: 茉莉酰基-异亮氨酸-12-羟化酶活性; 44:UDP 糖基转移酶活性; 45:黄酮醇 3-O-葡萄糖基转移酶活性; 46: 反式玉米素 O-β-D-葡萄糖基转移酶活性; 47: 顺式玉米素 O-β-D-葡萄糖基转移酶活性; 48: 氧化还原酶活性; 49: 转移酶活性, 转移糖基; 50: 东莨菪内酯葡萄糖基转移酶活性; 51: 单加氧酶活性; 52:槲皮素 3-O-葡萄糖基转移酶活性; 53: 铵跨膜转运蛋白活性; 54:转录调控区 DNA 结合; 55: 四吡咯结合; 56: 调控区核酸结合; 57: 血红素结合; 58: 氧化还原酶活性

1: hemicellulose metabolic process; 2: xylan metabolic process; 3: cell wall macromolecule metabolic process; 4: cell wall polysaccharide metabolic process; 5: secondary metabolic process; 6: phenylpropanoid metabolic process; 7: flavonoid biosynthetic process; 8: phenylpropanoid biosynthetic process; 9: flavonoid metabolic process;10: xylan biosynthetic process; 11: plant-type cell wall organization or biogenesis; 12: secondary metabolite biosynthetic process; 13: response to freezing; 14: cell wall polysaccharide biosynthetic process; 15: cell wall organization or biogenesis; 16: plant-type cell wall organization; 17: cell wall macromolecule biosynthetic process; 18: cellular component macromolecule biosynthetic process; 19: flavonol metabolic process;20: flavone metabolic process; 21: external encapsulating structure; 22: plant-type cell wall; 23 cell wall; 24: monolayer-surrounded lipid storage body; 25: apoplast; 26: nuclear nucleosome; 27: lipid droplet; 28: extracellular region; 29: DNA packaging complex; 30: protein-DNA complex; 31: central vacuole; 32: nucleosome; 33: intrinsic component of membrane; 34: cell periphery; 35: plant-type vacuole; 36: MCM complex; 37: intrinsic component of plasma membrane; 38: protein storage vacuole; 39: glucosyltransferase activity; 40: transferase activity; 41: UDP-glucosyltransferase activity; 42: xylan O-acetyltransferase activity; 43: jasmonoyl-isoleucine-12-hydroxylase activity; 44: UDP-glycosyltransferase activity; 45: flavonol 3-O-glucosyltransferase activity; 46: trans-zeatin O-beta-D-glucosyltransferase activity; 47: cis-zeatin O-beta-D-glucosyltransferase activity; 48: oxidoreductase activity; 49: transferase activity, transferring glycosyl groups; 50: scopoletin glucosyltransferase activity; 51: monooxygenase activity; 52: quercetin 3-O-glucosyltransferase activity; 53: ammonium transmembrane transporter activity; 54: transcription regulatory region DNA binding; 55: tetrapyrrole binding; 56: regulatory region nucleic acid binding; 57: heme binding; 58: oxidoreductase activity

图 3 种仁三个比较组共有 DEGs 的基因本体分类

Fig. 3 Gene ontology classification of common DEGs in three comparison groups of seed kernel



表 3 每个比较组 DEGs 的基因本体分类

Table 3 Gene Ontology classification of DEGs in each comparison groups

样品 Sample	GO 类别 GO Category	GO 编号 GO number	通路描述 Terms description	基因数目 Number of genes	q 值 q value
Em0707vsEm0814	生物过程 Biological process	GO:0050896	刺激反应 response to stimulus	209	0.043 141 126
		GO:0055046	刺激微配子发生 microgametogenesis	9	0.043 141 126
		GO:0090358	色氨酸代谢过程的正调控 positive regulation of tryptophan metabolic process	4	0.043 141 126
		GO:0022410	昼夜节律/周期循环过程 circadian sleep/wake cycle process	2	0.043 141 126
		GO:0042745	昼夜节律/周期循环 circadian sleep/wake cycle	2	0.043 141 126
		GO:0042749	昼夜节律/周期循环的调节 regulation of circadian sleep/wake cycle	2	0.043 141 126
		GO:0045187	昼夜节律/周期循环的调节 regulation of circadian sleep/wake cycle	2	0.043 141 126
		GO:0050802	昼夜节律/周期循环 circadian sleep/wake cycle	2	0.043 141 126
		GO:0033240	细胞胺代谢过程的正调控 positive regulation of cellular amine metabolic process	4	0.043 141 126
		GO:0045764	细胞氨基酸代谢过程的正调控 positive regulation of cellular amino acid metabolic process	4	0.043 141 126
	GO:0016594	甘氨酸结合 glycine binding	3	0.024 348 363	
	GO:0042165	神经递质结合 neurotransmitter binding	3	0.024 348 363	
	GO:0033759	黄酮合酶活性 flavone synthase activity	2	0.024 348 363	
	GO:0034722	$\gamma$ -谷氨酰胺酶活性 $\gamma$ -glutamyl-peptidase activity	3	0.030 678 938	
		分子功能 Molecular function			

表 3 (续)

