

籽粒茴香雄性不育材料创制及脂质成分差异分析

罗庆¹, 张浩², 钟秀来¹, 朱顺华¹, 熊爱生³, 李梦瑶⁴, 谭国飞¹

(¹贵州省农业科学院园艺研究所/贵州省园艺工程技术中心/农业农村部喀斯特山区作物基因资源与种质创新重点实验室, 贵阳 550006; ²贵州省农业科学院农作物品种资源研究所, 贵阳 550006; ³南京农业大学园艺学院/作物遗传与种质创新国家重点实验室/农业农村部华东地区园艺作物生物学与种质创制重点实验室, 南京 210095; ⁴四川农业大学园艺学院, 成都 611130)

摘要: 籽粒茴香为中国卤制品和烧烤重要香料之一, 其雄性不育材料的缺乏严重限制了培育优质籽粒茴香品种的研究进程。本研究中, 从贵州省地方品种可育材料 (FvGZKY001) 中筛选获得籽粒茴香雄性不育 (FvGZBY001) 材料, 并对其不育性状进行观察和鉴定, 以及对二者籽粒脂质成分差异进行液相色谱-质谱 (LC-MS, liquid chromatograph-mass spectrometer) 分析。结果表明, 与可育材料 FvGZKY001 相比, FvGZBY001 在植株形态上无明显差异, 但其花丝无明显伸长, 且花药中无花粉粒。在 FvGZBY001 和 FvGZKY001 籽粒中均检出 7 类 49 个脂质分子小类, 其脂质类物质分别为 1353 和 1351 种; 二者中共鉴定出 41 种有显著差异的脂质类物质, 其中 29 种脂质类物质在 FvGZBY001 材料中上调表达 (以鞘磷脂为主), 12 种脂质类物质在 FvGZKY001 材料中上调表达 (以甘油磷脂为主)。LION 富集分析表明, 其主要富集在 22 个不同物质上, 以含不同碳数的脂肪酸为主。推测茴香 FvGZBY001 为细胞核雄性不育, 该不育特征可用于茴香杂交育种中, 其与 FvGZKY001 籽粒脂质物成分差异可用于茴香籽粒油品质的评价及利用。

关键词: 茴香; 雄性不育; 脂质成分; LC-MS; 差异分析

Creation of Male Sterile Materials of Seed Fennel and Difference Analysis of Lipid Composition

LUO Qing¹, ZHANG Hao², ZHONG Xiulai¹, ZHU Shunhua¹, XIONG Aisheng³, LI Mengyao⁴, TAN Guofei¹

(¹Institute of Horticulture, Guizhou Academy of Agricultural Sciences/Horticultural Engineering Technology Research of Guizhou/Key Laboratory of Crop Gene Resources and Germplasm Innovation in Karst Mountain Area of Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Guiyang 550006; ²Institute of Crop Variety Resources, Guizhou Academy of Agricultural Sciences, Guiyang 550006; ³College of Horticulture, Nanjing Agricultural University/State Key Laboratory of Crop Genetics and Germplasm Enhancement/Ministry of Agriculture and Rural Affairs Key Laboratory of Biology and Germplasm Enhancement of Horticultural Crops in East China, Nanjing 210095; ⁴College of Horticulture, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130)

Abstract: Seed fennel is one of the important spices in Chinese marinade and barbecue. The lack of male sterile material severely limits the research process of breeding high-quality seed fennel varieties. In this study, male sterile materials (FvGZBY001) of seed fennel were obtained from local fertility varieties (FvGZKY001) of Guizhou province. We observed and identified the sterility characters of FvGZBY001, and analyzed the difference of lipid composition between the two grains by LC-MS (liquid chromatography-mass spectrometry). The results show that there was no significant difference in plant morphology in FvGZBY001 compared with the fertile material FvGZKY001, the filaments of FvGZBY001 did not extend significantly and no pollen grains in

收稿日期: 2024-12-11

网络出版日期:

URL:

第一作者研究方向为伞形科蔬菜分子生物学, E-mail: lqing985@foxmail.com

通信作者: 熊爱生, 研究方向为蔬菜分子生物学, E-mail: xiongaisheng@njau.edu.cn

李梦瑶, 研究方向为蔬菜分子生物学, E-mail: limy@sicau.edu.cn

谭国飞, 研究方向为伞形科蔬菜分子生物学, E-mail: tgfei@foxmail.com

基金项目: 贵州省科学技术厅项目(黔科合服企[2022]014; 黔科合服企[2024]003-1; 黔科合服企[2024]003-2); 贵州省农业科学院项目(黔农科资源项目[2025]03号); 贵州省蔬菜产业技术体系(GZCYTX2025-0101); 贵州省高原特色蔬菜产业体系(GZMARS)

Foundation projects: Project of Guizhou Provincial Department of Science and Technology (Qiankehe Service Enterprise [2022] 014; Qiankehe Service Enterprise [2024] 003-1; Qiankehe Service Enterprise [2024] 003-2); Guizhou Academy of Agricultural Sciences Project (Qian Agricultural Science Resource Project [2025] No. 03); Guizhou Province Vegetable Industry Technology System (GZCYTX2025-0101); Guizhou Province Plateau Characteristic Vegetable Industry Technology System (GZMARS)

anthers. There were 7 types of 49 lipid molecule subclasses detected in the seeds fennel both FvGZBY001 and FvGZKY001, which are 1353 and 1351 kinds of lipid substance respectively. A total of 41 lipid substances with significant differences were identified among them, which 29 lipids were up-regulated expression in FvGZBY001 (mainly sphingomyelin) while 12 lipids was up-regulated expression in FvGZKY001 (mainly glycerol phospholipids). LION enrichment analysis showed that they were mainly concentrated in 22 different lipid substances, which the predominant lipid substances were fatty acids with different carbon numbers. We presumed that fennel FvGZBY001 is NMS (nuclear male sterility), and the sterility characteristics can be used in crossbreeding of fennel. The difference of lipid composition with FvGZKY001 can be used for the quality evaluation and utilization of its seed oil.

Key words: fennel; male sterile; lipid composition; LC-MS; variation analysis

茴香 (*Foeniculum vulgare* Mill.) ($2n=2x=22$) 又名小茴香 (籽粒/果实)、怀香、怀香子、茴香子等, 为伞形科茴香属多年生草本植物, 是重要的药食同源蔬菜之一^[1]。其叶和籽粒均有特殊的香味, 而其全草 (包括籽粒) 均可入药, 其性温, 味辛; 全株 (特别是籽粒中) 含有挥发油, 具有抗氧化、抗癌、护肝、抑菌杀虫、镇痛、调节肠胃机能和增强免疫等功效^[2-3]。茴香原产于地中海地区, 距今已有千年栽培史^[4]; 在我国各地均有栽培或野生分布, 如宁夏、内蒙古、山西、甘肃等省, 是一种具有独特区域优势的经济作物^[5]。茴香作为世界性香辛类蔬菜, 其营养价值较高。其嫩茎叶中不仅蛋白质、粗纤维、脂肪含量丰富, 还含有类胡萝卜素、钙、磷等营养元素^[6]; 而籽粒中含有茴香酸、芥子酸、阿魏酸等多种脂肪酸^[7]。茴香按照食用部位分类, 主要分为球茎茴香和籽粒茴香。球茎茴香主要食用其膨大肉质的叶鞘, 在欧洲国家食用较多 (<https://www.seedworld.com/europe/2015/10/06/modernising-fennel/>)。籽粒茴香主要食用其幼嫩的苗和籽粒, 其籽粒为我国卤制品和烧烤的重要原料之一, 需求量极大。据联合国粮食及农业组织 (FAO, food and agriculture organization,) 统计, 茴香作为菜、药、香料兼用型多用途芳香植物, 每年产值约 100 亿美元^[8], 具有广阔的市场。

伞形科作物, 如芹菜 (*Apium graveolens* L.)^[9]、胡萝卜 (*Daucus carota* L.)^[10]、水芹 [*Oenanthe javanica* (Blume) DC.]^[11]等, 普遍存在花两性、较小、发育不一致、杂交难度大等特点, 这极大地限制了伞形科各蔬菜作物杂交育种的进程。雄性不育材料的发现和利用是伞形科作物杂交育种的关键, 能极大地改善伞形科作物杂交育种瓶颈问题。自 20 世纪 60 年代末以来, 国外育种工作者发现了球茎茴香雄性不育材料, 使其茴香育种得到了极大地突破, 导致国外茴香商业 95%以上均为杂交种^[12-13]。目前, 我国籽粒茴香种质资源丰富, 但仅有少量栽培品种得以研究利用, 且其他相关研究亦较基础, 如栽培技术^[14]、质量评价^[5]、精油成分^[9]、生物活性^[15]等方面, 而有关药理、育种、种质方面的研究相对较少, 且不够深入。而籽粒茴香雄性不育材料还未有相关研究报道, 这阻碍了我国茴香育种等相关产业的发展。

在植物中, 脂质参与调节多种生命活动过程^[16], 包括能量转换、物质运输、信息识别与传递、细胞发育和分化, 以及细胞凋亡; 且人体内脂质异常代谢与多种疾病发生、发展密切相关^[15], 如动脉硬化症、糖尿病、肥胖症、阿尔茨海默病 (AD, alzheimer disease) 以及肿瘤等。因此, 植物的脂质成分是其加工、利用的主要依据^[17-18]。茴香籽粒中含有挥发油成分, 是其主要活性成分和香气来源^[9]。国外茴香籽粒中发现

