

甘薯*IbFBA5*基因的时空表达及与碳水化合物积累的关系

苏在兴^{1,2}, 高闰飞², 唐维^{1,2}, 闫会^{1,2}, 后猛^{1,2}, 王欣^{1,2}, 刘亚菊^{1,2}, 张允刚^{1,2}, 马代夫^{1,2}, 李强^{1,2,*}

¹江苏徐淮地区徐州农业科学研究所/农业部甘薯生物学与遗传育种重点实验室/江苏徐州甘薯研究中心, 江苏徐州221131;

²中国农业科学院甘薯研究所, 江苏徐州221131

摘要: 果糖-1,6-二磷酸醛缩酶(FBA)是糖酵解、糖异生、磷酸戊糖途径及光合作用过程的关键酶。本研究利用荧光定量分析研究*IbFBA5*基因在甘薯不同组织及不同生长时期的表达及与叶片和贮藏根中碳水化合物积累的关系。结果表明, *IbFBA5*具有组织表达特异性, 在甘薯‘徐781’叶片中表达量最高, 其次是地下部(牛蒡根、储藏根和纤维根), 叶柄、茎和花中表达量较低; 甘薯储藏根初始膨大期至膨大盛期, *IbFBA5*在‘徐薯18’叶片中表达量均极显著高于在‘徐薯18’中的表达量; 而在储藏根初始膨大期和膨大盛期, 该基因在‘徐781’储藏根中的表达量均显著或极显著高于‘徐薯18’中的表达量。可溶性糖和淀粉含量分析表明, 甘薯初始膨大期至膨大中期, 叶片和储藏根中果糖和葡萄糖的含量均极显著提高, 储藏根中淀粉含量也极显著提高, 然而储藏根中的蔗糖含量及叶片中淀粉含量极显著降低。甘薯叶片和储藏根中*IbFBA5*的表达模式分别与不同时期叶片中淀粉的含量变化和储藏根中果糖及葡萄糖的含量变化趋势具有一致性。

关键词: 甘薯; 果糖-1,6-二磷酸醛缩酶; 时空表达; 可溶性糖; 淀粉

果糖-1,6-二磷酸醛缩酶(fructose-1,6-bisphosphate aldolase, FBA)是糖酵解、糖异生、磷酸戊糖途径及光合作用过程的关键酶(Du等2011; Fushinobu等2011; Lu等2012; Metallo和Vander 2013; Zhu等2007; Flechner等1999; Grant 2008), FBA催化3-磷酸甘油醛(glyceraldehyde-3-phosphate, GA3P)和磷酸二羟丙酮(dihydroxyacetone phosphate, DHAP)醇醛缩合可逆的生成果糖-1,6-二磷酸(Say和Fuchs 2010)。FBA有I型和II型两种非同源类型(Patron等2004), 在细胞中具有细胞质醛缩酶和质体醛缩酶两种亚细胞定位。FBA的调控机制在水稻、梨等植物中已有报道。水稻果糖-1,6-二磷酸醛缩酶基因(*OsAld-Y*)参与调控叶绿素的积累和叶绿体的发育, 进而影响叶片的光合速率和糖类代谢(Zhang等2016)。在梨的糖和酸代谢研究中发现, 随成熟期的推进, 中果皮部位的FBA表达量逐渐提高; 相反, 果核中FBA表达量逐渐降低, 该蛋白在上述两个部位的表达丰度与基因的表达趋势基本吻合, 推测FBA等蛋白的不同积累模式造成果核酸度过高(Gao等2016)。在集胞藻属PCC 6803的研究中发现, 过表达FBA等基因能增加细胞的生长速率, 积累更多生物物质(Liang和Lindblad 2016)。

甘薯属于旋花科(Convolvulaceae)番薯属(*Ipomoea*), 是高度杂合的异缘六倍体双子叶植物。甘薯是世界第七大粮食作物, 是最重要的淀粉型作物之一, 每年世界总产量约为1.3亿吨。甘薯耐逆性强, 种植广泛, 在热带和温带的一些欠发达国家,

甘薯是重要的主粮或救急食品, 另外甘薯也可作为饲料、工业原料及生物质能源原料。甘薯富含淀粉、钾元素、花青苷、胡萝卜素以及膳食纤维, 是最具保健功能的健康食品(Ji等2016; Katayama等2015; Shekhar等2016; 陈晓丽等2015; 杨俊等2011)。在我国, 甘薯总产量仅次于水稻、小麦和玉米, 居第四位; 种植面积占世界种植面积的45%左右; 2014年中国甘薯的总产量为0.7亿吨, 是世界甘薯总产量的68.3%(FAO 2016; 马代夫等2012)。

甘薯是重要的淀粉来源作物, 阐明影响碳水化合物代谢的因素对于甘薯育种等相关研究至关重要, 而目前关于果糖-1,6-二磷酸醛缩酶与碳水化合物代谢的报道较少。本实验室前期已经克隆到*IbFBA5*基因, 并对其进行生物信息学分析(苏在兴等2015)。本文重点研究*IbFBA5*的时空表达, 并分析其与甘薯储藏根和叶片中可溶糖和淀粉含量的关系, 为高淀粉甘薯新品种选育提供理论基础。

材料与方法

1 植物材料

甘薯[*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] ‘徐薯18’和‘徐781’的储藏根由中国农业科学院甘薯研究所提

