

文章编号: 1674-7054(2022)05-0478-10



通过整合转录组与代谢组解析不同类型椰子的脂肪酸调控网络

邓渊, 赖军, 毛梦迪, 张越冉, 李淳,
杨君, 王守创, 罗杰

(海南大学热带作物学院/海南省热带生物资源可持续利用重点实验室, 海口 570228)

摘要: 为了探究不同类型椰子中脂质种类和含量的差异, 本研究利用非靶向代谢组学方法对海南高种和矮种椰子椰肉组织的代谢物进行了分析, 共检测到 12 579 种代谢信号, 其中鉴定了 564 种代谢物, 包括氨基酸、脂肪酸、类黄酮等。定量分析表明高种椰子的脂质总体含量高于矮种椰子, 其中绿矮椰子脂质含量最低。甘油酯、鞘脂和脂肪酰基是不同类型椰子中主要的差异物质。转录组数据结果表明, 不同类型椰子中的差异基因主要参与脂肪酸代谢、 α -亚麻酸代谢、木质素代谢和苯丙烷代谢。基于表达模式的不同将差异基因划分为 20 个不同的模块, 其中“Melightyellow”模块与差异积累的脂肪酸高度相关。通过分析模块中脂质途径结构基因启动子区的 *cis*-element, 发现大多数脂质途径基因的启动子区存在多个 MYB 家族的结合位点及大量的激素信号响应元件。结果表明, MYB 家族的转录因子可能在脂质的合成调控中发挥重要作用, 并且激素可能作为一种信号分子参与到脂质的合成调控中。本研究通过组合策略对不同品种椰肉组织脂质差异的分子机理进行分析, 并进一步构建了转录因子-结构基因-代谢物的合成调控网络, 为后续解析脂质合成调控的分子机制提供了资源, 为油脂椰子品种选育提供了依据。

关键词: 椰子; 代谢组; 转录组; WGCNA; 脂质

中图分类号: S 667.4; Q 943 **文献标志码:** A

引用格式: 邓渊, 赖军, 毛梦迪, 等. 通过整合转录组与代谢组解析不同类型椰子的脂肪酸调控网络 [J]. 热带生物学报, 2022, 13(5): 478-487. DOI: 10.15886/j.cnki.rds wxb.2022.05.008

椰子 (*Cocos nucifera* L.) 是许多热带国家最重要的经济作物^[1]。椰子属于棕榈科椰子属, 基因组大小约为 2.4 Gb^[2-3]。根据植物形态和繁殖类型, 椰子可以分为 2 种类型: *typica* (tall) 和 *nana* (dwarf)^[4]。椰子根据进化起源可以分为 2 个亚群——印度洋种群和太平洋种群^[5-6]。高种椰子异花授粉, 基因型表现为一定程度的杂合, 而矮种椰子自花授粉, 基因型纯合。矮种椰子生长缓慢、植株矮小、树冠较小、果小而多、椰肉厚度薄、开花时间较早, 通常在种植 4~6 a 后开花, 株高 10~15 m^[7-9]。高

种椰子耐寒, 果实大, 能够适应更广泛的环境, 株高 20~30 m, 初次开花时间晚 (种植 8~10 a 后开花)。在中国, 椰子主要种植在海南和云南等地区, 海南地区的高种椰子“Hainan Tall”有着 36 000 hm² 的种植面积^[10], 高种椰子耐盐碱和高温, 但对低温敏感。目前普遍认为矮种椰子经高种椰子驯化而来^[4], 且矮种椰子更易受不利环境的影响。椰油占椰肉重量的 65%^[8,11], 与其他植物油相比, 椰油具有独特的理化性质和药用价值。椰子油富含饱和脂肪酸 (93%), 主要成分是己酸 (C6)、辛酸 (C8)、

收稿日期: 2022-02-11 修回日期: 2022-02-24

基金项目: 国家自然科学基金 (31960213)

第一作者: 邓渊 (1996-), 男, 海南大学热带作物学院 2019 级硕士研究生. E-mail: yuandeng@hainanu.edu.cn

通信作者: 王守创 (1989-), 男, 教授. 研究方向: 植物次生代谢调控及代谢组学. E-mail: shouchuang.wang@hainanu.edu.cn; 罗杰 (1971-), 男, 教授. 研究方向: 植物次生代谢调控及代谢组学. E-mail: jie.luo@hainanu.edu.cn

癸酸 (C10)、月桂酸 (C12)、肉豆蔻酸 (C14)、棕榈酸 (C16)、硬脂酸 (C18) 和花生酸 (C20), 其中 85% 是中链脂肪酸 (medium-chain fatty acids, MCFA)。据报道, 月桂酸在棕榈科中的主要来源是椰子和油棕, 两者都仅限于在热带和亚热带气候中生长^[11-14]。月桂酸能够提高氧化稳定性, 具有低熔点, 能产生稳定的乳液, 这对食品和化学工业应用具有重要意义^[11]。目前月桂酸在医药和食品工业等各个领域都具有广泛的应用, 包括用于制造肥皂、洗涤剂、纺织品、油漆、清漆、化妆品、药品等。肉豆蔻酸在食品工业中常用作调味剂和食品添加剂^[15]。肉豆蔻酸有一定的药理活性, 相较于其他饱和脂肪酸, 肉豆蔻酸有更强的抗氧化活性^[16], 肉豆蔻酸还可以降低血糖^[17]。除了饱和脂肪酸以外, 椰子油还含有少量不饱和脂肪酸, 如油酸 (C18:1)、棕榈油酸 (C18:1) 和亚麻酸 (C18:3)。目前有报道使用椰子油可以降低阿尔茨海默病的患病风险^[13-14], 抑制肿瘤生长、抑制氧化应激和神经炎症, 以及消除抗肿瘤药甲氨蝶呤引起的脑神经毒性^[18-24]。植物脂肪酸代谢途径在其他物种中已有广泛报道^[25-34], 但目前在椰子中罕有报道。不同类型椰子品种在脂肪酸积累和合成调控途径是否存在差异, 仍有待阐明。椰肉作为脂肪酸积累的主要部位, 是研究脂肪酸合成调控的理想场所。本研究利用非靶向代谢组学, 比较了海南高种、黄矮椰子和绿矮椰子的脂肪酸积累水平, 研究表明, 高种椰子的脂肪酸含量最高, 黄矮椰子其次, 绿矮椰子最低。结合转录组学数据, 重建了椰子脂肪酸代谢途径, 研究发现, 相较于矮种椰子而言, 脂肪酸途径的基因大多在高种椰子中高表达。WGCNA 结果表明, “Melightyellow” 模块中的基因与差异积累的脂肪酸有着相似的变化趋势, 在此基础上结合模块中结构基因启动子区的 *cis*-element, 预测并构建了完整的脂肪酸调控网络。本研究通过组学策略探究了不同类型椰子品种脂肪酸差异的分子机理, 预测并构建了完整的椰子脂肪酸调控网络, 为后续椰子脂肪酸合成调控的进一步解析提供了可用资源, 为高油脂椰子品种的选育提供了理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料 本试验材料由中国热带农业科学院

