

不同品种油橄榄果油脂品质差异形成的转录组学分析

苗 欣¹, 马君义¹, 张宏杰¹, 缪 欣¹, 耿银鑫¹, 贺清艳¹, 孔维宝¹, 邓 煜²

(1. 西北师范大学 生命科学学院, 兰州 730070; 2. 陇南市经济林研究院 油橄榄研究所, 甘肃 武都 746000)

摘要:为从基因水平研究不同品种油橄榄果油脂品质差异及其差异基因的代谢通路,以甘肃省陇南市两个油橄榄品种‘城固-32’和‘奇迹’第4成熟度果实为材料,分析两个品种油橄榄果油脂组成成分与理化性质差异,在此基础上,运用RNA-seq技术进行转录组分析,确定不同品种油橄榄果油脂品质形成差异的关键表达基因和相关代谢通路。结果表明:‘城固-32’和‘奇迹’油脂脂肪酸组成及含量、总酚和总黄酮含量、酸值和过氧化值有明显差异,在品质上表现为‘奇迹’优于‘城固-32’;两个品种油橄榄共筛选出10 114条差异基因,这些差异基因与核苷酸合成、代谢和生物调节相关的通路有关,主要在代谢途径、次生代谢产物生物合成途径中富集;差异基因在光合作用、碳固定代谢、谷胱甘肽代谢、细胞色素P450代谢通路中的上调或下调对油橄榄果油脂差异的形成具有重要作用。

关键词:油橄榄;转录组;油脂;品质;基因

中图分类号:TS222+.1;Q946.4 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2023)10-0071-07

Transcriptomic analysis on the formation of oil quality differences in olive fruit of different varieties

MIAO Xin¹, MA Junyi¹, ZHANG Hongjie¹, MIU Xin¹, GENG Yinxin¹,
HE Qingyan¹, KONG Weibao¹, DENG Yu²

(1. College of Life Science, Northwest Normal University, Lanzhou 730070, China; 2. Olive Research Institute, Longnan Economic Forest Research Institute, Wudu 746000, Gansu, China)

Abstract: In order to investigate the differences in olive fruit oil quality among different varieties at the gene level and the metabolic pathways of their differential genes, forth mature fruits of two olive varieties of ‘Chenggu-32’ and ‘Koroneiki’ taken from Longnan, Gansu province were used as materials, and the differences in oil composition and physicochemical properties of olive fruits of two varieties were studied, then RNA-seq technology was used to analyze the transcriptomes to explore the key expression genes and their metabolic pathways with the differences in the quality of olive oil from different varieties. The results showed that there were obvious differences between ‘Chenggu-32’ and ‘Koroneiki’ in fatty acid composition and content, total phenol and total flavonoid contents, acid value and peroxide value, and the oil quality of ‘Koroneiki’ was superior to ‘Chenggu-32’. 10 114 differential genes were screened in the two olives. These differential genes were associated with pathways related to nucleotide synthesis, metabolism and bioregulation, mainly were rich in the metabolic pathways and secondary metabolite

biosynthesis pathways. The differential expressed genes significantly up-regulated or down-regulated in the pathways of photosynthesis, carbon fixation metabolism, glutathione metabolism and cytochrome P450 metabolism were important to the formation of differences in olive oil.

Key words: olive; transcriptome; oil; quality; gene

收稿日期:2022-06-10;修回日期:2023-07-13

基金项目:甘肃省基础研究创新群体计划项目(1506RJIA116);西北师范大学2022年重大科研项目培育计划(NWNU-LKZD2022-02)

作者简介:苗欣(1995),女,硕士研究生,研究方向为植物化学与资源利用(E-mail)miaoxin_12@163.com。

通信作者:马君义,教授,硕士生导师,博士(E-mail)skymjy@nwnu.edu.cn。

油橄榄 (*Olea europaea* L.) 是最早用于生产油料的木本植物之一, 在地中海沿岸国家分布广泛^[1]。由于橄榄油的营养成分和商业价值, 许多国家都在大力发展油橄榄产业^[2]。经常食用橄榄油可以减少冠心病, 预防癌症、炎症和退行性疾病等^[3-4], 这与橄榄油的脂肪酸组成、多酚及其他次级代谢产物有关, 但因栽培品种不同, 其基因表达模式、组成成分也存在差异, 进而在品质上表现出优劣^[5]。

