

光对油菜胚中蛋白质和脂肪酸生物合成的影响

齐 晓¹ 王兴春^{1,*} 向小娥^{2,*}

(¹山西农业大学生命科学学院,山西 太谷 030801;²南京农业大学动物科学类国家教学示范中心,江苏 南京 210095)

摘 要:为探究光对油菜胚中蛋白质和脂肪酸生物合成中的影响,本研究于油菜开花后 25 d(25 d)起,对油菜角果用锡箔进行遮光处理,分别收集遮光处理后 3 d(28 d)和 10 d(35 d)角果种子中的胚,以未遮光处理的油菜种子胚为对照。结果表明,与对照相比,经遮光处理的胚中叶绿素和蛋白质含量显著降低;脂肪酸组分发生明显变化,其中棕榈酸(C16:0)、硬脂酸(C18:0)和油酸(C18:1)含量显著增加,而不饱和脂肪酸中的亚油酸(C18:2)和亚麻酸(C18:3)含量却大幅下降。进一步将开花后 25 d 油菜胚在加入电子传递抑制剂 DCC 培养基中进行体外培养,发现胚中不饱和脂肪酸的生物合成以及叶绿素含量均受到 ATP 的调节。综上,油菜胚发育过程中光照可以影响质体中氨基酸和脂肪酸的生物合成,从而调控油菜营养物的积累。本研究揭示了质体光合作用在油菜种子油脂积累过程中的作用,为今后培育高含油量、高品质油菜品种提供了理论依据。

关键词:油菜胚;遮光;脂肪酸;蛋白质;叶绿素

DOI:10.11869/j.issn.100-8551.2019.08.1501

油菜(*Brassica napus* L.)为十字花科芸薹属植物,原产于我国。据统计,我国目前油菜播种面积达 730 万 hm^2 ,位居世界第二,油菜籽总产量为 1 430 万 t,位居世界第三,油菜已成为我国重要的油料作物之一^[1]。近年来,由于人均种植面积的减少,以及油菜与粮棉作物茬口矛盾的突出,油菜种植面积明显下降^[2-3]。因此,改良油菜品质对提高其经济价值和食用价值具有重要意义。

油菜的品质指标主要包括含油量、油脂组分构成、蛋白质含量等。研究表明,油菜籽经榨取油脂后可得到 50%~55%的饼粕,饼粕中约含 40%~50%的粗蛋白,因其赖氨酸和蛋氨酸含量较高,氨基酸组成合理,且钙、磷、硒、锰等矿物质含量较高,可作为植物蛋白源,应用于动物饲料加工^[4-5]。此外,菜籽油中含有人体所必需的多种不饱和脂肪酸,其中油酸可减少人体血浆中低密度脂蛋白胆固醇含量,能预防和治疗动脉硬化;亚油酸可降低人体内血清胆固醇和甘油三酯含量,能预防高血压、高血脂,使血管软化,防止血栓形成,对人体健康十

分有益,因此菜籽油被誉为健康油脂^[6-7]。

质体(plastid)是一类与碳水化合物的合成与贮藏密切相关的细胞器,其在植物不同的器官中可以分化为具有不同功能的形式,如造粉体、有色体、白色体、叶绿体以及黄化苗中的黄化质体,其中研究较多的是叶绿体。叶绿体是植物光合作用主要的光接收器,其在植物光合器官中的含量决定了光合作用的效率^[8-9]。在油菜生长发育期,叶片和角果是油菜最重要的 2 个光合器官,二者的光合作用调控着油菜籽粒产量和品质^[10]。在油菜籽发育过程中,其所需营养物质主要来源于叶片、角果皮和茎秆的光合作用^[11],其中 70%~90%的营养物来自于角果皮产生的光合产物^[12-13]。油菜开花前,植株主要通过叶片进行光合作用,其光合产物主要用于蛋白质和淀粉的合成,供油菜根、茎、叶的形成;开花期根、茎、叶中的可溶性糖含量逐渐减少,并向花序转移,促进角果形成;角果形成后,其光合产物以及植株中的营养物主要供给籽粒灌浆;成熟后,籽粒中的糖分大多转化为蛋白质和油脂储备于籽粒胚

收稿日期:2018-11-20 接受日期:2019-02-24

基金项目:中央高校基本业务费(KJSY201510)