椰子研究所提供, 包括 2 份高种椰子 (Hainan Tall, HT), 2 份黄矮椰子 (Yellow Dwarf, YD) 和 2 份绿矮椰子 (Green Dwarf, GD)。每份材料随机选取 3 株长势一致的植株, 每株植株采摘 3 个大小和发育时期一致的椰果, 取椰肉混合后作为 1 个生物学重复, 并将其一分为二, 一份作为转录样, 一份作为代谢样。将样品立即置于液氮冷冻, $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 超低温冰箱保存备用。

1.2 代谢样品处理 椰肉代谢样品经冷冻干燥后, 采用 BM500 球磨机研磨成粉末 (频率 30 Hz, 持续时间 1.5 min)。称取 100 mg 研磨好的干粉样品, 加入 1.2 mL 含有 $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 利多卡因内标的 $\phi = 70\%$ 甲醇提取液, 涡旋 30 s, 低温静置 10 min, 重复上述操作 3 次后, 放入 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱继续萃取代谢产物 12 h, $10\text{ }300\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 离心 10 min, 取上清液, 用 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 的滤膜过滤后, 放入进样瓶中即可用于 LC-MS 进行代谢物检测分析。

1.3 转录数据处理 对于原始的下机数据使用 Fastp 软件的默认参数去除低质量序列和接头序列, 用 HISAT2 软件默认参数将其比对到矮种椰子的参考基因组, Samtools 排序后使用 featureCounts 进行定量, 用 TPM (transcripts per million) 对原始定量结果进行标准化。R 软件中的 FactoMineR 和 factoextra 用于主成分分析。DESeq2 用于样本间差异表达基因的鉴定, 同时满足 $|\log_2\text{FoldChange}| > 1$ 和 FDR (False Discovery Rate) < 0.05 的基因被认为是 2 个样本比较间的差异表达基因。

2 结果与分析

2.1 基于非靶向代谢组学的椰子代谢谱比较 为了探究不同类型椰肉的代谢组差异, 选择了 6 份具有代表性的椰子种质资源, 包括 2 份高种椰子 (HT)、2 份黄矮椰子 (YD)、2 份绿矮椰子 (GD), 进行代谢物检测。通过 Q Exactive-Orbitrap UHPLC-ESI-MS/MS 在正离子模式下进行非靶向扫描, 共检测到 12 579 种质谱信号。为了研究椰子果肉的代谢组构成, 利用多种策略对所检测的质谱信号进行代谢物结构解析。对于能获取商业标准品的代谢物, 通过比对保留时间 (retention time, RT), 母离子 (Q1) 及质谱碎片信息等因素来鉴定代谢物。如 RT 为 9.15 min 的代谢信号 (Cnm04191), 其母离子精确的 m/z 为 279.230 28,

并且有 149.0、219.1、57.1 和 105.0 等一系列的特征碎片。与标准品比对,代谢信号 Cnm04191 由于相同的质谱碎片信息被鉴定为 α -Linolenate (图 1-A, 1-B)。对于不能获得商业标准品的代谢物,将试验获取的质谱信息与已经公开发表的文献或者代谢数据库进行比对来初步解析代谢物结构。RT 为 8.39 min 的质谱信号 (Cnm09776) 的 MS1 谱图中检测到准确的 m/z 为 518.322 20, 二级质谱碎片中观察到 $[Y_0]^+$ 离子 184.1, 这是由于形成

了磷酸胆碱这一特征碎片,因此,推测质谱信号 Cnm09776 为 LysoPC (18:3/0:0) (图 1-C)。质谱信号 Cnm06436 被注释为 Glycerol monolinoleate (图 1-D)。通过 Compound Discoverer 3.1 软件自动批量匹配在线代谢数据库,包括 mzCloud、ChemSpider、MassBank 等进行代谢物结构鉴定。最终,超过 564 种代谢物被鉴定,主要为氨基酸、黄酮类化合物、有机酸、脂质、苯丙烷、糖类、多酚、生物碱、核苷酸及其衍生物、植物激素。

