

研究报告

Research Report

基于羊草种子转录组中 PGM 及 SUS 基因家族鉴定与分析

王博 宫婷 李冉 王琪 杨劼 刘微 杨邹转 张攀 胡国富*

东北农业大学动物科学技术学院, 哈尔滨, 150000

* 通信作者, guofuh2003@163.com

摘要 羊草(*Leymus chinensis* (Trin.) Tzvel.)是多年生优质饲草,具有适口性好、产量高、饲用价值高等特点。此外,由于羊草具有较强的抗性,因而能够改善土地贫瘠等劣势环境,是保护中国草地生态的重要建群种。为促进羊草种子萌发,探究萌发机理,本研究以无菌水处理羊草种子为对照,外源添加 GA3 为处理条件,基于前期转录组数据分析,确定了蔗糖和淀粉代谢通路中的 PGM 及 SUS 基因在种子萌发过程中有着显著作用。采用生物信息学的分析方法分别分析了两个基因家族的成员鉴定、保守结构域以及进化树,并结合 FPKM 值对 PGM 及 SUS 基因进行表达模式分析。结果表明:基于羊草种子转录组数据筛选出 PGM 及 SUS 基因家族的成员均为 7 个,PGM 基因的分子量大小在 15 471.3~67 912.9 Da 之间,等电点数值大小在 4.45~6.31 之间,呈弱酸性。羊草种子中 PGM 家族均为亲水稳定蛋白。而 SUS 基因的分子量大小在 30 421.5~110 262.9 Da 之间,等电点除 LcSUS1、5、7 偏中性外,而其余的 4 个基因则偏弱酸性。LcSUS4、6 为稳定亲水蛋白,其余的为不稳定亲水蛋白。羊草种子中 PGM 及 SUS 基因家族在蔗糖和淀粉代谢通路中起到促进蔗糖和淀粉合成的基因酶作用。对羊草种子表达模式分析发现,GA3 处理羊草种子 PGM 及 SUS 基因家族的基因通过不同表达量的正负调控蔗糖和淀粉通路来共同作用促进羊草种子萌发。。

关键词 羊草, PGM 和 SUS 基因家族, 生信分析, 表达分析

Identification and Analysis of PGM and SUS Gene Families in *Leymus Chinensis* Seed Transcriptome

Wang Bo Gong Ting Li Ran Wang Qi Yang Jie Liu Wei Yang Zouzhaun Zhang Pan Hu Guofu*

School of Animal Science and Technology, Northeast Agricultural University, Harbin, 150000

* Corresponding author, guofuh2003@163.com

DOI: 10.5376/mpb.cn.2021.19.0004

Abstract *Leymus chinensis* (*Leymus chinensis* (Trin.) Tzvel.) is a good perennial forage with good palatability, high yield and high feeding value. In addition, because of its strong resistance, *Leymus chinensis* can improve the disadvantaged environment such as poor land, and it is an important species to protect grassland ecology in China. Therefore, in order to promote the germination of *leymus chinensis* seeds and explore the mechanism of Germination, this study used sterile water treatment of *leymus chinensis* seeds as control, exogenous GA3 as treatment conditions. Based on the analysis of pre-transcriptome data, it was determined that PGM and SUS genes in sucrose and starch metabolic pathways play a significant role in seed Germination. Members identification, conserved domains, and evolutionary trees were analyzed for both gene families using the bioinformatics method.

本文首次发表在《分子植物育种》上, 现依据版权所有人授权的许可协议, 采用 Creative Commons Attribution License, 协议对其进行授权, 再次发表与传播

收稿日期: 2021 年 1 月 25 日; 接受日期: 2021 年 2 月 7 日; 发表日期: 2021 年 2 月 14 日

引用格式: 王博, 宫婷, 李冉, 王琪, 杨劼, 刘微, 杨邹转, 张攀, 胡国富, 2021, 基于羊草种子转录组中 PGM 及 SUS 基因家族鉴定与分析, 分子植物育种 (网络版) 19(4): 1-8 (doi: 10.5376/mpb.cn.2021.19.0004) (Wang B., Gong T., Li R., Wang Q., Yang J., Liu W., Yang Z.Z., Zhang P., Hu G.F., 2021, Identification and analysis of PGM and SUS gene families in *leymus chinensis* seed transcriptome, *Fenzi Zhiwu Yuzhong* (Molecular Plant Breeding (online)), 19(4): 1-8 (doi: 10.5376/mpb.cn.2021.19.0004))

The expression pattern of *PGM* and *SUS* genes were analyzed with FPKM value. The results showed that 7 members were selected from each of the the *PGM* and *SUS* families based on the data of *Leymus Chinensis* seeds transcriptome. The molecular weight of *PGM* genes ranged from 15 471.3 to 67 912.9 Da, and the isoelectric point value ranged from 4.45 to 6.31, showing weak acidity. *PGM* family in *Leymus Chinensis* seeds are hydrophilic stable proteins. The molecular weight of *SUS* genes ranged from 30 421.5 to 110 262.9 Da. The isoelectric point of *SUS* genes were neutral except *LcSUS1,5* and 7, while the other four genes were weak acidic. *LcSUS4,6* were stable hydrophilic proteins, the rest were unstable hydrophilic proteins. The *PGM* and *SUS* gene families in *Leymus chinensis* seeds play an enzyme role in promoting sucrose and starch synthesis in sucrose and starch metabolism pathways. The expression pattern analysis of *Leymus chinensis* seeds showed that the genes of *PGM* and *SUS* gene families in GA3-treated *Leymus chinensis* seeds promoted the germination of *Leymus chinensis* seeds by regulating the sucrose and starch pathways with different expression levels.