Em0707vsEm1003	分子功能 Molecular function	GO:0004316	3-氧酰基-酰基-载体-蛋白还原酶(NADPH)活性 3-oxoacyl-acyl-carrier-protein reductase (NADPH) activity	6	0.007 926 126	
		GO:0009725	响应激素 response to hormone	172	0.000 454 781	
	GO:0050896	刺激反应 response to stimulus	338	0.000 485 099		
	GO:0009719	内源性刺激反应 response to endogenous stimulus	174	0.000 525 524		
	GO:0010033	有机物反应 response to organic substance	198	0.000 636 693		
	GO:0006952	防御反应 defense response	136	0.003 880 795		
	GO:0033993	脂质反应 response to lipid	109	0.006 569 053		
	GO:1901700	含氧化合物反应 response to oxygen-containing compound	176	0.007 363 115		
	Em0814vsEm1003	生物过程 Biological process	GO:0042221	化学物质反应 response to chemical	234	0.010 990 532
			GO:0048825	子叶发育 cotyledon development	18	0.018 864 974
GO:0048366			叶片发育 leaf development	56	0.027 286 837	
GO:0016298			脂肪酶活性 lipase activity	14	0.043 701 144	
分子功能 Molecular Function		GO:0008477	嘌呤核苷酶活性 purine nucleosidase activity	3	0.043 701 144	
		GO:0038023	信号受体活性 signaling receptor activity	29	0.043 701 144	
		GO:0008782	腺苷同型半胱氨酸核苷酶活性 adenosylhomocysteine nucleosidase activity	2	0.043 701 144	
		GO:0008930	甲硫腺苷核苷酶活性 methylthioadenosine nucleosidase activity	2	0.043 701 144	

表 3 (续)

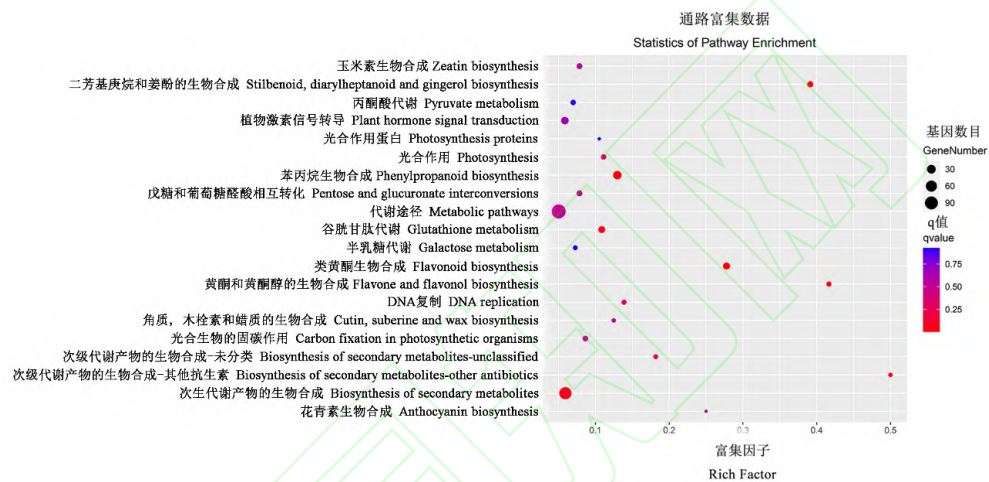
---

GO:0050203	草酸辅酶 A 连接酶活性 oxalate-CoA ligase activity	2	0.043 701 144
GO:0019199	跨膜受体蛋白激酶活性 transmembrane receptor protein kinase activity	20	0.043 701 144

---

## 2.4 差异表达基因的 KEGG 通路富集分析

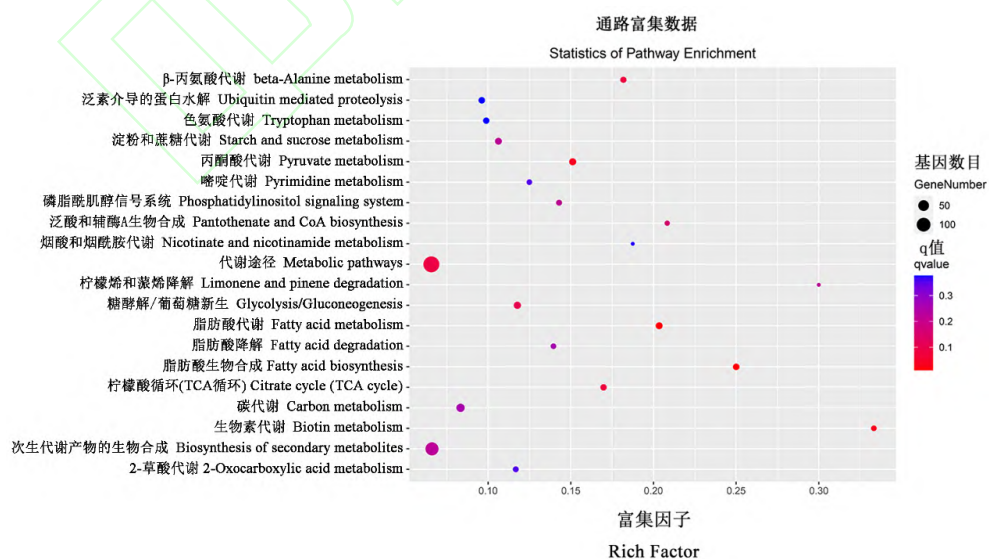
为了进一步分析 DEGs 功能，挑选  $q_{value}$  值富集程度排名前 20 的通路进行 KEGG 分析作图，以  $q_{value} < 0.05$  作为 KEGG 通路显著富集的阈值。结果表明，对三个比较组共有和每个比较组特有的 DEGs 分析发现，三个比较组共同有的 DEGs 有 5 条 KEGG 通路显著富集，主要为类黄酮生物合成、苯丙烷生物合成、二芳基庚烷和姜酚的生物合成、黄酮和黄酮醇的生物合成和谷胱甘肽代谢(图 4)。对每个比较组特有的 DEGs 进行 KEGG 分析发现，根据  $q_{value} < 0.05$  筛选标准，在 Em0707vsEm0814 和 Em0814vsEm1003 比较组中未获得 KEGG 显著性富集通路，而在 Em0707vsEm1003 比较组中，有 4 条 KEGG 通路显著富集，主要包含脂肪酸生物合成、脂肪酸代谢、生物素代谢和丙酮酸代谢(图 5)。