多种营养物质成分，其中挥发油主要成分为对烯丙基茴香醚（Estragole）、柠檬烯（Limonene）、反式茴香脑（*trans*-anethole）、甲基胡椒粉（Methyl chavicol）、苯基丙酸（Phenylpropanoid）及茴香酮（Fenchone）^[3,20-21]；酚类化合物主要为茴香酚（Cirsiliol）、甲醚（Anethole）及草蒿脑（Estragole）^[19,22]；脂肪酸主要为饱和脂肪酸和不饱和脂肪酸，而石油亚麻酸（Petroselinic acid）和亚油酸（Linoleic acid）是最主要的不饱和脂肪酸^[23]。这些物质使其具有较强的抗氧化性、生物活性等，成为食品、工业、加工等行业的重要的天然来源。我国籽粒茴香精油中，香气成分以萜烯类最多，如水芹烯（Phellandrene）、柠檬烯、 α -蒎烯（ α -pinene）、 δ -杜松萜烯（ δ -cadinene）和松油烯（Terpinene）等^[24]。有研究表明，茴香精油成分中的反式茴香脑对青霉菌具有抑菌效果^[25]，同时芳樟醇（Linalool）、反式茴香脑、桉树脑（Eucalyptol）、草蒿脑、 α -蒎烯、*d*-香芹酮（*d*-carvone）、柠檬烯、 β -月桂烯（ β -laurene）等萜类物质对茴香籽粒风味的形成有重要贡献^[26]。因此，确定茴香籽粒脂质成分对其加工、利用有着重要的作用^[27]。

脂质组学（Lipidomics）是一种基于液相色谱-质谱（LC-MS, liquid chromatograph-mass spectrometer）的高通量分析技术，高效研究脂类家族、脂质化合物在各种生物过程中的变化与功能，进而阐明其相关的生物活动机制与原理。目前，脂质组学已应用于油茶^[28-29]、亚麻^[30]等多种油料作物研究中。但关于籽粒茴香脂质全面系统的研究较少，特别是雄性不育籽粒茴香油成分分析还未有研究报道。为揭示茴香雄性不育与可育材料籽粒的差异脂质物，本研究利用 LC-MS 高通量分析技术，研究茴香雄性不育与可育材料籽粒的脂质成分，为更好的开发和利用茴香籽粒油奠定科学的理论基础，为强有力的茴香产业发展提供基础核心材料保障。

1 材料与方法

1.1 试验材料

2018年对茴香资源进行收集，利用化学诱变剂甲基磺酸乙酯方法^[31]创制茴香雄性不育材料。在2019年7月茴香花期时，从诱变浓度为1.0 mol/L、诱变40 min的群体中筛选获得一株开花异常，且花药中未有花粉粒的茴香雄性不育植株（命名为：FvGZBY001）。将茴香雄性不育材料与未进行诱变的茴香可育材料（命名为：FvGZKY001）一起分开种植于贵州省农业科学院园艺研究所试验基地中。2019年7月-2023年7月花期，可育材料自交留种，而将FvGZKY001花粉授粉给FvGZBY001材料留种。2024年9月籽粒成熟期时，对FvGZBY001和FvGZKY001材料各随机选择3株分别采摘收集种子，并各自晾干，3次试验重复，进行脂质分析。

1.2 性状观察

在茴香花期，利用体视显微镜（M165C，上海徕卡仪器有限公司）观察2种材料，鉴定FvGZBY001与FvGZBY001花瓣、花丝等结构和拍照，使用显微镜（SH11，北京海富达科技有限公司）进行花药中花粉粒观察和拍照。在试验地中观察茴香FvGZBY001与FvGZBY001植株地上部分差异和拍照，育苗后分别

对 2 种材料的幼苗植株进行对比观察和拍照。

1.3 籽粒脂质成分测定

分别取适量 FvGZBY001 与 FvGZBY001 籽粒（约 50 mg）于 2 mL 离心管中，加入钢珠和 750 μ L 氯仿甲醇（2:1, v/v）溶液，涡旋混匀，2 次 50 Hz 研磨 60 s；置于冰上 40 min，加入 190 μ L ddH₂O，混匀后置于冰上 10 min；室温下，12000 rpm 离心 5 min，取上层溶液 300 μ L 于新的 2 mL 离心管中，加入 500 μ L 氯仿甲醇混合溶液（2:1, v/v），涡旋混匀；室温下，12000 rpm 离心 5 min，取上层溶液 400 μ L 于新的 2 mL 离心管中，样品在真空浓缩仪进行浓缩；加入 200 μ L 异丙醇溶解样品后，用 0.22 μ m 膜过滤，即得到待测样本。

色谱柱：ACQUITYUPLC® BEHC18（2.1 \times 100 mm，1.7 μ m，Thermo Fisher Scientific，美国）；柱温为 50°C；自动进样器温度为 8°C，流速为 0.25 mL/min；流动相 A：60%乙腈溶液+40%水+ 10 mM 甲酸铵+0.1% 甲酸；流动相 B：10%乙腈+90%异丙醇+ 10 mM 甲酸铵+0.1%甲酸；梯度洗脱程序为 0~5 min，70~57% A；5~5.1 min，57%~50% A；5.1~14 min，50%~30% A；14~14.1 min，30% A；14.1~21 min，30%~1% A；21~24 min，1% A；24~24.1 min，1%~70% A；24.1~28 min，70% A。

电喷雾离子源（ESI, electrospray ionization, Thermo Fisher Scientific, 美国），正、负离子电离模式，正、负离子喷雾电压各为 3.50 kV 和 2.50 kV，辅助气 10 arb，鞘气 30 arb。毛细管温度 325°C 和分辨率 35 000 条件下进行全扫描，扫描范围为 150~2 000；碰撞电压为 30 eV 下，采用高碰撞解离（HCD, higher collisional dissociation）进行二级裂解，并采用动态排除去除无必要的 MS/MS（Tandem mass spectrometry）信息后得到质谱数据。

1.4 数据分析

通过 Lipid Search^[32]软件（V4.2.28）（主要参数为 bR. T. Tolerance=0.25，m-Score Threshold=3）将质谱数据逐个进行脂质注释，进行峰对齐、峰过滤等工作，得到质荷比（M/Z, mass to charge ratio）、脂质、峰响应值（Intensity）和保留时间（RT, retention time）等信息，再采用总峰归一化（Sum peak normalization）对定量值进行矫正。

采用 R 语言（v4.0.3）Ropls 软件包^[33]分别对样本数据进行主成分分析（PCA, principal component analysis）、正交偏最小二乘判别分析（OPLS-DA, orthogonal partial least squares discriminant analysis）等多元统计分析^[34-35]。在变量对分组贡献值（VIP>1, variable importance in the projection）和显著性（ $P<0.05$ ）条件下，筛选差异性脂质物。再通过 R 语言中 Pheatmap 程序包对数据集进行缩放，做层次聚类（Hierarchical clustering）分析，结果以热图表示。采用 lipidomeR^[36]对获得的差异脂质结果进行结构特征的分析，计算脂质碳原子数目和饱和水平（双键数目）。采用 LION 脂质本体数据库^[37]，使用 R 语言 LION 软件包对其进行功能富集分析。

2 结果与分析

2.1 茴香 FvGZBY001 与 FvGZKY001 材料不同部位的比较观察

茴香 FvGZBY001 与 FvGZKY001 地上植株形态相近，茎均直立，光滑，圆柱形，高 1.5~2.0 m，上部分枝，灰绿色；花为复伞形花序顶生，花小，金黄色；冬季地上部分枯萎后，基部周围发出新苗，为典型多年生籽粒茴香（图 1A，图 1a）。两者幼苗的根系发达，须根多；叶羽状分裂，小叶成丝状，叶面光滑，被有白色蜡粉（图 1B，图 1b）。均为双悬果，呈黄绿色，卵状长圆形，两头略尖（图 1C，图 1c）。

花期，对茴香 FvGZBY001 与 FvGZKY001 材料花进行对比观察，发现茴香雄性不育材料 FvGZBY001 开花时出现异常（图 2A），花丝不伸长（图 2B），花药不明显（图 2C），花药中未有花粉粒（图 2D）；而茴香可育材料 FvGZKY001 中，其开花正常（图 2a），花丝伸长（图 2b），花药明显（图 2c），花药中有大量的花粉粒，且能被碱性品种染色（图 2d）。表明茴香 FvGZBY001 材料具有典型的雄性不育特征，可用于茴香杂交育种中。

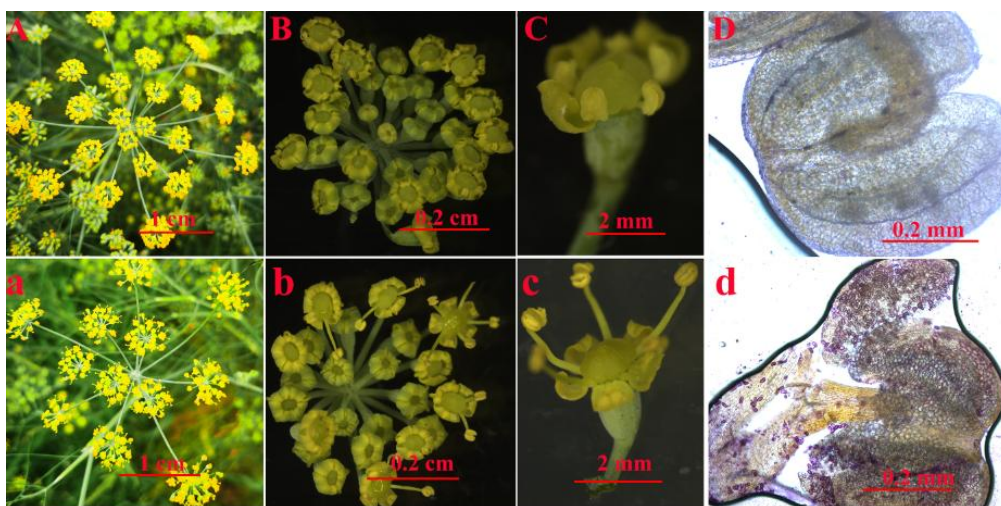


A: FvGZBY001 植株; B: FvGZBY001 幼苗; C: FvGZBY001 种子; a: FvGZKY001 植株; b: FvGZKY001 幼苗; c: FvGZKY001 种子

