

MYNYLTGKHPPGADKLDYARGKAKKAQDMKEYVQOKAEATTQTR
WMVNYIRRMGRSLPLQNEHAKRRVQDITIGQIGARDMGQTVQSKAQ
WVLKYVQEATRNIPEQLDQARRMQDMAGYVGQNTKEMGQEIQKKTH
110.....120.....130.....140.....150.....

汪阳东 陈益存 姚小华 等 编著

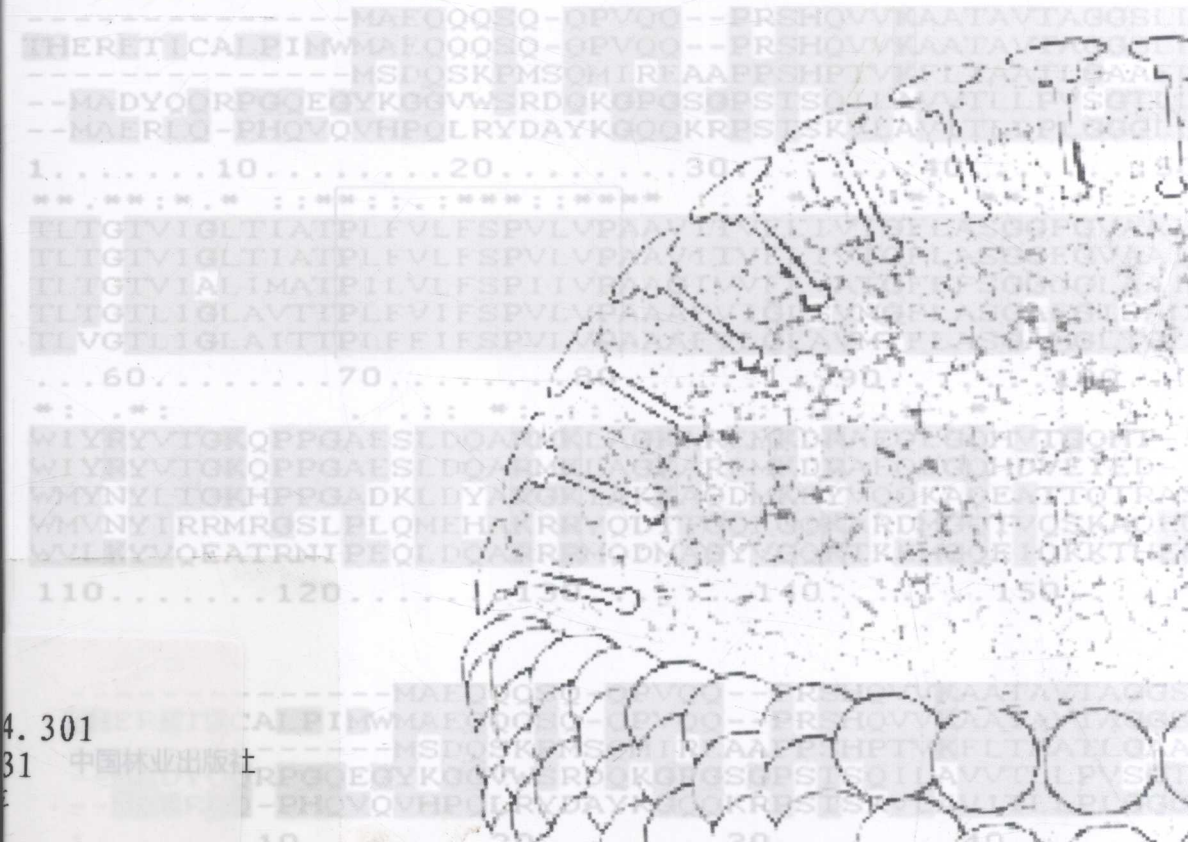
MOLECULAR BIOLOGY
OF TUNG TREE

油桐 分子生物学研究



油桐为多年生木本植物，基因组高度杂合、遗传背景复杂，传统的育种方法在油桐上很难应用。随着分子生物学技术的发展，通过转基因技术获得转基因型新品种，是油桐育种的新途径。