目前, 国外在油橄榄基因组方面做了许多研究, 如: Galla 等^[6]提取‘莱星’油橄榄果实, 的 mRNA 构建了杂交文库, 分析发现约 60% 的克隆与已知蛋白具有相似性; Cruz 等^[7]对油橄榄使用全基因组鸟枪测序, 获得了 1.3 Gb 的基因组, 占预估基因组长度的 95%。国内近几年在油橄榄转录组方面也做了一些研究, 如: Rao 等^[8-9]研究了油橄榄果实和叶片中多酚生物合成相关基因, 利用第三代测序和 Hi-C 技术获得了更加完善的基因组; 耿树香等^[10]对‘佛奥’和‘鄂植 8 号’油橄榄果实进行转录组测序, 筛选出 208 个与油脂合成相关的基因。但目前关于不同品种油橄榄中与油脂组成相关的表达基因及其代谢通路的研究鲜有报道。本文以我国油橄榄最适生长区甘肃省陇南市栽培的‘城固-32’和‘奇迹’两个品种油橄榄果实为研究对象, 通过油脂品质与转录组学研究, 对不同品种的油橄榄基因表达模式和调控途径进行解析, 以期为橄榄油品质的研究及优质油橄榄的选育提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 原料与试剂

不同成熟度‘城固-32’(CG)和‘奇迹’(QJ)油橄榄果实, 采摘于陇南市经济林研究院油橄榄研究所大堡种质资源基因库(33°24'03" N, 104°53'30" E, 海拔 1 036 ~ 1 048 m), 用去离子水冲洗后立即在 -80 °C 液氮中冷冻储存, 备用。

10 种脂肪酸甲酯混标 (C₁₆ ~ C₂₂), 美国 Nu - Chek - Prep 公司; 芦丁对照品 (批号 AB015R, 纯度 ≥98%), 天津一方科技有限公司; 没食子酸对照品 (批号 BW5007, 纯度 99.9%), 北京坛墨质检科技有限公司; 无水乙醇、甲醇、氢氧化钠、石油醚 (30 ~ 60 °C)、福林酚、三氯化铝、碳酸钠等均为分析纯; 实验用水为去离子水; Trizol 试剂, 广州美基生物科技有限公司; RNA 提取试剂盒, 美国 Agilent Technologies 公司; RNA 样品准备试剂盒, 武汉爱博泰克生物科技有限公司; AMPure XP 核酸纯化试剂

盒, 美国 Beckman Coul 公司; 氯仿、异丙醇, 均为分析纯, 国药集团化学试剂有限公司。

1.1.2 仪器与设备

荧光定量 PCR 仪, 德国 Analytik Jena 公司; Trace 1300 ISQ 型气相色谱 - 质谱联用仪、Nanodrop ND - 2000 超微量紫外分光光度计, 美国 Thermo Fisher Scientific 公司; Qubit 4.0 荧光定量仪, 美国 Life Invitrogen 公司; Agilent 4150 自动化电泳系统, 美国 Agilent Technologies 公司; 高速冷冻离心机、微量移液器, 德国 Eppendorf 公司; 凝胶成像分析系统、核酸电泳仪, 上海天能科技有限公司; MC2 型 Abencor 橄榄分析系统, 西班牙 Ingenieria 公司; T960 型全自动电位滴定仪, 济南海能仪器股份有限公司。

1.1.3 生物信息学分析平台

测序平台, Illumina Novaseq 6000/MGISEQ - T7; 参考基因组比对软件, HISAT2 软件 (<http://daehwankimlab.github.io/hisat2/>); 表达量分析软件, FeatureCounts (<http://subread.sourceforge.net/>); 基因表达差异分析软件, DESeq2 (<http://bioconductor.org/packages/release/bioc/html/DESeq2.html>); 富集分析, GO (Gene Ontology) 分析 (<http://geneontology.org/>) 和 KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) 通路分析 (<http://www.kegg.jp/>)。

1.2 实验方法

1.2.1 理化指标的测定

参考文献[11]的方法测定油橄榄鲜果含油率, 橄榄油脂肪酸组成与含量、总酚及总黄酮含量; 参照 GB 5009. 229—2016 测定橄榄油酸值; 参照 GB 5009. 227—2016 测定橄榄油过氧化值。

1.2.2 RNA 提取、建库和转录组测序

每个品种取 15 颗果实, 去核后研磨混匀, 分 3 组进行转录组测定 (每个样本 3 组重复)。首先对 RNA 进行提取, 提取样品经检测合格后用带有 Oligo (dT) 的磁珠富集 mRNA, 随后加入 fragmentation buffer 将 mRNA 进行随机打断。以 mRNA 为模板, 用六碱基随机引物 (random hexamers) 合成 cDNA 第一链, 然后加入缓冲液、dNTPs 和 DNA polymerase I 合成 cDNA 第二链, 随后利用 AMPure XP beads 纯化双链 cDNA。纯化的双链 cDNA 再进行末端修复、加 A 尾并连接测序接头, 然后用 AMPure XP beads 进行片段大小选择, 最后进行 PCR 富集得到最终的 cDNA 文库。文库构建好以后, 对文库的插入片段长度和有效浓度进行检测, 以保证文库质量。库检