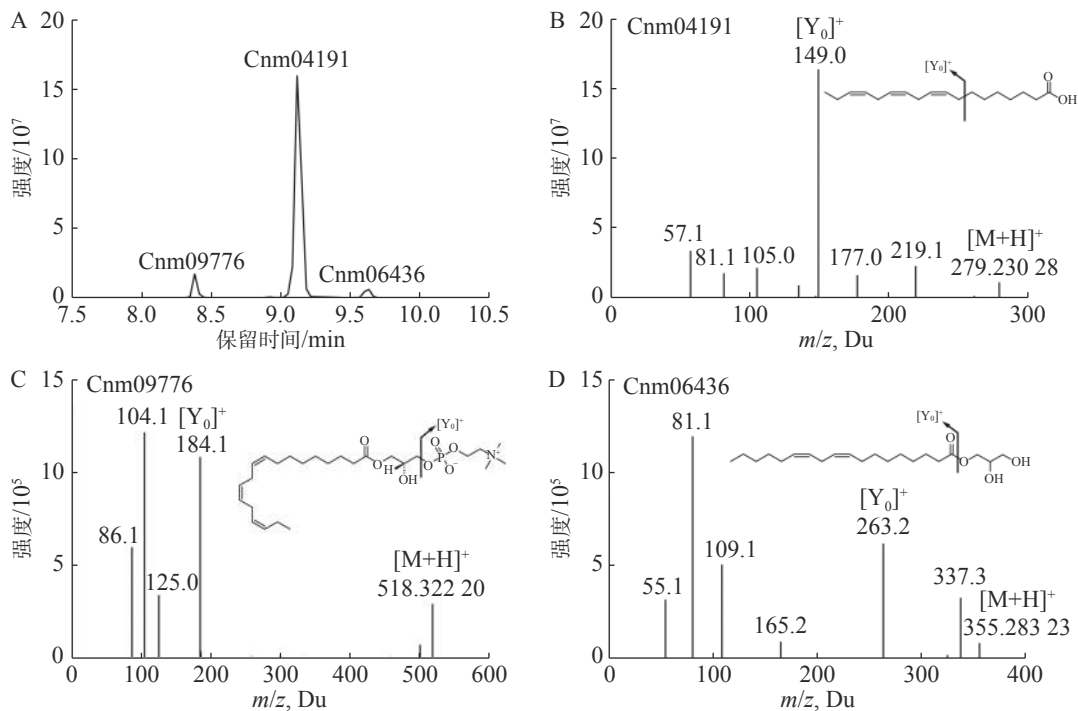


图 1 利用 UHPLC-HRMS 对次生代谢物进行检测和鉴定

A: Cnm04191, Cnm09776 和 Cnm06436 在 9.15, 8.39 和 9.66 min 的提取离子色谱图; B: α -亚麻酸 (Cnm04191); C: LysoPC (18:3, Cnm09776); D: Glycerol monolinoleate (Cnm06436)。

基于检测到的 97 种脂质信号进行了主成分分析 (principal component analysis, PCA), 结果表明, 每个品种的 3 个生物学重复都能较好地聚在一起, 黄矮椰子和绿矮椰子聚集较近, 但两者与高种椰子相聚较远 (图 2-A)。结果表明, 同一样本不同重复间的代谢数据有较高的一致性, 且不同类型的椰子品种在脂质积累水平有较大的差异, 高矮种间的差异更大。进一步分析结果表明, 高种椰子的脂质水平极显著 ($P < 2.22E-16$) 高于矮种椰子 (图 2-C), 且绿矮椰子的脂质积累水平最低 (图 2-D)。热图结果表明, 检测到的 97 种脂质在 3 种不同类型的椰子果肉中具有不同的积累模式 (图 2-B)。为进一步探究三者间脂质积累存在差异

的代谢产物, 利用 OPLS-DA 对样本两两间差异代谢物进行鉴定 (YD vs HT, GD vs HT, GD vs YD)。在两两比较间脂质积累存在差异的物质共有 50 种, 其中 5 种脂质在 3 组比较间都表现为积累差异 (图 2-E)。进一步对积累存在差异的代谢物进行注释, 脂肪酰、甘油酯、鞘脂是主要的差异物质, 其中脂肪酰占比最高达 74%, 鞘脂和甘油酯分别各占 8% (图 2-F)。糖脂主要与光合作用及磷响应相关^[35], 鞘脂主要与植物生长、植物育性和胁迫应答等相关^[36-38]。以上结果表明, 这些物质在不同类型的椰子中迥异的积累模式, 可能与它们响应生物和非生物胁迫以及适应不同地区的环境条件有关。

