

盖江涛,沈建凯,王 鹏. 主要作物中 *PAL* 基因家族的鉴定和序列分析[J]. 江苏农业科学,2016,44(6):45-49.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.06.010

# 主要作物中 *PAL* 基因家族的鉴定和序列分析

盖江涛,沈建凯,王 鹏

(中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所,海南儋州 571737)

**摘要:**苯丙氨酸解氨酶(*PAL*, phenylalanine ammonia-lyase [EC:4.3.1.24])存在于各种植物和部分微生物中,是与植物抗病性相关的关键酶,具有重要的植物生理意义。采用 BLASTP 的方法,依托全基因组数据库,获得了拟南芥 [*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.]、水稻 [*Oryza sativa* L.]、玉米 [*Zea mays* Linn.]、小麦 [*Triticum aestivum* Linn.]、谷子 [*Setaria italica* (L.) P. Beauv.]、大豆 [*Glycine max* (Linn.) Merr.] 6 种植物中的 *PAL* 基因家族共 45 条序列,对其进行了系统进化分析、生物信息学分析等。分析结果显示:单子叶植物与双子叶植物分别聚集在不同的分支,说明单子叶植物水稻、玉米、小麦、谷子亲缘关系较近,双子叶植物拟南芥、大豆亲缘关系较近,而单子叶植物与双子叶植物亲缘关系较远,也说明 *PAL* 基因的分化在单子叶植物和双子叶植物分化前形成;酸性蛋白质占 93.3%,稳定性蛋白占 97.8%,有信号肽的蛋白占 2.2%,有导肽的蛋白占 4.4%,所有蛋白均为有明显跨膜现象的亲水性蛋白;所有 *PAL* 基因亚细胞定位于细胞质中,都有蛋白活性位点。分析结果为进一步研究作物中 *PAL* 代谢机理提供理论支持。

**关键词:**苯丙氨酸解氨酶;*PAL*;基因家族;氨基酸

**中图分类号:** Q78 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)06-0045-05

苯丙氨酸解氨酶 (phenylalanine ammonia-lyase, *PAL*, EC:4.3.1.24) 存在于各种植物和少数微生物中,是目前研究较多的与植物抗病性相关的酶,与植物抗毒素及酚类化合物的形成密切相关<sup>[1-2]</sup>。*PAL* 不能直接抵御病虫害,但在植物体内通过苯丙烷类途径进一步转化为木质素、黄酮、异黄酮、生物碱等次生代谢产物来增强植株的抗性<sup>[3-4]</sup>。

1961 年, Koukol 等首次记录了高等植物中 *PAL* 酶的提取分离<sup>[5]</sup>,此后关于这种酶的研究迅速展开,目前 *PAL* 已从水稻<sup>[6]</sup>、小麦<sup>[6]</sup>等多种植物中得到分离纯化,并对拟南芥<sup>[7]</sup>、水

稻<sup>[8]</sup>等植物 *PAL* 基因进行了 cDNA 克隆和序列分析。

研究发现,不同种植物中 *PAL* 活性不同,如水稻叶的 *PAL* 活性远比小麦的高<sup>[6]</sup>。在同一株植物中,不同的组织部位 *PAL* 活性也不同,一般来说越嫩的部位 *PAL* 活性越高<sup>[9]</sup>,如杨树 *PAL* 活性在正在发育的木质部、嫩茎和嫩叶中最高<sup>[10]</sup>。免疫细胞化学研究显示 *PAL* 合成于栅栏细胞和海绵细胞,主要在细胞质和叶绿体内<sup>[11]</sup>。组织印迹显示 *PAL* 的 mRNA 常出现在表皮和微管附近的组织细胞中<sup>[12]</sup>。