收稿 2017-02-15 修定 2017-03-30

资助 现代农业产业技术体系建设专项资金(CARS-11, 甘薯)、国家高技术研究发展计划(2012AA101204)和江苏省重点研发计划项目(BE2015313)。

* 通讯作者(E-mail: instrong@163.com)。

供。‘徐薯18’是我国育成的淀粉含量中等、综合性状优良的甘薯主栽品种,‘徐781’是从国际马铃薯中心引进的实生种籽中筛选的淀粉含量高的育种亲本材料。

2 试剂

提取储藏根总RNA试剂盒购自华越洋(超新型植物RNA提取试剂盒, GK系列)、提取叶片总RNA试剂盒购自上海捷瑞生物[动物总RNA快速提取试剂盒(离心柱型), GK3016]; 逆转录酶M-MLV购自Promega公司; dNTP mix (10.0 mol·L⁻¹ each)和RNasin (40.0 U·μL⁻¹)购买自北京康为试剂公司; 荧光定量SYBR Green Realtime PCR Master Mix QPK-201 (TOYOBO, Osaka, Japan); GOPOD试剂、α-淀粉酶(K-TSTA, Megazyme)、淀粉葡萄糖苷转移酶(K-TSTA, Megazyme); 葡萄糖标样(158968-25G)、果糖标样(F0127-100G)、蔗糖标样(S7903-250G)购自Sigma; 无水乙醇、氯仿等试剂购自上海生工公司。

3 试验方法

3.1 材料种植及取样

将‘徐薯18’和‘徐781’的薯块于苗床催芽, 剪取25.0 cm左右的薯苗栽插到甘薯研究所试验田, 3次重复, 每个重复20株, 株距23 cm, 行距80 cm, 其他管理措施同常规大田管理。于栽后40 d (储藏根初始膨大期, initial period of expansion, IPE)、70 d (膨大中期, medium period of expansion, MPE)、100 d (膨大盛期, peak period of expansion, PPE)和130 d (收获期, harvest period, HP), 分别取3株长势相同的植株进行叶片和薯块取样。取样时间为下午6点, 取顶端3片展开叶片和薯形均匀、中等大小、表面光滑的薯块切成细小颗粒, 部分样品迅速转入液氮处理, 并存于-80°C冰箱中用于RNA提取; 剩余样品于烘箱内40°C处理24 h, 研碎后测定可溶性糖和淀粉含量。另取栽后70 d的‘徐781’叶片、叶柄、茎、花、储藏根、牛蒡根和纤维根切碎后分装于1.5 mL离心管中, 迅速液氮处理, 转入-80°C冰箱保存。由于栽后130 d, 叶片受到霜冻, 所以没有取叶片样品分析。

3.2 植物总RNA提取及cDNA第一链合成

参照捷瑞试剂盒和华越洋试剂盒提取叶片和薯块中的总RNA。采用1.2%甲醛变性琼脂糖凝胶检测RNA的完整性, 用NanoDrop-1000紫外可见分

光光度计检测所提RNA的浓度。用M-MLV逆转录酶进行cDNA第一链的合成。

3.3 基因表达量检测

运用Primer Premier 5.0设计*IbFBA5*基因的实时荧光定量PCR引物, *IbFBA5* qS: 5' GCGACGGT-GAACCTAAA 3'和*IbFBA5* qA: 5' ACTTGTATC-CCGAGACGAA 3'。以*IbActin*为内参基因, 引物序列为*IbActin* qS: 5' TCCAAACCAACCTTGTACCC 3'和*IbActin* qA: 5' CTCGGTACATCAAGCAGCAA 3' (Park等2012)。引物由上海生工公司合成。实时荧光定量PCR检测方法参照试剂SYBR Green Realtime PCR Master Mix QPK-201的操作说明。

所用操作软件为StepOne Software v2.2.2, 采用3步反应程序, 反应程序如下: 95°C 1 min, 95°C 15 s, 60°C 15 s, 72°C 20 s, 共40个循环。溶解曲线阶段95°C 15 s, 60°C 1 min, 95°C 15 s; 60°C到95°C, 每个循环增加0.3°C。于延伸阶段收集荧光信号。

用2^{-ΔΔCt}法计算不同时期*IbFBA5*在甘薯叶片和储藏根中的相对表达量(Schmittgen和Livak 2008)。用Microsoft Excel 2013和SPSS 21.0进行数据整理和分析。

3.4 甘薯栽后不同时期淀粉和可溶糖含量的测定及计算

运用淀粉酶水解甘薯总淀粉, 并用分光光度法测定淀粉的含量(Smith和Zeeman 2006)。运用高效液相色谱法分析甘薯叶片和储藏根的葡萄糖、果糖和蔗糖含量, 具体步骤如下: 取40°C烘24 h的样品于研钵中充分研碎, 称取约30.0 mg于1.5 mL离心管中; 加入700.0 μL 80.0%乙醇, 充分震荡混匀, 70°C孵育2 h; 加入700.0 μL ddH₂O, 16 000×g离心3 min; 上清移入干净离心管中, 加500.0 μL氯仿并混匀, 16 000×g离心3 min; 将上清移入离心管中, 重复用氯仿抽提3次; 上清液在Agilent液相色谱HPLC-RI利用carbohydrate clolum分离, 柱温为30°C, 流速为1.0 mL·min⁻¹。标准样品同实验样品一样处理, 标准样品含葡萄糖(158968-25G)、果糖(F0127-100G)和蔗糖(S7903-250G)。