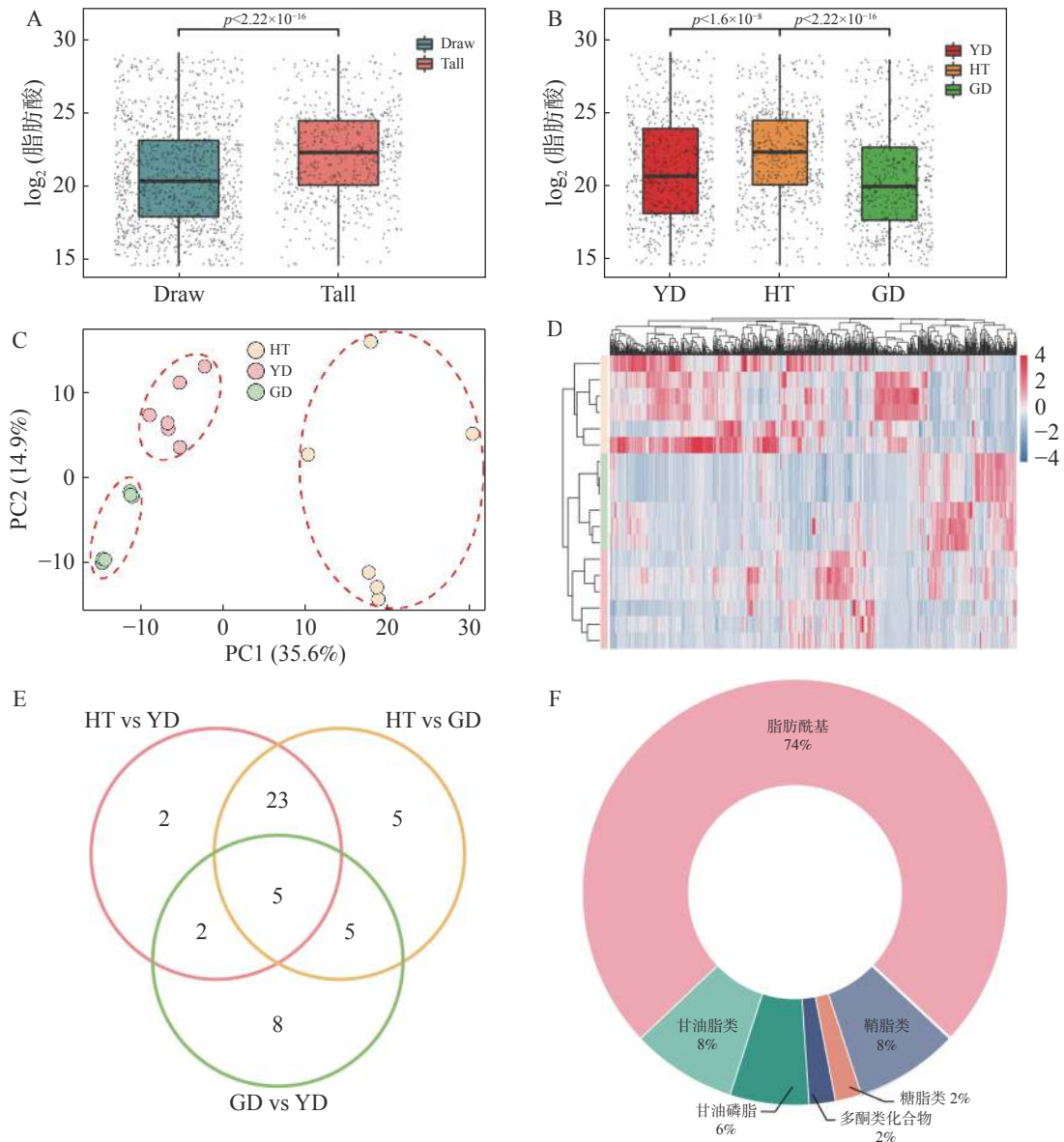


图 2 不同类型椰子品种脂质代谢组的比较

A: 高矮种椰子中的脂质含量比较。DC 表示矮种椰子, HT 表示海南高种; B: 高种、黄矮、绿矮脂质含量的比较。YD 表示黄矮椰子, HT 表示海南高种, GD 表示绿矮椰子; C: 基于脂质数据的 PCA 结果; D: 脂质数据的热图聚类结果; E: 不同类型椰子品种间差异积累的脂质数目; F: 不同类型椰子品种间差异积累的脂质类别。

2.2 不同类型椰子的转录组比较 为进一步研究不同类型椰子品种在脂质通路的转录水平是否存在差异。对代表性品种的椰肉组织进行转录组测序。为了解不同类型椰子的转录动态, 基于转录组数据进行 PCA (图 3-A)。结果表明, 绝大多数的生物学重复彼此聚集, 表明了转录数据的高可靠性。此外, 这些转录本根据样本来源聚为 3 类, 其中 PC1 捕获了 43.5% 的数据方差, 代表不同类型的椰子样本之间的差异, 这些结果均表明三者在基因的转录水平上存在较大的差异。随后对不同类型椰子品种的转录数据进行两两比较来鉴定

不同样本间的差异表达基因 (differently expressed genes, DEGs)。笔者在 HT vs YD, HT vs GD, GD vs YD 间分别鉴定到了 2 139、4 729 和 2 599 个 DEGs, 在两两比较间存在差异的基因共计 5 841 个, 在 3 个比较中都存在差异表达的基因有 384 个 (图 3-B)。为了进一步探究差异基因的分子功能及其参与的生物学途径, 对 5 841 个差异基因进行 Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) 和 Gene Ontology (GO) 富集分析, KEGG 结果表明这些差异基因主要与植物激素信号转导、植物与病原菌互作、氨基酸代谢相关 (图 3-C)。GO 富