油桐（*Vernicia fordii*）是一种原产我国的世界著名油料树种，其栽培、利用历史极其悠久。油桐具有很高的经济价值。油桐种子所生产的桐油，是一种性质优良的干性油，具有广泛用途。我国在20世纪70~90年代，十分重视油桐的生产和科研，在油桐种质资源收集、品种分类、良种选育、油桐繁殖、引种及关于油桐生物学研究等方面取得了很好的研究成果。在油桐的分子基础研究方面，已有关于油桐叶片DNA、RNA的提取、油桐品种RAPD扩增和ISSR-PCR扩增体系建立的报道，同时还对控制油桐开花启动过程的主控基因和油桐油体蛋白基因进行了克隆和分析。为了更好地深入开展油桐育种技术研究工作，编者在分析国内外相关领域研究进展基础上，对所在团队前期研究工作进行了系统总结，撰写了此书。



S794.301

20131



MOLECULAR BIOLOGY
OF TUNG TREE

油桐

分子生物学研究



汪阳东 陈益存 姚小华 等 编著



图书在版编目(CIP)数据

油桐分子生物学研究 / 汪阳东, 陈益存, 姚小华等编著. —北京: 中国林业出版社, 2012. 8

ISBN 978 - 7 - 5038 - 6723 - 1

I. ①油… II. ①汪… ②陈… ③姚… III. ①三年桐 - 分子生物学 - 研究
IV. ①S794. 301

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2012)第 201241 号

中国林业出版社·自然保护图书出版中心

策划编辑: 刘家玲

责任编辑: 张 锴 刘家玲

出版 中国林业出版社(100009 北京西城区刘海胡同7号)
电话 010-83225836、83280498
发行 新华书店北京发行所
印刷 北京中科印刷有限公司
版次 2012 年 9 月第 1 版
印次 2012 年 9 月第 1 次
开本 787mm × 1092mm, 1/16
印张 10.25
彩插 8P
字数 190 千字
印数 1 ~ 1000 册
定价 39.00 元