作者简介:齐晓,女,主要从事脂肪酸生物合成研究。E-mail:626160891@qq.com

* 通讯作者:王兴春,男,教授,主要从事植物功能基因组学研究。E-mail:wxingchun@163.com;

向小娥,女,实验师,主要从事油菜脂肪酸生物合成研究。E-mail:xxxiang@njau.edu.cn。同为通讯作者。

中^[14-15]。

油菜植株除了叶片和角果皮中含有叶绿体进行光合作用外,发育中的油菜籽也含有叶绿体^[16]。油菜籽形成过程中胚中叶绿体会经历 2 个分化过程,即叶绿体形成和去分化。种子在成熟初期变绿,通过其光合作用提供氧气和三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)来促进种子储存物质的合成;之后,叶绿体去分化形成干种子中的非光合质体^[17-18]。在拟南芥中,其胚内的叶绿体发育于受精后 48 h,持续约 10 d^[19]。在种子成熟期间,由于其失去叶绿素、内部膜结构和淀粉,叶绿体去分化为非光合质体,胚变成无色^[20]。

油菜胚中的叶绿体既是绿胚进行光合作用的场所,也是油菜胚脂肪酸合成场所^[21]。在油菜胚生长过程中,油菜胚包裹在果皮和种皮中,仅有少量的光可以透过角果皮和种皮到达胚^[22-23]。尽管如此,胚细胞中的叶绿体仍能利用微弱的光进行光合作用,其产物 ATP 和还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH)能够为胚细胞的代谢活动提供能量和还原力^[24-27]。在油菜种子发育过程中,胚由原初的白色逐渐变成绿色,最后变成黄色,这暗示胚中的叶绿体在种子油脂合成过程中发挥了一定的作用。如陈婷^[28]研究发现油菜角果遮光后籽粒含油量显著降低,而蛋白质含量呈增加趋势;邵玉娇等^[29]对油菜角果进行遮光处理同样发现籽粒含油量后期迅速下降,而粗蛋白含量在籽粒发育前期明显提高。上述研究表明,角果皮的光照处理对油菜籽油品质有较大的影响。但目前关于胚细胞的光合作用对其营养物质合成影响的研究尚未见报道。本试验通过分析油菜遮光角果的胚以及利用光合作用抑制剂处理的胚的脂肪酸、蛋白质以及叶绿素生物合成的变化,以期为揭示胚细胞中质体光合作用在油菜种子储存物质生物合成中的作用提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为甘蓝型油菜中双 11 号,购于武汉中油种业科技有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 田间试验 中双 11 号种植于青海省农林科学院油菜所油菜试验田中,采用直播种植共 3 行,行长 2.5 m,行距 30 cm,每行定植 10 株幼苗,株距 25 cm,田间管理同常规大田。油菜植株进入盛花期后随机选

取 20 株,用彩色毛线标记同一天开放的花朵。标记后 25 d(25 d)对角果套锡箔进行遮光和未遮光(不套锡箔)处理(CK)。遮光处理后 3 d(28 d)进行第 1 次取样,遮光处理后 10 d(35 d)进行第 2 次取样,样品立即液氮速冻后,-80℃保存,用于叶绿素、蛋白质含量及脂肪酸含量的测定。

1.2.2 胚培养 将 25 d 油菜胚置于 S 培养基^[30]中培养,培养条件:温度为 25℃,光照强度为 600 $\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$,处理组中添加 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ N,N'-二环己基碳二亚胺(N,N'-dicyclohexylcarbodiimide, DCC),对照加等体积溶解 DCC 的溶剂,培养时间分别为 4、8 和 12 h,培养后收集胚,-80℃保存备用。

1.2.3 叶绿素含量的测定 每处理各取 5 粒胚,均设 3 次生物学重复,分别加入 2 mL 95%丙酮-乙醇溶液^[31],于 25℃下遮光浸提处理 3 h,对叶绿素提取液进行吸光度测定,即用 Thermo Multiskan GO 全波长酶标仪(美国 THERMO 公司)在 645 nm 和 663 nm 下测定吸光度值,95%丙酮-乙醇溶液为空白对照。