Keywords *L. chinensis*, *PGM* and *SUS* gene families, Health and credit analysis, Expression analysis

葡萄糖磷酸变位酶(phosphoglucosmutase, *PGM*)是磷酸己糖变位酶家族成员之一(Egli et al., 2010; Stray-Pedersen et al., 2014; Weyler and Heinzle, 2015)。调节控制葡萄糖-1-磷酸和葡萄糖-6-磷酸的相互转化,进一步促进葡萄糖的合成是其在植物体内的主要作用和功能(Uematsu et al., 2012b; Chauton et al., 2013)。因此在蔗糖和淀粉通路中起着正调控作用,参与调节植物体内蔗糖以及淀粉的合成(Paparelli et al., 2013; Pal et al., 2013),从而参与植物的生长发育过程。在植物研究中,*PGM*家族可分为定位在细胞质中即质体定位(p*PGM*)和定位在细胞质中即胞质定位(c*PGM*)两种细胞定位不同的类型(Herbert et al., 1979)。*PGM*的主要作用过程是从葡萄糖-6-磷酸中产生葡萄糖-1-磷酸。葡萄糖-1-磷酸既可以在异养组织中从胞浆中导入,也可以在自养组织中通过光合作用产生。有关于缺乏*PGM*基因调控的植物也有所研究, Malinova等(2014)通过研究缺失c*PGM*活性的拟南芥(*Arabidopsis thaliana*),发现了其生长明显受到抑制,淀粉合成减慢的特点。Fettke等(2012)人通过研究缺乏马铃薯(*Solanum tuberosum* L.)*PGM*的活性调控发现,其外在形态表现为整体植株矮小,块茎的数量减少等。而对缺少p*PGM*调控的百脉根(*Lotus corniculatus* L.)糖代谢的研究发现,由于叶片不能有效的积累淀粉,从而导致不能被碘染色(Vriet et al., 2010)。因此证明缺乏*PGM*基因调控大大减少了叶片和贮藏器官中淀粉的合成。而过表达*PGM*可有效提高淀粉的合成,Uematsu等(2012a)通过烟草(*Nicotiana tabacum* L.)叶片过表达p*PGM*,相对于野生型植株叶片,发现p*PGM*的活性在转基因植株叶片中有所提高,并且淀粉的含量也提高2至3倍(Vriet et al., 2010),这表明p*PGM*在淀

粉合成的过程中起到了促进作用。

蔗糖在蔗糖和淀粉的代谢通路中是一种十分关键的代谢产物。蔗糖不能被植物本身直接利用,只有被分解成其他可溶性糖才能参与植物各项生理代谢活动中。蔗糖合成酶(Sucrose Synthase, *SUS*)是一种作用在植物糖代谢过程中的限制酶(陈曙等, 2019)。目前,对于植物中*SUS*基因家族的研究较多,近年来,研究学者不仅限于在模式植物中鉴别此家族,更在辣椒(*Capsicum annuum* L.) (魏华伟等, 2019)、梨(*Pyrus* spp) (吕佳红等, 2018)、无籽蜜柚(*Honey pomelo*) (邓舒雅等, 2018)等植物中进行鉴定,在大豆(*Glycine max* (Linn.) Merr.)的研究中,发现了*SUS*基因家族成员具有组织表达特异性,当对含有蔗糖合成酶突变体的大豆植株研究表明,*SUS*基因酶活性与根瘤菌固氮能力成正比,较低的*SUS*基因酶活性会导致部分组织的退化现象(晁毛妮等, 2018)。由于*SUS*可逆的水解蔗糖, Maria等(2019)人对番茄(*Lycopersicon esculentum* Mill.)研究发现,*SUS1*介导的可逆蔗糖水解不仅对于维持水果中的蔗糖及其单体之间的平衡,还对于其他番茄器官中的平衡均至关重要。Danyu等(2019)人对拟南芥韧皮部位中的*SUS*基因家族进行研究发现,*SUSy2*存在于发育中的种子的胚乳和胚中,而其他的基因均在不同部位中发现,由此推断*SUS*基因家族参与到韧皮部蔗糖代谢过程中。由于*PGM*及*SUS*基因不仅能够调控蔗糖和淀粉的代谢和累积,还能够催化蔗糖和淀粉的合成和分解,在蔗糖淀粉代谢通路中具有比较多样化的功能。

羊草具有根茎穿透能力强的特点,因而具有能够改善劣势土地的作用,从而保护中国草原生态环境(刘公社和齐冬梅, 2004)。对羊草*PGM*及*SUS*基因家族系统鉴定和分析有助于探究其种子的萌发机

制,因此本研究对羊草种子中 PGM 及 SUS 基因家族的基本生物学性质进行分析。本研究以经过赤霉素(GA3)处理的羊草种子为实验材料进行转录组测序,基于转录组测序数据对羊草中 PGM 及 SUS 基因家族进行鉴定,并进行保守结构域分析、构建进化树以及表达分析等,以此来为深入研究羊草 PGM 及 SUS 基因家族的功能及高效繁育羊草提供理论支撑。

1 结果与分析

1.1 羊草种子中 PGM 及 SUS 基因家族的鉴定

通过转录组数据库的本地 blast 检索,共获得 10 条 PGM 序列,经过 CDD 在线数据库的检索分析后,最终得到 7 条有效的 PGM 蛋白序列(表 1)。从表中可以看出,7 个 LcPGM 基因编码氨基酸的个数 153-60 个,编码蛋白质理论分子量大小为 15 471.3~67 912.9 Da,而通过对等电点的分析发现,7 个 LcPGM 基因等电点数值大小在 4.45~6.31 之间,平均数值在 5.67 左右,表明其主要在弱酸性细胞环境中起作用。对不稳定系数预测发现,数值均小于 40,因此可以推定其为稳定蛋白。而平均亲水系数则均小于 0,说明该 7 个

