文章编号:1000-7601(2023)03-0071-09 doi:10.7606/j.issn.1000-7601.2023.03.11

植物 *SUS* 基因家族的系统进化及其在玉米中的干旱诱导表达分析

吴 越,丁鹏钧,陈君如,王睿蕾,张恺文,刘梦真,韩兆雪

(西北农林科技大学生命科学学院,陕西 杨凌 712100)

摘 要:利用生物信息学方法从 50 个物种内鉴定出 283 个蔗糖合酶(SUS)家族成员,对鉴定出的 *SUS* 家族成员进行系统发育分析、共线性分析、蛋白理化性质和亚细胞定位分析,以及干旱胁迫下玉米 *SUS* 基因在不同组织的表达模式分析,综合全面地分析了 *SUS* 基因家族的进化规律。系统发育树分析表明:*SUS* 家族可划分为 SUS Ⅰ、SUS Ⅱ、SUS Ⅲ三个亚家族,SUS Ⅲ内部双子叶植物进化枝明显分为两个拓扑结构相似的进化枝;亚细胞定位结果显示 SUS 蛋白主要在细胞质和细胞核中发挥作用,且 SUS Ⅲ成员的理化性质与 SUS Ⅰ、Ⅱ之间差异明显;共线性结果表明:SUS Ⅰ、Ⅱ中的共线性基因分别聚成一个独立的亚群,SUS Ⅲ的共线性基因聚成两个亚群;RNA-seq 数据表明:玉米 *SUS* 基因 *Zm00001d045042*、*Zm00001d029087*、*Zm00001d029091*、*Zm00001d014876* 在干旱胁迫下呈现差异表达,该表达模式分别与各亚家族的基因结构模式较为一致。综合上述研究,推测出植物 *SUS* 基因的进化轨迹,即在蕨类植物到种子植物进化过程中分化出 SUS Ⅲ,在被子植物分化以前出现 SUS Ⅰ和 SUS Ⅱ,且 SUS Ⅲ在双子叶植物中具有继续分化的趋势。

关键词:玉米;干旱胁迫;蔗糖合酶(SUS)基因家族;基因表达

中图分类号:S513 **文献标志码**:A

Evolutionary analysis of plant *SUS* gene family and expression patterns of maize *SUS* genes under drought stress

WU Yue, DING Pengjun, CHEN Junru, WANG Ruilei,
ZHANG Kaiwen, LIU Mengzhen, HAN Zhaoxue

(*College of Life Sciences*, *Northwest A&F University*, *Yangling*, *Shaanxi* 712100, *China*)

Abstract: This project identified 283 Sucrose synthase (SUS) family genes in 50 species. Comphensive analyses of evolutionary relationship of *SUS* family using bioinformatics methods of phylogenetic analysis, synteny analysis, physicochemical properties analysis, subcellular localization prediction, and expression pattern of maize *SUS* genes under drought stress were performed. Based on the phylogenetic tree, *SUS* gene family was divided into three subfamilies, that is SUS Ⅰ, SUS Ⅱ, and SUS Ⅲ. The dicot members of SUS Ⅲ were clearly divided into two clades with similar topological structures. SUS protein mainly played a role in the cytoplasm and nucleus, and the physical and chemical properties of SUS Ⅲ members were different from those of SUS Ⅰ and Ⅱ. The syntenic genes from SUS Ⅰ and SUS Ⅱ subfamilies were clustered into one independent community, respectively, and the syntenic genes from SUS Ⅲ subfamily were clustered into two subgroups. RNA-seq dataset indicated that maize *SUS* genes *Zm00001d045042*, *Zm00001d029087*, *Zm00001d029091* and *Zm00001d014876* were differentially expressed under drought stress. In addition, the expression pattern of the genes in each subfamily corresponded with their gene structures. Based on the study, the evolutionary trajectory of *SUS* genes in plants can be inferred that SUS Ⅲ would differentiate during the evolution of ferns to seed plants, SUS Ⅰ and SUS Ⅱ would appear before the differentiation of angiosperms, and SUS Ⅲ would have a tendency to continue to differentiate in dicots.

收稿日期:2022-03-08 **修回日期**:2022-07-14

基金项目:大学生创新创业训练计划项目(S202010712250, S201910712184, X201910712303);中央高校基本科研业务费专项基金(2452019072);陕西省自然科学基础研究计划(2021JM-101)

作者简介:吴越(2000-),男,广东广州人,本科生,研究方向为生物信息学。E-mail: wuyue4839@163.com

通信作者:韩兆雪(1976-),女,山东临沂人,副教授,主要从事玉米抗逆分子生物学研究。E-mail: zxhan@nwafu.edu.cn

Keywords: maize; drought stress; sucrose synthase gene family; gene expression

蔗糖合酶(Sucrose synthase, SUS)是植物中以基因家族形式广泛存在的一种糖基转移酶。在植物体内SUS可以催化光合作用产物蔗糖的水解,促进蔗糖和尿苷二磷酸(UDP)转化为果糖和尿苷二磷酸葡萄糖(uridine diphosphate glucose, UDP-G)[1],从而进一步参与淀粉和纤维素的合成代谢等过程,因此*SUS*基因在植物碳源分配及糖信号调控途径中扮演重要角色[2]。根据已有报道,*SUS*基因参与了植物生长发育和非生物胁迫响应过程[3]。拟南芥内的6个*SUS*基因存在转录表达模式差异,敲除突变体分析发现它们之间存在功能冗余[4];水稻在成熟期受到高温胁迫时*SUS3*基因表达增加,提高水稻高温抗性[5];水稻中*OsSUS3*的大量表达可以增强其纤维素和胼胝质的积累,进而增加生物乙醇产量并提高抗逆性[6];当存在氧胁迫时,小麦和杨树中SUS活性提高进而增加细胞壁厚度、促进纤维素积累以及提高抗逆性[7];黄瓜*CsSUS3*基因反义表达植株的低氧胁迫抗性显著降低,表明*CsSUS3*参与黄瓜低氧胁迫响应[8];在高镉浓度下,玉米枝条中的蔗糖合酶活性提高,根系中蔗糖合酶活性降低[9];另外,蔗糖合酶还具有潜在的抗旱胁迫功能,例如在干旱胁迫下番茄*SUS5*在叶片和根中的表达显著下调[10],黄瓜*CsSUS3*基因在幼根和幼叶中表达上调,蔗糖合酶活性增加[11],大豆*GmSusy1*和*GmSusy2*在叶片和种子中表达量增加。