附图1



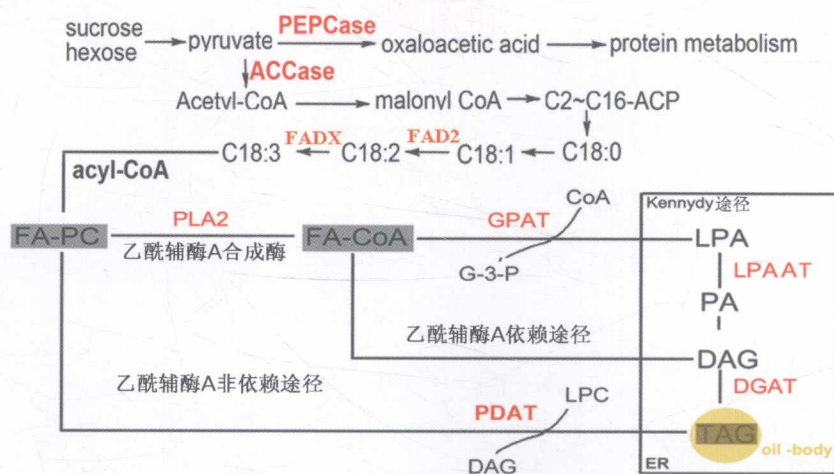
① 三年桐的叶、果



② 千年桐的叶、果



附图2

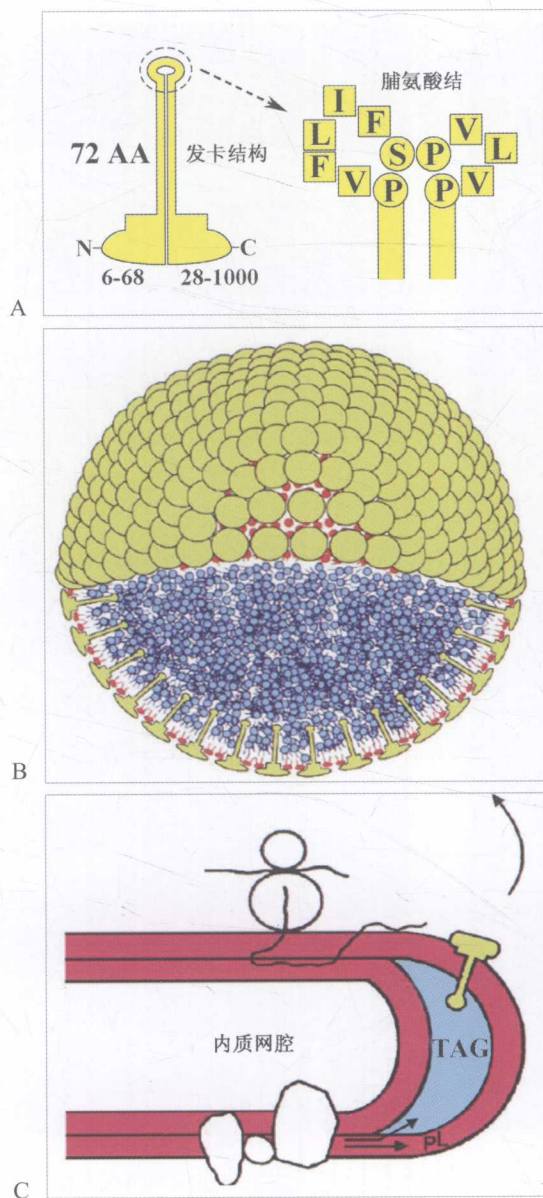


① 桐油脂脂肪酸及甘油三酯生物合成分子途径示意图 (Weselake et al., 2005)