实验结果

1 甘薯不同组织中*IbFBA5*的表达分析

荧光定量PCR检测结果表明, *IbFBA5*在‘徐781’的叶片(leaf, L)、叶柄(petiole, P)、茎(stem,

S)、花(flower, F)、储藏根(storage root, SR)、牛蒡根(pencil root, PR)和纤维根(fiber root, FR)中均有表达, 但表达量具有组织特异性。以在花中的表达量为参照, 各组织的表达量均极显著高于在花中的表达量; *IbFBA5*在叶片中相对表达量最高, 是花中表达量的178.1倍; 其次是牛蒡根和储藏根, 分别是花中表达量的86.0倍和75.5倍, 叶柄和茎的表达量较低, 分别为6.3倍和8.3倍(图1)。

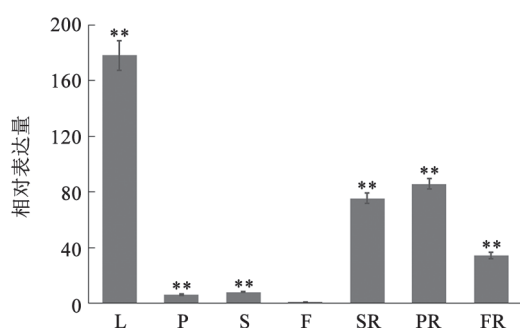


图1 *IbFBA5*在甘薯‘徐781’不同组织的表达分析
Fig.1 Relative expression levels of *IbFBA5* in different tissues of sweetpotato ‘Xu781’

L: 叶片; P: 叶柄; S: 茎; F: 花; SR: 储藏根; PR: 牛蒡根; FR: 纤维根。 **表示‘徐781’花中*IbFBA5*的表达量与其他组织中的差异达极显著水平($P<0.01$), *t*检验。

2 甘薯不同生长时期*IbFBA5*的表达分析

2.1 叶片中*IbFBA5*的表达分析

从储藏根初始膨大期至膨大盛期, 叶片中*IbFBA5*在‘徐薯18’中的表达呈先上升后下降的模式, 膨大中期的表达量是初始膨大期的1.7倍, 膨大盛期表达量回至初始膨大期水平; 膨大中期‘徐781’叶片中*IbFBA5*的表达量较初始膨大期的表达量略高, 但膨大盛期显著下降。比较初始膨大期至膨大盛期, *IbFBA5*基因在‘徐薯18’叶片中的表达量始终显著高于相应时期在‘徐781’叶片中的表达量(图2-A)。

2.2 储藏根中*IbFBA5*的表达分析

‘徐薯18’储藏根中前3个时期*IbFBA5*的表达模式与其叶片中的情况相同, 即表达量先上升后下降, 但收获期的表达量显著上升, 是初始膨大期的1.9倍; 在‘徐781’储藏根中的表达量呈先上升后下降的模式, 于膨大盛期表达量最高。比较各时期该基因在‘徐薯18’和‘徐781’储藏根中的相对表达量可知, 初始膨大期和膨大盛期‘徐781’中的表达量显著或极显著高于在‘徐薯18’中的表达量, 另外两个时期该基因在两品种中的表达量没有显著性差异(图2-B)。

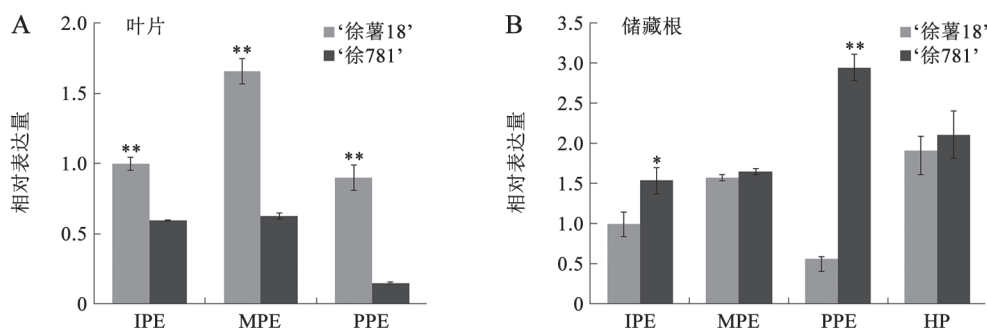


图2 不同时期甘薯叶片和储藏根中*IbFBA5*的表达分析

Fig.2 Expression patterns of *IbFBA5* in leaves and storage roots at different growth periods of sweetpotato

IPE: 储藏根初始膨大期; MPE: 膨大中期; PPE: 膨大盛期; HP: 收获期。 *表示同一时期不同品种间差异达显著水平($P<0.05$); **表示同一时期不同品种间差异达极显著水平($P<0.01$), *t*检验。

3 甘薯不同生长时期碳水化合物的变化分析

3.1 果糖含量的变化

从储藏根初始膨大期至膨大盛期, ‘徐薯18’叶片中果糖含量随生育期的推进呈逐渐增加的趋势; ‘徐781’叶片中果糖含量则呈先增加后降低的趋势。从储藏根初始膨大期至膨大盛期, ‘徐薯18’叶

片的果糖含量始终显著高于‘徐781’叶片中的果糖含量(图3-A)。

在储藏根膨大期, ‘徐薯18’储藏根中果糖含量在膨大中期极显著增加, 在膨大盛期回落至初始膨大期水平。收获期再次增加。‘徐781’储藏根中于膨大中期极显著增加, 此后的3个时期保持相对