基因的蛋白属于亲水性蛋白。由此研究表明,7 种 LcPGM 蛋白在预测氨基酸序列长度以及蛋白理化特性方面均有差异,推测 LcPGM 蛋白具有各不相同的生物学特性。

同 LcPGM 基因家族获得方法一样,最终在本地羊草种子转录组数据库中获得 7 条 SUS 基因蛋白序列(表 2),7 个基因编码氨基酸的数目为 268~991 个,而编码氨基酸的理论分子量的大小在 30 421.5~110 262.9 Da 之间。通过等电点分析发现,LcSUS1、5、7 整体在偏中性的环境中起作用,而其余的 4 个基因则偏弱酸性。对不稳定系数预测发现,LcSUS4、6 均小于 40,推测为稳定蛋白,而其余的均大于 40,推测为不稳定蛋白。对亲水系数研究发现,数值均小于 0,因此 7 个基因均为亲水性蛋白。由此可以说明,7 个基因在基本理化性质上各有差异,表明在生物学特性上也起着不同的作用。

1.2 LcPGM 及 LcSUS 蛋白的保守基序分析

通过在线软件对 LcPGM 及 LcSUS 蛋白中的保守 Motif 进行分析发现(图 1),预测出 LcPGM 及 LcSUS 蛋白均含有 10 个不同的保守 Motif,而不同的

表 1 LcPGM 基因家族成员基本理化性质鉴定

Table 1 Identification of basic physical and chemical properties of LcPGM gene family members

基因 Gene	转录组编号 Transcriptome code	蛋白质长度(aa) Protein length (aa)	分子量(Da) Molecular weight (Da)	等电点 Isoelectric point	不稳定系数 Instability index	脂肪系数 Aliphatic index	平均亲水系数 Grand average of hydrophaticity
<i>LcPGM1</i>	TRINITY_DN12586	606	67912.9	6.31	36.62	85.38	-0.333
<i>LcPGM2</i>	TRINITY_DN20225	336	36995.7	5.62	26.64	79.82	-0.192
<i>LcPGM3</i>	TRINITY_DN28535	598	67374.8	5.24	38.52	86.62	-0.328
<i>LcPGM4</i>	TRINITY_DN33918	583	62823.7	6.70	33.22	93.91	-0.165
<i>LcPGM5</i>	TRINITY_DN35067	153	15471.3	4.45	29.72	91.37	-0.246
<i>LcPGM6</i>	TRINITY_DN36197	565	61766.1	5.94	26.49	77.31	-0.317
<i>LcPGM7</i>	TRINITY_DN42222	602	64876.9	5.42	28.36	82.46	-0.145

表 2 LcSUS 基因家族成员基本理化性质鉴定

Table 2 Identification of basic physical and chemical properties of LcSUS gene family members

基因 Gene	转录组编号 Transcriptome code	蛋白质长度(aa) Protein length (aa)	分子量(Da) Molecular weight (Da)	等电点 Isoelectric point	不稳定系数 Instability index	脂肪系数 Aliphatic index	平均亲水系数 Grand average of hydrophaticity
<i>LcSUS1</i>	TRINITY_DN09823	419	46390.2	6.87	44.81	79.47	-0.474
<i>LcSUS2</i>	TRINITY_DN27621	507	58237.1	6.56	40.53	85.17	-0.304
<i>LcSUS3</i>	TRINITY_DN48483	799	89074.9	5.89	43.61	86.78	-0.429
<i>LcSUS4</i>	TRINITY_DN49067	268	30421.5	4.79	25.75	100.04	-0.144
<i>LcSUS5</i>	TRINITY_DN50791	991	110262.9	6.82	45.72	85.02	-0.404
<i>LcSUS6</i>	TRINITY_DN50996	559	63702.0	5.28	36.01	93.85	-0.231
<i>LcSUS7</i>	TRINITY_DN52189	499	56418.9	7.28	42.81	85.63	-0.446