ACCase: 乙酰辅酶A羧化酶; GPAT: 3-磷酸甘油酰基转移酶;
LPAAT: 溶血性磷脂酸酰基转移酶; DGAT: 二酰甘油酰基转移酶。

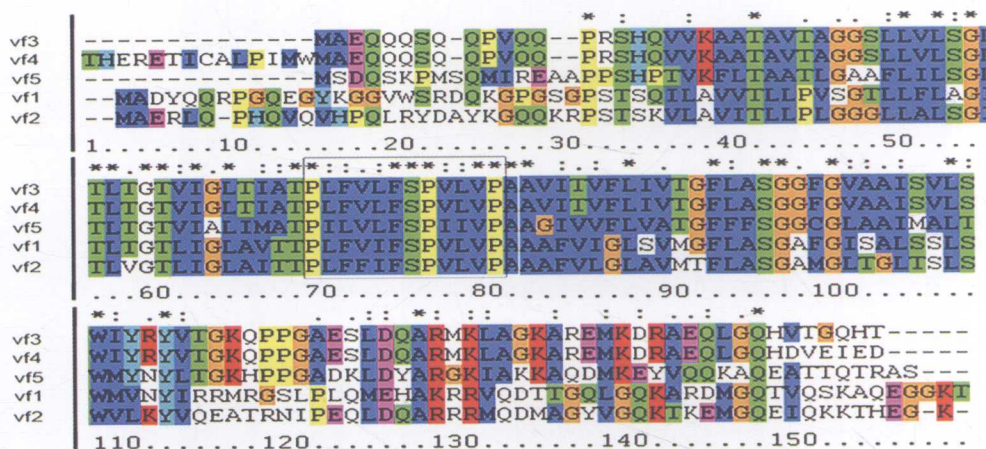


附图3

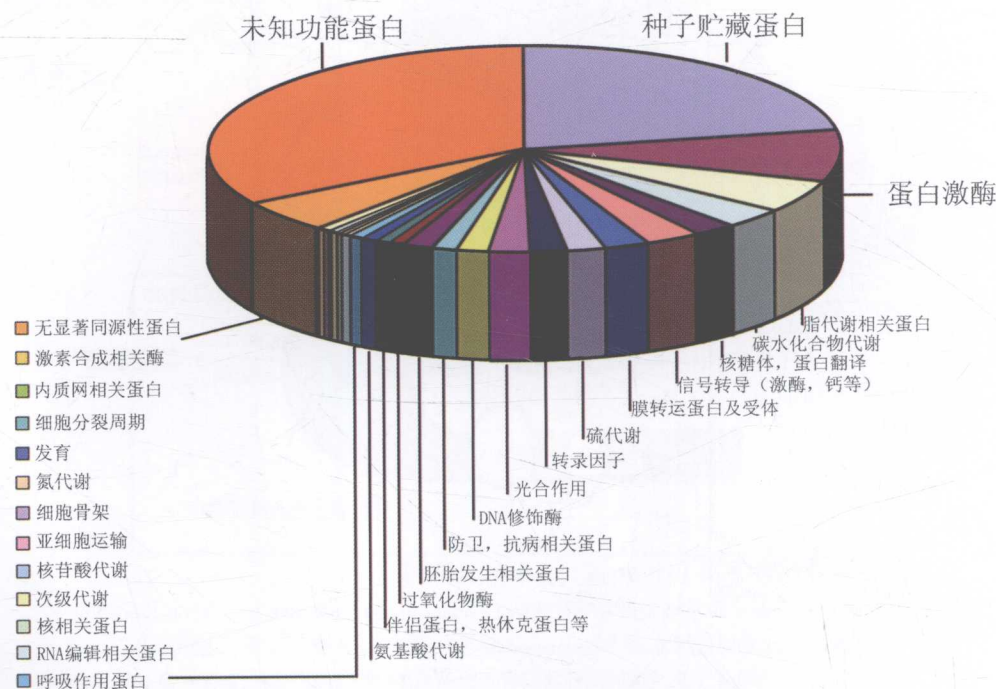


① 油体结构特征示意图 (Hsieh and Huang, 2003)

- A. Oleosin存在两个疏水端和保守脯氨酸结 (proline knot) $-PX_3SPX_3P-$, 对Oleosin靶向结合在油体表面起重要作用 (van Rooijen and Moloney, 1995) ;
- B. 油体是由磷脂分子层及镶嵌的油体结合蛋白组成的“半单位”膜包裹着三酰甘油酯;
- C. TAG以油体在内置网上合成并与Oleosin结合, 最后通过胞膜释放出。



④ 油桐种仁 Oleosin 氨基酸序列分析, 发现存在典型的脯氨酸结 (proline knot) $-PX_5SPX_3P-$



① 油桐种仁文库测序获得的序列按照基因功能分类



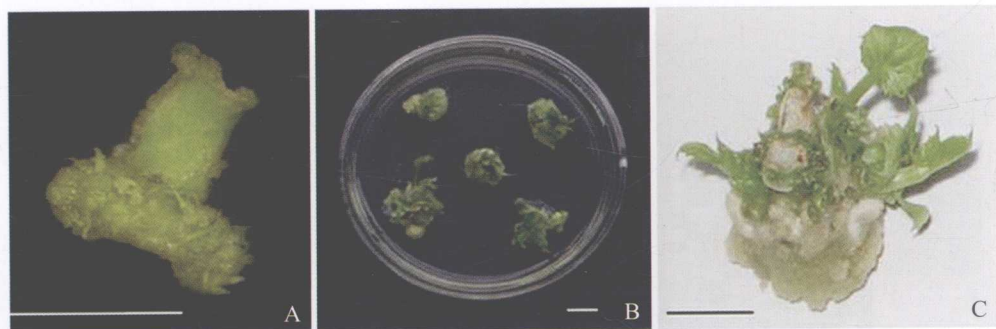
附图6



① 烟草未转化外植体的选择压力筛选

- A. 0 mg/L Hyg;
- B. 5 mg/L Hyg;
- C. 10 mg/L Hyg;
- D. 15 mg/L Hyg;
- E. 20 mg/L Hyg;
- F. 25 mg/L Hyg。