圆圈大小表示基因个数，圆圈越大代表基因个数越多；颜色深浅表示通路富集情况，颜色越红表示富集越显著  
The size of the circle represents the number of genes, and the larger the circle, the more genes there are; The depth of color indicates pathway enrichment, and the redder the color, the more significant the enrichment

图 4 三个时期共有 DEGs 的 KEGG 通路分析

Fig. 4 KEGG pathway analysis of common DEGs in three stages



圆圈大小表示基因个数，圆圈越大代表基因个数越多；颜色深浅表示通路富集情况，颜色越红表示富集越显著  
The size of the circle represents the number of genes, and the larger the circle, the more genes there are; The depth of color indicates pathway enrichment, and the redder the color, the more significant the enrichment

图 5 Em0707vsEm1003 中 DEGs 的 KEGG 通路分析

Fig. 5 KEGG pathway analysis of DEGs in Em0707vsEm1003

### 2.5 脂肪酸代谢通路的 DEGs 分析

脂肪酸生物合成和脂肪酸代谢通路分别有 10 个和 12 个 DEGs，进一步分析发现，10 个 DEGs 为 2 个通路中共有，2 个 DEGs 为脂肪酸代谢特有。12 个 DEGs 中，4 个基因编码 NADPH 依赖性醛还原酶(NADPH-dependent aldehyde reductase, ALR1、ALR2、ALR3、ALR4)；其余 8 个基因分别编码 3-氧代酰基-ACP 合酶 3 (3-oxoacyl-ACP synthase3, KASIII)、短链脱氢酶(Short-chain dehydrogenase, SDR)、烯醇辅酶 A 水合酶 1 (Enoyl-CoA hydratase, ECH)、 $\Delta^9$ -硬脂酰-ACP-去饱和酶( $\Delta^9$ -stearoyl-ACP-desaturase, SAD)、棕榈酰基载体蛋白硫酯酶(Palmitoyl-acyl carrier protein thioesterase, PATE)、酮酰-ACP 还原酶(ketoacyl-ACP reductase, KAR)、3-酮脂酰辅酶 A 硫解酶 2(3-ketoacyl-CoA thiolase 2, KAT2)和乙酰辅酶 A 羧化酶羧基转移酶(acetyl-coenzyme A carboxylase carboxyl transferase, ACC)。对 12 个 DEGs 进行表达分析表明，KAR、ALR1、SDR 和 ALR3 4 个基因的表达量先上升后下降，其余 8 个基因随着种仁的发育表达量逐渐升高(图 6)。

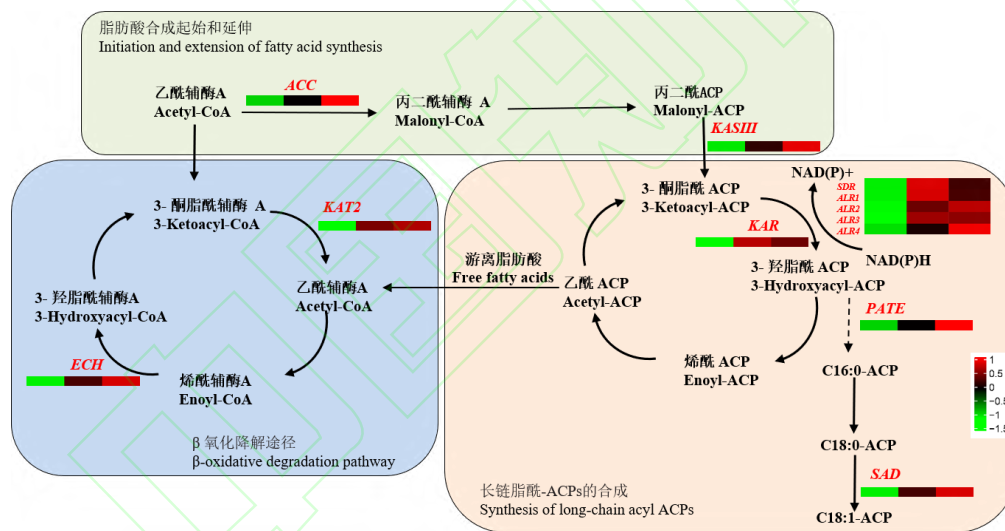


图 6 三个不同时期种仁中脂肪酸代谢相关 DEGs 表达网络

Fig. 6 Expression network of DEGs related to fatty acid metabolism in three different stages of seed kernels

### 2.6 转录组数据的 qRT-PCR 验证

为了进一步验证转录结果的准确性，使用实时定量逆转录聚合酶链式反应(Real-time quantitative reverse transcription-PCR, qRT-PCR)分析转录组结果中鉴定的 DEGs。选取脂肪酸代谢中表达量逐渐升高的 4 个 DEGs 和表达量先上升后下降的 2 个 DEGs 进行 qRT-PCR 分析，结果表明，qRT-PCR 和转录组中 6 个 DEGs 表达量的变化趋势基本一致(图 7)，同时 qRT-PCR 和转录组差异倍数相关性分析呈显著相关( $R^2=0.8412$ )(图 8)，表明转录组测序数据和结果可靠。

