

李世升, 何宇清. 油菜种子发育早期的油体发生与调控[J]. 植物科学学报, 2019, 37(3): 389~395

Li SS, He YQ. Biogenesis and regulation of oil body during early stage seed formation in *Brassica napus* [J]. *Plant Science Journal*, 2019, 37(3): 389~395

油菜种子发育早期的油体发生与调控

李世升¹, 何宇清^{2*}

(1. 黄冈师范学院生命科学学院, 湖北黄冈, 438000; 2. 武汉大学生命科学学院, 杂交水稻国家重点实验室, 武汉 430072)

摘要: 以甘蓝型油菜(*Brassica napus* L.)品种‘Westar’和‘Topas’为材料, 通过超微结构观察和荧光定量PCR技术对油菜胚胎发育早期油体的发生、油体蛋白及脂肪酸合成转录因子基因的表达情况进行分析。结果显示: 油体出现在油菜胚胎发育早期, 在授粉9~11 d后(球形胚时期)的胚体和胚柄中均存在直径小于0.5 μm的油体; 荧光定量实验结果表明, 除BnCLO3的表达量在整个胚胎发育阶段无明显变化外, 其他油体蛋白基因Oleosins、Steroleosins和BnCLO1的表达量在心形胚时期就明显增多并持续增长; 脂肪酸合成转录因子BnLEC1、BnL1L、BnWRI1和BnFUS3在胚胎发育阶段, 基因表达规律均呈先上升再下降的趋势, 但达到最高值的时间存在差异, 其中BnLEC1最早, BnL1L其次, BnWRI1和BnFUS3较晚。研究结果表明甘蓝型油菜在球形胚时期出现油体, 其结构蛋白和转录调控因子基因的表达自心形胚开始明显增多。

关键词: 甘蓝型油菜; 胚胎发育; 油体发生; 油体蛋白; 脂肪酸合成转录因子

中图分类号: Q944.46

文献标识码: A

文章编号: 2095-0837(2019)03-0389-07

DOI: 10.11913/PSJ.2095-0837.2019.30389

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Biogenesis and regulation of oil bodies during early stage seed formation in *Brassica napus*

Li Shi-Sheng¹, He Yu-Qing^{2*}

(1. College of Life Science, Huanggang Normal University, Huanggang, Hubei 438000, China;

2. State Key Laboratory of Hybrid Rice, College of Life Science, Wuhan University, Wuhan 430072, China)

Abstract: Rapeseed is one of the most important oil crops in China. Most oil in rapeseed is stored in the oil bodies. In this paper, the biogenesis of oil bodies and gene expression level variations in oil body proteins and fatty acid synthesis transcription factors were investigated during embryogenesis in two *Brassica napus* L. cultivars (‘Westar’ and ‘Topas’) via ultrastructural observation and real-time fluorescence quantitative PCR. Results showed that oil bodies existed in early embryos of *B. napus*, even in the embryo proper and suspensor, 9~11 d after pollination (globular embryo stage). The gene expression level of all oil body proteins (oleosins, steroleosins, and BnCLO1), except BnCLO3, increased at the heart embryo stage and continued to increase during the embryonic development stage. The gene expression levels of fatty acid synthesis transcription factors (BnLEC1, BnL1L, BnWRI1, and BnFUS3) increased at the early stages and decreased at the late stages, but their peak times were different. The gene expression level of BnLEC1 peaked first, followed by BnL1L, BnWRI1, and BnFUS3 last. Our results showed that oil bodies exist in early embryos of

收稿日期: 2018-12-03, 退修日期: 2019-01-24。

基金项目: 国家自然科学基金项目(31401416, 31701466)。

This work was supported by grants from the National Natural Science Foundation of China (31401416, 31701466).

作者简介: 李世升(1983-), 男, 博士, 副教授, 研究方向为作物发育与育种(E-mail: lishisheng2002@whu.edu.cn)。

* 通讯作者(Author for correspondence. E-mail: yqhe@whu.edu.cn)。

B. napus, even at the globular-embryo stage, and the gene expression level of their structural proteins and transcription factors increases from the heart-embryo stage.