A: Plant of FvGZBY001; B: Seeding of FvGZBY001; C: Seeds of FvGZBY001; a: Plant of FvGZKY001; b: Seeding of FvGZKY001; c: Seeds of FvGZKY001

图 1 茴香 FvGZBY001 与 FvGZKY001 植物与种子的观察

Fig.1 Observation of plants and seeds in fennel FvGZBY001 and FvGZKY001



A: FvGZBY001 田间花; B: 盛花期 FvGZBY001 花; c: 盛花期 FvGZBY001 单个花; D: FvGZBY001 花药中花粉粒; a: FvGZKY001 田间花; b: 盛花期 FvGZKY001 花; c: 盛花期 FvGZKY001 单个花; d: FvGZKY001 花药中花粉粒

A: Field flower of FvGZBY001; B: Flower of FvGZBY001 in blooming period; C: Individual flower of FvGZBY001 in blooming period; D: Pollen grains in anthers of FvGZBY001; a: Field flower of FvGZKY001; b: Flower of FvGZKY001 in blooming period; c: Individual flower of FvGZKY001 in blooming period; d: Pollen grains in anthers of FvGZKY001

图 2 茴香 FvGZBY001 与 FvGZKY001 花的观察

Fig.2 Observation of flower in fennel FvGZBY001 and FvGZKY001

2.2 FvGZBY001 与 FvGZKY001 籽粒脂质成分结构分析

正离子模式下, FvGZBY001 共检测出 1353 种物质; 而负离子模式下, FvGZKY001 中共检测出 1351 种物质, 并以此作为共同物质数据基础进行后期相关分析(表 1)。在茴香 FvGZBY001 与 FvGZKY001 籽粒中均检测出 7 类 49 个脂质分子小类物质, 主要为中性脂类(含 8 个脂质分子小类共 56 种物质)、甘油酯类(含 3 个脂质分子小类共 366 种物质)、甘油磷脂类(含 20 个脂质分子小类共 371 种物质)、鞘脂类(含 8 个脂质分子小类共 374 种物质)、糖脂类(含 6 个脂质分子小类共 94 种物质)、衍生脂质类(含 3 个脂质分子小类共 40 种物质)及其他脂类类(含 3 个脂质分子小类共 52 种物质)。其中, 甘油磷脂类、鞘脂类、甘油酯类物质为其主要的三类脂质物, 均占 27% 左右。

茴香 FvGZBY001 与 FvGZKY001 籽粒含量前 10 的脂质分子小类中, 有 9 个共同小类; 其含量从高到低依次为: TG (Triglyceride, 甘油三酯, 20%) > Cer (Ceramide, 神经酰胺, 16%) > Hex1Cer (Monohexosylceramide, 单己糖神经酰胺, 9.6%) > PC (Phosphatidylcholine, 磷脂酰胆碱, 7.9%) > DG (Diglyceride, 甘油二酯, 7.9%) > PE (Phosphatidylethanolamine, 磷脂酰乙醇胺, 5.1%) > PG (Phosphatidylglycerol, 磷脂酰甘油, 5.0%) > WE (Wax Ester, 蜡酯, 2.4%) > CL (Cardiolipin, 心磷脂, 2.3%) > PI (Phosphatidylinositol, 甘油磷脂的磷脂酰肌醇, 2.2%) /MGDG (Monogalactosyldiacylglycerol, 单半乳糖二酰甘油酯, 2.3%)。结果表明, 茴香 FvGZBY001 与 FvGZKY001 籽粒中不仅脂质及脂质小类成分丰富, 且甘油酯类、甘油磷脂类及鞘脂类的含量较高, 可作为油脂材料进行提取、加工及利用。

中性脂类的 StE (Stigasterol ester, 豆甾醇酯), 糖脂类的 DGDG (Digalactosyldiacylglycerol, 二半乳糖

基二酰基甘油)、DGMG (Digalactosylacylglycerol, 二半乳糖基酰基甘油)、MGDG (Monogalactosyldiacylglyceride, 单半乳糖二酰甘油酯)及MGMG (Digalactosylacylglycerol, 单半乳糖基二酰基甘油) 4种脂质物均为植物性成分。SiE (Sitosterol ester, 谷甾醇酯)、LPA (lyso-phosphatidic acid, 溶血磷脂酸)、PIP2 (Diphosphatidyl inositol acid, 二磷脂酰肌醇酸)及phSM (phytosphingosine, 植物鞘氨醇)在2种茴香籽粒中均被检测到仅有1种脂质小类物质成分。此外,正离子模式下,FvGZBY001中有1种MGDG脂质物未检测到;负离子模式下,FvGZKY001中有3种脂质物未检测到,分别为TG、Cer及WE(表1中加粗数字)。目前,对于TG、Cer及WE的相关功能有相关研究,但MGDG脂质物质的具体功能尚不清楚,是否影响或决定茴香的雄性不育,需进一步研究。

表1 茴香籽粒脂质物分类及功能分析

Table 1 Classification and function analysis of lipid composition in seeds of fennel

分类 Classification	脂质分子小类 Sub class of lipids	POS 个数/占比 (%) Number of POS/ Proportion	NEG 个数/占比 (%) Number of NEG /Proportion	属性和功能 Attributes and functions		
中性脂类 Neutral lipids	乙酰化葡萄糖糖基菜油甾醇酯 Acetylated glucosaccharide canola sterol ester, AcHexCmE	7/0.52	7/0.52	含短链脂肪酸较多,为主要的储存脂类;主要有 β -谷甾醇酯,豆甾醇酯,菜油甾醇酯3种成分;减低血浆总胆固醇和低密度脂蛋白胆固醇的作用;降血脂功能;用于食品加工和医疗行业。		
	乙酰化葡萄糖糖基谷甾醇酯 Acetylated glucose-sitosterol ester, AcHexSiE	11/0.81	11/0.81			
	乙酰化葡萄糖糖基豆甾醇酯 Acetylated glucosylstigasterol ester, AcHexStE	6/0.44	6/0.44			
	乙酰化葡萄糖糖基酵母甾醇酯 Acetylated glucosylsaccharomyces sterol ester, AcHexZyE	3/0.22	3/0.22			
	胆固醇酯 Cholesteryl ester, ChE	5/0.37	5/0.37			
	谷甾醇酯 Sitosterol ester, SiE	1/0.07	1/0.07			
	豆甾醇酯 Stigasterol ester, StE	6/0.44	6/0.44			
	酵母甾醇酯 Yeast sterol ester, ZyE	17/1.26	17/1.26			
	甘油酯类 Glyceride	甘油一酯 Monoglycerin, MG	4/0.30		4/0.30	不溶于水溶于有机质,食物脂肪主要成分,其所含脂肪酸的种类和链长的不同而具有不同的理化性质。
		甘油二酯 Diglyceride, DG	79/7.97		79/7.99	
甘油三酯 Triglyceride, TG		283/20.92	282/20.95			
甘油磷脂类 Glyceryl phosohatide	磷脂酰胆碱 Phosphatidylcholine, PC	79/7.97	79/7.99	最常见、含量最多的一类磷脂,极性脂;构成生物膜;是胆汁和膜表面活性物质等成分之一;参与细胞膜对蛋白质的识别和信号传导;优良天然活性剂,无毒、无刺激,不污染环境;良好的抗氧化剂,用于医疗;PG是其主要成分,一种酸性磷脂,主要在大肠杆菌等微生物中存在;是胡萝卜素脂生物合成的中间产物。		
	磷脂酰乙醇胺 Phosphatidyl ethanolamine, PE	51/5.15	51/5.16			
	磷脂酰甘油 Phosphatidylglycerol, PG	50/5.05	50/5.06			
	溶血磷脂酸 Lyso-phosphatidic acid, LPA	1/0.07	1/0.07			
	溶血磷脂酰胆碱 Lyso-phosphatidylcholine, LPC	11/0.81	11/0.81			
	溶血磷脂酰乙醇胺 Lyso-phosphatidyl ethanolamine, LPE	3/0.22	3/0.22			
	溶血磷脂酰甲醇 Lyso-phosphatidyl ethanol, LPMe	4/0.30	4/0.30			
	溶血磷脂酰甘油 Lyso-phosphatidylglycerol, LPG	4/0.30	4/0.30			
	心磷脂 Cardiolipin, CL	32/2.37	32/2.37			
	磷脂酰肌醇 Phosphatidylinositol, PI	31/2.29	31/2.29			
	磷脂酰肌醇酸 Phosphatidyl inositol acid, PIP	2/0.15	2/0.15			
	二磷脂酰肌醇酸 Diphosphatidyl inositol acid, PIP2	10/0.7	1/0.07			
	磷脂酸 Phosphatidic acid, PA	28/2.07	28/2.07			
	双溶血心磷脂 Dilysophospholipin, MLCL	10/0.74	10/0.75			
	二甲基化磷脂酰乙醇胺 Dimethylatedphosphatidylethanolamine, dMePE	9/0.67	9/0.67			
	环磷脂酸 Cyclophosphatidic acid, cPA	3/0.22	3/0.22			
	磷脂酰乙醇 Phosphatidyl ethanol, PEt	8/0.59	8/0.59			
	磷脂酰丝氨酸 Phosphatidylserine, PS	22/1.62	22/1.63			
	磷脂酰甲醇 Phosphatidylcarbinol, PMe	15/1.11	15/1.11			
	溶血双磷脂酸 Lysophosphatidic acid, LBPA	7/0.52	7/0.52			
鞘脂类 Sphingolipid	神经酰胺 Ceramide, Cer	222/16.41	221/16.36	包括鞘磷脂、脑苷脂和神经节苷脂;生物膜结构的重要组成部分;参与细胞生长、衰老等许多重要的信号传导过程;多是饱和脂肪酸或单元不饱和脂肪酸;碳链长度为16~26个碳原子。		
	单糖基神经酰胺 Monosaccharide ceramide, Her1Cer	130/9.61	130/9.62			
	单糖基神经酰胺 Monosaccharide ceramide, Her2Cer	8/0.59	8/0.59			
	单糖基神经酰胺 Monosaccharide ceramide, Her3Cer	2/0.15	2/0.15			
	鞘磷脂 Sphingomyelin, SM	3/0.22	3/0.22			
	鞘氨醇 Sphingol, SPH	7/0.52	7/0.52			
	磷酸鞘氨醇 Sphingosine phosphate, SPHP	2/0.15	2/0.15			
	植物鞘氨醇 phytosphingosine, phSM	1/0.07	1/0.07			