合格后进行测序。总 RNA 提取、建库和转录组测序均委托上海中科新生命生物科技有限公司进行。

1.2.3 测序数据处理

为了保证后续分析的质量,去除原始数据(raw reads)的接头序列,过滤掉低质(碱基质量值 ≤ 25 的碱基数占整个 reads 60%以上的)和无法确定碱基信息(N)比例大于5%的 reads,获得质控后读数(clean reads),对其进行质量可靠性评价,再使用 HISAT2 软件将 clean reads 与参考基因组(http://plants.ensembl.org/Olea_europaea/Info/Index)进行序列比对,获取其在参考基因组上的位置信息。

1.2.4 基因表达差异分析

利用 FeatureCounts 软件计算出每个基因在各个样本中的表达量 FPKM 值,用于比较不同样品间的基因表达差异。使用 DESeq2 对‘城固-32’和‘奇迹’的 read counts 数据进行基因的差异表达分析,鉴定出两个样本之间表达的差异基因,利用 GO 和 KEGG 富集分析,解释差异基因的功能富集,并在基因的功能水平上阐明样本之间的差异。在 GO 和 KEGG 富集分析时,当 $p < 0.05$ 时,认为该 GO 条目或 KEGG 途径具有显著差异。

RNA-seq 中的差异基因分析是对大量的基因进行独立的统计假设检验,会导致总体假阳性偏高,因此在进行差异分析时,对原有假设检验得到的 p 值进行校正,将 $p_{\text{adjust}} \leq 0.05$ 、 $|\log_2 \text{foldchange}| > 1$ 作为差异显著性标准。

2 结果与分析

2.1 油橄榄果实现理化性质

图1为不同成熟度两个品种油橄榄鲜果含油率。

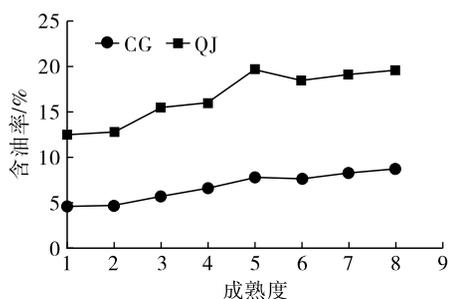
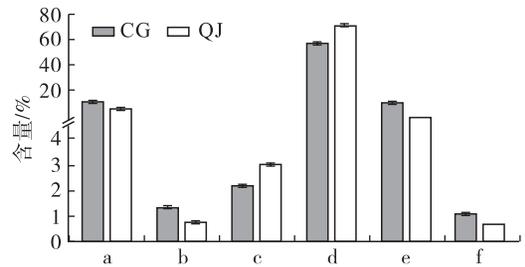


图1 ‘城固-32’和‘奇迹’的鲜果含油率

由图1可看出,‘奇迹’的含油率明显高于‘城固-32’,且当果实处于第4成熟度时,两个品种油橄榄果油脂积累速度明显加快,表明此时油橄榄果内物质代谢活跃,正进行大量的脂肪酸合成与转化。因此,以第4成熟度油橄榄果为原料进行后续分析。