Key words: *Brassica napus*; Embryogenesis; Oil body biogenesis; Oil body protein; Fatty acids synthesis transcription factor

油菜(*Brassica napus* L.)是我国重要的油料作物。油菜种子含油量的高低与油脂积累及油体蛋白的合成有关。油菜种子的油脂贮藏于油体。油体是一种细胞器,由半单位膜包裹三酰甘油构成^[1]。半单位膜由单层磷脂分子及其镶嵌的油体蛋白组成。油体蛋白包括油质蛋白(Oleosins)、钙结合油质蛋白(Caleosins)和固醇油质蛋白(Steroleosins)^[2]。Jolivet等^[3]对油体蛋白的基因组和蛋白组进行了研究,发现Oleosins和Caleosins在种子发育早期(授粉后12~17 d,即鱼雷形胚形成期前后)已经积聚,而Steroleosins积聚的时间较晚(大约在授粉后25 d)。Obermeier等^[4]采用长基因表达序列标签(LongSAGE)技术研究了授粉后23 d(鱼雷形胚中期)和35 d(弯子叶胚早期)油菜种子的基因表达谱,发现*napins*、*cruciferins*和*oleosins*等基因在授粉后35 d时大量表达。

油菜种子中油脂的积累和油体蛋白的合成受到*LEC1*、*L1L*(*LEC1-like*)、*WRI1*(*WRINKLED1*)和*FUS3*(*FUSCA3*)等多种转录因子的调节^[5-7]。*LEC1*隶属于NF-YB基因家族,是胚胎发育的关键基因,在种子发育不同阶段的多个方面起调控作用,如胚胎形态建成、种子从发育早期到成熟过程的瞬时转化、种子成熟过程的脂质和蛋白质积聚等^[8,9]。*L1L*是*LEC1*的同源基因。植物*LEC1*基因家族的特异性与其特殊的组蛋白折叠二聚体晶体结构有关^[10]。过表达*LEC1*或*L1L*能增加种子的含油量^[11]。Mu等^[12]的研究发现,过表达*LEC1*上调了脂肪酸合成途径中58%的基因表达,包括*WRI1*和*FUS3*等。*WRI1*是APETALA2(AP2)/EREBP家族的一员,主要在脂肪酸的合成和糖酵解后期发挥调控作用^[13]。与野生型拟南芥(*Arabidopsis thaliana* L.)相比,*wri1*突变体种子含油量减少,过表达油菜*WRI1*则使糖酵解、脂肪酸合成、脂合成及开花基因表达上调,花期提前,种子和营养器官中三酰甘油含量增加^[14,15]。*FUS3*隶属于植物特异性B3超家族,是*LEC1*调控脂肪酸合成过程的关键基因。油菜*FUS3*基因的

突变会造成种子油脂积累减少,同时影响*LEC1*、*LEC2*、*ABI3*和*WRI1*等的表达,反之则促进甘油三酯的积聚^[16,17]。

有关油菜种子发育阶段的油体发生已开展了一些研究,我们在油菜种子形成的心形胚阶段也曾观察到油体的分布^[18],Boulard等^[19]的报道也证实再以油菜小孢子为培养来源的球形胚中检测到Oleosins蛋白^[20],但对油菜合子胚发育的更早时间(如球形胚时期),油体的分布及其调控的研究仍开展较少。本文以甘蓝型油菜授粉后9~35 d(球形胚时期至弯子叶胚时期)的胚为材料,对胚中油体的形态分布及油体蛋白和转录因子基因的表达情况进行分析,以期为深入了解油体的形成机理,提高油菜种子含油量等研究提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 实验材料

甘蓝型油菜品种‘Westar’和‘Topas’种植于武汉大学苗圃中,按常规方法施肥、浇水及锄草。‘Westar’种子由华中农业大学植物科学与技术学院孟金陵教授课题组提供,‘Topas’由武汉大学生命科学学院孙蒙祥教授提供。

1.2 实验方法

1.2.1 超薄切片与透射电镜观察

参考He等^[18]的方法,将油菜授粉后9~11 d(球形胚时期)的胚珠,在前固定液(2.5%戊二醛、4%多聚甲醛、0.1 mol/L磷酸缓冲液, pH 7.4)中4℃固定12 h。磷酸缓冲液洗涤4次,每次30 min。再于后固定液(1%四氧化锇、0.1 mol/L磷酸缓冲液, pH 7.4)中4℃固定4 h。磷酸缓冲液洗涤4次,每次30 min。然后分别采用10%、30%、50%、70%、80%、90%、95%及无水乙醇梯度脱水,每级15~20 min。无水乙醇和无水丙酮混合液过渡(V:V分别为1:2、1:1和2:1),每级30 min。无水丙酮渗透2次,每次30 min。无水丙酮和Spurr树脂混合液过渡(V:V分别为1:2、1:1和2:1),每级12 h。再于纯Spurr树