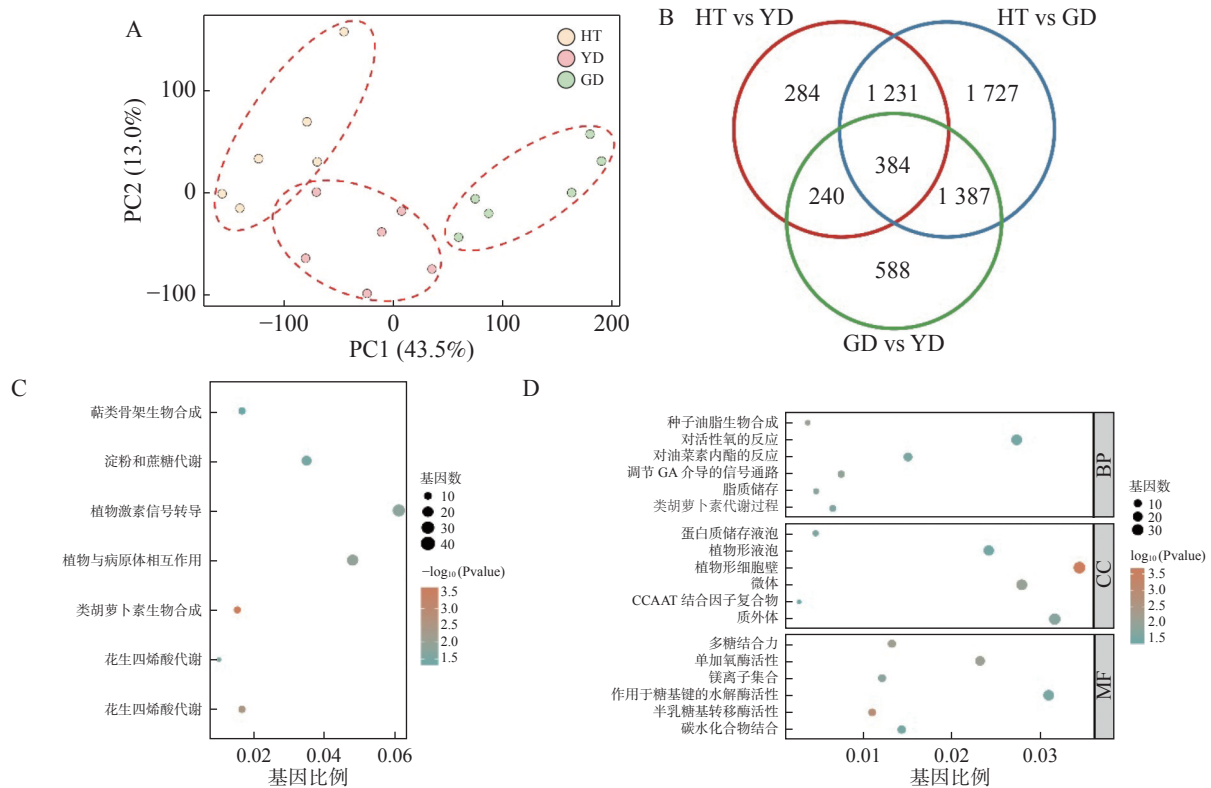


图3 不同品种椰子差异表达基因的鉴定与功能富集

A: 基于转录组数据的 PCA 结果; B: 不同类型椰子品种两两比较间的差异基因数目; C: 差异表达基因的 KEGG 富集通路; D: 差异基因的 GO 富集通路。

集分析结果也表明,不同椰子品种的表达差异主要体现在赤霉素信号通路、脂质储存和油菜素内酯响应等途径(图3-D)。

2.3 WGCNA 揭示脂肪酸合成调控网络 采用加权共表达网络分析 (weighted gene co-expression network analysis, WGCNA), 将高连接度的基因定义为基因簇, 同一簇内的基因具有较高的相关性。这些表达模式相近的基因在功能上具有相关性。根据表达模式的不同可以将 5 841 个差异基因划分为 20 个模块, 其中模块“Melightyellow”中基因的表达模式与差异脂肪酸的积累模式高度相关(图4-A)。随后对“Melightyellow”中的基因进行蛋白功能注释和功能富集, 其中参与“Fatty acid metabolism”, “Glycerolipid metabolism”, “Biosynthesis of unsaturated fatty acids”等脂肪酸相关通路的基因作为节点构建调控网络。基于保守功能结构域、蛋白功能注释和同源比对, 笔者初步预测了 13 个可能参与脂肪酸代谢的基因, 其中包括 *long chain acyl-CoA synthetase*, *glycerol-3-phosphate dehydrogenase*, *1-acyl-sn-glycerol-3-phosphate acyltransferase*, *lysophospholipid acyltransferase* 等。随

后基于基因-基因、基因-代谢物、代谢物-代谢物间的皮尔森相关系数, 结合脂肪酸代谢途径基因启动子区 *cis-elements* 的潜在结合能力, 在“Melightyellow”模块中鉴定到了 10 个转录因子, 包括 ERF, MYB 和 bHLH 等。这些转录因子与“Melightyellow”模块中鉴定的 13 个候选基因, 差异积累的脂肪酸都表现出较高的相关性(图4-B)。其中 ADH (alcohol dehydrogenase, *AZI3G0249870*) 基因参与 20-Hydroxyarachidonic acid 到 20-Oxoarachidonic acid (Cnm05349) 的合成, 而 LPCAT (lysophosphatidylcholine acyltransferase, *AZI1G0210280*) 基因的参与下与 Oleic acid 结合生成 Phosphatidylcholine (18:1/18:1, Cnm11965) (图4-C)。研究发现 20-Oxoarachidonic acid 和 Phosphatidylcholine (18:1/18:1) 在高种椰子中的含量显著高于矮种椰子(图4-D), 转录组的数据也表明, ADH 和 LPCAT 在高种椰子中有着更高的转录水平(图4-E)。为了进一步验证转录数据的可靠性, 笔者通过 qRT-PCR 证实, ADH 和 LPCAT 在高种椰子中的表达水平显著高于黄矮椰子和绿矮椰子(图4-F)。这些基因在高种椰子中的高水平表