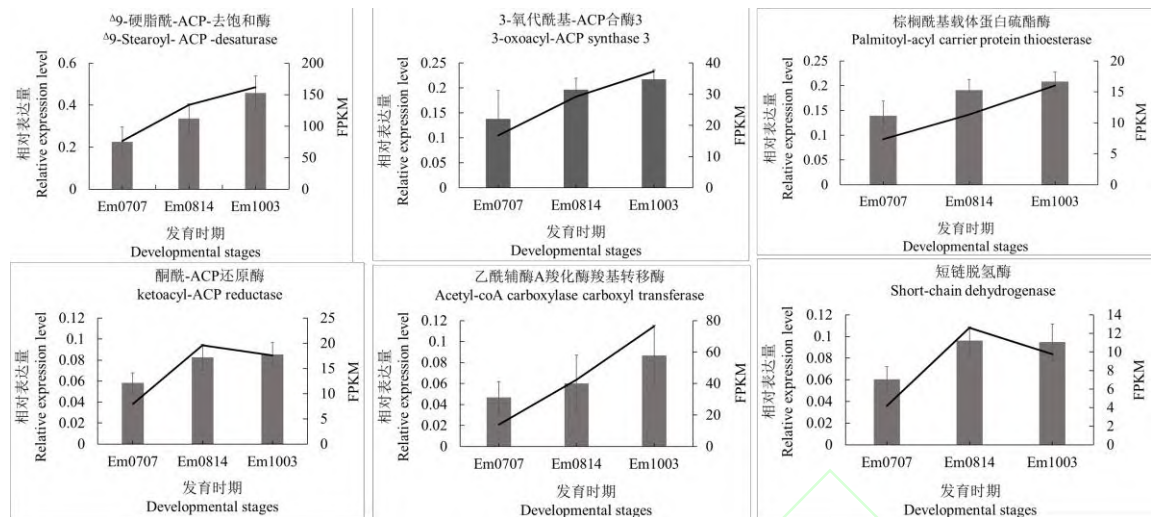


图 7 脂肪酸代谢 6 个 DEGs 的相对表达分析

Fig. 7 Relative expression analysis of six DEGs in fatty acid metabolism

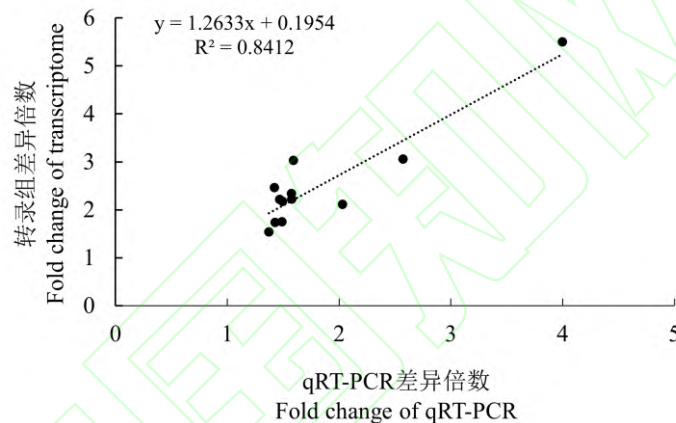


图 8 qRT-PCR 及转录组相关性分析

Fig. 8 Correlation analysis of qRT-PCR and transcriptome

## 2.7 油茶种仁含油量和脂肪酸组分变化

测定种仁含油量发现, 3 个时期含油量分别为 31.29 mg/g、188.06 mg/g 和 307.69 mg/g, 表明随着种仁的发育, 含油量逐渐增加(表 4)。进一步对三个发育时期的油茶种仁样本进行脂肪酸检测, 共检出 7 种脂肪酸。结果显示, 种仁中主要的脂肪酸组分是单不饱和油酸(C18:1n-9c, 81.67%)、饱和棕榈酸(C16:0, 9.23%)、多不饱和的亚油酸(C18:2n-6c, 6.44%)和硬脂酸(C18:0, 1.88%), 其他所有成分的比例均小于 1%。随着种仁的发育, C18:0 含量由 1.09% 增加到 1.88%, C18:1n-9c 由 59.94% 积累到 81.67%, 其余脂肪酸相对含量与种仁发育时期呈相反趋势(表 4)。

表 4 三个发育时期油茶种仁含油量和各脂肪酸组分比例

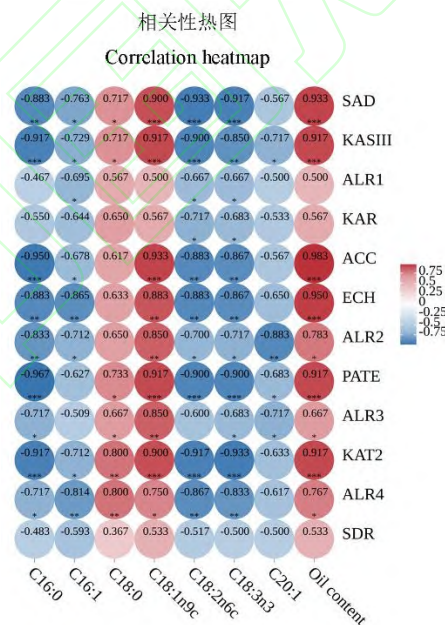
Table 4 Oil content and proportion of various fatty acid components in *Camellia oleifera* kernels during three developmental stages

含油量 (mg/g) 和脂肪酸组分 (%) Fatty acid components (%) and oil content (mg/g)	Em0707	Em0814	Em1003
含油量 Oil content	31.29 ± 6.04	188.06 ± 14.36	307.69 ± 9.24
棕榈酸(C16:0)	19.16 ± 1.38	13.18 ± 1.08	9.23 ± 0.12