脂中渗透 24 h, 中间更换 1 次树脂。包埋样品, 分别于 40℃、50℃、60℃、70℃条件下聚合 12 h。采用 Sorvall MT-X 超薄切片机将样本切片。半薄切片用甲苯胺蓝染色, 采用 Nikon TE-2000U 显微镜观察, CoolSNAP HQ2 CCD 成像系统进行拍照。超薄切片经醋酸双氧铀和柠檬酸铅双重染色后, 采用 FEI Tecnai G2 20 透射电镜观察、拍照。油体、质体、叶绿体等细胞器的统计参考何宇清等^[21]的方法。

1.2.2 荧光定量 PCR 鉴定基因表达水平

将油菜授粉后 9 ~ 35 d 的胚在解剖镜下手工分离, 按授粉后不同天数分为 6 组, 分别为: 授粉后 9 ~ 11 d(9 ~ 11 DAP, 球形胚时期)、12 ~

13 d(12 ~ 13 DAP, 心形胚时期)、14 ~ 15 d(14 ~ 15 DAP, 鱼雷形胚时期)、16 ~ 18 d(16 ~ 18 DAP, 拐杖胚时期)、19 ~ 24 d(19 ~ 24 DAP, 弯子叶胚时期)和 25 ~ 35 d(25 ~ 35 DAP, 绿色子叶胚时期)。采用 Trizol 法提取总 RNA, 并反转录成 cDNA, 参照 SsoAdvanced SYBR Green supermix 使用说明书, 以油菜 *actin2*(*BnACT2*) 基因为内参, 采用 CFX connect real-time PCR detection system(Bio-Rad, USA) 进行检测(表 1)。每个基因都设其在球形胚时期表达量为“1”, 计算其在其他时期的相对表达量。利用 SPSS14 软件进行数据统计和分析, 采用 Photoshop CS2、Image J 和 CorelDraw X4 软件作图。

表 1 油体蛋白基因及脂肪酸合成转录因子表达水平检测的引物信息

Table 1 Primer sequences for analyzing expression levels of oilbody protein genes and lipid synthesis transcription factors by qRT-PCR

基因名称 Gene name	基因 ID Gene ID	引物序列(5'-3') Primer sequence	产物长度(bp) Production length
<i>BnS1</i>	EU678256.1	F: TCATCTTCAGTCCGGTTATCG R: TAGTCCCGTGAGCCCTATTG	95
<i>BnS2</i>	EU678255.1	F: CGGAGCAATTGGACTATGCTA R: TTCACTGAGCCCTATCCTGCAC	104
<i>BnS3</i>	EU678265.1	F: CCTCTCCAGTCTCACCCCTG R: CAAACCCACCAAGAGGAGAGA	143
<i>BnS4</i>	EU678259.1	F: TTGCCATAGCCGGTTACTT R: GAGCCGCTGGGACTATGA	99
<i>BnS5</i>	EU678263.1	F: TTGGCTCTACAGGCACATGA R: TGTGCTGCCATACTGGTA	104
<i>BnCLO1</i>	EU678282.1	F: TGGCCCTTAGCTATGCTACTCT R: GCATAAACCTCCCTCATGGTC	129
<i>BnCLO3</i>	EU678279.1	F: TGGAACTTAACCGAGGGAAA R: ACGAACCCCTCCTCATCCTT	110
<i>BnSLO1</i>	EU678274.2	F: CTAGAGGAAGTGGCAGAGATTG R: GCCAAAATGGGAGATGGT	123
<i>BnSLO2</i>	EU678277.1	F: CGTGAAGTCCCCAAACTGGT R: AACAAAGGGAGCTTGACGTG	121
<i>BnFUS3</i>	XM_013792060.2	F: CCGAATGATACTCCCCAAGA R: GGTCAAACGTGAAGACCAT	109
<i>BnLEC1</i>	EU371726.1	F: CAATACATGCCAATCGCAA R: ACTCGGAGACGCATTCTGA	109
<i>BnL1L</i>	EU371727.1	F: TCCAAGGAGACGATCCAAGA R: AAGACATCCTCGGCAGTGAT	113
<i>BnWRI1</i>	HM370542.1	F: CATATGACAGCGAGGAAGCA R: TGCATCTCCTCCAACCTCCTT	121
<i>BnACT2</i>	XM_013893921.2	F: GCACCAAGCAGCATGAAGA R: ATTCCCTGGACCTGCCTCAT	146

2 结果与分析

2.1 早期胚油体分布的特点

本研究观察发现, 甘蓝型油菜种子在形成过程中, 球形胚持续的时间相对较长, 授粉后 9~11 d 都是球形胚时期; 授粉后 12 d 有子叶原基的分化; 心形胚时期持续较短; 在授粉后 14 d, 大部分胚已进入鱼雷形胚时期。