1.2.4 蛋白质含量测定 每处理各取 5 粒胚,并均设 3 次生物学重复,分别加入 0.5 mL 预冷的细胞裂解液,并使用 TissueLyser-48 全自动样品快速研磨仪(上海净信实业发展有限公司)进行匀浆,采用 5254R 小型台式高速冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司)于 4℃ 12 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min,取上清。利用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒[中科瑞泰(北京)生物科技有限公司]中的微孔板测定程序测定上清液中的蛋白浓度,在 562 nm 下测定吸光度值,以不含 BSA 样品的光吸收值作为空白对照。

1.2.5 脂肪酸含量测定 每处理各取 5 粒胚,并均设 3 次生物学重复,分别放入 2 mL 离心管中利用 TissueLyser-48 全自动样品快速研磨仪进行研磨粉碎,加入 1.5 mL 甲醇(含 2.5%浓硫酸)以及 2 μL 十七烷酸甘油三酯内标(10 $\mu\text{g}\cdot\mu\text{L}^{-1}$),80℃水浴 2 h,冷却至室温后转移至 15 mL 离心管中,加入 2 mL 0.9% NaCl 溶液和 1 mL 正己烷,振荡混匀后 4 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min,取上清。真空干燥后加入 50 μL 乙酸乙酯溶解,转移至气相色谱加样瓶中待测。同时设置 1 个仅含有十七烷酸甘油三酯内标的空白对照。

利用 Agilent 7890A 气相色谱仪(江苏苏美达仪器设备有限公司)进行色谱分析,色谱柱采用 BPX-70 毛细管柱(30 m \times 0.25 mm,0.25 μm);初始温度 120℃,保持 1 min,以 10℃ $\cdot\text{min}^{-1}$ 的速率升至 150℃,再以 4℃ $\cdot\text{min}^{-1}$ 的速率升温至 230℃,保持 10 min。火焰离子化检测器(flame ionization detector, FID)温度

300℃, 氦气 30 mL·min⁻¹, 空气 350 mL·min⁻¹。进样量 1 μL, 经自动进样器转入色谱柱后进行色谱分析。按照公式计算脂肪酸相对含量:

脂肪酸相对含量 = 样品组分峰图面积 / 样品峰图总面积 (1)。

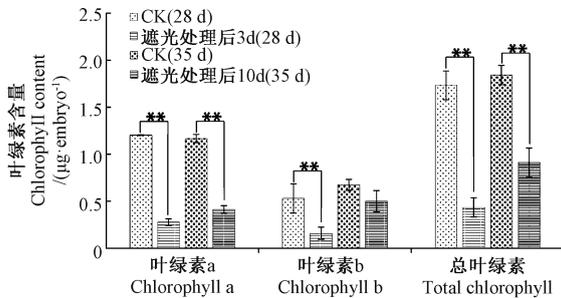
1.3 数据统计与分析

采用 Microsoft Excel 2010 进行数据处理及分析统计。

2 结果与分析

2.1 油菜角果遮光对胚中主要储存物质积累的影响

2.1.1 油菜角果遮光对叶绿素含量的影响 由图 1 可知, 随着油菜胚的生长发育, 遮光处理和 CK 胚中的叶绿素 a、叶绿素 b 和总叶绿素含量均呈增加的趋势。但与 CK 相比, 角果经遮光处理后胚中叶绿素 a 和总叶绿素含量各生育期均极显著降低, 其中叶绿素 a 含量在遮光处理后 3 d(28 d) 后下降 77.04%, 降低幅度较大, 遮光处理后 10 d(35 d) 下降 64.62%; 而叶绿素 b 含量在遮光处理后 3 d(28 d) 极显著下降, 遮光处理后 10 d(35 d) 呈增加趋势, 但仍低于 CK, 且与 CK 差异不显著。表明油菜角果遮光处理能影响油菜籽胚中叶绿素的含量。



注: * 和 ** 分别表示在 0.05 和 0.01 水平差异显著。下同。

Note: * and ** indicate significant difference at 0.05 and 0.01 level, respectively. The same as following.