Palmitic acid (C16:0)			
棕榈油酸(C16:1)			
Palmitoleic acid (C16:1)	0.32 ± 0.07	0.14 ± 0.04	0.12 ± 0.03
硬脂酸(C18:0)			
Stearic acid (C18:0)	1.09 ± 0.13	1.47 ± 0.32	1.88 ± 0.08
油酸(C18:1n-9c)			
Oleic acid (C18:1n-9c)	59.94 ± 1.39	71.72 ± 1.56	81.67 ± 1.39
亚油酸(C18:2n-6c)			
Linoleic acid (C18:2n-6c)	16.24 ± 1.53	12.45 ± 1.58	6.44 ± 0.28
α-亚麻酸(C18:3n-3)			
α-linolenic acid (C18:3n-3)	2.33 ± 0.20	0.71 ± 0.12	0.34 ± 0.11
花生烯酸(C20:1)			
Cis-11-Eicosenoic acid (C20:1)	0.92 ± 0.19	0.33 ± 0.07	0.32 ± 0.07

## 2.8 脂肪酸代谢相关 DEGs 表达量、含油量和各脂肪酸组分比例相关性分析

对脂肪酸代谢相关 DEGs 表达量、含油量和各脂肪酸组分比例进行相关性分析表明，所有基因表达量与种仁的含油量、C18:0 和 C18:1n9c 呈正相关，与其余脂肪酸组分呈负相关。其中 *ACC*、*KASIII*、*ECH*、*SAD*、*PATE* 和 *KAT2* 基因与含油量呈显著正相关性，相关系数分别为 0.993、0.983、0.950、0.917、0.917 和 0.917，*ACC*、*KASIII*、*PATE*、*SAD* 和 *KAT2* 基因与 C18:1n9c 呈显著正相关；相关系数分别为 0.933、0.917、0.917、0.900 和 0.900；*PATE*（相关系数-0.967）、*ACC*（相关系数-0.950）、*KASIII*（相关系数-0.917）和 *KAT2*（相关系数-0.917）基因与 C16:0 呈显著负相关性（图 9）。



A: 横坐标为脂肪酸组分和含油量，纵坐标为基因表达量，无标记表示  $P \geq 0.05$ ，\*表示  $0.01 < P < 0.05$ ，\*\*表示  $0.001 < P < 0.01$ ，\*\*\*表示  $P \leq 0.001$

A: The horizontal axis represents the fatty acid composition and oil content, and the vertical axis represents gene expression.

Unmarked represents  $P \geq 0.05$ , \* represents  $0.01 < P < 0.05$ , \*\* represents  $0.001 < P < 0.01$ , and \*\*\* represents  $P \leq 0.001$

图 9 油茶种仁脂肪酸代谢 DEGs 表达量、含油量和脂肪酸组分相关性

Fig. 9 Correlation between gene expression, oil content, and fatty acid composition in *Camellia oleifera* seed kernel

### 3 讨论

油茶果实发育主要经历三个增长高峰期，第一个高峰期是 6 月中下旬至 7 月中下旬果实生长期，第二个高峰期是 8 月上旬至 9 月上旬营养物质和脂肪酸积累时期，第三个高峰期是 9 月中下旬至 10 月下旬果实成熟期<sup>[14]</sup>；7 月至 10 月份为油茶果实成长、油脂形成和转化的关键时期。通过对 7 月 7 日、8 月 14 日和 10 月 3 日三个关键发育时期的油茶种仁进行转录组测序和分析，发现三个比较组共有 DEGs 富集在类黄酮生物合成、苯丙烷生物合成、二芳基庚烷和姜酚生物合成、黄酮和黄酮醇生物合成以及谷胱甘肽代谢 5 条通路，这些 DEGs 富集通路参与重要的次级代谢和氨基酸代谢，是脂肪酸合成和代谢通路的前提物质基础，参与了上述油茶果实发育的 3 个重要发育过程。黄酮类化合物是一组多酚类化合物，作为次生代谢产物在水果、蔬菜以及其他粮食作物等植物的重要性状形成中扮演了重要角色<sup>[15-17]</sup>。

油茶基因组数据的公布，对油茶重要性状基因的发掘及遗传改良具有指导意义<sup>[18-21]</sup>。脂肪酸从头合成主要发生在质体中，ACC 作为脂肪酸合成的起始酶促进脂肪酸和油脂的合成<sup>[22]</sup>。本研究发现，随着油茶种仁的发育，ACC 基因的表达量和含油量都逐渐上升，且 ACC 基因表达量与种仁含油量呈显著正相关，表明 ACC 活性与种子的含油量成显著正相关，不同植物中也具有相似的研究结果<sup>[23-24]</sup>。豌豆 ACC 基因在拟南芥和亚麻荠中异源表达，T1 代转基因拟南芥种子含油量比野生型高 14%，T1 代转基因亚麻荠种子含油量平均增加了 8%<sup>[25]</sup>。由此推测，ACC 基因上调表达能够促进脂肪酸的合成，最终提高油茶种仁的含油量，通过对该基因过表达可能会增加油茶种子含油量，从而获得高含油量的油茶品种。另外，ACC 催化乙酰辅酶 A 生成丙二酸单酰-ACP，然后在酮酰-ACP 合酶（KAS）和酮酰-ACP 还原酶（KAR）作用下生成羟丁醇-ACP 和 NADP<sup>+</sup>，KASIII 负责脂肪酸合成的启动，其活性决定脂肪酸合成碳链的长度。麻风树 KASIII 基因表达影响 C18/C16 的比值<sup>[26]</sup>，三角褐指藻中过表达 KASIII 基因，显著增强了脂质（1.49 倍）和脂肪酸（1.31 倍）的生物合成<sup>[27]</sup>。本研究发现，随着种子的发育 KASIII 基因表达量不断增加，并且表达量与 C16:0 呈显著负相关，与 C18:1n-9c 呈显著正相关，推测油茶中 KASIII 基因表达量升高有利于不饱和脂肪酸合成。棕榈酰基载体蛋白硫酯酶（PATE）是参与质体脂肪酸生物合成的关键酶之一，决定油料中 C16:0 含量变化，对油棕中 PATE 基因构建过表达和沉默载体并转化拟南芥发现，与野生型相比，过表达转基因株系中 C16:0 的含量从 8.91% 增加到 11.78%，沉默株系中 C16:0 的量从 8.91% 略微降低到 8.13%<sup>[28]</sup>。本研究发现随着油茶种仁的发育，PATE 基因的表达量逐渐升高，相关性分析发现，该基因表达量与 C16:0 呈显著负相关，与前人的研究结果相反，推测油茶中 PATE 基因可能与其他基因存在协同作用或具有其他功能，关于油茶中的 PATE 基因的功能还需进一步的研究。KAT 作为脂肪酸  $\beta$ -氧化中关键酶基因，以 3-酮脂酰-CoA 为底物，催化乙酰乙酰 CoA 及脂肪酸碳链的分解，形成乙酰-CoA。对该基因的研究主要集中在时空表