*PAL* 基因参与复杂的植物防御体系<sup>[13]</sup>,比如受到伤害、病原菌侵染及光照(红光、白光等)时,*PAL* 与植物抗性表现出明显的相关性。玉米大斑病<sup>[14]</sup>、小斑病<sup>[15]</sup>、叶斑病<sup>[16]</sup>,小麦赤霉病<sup>[17]</sup>,水稻抗 UV-B 辐射及稻瘟病<sup>[18]</sup>、大豆疫霉根腐病<sup>[19]</sup>等的研究中都证实感染病原菌的植物 *PAL* 活性增强。

在拟南芥中,基因组编码 4 个 *PAL* 基因,分别为 *PAL1* (AT2G37040)、*PAL2* (AT3G53260)、*PAL3* (AT5G04230)、*PAL4* (AT3G10340)。用过量的 Cu 处理植物显示 *PAL* 活性增加,当同时再增加 Si 的含量时,*PAL1*、*PAL2*、*PAL3* 呈现出相

收稿日期:2015-04-21

基金项目:芒果萜类物质合成关键酶基因的鉴定和分析(编号:1630032015026);基因组学研究(编号:0314026);茄科植物中生物碱合成相关基因资源研究(编号:0313219)。

作者简介:盖江涛(1983—),女,山西长治人,硕士研究生,助理研究员,从事植物基因组学研究。E-mail: gji006616@163.com。

通信作者:王 鹏,博士研究生,副研究员,从事植物基因组学研究。E-mail: pwang521@163.com。

[10] 龚春霞,李芳芳,荀亚峰,等. 一株沙漠小球藻不同培养方式的比较[J]. 可再生能源,2013,31(11):106-110,115.

[11] 院海英,吴祥辉,东 锐,等. *GFP* 基因在新疆小拟南芥和拟南芥中的表达分析[J]. 西北植物学报,2012,32(5):881-885.

[12] Misra N. Prasanna kumar panda and bikram kumar parida. Agrigenomics for microalgal biofuel production; an overview of various bioinformatics resources and recent studies to Link OMICS to bioenergy and bioeconomy[J]. OMICS - A Journal of Integrative Biology, 2013, 17(11): 537-549.

[13] Noor - Mohammadi S, Pourmir A, Johannes T W. Method for assembling and expressing multiple genes in the nucleus of microalgae[J]. Biotechnology Letters, 2014, 36: 561-566.

[14] Rasala B A, Lee P A, Shen Zhouxin, et al. Robust expression and secretion of Xylanase1 in *Chlamydomonas reinhardtii* by fusion to a selection gene and processing with the FMDV 2A peptide[J]. PLoS One, 2012, 7(8): e43349.

[15] Jiang Q, Zhao L, Dai J B, et al. Analysis of autophagy genes in microalgae; *Chlorella* as a potential model to study mechanism of autophagy[J]. PLoS One, 2012, 7(7): e41826.

[16] Song D H, Li J, Hu X X, et al. Construction of a shuttle vector for heterologous gene expression in *Escherichia coli* and *Microalgae anabaena*[J]. Engineering, 2013, 5: 540-544.

[17] Guo S L, Zhao X Q, Tang Y, et al. Establishment of an efficient genetic transformation system in *scenedesmus obliquus*[J]. Journal of Biotechnology, 2013, 163: 61-68.

似的基因表达模式,表达水平均降低;而 *PA14* 无论是否增加 *Si* 的含量,都没有引起 *PA14* 表达水平降低。说明 *PAL* 基因对植物的非生物胁迫有作用,但是 4 个基因表达模式有区别<sup>[20]</sup>。

本研究以已知 *PAL* 基因功能的拟南芥 [*Arabidopsis thaliana* (Linnaeus) Heynhold] 的 *PAL* 基因为参考,以禾本科 (Poaceae) 植物水稻 (*Oryza sativa* Linnaeus)、玉米 (*Zea mays* Linnaeus)、小麦 (*Triticum aestivum* Linnaeus)、谷子 [*Setaria italica* (Linnaeus) P. de Beauvois]、豆科植物大豆 [*Glycine max* (Linnaeus) Merrill] 作为研究对象,以其全基因组数据库为依托,通过 BLAST 的方法获得了这 5 种植物 *PAL* 基因家族的全部序列,通过系统发育分析、理化性质分析、结构分析等生物信息学方法分析 *PAL* 基因家族,比较主要作物中 *PAL* 基因的特性,为推动主要作物中 *PAL* 基因功能研究提供理论支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 数据库搜索