图 1 遮光对油菜胚叶绿素含量的影响

Fig.1 Effect of masking silique with tinfoil on the chlorophyll content in *B. napus* embryos

2.1.2 油菜角果遮光对蛋白质含量的影响 由图 2 可知, 未遮光处理 CK(28 d) 和 CK(35 d), 平均每粒油菜胚蛋白质含量分别为 241.08 μg 和 447.10 μg, 蛋白增长速率约为 29.43 μg·d⁻¹; 而遮光处理后 3 天(28 d) 的蛋白质平均含量约为 45.39 μg, 遮光处理后 10 d(35 d) 约为 117.53 μg, 蛋白增长速率约为 10.31

μg·d⁻¹, 不同生育期 CK 蛋白含量均极显著高于遮光处理, 且蛋白增长速率也明显高于 CK。表明, 角果遮光处理会导致油菜胚中蛋白质的积累量降低。

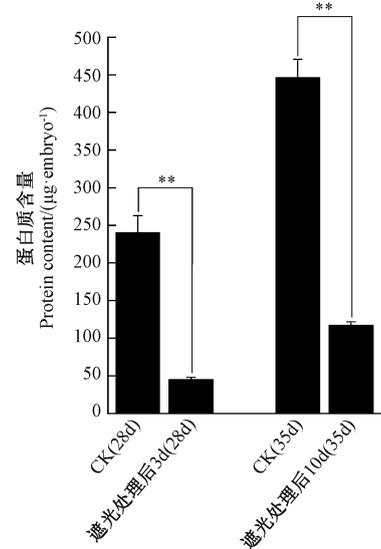


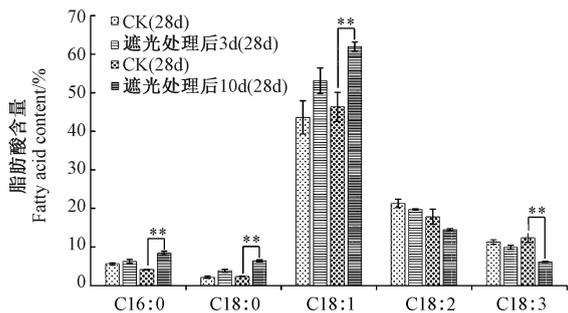
图 2 遮光对油菜胚蛋白质含量的影响

Fig.2 Effect of masking silique with tinfoil on the protein content in *B. napus* embryos

2.1.3 油菜角果遮光对脂肪酸含量的影响 由图 3 可知, 随着胚的发育, CK 中棕榈酸(C16:0)和亚油酸(C18:2)含量降低, 硬脂酸(C18:0)含量无明显变化, 而油酸(C18:1)和亚麻酸(C18:3)含量升高。角果经遮光处理后, 胚中棕榈酸(C16:0)和硬脂酸(C18:0)的含量升高, 遮光处理后 3 d(28 d) 二者分别较 CK 上升 11.08% 和 78.42%; 遮光处理后 10 d(35 d) 分别较 CK 上升 102.50% 和 169.44%, 且均极显著高于 CK。而遮光处理的亚油酸(C18:2)和亚麻酸(C18:3)含量均低于 CK, 遮光处理后 3 d(28 d) 较 CK 分别降低 7.29% 和 12.02%, 遮光处理后 10 d(35 d) 亚油酸(C18:2)降低 18.68%, 亚麻酸(C18:3)含量降幅较大, 降低约 50%, 极显著低于 CK。油酸(C18:1)是油菜胚中的主要脂肪酸, 遮光处理后 3 d(28 d) 的含量相较 CK 增加 21.79%, 遮光处理后 10 d(35 d) 的含量较 CK 增加 33.79%, 且极显著高于 CK。表明, 角果遮光处理会增加胚中饱和脂肪酸(棕榈酸和硬脂酸)和部分不饱和脂肪酸(油酸)的含量, 而降低胚中亚油酸和亚麻酸 2 种不饱和脂肪酸的含量。

2.2 ATP 合成抑制剂 DCC 对胚中主要储存物质的影响

2.2.1 ATP 合成抑制剂 DCC 对胚中叶绿素含量的影响 由图 4 可知, CK 胚中叶绿素 a、叶绿素 b 和总叶



注: C16:0; 棕榈酸; C18:0; 硬脂酸; C18:1; 油酸; C18:2; 亚油酸; C18:3; 亚麻酸。下同。

Note: C16:0; Palmitic acid. C18:0; Stearic acid. C18:1; Oleic acid. C18:2; Linoleic acid. C18:3; Linolenic acid. The same as following.