对球形胚超微结构的观察结果显示(图 1), 球形胚的胚体和胚柄中都有油体形成, 所有油体直径均小于 0.5 μm (统计油体数量 $n > 200$) (图 1: B~D)。因为油体可能由淀粉粒转化而来, 本研究也观察了胚和胚乳中质体及叶绿体的发育情况, 发现胚体、胚柄及胚乳中的质体和叶绿体分布具有明显差异(图 1: D~H)。胚体和胚柄中的质体主要为前质体和淀粉粒体(图 1: D~F), 尤其是胚柄中的质体(图 1: E、F)积累较多的淀粉粒, 而胚乳中的质体(图 1: G、H)已发育为结构完整的叶绿体。

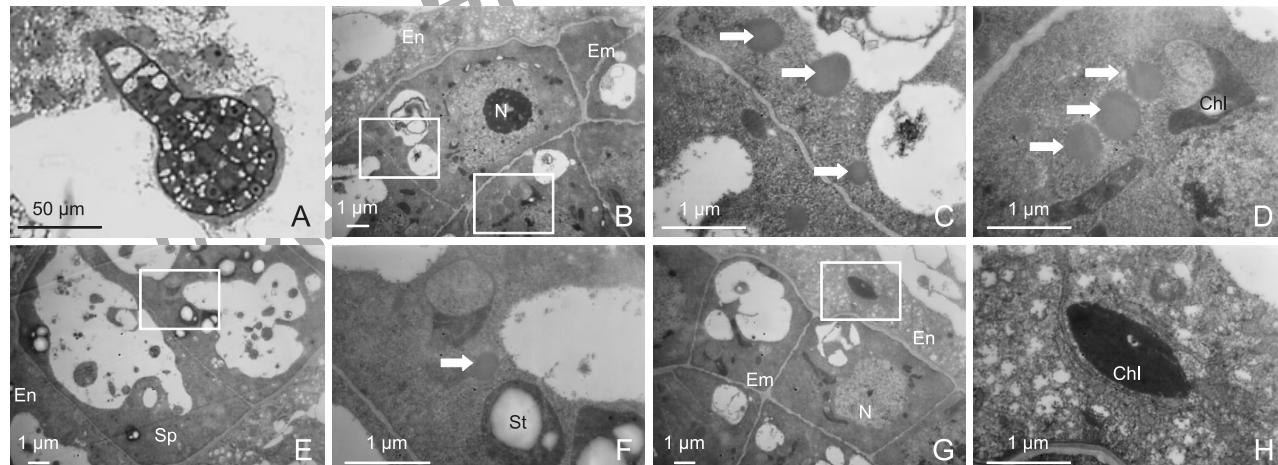
2.2 早期胚油体蛋白的表达分析

本研究采用荧光定量法分析了油体蛋白 *Oleosins* 家族的 5 个基因 *BnS1*~*BnS5*、*Caleosins* 的 2 个基因 *BnCLO1* 和 *BnCLO3* 以及 *Steroleosins*

的 2 个基因 *BnSLO1* 和 *BnSLO2* 在油菜早期胚中的基因表达量(图 2~图 5)。结果显示, *Oleosins* 中 5 个的基因表达量在授粉后 9~15 d(球形胚到鱼雷形胚时期)均呈增加的趋势, 之后 *BnS1*~*BnS4* 表达量继续增加, 而 *BnS5* 表达量在授粉后 19 d 开始减少。*BnCLO1*、*BnSLO1* 和 *BnSLO2* 的表达趋势与 *Oleosins* 家族的基因相似, 而 *BnCLO3* 的表达量在整个胚胎发育阶段无明显变化。

2.3 早期胚脂肪酸合成转录因子的表达分析

研究表明, 油体油脂的积累和油体蛋白的合成受到 *LEC1*、*L1L* (*LEC1-like*)、*WRI1* (*WRINKLED1*) 和 *FUS3* (*FUSCA3*) 等多种转录因子的调节^[8, 10~14, 16, 17]。本研究发现, 脂肪酸合成转录因子 *BnLEC1*、*BnL1L*、*BnWRI1* 和 *BnFUS3* 在胚胎发育阶段基因的表达量均呈先上升后下降的趋势(图 6)。在授粉后 12~13 d(心形胚时期), *BnLEC1*、*BnL1L*、*BnWRI1* 和 *BnFUS3* 的基因表达量明显上升。基因表达量达到最大值的时间顺序如下: *BnLEC1* 在授粉后 12~13 d 表达量最大; 其次是 *BnL1L*, 在授粉后 14~15 d(鱼雷形胚时期)表达量最大; 最后是 *BnWRI1* 和 *BnFUS3*, 在授粉后 16~18 d 达到最大值。