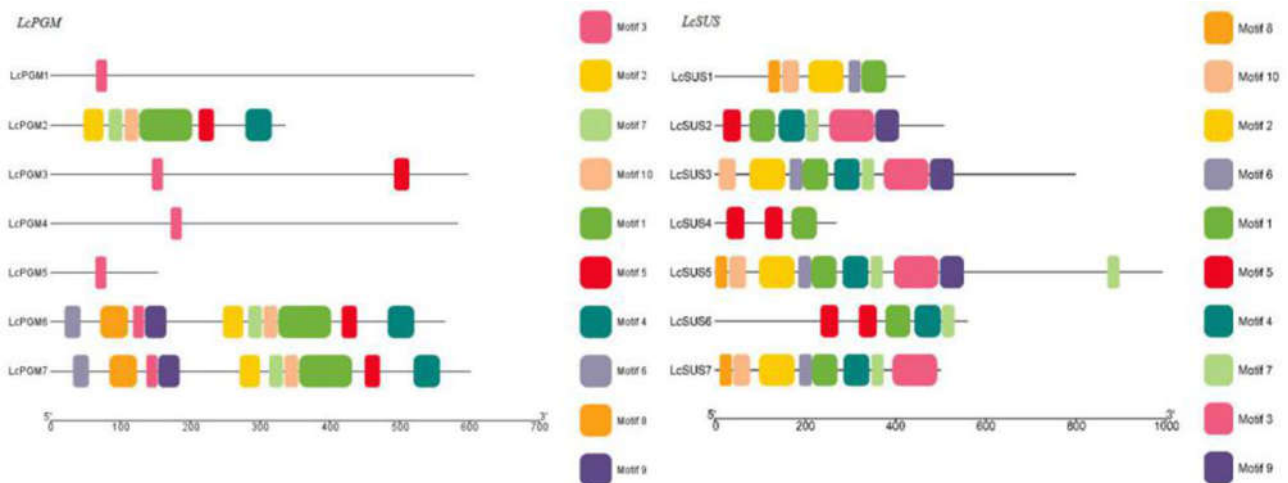


图1 LcPGM 及 LcSUS 蛋白保守基序

Figure 1 Conserved motifs of LcPGM and LcSUS proteins

基因家族成员中所包含的 Motif 也各不相同,其中在 LcPGM 基因中, Motif 3 在除 LcPGM 2 其余的基因中均有出现,而 LcPGM6、7 中包含相同的 Motif 结构且含有数目较多的 Motif,但所在位点却不相同。同样, LcPGM1、4 则含有最少的 Motif 数量,仅为 1 个,同样作用位点不相同。而在 LcSUS 基因中发现, Motif1 在 7 个基因中均有出现, Motif 7 在除 LcSUS1 外其他 6 个基因中也均有出现, LcSUS5 包含了 9 个不同的结构域,是包含结构域数目最多的基因,而 LcSUS4 仅有 3 段长度不等的结构域。因此可以推断相同基因家族中的不同基因所包含的结构域不同,在细胞中起到的生物学功能也有着明显的差异,而不同 LcPGM 及 LcSUS 所包含的差异基序表明 PGM 及 SUS 家族成员可能具有不同的生物化学特征和生物学功能。

1.3 PGM 及 SUS 基因家族进化树分析

在 PGM 家族中,整个进化树分为 5 个亚族,其中 Group1 亚族中包含 LcPGM7,且与小麦(*Triticum aestivum* L.) 的 PGM 基因具有较高的同源性,而在 Group4 中含有一个 LcPGM4,同样在 Group5 中发现了一个 LcPGM5,而其余三个亚族中则没有发现,表明虽不在同一亚族中,但仍有较低的同源性(图 2)。而在 SUS 家族中,共有 12 个亚族被划分出来,羊草种子的 SUS 基因则被划分到不同亚族中,其中 Group1 中包含 LcSUS2,与小麦 TaSUS6、12、20 具有较高的同源性。LcSUS4、6 被划分到亚族 Group3 中,与玉米(*Zea mays* Linn. Sp.)、水稻(*Oryza sativa* L.)、小麦具有较高的同源性, LcSUS4 与 ZmSUS6 更是具有直接同源关系。而亚族 Group10、11、12 分别包含了

LcSUS5、3、1、7,与油菜(*Brassica napus* L.)、玉米、水稻、拟南芥、小麦有不同程度的同源性,其中 LcSUS1 更是与 TaSUS5 具有直接同源性。因而可以得出具有同源性的 PGM 及 SUS 基因在功能上表现相似,可由此根据已经确定的模式物种生物功能信息来推断出该基因家族在羊草种子萌发代谢过程中起到的生物学作用。

1.4 羊草种子 PGM 及 SUS 家族基因的表达模式分析

为了分析羊草种子经外源 GA3 处理后各基因的表达模式,我们利用羊草转录组数据各基因的表达量进行热图的制作(图 3), LcPGM1、3 基因在 GA3 处理羊草种子中表达量较高,因而显著正调控种子萌发过程中的蔗糖和淀粉代谢途径, LcPGM5、6、7 基因的表达量同样不同程度的正调控着蔗糖和淀粉的合成,而 LcPGM2、4 则在 GA3 处理条件下起着负调控的作用,其中 LcPGM4 表达量下调最为明显。在调控蔗糖生成过程中, GA3 处理条件下,羊草种子中 LcSUS5 具有最高的表达量,因此在合成蔗糖过程中起着主要的作用,而 LcSUS1、7、3、4 在对照组中表达量上调,在处理组中则呈现表达量下调,其中 LcSUS3 在对照组中起着主要的正调控蔗糖合成的作用。总体而言, GA3 处理组下 PGM 及 SUS 基因在蔗糖和淀粉代谢途径中起着不同的正负调控作用,以此来促进种子萌发。