附图7



⑦ 麻疯树子叶再生 (Li et al.,2008)

A. 子叶直接诱导不定芽；B. 不定芽分化；C. 从伤口处长出不定芽。

(注：图中短线代表长度为1cm。)

附图8



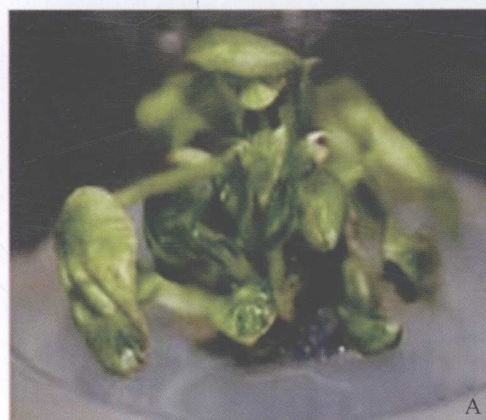
⑧ 麻疯树叶盘植株再生 (Deore et al.,2006)

A、B. 叶盘直接再生出不定芽；C. 不定芽的增殖与伸长。

(注：图中短线代表长度为100mm。)



附图9



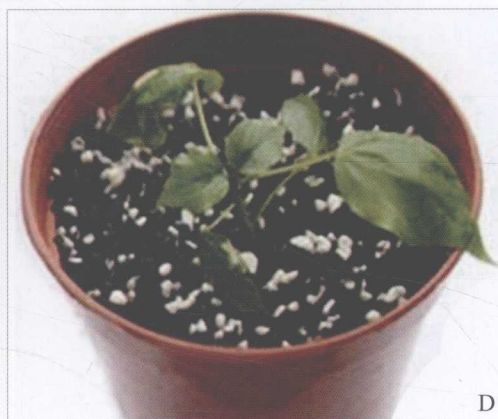
A



B



C



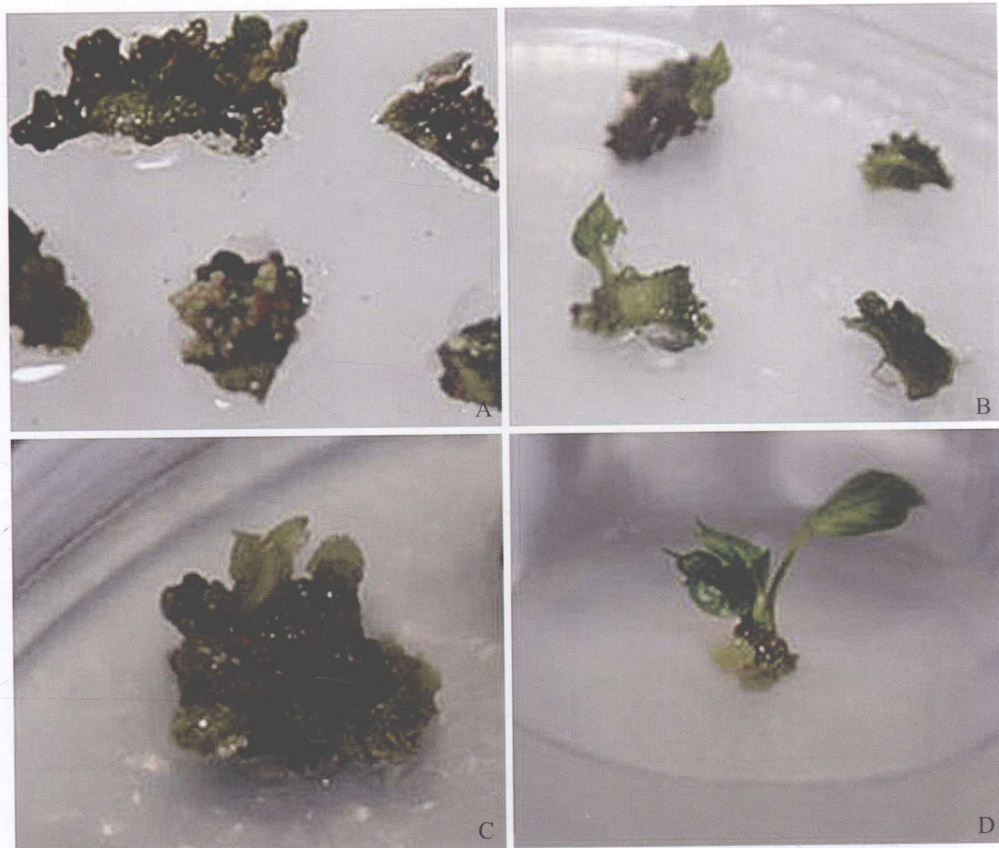
D

① 油桐腋芽诱导及再生体系的建立

A. 不定芽诱导; B. 继代培养; C. 生根; D. 幼苗移栽。



附图10



⑩ 油桐子叶诱导不定芽

- A. 直接诱导分化出的畸形芽;
- B. 直接诱导分化出的正常芽;
- C. 间接诱导分化出的芽;
- D. 继代的幼苗。

《油桐分子生物学研究》

编委会

主编：

汪阳东 陈益存 姚小华

编委：

汪阳东 陈益存 姚小华 韩小娇

任华东 占志勇 田胜平

前 言

油桐(*Vernicia fordii*)是一种原产我国的世界著名油料树种,其栽培、利用历史极其悠久。油桐在我国分布范围极广,遍及四川、贵州、湖北、湖南、广西、陕西、河南、浙江、云南、福建、江西、广东、海南、安徽、江苏、台湾、重庆 17 个省(自治区、直辖市)及甘肃、山东南部的局部地区,跨越北亚热带、中亚热带、南亚热带及部分热带气候区,全国现有油桐林面积 210 多万公顷。