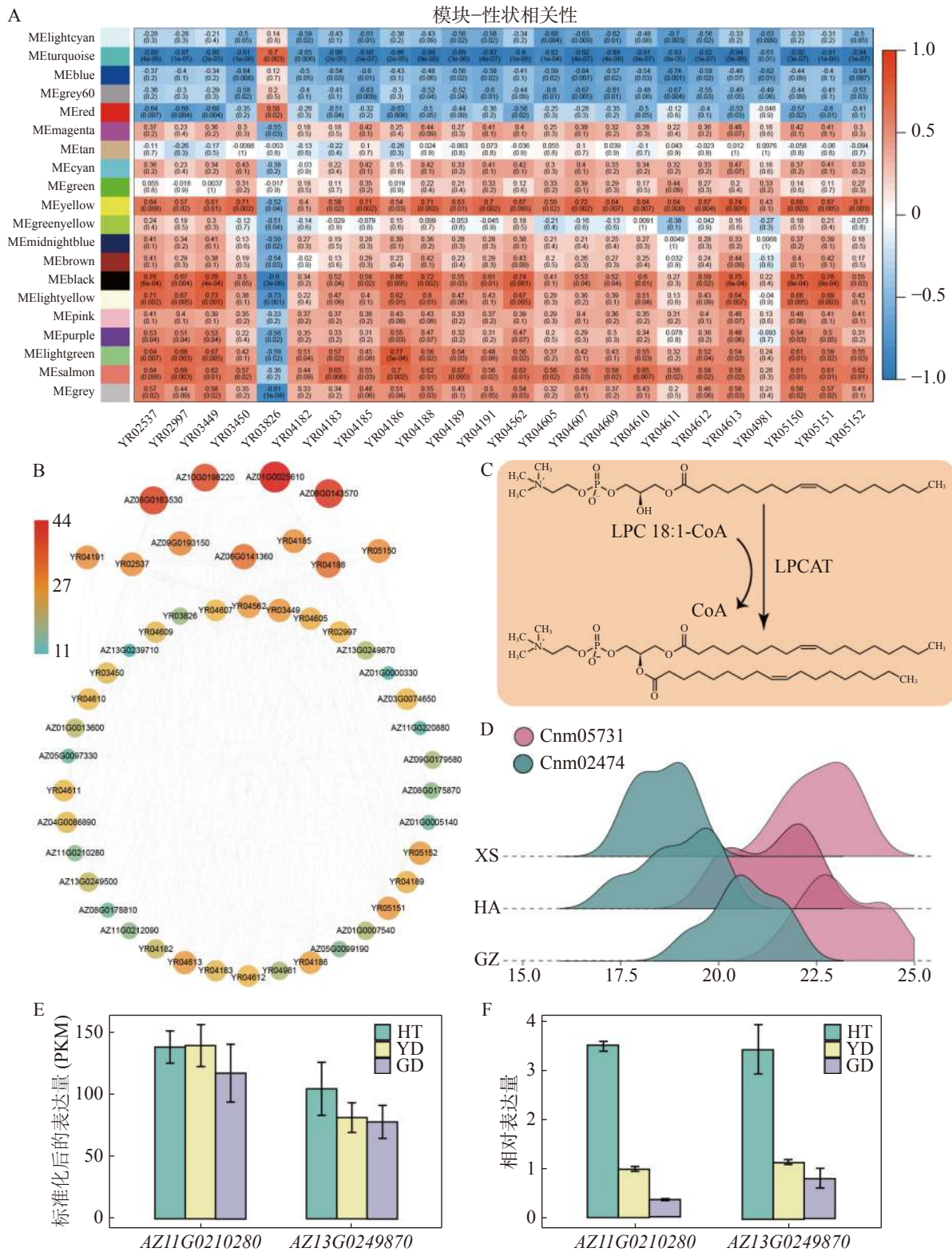


图 4 加权共表达分析鉴定与脂肪酸合成相关的基因

A: 模块基因与差异脂肪酸的相关性热图; B: “Melightyellow”模块中与脂肪酸合成相关的基因调控网络; C: LPC 18:1 在 LPCAT 基因的作用下与油酸结合生成 Phosphatidylcholine (18:1/18:1); D: 不同椰子品种中 20-Oxoarachidonic acid (Cnm05349) 和 Phosphatidylcholine (18:1/18:1) 的含量分布。HT 表示高种椰子, YD 表示黄矮椰子, GD 表示绿矮椰子; E: ADH 和 LPCAT 基因在不同椰子品种中的转录水平; F: ADH 和 LPCAT 基因的 qRT-PCR 结果。

达可能是导致高种椰子脂质含量显著高于黄矮椰子和绿矮椰子的重要原因。

2.4 椰子脂质合成途径的重建 脂质的代谢和转录数据表明高种椰子在脂质积累水平和脂质合

据相一致。亚麻酸至 9,10-Epoxy-10,12Z-octadecadienoate 途径和亚油酸至 8,9-DiHETrE 途径及亚油酸至 10-Oxo-11,15-phytodienoic acid 和 Heptadecatrienal 途径, 相关的代谢物在高种椰子中也始终表现为高积累。在代谢通路下游, 茉莉酸甲酯合成途径中的关键基因如 *AOC*、*OPR*、*JMT* 等均在高种椰子中有着更高的表达水平, 相关代谢物也在高种椰子中表现为高积累。以上结果均表明, 高种椰子椰肉中的脂肪酸含量高于矮种椰子, 这一现象产生的原因应该是脂肪酸合成通路的基因大多在高种椰子中特异性高表达。

3 讨论

本研究不仅成功构建了不同类型椰子椰肉组织的代谢数据库, 而且发现高种椰子的脂质积累水平远高于矮种椰子, 不同类型的椰子品种在脂质的积累上具有特异性。此外通过整合转录组学和代谢组学的相关数据, 发现“Melightyellow”模块与脂肪酸高度相关, 并从中鉴定到了大量参与脂肪酸合成的结构基因。笔者通过分析脂肪酸合成途径基因启动子区的 *cis*-element, 发现这些基因的启动子区存在大量的激素信号响应元件和 MYB 家族转录因子的结合位点, 这表明 MYB 家族在脂肪酸合成调控中发挥重要作用, 而且激素作为一种信号分子可能通过响应外界环境条件的变化来参与到脂肪酸的合成途径中。蜡质主要由脂肪酸和相关衍生物构成, 目前大量的研究表明, 蜡质的合成受到多种环境因素的诱导, 如干旱胁迫等^[26], ABA 等激素可以正向调控蜡质合成基因的表达^[26-27]。熊程等^[28]的研究结果表明, *MYB31* 通过调控 *CER6* 的表达, 协同调控番茄表皮蜡质的合成, 并且 *CER6* 的表达进一步受到 ABA 的诱导。鞠延仑等^[29]在葡萄中发现外源施加茉莉酸甲酯 (MeJA) 可以调控脂肪酸代谢途径的脂氧合酶, 进而对葡萄的风味造成影响。此外, 研究者鉴定到大量的参与脂质途径的 MYB 转录因子, 如 *MYB30* 和 *MYB41* 能够调控超长链脂肪酸的合成来影响棉花纤维的伸长^[30-31], *MYB96* 和 *MYB94* 能够激活蜡质合成基因的表达^[32-33], 烟草中的 *MYB12a* 能够促进脂肪酸的降解等^[34], 这些均与本研究的结果相契合。本研究通过结合共表达分析和分析脂质途径结构基因启动子区的 *cis*-

element, 对模块中可能参与脂质途径的 MYB 家族转录因子进行了进一步鉴定, 预测并构建了椰子脂肪酸途径的完整调控网络, 为后续脂肪酸途径的进一步解析提供了有力资源。本研究不仅阐明了高矮种椰子间脂肪酸差异及相关分子机制, 而且可为椰子油脂的遗传改良和高油脂椰子品种的选育提供一定的依据。