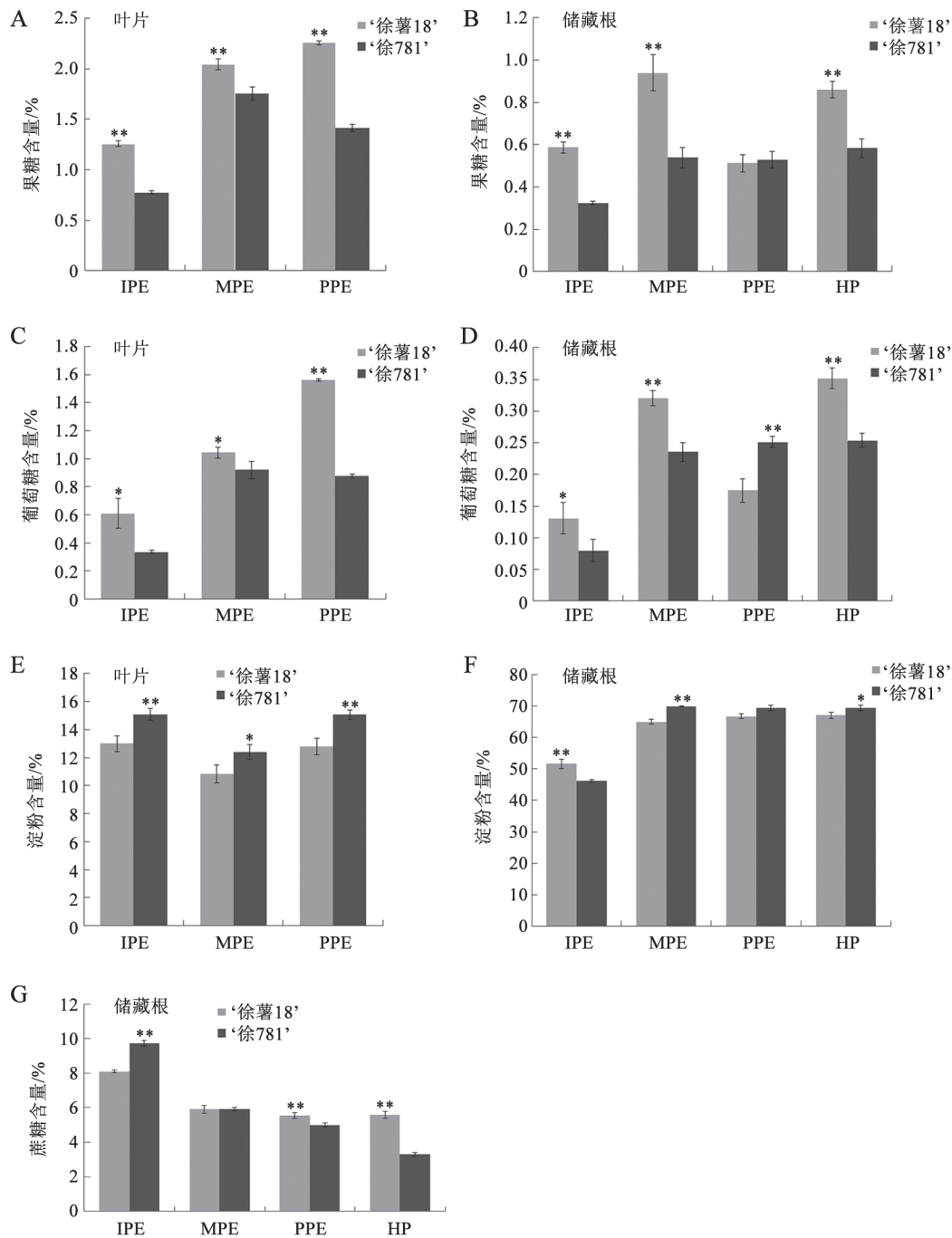


图3 不同时期甘薯叶片和储藏根中可溶性糖和淀粉含量变化

Fig.3 Changes in soluble sugar contents and starch contents in leaves and storage roots at different growth periods of sweetpotato

A和B: 果糖; C和D: 葡萄糖; E和F: 淀粉; G: 蔗糖。IPE: 储藏根初始膨大期; MPE: 膨大中期; PPE: 膨大盛期; HP: 收获期。*表示同一时期不同品种间差异达显著水平($P < 0.05$); **表示同一时期不同品种间的差异达极显著水平($P < 0.01$), t 检验。

稳定的水平; 除膨大盛期外, 其他时期‘徐薯18’储藏根果糖含量均极显著高于‘徐薯781’的含量(图3-B)。

3.2 葡萄糖含量的变化

从储藏根初始膨大期至膨大盛期, ‘徐薯18’

叶片中葡萄糖含量随生育期的推进呈线性增加的趋势; ‘徐薯781’叶片中葡萄糖含量则呈先增加后降低, 但膨大盛期的下降幅度较小。‘徐薯18’叶片中的葡萄糖含量均显著高于‘徐薯781’叶片各时期

的葡萄糖含量,且膨大盛期达到极显著水平(图3-C)。

在储藏根膨大期,‘徐薯18’储藏根中葡萄糖含量在膨大中期极显著增加,但膨大盛期下降明显,收获期再次显著增加,呈现“S”型曲线。‘徐薯781’储藏根中葡萄糖含量在膨大中期极显著增加,至收获期一直保持在相对稳定的水平。储藏根中葡萄糖的趋势和果糖相同,在初始膨大期,‘徐薯18’葡萄糖含量显著高于‘徐薯781’的含量;而在膨大盛期,‘徐薯781’的含量极显著高于‘徐薯18’的含量(图3-D)。