目前,*SUS*基因家族的系统发育研究已经在拟南芥、水稻、番茄、葡萄、苹果和芥菜等多个单物种中广泛展开[12-15],但对多物种中*SUS*基因家族的系统进化研究仅有1篇文献报道,该文献主要对19个物种的100个*SUS*基因进行了系统进化分析,初步分析了该基因家族的进化特征[16]。已有研究表明,多物种的系统发育进化分析更有利于探究基因家族的起源,有助于全面呈现物种演化过程中基因家族成员的保留、丢失和功能分化等过程。因此,为全面准确地揭示植物*SUS*基因家族的系统进化规律及功能特征,本研究拟对包括绿藻、苔藓、蕨类、裸子植物和被子植物在内的50个代表物种中的*SUS*基因家族进行大规模系统的生物信息学分析,推断植物*SUS*家族的系统发育轨迹,进一步结合RNA-seq基因表达数据,以玉米*SUS*家族为例,分析干旱胁迫诱导*SUS*基因的表达模式,这将有助于深入理解高等植物*SUS*基因表达和功能分化与物种进化的关系,进一步为*SUS*基因响应非生物胁迫的功能研究提供参考。

1 材料和方法

1.1 50个物种中*SUS*基因家族的鉴定

从Pfam数据库中下载*SUS*家族的两个保守蛋白质结构域Sucrose synth(PF00862)和Glycostransf 1(PF00534)的隐马尔可夫模型(HMM, Hidden Markov Model),使用软件HMMER中的hmmsearch对包含34种双子叶植物、11种单子叶植物、1种基部被子植物、1种裸子植物、1种蕨类植物、1种苔藓植物和1种绿藻植物在内的50个具有代表性的物种的候选SUS蛋白进行鉴定[17-18],阈值设置为E=0.001;进一步利用拟南芥内已鉴定的6个SUS蛋白进行Blastp检验[19]。最后使用Conserved Domain Database(https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi)在线数据库将所得候选蛋白序列进行分析,去除结构域不完整的序列[20]。50个物种基因组序列和注释文件从GitHub(https://github.com/zhaotao1987)内获取[21-22]。

1.2 *SUS*基因家族的序列比对、系统进化及基因共线性分析

使用MAFFT对鉴定出的SUS蛋白质序列进行多序列比对[23]。以来自胶球藻(*Coccomyxa subellipsoidea*)的SUS蛋白作外类群[24],使用FastTree构建系统发育树。使用DIAMOND进行物种间和种内的基因组序列比对,MCScanX对共线性区域进行检测[25],Rstudio对结果进行调取,Gephi将共线性结果可视化。

1.3 SUS蛋白的理化性质和亚细胞定位预测

使用ExPASy Compute pI/Mw、GRAVY CALCULATOR和TMHMM-2.0等在线数据库分析SUS候选蛋白序列的分子量、等电点、亲疏水性及跨膜结构域等理化性质。使用YLoc对SUS蛋白进行亚细胞定位预测[26-27]。

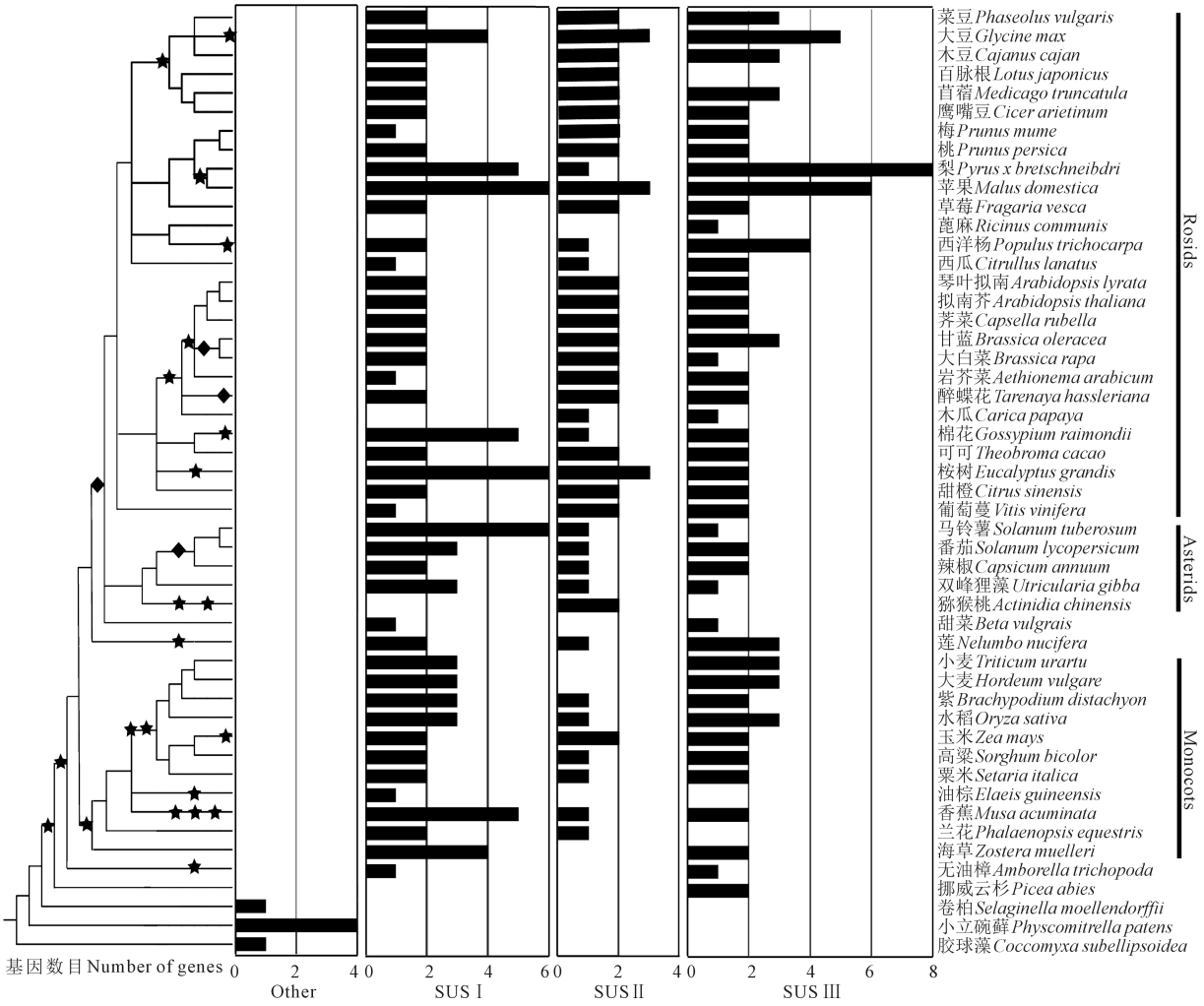
1.4 干旱胁迫下玉米*SUS*基因的表达分析

在GEO数据库[28]获取玉米正常生长条件与干旱条件下*SUS*基因的转录组表达数据(GSE71723)[29],探究干旱胁迫下玉米*SUS*基因的响应表达情况。使用FPKM(Fragments per kilobase of transcript per million fragments mapped)表示*SUS*基因的表达水平,当基因的$|\log_2(\text{fold change})| \geq 1$且错误发现率(FDR, False discovery rate)≤ 0.05时被认定为差异表达基因。