参考文献:

- [1] GUNN B F, BAUDOUIN L, OLSEN K M. Independent origins of cultivated coconut (*Cocos nucifera* L.) in the old world tropics [J]. *PLoS One*, 2011, 6(6): 1-8.
- [2] 吴翼. 椰子 SSR 分子标记的开发 [D]. 海口: 海南大学, 2008.
- [3] WANG S C, XIAO Y, ZHOU Z W, et al. High-quality reference genome sequences of two coconut cultivars provide insights into evolution of monocot chromosomes and differentiation of fiber content and plant height [J]. *Genome Biology*, 2021, 22(1): 2-25.
- [4] PERERA L, BAUDOUIN L, MACKAY I. SSR markers indicate a common origin of self-pollinating dwarf coconut in South-East Asia under domestication [J]. *Scientia Horticulturae*, 2016, 211: 255-262.
- [5] TEULAT B, ALDAM C, TREHIN R, et al. An analysis of genetic diversity in coconut populations from across the geographic range using sequence-tagged microsatellites (SSRs) and AFLPs [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2000, 100(5): 764-771.
- [6] PERERA L, RUSSELL J, PROVAN J, et al. Studying genetic relationships among coconut varieties/populations using microsatellite markers [J]. *Euphytica*, 2003, 132(1): 121-128.
- [7] KAMARAL L C, PERERA S A, PERERA K L, et al. Genetic diversity of the Sri Lanka yellow dwarf coconut form as revealed by microsatellite markers [J]. *Tropical Agricultural Research*, 2015, 26(1): 131-139.
- [8] LAURELES L, RODRIGUEZ F, REANO C, et al. Variability in fatty acid and triacylglycerol composition of the oil of coconut (*Cocos nucifera* L.) hybrids and their parents [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002, 50(6): 1581-1856.
- [9] PERERA L, RUSSELL J, PROVAN J, et al. Use of microsatellite DNA markers to investigate the level of genetic diversity and population genetic structure of coconut (*Cocos nucifera* L.) [J]. *Genome*, 2000, 43(1): 15-21.
- [10] XIAO Y, XU P, FAN H, et al. The genome draft of coconut (*Cocos nucifera* L.) [J]. *GigaScience*, 2017, 6(11): 1-11.
- [11] KUMAR S N. Variability in coconut (*Cocos nucifera* L.) germplasm and hybrids for fatty acid profile of oil [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011, 59(24): 13050-13058.