两个品种油橄榄果第4成熟度油脂的脂肪酸组

成、总酚和总黄酮含量以及酸值和过氧化值测定结果分别见图2~图4。



注:a. 棕榈酸;b. 十七碳一烯酸;c. 硬脂酸;d. 油酸;e. 亚油酸;f. 亚麻酸

图2 ‘城固-32’和‘奇迹’第4成熟度油脂的脂肪酸组成

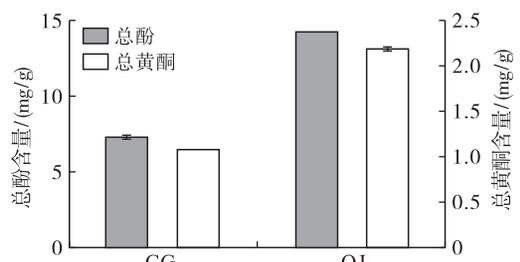


图3 ‘城固-32’和‘奇迹’第4成熟度油脂的总酚和总黄酮含量

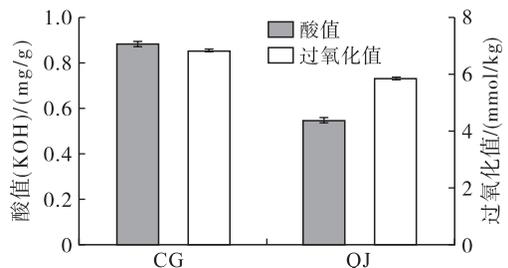


图4 ‘城固-32’和‘奇迹’第4成熟度油脂的酸值和过氧化值

由图2~图4可看出,‘奇迹’的油酸含量、总酚和总黄酮含量均高于‘城固-32’,且其酸值和过氧化值低于‘城固-32’。油酸含量是橄榄油品质的评价指标之一,油酸含量越高,橄榄油品质越好;酸值和过氧化值则能反映油脂品质和氧化酸败程度,其值越大,酸败程度越高,品质越差^[12]。因此,就理化性质而言,‘奇迹’的油脂品质优于‘城固-32’的。

2.2 测序数据质量评价

按1.2.2方法进行‘城固-32’和‘奇迹’的RNA提取、建库和转录组测序,对二者所测得的转录组数据进行质量评估对比。结果发现:两个样本质控后平均分别得到44 904 251和43 863 698条 clean reads;Q20 碱基百分比均在97%以上,Q30 碱基百分比在92%以上,GC 碱基百分比在44%以上(见表1)。这些结果表明,测序数据质量结果可靠,可用于进一步分析。

表1 ‘城固-32’和‘奇迹’转录组测序数据统计

样本	raw reads	clean reads	碱基百分比/%		
			Q20	Q30	GC
CG-1	48 745 512	48 500 362	97.37	92.35	44.09
CG-2	44 175 398	43 956 844	97.48	92.55	44.08
CG-3	42 480 626	42 255 548	97.44	92.51	44.10
QJ-1	45 625 878	45 374 684	97.37	92.32	44.06
QJ-2	44 240 584	43 995 574	97.44	92.47	44.06
QJ-3	42 438 312	42 220 838	97.61	92.86	44.02

注:Q20、Q30 碱基百分比. 碱基质量值大于 20、30 的碱基占总体碱基的百分比;GC 碱基百分比. 碱基 G 和 C 的数量总和占总碱基数量的百分比。Q20 碱基百分比大于 90%,Q30 碱基百分比大于 80%,GC 碱基百分比在 40%~60% 之间则证明测序结果可靠

2.3 与参考基因组比对分析和表达水平分析

将 clean reads 与油橄榄基因组 *Olea europaea* 进行序列比对,结果如表 2 所示。由表 2 可看出:‘城固-32’能定位到基因组上的测序序列的数量比例均在 85% 以上,‘奇迹’在 82% 以上;在参考序列上有多个比对位置的序列数量比例全都低于 10%;两个品种在参考序列上有唯一比对位置的测序序列的数量比例都在 77% 以上;‘城固-32’整段 reads 比对到参考基因组上的数量比例不低于 45%,‘奇迹’

的不低于 42%;total mapped 中,分段比对到两个外显子上的测序序列数量比例‘城固-32’在 35.8% 左右,‘奇迹’在 34.7% 左右。

基因表达水平直接体现其转录本的丰度情况,转录本丰度越高,基因表达水平越高。利用 FeatureCounts 软件计算每个基因在各个样本中的表达量 FPKM 值,对两个样品间的基因表达差异进行比较,结果发现,‘奇迹’整体基因的表达水平高于‘城固-32’。

表2 clean reads 与参考基因组比对情况

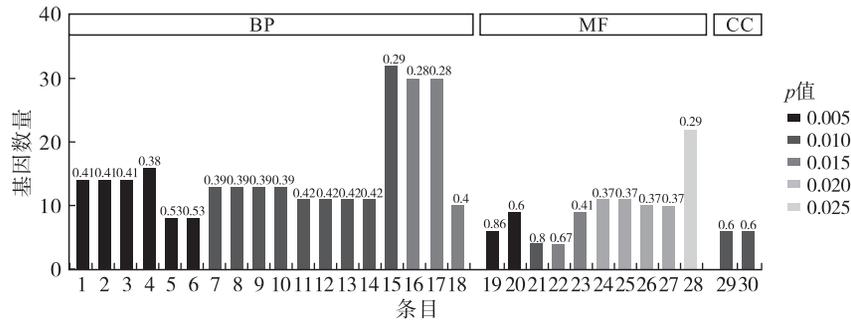
样品	clean reads	total mapped/%	multiple mapped/%	unique mapped/%	non-splice reads/%	splice reads/%
CG-1	48 500 362	85.77	4.85	80.91	45.08	35.83
CG-2	43 956 844	85.89	4.87	81.02	45.20	35.82
CG-3	42 255 548	85.82	4.88	80.95	45.18	35.77
QJ-1	45 374 684	82.78	5.63	77.15	42.39	34.75
QJ-2	43 995 574	82.81	5.55	77.26	42.57	34.68
QJ-3	42 220 838	82.90	5.54	77.37	42.62	34.75