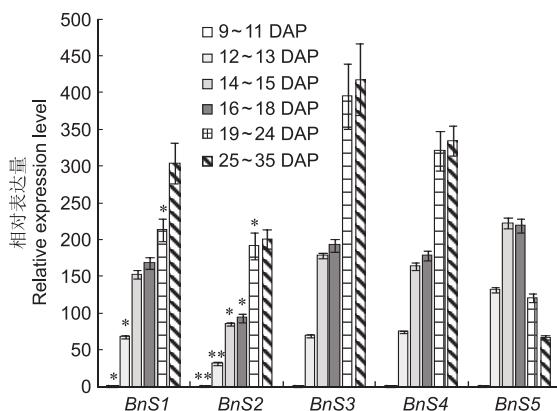
A: 油菜球形胚的半薄切片。B~H: 油菜球形胚的超薄切片。Chl: 叶绿体; Em: 胚体; En: 胚乳; N: 细胞核; Sp: 胚柄; St: 淀粉粒; 白色箭头表示油体。C、D: 为图 B 方框部分放大; F: 为图 E 方框部分放大; H: 为图 G 方框部分放大。

A: Semi-thin sections of globular embryos in *Brassica napus*. B~H: Ultra-thin sections of globular embryos in *B. napus*. Chl: Chloroplasts; Em: Embryo proper; En: Endosperm; N: Cell nucleus; Sp: Suspensor; St: Starch granules; white arrows show oil bodies.

C, D: Zoomed image of rectangle in Fig. B; F: Zoomed image of rectangle in Fig. E; H: Zoomed image of rectangle in Fig. G.

图 1 油菜球形胚的半薄切片和超薄切片

Fig. 1 Semi-thin and ultra-thin sections of globular embryos in *B. napus*



* 表示差异显著 ($P < 0.05$)，** 表示差异极显著 ($P < 0.01$)。下同。

*: Significant difference ($P < 0.05$), **: Significant difference ($P < 0.01$). Same below.

图2 Oleosins 家族基因在油菜早期胚表达量的变化

Fig. 2 Expression level variation in oleosin genes in early embryos of *B. napus*

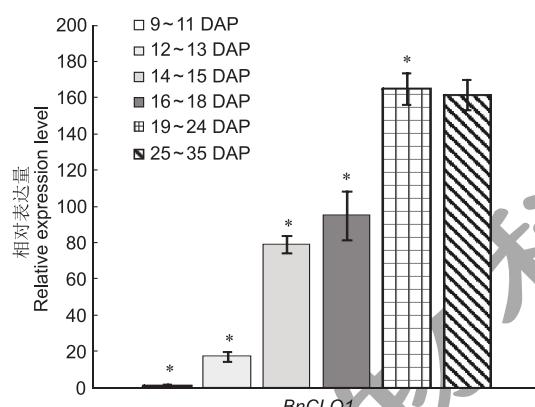


图3 Caleosin 家族基因在油菜早期胚表达量的变化

Fig. 3 Expression level variation in caleosin genes in early embryos of *B. napus*

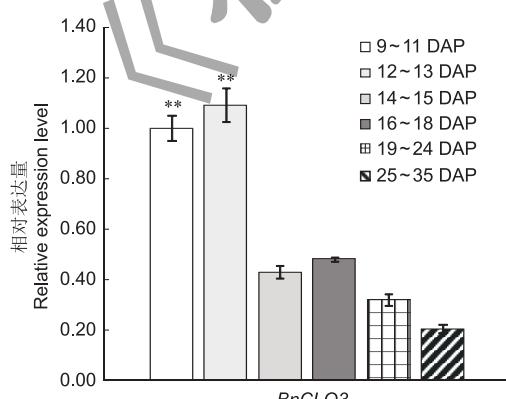


图4 Caleosin 家族基因 BnCLO3 在油菜早期胚表达量的变化

Fig. 4 Expression level variation in caleosin BnCLO3 in early embryos of *B. napus*

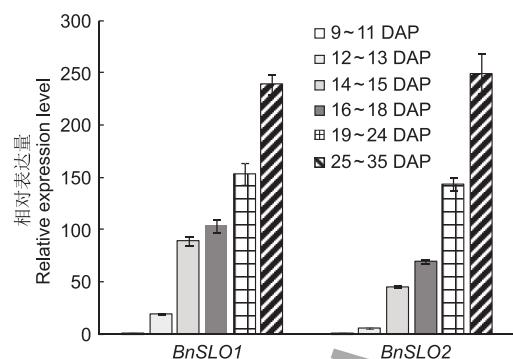


图5 Steroleosins 家族基因在油菜早期胚表达量的变化

Fig. 5 Expression level variation in steroleosin genes in early embryos of *B. napus*