油桐具有很高的经济价值。油桐种子所生产的桐油,是一种性质优良的干性油,具有广泛用途。我国在 20 世纪 70~90 年代,十分重视油桐的生产和科研,在油桐种质资源收集、品种分类、良种选育、油桐繁殖、引种及关于油桐生物学研究等方面取得了很好的研究成果。但随着国际市场的变动,桐油价格急剧下降,导致国内的油桐资源和生产受到很大的影响。此后至今,油桐产业发展缓慢,虽然有些省份重新制定了油桐产业发展规划,但是油桐产业受重视的程度远远不及油茶、核桃等木本油料植物,以至于油桐的科研和生产停滞了一段时间。近些年,随着国际、国内市场对桐油优良特性的重新认识和工业用途的拓宽,桐油市场需求量逐年上升。尽管处于如此不利的大环境下,仍然还有若干科研工作者坚持油桐科研工作。编者所在单位中国林业科学研究院亚热带林业研究所自建所以来一直坚持油桐育种和栽培技术研究,近十年来在油桐分子育种方面开展了研究,并取得了一些重要进展。为了更好地深入开展油桐育种技术研究工作,编者在分析国内外相关领域研究进展的基础上,对所在团队前期研究工作进行了系统总结,撰写了此书。全书共包括四个章节,第一章是绪论,由占志勇和任华东负责编写,第二章油桐合成分子机制研究,由汪阳东和陈益存负责编写,第三章油桐分子标记

育种基础研究，由陈益存和田胜平负责编写，第四章油桐组织培养与遗传转化，由韩小娇负责编写。全书由汪阳东、陈益存和姚小华统稿。

我国木本油料植物的分子育种研究正逐步进入良好发展的时期，但是依然存在产业需求和非模式植物特性复杂等新的挑战，我们总结过去，继往开来，也希冀得到更多同行的指导和支持。