从 phytozome V9.1<sup>[21]</sup> (<http://www.phytozome.net>) 中搜索得到拟南芥、水稻、玉米、谷子、大豆的 *PAL* 基因信息,从 gramene ([http://ensembl.gramene.org/Triticum\\_aestivum/Info/Index](http://ensembl.gramene.org/Triticum_aestivum/Info/Index)) 中搜索得到小麦的 *PAL* 基因信息,并下载数据库中的氨基酸序列。

### 1.2 多序列比对及系统发育分析

用 Probcons<sup>[22]</sup> 软件对所得数据进行多序列比对,并于 MEGA6.0<sup>[23]</sup> 中对比对结果进行手动调整。用 MrBayes 3.2.2<sup>[24]</sup> 对调整后的序列进行系统聚类分析,设置 1 000 000 代检测,取样频率为 1 000,4 条 Markov 链,其余参数均为软件默认值,运行 2 次,分裂频率 (split frequencies) 小于 0.01 时终止运行。所得的系统发育进化树在 Figtree v1.4.0 软件中进行查看、编辑。

### 1.3 蛋白质的生物信息学分析

采用 ProtParam tool<sup>[25]</sup> (<http://web.expasy.org/prot-param/>) 在线工具预测分析蛋白质的理化性质,应用 TM-pred<sup>[26]</sup> 程序 (<http://www.ch.embnet.org/software/TMPred-form.html>) 在线分析来预测蛋白质跨膜区和跨膜方向,亚细胞定位应用 Cell-PLoc 2.0 package<sup>[27]</sup> 软件 (<http://www.cs-bio.sjtu.edu.cn/bioinf/plant-multi/>) 进行在线分析。用 TargetP 1.1 Server<sup>[28]</sup> (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TargetP/>) 在线预测氨基酸序列导肽,应用 signalP 4.1 server<sup>[29]</sup> (<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/>) 中完成蛋白质信号肽的预测。活性位点运用在线分析软件 Expasy<sup>[30]</sup> (<http://prosite.expasy.org/>) 进行分析。

### 1.4 拟南芥 *PAL* 基因生育期芯片数据表达模式的分析

从 Plant Expression Database<sup>[31]</sup> 网站的拟南芥数据库 (<http://www.plexdb.org/plex.php?database=Arabidopsis>) 中下载 RMA 文件,提取拟南芥的 4 条 *PAL* 基因 (AT2G37040、AT3G53260、AT5G04230、AT3G10340) 分别在各生育期组织 [(子叶 (7 d)、下胚轴 (7 d)、幼苗 (7 d)、幼叶 (10 d)、根 (7 d)、茎 (17 d)、花 (>21 d)、雄蕊 (>21 d)、雌蕊 (>21 d)、花粉 (6 周)、植株 (21 d)] 的表达情况,结果用 gplots 软件包

中的 heatmap.2 软件绘制热图。

## 2 结果与分析

### 2.1 *PAL* 基因家族的系统进化分析

通过 BlastP 的方法,去掉冗余序列,共得到 45 条氨基酸序列,其中拟南芥 4 条、水稻 5 条、玉米 5 条、谷子 4 条、小麦 20 条、大豆 7 条。对 45 条编码 *PAL* 的氨基酸序列进行系统发育分析 (图 1)。分析结果显示这 45 条 *PAL* 基因家族序列聚为明显的 2 支 (I、II),单子叶植物纲禾本科的水稻、玉米、小麦、谷子聚为一支 (I),双子叶植物纲的拟南芥、大豆聚为一支 (II)。说明在进化过程中,*PAL* 基因的分化在单子叶植物和双子叶植物分化前形成;且主要作物单子叶植物纲禾本科的水稻、玉米、小麦、谷子的亲缘关系较近,它们与双子叶植物纲的拟南芥、大豆亲缘关系较远。