注:total mapped 为能定位到基因组上的测序序列的数量统计(reads 占 total clean reads 的比例,应大于 70%);multiple mapped 为在参考序列上有多个比对位置的测序序列的数量统计(应小于 10%);unique mapped 为在参考序列上有唯一比对位置的测序序列的数量统计;non-splice reads 为整段 reads 比对到参考基因组上的数量统计;splice reads 为 Total mapped 中,分段比对到两个外显子上的测序序列的统计

2.4 差异基因 GO 注释

将所有的差异表达基因进行 GO 注释,从参与的生物过程(Biological Process, BP)、分子功能(Molecular Function, MF)和细胞组分(Cellular Component, CC)3 个方面进行差异基因和差异基因表达产物的分析。本研究在 GO 的二级分类上只展示最显著的前 30 个功能条目(见图 5),其中,在 BP 中富集的功能条目最多(18 条),其次为 MF(10 条),最后为 CC(2 条)。在 BP 中,最具代表性的是核苷酸生物合成过程、含嘌呤化合物的生物合成过程、有机磷酸盐生物合成过程、类异戊二烯代谢过程

(萜类物质)、有机环状化合物生物合成过程、杂环化合物生物合成过程、芳香族化合物生物合成过程和三磷酸腺苷(ATP)生物合成过程。在 MF 方面,主要与具有转运、激酶和各种具有酶活性的蛋白有关,其中,在辅因子结合条目下富集的差异基因数目最多,为 22 条。CC 中富集的功能条目则主要与过氧化物酶体和微体有关。在检测到的总的 GO 注释结果中,有 53 个条目与上调基因有关,59 个条目与下调基因有关。GO 注释结果揭示了‘城固-32’和‘奇迹’两个油橄榄品种在第 4 成熟度时基因表达的差异,主要与核苷酸合成、代谢和生物调节相关的通路有关。



注:1. 核苷酸生物合成过程;2. 含嘌呤化合物的生物合成过程;3. 磷酸核苷生物合成过程;4. 有机磷酸盐生物合成过程;5. 类异戊二烯代谢过程;6. 类异戊二烯生物合成过程;7. 嘌呤核苷酸生物合成过程;8. 嘌呤核糖核苷酸生物合成过程;9. 核糖核苷酸生物合成过程;10. 磷酸核糖生物合成过程;11. 三磷酸核苷生物合成过程;12. 嘌呤核苷三磷酸生物合成过程;13. 三磷酸核糖核苷生物合成过程;14. 嘌呤核糖核苷三磷酸生物合成过程;15. 有机环状化合物生物合成过程;16. 杂环生物合成过程;17. 芳香族化合物生物合成过程;18. ATP 生物合成过程;19. 质子输出 ATP 酶活性;20. 血红素结合;21. 质子输出 ATP 酶活性, 磷酸化机制;22. 转移酶活性, 转移酰基;23. 四吡咯结合;24. 初级主动跨膜转运蛋白活性;25. P - P - 键 - 水解 - 驱动的跨膜;26. ATP 酶活性;27. ATP 酶活性, 与物质的运动相结合;28. 辅因子结合;29. 过氧化物酶体;30. 微体。柱状图上数字为富集因子