2　结果与分析

2.1　植物 *SUS* 基因家族的鉴定及系统发育分析

50 个植物物种包括大豆、苹果、拟南芥和棉花在内的 34 种双子叶植物、包括水稻、玉米和小麦在内的 11 种单子叶植物、1 种基部被子植物、1 种裸子植物、1 种蕨类、1 种苔藓和 1 种绿藻。在 50 种植物内共鉴定出 283 个 *SUS* 基因,对基因数目分析发现,三个早期物种卷柏(*Selaginella moellendorffii*)、小立碗藓(*Physcomitrella paten*)和胶球藻(*Coccomyxa-subellipsoidea*)中共含有 6 个 *SUS* 基因,裸子植物云杉(*Picea abies*)含有 2 个,其余 275 个 *SUS* 基因都存在于被子植物中,其中基部被子植物无油樟(*Amborella trichopoda*)中鉴定出 2 个 *SUS* 基因,大部分双子叶植物和单子叶植物的 *SUS* 基因数目为 5~8 个,双子叶植物中基因数目大于 10 个的有四个物种,如桉树(*Eucalyptus grandis*)和大豆(*Glycine max*)内分别有 11 个和 12 个,蔷薇科植物苹果(*Malus x domestica*)和梨(*Pyrus x bretschneideri*)内分别有 15 个和 14 个;单子叶植物内 *SUS* 基因数目均不超过 10 个,例如玉米(*Zea mays*)内有 6 个,高粱(*Sorghum bicolor*)内有 5 个。结合物种进化树上显示的基因组复制事件,我们发现 4 个 *SUS* 基因数目大于 10 的双子叶植物物种均发生过全基因组二倍化或三倍化复制事件,推测其基因组经历全基因组多倍化扩增出的 *SUS* 基因被大量保留下来,而尽管单子叶植物中也发生了多次全基因组二倍化事件,但在物种进化过程中很多扩增基因发生了丢失;另外,双子叶植物猕猴桃(*Actinidia chinensis*)和甜菜(*Beta vulgaris*)内仅有 2 个 *SUS* 基因,蓖麻(*Ricinus communis*)中只有 1 个 *SUS* 基因,这可能也与全基因组多倍化事件后的基因丢失有关[30](图 1)。



注:五角星表示物种共同经历的全基因组复制事件,菱形表示物种共同经历的全基因组三倍化事件。

Note: Whole Genome Duplications events and Whole Genome Triplications events during species evolution are indicated on the phylogenetic tree as asterisks and diamonds.

图 1　植物 *SUS* 基因家族在 50 个物种中的分布

Fig.1　Identification and classification of plant *SUS* gene family in 50 species

以胶球藻的 *SUS* 基因(*38455*)作外类群,对 *SUS* 基因的推断氨基酸序列进行系统发育分析,根据系统发育树的拓扑结构(图 2,见 76 页),发现 3 个早期物种包括胶球藻 (1 个)、小立碗藓(4 个)和卷柏(1 个)的 6 个 *SUS* 基因聚为一个原始进化枝,其余 *SUS* 基因聚类在 3 个进化枝内,分别命名为 SUS Ⅰ、SUS Ⅱ和 SUS Ⅲ 亚家族。SUS Ⅰ是最大的亚家族,包含来自基部被子植物(1 个)、单子叶植物(30 个)和双子叶植物(79 个)的 110 个 *SUS* 基因;SUS Ⅱ是最小的亚家族,其包含来自单子叶植物(8 个)与双子叶植物(57 个)的 65 个 *SUS* 基因;SUS Ⅲ由来自裸子植物(3 个)、基部被子植物(1 个)、单子叶植物(21 个)和双子叶植物(78 个)的 102 个基因组成。3 个亚家族中的单子叶和双子叶植物来源的成员分别聚类于不同的分枝内,其中双子叶植物成员的进化枝均按照真双子叶植物-茄科-蔷薇分支种类依次分布。这表明在早期物种中,*SUS* 基因并未分化,3 个亚家族是在物种长期进化过程中产生的。

2.2 *SUS* 基因家族的理化特征分析

对 *SUS* 基因家族推断蛋白的理化性质分析发现,不同亚家族 SUS 蛋白相对分子质量大部分分布在 90 000~100 000 kD,SUS Ⅰ和 SUS Ⅱ亚家族内的成员平均分子量较为接近,约为 93000 kD,SUS Ⅲ成员平均分子量约为 101 000 kD(图 3a);SUS Ⅰ和 SUS Ⅱ蛋白的等电点较接近,均为 pI<7,为酸性蛋白,而 SUS Ⅲ 中则有 39.2%(40/102)的蛋白等电点 pI>7,为碱性蛋白(图 3b)。多肽序列疏水性分析表明所有 SUS 蛋白均为亲水性蛋白(GRAVY<1);此外,我们共鉴定出 23 个含有跨膜结构域的 SUS 蛋白,其中 SUS Ⅲ含有 20 个,SUS Ⅰ、和 SUS Ⅱ分别含有 2 个和 1 个(图 3c)。这一结果表明,SUS Ⅰ和 SUS Ⅱ亚家族内的成员序列较保守,进化变异较少,而 SUS Ⅲ亚家族成员蕴含着较高的序列变异性,该亚家族成员理化性质变异较大。

亚细胞定位预测结果显示,SUS 蛋白家族定位于细胞质、细胞核、线粒体、过氧物酶体和质膜等,其中细胞质内含有 245 个 SUS 蛋白,包括早期进化物种如卷柏(1 个)和小立碗藓(4 个)的蛋白;细胞核内预测出 31 个 SUS 蛋白,除了 1 个来源于无油樟,其余 30 个均来源于双子叶植物;质膜内预测出 3 个 SUS 蛋白,1 个来源于双子叶植物甘蓝,另外 2 个分别来源于单子叶植物玉米和二穗短柄草;过氧物酶体内预测出 2 个 SUS 蛋白,均来源于猕猴桃;线粒体内预测出 1 个来源于二穗短柄草的 SUS 蛋白(图 3d)。这一结果表明不同物种谱系内的 SUS 蛋白的亚细胞定位已产生分化,可能各自执行不同的功能。