编著者

2012年7月

目 录

前言

第一章 绪 论	1
第一节 主要工业用途的木本油料植物简介	1
一、生物质化工工业	1
二、木本油料植物的分类	3
三、木本油料植物的利用价值	3
四、中国木本油料树种的资源分布	5
第二节 油桐资源和用途	12
一、油桐资源分布	13
二、油桐用途	17
第三节 油桐生物学背景	20
一、油桐植物学特征	20
二、油桐生态学特性	21
三、油桐生长发育习性	22
参考文献	25
第二章 油桐合成分子机制研究	33
第一节 植物油脂生物合成机制研究进展概述	33
一、植物油脂概述	33
二、植物脂肪酸生物合成	33
三、植物脂肪酸生物合成的基因调控	41
第二节 桐油和桐酸生物合成基本途径	46
一、桐油脂肪酸的组成	46
二、桐油及桐酸生物合成的基本途径	47

第三节 桐油生物合成分子机制	49
一、调控脂肪酸合成的关键酶基因	49
二、参与桐油合成的关键分子	53
三、参与桐油及桐酸生物合成的关键酶基因分离及功能分析	58
参考文献	75
第三章 油桐分子标记育种基础研究	87
第一节 油桐种质资源的收集	87
一、油桐遗传资源概况	88
二、油桐种质资源的收集与保存	89
第二节 油桐品种资源的遗传多样性研究	91
一、研究方法	92
二、油桐 ISSR-PCR 反应体系的建立	94
三、油桐品种资源的遗传多样性研究	99
第三节 油桐主要经济性状的评价及其与基因组多态性的相关性研究	102
一、研究方法	103
二、油桐主要经济性状的评价	105
三、油桐桐酸含量与基因组多态性的相关性分析	107
参考文献	109
第四章 油桐组织培养与遗传转化	112
第一节 大戟科植物组织培养研究进展	112
一、麻疯树的组织培养	112
二、蓖麻的组织培养	120
三、橡胶树的组织培养	125
第二节 油桐的组织培养	131
一、腋芽诱导再生	132
二、油桐不定芽诱导再生	134
三、油桐愈伤组织诱导	137
四、油桐悬浮细胞培养	138
五、油桐叶片再生	141

第三节 大戟科植物的遗传转化	141
一、麻疯树的遗传转化	142
二、蓖麻的遗传转化	142
三、橡胶树的遗传转化	144
四、油桐遗传转化中存在的问题	145
参考文献	147

第一章 绪 论

第一节 主要工业用途的木本油料植物简介

在化石能源日益枯竭的今天，化石能源工业已不能全然提供工业发展的主要动力，世界各国正积极寻找新型的替代能源。生物质化工工业的崛起正适应新的发展趋势，随之而来的，具有工业用途的木本油料植物也会成为科研工作者们新的研究热点。本节在简要介绍生物质化工工业的基础之上，对其重要原始材料——木本油料植物做了简单的分类，并对我国木本油料植物的用途和资源分布做了简单说明。

一、生物质化工工业

1. 生物质化工的定义

生物质化工属于化工工业的一种，是指以生物质资源为原料的化工工业。随着人类社会文明的发展，工业的出现是社会生产分工的必然产物，同时工业的持续发展也促进了社会物质文明的飞速前进；它在国民经济中处于主导地位，是一个国家的技术水平和经济发展水平的直接体现。在过去的产业经济学中，根据产品单位体积的相对重量将工业分为重工业和轻工业(图 1-1)，而如今由于化工工业的出现，这一划分依据有了新的变化，对轻、重工业也有了新的定义。

重工业是指为国民经济各部门提供物质技术基础的主要生产资料的工业，按其生产性质和产品用途，分为三类：采掘(伐)工业、原材料工业以及加工工业；轻工业则是指主要提供生活消费品和制作手工工具的工业，按其所使用的原料不同，分为两类：以农产品为原料的工业和以非农产品为原料的轻工业。这种划分体系中，生物质化工工业就被糅合进去，分别体现在重工业的原料工业、加工工业，以及轻工业中，体现在日常生产、生活的方方面面当中，比如化工原料生产、生物柴油合成、生物发电、化学药品生产、日用化工产品、皮革制造、印刷