图3 遮光对油菜胚脂肪酸含量的影响

Fig.3 Effect of masking silique with tinfoil on the fatty acid content in *B. napus* embryos

绿素含量均随着时间的推移而逐渐降低。经 DCC 处理 4 h 和 8 h 的胚中叶绿素含量显著或极显著降低,但在培养期间,随着时间推移至 DCC 处理培养 12 h 时胚中叶绿素 a、叶绿素 b 和总叶绿素量均略有增加,且均与其 CK 的叶绿素含量接近。表明,DCC 可通过抑制胚细胞 ATP 的形成减慢叶绿素的生物合成,从而降低胚细胞中叶绿素的含量。

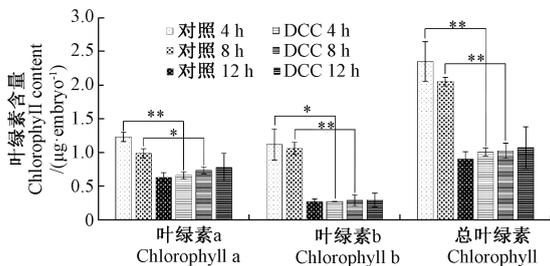


图4 DCC对油菜胚叶绿素含量的影响

Fig.4 Effect of DCC on the chlorophyll content of *B. napus* embryos

2.2.2 ATP合成抑制剂DCC对胚中蛋白质生物合成的影响 由图5可知,经过DCC处理的胚中蛋白质的含量随着时间的推移逐渐增加,而CK呈先降低后增加的趋势。DCC处理后4h和12h,胚中蛋白含量均略低于CK,但无显著差异,DCC处理后8h胚中蛋白含量高于CK,但差异不显著。表明DCC处理对胚中蛋白积累量的影响较小。

2.2.3 ATP合成抑制剂DCC对胚脂肪酸生物合成的影响 由图6可知,随着DCC处理时间的增加,硬脂酸(C18:0)的含量逐渐降低,油酸(C18:1)的含量于

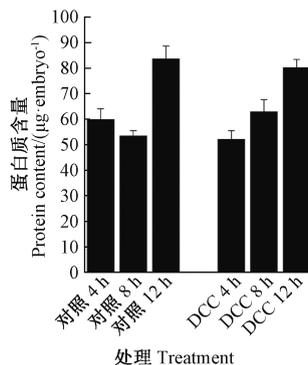


图5 DCC对油菜胚蛋白质含量的影响

Fig.5 Effect of DCC on the protein content of *B. napus* embryos

处理后12h时降低至51.47%,较CK降低了7.49%,而亚油酸(C18:2)和亚麻酸(C18:3)与CK相比略有增加。但在脂肪酸组分中,油酸是主要脂肪酸,添加DCC处理能抑制油酸的生物合成,即DCC抑制了胚中不饱和脂肪酸油酸的生物合成。

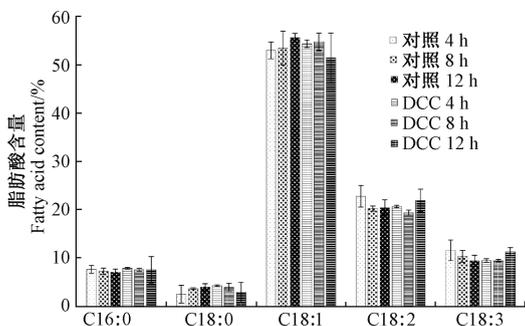


图6 DCC对油菜胚脂肪酸含量的影响

Fig.6 Effect of DCC on the fatty acid content of *B. napus* embryos

3 讨论

研究表明光合作用会影响油菜籽含油量及其油脂品质,如王志慧^[32]提出高效的光合作用能为油料作物的积累提供充足的碳源。王志新^[33]在大豆的研究中发现,在大豆初花期-终花期进行遮光处理会影响其蛋白质和脂肪总量,且随着遮光时间的增加,大豆籽粒蛋白质含量呈先上升后下降的趋势,而脂肪含量呈逐渐下降的趋势。吴正锋等^[34]发现对花生进行遮光处理会导致籽仁蛋白质含量降低,而对脂肪含量的影响不明显。