- [12] REYNOLDS K B, CULLERNE D P, EI T A, et al. Identification of genes involved in lipid biosynthesis through de novo transcriptome assembly from *Cocos nucifera* developing endosperm [J]. *Plant Cell Physiology*, 2019, 60(5): 945 – 960.
- [13] BABU A S, VELUSWAMY S K, ARENA R, et al. Virgin coconut oil and its potential cardioprotective effects [J]. *Postgraduate Medicine*, 2014, 126(7): 76 – 83.
- [14] MA Z F, LEE Y Y. Virgin coconut oil and its cardiovascular health benefits [J]. *Natural Product Communications*, 2016, 11(8): 1151 – 1152.
- [15] BURDOCK G A, CARABIN I G. Safety assessment of myristic acid as a food ingredient [J]. *Food Chemical Toxicology*, 2007, 45(4): 517 – 529.
- [16] HENRY G, MOMIN R, NAIR M, et al. Antioxidant and cyclooxygenase activities of fatty acids found in food [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002, 50(8): 2231 – 2234.
- [17] KHALIL A S M, GIRIBABU N, YELUMALAI S, et al. Myristic acid defends against testicular oxidative stress, inflammation, apoptosis: Restoration of spermatogenesis, steroidogenesis in diabetic rats [J]. *Life Sciences*, 2021, 278: 119605.
- [18] FAMUREWA A C, MADUAGWUNA E K, FOLAWIYO A M, et al. Antioxidant, anti-inflammatory, and antiapoptotic effects of virgin coconut oil against antibiotic drug gentamicin-induced nephrotoxicity via the suppression of oxidative stress and modulation of iNOS/NF- κ B/caspase-3 signaling pathway in Wistar rats [J]. *Journal of Food Biochemistry*, 2020, 44(1): 1 – 10.
- [19] ILLAM S, NARAYANANKUTTY A, RAGHAVAMENON A. Polyphenols of virgin coconut oil prevent pro-oxidant mediated cell death [J]. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 2017, 27(6): 442 – 450.
- [20] NAIRS S, MANALIL J, RAMAVARMA S, et al. Virgin coconut oil supplementation ameliorates cyclophosphamide induced systemic toxicity in mice [J]. *Human & Experimental Toxicology*, 2016, 35(2): 205 – 212.
- [21] LAW K, AZMAN N, OMAR E, et al. The effects of virgin coconut oil (VCO) as supplementation on quality of life among breast cancer patients [J]. *Lipids in Health and Disease*, 2014, 13: 139.
- [22] FAMUREWA A C, AJA P M, NWANKWO O E, et al. *Moringa oleifera* seed oil or virgin coconut oil supplementation abrogates cerebral neurotoxicity induced by antineoplastic agent methotrexate by suppression of oxidative stress and neuro-inflammation in rats [J]. *Journal of Food Biochemistry*, 2019, 43(3): e12748.
- [23] VERMA P, NAIK S, NANDA P, et al. In vitro anticancer activity of virgin coconut oil and its fractions in liver and oral cancer cells [J]. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 2019, 19(18): 2223 – 2230.
- [24] DEEN A, VISVANATHAN R, WICKRAMARACHI D, et al. Chemical composition and health benefits of coconut oil: an overview [J]. *Journal of The Science of Food and Agriculture*, 2021, 101(6): 2182 – 2193.
- [25] KUNST L, SAMUELS L. Plant cuticles shine: advances in wax biosynthesis and export [J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2009, 12(6): 721 – 727.
- [26] MACKOVA J, VASKOVA M, MACEK P, et al. Plant response to drought stress simulated by ABA application: Changes in chemical composition of cuticular waxes [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2013, 86: 70 – 75.
- [27] MARTIN L B, ROMERO P, FICH E A, et al. Cuticle biosynthesis in tomato leaves is developmentally regulated by abscisic acid [J]. *Plant Physiology*, 2017, 174(3): 1384 – 1398.
- [28] XIONG C, XIE Q, YANG Q, et al. WOOLLY, interacting with MYB transcription factor MYB31, regulates cuticular wax biosynthesis by modulating CER6 expression in tomato [J]. *Plant Journal*, 2020, 103(1): 323 – 337.
- [29] JU Y L, LIU M, ZHAO H, et al. Effect of exogenous abscisic acid and methyl jasmonate on anthocyanin composition, fatty acids, and volatile compounds of cabernet sauvignon (*Vitis vinifera* L.) grape berries [J]. *Molecules*, 2016, 21(10): 1354.
- [30] KOSMA D K, MURMU J, RAZEQ F M, et al. AtMYB41 activates ectopic suberin synthesis and assembly in multiple plant species and cell types [J]. *The Plant Journal*, 2014, 80(2): 216 – 229.
- [31] RAFFAELE S, VAILLEAU F, LEGER A, et al. A MYB transcription factor regulates very-long-chain fatty acid biosynthesis for activation of the hypersensitive cell death response in *Arabidopsis* [J]. *The Plant Cell*, 2008, 20(3): 752 – 767.
- [32] SEO P, PARK C. Cuticular wax biosynthesis as a way of inducing drought resistance [J]. *Plant signaling & behavior*, 2011, 6(7): 1043 – 1045.
- [33] LEE S B, SUH M C. Cuticular wax biosynthesis is up-regulated by the MYB94 transcription factor in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell Physiology*, 2015, 56(1): 48 – 60.
- [34] WANG Z, LI Z F, WANG S S, et al. NtMYB12a acts downstream of sucrose to inhibit fatty acid accumulation by targeting lipoxygenase and SFAR genes in tobacco [J]. *Plant Cell Environment*, 2021, 44(3): 775 – 791.
- [35] SUN Y, SONG K, LIU L, et al. Sulfoquinovosyl diacylglycerol synthase impairs glycolipid accumulation and photosynthesis in phosphate deprived rice [J]. *Journal Experimental Botany*, 2021, 72(18): 6510 – 6523.
- [36] BI F C, LIU Z, WU J X, et al. Loss of ceramide kinase in *Arabidopsis* impairs defenses and promotes ceramide accumulation and mitochondrial H₂O₂ bursts [J]. *The Plant Cell*, 2014, 26(8): 3449 – 3467.

- [37] SAUCEDO G M, GARCIA A, GONZALEZ S A, et al. MPK6, sphinganine and the LCB2a gene from serine palmitoyltransferase are required in the signaling pathway that mediates cell death induced by long chain bases in *Arabidopsis* [J]. *New Phytologist*, 2011, 191(4): 943 – 957.
- [38] LIANG H, YAO N, SONG J T, et al. Ceramides modulate programmed cell death in plants [J]. *Genes Development*, 2003, 17(21): 2636 – 2641.

Elucidation of the fatty acid regulatory network for different coconut varieties by integrating transcriptome and metabolome

DENG Yuan, LAI Jun, MAO Mengdi, ZHANG Yueran,

LI Chun, YANG Jun, WANG Shouchuang, LUO Jie

(College of Tropical Crops/ Hainan Key Laboratory of Sustainable Utilization of Tropical Biological Resources, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China)

Abstract: Coconut (*Cocos nucifera* L.), as an important oil crop, is one of the sources of high-quality vegetable oil in the world. In order to explore the differences of lipid species and their contents in different types of coconuts, non-targeted metabolomics method was used to analyze the metabolites in coconut meat tissue of tall and dwarf coconuts in Hainan. A total of 12 579 metabolic signals were detected, among which 564 metabolites were identified, including fatty acids, amino acids, and flavonoids, etc. Quantitative analysis showed that the lipid content of tall coconut was generally higher than that of dwarf coconut, and that the lipid content of green dwarf coconut was the lowest. Glycerolipids, sphingolipids and fatty acylides were the main differentiating substances in different types of coconuts. Transcriptome data showed that the differential genes in three types of coconuts were mainly involved in fatty acid metabolism, α -linolenic acid metabolism, lignin metabolism and phenylpropane metabolism. The differential genes were divided into 20 modules based on expression patterns, among which "Melightyellow" module was highly correlated with differential accumulation of fatty acids. Analysis of the *cis*-elements in the promoter regions of lipid pathway structural genes in the module showed that there were multiple MYB family transcription factors binding sites and a large number of hormone signal response elements. These results suggested that MYB transcription factors may play an important role in the regulation of lipid synthesis, and that hormones may be involved in the regulation of lipid synthesis as signaling molecules. In this study, the molecular mechanism of lipid differences in meat tissues of different coconut varieties was analyzed through a combination strategy, and a synthetic regulatory network of transcription factors-structural genes-metabolites was further constructed. This study not only provided resources for the subsequent analysis of the molecular mechanism of lipid synthesis regulation, but also provided a basis for the breeding of high-fat coconut varieties.

Keywords: coconut; metabolome; transcriptome; WGCNA; lipid

(责编委: 罗启香 责任编辑: 钟云芳)