达<sup>[29]</sup>、非生物胁迫<sup>[30]</sup>和激素响应<sup>[31]</sup>等方面,关于 *KAT* 基因在脂肪酸组分变化中的研究未见报道。本研究发现,随着油茶种子的发育,*KAT2* 基因表达量逐渐升高,且相关性分析表明,*KAT2* 基因与含油量和 C18:1 呈显著正相关,与 C16:0 呈显著负相关,油茶 *KAT2* 基因的功能研究是后续的主要工作。此外,*SAD* 是脂肪酸中不饱和度的关键去饱和酶,该酶可以将 C18:0 催化形成 C18:1,研究者发现,异源表达羽扇豆 *SAD* 基因转化烟草,烟草种子中 C18:0 和 C18:1 含量积累,特别是 C18:1 含量迅速提高了 11%<sup>[32]</sup>。通过抑制棉花中的 *SAD* 基因,导致种子中 C18:0 含量增加<sup>[33]</sup>;向日葵和大豆 *sad* 基因突变体发现,*SAD* 蛋白失活导致 C18:0 含量增加<sup>[34-35]</sup>;此外,六倍体油茶转录组结合代谢组分析发现,*SAD* 基因参与油茶不饱和脂肪酸的生物合成,特别是 C18:0 催化形成 C18:1 的过程<sup>[21]</sup>,与本研究中 *SAD* 基因表达量与含油量和 C18:1n9c 呈显著正相关相符。另一方面,本研究发现的 5 个关键基因与油茶种仁含油率高度相关;也有研究发现多个物种种仁含油率还与其他代谢途径有关,甘油三酯(Triacylglycerol, TAG)合成途径中的关键基因 *DGAT1*、*DGAT2*、*PDAT1*、*FAD2* 和 *FAD3* 参与了胡麻种子和油茶种仁含油量的积累<sup>[21,36]</sup>,油茶中的 *AP2* 和 *C2H2* 及油菜中的 *NAC13* 和 *SCL31* 转录因子是含油量的正向调控因子<sup>[21,37]</sup>。

本研究对油茶三个关键发育时期种仁进行转录组分析,在 KEGG 通路中富集到 12 个 DEGs,并对这些基因的表达量与种仁含油量及各脂肪酸组分比例进行相关性分析,发现 *ACC*、*KASIII*、*PATE*、*KAT2* 和 *SAD* 基因的表达量与种仁含油量和 C18:1n-9c 呈显著正相关,表明这 5 个关键基因在油茶种仁含油量积累和脂肪酸代谢中具有重要作用,上述结果为油茶脂肪酸代谢调控机制和基因功能研究提供参考。

## 参考文献

- [1] Yang C Y, Liu X M, Chen Z Y, Lin Y S, Wang S Y. Comparison of oil content and fatty acid profile of ten new *Camellia oleifera* cultivars. *Journal of Lipids*, 2016, (2): 1-6
- [2] Lee W T, Tung Y T, Wu C C, Tu P H, Yen G C. *Camellia* oil (*Camellia oleifera* Abel.) modifies the composition of gut microbiota and alleviates acetic acid-induced colitis in rats. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2018, 66(28): 7384-7392
- [3] Lee C P, Yen G C. Antioxidant activity and bioactive compounds of tea seed (*Camellia oleifera* Abel.) oil. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2006, 54(3): 779-784
- [4] Ma L H, Cheng X Q, Wang C, Zhang X Y, Xue F, Li Y J, Zhu Q H, Sun J, Liu F. Explore the gene network regulating the composition of fatty acids in cottonseed. *BMC Plant Biology*, 2021, 21(1): 177
- [5] Zeng Y L, Tan X F, Zhang L, Jiang N, Cao H P. Identification and expression of fructose-1,6-bisphosphate aldolase genes and their relations to oil content in developing seeds of tea oil tree (*Camellia oleifera*). *PLoS One*, 2014, 9(9): e107422
- [6] 林萍, 周长富, 姚小华, 曹永庆. 普通油茶两个  $\Delta$ -12 脂肪酸脱氢酶基因序列特征及表达模式研究. *林业科学研究*, 2016, 29(05): 743-751  
Lin P, Zhou C F, Yao X H, Cao Y Q. Sequence and expression characterization of two genes encoding  $\Delta$ -12 fatty acid desaturases from *Camellia oleifera*. *Forest Research*, 2016, 29(05): 743-751
- [7] 吕晓杰, 潘德灼, 李健, 陈世品, 陈伟. 油茶种仁成熟过程油脂合成代谢的转录组分析. *森林与环境学报*, 2018, 38(02): 156-163  
Lü X J, Pan D Z, Li J, Chen S P, Chen W. Transcriptomic analysis of lipid synthesis metabolism in *Camellia oleifera* seed kernel during its maturation period. *Journal of Forest and Environment*, 2018, 38(02): 156-163
- [8] Lin P, Wang K L, Zhou C F, Xie Y H, Yao X H, Yin H F. Seed transcriptomics analysis in *Camellia oleifera* uncovers genes