2 讨论

由于当前高通量测序以及生物信息技术已成为研究主要的研究热点,因此大量不同功能及特性

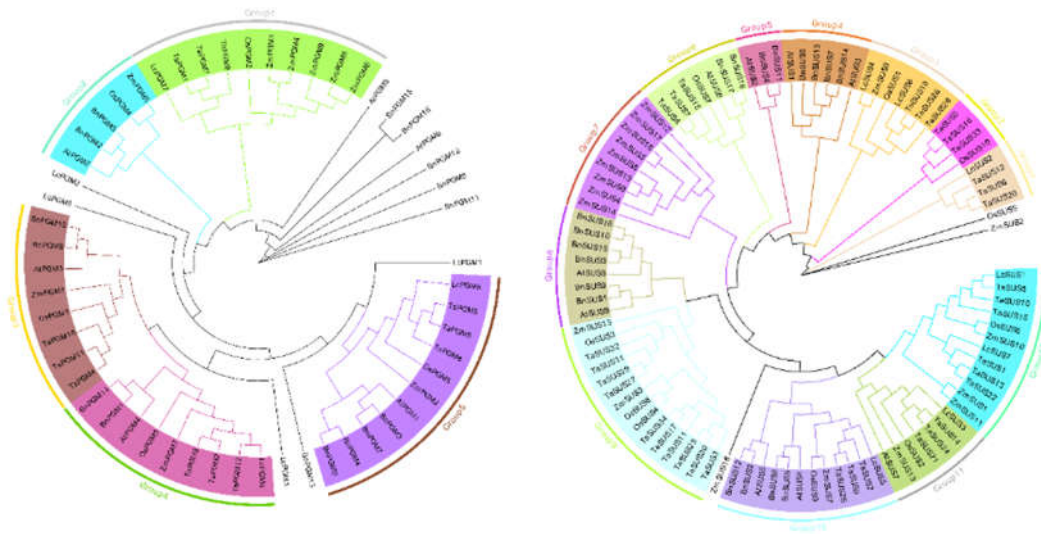


图 2 PGM 及 SUS 基因家族进化发育树
Figure 2 PGM and SUS gene family evolutionary development tree

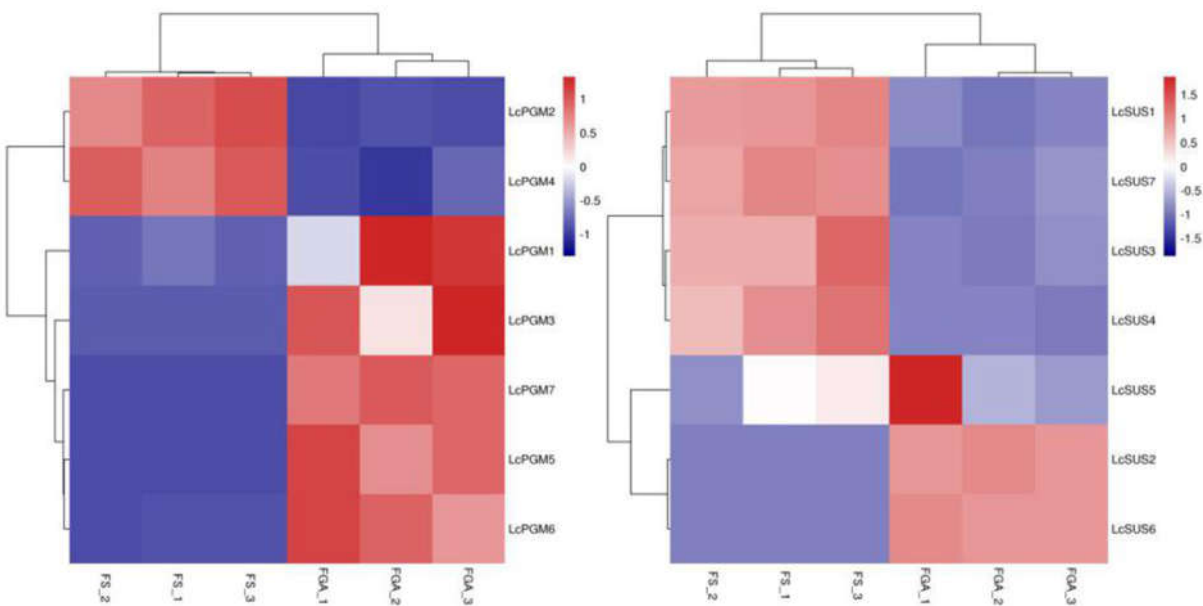


图 3 羊草种子中 GA3 处理与无菌水处理条件下的 PGM 及 SUS 基因热图
Figure 3 Heat map of PGM and SUS genes under GA3 treatment and sterile water treatment in *Leymus chinensis* seeds

的基因家族被不断挖掘出来,关于基因家族的鉴定主要包括全基因组学和转录组水平上的鉴定,本研究中所用到的即为基于转录组水平对 PGM 及 SUS 基因家族进行鉴定。而当前对 PGM 家族的分析较少,大多研究还是对此基因进行主要的鉴定,例如 Tauberger 等(2000)人对土豆内 PGM 基因的研究。在本研究中,经过数据库 Blast 后发现,油菜 PGM 家族中含有 16 个基因,小麦含有 12 个 PGM 基因,而羊草转录组数据库中为 7 个,其中主要与小麦在同一亚族中具有较高的同源性。李梦娇(2015)通过对灵芝(*Ganoderma Lucidum*(Leyss. ex Fr.) Karst.)中

PGM 基因进行沉默表达实验得出 PGM 基因沉默会导致蔗糖和淀粉代谢通路合成受阻,而本研究同样是在蔗糖和淀粉通路中发现此基因显著上调,因而讨论此基因家族的主要功能,这与其研究结果一致。本研究中的氨基酸数目为 153~606 左右,分子量为 15~67 KD 左右,这与李晓屿等(2015)人描述一致。SUS 基因家族是参与高等植物蔗糖代谢过程中促进蔗糖合成的重要基因家族,在对 SUS 基因家族分析过程中,发现许多物种已经对其进行了鉴定,例如在谷子中鉴定出了 9 个蔗糖合成酶基因(王凌云等, 2017),是一个小的基因家族,因此所含

的基因数目较少,基本为 3~15 个左右,这与本研究鉴定出的基因数目一致,在对其基本理化性质研究发现,分子量及等电点等范围皆与前人的研究结果一致。根据系统发育进化关系可以看出,PGM 与 SUS 基因分布在不同的亚族中,这表明在进化上出现了一定的差异性,同样可以推测出两种基因在功能上多样性。