3.3 淀粉含量的变化

从储藏根初始膨大期至膨大盛期,‘徐薯18’叶片中淀粉含量在膨大中期极显著降低,并在膨大盛期回升至初始膨大期水平。‘徐薯781’叶片中的淀粉含量变化趋势与‘徐薯18’叶片相同,在膨大中期下降,膨大盛期回升到初始膨大期水平。各时期,‘徐薯781’叶片中淀粉含量始终高于相应时期‘徐薯18’叶片中的淀粉含量(图3-E)。

在储藏根膨大期,‘徐薯18’储藏根中,淀粉含量始终呈上升趋势,其中初始膨大期至膨大中期的增加幅度较大,此后变化缓慢并保持在65.0%~67.1%之间;‘徐薯781’储藏根中淀粉含量在膨大中期显著增加,此后保持在69.3%~69.9%水平;储藏根初始膨大期,‘徐薯18’的淀粉含量极显著高于‘徐薯781’储藏根的淀粉含量,此后‘徐薯781’的淀粉含量显著高于‘徐薯18’的淀粉含量(图3-F)。

初始膨大期至膨大中期两个品种的叶片中淀粉含量均极显著降低,而同一时期储藏根中淀粉含量均极显著提高(图3-E和F)。

3.4 蔗糖含量的变化

初始膨大期,‘徐薯18’储藏根中的蔗糖含量为8.1%,在膨大中期呈现下降趋势,一直到收获期,均保持在5.5%左右;而徐薯781储藏根中的蔗糖含量在全生育期均呈下降趋势,从9.7%逐渐降至3.3%。在储藏根初始膨大期,‘徐薯18’的蔗糖含量极显著低于‘徐薯781’的含量,到了膨大中期,两个品种之间没有明显差异,随着‘徐薯781’储藏根蔗糖含量的持续下降,在膨大盛期和收获期,‘徐薯18’储藏根的蔗糖含量均极显著高于徐薯781的含量。两个品种的叶片中均未检测到蔗糖(图3-G)。

初始膨大期至膨大中期,‘徐薯18’和‘徐薯781’

叶片和储藏根中的果糖含量和葡萄糖含量均极显著提高,但储藏根中的蔗糖含量却极显著减少(图3)。

4 *IbFBA5*的表达与碳水化合物含量的关系

研究发现,在甘薯不同生长时期*IbFBA5*的表达模式与碳水化合物的含量的变化趋势具有一定的相关性。

4.1 叶片中*IbFBA5*的表达与淀粉含量变化的关系

从储藏根初始膨大期至膨大盛期,甘薯叶片中*IbFBA5*基因呈先上升后下降的表达模式,而对应叶片中的淀粉含量则呈现出相反的变化趋势。‘徐薯18’和‘徐薯781’叶片中,*IbFBA5*基因的表达量均于膨大中期达到最高;但叶片中的淀粉含量在膨大中期达最低值,‘徐薯18’降至10.8%,‘徐薯781’降至12.4%,分别降低了2.1个百分点和2.6个百分点。膨大盛期,该基因在‘徐薯18’和‘徐薯781’叶片中的表达量均极显著降低,但同一时期2个品种叶片淀粉的含量回升至初始膨大期水平(图2-A和图3-E)。

4.2 储藏根中*IbFBA5*的表达与果糖及葡萄糖含量变化的关系

在甘薯储藏根不同膨大时期,*IbFBA5*在储藏根中的表达模式与果糖及葡萄糖含量的变化情况具有一致性。‘徐薯18’储藏根中*IbFBA5*的表达量和果糖及葡萄糖含量均于膨大中期上升,膨大盛期下降,收获期再上升。‘徐薯781’中膨大中期*IbFBA5*的表达量较初始膨大期高,后两个时期表达量显著上升;果糖和葡萄糖的含量在膨大中期开始大幅度提高,后期含量变化较小,果糖及葡萄糖含量的变化比*IbFBA5*基因表达量的变化有所提前(图2-B、图3-B和D)。

讨 论

1 *IbFBA5*基因的时空表达

本研究发现,*IbFBA5*在‘徐薯781’不同组织部位的相对表达量呈现出很大差异,具有组织特异性。*IbFBA5*基因在叶片中表达量最高,是在花中表达量的178.1倍;储藏根的表达量较高,是花的75.5倍,其表达水平达到叶片中表达水平的40%左右。拟南芥的*AtFBA5*基因在茎生叶中表达量最高,其次是莲座叶,根部几乎不表达(Lu等2012)。番茄中,*SlFBA5*在根中的表达量也最低,叶片中的

表达量是根部表达量的800倍以上(Cai等2016)。比较甘薯和拟南芥、番茄的*FBA5*基因表达,发现*IbFBA5*在甘薯储藏根中的表达量较高,而其他植物的*FBA5*在根中表达量低,推测这可能与甘薯储藏根快速代谢及营养物质储藏有关;甘薯储藏根的主要成分是淀粉,在AGPase催化葡萄糖-1-磷酸生成ADP-葡萄糖的过程中需要消耗ATP,*IbFBA5*的高表达可能是通过糖酵解途径为淀粉的合成提供能量(Yu等2015)。