- associated with oil content and fatty acid composition. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, 19(1): 118
- [11] 张帆航. 油茶 4 个主栽品种果实和种子发育比较研究. 长沙: 中南林业科技大学, 2020: 48-52  
Zhang F H. Comparative study on fruit and seed development of four *Camellia oleifolia* cultivars. ChangSha: Central South University of Forestry and Technology, 2020: 48-52
- [10] Wu B, Ruan C J, Han P, Ruan D, Xiong C W, Ding J, Liu S H. Comparative transcriptomic analysis of high- and low-oil *Camellia oleifera* reveals a coordinated mechanism for the regulation of upstream and downstream multigenes for high oleic acid accumulation. *Biotech*, 2019, 9(7): 257
- [11] Wang Z W, Huang B, Ye J S, He Y C, Tang S J, Wang H L, Wen Q. Comparative transcriptomic analysis reveals genes related to the rapid accumulation of oleic acid in *Camellia chekiangoleosa*, an oil tea plant with early maturity and large fruit. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2022, 171: 95-104
- [12] 沈军, 邱智敏, 余玉云, 李志真, 陈伟, 陈世品. 油茶籽成熟过程中油脂代谢的蛋白质组学分析. *植物生理学报*, 2023, 59(7): 1398-1406  
Shen J, Qiu Z M, Yu Y Y, Li Z Z, Chen W, Chen S P. Proteomic analysis of lipid metabolism in *Camellia oleifera* seeds during maturation. *Plant Physiology Journal*, 2023, 59(7): 1398-1406
- [13] 宋志波, 刘敏, 贾宝光, 田雷, 曾艳玲, 周俊琴, 谭晓风, 张琳. 油茶总 RNA 的提取与内参基因的初选. *经济林研究*, 2014, 32(2): 93-98  
Song Z B, Liu M, Jia B G, Tian L, Zeng Y L, Zhou J Q, Tan X F, Zhang L. RNA extraction and primary screening of reference genes in *Camellia oleifera*. *Nonwood Forest Research*, 2014, 32(2): 93-98
- [14] 陈永忠, 肖志红, 彭邵锋, 杨小胡, 李党训, 王湘南, 段玮. 油茶果实生长特性和油脂含量变化的研究. *林业科学研究*, 2006, 19(01): 9-14  
Chen Y Z, Xiao Z H, Peng S F, Yang X H, Li D X, Wang X N, Duan W. Study of fruit growing specialties and its oil content in oil-Tea *Camellia*. *Forest Research*, 2006, 19(01): 9-14
- [15] Wang S Y, Chen H, Camp M J, Ehlenfeldt M K. Flavonoid constituents and their contribution to antioxidant activity in cultivars and hybrids of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei* Reade). *Food Chemistry*, 2012, 132(2): 855-864
- [26] Miles T D, Vandervoort C, Nair M G, Schilder A C. Characterization and biological activity of flavonoids from ripe fruit of an anthracnose-resistant blueberry cultivar. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 2013, 83: 8-16
- [17] Shen N, Wang T, Gan Q, Liu S, Wang L, Jin B. Plant flavonoids: classification, distribution, biosynthesis, and antioxidant activity. *Food Chemistry*. 2022, (30): 383
- [18] Lin P, Wang K L, Wang Y P, Hu Z K, Yan C, Huang H, Ma X J, Cao Y Q, Long W, Liu W X, Li X L, Fan Z Q, Li J Y, Ye N, Ren H D, Yao X H, Yin H F. The genome of oil-*Camellia* and population genomics analysis provide insights into seed oil domestication. *Genome Biology*, 2022, 23(1): 14
- [19] Gong W F, Xiao S X, Wang L K, Liao Z Y, Chang Y H, Mo W J, Hu G X, Li W Y, Zhao G, Zhu H G, Hu X M, Ji K, Xiang X F, Song Q L, Yuan D Y, Jin S X, Zhang L. Chromosome-level genome of *Camellia lanceoleosa* provides a valuable resource for understanding genome evolution and self-incompatibility. *Plant Journal*, 2022, 110(3): 881-898
- [20] Shen T F, Huang B, Xu M, Zhou P Y, Ni Z X, Gong C, Wen Q, Cao F L, Xu L A. The reference genome of *camellia chekiangoleosa* provides insights into *camellia* evolution and tea oil biosynthesis. *Horticulture Research*, 2022, 9: uhab083
- [21] Zhu H G, Wang F Q, Xu Z P, Wang G Y, Hu L S, Cheng J Y, Ge X H, Liu J X, Chen W, Li Q, Xue F, Liu F, Li W Y, Wu L, Cheng X Q, Tang X X, Yang C C, Lindsey K, Zhang X L, Ding F, Hu H Y, Hu X M, Jin S X. The complex hexaploid oil-*Camellia* genome traces back its phylogenomic history and multi-omics analysis of *Camellia* oil biosynthesis. *Plant Biotechnology Journal*, 2024, 1-17. doi: 10.1111/pbi.14412
- [22] 李洁琼, 郑世学, 喻子牛, 张吉斌. 乙酰辅酶 A 羧化酶: 脂肪酸代谢的关键酶及其基因克隆研究进展. *应用与环境生物学报*, 2011, 17(05): 753-758  
Li J Q, Zheng S X, Yu Z N, Zhang J B. Acetyl-coenzyme A Carboxylase: A Key Metabolic Enzyme of Fatty Acid and Progress of Its Gene Clone. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2011, 17(05): 753-758
- [23] Pereira A, Tcacenco F A, Klabunde G H F, de Andrade A. Detecting acetyl-coenzyme a carboxylase resistance gene in rice (*Oryza sativa* L.). *Molecular Biology Reports*, 2019, 46(6): 6271-6276
- [24] Yannicari M, Gigón R. Cross-resistance to acetyl-CoA carboxylase-inhibiting herbicides conferred by a target-site mutation in perennial ryegrass (*Lolium perenne*) from Argentina. *Breast Cancer*, 2020, 68(2): 116-124
- [25] Wang M, Garneau M G, Poudel A N, Lamm D, Koo A J, Bates P D, Thelen J J. Overexpression of pea  $\alpha$ -carboxyltransferase in *Arabidopsis* and *camelina* increases fatty acid synthesis leading to improved seed oil content. *Plant Journal*, 2022, 110(4): 1035-1046
- [26] Li J, Li M R, Wu P Z, Tian C E, Jiang H W, Wu G J. Molecular cloning and expression analysis of a gene encoding a putative beta-ketoacyl-acyl carrier protein (ACP) synthase III (KAS III) from *Jatropha curcas*. *Tree Physiology*, 2008, 28(6): 921-927