糖脂类	二半乳糖基二酰基甘油 Digalactosyldiacylglycerol, DGDG	20/1.48	20/1.48	有甘油糖脂和鞘糖脂两类；是动植物细胞膜的重要成分；甘油糖脂具有抗氧化、抗病毒、抗菌、抗肿瘤、抗炎、抗动脉粥样硬化等多种生物活性；能量来源，提高免疫力。	
Glycolipid	二半乳糖基酰基甘油 Digalactosylacylglycerol, DGMG	5/0.37	5/0.37		
	硫代异鼠李糖甘油二酯 Sulfoquinovosyldiacylglycerol, SQDG	24/1.77	24/1.78		
	硫代异鼠李糖甘油一酯 Sulfoquinovosylmonoacylglycerol, SQMG	7/0.52	7/0.52		
	单半乳糖二酰基甘油酯 Monogalactosyldiacylglyceride, MGDG	31/2.29	32/2.37		
	单半乳糖二酰基甘油 Monogalactosyldiacylglycerol, MGMG	6/0.44	6/0.44		
衍生脂质类	双-甲基化磷脂酸 Dimethylatedphosphatidic acid, BisMePA	8/0.59	8/0.59		重要的活性物质；有能量储存、保护作用；生物膜骨架成分。
Derived lipid	溶血二甲甲基化磷脂酰乙醇胺 Hemolytic dimethylatedphosphatidylethanolamine, LdMePE	5/0.37	5/0.37		
	甲基化磷脂酰胆碱 Methylated phosphatidylcholine, MePC	27/2.00	27/2.00		
其他磷脂类	蜡酯 Wax ester, WE	34/2.44	33/2.44		防止水分蒸发；抗心肌缺血作用；提高人体免疫力；抗氧化、延缓衰老、保肝等。
Other	辅酶 Coenzyme, Co	4/0.30	4/0.30		
phospholipids	O-2 酰化 (γ-羟基) 脂肪酸 O-2 acylated (gamma-hydroxyl) fatty acids, OAHFA	14/1.03	14/1.04		
总计 Total		1353	1351		

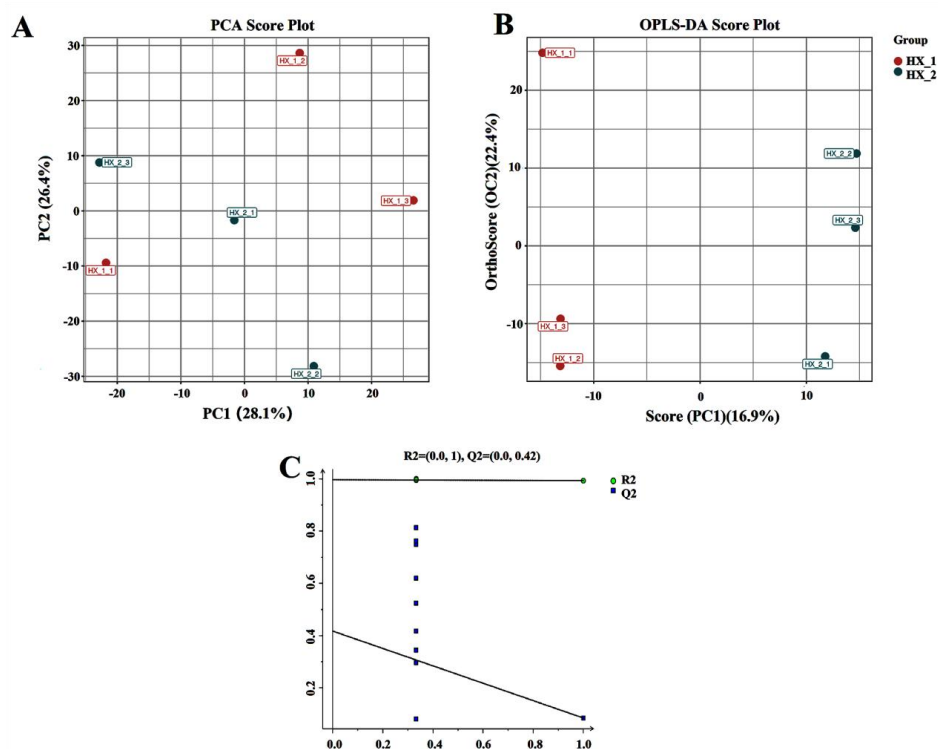
POS 指在正离子模式下检测到的脂质数量；NEG 指在负离子模式下检测到的脂质数量；加粗为有数量差异的脂质小类物质

POS refers to the amount of lipids detected in positive ion mode; NEG refers to the amount of lipids detected in negative ion mode; Bolded were lipid substances with quality variance

2.3 FvGZBY001 与 FvGZKY001 籽粒脂质组学差异分析

为了分析 2 种茴香果实之间的总体脂质差异和组内之间的变异度大小，采用主成分 PCA 分析研究各组之间脂质组的分离趋势（图 3A）。结果显示，2 个主成分 PC1 和 PC2 分别占比 28.1%和 26.4%，其和略大于 50%，说明 PCA 分析结果可靠。2 组样本在二维图上的分离趋势不太明显，组内间的数据点在得分图上未能明显区分。结果表明，茴香 FvGZBY001 和 FvGZKY001 样品中的脂质种类及表达量的差异不明显，未能够从总体上反映出 2 组样品之间的脂质物质差异。

通过 OPLS-DA 模型对 1351 种脂质物质数据进行分析，茴香 FvGZKY001 果实样品分布在置信区间右侧，FvGZBY001 果实样品分布在置信区间左侧（图 3B），2 组样品的区分效果明显。由 OPLS-DA 验证发现，所有蓝色的 Q2 点均低于最右的原始的蓝色的 Q2 点（最右的蓝色 Q2 点有可能和绿色 R2 点重合在最右上角），而点的回归线与纵坐标交点小于 0，说明此结果可靠有效，可根据 VIP 值分析筛选其差异代谢物（图 3C）。



HX_1 和 HX_2 分别表示 FvGZBY001 和 FvGZKY001

HX_1 and HX_2 means FvGZBY001 and FvGZKY001, respectively

图 3 2 种茴香品种的 PCA (A)、OPLS-DA 得分图 (B) 及 OPLS-DA 验证图 (C)

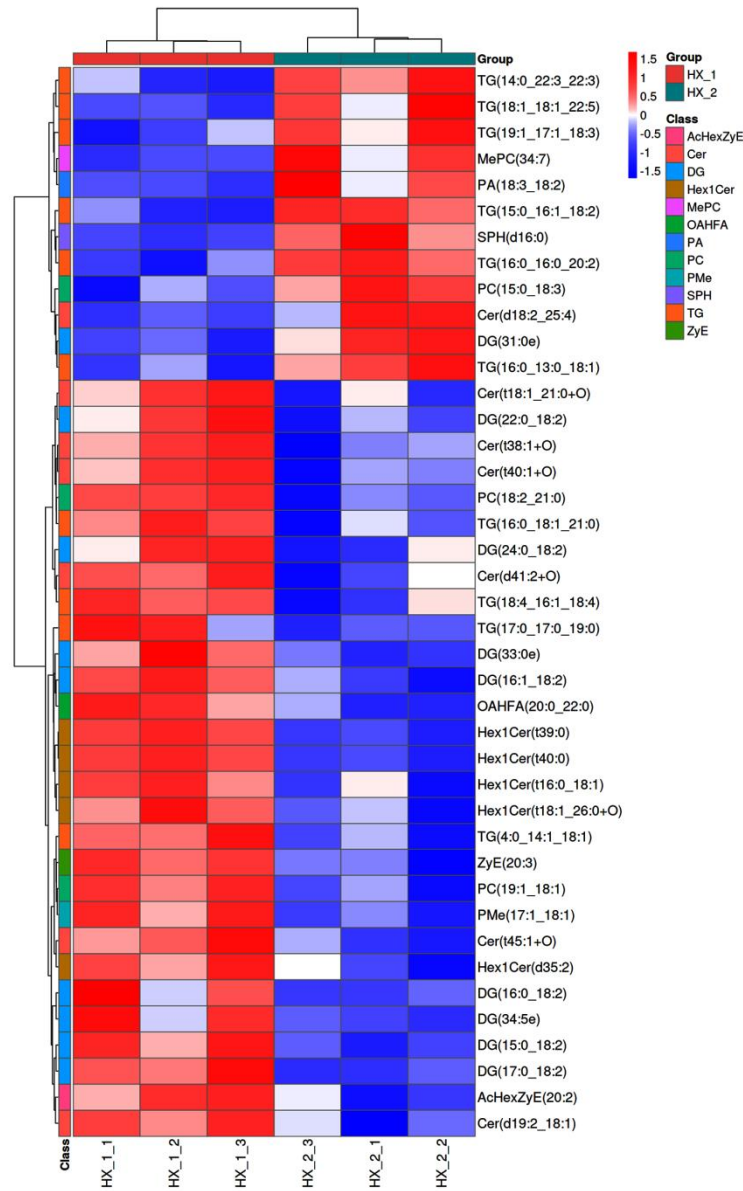
Fig. 3 PCA (A), OPLS-DA scores (B) and OPLS-DA validation graphs (C) of two fennel varieties