不同品种间以及不同的生长时期,基因的表达情况存在较大的差异。本研究表明,膨大中期和收获期*IbFBA5*在‘徐薯18’和‘徐781’的储藏根中表达量没有显著性差异,而在储藏根初始膨大期至膨大盛期的叶片中以及储藏根初始膨大期和膨大盛期的储藏根中的表达量均呈现出显著或极显著差异。可能正是基因的差异表达,导致了2个品种在淀粉含量以及抗病虫等性状的不同。2016年,Lai等(2016)利用qRT-PCR分析直链淀粉含量差异明显的2个甘薯品种与淀粉合成相关基因的表达差异,结果也表明,*AGPase*、*GBSS*、*SS*和*SBE*等淀粉合成相关基因在高链淀粉含量品种TNN18薯块中的表达量显著高于低直链淀粉含量品种TNG31薯块中的表达量。

2 甘薯不同生长期碳水化合物化合物的积累

本研究发现,‘徐薯18’和‘徐781’的果糖与葡萄糖的变化趋势一致,初始膨大期果糖含量是葡萄糖含量的4.1~4.5倍,此后降至2.1~3.0倍;‘徐薯18’中这两种单糖含量的差异较‘徐781’的更大。葡萄糖与果糖是一对同分异构体,在植物体内可以相互转换来适应代谢对任何一种单糖的需要,如糖酵解过程中,在磷酸葡萄糖异构酶的作用下,葡萄糖-6-磷酸和果糖-6-磷酸可以相互转化,为后续糖酵解反应提供底物果糖-6-磷酸(王镜岩等2002)。

本研究还发现,在2个甘薯品种的叶片中均未检测到蔗糖,这可能与取样时间有关,傍晚6点光线已经明显转暗。前人的研究表明,由光照转向黑暗环境,植物叶片中蔗糖含量会有明显的下降(Chia等2004; Feugier和Satake 2013; Pokhilko和Ebenhoh 2015; Qian等2011),这与本实验研究结果吻合。

根据源库关系原理,甘薯储藏根初始膨大期至膨大盛期,‘徐781’叶片中的淀粉含量均高于‘徐薯18’叶片中的淀粉含量,这可能是‘徐781’薯块中

能保持高淀粉含量的原因。初始膨大期,‘徐薯18’储藏根的淀粉含量极显著高于‘徐781’的,可能原因是‘徐薯18’为早熟品种,膨大快,而‘徐781’在初始膨大期仍为牛蒡根。随着生育进程的推移,‘徐781’储藏根的淀粉含量均显著高于‘徐薯18’储藏根中各相应时期的淀粉含量,储藏根膨大中期达到极显著水平。在2个品种的叶片中,膨大中期的淀粉含量都有所下降,而同一时期薯块中的淀粉含量却有大幅度的提升。栽后70 d正是甘薯储藏根开始快速膨大时期,储藏根对淀粉等光合代谢物的容纳和需求量最大,所以叶片中合成的淀粉可以快速转化成单糖的形式,并运输到地下部进行存储。到膨大盛期,叶片中的淀粉含量回升到起始水平,而储藏根中的淀粉含量也趋于稳定,直到收获期其淀粉含量均保持在65.0%~70.0%之间。与主栽品种‘徐薯18’相比,‘徐781’淀粉含量高、抗茎线虫病,是一个优良的育种亲本材料。膨大中期后储藏根中淀粉含量变化不显著,含量相对稳定,变化量仅仅是薯块的膨大程度。

3 *IbFBA5*的表达与碳水化合物积累的关系

研究发现,在甘薯储藏根膨大不同时期*IbFBA5*的表达模式与碳水化合物的含量的变化趋势具有一定的关联。在‘徐薯18’和‘徐781’的叶片中*IbFBA5*基因均呈先上升后下降的表达模式,而不同时期2个品种叶片中淀粉含量的变化趋势则与基因的表达模式相反(图2-A、图3-E和F)。植物淀粉分为存储淀粉(storage starch)和暂时淀粉(transitory starch)两类。叶片是植物的光合器官,白天合成的淀粉以暂时淀粉形式存储在叶片叶绿体中,夜晚光合作用停止后,暂时淀粉分解为麦芽糖和葡萄糖,并转运出叶绿体,用于蔗糖合成、维持叶片呼吸及植物的正常生理代谢。膨大中期*IbFBA5*的表达量提高,可能通过糖酵解途径为此时段内转出麦芽糖、葡萄糖提供能量(Zeeman等2007)。在甘薯膨大不同时期*IbFBA5*在‘徐薯18’和‘徐781’储藏根中的表达模式与果糖及葡萄糖含量的变化情况具有一致性(图2-B、图3-B和D)。梨的果核中*FBA*的表达量与该部位的果糖-1,6-二磷酸醛缩酶的表达丰度一致,而中果皮中则不存在这种对应关系(Gao等2016)。果糖和葡萄糖是FBA催化途径中的底物之一,这种不同部位呈现出表达丰度不一致的原因有待进一步研究。