图 5 差异基因 GO 富集柱状图

2.5 KEGG 富集分析

对差异基因进行 KEGG 途径富集分析。图 6

为差异基因 KEGG 富集的前 20 条途径的气泡图。

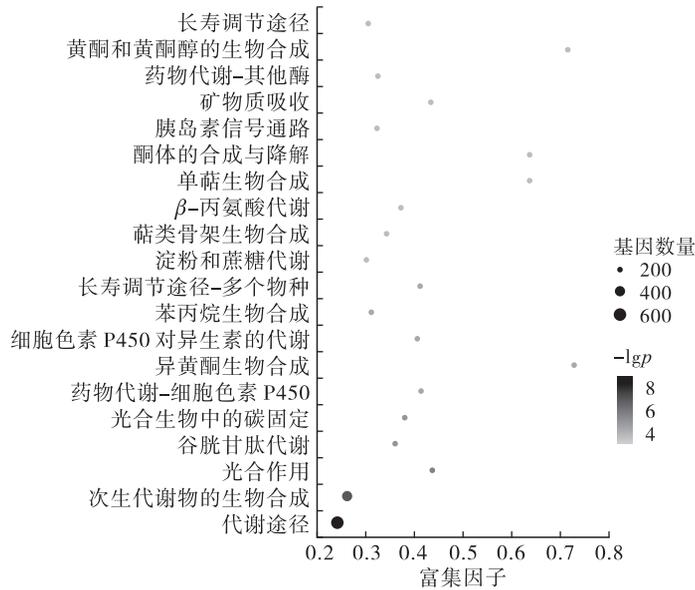


图 6 差异基因 KEGG 富集气泡图

从图 6 可以看出:富集最显著的 3 条途径分别为代谢途径、次生代谢物的生物合成和光合作用;其中富集到代谢途径的差异基因数量最多,其次为次生代谢物的生物合成途径。在 KEGG 中查询分析这 3 条途径的相关信息发现,富集到这 3 条途径的差异基因主要与碳水化合物代谢、脂肪酸生物合成、脂肪酸链的延伸以及次生代谢产物相关的特定代谢或生物合成有关。通过 KEGG 进一步分析发现,与脂肪酸生物合成途径有关的差异表达基因主要富集在三酰甘油(TG)合成过程中,此时的关键步骤是脂肪酸链的延伸,主要在内质网中(Map:00093)进行,这与 Conde 等^[13]报道的一致;另外,在 β - 氧化

(Map:00861)过程中也富集有差异表达基因,β - 氧化主要生成乙酰辅酶 A 和脂肪酰辅酶 A,为脂肪酸的合成提供底物。在 KEGG 分析中,对次生代谢物合成途径分析表明,差异表达基因主要富集在黄酮类化合物(Map:00138)和萜类化合物(Map:00095)生物合成中,萜类化合物合成途径以甲羟式戊酸途径(Map:00095)为主。与光合作用有关的碳固定组分、蔗糖代谢组分同样受到调控,糖酵解(Map:00002)、糖异生(Map:00003)、磷酸戊糖途径(Map:00165)和蔗糖代谢相关的大多数酶都发生了相应变化。此外,差异表达基因在一些植物激素相关的生物合成途径中有所富集,如赤霉素(Map:00928)、

乙烯 (Map:00368)、脱落酸 (Map:00372) 和茉莉酸 (Map:00113)。

2.6 差异表达基因分析

对‘城固-32’和‘奇迹’中的差异表达基因进行比较分析,以 $p_{\text{adjust}} \leq 0.05$ 和 $|\log_2 \text{foldchange}| > 1$ 作为筛选条件,共筛选到 10 114 条差异基因,其中包括上调基因 4 619 条,下调基因 5 495 条。为进一步解析两个品种间差异形成的原因,对筛选到的主要差异基因进行分析。结果表明:共有 736 条差异基因在代谢途径中表达,包括 375 条上调基因,361 条下调基因;有 427 条差异基因在次生代谢物生物合成途径中表达,其中 211 条上调基因,216 条下调基因。

光合作用形成的糖是油橄榄中果皮生长和脂质合成的重要物质基础^[14],在与光合作用、碳固定相关的代谢反应中,差异基因整体表现为下调(光合作用 39 条,碳固定 21 条),无上调基因,这可能是因为‘奇迹’已经为油脂的迅速累积储存了足够的糖,而‘城固-32’正处在糖积累阶段,因而差异基因整体表现为下调,这些差异表达基因可能正是品种间含油率、油脂脂肪酸组成不同的关键所在。此外,在谷胱甘肽代谢中,我们发现了 19 条下调基因,30 条上调基因,谷胱甘肽作为一种小分子抗氧化物质,在植物的低温胁迫保护等方面起着重要作用^[15],所以‘奇迹’的耐冷性可能高于‘城固-32’。

研究还发现,与药物代谢-细胞色素 P450 相关的代谢过程中有 17 条上调基因富集,无下调基因。细胞色素 P450 是一种生物催化酶,参与脂质代谢^[16-17]、植物内源激素的合成与降解^[18]、次生代谢产物的合成等多种反应^[19];萜类、酚类、黄酮类等天然药用活性物质的合成与细胞色素 P450 有关^[20]。由橄榄油理化指标分析可知,‘奇迹’的总酚和总黄酮含量高于‘城固-32’,GO 和 KEGG 分析指出差异表达基因在萜类物质合成过程中有所富集,所以推测,细胞色素 P450 代谢途径可能是油橄榄品种间次生代谢产物含量形成差异的一条重要通路,而这 17 条基因正是橄榄油酚类、黄酮类等物质存在差别的关键原因之一。对这 17 条差异基因进行深入分析将为油橄榄次生代谢产物的研究提供新的思路。

3 结论

本研究以‘城固-32’和‘奇迹’油橄榄鲜果为原材料,对其第 4 成熟度的果实进行油脂理化指标和转录组分析,确定了两个品种油橄榄果油脂形成差异的相关代谢途径和差异表达基因。分析表明,在第 4 成熟度时两个品种油橄榄果油脂脂肪酸组成