油菜胚由角果皮包裹,长期处于低光环境,只有少

量的光可以透过角果皮和种皮最终进入胚中^[35]。油菜胚中含有光合活性的叶绿体,叶绿体是绿色植物固定和转化光能的主要细胞器。在油菜种子发育过程中,胚由白色逐渐变成绿色,成熟后变为黄色,在此过程中,种子中的叶绿素呈先增加后下降的趋势,同时叶绿体是糖酵解途径和脂肪酸合成途径发生的重要场所,能够进行光合磷酸化产生 NADPH 和 ATP,为脂肪酸的生物合成提供部分能量和还原性的 H⁺^[27,36]。本研究中,对角果进行遮光处理降低了油菜胚中叶绿素的含量,其中叶绿素 a 含量在遮光后大幅降低,而叶绿素 b 含量随着遮光天数的增加下降幅度逐渐变小。表明光能够透过油菜角果皮到达胚细胞,胚中质体叶绿素含量受光诱导。此外,对角果进行遮光处理能显著降低油菜胚中蛋白质的含量,增加胚中棕榈酸和硬脂酸 2 种饱和脂肪酸以及油酸的含量,降低亚油酸和亚麻酸 2 种不饱和脂肪酸的含量。表明光对胚营养物质的生物合成有明显的调控作用,这与前人研究一致。

研究表明,种皮的光合作用对油菜籽储备物质的积累具有重要作用^[28-29]。本研究中,遮光后果果皮的光合作用降低,导致从角果皮运输到胚的营养物质减少,最终影响了胚的贮藏物质的合成。但遮光不仅是遮盖了角果皮,同时也降低了胚的光合作用,长时间遮光,导致油菜籽发育畸形,说明光对种子正常发育是必需的,而不仅是营养物质的积累减少。本研究为了降低长时间遮光导致油菜籽凋亡,仅用铝箔覆盖油菜角果 10 d。在此期间,油菜胚尽管未致凋亡状态^[37],然而其发育受到不同程度的影响,诸多代谢明显受到影响,其中油菜籽胚叶绿素合成明显降低,脂肪酸的生物合成代谢途径显著降低,最终影响油菜籽油脂的积累量,这些结果与前人在亚麻籽中的研究类似^[35,38]。本研究表明角果皮遮光处理使得质体光合原始产物 ATP、NADPH 降低,导致供给给质体脂肪酸、储存蛋白和叶绿素生物合成的还原物质和能量减少,进而导致脂肪酸和储存蛋白生物合成代谢降低,最终导致油菜籽储备物减少。

4 结论

本研究结果表明,角果皮遮光可降低油菜胚中叶绿素和蛋白质含量,增加胚中饱和脂肪酸棕榈酸和硬脂酸以及不饱和脂肪酸油酸的含量,降低亚油酸和亚麻酸 2 种不饱和脂肪酸的含量;光合抑制剂 DCC 使胚中叶绿素含量降低,抑制了不饱和脂肪酸油酸的生物合成;油菜胚发育过程中需要胚叶绿体的光合作用为

其提供 ATP 和还原性的 H⁺供给胚储存物质的生物合成。本研究阐明了质体光合在油菜籽储存物质的生物合成过程中的作用,为今后培育高含油量、高品质的油菜新品种提供了一定的理论依据。

参考文献:

- [1] Elahi N, Duncan R W, Stasolla C. Modification of oil and glucosinolate content in canola seeds with altered expression of *Brassica napus* LEAFY COTYLEDON1 [J]. *Plant Physiology Biochemistry*, 2016, 100:52-63
- [2] Hu Q, Hua W, Yin Y, Zhang X K, Liu L J, Shi J Q, Zhao Y G, Qin L, Chen C, Wang H Z. Rapeseed research and production in China[J]. *The Crop Journal*, 2017, 5(2):127-135
- [3] 蔡静. 甘蓝型油菜一个主效开花期 QTL qFT_{c2-1} 的精确定位 [D]. 武汉:华中农业大学, 2016:1-2
- [4] 王利国, 徐宝刚. 菜籽饼粕中抗营养因子的危害与消除[J]. *畜牧兽医科技信息*, 2017(7):132-132
- [5] 丁艳, 李丽倩, 曹蓉, 唐根胜, 顾振新, 韩永斌. 油菜籽饼粕中硫苷的酶解条件优化及降解产物分析[J]. *中国农业科学*, 2014, 47(2):383-393
- [6] 李殿荣, 陈文杰, 于修焯, 王灏, 任军荣, 张耀文. 双低菜籽油的保健作用与高含油量优质油菜育种及高效益思考[J]. *中国油料作物学报*, 2016, 38(6):850-854
- [7] 黄璜. 脂肪酶催化棉籽油冬化产物制备结构脂质研究[D]. 长沙:湖南农业大学, 2014:10-15
- [8] 袁新博. 拟南芥白化突变体 *pde191* 加糖变绿现象机制初步研究 [D]. 上海:上海师范大学, 2014:9-12
- [9] 王钦美, 张志宏. 植物质体基因组研究进展[J]. *沈阳农业大学学报*, 2015, 46(5):513-520
- [10] 谷晓博, 李援农, 杜娅丹, 吴国军. 不同种植和覆膜方式对冬油菜出苗及苗期生长状况的影响[J]. *中国农村水利水电*, 2016(9):10-17
- [11] 汪雪芳. 油菜籽叶绿素测定方法研究及应用[D]. 武汉:华中农业大学, 2008:12-15
- [12] Lu Z F, Pan Y H, Hu W S, Cong R H, Ren T, Guo S W, Lu J W. The photosynthetic and structural differences between leaves and siliques of *Brassica napus* exposed to potassium deficiency[J]. *BMC Plant Biology*, 2017, 17(1):240
- [13] 张耀文, 赵小光, 关周博, 王学芳, 侯君利, 田建华, 董育红, 李殿荣, 卢庆陶, 卢从明. 油菜角果光合特性研究现状及改良思路[J]. *中国油料作物学报*, 2017, 39(5):704-713
- [14] Ma N, Yuan J, Li M, Li J, Zhang L, Liu L, Naeem M S, Zhang C. Ideotype population exploration; Growth, photosynthesis, and yield components at different planting densities in winter oilseed rape (*Brassica napus* L.) [J]. *PLoS One*, 2014, 9(12):e114232
- [15] 王春丽, 海江波, 田建华, 杨建利, 赵晓光. 油菜终花后角果和叶片光合对籽粒产量和品质的影响[J]. *西北植物学报*, 2014, 34(8):1620-1626
- [16] 徐立荣. 食用油贮藏过程自动氧化变化规律研究 [D]. 杨凌:西北农林科技大学, 2017:28-38
- [17] Luna-Valdez L A D, León-Mejía P, Encarnación-Guevara S,