参考文献

- Cai BB, Li Q, Xu YC, Yang L, Bi HG, Ai XZ (2016). Genome-wide analysis of the fructose 1,6-bisphosphate aldolase (FBA) gene family and functional characterization of FBA7 in tomato. *Plant Physiol Biochem*, 108: 251–265
- Chen XL, Li HB, Sun ZM, Li MJ, Li YL, Kwak SS, Deng XP (2015). Overexpression of *IbMYB1* gene enhanced tolerance to soil drought stress in sweet potato. *Plant Physiol J*, 51 (9): 1440–1446 (in Chinese with English abstract) [陈晓丽, 李红兵, 孙振玫, 李孟洁, 李雨霖, 郭尚洙, 邓西平(2015). 过表达*IBMYB1*基因甘薯增强了对土壤干旱胁迫的抗性. *植物生理学报*, 51 (9): 1440–1446]
- Chia T, Thorneycroft D, Chapple A, Messerli G, Chen J, Zeeman SC, Smith SM, Smith AM (2004). A cytosolic glucosyltransferase is required for conversion of starch to sucrose in *Arabidopsis* leaves at night. *Plant J*, 37 (6): 853–863
- Du J, Say RF, Lü W, Fuchs G, Einsle O (2011). Active-site remodeling in the bifunctional fructose-1,6-bisphosphate aldolase/phosphatase. *Nature*, 478 (7370): 534–537
- FAO (2016). <http://faostat3.fao.org/home/E>
- Feugier FG, Satake A (2013). Dynamical feedback between circadian clock and sucrose availability explains adaptive response of starch metabolism to various photoperiods. *Front Plant Sci*, 3: 1–11
- Flechner A, Gross W, Martin WF, Schnarrenberger C (1999). Chloroplast class I and class II aldolases are bifunctional for fructose-1,6-bisphosphate and sedoheptulose-1,7-bisphosphate cleavage in the calvin cycle. *FEBS Lett*, 447 (2-3): 200–202
- Fushinobu S, Nishimasu H, Hattori D, Song H, Wakagi T (2011). Structural basis for the bifunctionality of fructose-1,6-bisphosphate aldolase/phosphatase. *Nature*, 478 (7370): 538–541
- Gao Z, Zhang C, Luo M, Wu Y, Duan S, Li J, Wang L, Song S, Xu W, Wang S, et al (2016). Proteomic analysis of pear (*Pyrus pyrifolia*) ripening process provides new evidence for the sugar/acid metabolism difference between core and mesocarp. *Proteomics*, 16 (23): 1–41
- Grant CM (2008). Metabolic reconfiguration is a regulated response to oxidative stress. *J Biol*, 7 (1): 1–4
- Ji CY, Kim Y, Kim HS, Ke Q, Kim G, Park S, Lee H, Jeong JC, Kwak S (2016). Molecular characterization of tocopherol biosynthetic genes in sweetpotato that respond to stress and activate the tocopherol production in tobacco. *Plant Physiol Biochem*, 106: 118–128
- Katayama K, Tamiya S, Sakai T, Kai Y, Ohara-Takada A, Kuranouchi T, Yoshinaga M (2015). Inheritance of low pasting temperature in sweetpotato starch and the dosage effect of wild-type alleles. *Breed Sci*, 65 (4): 352–356
- Lai YC, Wang SY, Gao HY, Nguyen KM, Nguyen CH, Shih MC, Lin KH (2016). Physicochemical properties of starches and expression and activity of starch biosynthesis-related genes in sweet potatoes. *Food Chem*, 199: 556–564
- Liang F, Lindblad P (2016). Effects of overexpressing photosynthetic carbon flux control enzymes in the cyanobacterium *Synechocystis* PCC 6803. *Metab Eng*, 38: 56–64
- Lu W, Tang X, Huo Y, Xu R, Qi S, Huang J, Zheng C, Wu C (2012). Identification and characterization of fructose-1,6-bisphosphate aldolase genes in *Arabidopsis* reveal a gene family with diverse responses to abiotic stresses. *Gene*, 503 (1): 65–74
- Ma DF, Li Q, Cao QH, Niu FX, Xie YP, Tang J, Li HM (2012). Development and prospect of sweetpotato industry and its technologies in China. *Jiangsu J Agri Sci*, 28 (5): 969–973 (in Chinese with English abstract) [马代夫, 李强, 曹清河, 钮福祥, 谢逸萍, 唐君, 李洪民(2012). 中国甘薯产业及产业技术的发展与展望. *江苏农业学报*, 28 (5): 969–973]
- Metallo CM, Vander H (2013). Understanding metabolic regulation and its influence on cell physiology. *Mol Cell*, 49 (3): 388–398
- Park SC, Kim YH, Ji CY, Park S, Jeong JC, Lee HS, Kwak SS (2012). Stable internal reference genes for the normalization of real-time PCR in different sweetpotato cultivars subjected to abiotic stress conditions. *PLoS One*, 7 (12): e51502
- Patron NJ, Rogers MB, Keeling PJ (2004). Gene replacement of fructose-1,6-bisphosphate aldolase supports the hypothesis of a single photosynthetic ancestor of chromalveolates. *Eukaryot Cell*, 3 (5): 1169–1175
- Pokhilko A, Ebenhoh O (2015). Mathematical modelling of diurnal regulation of carbohydrate allocation by osmo-related processes in plants. *J R Soc Interface*, 12 (104): 1–11
- Qian H, Lu T, Peng X, Han X, Fu Z, Liu W (2011). Enantioselective phytotoxicity of the herbicide imazethapyr on the response of the antioxidant system and starch metabolism in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS One*, 6 (5): e19451
- Say RF, Fuchs G (2010). Fructose-1,6-bisphosphate aldolase/phosphatase may be an ancestral gluconeogenic enzyme. *Nature*, 464 (7291): 1077–1081
- Schmittgen TD, Livak KJ (2008). Analyzing real-time PCR data by the comparative CT method. *Nat Protoc*, 3 (6): 1101–1108
- Shekhar S, Mishra D, Gayali S, Buragohain AK, Chakraborty S, Chakraborty N (2016). Comparison of proteomic and metabolomic profiles of two contrasting ecotypes of sweetpotato (*Ipomoea batata* L.). *J Proteomics*, 143: 306–317
- Smith AM, Zeeman SC (2006). Quantification of starch in plant tissues. *Nat Protoc*, 1 (3): 1342–1345
- Su ZX, Li Q, Tang W, Liu YJ, Hou M, Yan H, Wang X, Zhang YG, Ma DF (2015). Cloning and bioinformation analysis of fructose-1,6-bisphosphate aldolase 5 gene in sweetpotato (*Ipomoea batatas* L.). *Mol Plant Breed*, 13 (11): 2469–2476 (in Chinese with English abstract) [苏在兴, 李强, 唐维, 刘亚菊, 后猛, 闫会, 王欣, 张允刚, 马代夫(2015). 甘薯果糖-1,6-二磷酸醛缩酶5基因(*IbFBA5*)的克隆与生物信息学分析. *分子植物育种*, 13 (11): 2469–2476]
- Wang JY, Zhu SG, Xu CF (2002). *Biochemistry*. Beijing: Higher Education Press (in Chinese) [王镜岩, 朱圣庚, 徐长法(2002). *生物化学*. 北京: 高等教育出版社]
- Yang J, Zhang M, Zhang P (2011). Genetic transformation of sweet potato and its application in molecular breeding. *Plant Physiol J*, 47 (5): 427–436 (in Chinese with English abstract) [杨俊, 张敏,