及含量、总酚和总黄酮含量以及酸值和过氧化值上表现出明显差异,在品质上表现为‘奇迹’优于‘城固-32’。通过转录组分析,获得了 10 114 条差异基因,这些差异基因主要在代谢途径、次生代谢物生物合成途径中富集,与核苷酸合成、代谢和生物调节有关。差异表达基因在光合作用、碳固定相关代谢途径、谷胱甘肽代谢、细胞色素 P450 代谢通路中明显的上调或下调,对油橄榄果油脂差异的形成具有重要作用。

参考文献:

- [1] MUNOZ-MERIDA A, GONZALEZ-PLAZA J J, CANADA A, et al. De novo assembly and functional annotation of the olive (*Olea europaea*) transcriptome[J]. DNA Res, 2013, 20(1): 93-108.
- [2] SU C, SUN J, ZHU W, et al. History, distribution, and potential of the olive industry in China: a review[J]. Sustainability, 2018, 10(5):1426-1445.
- [3] WANG Y J, YU L, ZHU Y, et al. Chemical profiles of twenty-three monovarietal olive oils produced in Liangshan Region of China[J]. J Oleo Sci, 2020, 69(6): 605-615.
- [4] FRANKEL E N. Nutritional and biological properties of extra virgin olive oil[J]. J Agric Food Chem, 2011, 59(3): 785-792.
- [5] 郭永跃, 马君义, 后春静, 等. 陇南 3 个品种油橄榄果实品质比较分析[J]. 中国油脂, 2021, 46(1): 121-127.
- [6] GALLA G, BARCACCIA G, RAMINA A, et al. Computational annotation of genes differentially expressed along olive fruit development [J/OL]. BMC Plant Biol, 2009, 9: 128 [2022-06-10]. <https://bmcplantbiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2229-9-128>.
- [7] CRUZ F, JULCA I, GOMEZ-GARRIDO J, et al. Genome sequence of the olive tree, *Olea europaea* [J/OL]. Gigascience, 2016, 5: 29 [2022-06-10]. <https://doi.org/10.1186/s13742-016-0134-5>.
- [8] RAO G D, ZHANG J G, LIU X X, et al. Identification of putative genes for polyphenol biosynthesis in olive fruits and leaves using full-length transcriptome sequencing [J/OL]. Food Chem, 2019, 300: 125246 [2022-06-10]. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125246>.
- [9] RAO G D, ZHANG J G, LIU X X, et al. De novo assembly of a new *Olea europaea* genome accession using nanopore sequencing [J/OL]. Horticulture Res, 2021, 8(1): 64 [2022-06-10]. <https://www.nature.com/articles/s41438-021-00498-y>.
- [10] 耿树香, 宁德鲁, 李勇杰, 等. 油橄榄果实油脂积累的转录组分析[J]. 中国油脂, 2019, 44(12): 109-113.

(下转第 92 页)