PGM 是糖代谢途径中的关键分支酶,可以催化 Glc-6-P 和 Glc-1-P 之间的相互逆转化,进而促进了糖的有效降解与合成,因此在维持植物糖代谢平衡的过程中起到了至关重要的作用。SUS 是蔗糖代谢关键酶中的一种可溶性酶,其活性可以反映植物合成蔗糖的途径和能力。蔗糖合成酶在植物体分为可溶性蔗糖合成酶、不溶性蔗糖合成酶和与细胞骨架相结合的蔗糖合成酶三种存在形式(Lingle, 1999)。蔗糖合成酶也是唯一能使蔗糖参与到多种路径的酶,其中包括植物的组织构建、物质贮藏和细胞的新陈代谢等(李和平等, 2013)。基因表达研究表明,SUS 家族成员除了在植物组织中特异性表达,还与植物对逆境胁迫响应等方面有关。王旭明等(2018)人在孕穗期对水稻进行盐胁迫处理,发现在轻度盐胁迫下水稻叶片中 SUS 活性增强,增加了蔗糖和淀粉的积累量,增强了植物的抗逆性;但随着盐浓度的增大,SUS 活性显著降低,蔗糖合成速率减缓,植株的生长发育明显受到抑制(Winter et al., 1997)。以上研究表明,在植物的生长发育和抗逆境胁迫过程中 SUS 基因家族成员起着重要的作用。因此,蔗糖合成酶影响着植物蔗糖的合成和分解、产物的转运以及细胞组织的构建等各个方面(陈俊伟等, 2001)。本研究中,当羊草种子添加外源 GA3 后,PGM 及 SUS 基因家族被显著富集出来,因此表明 GA3 能有效的促进种子内部糖代谢途径,为种子萌发提供能量。关于羊草种子中这两个基因家族的功能注释已被大体确定,这为探究后续羊草相关基因家族的研究奠定了基础。同样,为促进羊草种子萌发,提高羊草产量提供了有效的理论依据。

3 材料与方法

3.1 试验材料

供试羊草(*Leymus chinensis* (Trin.) Tzvel.)种子由黑龙江省农业科学院草业所种质资源库提供的当年成熟的羊草种子,将种子置于室温下晾干后装入透气布袋中,放在 4℃冰箱内保存、备用。

3.2 材料处理

选取颗粒饱满的羊草种子。首先用 5%次氯酸钠浸泡 5 min,再用无菌水冲洗 3 次,最后使用 75%酒精冲洗两次消毒,并用无菌水洗净后用于下一步试验。

赤霉素处理:加少量乙醇溶解 GA3 后,加入蒸馏水,制备浓度 200 mg/L 的溶液(浓度设置为前期试验所得最适浓度)。消毒后将种子(每个样品约 100 mg)放入含 50 ml 200 mg/L 的 GA3 溶液的烧杯于 25℃培养箱中浸泡 24 h,以无菌水浸泡为对照,处理组和对照组各重复 3 次。

3.3 基因家族成员鉴定

羊草种子转录组数据由本课题组提供(部分数据未发表),利用模式植物拟南芥和水稻作为种子序列,通过本地 blast 对转录组数据库比对检索和直接利用关键词在转录组数据库中搜索,并利用 Pfam 和 NCBI 数据库进行蛋白保守结构域进行鉴定,最终分别得到 7 个羊草种子中 PGM 及 SUS 基因,根据本地转录组数据基因 ID 顺序进行命名,即 LcPGM1-LcPGM7、LcSUS1-LcSUS7。

3.4 基本理化性质及保守结构域分析

使用软件 ProtParam (<http://web.expasy.org/prot-param/>) 预测分析羊草种子 PGM 及 SUS 蛋白序列的分子量、等电点、不稳定系数、脂肪系数和平均亲水指数等基本的理化性质。同样,利用在线软件 MEME (<http://meme-suite.org/tools/meme>)和 TBtools 软件对羊草种子 PGM 家族蛋白的保守基序进行分析。

3.5 系统发育进化树分析

利用 Clustal X 2.1 和 MEGA5.20 对羊草、拟南芥、水稻、玉米、油菜及小麦的所有 PGM 及 SUS 蛋白序列进行进化树构建与优化处理。采用邻接法(Neighbor joining, NJ)构建系统发育进化树。