- 张鹏(2011). 甘薯遗传转化及其在分子育种中的应用. 植物生理学报, 47 (5): 427–436]
- Yu X, Li B, Wang L, Chen X, Wang W, Wang Z, Xiong F (2015). Systematic analysis of pericarp starch accumulation and degradation during wheat caryopsis development. PLoS One, 10 (9): e138228
- Zeeman SC, Smith SM, Smith AM (2007). The diurnal metabolism of leaf starch. Biochem J, 401 (1): 13–28
- Zhang F, Zhang P, Zhang Y, Wang S, Qu L, Liu X, Luo J (2016). Identification of a peroxisomal-targeted aldolase involved in chlorophyll biosynthesis and sugar metabolism in rice. Plant Sci, 250: 205–215
- Zhu XG, de Sturler E, Long SP (2007). Optimizing the distribution of resources between enzymes of carbon metabolism can dramatically increase photosynthetic rate: a numerical simulation using an evolutionary algorithm. Plant Physiol, 145 (2): 513–526

Temporal and spatial expression of *IbFBA5* gene and its relationship with carbohydrate accumulation in sweetpotato (*Ipomoea batatas*)

SU Zai-Xing^{1,2}, GAO Run-Fei², TANG Wei^{1,2}, YAN Hui^{1,2}, HOU Meng^{1,2}, WANG Xin^{1,2}, LIU Ya-Ju^{1,2}, ZHANG Yun-Gang^{1,2}, MA Dai-Fu^{1,2}, LI Qiang^{1,2,*}

¹Xuzhou Institute of Agricultural Sciences in Jiangsu Xuhuai District/Key Laboratory of Biology and Genetic Improvement of Sweetpotato, Ministry of Agriculture/Jiangsu Xuzhou Sweetpotato Research Center, Xuzhou, Jiangsu 221131, China; ²Sweetpotato Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Xuzhou, Jiangsu 221131, China

Abstract: Fructose-1,6-bisphosphate aldolase (FBA) is a key enzyme in the pathway of glycolysis, gluconeogenesis, pentose phosphate and photosynthesis. The expression of *IbFBA5* in different tissues and different growth periods were carried out by qRT-PCR analysis in this paper. We also analyzed the relationship among the gene expression levels and carbohydrate accumulations in leaves and storage roots. The results indicated that the expressions of *IbFBA5* were specific in different tissues, which showed highest expression in leaves and also high expression in roots, but low expression in petiole, stems and flowers. The gene expression levels were discrepant in leaves and roots of different genotypes, ‘Xushu18’ and ‘Xu781’, respectively. The expression levels were significantly higher in the leaves of ‘Xushu 18’ than that of ‘Xu781’ from initial expansion stage to peak expansion stage of storage roots. The expression levels were also significantly higher in the storage roots of ‘Xu781’ than that of ‘Xu18’ at initial period and peak period of expansion respectively. The contents of fructose and glucose were increased obviously from initial period to medium period in leaves and storage roots as well as the starch contents in storage roots. On the contrary, the sugar contents in storage roots and starch contents in leaves were depressed sharply at this period. We found that the expression patterns of *IbFBA5* had consistency with the trends of starch contents in leaves and fructose and glucose contents in storage roots respectively.

Key words: sweetpotato (*Ipomoea batatas*); FBA; spatiotemporal expression; soluble sugar; starch

Received 2017-02-15 Accepted 2017-03-30

This work was supported by the China Agriculture Research System (Grant No. CARS-11, Sweetpotato), the National High-Tech Research and Development Program of China (Grant No. 2012AA101204) and the Key Research and Development Plan of Jiangsu Province (Grant No. BE2015313).

*Corresponding author (E-mail: instrong@163.com).