- Cancer, 1976, 27:473-484.
- [10] 李秋林, 曹骥, 容敏华, 等. 2016年广西肿瘤登记地区恶性肿瘤发病和死亡分析[J]. 中国癌症防治杂志, 2020, 12(1):44-51.
- [11] 滕南雁, 宋宁宁, 刘涛. 广西地区市售食用植物油和大米中黄曲霉毒素 B₁ 的采样调查和分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2011, 21(6):1531-1532.
- [12] 程恒怡, 钟延旭, 陈杰, 等. 暴露限值法评估广西食用植物油中黄曲霉毒素 B₁ 的暴露风险[J]. 中国食品卫生杂志, 2017, 29(4):496-499.
- [13] 石萌萌, 梁江, 赵鹏, 等. 广西居民膳食中黄曲霉毒素暴露风险评估[J]. 中国食品卫生杂志, 2020, 32(4):432-436.
- [14] 王春双, 范云燕, 龙兮, 等. 南宁市粮油食品中黄曲霉毒素 B₁ 的暴露风险评估[J]. 现代预防医学, 2020, 47(2):252-255.
- [15] 梁馨予, 陈凤, 黎强, 等. 广西玉林市小作坊花生油中黄曲霉毒素 B₁ 膳食暴露及风险评估[J]. 中国油脂, 2022, 47(1):131-136.
- [16] 食品安全国家标准 食品中黄曲霉毒素 B 族和 G 族的测定: GB 5009.22—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
- [17] 食品安全国家标准 食品中真菌毒素限量: GB 2761—2017[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
- [18] 胡文敏, 董海燕, 宁忻, 等. 云南省部分食品黄曲霉毒素 B₁ 膳食暴露风险评估[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(15):5215-5219.
- [19] 唐振柱. 广西居民膳食营养与健康状况报告(2010—2015)[M]. 南宁: 广西人民出版社, 2018.
- [20] Evaluation of certain food additives and contaminants. Forty - ninth report of the joint FAO/WHO expert committee on food additives [M]. Geneva: WHO, 1999.
- [21] 陈启煌. 广西贵港地区肝癌筛查及乙型肝炎病毒基因型分布研究[D]. 南宁: 广西医科大学, 2017.
- [22] Risk assessment of aflatoxins in food[J/OL]. EFSA J, 2020, 18(3):6040 [2021-02-03]. <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2020.6040>.
- [23] Opinion of the scientific committee on a request from EFSA related to a harmonised approach for risk assessment of substances which are both genotoxic and carcinogenic[J]. EFSA J, 2005, 282:1-31.
- [24] 王绪卿, 吴永宁, 陈君石. 食品污染监测低水平数据处理问题[J]. 中华预防医学杂志, 2002, 36(4):278-279.
- [25] 全国卫生专业资格考试专家委员会. 预防医学技术[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2018.
- [26] 李昕, 秦泽明, 张维嘉, 等. 2015年山东部分地区食用植物油中黄曲霉毒素 B₁ 和玉米赤霉烯酮污染状况调查[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(1):198-203.
- [27] 张毅, 林肖惠, 夏义平, 等. 2017年天津市市售植物油部分真菌毒素污染状况[J]. 职业与健康, 2018, 34(24):3353-3356.
- [28] 徐文静, 刘丹, 韩小敏, 等. 2015年我国部分地区市售食用植物油中黄曲霉毒素污染调查[J]. 中国食品卫生杂志, 2018, 30(1):63-68.
- [29] 杨博磊, 张秀娟, 王刚, 等. 我国土榨花生油黄曲霉毒素 B₁ 及圆弧偶氮酸毒素污染调查[J]. 中国油脂, 2020, 45(9):34-37.
- [30] 陈涛. 福建省 2016 年市售花生油黄曲霉毒素污染监测[J]. 海峡预防医学杂志, 2017, 23(5):75-77.
- [31] 林玉娜, 罗晓燕, 朱惠扬, 等. 广州市市售粮油食品中黄曲霉毒素 B₁ 的污染调查分析[J]. 医学动物防制, 2019, 35(7):694-696.
- [32] 胡振, 周芳华, 韦波. 2016—2017年广西食用植物油质量安全监测评价分析[J]. 中国油脂, 2020, 45(2):91-94.

(上接第 76 页)

- [11] LÜ X F, MA J Y, YAN H Q, et al. Effect of degree of ripening on the quality of virgin olive oils produced in Longnan, China [J]. J Am Oil Chem Soc, 2021, 98(11):1-12.
- [12] 石旭东, 蒋红. 食用植物油中酸价 过氧化值的探讨与研究[J]. 农产品加工, 2021, 536(9):63-68.
- [13] CONDE C, DELROT S, GERÓS H. Physiological, biochemical and molecular changes occurring during olive development and ripening[J]. J Plant Physiol, 2008, 165(15):1545-1562.
- [14] 程子彰, 贺靖舒, 占明明, 等. 油橄榄果生长与成熟过程中油脂的合成[J]. 林业科学, 2014, 50(5):123-131.
- [15] 陈坤明 宫海军, 王锁民. 植物谷胱甘肽代谢与环境胁迫[J]. 西北植物学报, 2004, 24(6):1119-1130.
- [16] PINOT F, BEISSON F. Cytochrome P450 metabolizing fatty acids in plants: characterization and physiological roles[J]. FEBS J, 2011, 278(2):195-205.
- [17] SPECTOR A A, KIM H Y. Cytochrome P450 epoxygenase pathway of polyunsaturated fatty acid metabolism [J]. Biochim Biophys Acta, 2015, 1851(4):356-365.
- [18] MCLEAN K J, HANS M, MUNRO A W. Cholesterol, an essential molecule; diverse roles involving cytochrome P450 enzymes [J]. Biochem Soc Trans, 2012, 40(3):587-593.
- [19] HAN J Y, KIM H J, KWON Y S, et al. The Cyt P450 enzyme CYP716A47 catalyzes the formation of protopanaxadiol from dammarenediol - II during ginsenoside biosynthesis in Panax ginseng [J]. Plant Cell Physiol, 2011, 52(12):2062-2073.
- [20] 李翔宇, 王助乾, 孙春玉, 等. 植物细胞色素 P450s 及其在植物新陈代谢中的作用[J]. 安徽农业科学, 2016, 44(13):129-134.