3.6 差异表达模式分析

基于转录组数据库中的 FPKM 值,采用对数 log 计算法对 PGM 及 SUS 家族基因的表达数据进行分层聚类分析。绘制表达热图用 Ttools 软件。

作者贡献

王博是本研究的实验设计和实验研究的执行人;宫婷、李冉、王琪及杨劼完成数据分析,论文初

稿的写作;刘微、杨邹转及张攀参与实验设计,试验结果分析;胡国富是项目的构思者及负责人,指导实验设计,数据分析,论文写作与修改。全体作者都阅读并同意最终的文本。

致谢

本研究由国家重点研发项目(2016YFC0500-607)的资助。

参考文献

- Chao M.N., Huang Z.W., Wang G., Wang R.H., Zhang J.B., and Zhang Z.Y., 2018, Genome-wide identification and expression analysis of sucrose synthase family members in soybean, *Xibei Zhiwu Xuebao (Northwest Plant Journal)*, 38(2): 232-241 (晁毛妮, 黄中文, 王果, 王润豪, 张金宝, 张自阳, 2018, 大豆蔗糖合成酶家族成员的全基因组鉴定及表达分析, *西北植物学报*, 38(2): 232-241)
- Chauton M.S., Winge P., Brembu T., Vadstein O., and Bones A.M., 2013, Gene regulation of carbon fixation, storage, and utilization in the diatom *Phaeodactylum tricornutum* acclimated to light/dark cycles, *Plant Physiol*, 161 (2): 1034-1048
- Chen J.W., Chen K.S., Xu C.J., Zhang L.C., and Zhang S.L., 2001, Effects of shading on photosynthetic product distribution, carbohydrate metabolism and accumulation in developing citrus fruits, *Zhiwu Shengli Xuebao (Plant Physiology)*, 27(6): 499-504 (陈俊伟, 陈昆松, 徐昌杰, 张良诚, 张上隆, 2001, 柑橘果实遮光处理对发育中的果实光合产物分配、糖代谢与积累的影响, *植物生理学报*, 27(6): 499-504)
- Chen S., Chen H.L., Jin H., and Zhao Q.F., 2019, Genome-wide identification and expression analysis of sucrose synthase gene family in maize, *Xinan Nongye Xuebao (Southwest Agricultural Journal)*, 32(11): 2479-2485 (陈曙, 陈宏良, 金辉, 赵秋芳, 2019, 玉米蔗糖合成酶基因家族的全基因组鉴定及表达分析, *西南农业学报*, 32 (11): 2479-2485)
- Danyu Y., Eliana G.V., and Mansfield S.D., 2019, Arabidopsis sucrose synthase localization indicates a primary role in sucrose translocation in phloem, *Journal of Experimental Botany*, (6): 6
- Deng S.Y., Chen H.P., Mai Y.T., and Niu J., 2018, Gene family bioinformatics and expression analysis of sucrose synthase (SUS) and invertase (INV) in seedless pomelo, *Zhiwu Shengli Xuebao (Plant Physiology)*, 54(10): 1576-1586 (邓舒雅, 陈惠萍, 麦贻婷, 钮俊, 2018, 无籽蜜柚蔗糖合成酶(SUS)和蔗糖转化酶(INV)基因家族生物信息学及表达分析, *植物生理学报*, 2018, 54(10): 1576-1586)
- Egli B., K?lling K., K?hler C., Zeeman S.C., and Streb S., 2010, Loss of cytosolic phosphoglucomutase compromises gametophyte development in Arabidopsis, *Plant physiology*, 154(4): 1659-1671
- Fettke J., Leifels L., Brust H., Herbst K., and Steup M., 2012, Two carbon fluxes to reserve starch in potato (*Solanum tuberosum* L.) tuber cells are closely interconnected but differently modulated by temperature, *J. Exp. Bot.*, 63 (8): 3011-3029
- Herbert M., Burkhard C., and Schnarrenberger C., 1979, A survey for isoenzymes of glucosephosphate isomerase, phosphoglucomutase, glucose-6-phosphate dehydrogenase and 6-Phosphogluconate dehydrogenase in C3-, C 4-and crassulacean-acid-metabolism plants, and green algae, *Planta*, 145 (1): 95-104
- Li H.P., Li H.M., and Pan S.M., 2013, Cloning and expression analysis of sucrose synthase gene from tropical sugarcane *Badila*, *Shengwu Jishu Tongbao (Biotechnology Bulletin)*, (11): 58-62 (李和平, 李海明, 潘世明, 2013, 甘蔗热带种 *Badila* 蔗糖合成酶基因的克隆及表达分析, *生物技术通报*, (11): 58-62)
- Li M.J., 2015, Functional analysis of UDP glucose phosphorylase and phosphoglucomutase in *Ganoderma lucidum*, Dissertation for Ph.D., Nanjing Agricultural University, Supervisors: Zhao M.W., pp.86-87 (李梦娇, 2015, 灵芝碳代谢途径中 UDP 葡萄糖焦磷酸化酶和磷酸葡萄糖变位酶基因功能研究, 博士学位论文, 南京农业大学, 导师: 赵明文, pp. 86-87)
- Li X.Y., Li H., Lan X.G., Li Y.H., and Li Z.L., 2015, Advances in research on glucose phosphate mutase from plants, *Zhiwu Shengli Xuebao (Plant Physiology)*, 51(05): 617-622 (李晓屿, 李晗, 蓝兴国, 李玉花, 李治龙, 2015, 植物葡萄糖磷酸变位酶的研究进展, *植物生理学报*, 51(05): 617-622)
- Lingle S.E., 1999, Sugar metabolism during growth and development in sugarcane internodes, *Crop Science*, 39(2): 480-486
- Liu G.S., and Qi D.M., 2004, Advances in biology of *Leymus Chinensis*, *Caoye Xuebao (Journal of Grassland Science)*, (05): 6-11 (刘公社, 齐冬梅, 2004, 羊草生物学研究进展, *草业学报*, (05): 6-11)
- Lv J.H., Cheng R., Wang G.M., Wu J., Wang Y.Z., Zhang H.P., and Zhang S.L., 2018, Identification and expression analysis of sucrose synthase related enzymes SUS and SPS gene family in pear, *Yuanyi Xuebao (Chinese Journal of Horticulture)*, 45(03): 421-435 (吕佳红, 程瑞, 王国明, 吴俊, 王英珍, 张虎平, 张绍玲, 2018, 梨蔗糖合成相关酶 SUS 和 SPS 基因家族的鉴定与表达分析, *园艺学报*, 45(03): 421-435)
- Malinova I., Kunz H.H., Alseekh S., Herbst K., Fernie A.R., Gierth M., and Fettke J., 2014, Reduction of the cytosolic