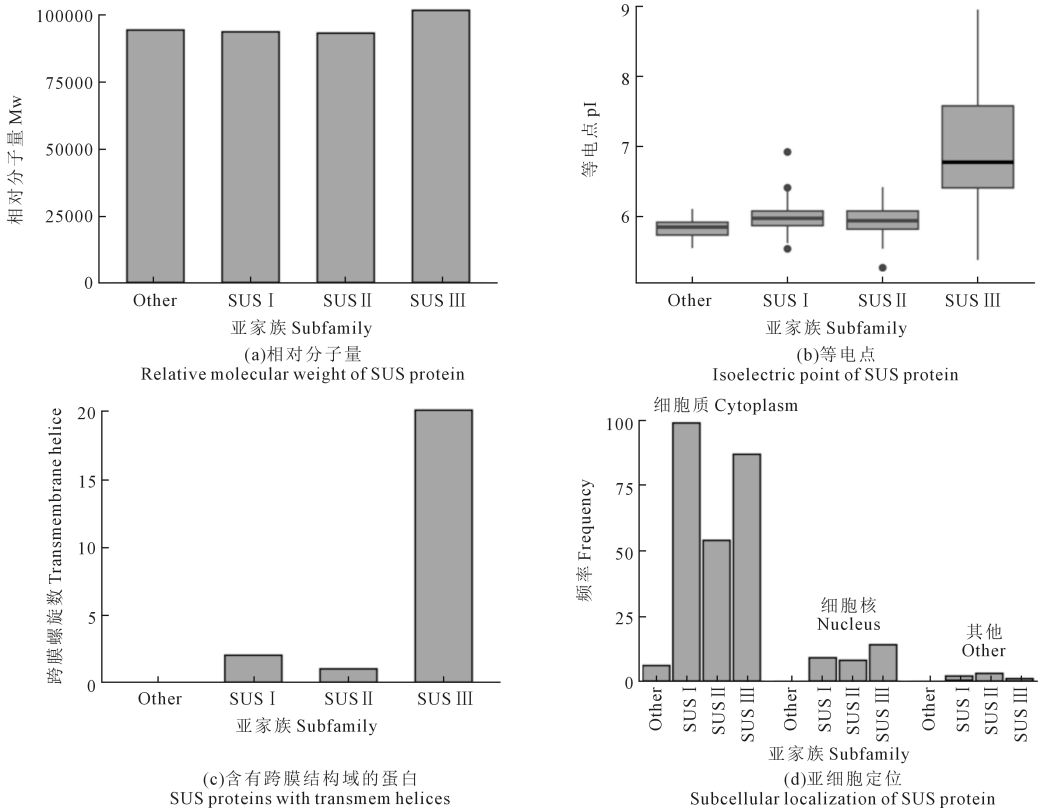


图 3 SUS 蛋白理化性质分析

Fig.3 Physicochemical properties of SUS protein

2.3　*SUS* 基因家族的共线性分析

共线性分析在多物种基因家族分析中是了解种间和种内基因及基因组进化轨迹的有力方法[31]。通过对 283 个 *SUS* 基因进行共线性分析发现,其中有 197(197/283, 69.86%)个基因为共线性同源基因,这些共线性同源基因间存在 1969 对共线性关系,仅存在于被子植物中。结合系统发育进化关系,我们发现 SUS Ⅰ、SUS Ⅱ和 SUS Ⅲ亚家族内分别存在 962 对、587 对和 411 对共线性基因关系,大部分共线性基因对的两个基因均位于同一亚家族内,而有 9 对共线性关系是由不同亚家族之间的基因产生的(图 4)。进一步对这 9 对基因分析发现,有 8 对共线性关系都是由 SUS Ⅲ的菜豆(*Phaseolus vulgaris*)基因(*Phvul.006G087300*)与 SUS Ⅱ的 8 个基因之间产生的,该基因还与 SUS Ⅲ的 11 个基因有亚家族内部的共线性关系(图 4b);另一对则来源于 SUS Ⅰ的紫色假雀麦(*Brachypodium_distachyon*)基因(*Bradi1g46670*)和 SUS Ⅱ的香蕉(*Musa acuminata*)基因(*GSMUA_Achr8G22470*),*Bradi1g46670* 在 SUS Ⅱ内部仅有 1 个共线性基因,而 *GSMUA_Achr8G22470* 在 SUS Ⅰ内部有 21 对共线性基因(图 4b)。进一步对共线性结构进行可视化分析发现,SUS Ⅲ的共线性网络又可细分为两个亚群,两个亚群内部各自有 213 对和 166 对共线性基因,而亚群之间仅有 23 对共线性基因,我们推测在 SUS 家族分化为三个亚家族后,SUS Ⅲ在后面的进化过程中进一步分化为 SUS Ⅲ-A 和 SUS Ⅲ-B 两个亚群,表明两个亚群的成员可能发生了潜在的功能分化;结合系统发育树分析发现,SUS Ⅲ亚家族内的单子叶植物所在的进化枝对应于 B 亚群,双子叶植物进化枝对应于 A、B 两个亚群(图 4b),这表明双子叶植物来源的 SUS Ⅲ亚家族基因可能比同家族的单子叶植物来源的基因具有功能多样性。

综合系统发育分析和共线性分析可推测出植物 *SUS* 基因家族的进化轨迹(图 5,见 77 页)[32],结果表明,*SUS* 基因家族在蕨类植物到种子植物的进化过程中由一次复制事件分化为两个亚家族,分别是 SUS Ⅲ和 SUS Ⅰ&Ⅱ的共同祖先,SUS Ⅰ&Ⅱ的共同祖先在挪威云杉(*Picea abies*)中可能已丢失;在被子植物分化以前,SUS Ⅰ&Ⅱ的共同祖先由一次复制事件扩增为 SUS Ⅰ和 SUS Ⅱ亚家族,SUS Ⅱ在基部被子植物无油樟中可能已丢失;并且 SUS Ⅲ在双子叶植物中可能具有继续分化为 SUS Ⅲ-A 和 SUS Ⅲ-B 的趋势。