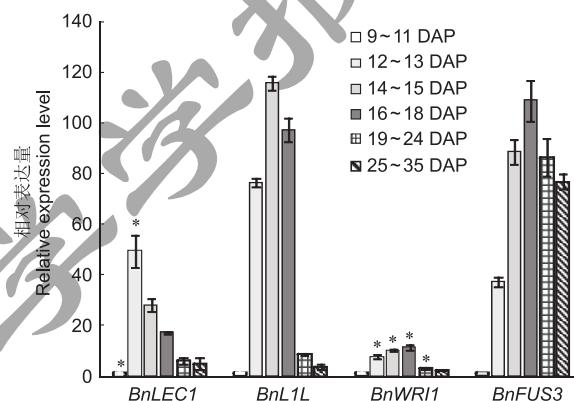


图6 油菜早期胚中脂肪酸合成转录因子基因的表达量

Fig. 6 Expression level variation in fatty acid synthase transcription factors in early embryos of *B. napus*

3 讨论

研究表明,油菜种子的油脂贮藏于油体,含油量受油体相关基因控制。了解油菜种子中油体的发生过程及基因调控机制,对于采用分子生物学或遗传学技术提高种子含油量具有重要的实践意义。前人对于含油量不同的油菜种子中油体的形态、分布特点已有报道^[22]。由于油菜胚深藏于胚珠中,被大量胚乳细胞包裹,不易观察,因此对于胚胎发生过程中油体的出现及其动态变化的研究相对较少。本课题组在油菜胚胎显微观察和离体操作方面具有丰富的经验,通过对油菜大量原位和离体胚的超微结构观察以及相关基因的荧光定量 PCR 分析,本研究得出以下结论:第一,在油菜品种‘Westar’和‘Topas’授粉后 9~11 d(球形胚时期)的胚体和胚柄中均存在有油体。Boulard 等^[19]的研究通过分离不同基因型油菜早期胚胎,揭示出油菜种子

形成过程中油体的发育规律, 即最早在授粉后 15 d 的胚胎中可以观察到油体的分布, 但晚于本研究观察到油体的时间。Borisjuk 等^[23]的研究, 通过磁共振成像技术(MRI)分析了油菜授粉后 10 d 及较晚时期种子内油脂的分布情况, 虽然观察时间较早, 但其分析对象为种子整体, 并未分离出胚进行精确分析。相对于成熟种子, 球形胚中油体不仅数目少、不易发现, 而且体形较小(直径 < 0.5 μm)。而本研究观察到油体的大小是当前发现的油体直径范围(0.5 ~ 2.5 μm)的最小值^[24-26]。

第二, 随着胚胎的发育, 油体数目增多、体积增大, 此现象与前人的研究结果一致^[19, 23, 27]。本研究在基因表达量分析中发现, 除 *BnCLO3* 的表达量在整个胚胎发育阶段无明显变化外, 其他油体蛋白基因的表达量在心形胚时期明显增多, 并持续增长。Kim 等^[28]的报道发现, *Oleosins* 家族的 5 个基因 *S1* ~ *S5*, 在拟南芥角果的发育过程中, *S5* 的表达早于 *S1* ~ *S4*。本研究结果与其相似, 确定油菜 *BnS5* 基因的表达量在授粉后 14 ~ 18 d (鱼雷形胚至拐杖形时期) 时达到最大, 但原因有待进一步研究。Hyun 等^[29]的研究发现蓖麻(*Ricinus communis* L.) 和亚麻(*Linum usitatissimum* L.) 种子中特异表达或高表达的 *Oleosins* 家族基因, 推测其参与了种子中油脂的形成; 另外 Lu 等^[30] 和 Siloto 等^[31] 通过反向遗传学手段, 鉴定 *Oleosins* 是油体大小的重要调节者, 家族成员 *S1* ~ *S5* 中除 *S5* 外, 其他基因的表达量均随油菜胚胎发育时间的推移呈上升趋势, 该结果与 *Oleosins* 具有调控油体大小的作用是一致的。Hernandez-Pinzon 等^[32]的研究表明, *Caleosins* 存在 25 kD 和 27 kD 两种同工型蛋白, 但其细胞定位和表达模式不同。25 kD 蛋白定位于胚和萌发子叶细胞中的油体, 而 27 kD 蛋白则具有内质网结合域, 不仅分布于胚, 还分布于根、茎、叶等多种组织。本研究结果也显示, *BnCLO1* 和 *BnCLO3* 在胚胎发育过程中的基因表达模式不同, 随着油体的出现, *BnCLO1* 表达量呈增加的趋势, 而 *BnCLO3* 则未出现明显差异, 推测这种表达量的差异与他们具有不同的功能有关。