2.4 茴香 FvGZBY001 与 FvGZKY001 籽粒差异脂质物质的鉴定与分析

2 种茴香籽粒中共筛选出 41 种差异表达的脂质分子物质，主要是甘油酯类（19 种）、鞘脂类（13 种）、甘油磷脂类（5 种）、中性脂（2 种）、衍生脂类（1 种）及其他磷脂（1 种）；其中，在茴香 FvGZBY001 和 FvGZKY001 上调表达分别为 29 种和 12 种（表 2）。在 3 次重复试验中，两者不同脂质物质在热图中的分布差异明显 ($P < 0.05$)，且相对含量越大，颜色越红（以深红、粉红为主）；相对含量越低，则颜色越蓝（图 4）。FvGZBY001 中，PC (18:2/21:0)、DG (16:1/18:2)、Hex1Cer (t39:0) 及 Hex1Cer (t40:0) 在 3 个样品中的颜色均较红，Cer (t18:1/21:0+O)、AcHexZyE (20:2) 及 MePC (34:7) 在 2 个样品中的颜色较红，而 TG (17:0/17:0/19:0)、DG (16:0/18:2) 及 DG (34:5e) 这 3 个脂质物中有 1 个颜色偏蓝。FvGZKY001 中，TG (16:0/13:0/18:1)、TG (16:0/16:0/20:2) 在 3 个样品中颜色相对较红，除 Cer (d18:2/25:4) 中 1 个颜色偏蓝。表明各脂质物质含量在 3 个样品中差异显著，与表 2 中结果相一致。

上调表达脂质物中，茴香 FvGZKY001 包括甘油酯类的 6 种 TG、1 种 DG，鞘脂类的 1 种 Cer、1 种 SPH，甘油磷脂类的 1 种 PA、1 种 PC 及衍生脂类的 1 种 MePC；而茴香 FvGZBY001 包括中性脂类的 1 种 AcHexZyE (1.8 倍) 和 1 种 ZyE (1.76 倍)，鞘脂类的 6 种 Cer (1.33~2.06 倍) 和 5 种 Her1Cer (1.29~1.97 倍)，甘油酯类的 8 种 DG (0.89~2.23 倍) 和 4 种 TG (1.28~1.77 倍)，甘油磷脂类的 2 种 PC (1.25~1.44 倍) 和 1 种

PMe (2.22 倍), 其他磷脂类的 1 种 OAHFA (1.94 倍)。41 种差异表达脂质分子物质多以 2~3 个长脂肪酸链为主, 每条链所含碳原子数差异较大, 以碳 16、18、20 为主, 少量物质为单数碳或短链。其中, DG 中 6 种为 2 链, 3 种为单链, 碳原子数范围为 15~35; 而 8 种 TG 均为 3 链, 碳原子数范围为 4~22。表明这些脂质物质不仅数量多, 且种类丰富, 为茴香籽粒脂质品质的分析打下了基础。



HX_1 和 HX_2 分别表示 FvGZBY001 和 FvGZKY001

HX_1 and HX_2 means FvGZBY001 and FvGZKY001, respectively

图 4 2 种茴香籽粒差异脂质聚类热图

Fig. 4 Hierarchical clustering of differential lipid metabolites in seed of two fennel varieties

表 2 2 种茴香籽粒的显著差异脂质物质

Table 2 Significantly differential lipid compositions in seeds of two fennel varieties

序号 N o.	脂质分子 Lipid molecules	P 值 P value	变量投 影重要 度 Variabl	差异 倍数 Fold chan	log ₂ F C	显著 性 Regul ation	序号 N o.	脂质分子 Lipid molecules	P 值 P value	变量投 影重要 度 Variable	差异倍 数 Fold change	log ₂ F C	显著 性 Regu lation
---------------	-------------------------	----------------	----------------------------	--------------------------	-------------------------	---------------------------	---------------	-------------------------	----------------	-----------------------------	----------------------------	-------------------------	---------------------------

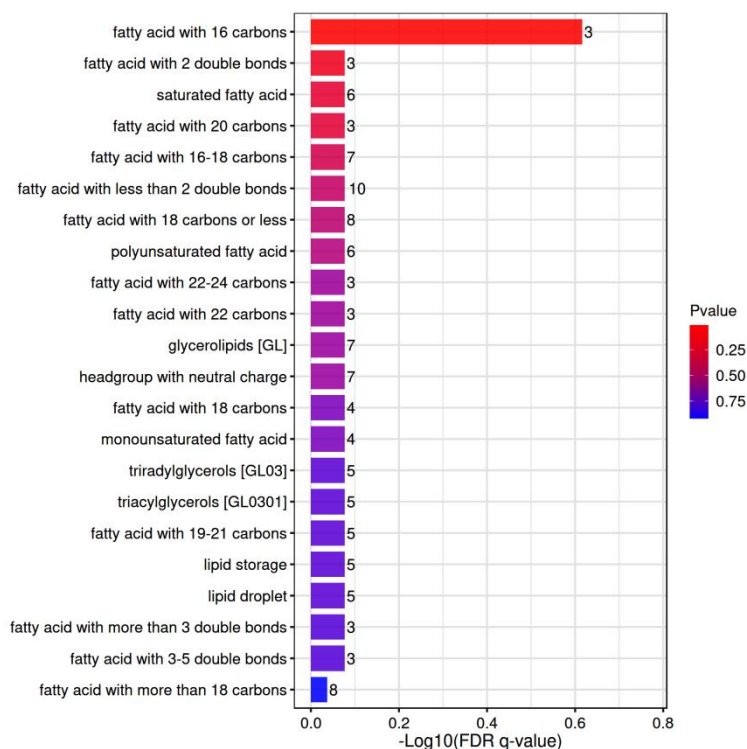
		e importance in the projection						importance in the projection					
1	AcHexZyE(20:2)	3.20×10^{-2}	1.97	1.8	0.85	上调	22	Hex1Cer(t40:0)	7.15×10^{-4}	2.39	1.51	0.59	上调
2	Cer(d18:2/25:4)	3.38×10^{-2}	2.02	0.04	-4.82	下调	23	MePC(34:7)	2.72×10^{-2}	2.18	0.91	-0.14	下调
3	Cer(d19:2/18:1)	4.63×10^{-2}	1.90	1.81	0.85	上调	24	OAHA(20:0/22:0)	1.76×10^{-2}	2.15	1.94	0.95	上调
4	Cer(d41:2+O)	3.53×10^{-2}	2.04	2.06	1.05	上调	25	PA(18:3/18:2)	3.88×10^{-2}	2.09	0.39	-1.35	下调
5	Cer(t18:1/21:0+O)	4.50×10^{-2}	2.03	1.51	0.59	上调	26	PC(15:0/18:3)	2.97×10^{-2}	2.07	0.82	-0.29	下调
6	Cer(t38:1+O)	4.42×10^{-2}	2.00	1.36	0.44	上调	27	PC(18:2/21:0)	1.15×10^{-2}	2.24	1.44	0.52	上调
7	Cer(t40:1+O)	4.77×10^{-2}	1.99	1.4	0.48	上调	28	PC(19:1/18:1)	1.75×10^{-2}	2.22	1.35	0.44	上调
8	Cer(t45:1+O)	2.75×10^{-2}	2.05	1.33	0.41	上调	29	PMe(17:1/18:1)	1.44×10^{-2}	2.24	2.22	1.15	上调
9	DG(15:0/18:2)	1.02×10^{-2}	2.20	2.23	1.16	上调	30	SPH(d16:0)	1.65×10^{-2}	2.09	0.63	-0.66	下调
10	DG(16:0/18:2)	4.87×10^{-2}	2.01	1.34	0.42	上调	31	TG(14:0/22:3/22:3)	2.28×10^{-2}	2.13	0.69	-0.54	下调
11	DG(16:1/18:2)	1.57×10^{-2}	2.17	1.37	0.45	上调	32	TG(15:0/16:1/18:2)	6.30×10^{-3}	2.22	0.87	-0.2	下调
12	DG(17:0/18:2)	9.26×10^{-3}	2.21	1.81	0.86	上调	33	TG(16:0/13:0/18:1)	2.22×10^{-2}	2.13	0.3	-1.76	下调
13	DG(22:0/18:2)	4.07×10^{-2}	2.03	1.58	0.66	上调	34	TG(16:0/16:0/20:2)	9.80×10^{-3}	2.19	0.24	-2.04	下调
14	DG(24:0/18:2)	4.99×10^{-2}	1.91	1.54	0.62	上调	35	TG(16:0/18:1/21:0)	3.76×10^{-2}	2.07	1.43	0.51	上调
15	DG(31:0e)	1.89×10^{-2}	2.12	0.89	-0.17	下调	36	TG(17:0/17:0/19:0)	4.74×10^{-2}	2.03	2.97	1.57	上调
16	DG(33:0e)	2.65×10^{-2}	2.04	1.37	0.45	上调	37	TG(18:1/18:1/22:5)	3.57×10^{-2}	2.11	0.4	-1.33	下调
17	DG(34:5e)	3.16×10^{-2}	2.10	1.2	0.26	上调	38	TG(18:4/16:1/18:4)	3.26×10^{-2}	2.06	1.77	0.83	上调
18	Hex1Cer(d35:2)	4.46×10^{-2}	2.00	1.81	0.85	上调	39	TG(19:1/17:1/18:3)	4.16×10^{-2}	2.11	0.62	-0.7	下调
19	Hex1Cer(t16:0/18:1)	3.42×10^{-2}	2.13	1.97	0.98	上调	40	TG(4:0/14:1/18:1)	2.65×10^{-2}	2.14	1.28	0.36	上调
20	Hex1Cer(t18:1/26:0+O)	4.26×10^{-2}	2.04	1.29	0.36	上调	41	ZyE(20:3)	2.20×10^{-2}	2.18	1.76	0.82	上调
21	Hex1Cer(t39:0)	7.15×10^{-4}	2.39	1.51	0.59	上调							