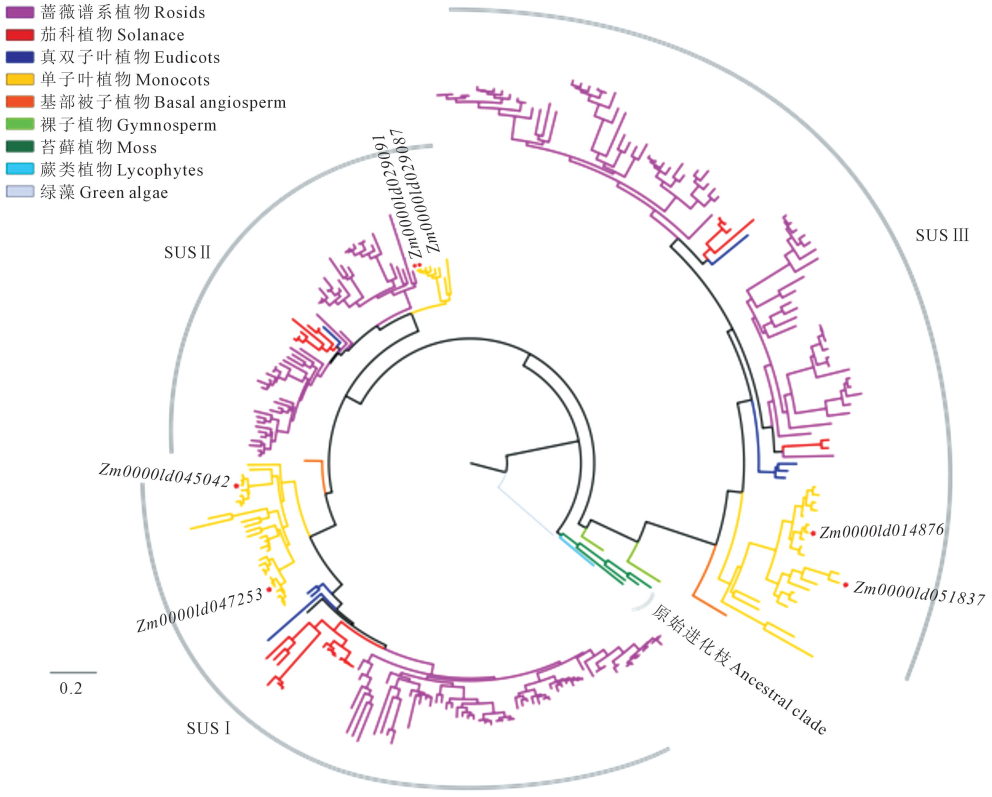
2.4　玉米 *SUS* 基因家族的干旱胁迫响应表达模式分析

为探究 *SUS* 基因在植物应对非生物胁迫中的生物学功能,以玉米为例,分析了正常生长和干旱胁迫下玉米三个组织(叶、雄穗和雌穗)在四个发育时期(V12、V14、V18 和 R1)内 *SUS* 基因家族成员的表达情况。

玉米 *SUS* 基因家族包含 SUS Ⅰ-Ⅲ 3 个亚家族,共有 6 个成员,每个亚家族各有 2 个成员。同正常生长条件(WW)相比,干旱胁迫(DS)处理下玉米中 4 个 *SUS* 基因表达水平呈现差异,亚家族之间的基因表达具有明显不同的表达模式,同一亚家族内的两个基因呈现出相似的表达模式,尤其 SUS Ⅱ内的两个基因在不同组织的不同发育时期均具有极为相似的表达趋势和表达水平。SUS Ⅰ有一个差异表达基因(*Zm00001d045042*),干旱胁迫下,*Zm00001d045042* 在叶片的 R1 时期表达上调($|\log_2(\text{Fold change})| = 1.82143$, $\text{FDR} = 1.88\times10^{-4}$);SUS Ⅱ中两个基因均呈现差异表达,其中 *Zm00001d029087* 在雌穗的 R1 时期受干旱诱导表达上调($|\log_2(\text{Fold change})| = 1.47467$, 1.88×10^{-4}),在 Tassel_V12 表达上调(1.80696, 9.37×10^{-4}),*Zm00001d029091* 在 Ear_R1 表达上调(1.7783, 4.55×10^{-3}),在 Ear_V12 表达上调(1.93171, 3.65×10^{-4});SUS Ⅲ有一个基因差异表达,*Zm00001d014876* 在 Ear_R1 表达下调(-1.85212, 3.56×10^{-4}),在 Leaf_R1 表达上调(1.03997, 1.88×10^{-4})(图 6,见 78 页),玉米 *SUS* 基因在干旱胁迫下的表达水平变化表明其响应干旱胁迫调节,有潜在的抗旱功能。另外,SUS Ⅲ的两个基因的表达模式不同,*Zm00001d014876* 在 R1 和 V18 两个时期有表达高峰,而 *Zm00001d051837* 在各个时期都只有低水平的表达,这暗示了 SUS Ⅲ中可能发生的功能分化或冗余。

3　讨　论

随着植物全基因组序列的公开,越来越多 *SUS* 基因家族从不同单物种中得到鉴定,然而基于多物种进行系统分析 *SUS* 基因家族的研究还鲜见报道。本研究整合物种进化、氨基酸序列、基因共线性关系以及玉米 *SUS* 家族的基因结构和干旱诱导转录表达谱分析,对 50 个物种内鉴定出的 283 个 *SUS* 基因进行了综合分析。

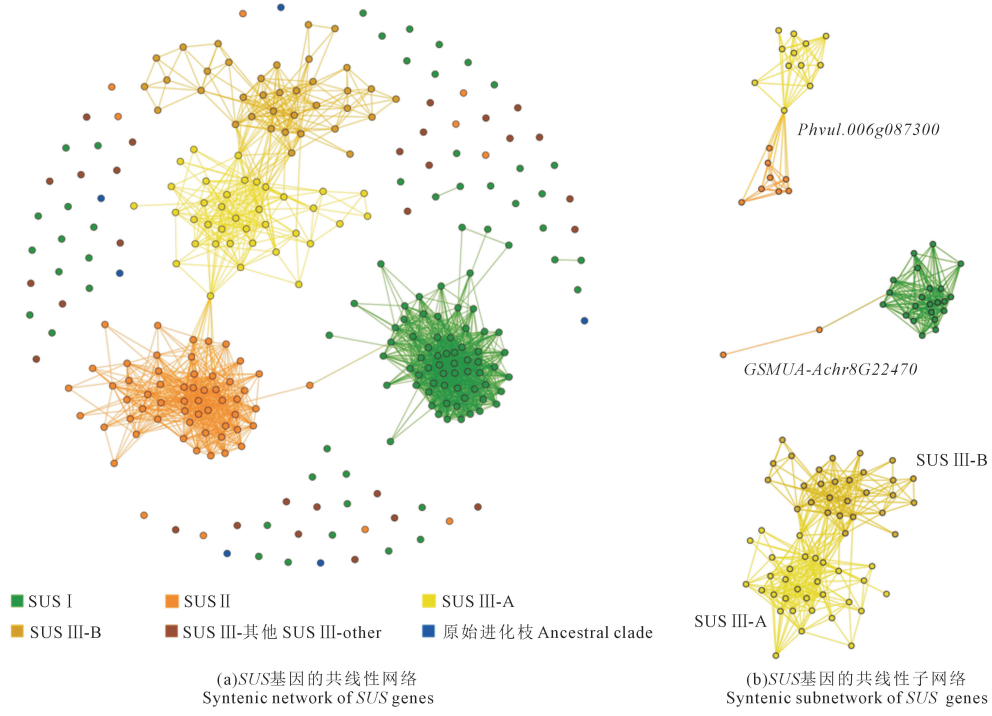


注:图中五角星代表玉米 *SUS* 基因。

Note: The maize *SUS* genes are marked byasterisks.