- Guevara-García A A. Chloroplast omics[M]//Barh D, Khan M S, Davies E. PlantOmics: The Omics of Plant Science. India: Springer, 2015: 534-553
- [18] Guillaume A, Florence C, Fabien C, Silva L-M. Plastid gene expression during chloroplast differentiation and dedifferentiation into non-photosynthetic plastids during seed formation [J]. Plant Molecular Biology, 2013, 82(1/2):59-70
- [19] Mansfield S G, Briarty L G. Early embryogenesis in *Arabidopsis thaliana*. II. The developing embryo [J]. Canadian Journal of Botany, 1991, 69(3):447-460
- [20] Mansfield S G, Briarty L G. Cotyledon cell development in *Arabidopsis thaliana* during reserve deposition[J]. Canadian Journal of Botany, 1992, 70(1):151-164
- [21] Wang K, Froehlich J E, Zienkiewicz A, Hersh H L, Benning C. A plastid phosphatidylglycerol lipase contributes to the export of acyl groups from plastids for seed oil biosynthesis[J]. The Plant Cell, 2017, 29(7):1678-1696
- [22] Ruuska S A, Schwender J, Ohlrogge J B. The capacity of green oilseeds to utilize photosynthesis to drive biosynthetic processes[J]. Plant Physiology, 2004, 136(2):3409-3409
- [23] Eastmond P, Koláčna L, Rawsthorne S. Photosynthesis by developing embryos of oilseed rape (*Brassica napus* L.) [J]. Journal of Experimental Botany, 1996, 47(304):1763-1769
- [24] Bashir H, Qureshi M I, Ibrahim M M, Iqbal M. Chloroplast and photosystems: Impact of cadmium and iron deficiency [J]. Photosynthetica, 2015, 53(3):321-335
- [25] Chao L, Zhang Y J, Cheng S F, Osorio S, Sun Y Z, Fernie A R, Cheung C Y M, Lim B L. Impacts of high ATP supply from chloroplasts and mitochondria on the leaf metabolism of *Arabidopsis thaliana* [J]. Frontiers in Plant Science, 2015, 6:922
- [26] Schöttl M A, Tóth S Z, Boulouis A, Kahlau S. Photosynthetic complex stoichiometry dynamics in higher plants: Biogenesis, function, and turnover of ATP synthase and the cytochrome b6f complex[J]. Journal of Experimental Botany, 2015, 66(9):2373-2400
- [27] Kremnev D, Strand . Plastid encoded RNA polymerase activity and expression of photosynthesis genes required for embryo and seed development in *Arabidopsis* [J]. Front Plant Science, 2014, 5(5):385
- [28] 陈婷. 油菜叶片和角果光合对其籽粒产量及品质的影响[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2016:26-27
- [29] 邵玉娇, 王学奎, 胡立勇, 吴江生. 光强对油菜角果生长发育及几项品质指标的影响[J]. 江西农业学报, 2009, 21(7):25-28
- [30] Schwender J, Ohlrogge J B. Probing *in vivo* metabolism by stable isotope labeling of storage lipids and proteins in developing *Brassica napus* embryos[J]. Plant Physiology, 2002, 130(1):347-361
- [31] 杨敏文. 快速测定植物叶片叶绿素含量方法的探讨[J]. 光谱实验室, 2002, 19(4):478-481
- [32] 王志慧. 油料作物含油量差异原因的初步分析[D]. 武汉: 中南民族大学, 2013:20-24
- [33] 王志新. 环境因素对大豆化学品质及产量影响研究 II. 遮光对大豆化学品质及产量的影响[J]. 大豆科学, 2004, 23(1):41-44
- [34] 吴正锋, 刘俊华, 万书波, 孙奎香, 孙学武, 冯昊, 王才斌. 遮光持续时间对花生荚果产量和品质的影响[J]. 山东农业科学, 2011(2):30-33
- [35] Browse J, Slack C R. Fatty-acid synthesis in plastids from maturing safflower and linseed cotyledons[J]. Planta, 1985, 166(1):74-80
- [36] 曾浪. 叶绿体甘油醛-3-磷酸脱氢酶在拟南芥种子脂肪酸从头合成作用中的研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2015:10-12
- [37] Tan H L, Xie Q J, Xiang X E, Li J Q, Zheng S N, Xu X Y, Guo H L, Ye W X. Dynamic metabolic profiles and tissue-specific source effects on the metabolome of developing seeds of *Brassica napus* [J]. PLoS One, 2015, 10(4):e0124794
- [38] Rolletschek H, Radchuk R, Klukas C, Schreiber F, Wobus U, Borisjuk L. Evidence of a key role for photosynthetic oxygen release in oil storage in developing soybean seeds [J]. New Phytologist, 2005, 167(3):777-786

Effects of Light on Biosynthesis of Protein and Fatty Acid in the Embryos of *Brassica napus* L.

QI Xiao¹ WANG Xingchun^{1,*} XIANG Xiao'e^{2,*}

(¹College of Life Sciences, Shanxi Agricultural University, Taigu, Shanxi 030801;

²Animal Sciences National Teaching Demonstration Center, Nanjing Agricultural University, Nanjing, Jiangsu 210095)

Abstract: To dissect the effect of light on the biosynthesis of protein and fatty acid components in *Brassica napus* L. embryos, this study was carried out by masked the developing silique with tinfoil on the 25 days after the flowering of *B. napus* (25 d). After 3 days (28 d) and 10 days (35 d), the embryos were collected from seeds in the masked silique, and the embryos from unmasked silique were used as the control. And analysis of chlorophyll content, protein content and fatty acid composition was performed. The results showed that the contents of chlorophyll and protein in the masking-treated embryos significantly reduced compared with that in the control. The fatty acid components have differential changed. In which, the content of palmitic acid (C16:0), stearic acid (C18:0) and oleic acid (C18:1) showed significantly increase, while the unsaturated fatty acid linoleic acid (C18:2) and linolenic acid (C18:3) slumped. Furthermore, when the the embryos 25 d after flowering were cultured in medium with electron transport inhibitor N,N'-dicyclohexylcarbodiimide (DCC), the biosynthesis of unsaturated fatty acids and the content chlorophyll in the embryos significantly reduced. These results indicated that the light transmitted into embryo greatly affected the biosynthesis of fatty acids in plastids during the development of *B.napus* embryos, thereby regulating the accumulation of storage reserve in seed.

Keywords: *B. napus* embryo, shading, fatty acid, protein, chlorophyll