第三, *LEC1* 是种子特有的“先驱”转录因子, 他不仅是胚胎发育的关键调控因子, 还调节其下游多个转录因子基因的表达^[4]。本研究发现, *LEC1*

在授粉后 12 ~ 13 d(心形胚时期)基因表达量最大, 其同源基因 *L1L*(*LEC1 Like*)紧随其后, 在授粉第 14 ~ 15 d(鱼雷形胚时期)基因表达量达到最大, 而其下游转录因子 *BnWRI1* 和 *BnFUS3* 表达量达到最大的时间较晚。研究结果提示了 *Bn-LEC1*、*BnL1L*、*BnWRI1*、*BnFUS3* 等转录因子在胚胎发育过程中的调控关系。

参考文献:

- [1] 程红焱, 宋松泉. 种子的贮油细胞器—油体及其蛋白[J]. 植物学通报, 2006, 23(4): 418-430.
Cheng HY, Song SQ. Seed lipid storage organelles: oil bodys and their proteins[J]. Chinese Bulletin of Botany, 2006, 23(4): 418-430.
- [2] Tzen JTC. Integral proteins in plant oil bodies[J]. ISRN Botany, 2012, 2012: 173954.
- [3] Jolivet P, Boulard C, Bellamy A, Valot B, d'Andréa S, et al. Oil body proteins sequentially accumulate throughout seed development in *Brassica napus*[J]. J Plant Physiol, 2011, 168(17): 2015-2020.
- [4] Obermeier C, Hosseini B, Friedt W, Snowdon R. Gene expression profiling via LongSAGE in a non-model plant species: a case study in seeds of *Brassica napus*[J]. BMC Genomics, 2009, 10: 295.
- [5] 闵文莉, 曹喜涛, 季更生, 张国政. 调控脂肪酸合成植物转录因子的研究进展[J]. 发酵科技通讯, 2017, 46(2): 107-112.
Min WL, Cao XT, Ji GS, Zhang GZ. Researches of plant transcription factors involving in fatty acid synthesis[J]. Bulletin of Fermentation Science and Technology, 2017, 46(2): 107-112.
- [6] 宋雷, 范成明, 陈宇红, 张新永, 胡赞民. 植物油脂合成的分子调控机制[J]. 分子植物育种, 2016, 14(8): 2178-2187.
Song L, Fan CM, Chen YH, Zhang XY, Hu ZM. The molecular regulation mechanism of the plant lipid biosynthesis [J]. Molecular Plant Breeding, 2016, 14(8): 2178-2187.
- [7] 李玉兰, 孙勤富, 王幼平. 植物油脂合成的转录调控研究进展[J]. 分子植物育种, 2016, 14(9): 2509-2518.
Li YL, Sun QF, Wang YP. Research advance in transcriptional regulation of lipid synthesis and accumulation in plant[J]. Molecular Plant Breeding, 2016, 14(9): 2509-2518.
- [8] Pelletier JM, Kwong RW, Park S, Le BH, Baden R, et al. *LEC1* sequentially regulates the transcription of genes involved in diverse developmental processes during seed development[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2017, 114(32): 6710-6719.

[9] Tao Z, Shen L, Gu X, Wang Y, Yu H, et al. Embryonic epigenetic reprogramming by a pioneer transcription factor in plants [J]. *Nature*, 2017, 551(7678) : 124–128.

[10] Gnesutta N, Saad D, Chaves-Sanjuan A, Mantovani R, Nardini M. Crystal structure of the *Arabidopsis thaliana* L1L/NF-YC3 histone-fold dimer reveals specificities of the LEC1 family of NF-Y subunits in plants [J]. *Mol Plant*, 2017, 10(4) : 645–648.

[11] Tan H, Yang X, Zhang F, Zheng X, Qu C, et al. Enhanced seed oil production in canola by conditional expression of *Brassica napus* *LEAFY COTYLEDON1* and *LEC1-LIKE* in developing seeds [J]. *Plant Physiol*, 2011, 156(3) : 1577–88.

[12] Mu J, Tan H, Zheng Q, Fu F, Liang Y, et al. *LEAFY COTYLEDON1* is a key regulator of fatty acid biosynthesis in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiol*, 2008, 148(2) : 1042–1054.

[13] Cernac A, Benning C. WRINKLED1 encodes an AP2/EREB domain protein involved in the control of storage compound biosynthesis in *Arabidopsis* [J]. *Plant J*, 2004, 40(4) : 575–585.