- [27] Ye G B, Qin Z H, Bin X Y, Mou J H, Lin C S K, Li H Y, Wang X. 3-Oxoacyl acyl carrier protein reductase overexpression reveals its unprecedented roles in biofuel production and high-temperature tolerance in diatom. *Fuel*, 2022, 325: 124844
- [28] Ghulam-kadir A P, Othman A, Ramin N, Bohari B. Functional analysis of oil palm palmitoyl-acyl-ACP thioesterase (*FatB*) gene via down-regulation in a model plant: *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Oil Palm Research*, 2010, 22(2): 803-813
- [29] 周延清, 张永华, 张喻, 陈艳梅, 白妍妍, 魏海方, 段红英, 周春娥. 怀地黄 3-酮酯酰 CoA-硫解酶基因的克隆、序列特征和时空表达分析. *中草药*, 2013, 44(01): 76-84.
- Zhou Y Q, Zhang Y H, Zhang Y, Chen Y M, Bai Y Y, Wei H F, Duan H Y, Zhou C E. Gene cloning, features of sequence, and analysis on temporal and spatial expression of *Rehmannia glutinosa f. hueichingensis* 3-ketoacyl CoA-thiolase. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2013, 44(01): 76-84
- [30] Sreeja S, Shylaja M R, Nazeem P A, Mathew D. Peroxisomal *KAT2* (3-ketoacyl-CoA thiolase 2) gene has a key role in gingerol biosynthesis in ginger (*Zingiber officinale Rosc.*). *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 2023, 9: 1-16
- [31] Jiang T, Zhang X F, Wang X F, Zhang D P. *Arabidopsis* 3-ketoacyl-CoA thiolase-2 (*KAT2*), an enzyme of fatty acid  $\beta$ -oxidation, is involved in ABA signal transduction. *Plant and Cell Physiology*, 2011, 52(3): 528-538
- [32] Zaborowska Z, Starzycki M, Femiak I, Swiderski M, Legocki A B. Yellow lupine gene encoding stearoyl-ACP desaturase-organization, expression and potential application. *Acta Biochimica Polonica*, 2002, 49(1): 29-42
- [33] Liu Q, Singh S, Green A. High-oleic and high-stearic cottonseed oils: nutritionally improved cooking oils developed using gene silencing. *Journal Of the American College of Nutrition*, 2002, 21(3): 205S-211S
- [34] Salas J J, Youssar L, Mart ínez-Force E, Garc ía R. The biochemical characterization of a high-stearic acid sunflower mutant reveals the coordinated regulation of stearoyl-acyl carrier protein desaturases. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2008, 46(2): 109-116
- [35] Ruddle P H, Whetten R, Cardinal A, Upchurch R G, Miranda L. Effect of a novel mutation in a  $\Delta^9$ -stearoyl-ACP-desaturase on soybean seed oil composition. *Theoretical and Applied Genetics*, 2013, 126(1): 241-249
- [36] 李闻娟, 齐燕妮, 王利民, 党照, 赵利, 赵玮, 谢亚萍, 王斌, 张建平, 李淑洁. 不同胡麻品种 TAG 合成途径关键基因表达与含油量、脂肪酸组分的相关性分析. *草业学报*, 2019, 28(1): 138-149
- Li W J, Qi Y N, Wang L M, Dang Z, Zhao L, Zhao W, Xie Y P, Wang B, Zhang J P, Li S J. Correlation between oil content or fatty acid composition and expression levels of genes involved in TAG biosynthesis in flax. *Acta Prataculturae Sinica*, 2019, 28(1): 138-149
- [37] Tan Z D, Peng Y, Xiong Y, Xiong F, Zhang Y T, Guo N, Tu Z, Zong Z X, Wu X K, Ye J, Xia C J, Zhu T, Liu Y M, Lou H X, Liu D X, Lu S P, Yao X, Liu K D, Snowdon R J, Golicz A A, Xie W B, Guo L, Zhao H. Comprehensive transcriptional variability analysis reveals gene networks regulating seed oil content of *Brassica napus*. *Genome Biology*, 2022, 23(1): 233