表中所列的均是差异显著的脂质分子的化学式，以 TG(14:0/22:3/22:3)为例：TG 表示三酰基甘油，属于一种脂质小类，括号内的数字表示连接在该脂质分子上的脂肪酸，如 14:0/22:3/22:3 表示该三酰基甘油分子上连接了 3 个脂肪酸，分别是 1 个十四碳烯酸（14:0）和 2 个二十二碳烯酸（22:3）

Listed in this table were the chemical formulas of lipid molecules with significant differences, taking TG (14:0/22:3/22:3) as an example: TG was the symbol of triacylglycerol, which belongs to a lipid subclass, and the fatty acids in parentheses represent the fatty acids attached to the lipid molecule, for example, 14:0/22:3/22:3 means that one fatty acids were attached to the triacylglycerols molecule, were two tetradecenoic acids (14:0) and twodocoenoic acid (22:3), respectively

2.5 差异脂质物 LION 富集分析

通过 LION 数据库对鉴定出的 41 种差异脂质物进行富集分析(图 5)。其主要富集在 22 个不同物质上，主要以含不同碳数的脂肪酸为主，小部分为糖脂、甘油酯、带中性电荷的头团、脂质沉积和脂滴等物质。其中，3 种含有 16 个碳的脂肪酸物质富集效果最显著；其次，3 种含有两个双键的脂肪酸、6 种饱和脂肪酸、3 种含有 20 个碳的脂肪酸、7 种含有 16~18 个碳的脂肪酸及 10 种双键少于 2 个的脂肪酸物质富集效果较显著；而超过 18 个碳的脂肪酸物质富集效果最不显著。这些与脂质物的常规属性相一致，如自然界里的 TG 以 16、18 和 20 个碳原子的最常见^[38]。在本研究中，同样得到了相同的结果（表 2）。而糖脂、甘油酯、带中性电荷的头团、脂质沉积和脂滴等物质富集效果一般，这对茴香籽粒脂质物质功能的进一步分析提供了基础。



fatty acid with 16 carbons: 有 16 个碳的脂肪酸; fatty acid with 2 double bonds: 两个双键的脂肪酸; saturated fatty acid: 饱和脂肪酸; fatty acid with 20 carbons: 有 20 个碳的脂肪酸; fatty acid with 16-18 carbons: 含有 16~18 个碳的脂肪酸; fatty acid with less than 2 double bonds: 双键少于 2 个的脂肪酸; fatty acid with 18 carbons or less: 含有 18 个或更少碳的脂肪酸; polyunsaturated fatty acid: 多不饱和脂肪酸; fatty acid with 22~24 carbons: 含有 22~24 个碳的脂肪酸; fatty acid with 22 carbons: 有 22 个碳的脂肪酸; glycerolipids: 甘油糖脂; headgroup with neutral charge: 带中性电荷的头团; fatty acid with 18 carbons: 有 18 个碳的脂肪酸; monounsaturated fatty acid: 单不饱和脂肪酸; triradylglycerols: 三酰甘油; triacylglycerols: 三酰基甘油; fatty acid with 19~21 carbons: 有 19~21 个碳的脂肪酸; lipid storage: 脂质沉积; lipid droplet: 脂滴; fatty acid with more than 3 double bonds: 具有 3 个以上双键的脂肪酸; fatty acid with 3~5 double bonds: 有 3~5 个双键的脂肪酸; fatty acid with more than 18 carbons: 超过 18 个碳的脂肪酸

图 5 茴香籽粒差异脂质物质的 LION 富集

Fig. 5 LION enrichment of differential expressed lipids in fennel seeds

3 讨论

3.1 茴香雄性不育的研究利用

雄性不育，即一种不能产生有活力或可育花粉的母性遗传现象，包括胞质雄性不育类型（CMS，cytoplasmic male sterility）、核不育类型（NMS，nucleic male sterility）和核质互作不育类型（GMS，cytoplasmic-nucleic male sterility）^[39]。若杂交母本具有雄性不育性，则可以免除人工去雄，节约人力，降低制种成本，且可以保证种子纯度。这 3 种雄性不育类型中，因 CMS 育种相对简单，只需要两系配套（即不育系和恢复系），被越来越多的应用到各类蔬菜育种中，特别是叶用和根用蔬菜，如白菜（*Brassica campestris* L. ssp. *pekinensis* (Lour) Olsson）^[40]、甘蓝（*Brassica oleracea* var. *capitata* L.）^[41]、胡萝卜^[42]、芹菜^[43]等。

雄性不育材料的发现，极大地推进了伞形科蔬菜作物的杂交育种进程；而雄性不育材料的利用，并确定其雄性不育遗传机制，将进一步为杂交育种及其分子机理提供理论基础。有研究发现，胡萝卜雄性不育

主要由线粒体基因控制，如 *atp6*、*atp8*、*atp9*、*cox1* 等^[10,44]。2 例芹菜雄性不育材料的代表，01-3A^[43]和 QCBU-001^[45]，发现其雄性不育均由线粒体 *cox1* 基因控制，这亦促进了芹菜杂交育种和制种。水芹亦有 2 份雄性不育材料被研究报道，分别为水芹种 [*Oenanthe javanica* (Blume) DC.] (命名为: OJBY001)^[46]和多裂叶水芹种 (*Oenanthe thomsonii* C. B. Clarke) (命名为: OtBY001)^[11]，而 OJBY001 不育性可能为母系遗传，OtBY001 可能为单基因控制的隐性遗传^[47]。本研究中，推测 FvGZBY001 为细胞核雄性不育，该不育性可用于茴香杂交育种，但其不育性状遗传机制需进一步深入研究、确定。

国外对茴香雄性不育制种、品质、分子等相关的研究较早、较多、较深入，筛选出多种优良茴香品种^[48-51]。我国对茴香的相关研究较晚、较浅，种植的茴香品种均为常规制种获得的种子；因无雄性不育材料而导致其制种难，无法获得杂交优势、高品质的茴香品种，导致本土优良茴香品种相当缺乏。因此，为更好地利用茴香 FvGZBY001 材料，确定其雄性不育的遗传机制，为我国优质籽粒茴香品种的创制提供可能；同时收集、挖掘、利用我国丰富的茴香种质资源，结合育种及分子等相关手段，筛选出多种优良性状的茴香新品种，对我国茴香杂交育种、制种及利用将有着重大的意义。

3.2 茴香籽粒脂质成分利用

目前，脂质组学^[28]、代谢组学^[52]已越来越多的用于作物营养物质分析及加工利用。本研究中，茴香 FvGZBY001 和 FvGZKY001 籽粒中脂质物质种类丰富，其主要的活性物质成分以常见的甘油酯类、甘油磷脂类及鞘脂类物质居多（总含量约占 80%），与油脂类作物结果相一致^[29-30]。且多以 2~3 个长链为主，每条链所含碳原子数差异范围较大，使其具有不同的理化性质，为茴香籽粒脂质成分的提取提供了保障，使其可用于食品、医药、工业及加工业等各个行业。其中，甘油酯是构成食物脂肪的主要成分^[53]；甘油磷脂是构成生物膜的主要成分^[54]；鞘脂类具有参与细胞生长、调控等多种信号传导功能^[55]；中性脂具有降血脂的功效^[56]；糖脂类物质具有抗氧化、抗炎、抗动脉粥样硬化等多种生物活性^[57]；衍生脂质具有能量储存的功效^[58]；蜡酯 (WE) 是由长链的高级脂肪酸和高级脂肪醇所形成的酯，具有生物可降解性，是良好的润滑剂，但不宜食用^[59]。单半乳糖二酰甘油酯 (MGDG) 在微生物酶作用下释放出游离氨基酸而被消化吸收，可作为医疗的特殊成分使用。此外，中性脂中的 AcHexCmE、AcHexStE、AcHexZyE 这 3 类脂质物质，其具体功能尚未有相关研究，需进一步深入研究以为其加工利用奠定基础。

本研究中，在茴香 FvGZBY001 和 FvGZKY001 中检测出 MGDG 脂质小类物质，分别含有 31 种(2.29%)、32 种(2.37%)脂质物质；还检测出 WE 脂质成分，分别含有 34 种(2.44%)、33 种 (2.44%)脂质物质；同时，鉴定出衍生脂质类的 BisMePA、LdMePE 及 MePC，其他磷脂的 OAHFA 等脂质物质，但其具体功能尚不清楚。而 FvGZBY001 中共有 29 种脂质小类物质上调表达，且有 1 种 MGDG 脂质物未检测到；FvGZKY001 中只有 12 种脂质小类物质上调表达，且 TG、Cer 及 WE 中共有 3 种脂质物未检测到；这些差异表达和未检测到的脂质小类物质与茴香雄性不育是否有影响或决定性作用，仍需进一步深入研究。

茴香作为调料，在各类餐饮、食品加工以及家庭消费中得到了广泛的使用^[60-61]。同时，国际市场对优质茴香调料的需求增长，为我国茴香调料出口也带来了新机遇。茴香籽粒中的脂质成分是其重要的经济指标，决定其品质的优劣及加工利用的方向。本研究筛选获得了茴香雄性不育材料 FvGZBY001，为我国茴香制种提供了材料保障；同时利用 LC-MS 对茴香 FvGZBY001 和 FvGZKY001 籽粒的脂质成分进行了分析，其种类丰富，挥发油含量相对较高，特殊成分较多，可作为其籽粒提取油的加工、利用的基础条件。