在已知的拟南芥 *PAL* 基因功能的前提下,可以推测出与拟南芥最近的分支上的序列可能与拟南芥中 *PAL* 基因具有相似功能。小麦、大豆 2 个物种的 *PAL* 基因在分支上聚集得相对集中,推测他们在物种形成中具有重要的生理功能。

### 2.2 *PAL* 蛋白的理化性质分析

对 45 条氨基酸序列进行理化性质分析。结果显示:除 Traes\_1AS\_6BDC65775、Traes\_4AL\_892C47ED5、Traes\_2AS\_EC4ADE04E 为碱性蛋白 (理论等电点  $pI > 7$ ) 外,其余蛋白均为酸性蛋白质 (理论等电点  $pI < 7$ ) (图 2);根据 Guruprasad 等的方法<sup>[32]</sup>,除 Traes\_1AS\_6BDC65775 为不稳定性蛋白 (不稳定系数  $II > 40$ ) 外,其余蛋白均为稳定性蛋白 ( $II < 40$ ) (图 3);相对分子量除 Traes\_1BS\_A3B2A0DAD 为 46.97 ku、Si009345m 为 91.20 ku 外,其余位于 65.49 ~ 78.34 ku 之间 (图 4),与之前报道的分子量一般在 55 ~ 88 ku 之间一致<sup>[33]</sup>;所有蛋白都有明显跨膜现象;除 Traes\_1AS\_6BDC65775 有信号肽 (图 5) 外,其余蛋白均无信号肽;仅小麦基因 Traes\_1AS\_6BDC65775、Traes\_2AS\_EC4ADE04E 具有叶绿体转运肽 (Chloroplast transit peptide, CTP),其余氨基酸序列均没有导肽。

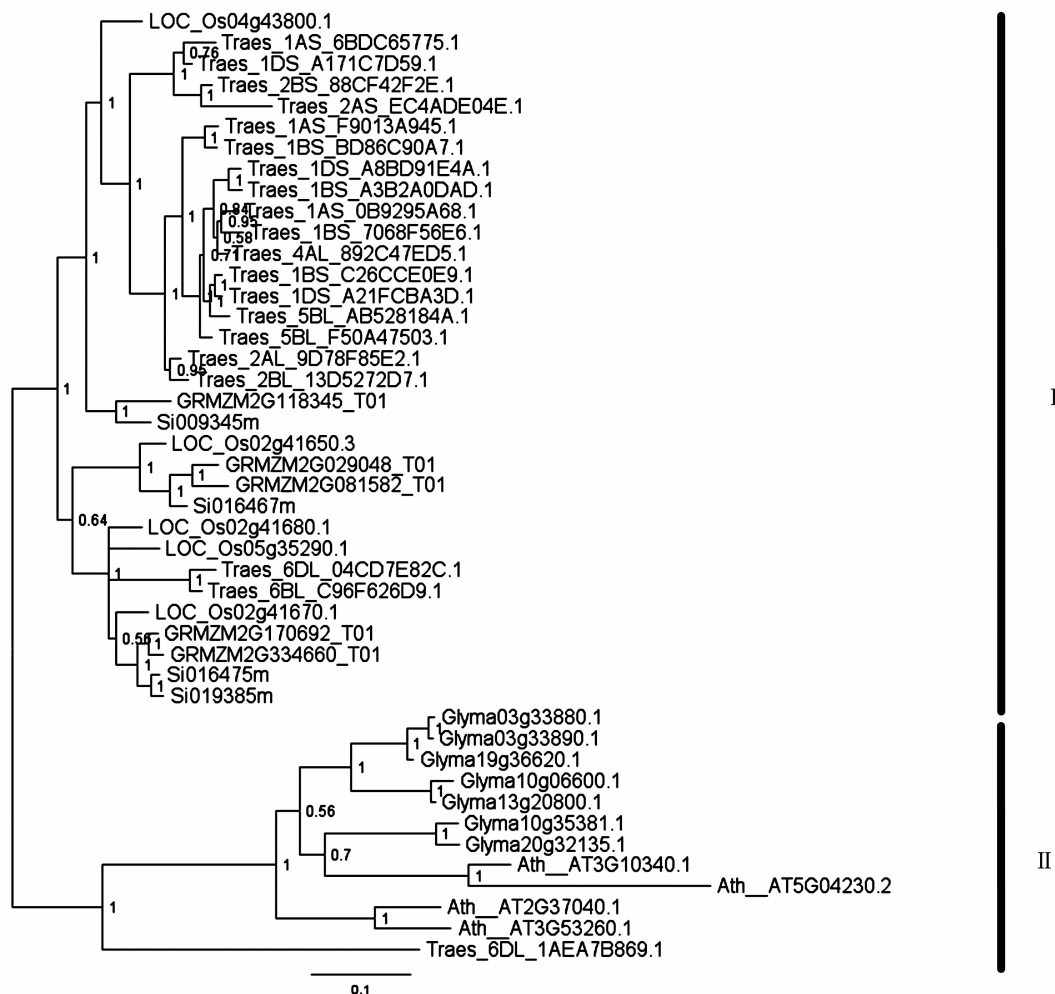
所有蛋白均为亲水性蛋白 (GRAVY < 0)。半衰期一致表现为:序列的 N-端为甲硫氨酸 (Met),在哺乳动物的活体中半衰期为 30 h,在酵母活体中半衰期大于 20 h,在大肠杆菌的活体中半衰期大于 10 h。