图 2 *SUS* 基因家族的系统发育树

Fig.2 Phylogenetic tree of *SUS* gene family

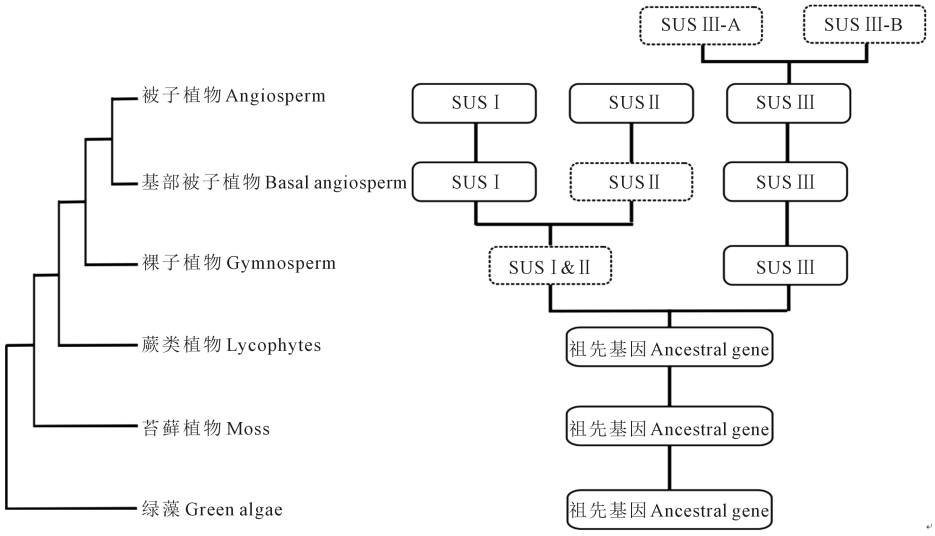


注:绿色节点代表 SUS Ⅰ 基因,橙色节点代表 SUS Ⅱ 基因,黄色节点代表 SUS Ⅲ-A 基因,深黄色节点代表 SUS Ⅲ-B 基因,棕色节点代表 SUS Ⅲ 的其它基因,蓝色节点代表原始进化枝的基因。

Note: Each node represents a gene of the *SUS* family. Green nodes represent genes of SUS Ⅰ, orange nodes represent genes of SUS Ⅱ, yellow nodes represent genes of SUS Ⅲ-A subgroup, dark yellow nodes represent genes of SUS Ⅲ-B subgroup, brown nodes represent the other SUS Ⅲ genes, and blue nodes represent genes of the ancestor clade.

图 4 *SUS* 基因家族的共线性关系

Fig.4 Synteny analysis of *SUS* gene family



注:虚线框代表推测存在的亚家族共同祖先和可能出现的进一步分化结果。

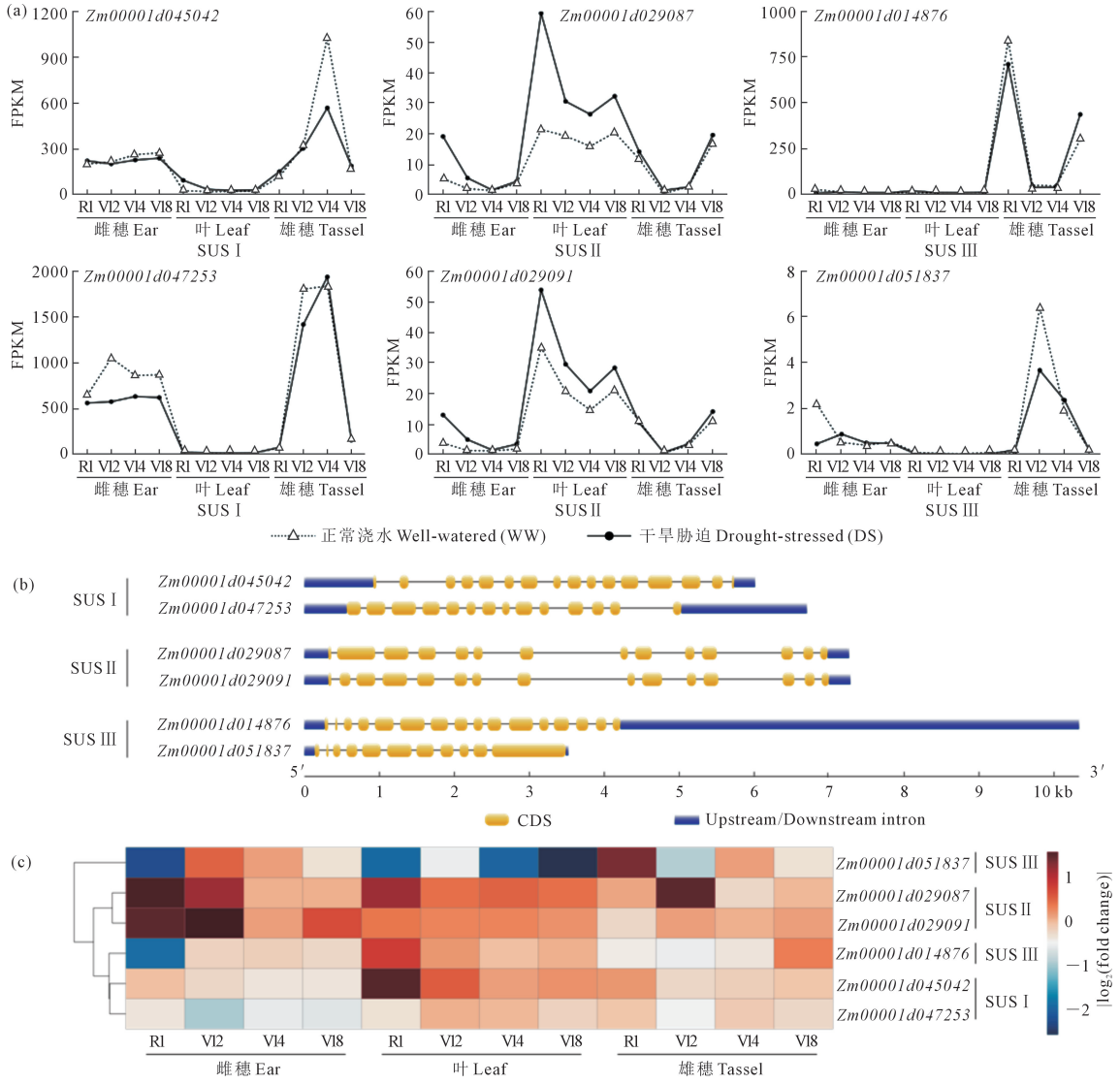
Note: The dashed box represents the potential common ancestor of the subfamily and possible further differentiation results.