参考文献

- [1] 刘昆言, 禹双双, 刘琪龙, 祝腾辉, 廖桂瑜, 吴宇平, 郑绍儒. 小茴香研究进展. 农产品加工, 2020, 17 (9): 67-73
Liu K Y, Yu S S, Liu Q L, Zhu T H, Liao G Y, Wu Y P, Zhen S R. Progress in research on fennel. Farm Products Processing, 2020, 17 (9): 67-73
- [2] Ibrahim N, Moussa A Y. A comparative volatilomic characterization of florence fennel from different locations: antiviral prospects. Food and Function, 2021, 12(4): 1498-1515
- [3] Khammassi M, Loupassaki S, Tazarki H, Mezni F, Slama A, Tlili N, Zaouali Y, Mighri H, Jamoussi B. Variation in essential oil composition and biological activities of *Foeniculum vulgare* Mill. populations growing widely in Tunisia. Journal of Food Biochemistry, 2018, 42 (3): e12532
- [4] Noreen S, Tufail T, Ain H B U, Awuchi C G. Pharmacological, nutraceutical, functional and therapeutic properties of fennel (*Foeniculum vulgare*). International Journal of Food Properties, 2023, 26 (1): 915-927
- [5] 梁焕, 安岳. 不同主产区小茴香药材质量评价. 中国农学通报, 2023, 39 (19): 148-152
Liang H, An Y. The quality evaluation of *Foeniculi fructus* from different production origin. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2023, 39 (19): 148-152
- [6] Izadi-Darbandi A, Akbari A, Bahmani K, Warner R, Ebrahimi M, Ramshini H. Fatty acid profiling and oil content variation among Iranian fennel (*Foeniculum vulgare* Mill. var. *vulgare*) landraces. International Journal of Horticultural Science and Technology, 2022, 10 (3): 193-202
- [7] Akbari F, Izadi-Darbandi A, Bahmani K, Farhadpour M, Ebrahimi M, Ramshini H, Esmaceli Z. Assessment of phenolic profile, and antioxidant activity in developed breeding populations of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill). Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 2023, 48: e102639
- [8] Jadid N, Widodo A F, Ermavitalini D, Sa'adah N N, Gunawan S, Nisa C. The medicinal Umbelliferae plant fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.): Cultivation, traditional uses, phytopharmacological properties, and application in animal husbandry. Arabian Journal of Chemistry, 2023, (16): e104541
- [9] 谭国飞, 钟秀来, 罗庆, 王天文. 芹菜线粒体 *atp6* 基因的克隆及在花发育过程中的表达. 贵州农业科学, 2019, 47 (7): 110-116
Tan G F, Zhong X L, Luo Q, Wang T W. Clone and expression of mitochondrial *atp6* gene in celery during flowers development. Guizhou Agricultural Sciences, 2019, 47 (7): 110-116
- [10] 罗庆, 钟秀来, 王天文, 谭国飞. 胡萝卜雄性不育研究及展望. 西南农业学报, 2019, 32 (增刊 1): 310-318
Luo Q, Zhong X L, Wang T W, Tan G F. Advance and study on male sterility of carrot. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2019, 32 (Suppl 1): 310-318
- [11] 陈志峰, 罗庆, 张新圻, 熊爱生, 朱顺华, 钟秀来, 谭国飞. 多裂叶水芹雄性不育材料的发现与鉴定. 中国野生植物资源, 2024, 43 (5): 52-57
Chen Z F, Luo Q, Zhang X Q, Xiong A S, Zhu S H, Zhong X L, Tan G F. Identification and analysis of male sterile materials of *Oenanthe thomsonii* C. B. Clarke. Chinese Wild Plant Resources, 2024, 43 (5): 52-57
- [12] Dashora A, Sharma R K, Sastry E V D, Singh D. Varietal cross diallel analysis for seed yield and its components in fennel. Acta Agronomica Hungarica, 2009, 57 (3): 383-387
- [13] Akbari A, Izadi-Darbandi A, Ramshini H, Ebrahimi M. Evaluation of heterosis and heritability of quantitative traits and grouping of new cultivars and genotypes of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill). Iranian Journal of Field Crops Research, 2023, 21 (2): 173-188
- [14] 吴之涛, 高正睿, 张英英, 王兴宏, 杨克泽, 马金慧, 任宝仓, 魏玉杰. 不同药剂对小茴香根腐病的田间防治效果. 西北农业学报, 2021, 30 (10): 1588-1594
Wu Z T, Gao Z R, Zhang Y Y, Wang X H, Yang K Z, Ma J H, Ren B C, Wei Y J. Field efficacy of various fungicides in controlling root rot of fennel. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2021, 30(10): 1588-1594
- [15] 杨平, 董海萍. 小茴香干热敷对腹部手术患者胃肠症状及肠功能恢复的影响分析. 四川中医, 2019, 37 (7): 199-202
Yang P, Dong H P. Effect of dry hot compress of fennel on gastrointestinal symptoms and intestinal function recovery for patients undergoing abdominal

surgery. Journal of Sichuan of Traditional Chinese Medicine, 2019, 37(7): 199-202

- [16] Okorska S, Dabrowska J A, Głowacka K, Pszczółkowska A, Jankowski K J, Jastrzebski J P, Oszako T, Okorski A. The fungicidal effect of essential oils of fennel and hops against Fusarium disease of pea. Applied Sciences, 2023, 13: e6282
- [17] Kamte S L N, Ranjbarian F, Cianfaglione K, Sut S, Dall'Acqua S, Bruno M, Afshar F H, Iannarelli R, Benelli G, Cappellacci L, Hofer A, Maggi F, Petrelli R. Identification of highly effective antitrypanosomal compounds in essential oils from the Apiaceae family. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2018, 156 (1): 154-165
- [18] Afifi S M, El-Mahis A, Heiss A G, Farag M A. Gas chromatography-mass spectrometry-based classification of 12 fennel (*Foeniculum vulgare* Miller) varieties based on their aroma profiles and estragole levels as analyzed using chemometric tools. ACS Omega, 2021, 6(8): 5775-5785
- [19] Napoli E M, Curcuruto G, Ruberto G. Screening the essential oil composition of wild Sicilian fennel. Biochemical Systematics and Ecology, 2010, 38 (2): 213-223
- [20] Ferioli F, Giambanelli E, D'Antuono F. Fennel (*Foeniculum vulgare* Mill. subsp *piperitum*) florets, a traditional culinary spice in Italy: evaluation of phenolics and volatiles in local populations, and comparison with the composition of other plant parts. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2017, 97 (15): 5369-5380
- [21] Hosseini E, Majidi M M, Ehtemam M H, Ghanadian M. Genetic variability for phytochemical components in Fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) genotypes. Crop Science, 2021, 61 (6): 4081-4086
- [22] Khammassi M, Mighri H, Mansour M B, Amri I, Jamoussi B, Khaldi A. Metabolite profiling and potential antioxidant activity of sixteen fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) populations growing wild in Tunisia. South African Journal of Botany, 2022, 148 (Suppl C): 407-414
- [23] Akbari A, Bahmani K, Kafkas N E, Bilgin O F, Hamijo T, Darbandi A I, Farhadpour M. Evaluation of seed yield, essential oil compositions, and fatty acid profiles in advanced fennel (*Foeniculum vulgare* Mill) breeding populations. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 2024, (57): e103118
- [24] 高颖, 李雪梅. 6个不同产地小茴香精油香气成分及感官分析研究. 中国调味品, 2024, 49 (3): 157-160
Gao Y, Li X M. Study on aroma components and sensory analysis of essential oils of fennels from six different places of origin. China Condiment, 2024, 49 (3): 157-160
- [25] 姜楠楠, 陈小亮, 董娜, 王建清. 小茴香精油成分测定及性能研究. 中国调味品, 2019, 44 (11): 162-166
Jiang N N, Chen X L, Dong N, Wang J Q. Composition determination and property research of fennel essential oils. China Condiment, 2019, 44 (11): 162-166
- [26] 李婷, 李洁芝, 范智义, 张其圣, 李恒, 王芳, 卢付青, 陈功, 王泽亮, 蒋四强, 李龙, 李雄波, 邓维琴. 不同产地小茴香挥发性成分差异性研究. 食品与发酵研究, 2024, 60 (4): 1-7, 14
Li T, Li J Z, Fan Z Y, Zhang Q S, Li H, Wang F, Lu F Q, Chen G, Wang Z L, Jiang S Q, Li L, Li X B, Deng W Q. Study on the differences of volatile components of fennel in different production areas. Food and Fermentation Science and Technology, 2024, 60 (4): 1-7, 14
- [27] 苏慧慧, 詹璐璐, 马矜烁. 小茴香挥发油提取、成分分析及其在畜牧生产中的应用. 黑龙江畜牧兽医, 2022, (15): 37-40, 46
Su H H, Zhan L L, Ma J S. Extraction, component analysis of volatile oil from *Foeniculi Fructus* and its application in animal husbandry. Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine, 2022, (15): 37-40, 46
- [28] 王溢, 黄润生, 程俊森, 李永泉, 张庆威, 张晖. 基于 UPLC-MS/MS 的油茶种仁成分差异分析及其油脂抗氧化活性研究. 中国食品学报, 2023, 23 (8): 329-341
Wang Y, Huang R S, Cheng J S, Li Y Q, Zhang Q W, Zhang H. Differential composition analysis of seed kernels between two *Camellia* species by UPLC-MS/MS and the antioxidant activity research of seed kernels oil. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2023, 23 (8): 329-341
- [29] 李庆杨, 沈丹玉, 莫润宏, 舒金平, 汤富彬, 刘毅华. 基于脂质组学的油茶籽油脂轮廓与功能特性分析. 中国粮油学报, 2023, 38 (7): 133-139
Li Q Y, Shen D Y, Mo R H, Shu J P, Tang F B, Liu Y H. Lipid profile and functional analysis of camellia oil based on lipidomics. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2023, 38 (7): 133-139
- [30] 廖敏和, 任皓威, 金日天, 康佳欣, 商佳琦, 宁雪楠, 姚思含, 刘宁. 采用 UHPLC-QTOF-MS 技术筛选亚麻籽油脂分子标志物. 农业工程学报, 2021, 37 (24): 338-346
Liao M H, Ren H W, Jin R T, Kang J X, Shang J Q, Ning X N, Yao S H, Liu N. Screening lipid molecular markers of flaxseed oils by UHPLC-QTOF-MS technology. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2021, 37 (24): 338-346