- phosphoglucosyltransferase in Arabidopsis reveals impact on plant growth, seed and root development, and carbohydrate partitioning, *PLoS one*, 9(11): e112468
- Maria A.S., Anna V.S., and Elena Z.K., 2019, Differences in the sucrose synthase gene SUS1 expression pattern between *Solanum lycopersicum* and wild tomato species, *Theoretical and Experimental Plant Physiology*, 31(4): 455-462
- Pal S.K., Liput M., Piques M., Ishihara H., Obata T., Martins M. C., Sulpice R., van Dongen J.T., Fernie A.R., Yadav U.P., Lunn J.E., Usadel B., and Stitt M., 2013, Diurnal changes of polysome loading track sucrose content in the rosette of wild-type arabidopsis and the starchless PGM mutant, *Plant Physiol*, 162(3): 1246-1265
- Paparelli E., Parlanti S., Gonzali S., Novi G., Mariotti L., Ceccarelli N., van Dongen J.T., K?lling K., Zeeman S.C., and Perata P., 2013, Nighttime sugar starvation orchestrates gibberellin biosynthesis and plant growth in Arabidopsis, *Plant Cell*, 25(10): 3760-3769
- Stray-Pedersen A., Backe P.H., Sorte H.S., Morkrid L., Chokshi N.Y., Erichsen H.C., Gambin T., Elgstoen K.B., Bjoras M., Wlodarski M.W., Krüger M., Jhangiani S.N., Muzny D.M., Patel A., Raymond K.M., Sasa G.S., Krance R.A., Martinez C.A., Abraham S.M., Speckmann C., Ehl S., Hall P., Forbes L.R., Merckoll E., Westvik J., Nishimura G., Rustad C.F., Abrahamsen T.G., R?nnestad A., Osnes L.T., Egeland T., R?ndingen O.K., Beck C.R., Baylor-Johns Hopkins Center for Mendelian Genomics, Boerwinkle E.A., Gibbs R.A., Lupski J.R., Orange J.S., Lausch E., and Hanson I.C., 2014, PGM3 mutations cause a congenital disorder of glycosylation with severe immunodeficiency and skeletal dysplasia, *Am J Hum Genet*, 95(1): 96-107
- Tauberger E., Fernie A.R., Emmermann M., Renz A., and Trethewey R.N., 2000, Antisense inhibition of plastidial phosphoglucosyltransferase provides compelling evidence that potato tuber amyloplasts import carbon from the cytosol in the form of glucose-6-phosphate, *The Plant Journal*, 23(1): 43-53
- Uematsu K., Suzuki N., Iwamae T., Inui M., and Yukawa H., 2012a, Alteration of photosynthate partitioning by high-level expression of phosphoglucosyltransferase in tobacco chloroplasts, *Biosci Biotechnol Biochem*, 76(7): 1315-1321
- Uematsu K., Suzuki N., Iwamae T., Inui M., and Yukawa H., 2012b, Expression of Arabidopsis plastidial phosphoglucosyltransferase in tobacco stimulates photosynthetic carbon flow into starch synthesis, *J Plant Physiol*, 169(15): 1454-1462
- Vriet C., Welham T., Brachmann A., Pike M., Pike J., Perry J., Parniske M., Sato S., Tabata S., Smith A.M., and Wang T.L., 2010, A suite of *Lotus japonicus* starch mutants reveals both conserved and novel features of starch metabolism, *Plant Physiol*, 154(2): 643-655
- Wang X.M., Chen J.Y., Gong M.J., Huang Y.X., Mo J.J., Xie P., Ye C.H., Yang S., Zhou H.K., and Zhao X.X., 2018, Responses of SS and SPS activities to sugar accumulation at booting stage of rice under salt stress and their correlation analysis, *Jiangsu Nongye Kexue (Jiangsu Agricultural Science)*, 34(3): 481-486 (王旭明, 陈景阳, 龚茂建, 黄永相, 莫俊杰, 谢平, 叶昌辉, 杨善, 周鸿凯, 赵夏夏, 2018, 盐胁迫下水稻孕穗期 SS 和 SPS 活性与糖积累的响应及其相关性分析, *江苏农业科学*, 34(3): 481-486)
- Wang Z.Y., Dong Z.P., Guo M., Liu Y.H., Ma H.L., Song J.H., Weng Q.Y., Yuan J.C., and Zhao Y., 2017, Identification and bioinformatics analysis of Sucrose synthase gene family in foxtail millet, *Jiangsu Nongye Kexue (Jiangsu Agricultural Science)*, 45(15): 30-34 (王凌云, 董志平, 郭明, 刘颖慧, 马海莲, 宋晋辉, 翁巧云, 袁进成, 赵艳, 2017, 谷子蔗糖合成酶基因家族鉴定及生物信息学分析, *江苏农业科学*, 45(15): 30-34)
- Wei H.W., Cai S.L., Chen Y.G., Gao P., and Gao Y.Y., 2019, Identification and expression of sucrose synthase gene family in *Capsicum*, *Fenzi Zhiwu Yuzhong (Molecular Plant Breeding)*, 17(14): 4537-4544 (魏华伟, 柴松琳, 陈友根, 高朋, 高优洋, 胡克玲, 梁赛, 2019, 辣椒属蔗糖合酶基因家族的鉴定及表达, *分子植物育种*, 17(14): 4537-4544)
- Weyler C., and Heinzle E., 2015, Multistep synthesis of udp-glucose using tailored, permeabilized cells of *e. coli*, *Applied Biochemistry & Biotechnology*, 175(8): 1-8
- Winter H., Huber J.L., and Huber S.C., 1997, Membrane association of sucrose synthase: changes during the gravireponse and possible control by protein phosphorylation, *FEBS Lett*, 420(2-3): 151-155