图 5　植物 *SUS* 基因家族进化轨迹

Fig.5　The evolutionary track of the plant *SUS* gene family

系统发育分析结果表明,植物 *SUS* 基因家族在三个早期物种胶球藻、小立碗藓和卷柏中未出现明显的亚家族结构分化,从裸子植物挪威云杉开始出现结构的分化,*SUS* 祖先基因最先进化出 SUS Ⅲ亚家族,到基部被子植物无油樟中出现 SUS Ⅰ亚家族的分化,而单子叶和双子叶植物中又进化出 SUS Ⅱ亚家族,这可能表明 *SUS* 基因家族的结构分化是从裸子植物和被子植物的共同祖先中开始出现的,每一次新的结构分化可能伴随着物种的分化而产生。此外,三个亚家族中的单子叶和双子叶植物来源的成员分别呈现明显的分簇聚类,这与文献[16]报道中 10 种双子叶植物和 5 种单子叶植物 *SUS* 基因家族进化的分簇聚类模式一致;有趣的是,我们发现 SUS Ⅰ中所有双子叶植物的基因仅聚类在一个进化枝内,而 SUS Ⅱ和 SUS Ⅲ内双子叶植物的基因聚类在两个分枝内,这可能暗示了 SUS Ⅰ中双子叶植物的基因功能更趋于保守,而 SUS Ⅱ和 SUS Ⅲ中的双子叶植物的基因产生了潜在的功能分化;然而,三个亚家族内的双子叶植物的基因进化枝存在明显不同,其中 SUS Ⅱ内的双子叶植物的两个基因进化分枝的物种类别不同,其中一个分枝内没有鉴定出茄科植物(马铃薯、番茄、辣椒、双峰狸藻、猕猴桃)和真双子叶植物(莲和甜菜)中的 *SUS* 基因,这表明这些基因可能在物种进化过程中发生了丢失,而其它双子叶植物基因进化分枝的物种均由真双子叶植物、茄科和蔷薇谱系的物种构成。

SUS 基因家族的共线性分析表明,有 197 个(197/283, 69.86%)基因为共线性同源基因,这些具有共线性的基因仅存在于 40 种被子植物中。基因间的共线性关系主要集中在三个亚家族内部,跨不同亚家族的基因共线性关系仅有 9 对,我们推测三个亚家族可能具有各自独立的进化模式,这与系统发育关系表明的 *SUS* 基因家族呈现出的三个亚家族的进化模式一致;其中 SUS Ⅰ内含有最多的共线性基因对(962/1969,48.86%),SUS Ⅱ和 SUS Ⅲ含有数目接近的共线性基因对。SUS Ⅰ的双子叶植物的 52 个基因之间形成 747 个共线性基因对,不同双子叶植物的基因之间具有广泛的共线性关系,而且单子叶植物和双子叶植物之间的共线性基因对也较多(163 对),暗示 SUS Ⅰ内基因的进化十分保守;然而,SUS Ⅱ内双子叶植物的 49 个基因之间形成了 521 个共线性基因对,SUS Ⅲ内双子叶植物的 63 个基因之间仅形成了 362 个共线性基因对。有趣的是,我们发现 SUS Ⅲ成员的共线性网络中明显呈现出两个独立的共线性亚群 SUS Ⅲ-A 和 SUS Ⅲ-B,而系统发育树(图 2)分析表明,SUS Ⅲ亚家族成员分别聚类为单子叶植物和双子叶植物的两个进化枝,其中双子叶植物的基因进化枝又包括两个亚组,而其中的一个双子叶植物的进化枝亚组与单子叶植物的进化枝成员形成 SUS Ⅲ-B 共线性子网络,另一个双子叶植物的进化枝亚组单独形成 SUS Ⅲ-A 共线性子网络(图 4),这表明两个双子叶植物的进化枝亚组可能在物种进化过程中出现了更多的序列变异,暗示 SUS Ⅲ的两个双子叶植物的亚组



注:(a)正常和干旱条件下玉米 *SUS* 基因在各组织不同发育时期的表达水平;(b)玉米 *SUS* 基因内含子-外显子结构;(c)干旱条件下玉米 *SUS* 基因差异表达热图。

Note: (a) Expressions profiles of maize *SUS* gene in three tissues of maize at four developmental stages under well-watered and drought-stressed conditions; (b) The intron-exon structure of *SUS* genes in maize; (c) Heatmap of expression levels of maize *SUS* genes under drought stress.

图 6 玉米 *SUS* 基因结构和表达模式

Fig.6 Maize *SUS* gene structure and expression pattern

成员在物种进化过程中具有继续分化的趋势,而且,与 SUS Ⅰ和 SUS Ⅱ亚家族相比,SUS Ⅲ内各成员也表现出更大差异的理化性质(图 3)。

玉米干旱胁迫转录组数据表达分析进一步揭示了玉米 *SUS* 基因在干旱胁迫下的表达模式。共有 4 个玉米 *SUS* 基因受干旱诱导差异表达,这表明 *SUS* 基因在玉米干旱应答中起作用,这与关于禾本科作物抗旱胁迫研究类似。干旱胁迫处理后,大麦 *HvSs3* 转录表达水平升高[33],高粱蔗糖合酶基因 *SbSusy1*、*SbSusy3*、*SbSusy4* 和 *SbSusy5* 能提高高粱幼苗的抗旱性,*SbSusy2* 在干旱胁迫处理后表达下调[34];而且 SUS Ⅰ和 SUS Ⅱ亚家族内的 2 个成员在玉米不同生长发育时期分别表现出相似的表达趋势或模式,而 SUS Ⅲ内的两个基因的表达模式差异较大;基因结构分析表明,SUS Ⅰ和 SUS Ⅱ亚家族内的 2 个成员分别具有相似的外显子-内含子结构特征,而 SUS Ⅲ内的两个成员结构表现出较大差异,这充分说明了基因结构决定了基因表达的模式,进一步决定基因的功能。该结果也说明 SUS Ⅰ和 SUS Ⅱ亚家族成员的结构和表达具有各自的保守性,这两个亚家族可能来自于古老的被子植物祖先经过全基因组复制而产生,进一步产生了某些程度的功能分化;而 SUS Ⅲ成员表现出更多的趋异特征,保守性较 SUS Ⅰ、Ⅱ相比更弱,这也与三个亚家族各自的

进化特征相一致。

现有的蔗糖合酶基因研究表明,蔗糖合酶基因广泛参与植物生长发育和胁迫响应,在抗低温、低氧、重金属、干旱响应中都发挥作用。本研究初步研究了植物蔗糖合酶家族的进化,并揭示其在玉米中发挥的干旱功能,为进一步研究玉米抗旱功能提供了依据。

参 考 文 献:

[1] SCHMÖLZER K, GUTMANN A, DIRICKS M, et al. Sucrose synthase: a unique glycosyltransferase for biocatalytic glycosylation process development[J]. Biotechnology Advances, 2016, 34(2): 88-111.

[2] FUJII S, HAYASHI T, MIZUNO K. Sucrose synthase is an integral component of the cellulose synthesis machinery [J]. Plant and Cell Physiology, 2010, 51(2): 294-301.

[3] STEIN O, GRANOT D. An overview of sucrose synthases in plants[J]. Frontiers in Plant Science, 2019, 10: 95.