[14] Li Q, Shao J, Tang S, Shen Q, Wang T, et al. Wrinkled1 accelerates flowering and regulates lipid homeostasis between oil accumulation and membrane lipid anabolism in *Brassica napus* [J]. *Front Plant Sci*, 2015, 6: 1015.

[15] Kanai M, Mano S, Kondo M, Hayashi M, Nishimura M. Extension of oil biosynthesis during the mid-phase of seed development enhances oil content in *Arabidopsis* seeds [J]. *Plant Biotechnol J*, 2016, 14(5) : 1241–1250.

[16] Zhang M, Cao X, Jia Q, Ohlrogge J. *FUSCA3* activates triacylglycerol accumulation in *Arabidopsis* seedlings and tobacco BY2 cells [J]. *Plant J*, 2016, 88(1) : 95–107.

[17] Elahi N, Duncan RW, Stasolla C. Decreased seed oil production in *FUSCA3* *Brassica napus* mutant plants [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2015, 96: 222–230.

[18] He YQ, Wu Y. Oil body biogenesis during *Brassica napus* embryogenesis [J]. *J Integr Plant Biol*, 2009, 51(8) : 792–799.

[19] Boulard C, Bardet M, Chardot T, Dubreucq B, Gromova M, et al. The structural organization of seed oil bodies could explain the contrasted oil extractability observed in two rapeseed genotypes [J]. *Planta*, 2015, 242(1) : 53–68.

[20] Holbrook LA, van Rooijen GJ, Wilen RW, Moloney MM. Oilbody proteins in microspore-derived embryos of *Brassica napus*: hormonal, osmotic, and developmental regulation of synthesis [J]. *Plant Physiol*, 1991, 97(3) : 1051–1058.

[21] 何宇清, 操春燕, 沈文忠, 黄冬, 马胜, 吴燕. 甘蓝型油菜种

子中油体的超微结构及蛋白质组分析 [J]. *植物科学学报*, 2017, 35(4) : 566–573.

[22] He YQ, Cao CY, Shen WZ, Huang D, Ma S, et al. Study on the ultrastructure and proteome of oil bodies in *Brassica napus* L. seeds [J]. *Plant Science Journal*, 2017, 35(4) : 566–573.

[23] Gu J, Chao H, Wang H, Li Y, Li D, et al. Identification of the relationship between oil body morphology and oil content by microstructure comparison combining with QTL analysis in *Brassica napus* [J]. *Front Plant Sci*, 2017, 7: 1989.

[24] Tzen JT, Cao YZ, Laurent P, Ratnayake C, Huang AH. Lipids, proteins, and structure of seed oil bodies from diverse species [J]. *Plant Physiol*, 1993, 101: 267–276.

[25] Murphy DJ. The biogenesis and functions of lipid bodies in animals, plants and microorganisms [J]. *Prog Lipid Res*, 2001, 40(5) : 325–438.

[26] Mantese AI, Medan D, Hall AJ. Achene structure, development and lipid accumulation in sunflower cultivars differing in oil content at maturity [J]. *Ann Bot Lond*, 2006, 97(6) : 999–1010.

[27] Miquel M, Trigui G, d'Andréa S, Kelemen Z, Baud S, et al. Specialization of oleosins in oil body dynamics during seed development in *Arabidopsis* seeds [J]. *Plant Physiol*, 2014, 164(4) : 1866–1878.

[28] Kim HU, Hsieh K, Ratnayake C, Huang AH. A novel group of oleosins is present inside the pollen of *Arabidopsis* [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(25) : 22677–22684.

[29] Hyun TK, Kumar D, Cho YY, Hyun HN, Kim JS. Computational identification and phylogenetic analysis of the oil-body structural proteins, oleosin and caleosin, in castor bean and flax [J]. *Gene*, 2013, 515(2) : 454–460.

[30] Lu C, Fulda M, Wallis JG, Browse J. A high-throughput screen for genes from castor that boost hydroxy fatty acid accumulation in seed oils of transgenic *Arabidopsis* [J]. *Plant J*, 2006, 45(5) : 847–856.

[31] Siloto RM, Findlay K, Lopez-Villalobos A, Yeung EC, Nykiforuk CL, et al. The accumulation of oleosins determines the size of seed oilbodies in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell*, 2006, 18(8) : 1961–1974.

[32] Hernandez-Pinzon I, Patel K, Murphy DJ. The *Brassica napus* calcium-binding protein, caleosin, has distinct endoplasmic reticulum-and lipid body-associated isoforms [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2001, 39(7–8) : 615–622.