- [31] 江群, 凌溪铁, 唐兆成, 周珍珍, 张保龙. EMS 诱变创制水稻抗乙酰辅酶 A 羧化酶抑制剂类除草剂种质. 江苏农业学报, 2023, 39 (2):305-312
Jiang Q, Ling X T, Tang Z C, Zhou Z Z, Zhang B L. EMS mutagenesis to create rice anti-acetyl-CoA carboxylase inhibitor-herbicide germplasm. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences, 2023, 39 (2):305-312
- [32] Taguchi R, Ishikawa M. Precise and global identification of phospholipid molecular species by an Orbitrap mass spectrometer and automated search engine Lipid Search. Journal of Chromatography A, 2010, 1217 (25): 4229-4239
- [33] Thévenot E A, Roux A, Xu Y, Ezan E, Junot C. Analysis of the human adult urinary metabolome variations with age, body mass index, and gender by implementing a comprehensive workflow for univariate and OPLS statistical Analyses. Journal of Proteome Research, 2015, 14 (8): 3322-3335
- [34] Anne-Laure B, Korbinian S. Partial least squares: a versatile tool for the analysis of high-dimensional genomic data. Briefings in Bioinformatics, 2007, 8 (1): 32-44
- [35] Trygg J, Wold S. Orthogonal projections to latent structures (O-PLS). Journal of Chemometrics, 2010, 16 (3): 119-128
- [36] Villumsen S O, Benfeitas R, Knudsen A D, Gelpi M, Høgh J, Thomsen M T, Murray D, Ullum H, Neogi U, Nielsen S D. Integrative lipidomics and metabolomics for system-level understanding of the metabolic syndrome in long-term treated HIV-infected individuals. Frontiers in Immunology, 2022, 12:e742736
- [37] Molenaar M R, Jeucken A, Wassenaar T A, Lest C H A, Helms J B. LION/web: a web-based ontology enrichment tool for lipidomic data analysis. Gigascience, 2019, 8 (6): giz061
- [38] Cosge B, Kiralan M, Gurbuz B. Characteristics of fatty acids and essential oil from sweet fennel (*Foeniculum vulgare* Mill. var. *dulce*) and bitter fennel fruits (*F. vulgare* Mill. var. *vulgare*) growing in Turkey. Natural Product Research, 2008, 22 (12): 1011-1016
- [39] Sharma P, Nair S A, Sharma P. Male sterility and its commercial exploitation in hybrid seed production of vegetable crops: A review. Agricultural Reviews, 2019, 40 (4): 261-270
- [40] Liu C, Liu Z Y, Li C Y, Zhang Y, Feng H. Comparative transcriptome analysis of fertile and sterile buds from a genetically male sterile line of Chinese cabbage. In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant, 2016, 52 (2): 130-139
- [41] Leino M. Mitochondrial genetics of alloplasmic male-sterile *Brassica napus* lines. Uppsala: Swedish University of Agricultural Sciences, 2005
- [42] 罗庆, 孟平红, 钟秀来, 王天文, 李彤, 熊爱生, 谭国飞. 种子无刺毛野生胡萝卜雄性不育材料的创制与鉴定. 植物遗传资源学报, 2021, 22 (1): 268-273
Luo Q, Meng P H, Zhong X L, Wang T W, Li T, Xiong A S, Tan G F. Creation and identification of wild carrot male sterile material with hairless seed. Journal of Plant Genetic Resources, 2021, 22 (1): 268-273
- [43] Cheng Q, Wang P, Li T T, Liu J K, Zhang Y H, Sun L, Shen H L. Complete mitochondrial genome sequence and identification of a candidate gene responsible for cytoplasmic male sterility in celery (*Apium graveolens* L.). International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22 (16): e8584
- [44] Tan G F, Wang F, Zhang X Y, Xiong A S. Different lengths, copies and expression levels of the mitochondrial *atp6* gene in male sterile and fertile lines of carrot (*Daucus carota* L.). Mitochondrial DNA Part A, 2018, 29 (3): 446-454
- [45] 谭国飞, 李梦瑶, 罗庆, 赵倩, 钟秀来, 孟平红, 熊爱生. 芹菜雄性不育的创制及线粒体不育候选基因鉴定. 植物遗传资源学报, 2022, 23 (6): 1807-1815
Tan G F, Li M Y, Luo Q, Zhao Q, Zhong X L, Meng P H, Xiong A S. Creation of a male sterility line and identification of its candidate mitochondrial male sterile gene in celery. Journal of Plant Genetic Resources, 2022, 23 (6): 1807-1815
- [46] 朱顺华, 罗庆, 李梦瑶, 孟平红, 钟秀来, 王堃, 陈志峰, 谭国飞, 熊爱生. 水芹雄性不育材料的鉴定及营养品质分析. 植物科学学报, 2023, 41 (3): 343-348
Zhu S H, Luo Q, Li M Y, Meng P H, Zhong X L, Wang K, Chen Z F, Tan G F, Xiong A S. Identification and analysis of nutritive quality of male sterile material of *Oenanthe javanica* (Blume) DC. Plant Science Journal, 2023, 41 (3): 343-348
- [47] 谭国飞, 李梦瑶, 罗庆, 钟秀来, 朱顺华, 王堃, 熊爱生. 多裂叶水芹线粒体特征及雄性不育候选基因的鉴定. 南京农业大学学报, 2024 (网络首发)
Tan G F, Li M Y, Luo Q, Zhong X L, Zhu S H, Wang K, Xiong A S. Identification of mitochondrial characteristics and candidate male sterile genes in *Oenanthe thomsonii* C. B. Clarke. Journal of Nanjing Agricultural University, 2024 (Network debut)
- [48] Rajput S S, Singhania D L, Singh D, Raje R S. Combining ability in fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) for yield and quality. Journal of Spices and Aromatic Crops, 2005, 14 (1): 42-46
- [49] Bahmani K, Darbandi A I, Noori S AS, Jafari A A. Assessment of the genetic diversity in Iranian fennels by RAPD markers. Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants, 2013, 19 (3): 275-285

- [50] Bahmani K, Izadi-Darbandi A, Noori S A S, Jafari A A, Moradi N. Determination of interrelationships among phenotypic traits of Iranian fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) using correlation, stepwise regression and path analyses. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 2012, 15 (3): 424-444
- [51] Bahmani K, Akbari A, Darbandi A I, Warner R M. Development of high-yielding fennel synthetic cultivars based on polycross progeny performance. *Agricultural Research*, 2023, 12 (4): 357-363
- [52] 李祥栋, 潘虹, 陆秀娟, 魏心元, 石明, 周美亮. 薏米萌芽过程的代谢组学变化及特征分子筛选. *植物遗传资源学报*, 2022, 23 (4):1155-1165
Li X D, Pan H, Lu X J, Wei X Y, Shi M, Zhou M L. Metabonomics profiles and distinctive molecular selection during adlay seed generation. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2022, 23 (4):1155-1165
- [53] Jr R V F, Walther T C. Glycerolipid synthesis and lipid droplet formation in the endoplasmic reticulum. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2023, 15(5):a041246
- [54] Kuksis A, Breckenridge W C, Marai L, Stachnyk O. Quantitative gas chromatography in the structural characterization of glyceryl phosphatides. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 1968, 45(8): 537-546
- [55] Jia W T, Yuan J Y, Zhang J B, Li S, Lin W F, Cheng B B. Bioactive sphingolipids as emerging targets for signal transduction in cancer development. *Biochimica et Biophysica Acta-Reviews on Cancer*, 2024, 1879(5): e189176
- [56] Mirarchi A, Mare R, Musolino V, Nucera S, Mollace V, Pujia A, Montalcini T, Romeo S, Maurotti S. Bergamot polyphenol extract reduces hepatocyte neutral fat by increasing beta-oxidation. *Nutrients*, 2022, 14(16):e3434
- [57] Long Y, Yang J J, Ji H F, Han X, Fan Y T, Dai K Y, Ji H Y, Yu J. Preparation process optimization of glycolipids from *dendrobium officinale* and the difference in antioxidant effects compared with ascorbic acid. *Nutrients*, 2024, 16(21): e3664
- [58] Kılıç E R, Aydoğan A, Aydın A A. Lipid-derived cetyltrimethylammonium salts as renewable phase change materials for thermal energy storage. *Solar Energy Materials and Solar Cells*, 2023, 250:e112102
- [59] 杨璞, 徐冬丽, 陈晓鸣, 刘魏魏, 巩中军, 胡艳红. 蜡酯合成途径及关键酶的研究进展. *中国细胞生物学学报*, 2012, 34 (7): 695-703
Yang P, Xu D L, Chen X M, Liu W W, Gong Z J, Hu Y H. Research progress on wax ester biosynthetic pathway and the related key enzymes. *Chinese Journal of Cell Biology*, 2012, 34 (7):695-703
- [60] Bilia A R, Flaminio G, Tagliola V, Morelli I, Vincieri F F. GC-MS analysis of essential oil of some commercial fennel teas. *Food Chemistry*, 2002, 76 (3): 307-310
- [61] Sayed-Ahmad B, Talou T, Saad Z, Hijazi A, Merah O. The Apiaceae: Ethnomedicinal family as source for industrial uses. *Industrial Crop and Products*, 2017, 109: 661-671