[4] BIENIAWSKA Z, PAUL BARRATT D H, GARLICK A P, et al. Analysis of the sucrose synthase gene family in *Arabidopsis*[J]. The Plant Journal, 2007, 49(5): 810-828.

[5] TAKEHARA K, MURATA K, YAMAGUCHI T K A, et al. Thermo-responsive allele of *sucrose synthase* 3 (*Sus3*) provides high-temperature tolerance during the ripening stage in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Breeding Science, 2018, 68(3): 336-342.

[6] FAN C F, WANG G Y, WU L M, et al. Distinct cellulose and callose accumulation for enhanced bioethanol production and biotic stress resistance in *OsSUS3* transgenic rice [J]. Carbohydrate Polymers, 2020, 232: 115448.

[7] ALBRECHT G, MUSTROPH A. Localization of sucrose synthase in wheat roots: increased in situ activity of sucrose synthase correlates with cell wall thickening by cellulose deposition under hypoxia[J]. Planta, 2003, 217(2): 252-260.

[8] WANG H Y, SUI X L, GUO J J, et al. Antisense suppression of cucumber (*Cucumis sativus* L.) sucrose synthase 3 (*CsSUS3*) reduces hypoxic stress tolerance[J]. Plant, Cell & Environment, 2014, 37(3): 795-810.

[9] LI C, LIU Y, TIAN J, et al. Changes in sucrose metabolism in maize varieties with different cadmium sensitivities under cadmium stress [J]. PLoS One, 2020, 15(12): e0243835.

[10] DUAN Y K, YANG L, ZHU H J, et al. Structure and expression analysis of sucrose phosphate synthase, sucrose synthase and invertase gene families in *Solanum lycopersicum*[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(9): 4698.

[11] CHEN L, ZHENG F H, FENG Z L, et al. A vacuolar invertase CsVI2 regulates sucrose metabolism and increases drought tolerance in *Cucumis sativus* L[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 23(1): 176.

[12] DU Y L, ZHAO Q, CHEN L R, et al. Effect of drought stress during soybean R2-R6 growth stages on sucrose metabolism in leaf and seed [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(2): 618.

[13] ZHU X D, WANG M Q, LI X P, et al. Genome-wide analysis of the sucrose synthase gene family in grape (*Vitis vinifera*): structure, evolution, and expression profiles[J]. Genes, 2017, 8(4): 111.

[14] ABDULLAH M, CAO Y, CHENG X, et al. The sucrose synthase gene family in Chinese pear (*Pyrus bretschneideri* Rehd.): structure, expression, and evolution[J]. Molecules, 2018, 23(5): 1144.

[15] KORAMUTLA M K, RAM C, BHATT D, et al. Genome-wide identification and expression analysis of sucrose synthase genes in allotetraploid *Brassica juncea*[J]. Gene, 2019, 707: 126-135.

[16] XU X Y, YANG Y H, LIU C X, et al. The evolutionary history of the sucrose synthase genefamily in higher plants[J]. BMC Plant Biology, 2019, 19(1): 566.

[17] FINN R D, TATE J, MISTRY J, et al. The Pfam protein families database[J]. Nucleic Acids Research, 2008, 36(suppl_1): D281-D288.

[18] FINN R D, CLEMENTS J, EDDY S R. HMMER web server: interactive sequence similarity searching[J]. Nucleic Acids Research, 2011, 39(suppl_2): W29-W37.

[19] ALTSCHUL S F, GISH W, MILLER W, et al. Basic local alignment search tool[J]. Journal of Molecular Biology, 1990, 215(3): 403-410.

[20] LU S N, WANG J Y, CHITSAZ F, et al. CDD/SPARCLE: the conserved domain database in 2020[J]. Nucleic Acids Research, 2020, 48(D1): D265-D268.

[21] ZHAO T, HOLMER R, DE BRUIJN S, et al. Phylogenomic synteny network analysis of MADS-box transcription factor genes reveals lineage-specific transpositions, ancient tandem duplications, and deep positional conservation[J]. The Plant Cell, 2017, 29(6): 1278-1292.

[22] TAN J F, MIAO Z Y, REN C Z, et al. Evolution of intron-poor clades and expression patterns of the glycosyltransferase family 47[J]. Planta, 2018, 247(3): 745-760.

[23] KATOH K, STANDLEY D M. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability[J]. Molecular Biology and Evolution, 2013, 30(4): 772-780.

[24] PRICE M N, DEHAL P S, ARKIN A P. FastTree: computing large minimum evolution trees with profiles instead of a distance matrix[J]. Molecular Biology and Evolution, 2009, 26(7): 1641-1650.

[25] WANG Y P, TANG H B, DEBARRY J D, et al. MCScanX: a toolkit for detection and evolutionary analysis of gene synteny and collinearity [J]. Nucleic Acids Research, 2012, 40(7): e49.

[26] GASTEIGER E, HOOGLAND C, GATTIKER A, et al. Protein identification and analysis tools on the ExPASy server[M]//WALKER J M. The proteomics protocols handbook. Totowa, N.J.: Humana Press, 2005: 571-607.

[27] BRIESEMEISTER S. RAHNENFÜHRER J, KOHLBACHER O. YLoc—an interpretable web server for predicting subcellular localization[J]. Nucleic Acids Research, 2010, 38(suppl_2): W497-W502.

[28] BARRETT T, WILHITE S E, LEDOUX P, et al. NCBI GEO: archive for functional genomics data sets—update[J]. Nucleic Acids Research, 2013, 41(D1): D991-D995.

[29] THATCHER S R, DANILEVSKAYA O N, MENG X, et al. Genome-wide analysis of alternative splicing during development and drought stress in maize[J]. Plant Physiology, 2016, 170(1): 586-599.

[30] LIANG Z K, SCHNABLE J C. Functional divergence between subgenomes and gene pairs after whole genome duplications[J]. Molecular Plant, 2018, 11(3): 388-397.

[31] ZHAO T, SCHRANZ M E. Network approaches for plant phylogenomic synteny analysis [J]. Current Opinion in Plant Biology, 2017, 36: 129-134.

[32] GAO B, WANG L Q, OLIVER M, et al. Phylogenomic synteny network analyses reveal ancestral transpositions of auxin response factor genes in plants[J]. Plant Methods, 2020, 16: 70.

[33] BARRERO-SICILIA C, HERNANDO-AMADO S, GONZÁLEZ-MELENDI P, et al. Structure, expression profile and subcellular localisation of four different sucrose synthase genes from barley [J]. Planta, 2011, 234(2): 391-403.

[34] LU Y L, HAN S P, ZHOU C, et al. Molecular identification and expression analysis of five sucrose synthase genes in *Sorghum bicolor*[J]. Physiology and Molecular Biology of Plants, 2022, 28(4): 697-707.