### 2.3 *PAL* 的结构分析

所有 *PAL* 基因亚细胞定位于细胞质中。活性位点分析得出:所有基因都有活性位点, Glyma10g35381.1、Glyma20g32135.1 的活性位点为 GTITASGDLvPLSyvaG、LOC\_Os02g41670.1、GRMZM2G170692\_T01、GRMZM2G334660\_T01、Si016475m、Si019385m 的活性位点为 GTVTASGDLvPLSyiaG,其余氨基酸序列的活性位点为 GTITASGDLvPLSyiaG,具有活性位点的蛋白均属于 *PAL* 丝氨酸 (Ser) 酶,属于 *PAL* 基因家族的特征序列。

### 2.4 拟南芥 *PAL* 基因生育期芯片中的表达模式

根据拟南芥各生育期芯片可以得出其 4 条 *PAL* 基因的表达模式。由图 6 可知,AT3G53260 和 AT2G37040 在花粉 (6 周) 中无明显表达,在其余组织中均有较强表达;AT3G10340 主要在雄蕊 (>21 d)、花 (>21 d)、根 (7 d) 中有较强表达,在



Ath: 拟南芥, (AT2G37040, NP\_181241.1), (AT3G53260, NP\_190894.1), (AT3G10340, NP\_187645.1), (AT5G04230, NP\_001190223); GRMZM: 玉米, (GRMZM2G029048\_T01, AFW72411.1), (GRMZM2G081582\_T01, AFW63067.1), (GRMZM2G118345\_T01, DAA36916.1), (GRMZM2G170692\_T01, AFW72413.1), (GRMZM2G334660\_T01, AFW72412.1); Glyma: 大豆, (Glyma03g33880.1, XP\_003521396.1), (Glyma10g06600.1, GQ220305), (Glyma10g35381.1, XP\_006589419), (Glyma13g20800.1, XP\_003542541), (Glyma20g32135.1, XP\_003556238), (Glyma19g36620.1, XP\_003554382), (Glyma03g33890.1, XP\_003521397); Loc: 水稻, (LOC\_Os02g41670.1, NP\_001047483), (LOC\_Os02g41680.1, NP\_001047484), (LOC\_Os02g41650.3, NP\_001047482), (LOC\_Os05g35290.1, NP\_001055608), (LOC\_Os04g43800.1, NP\_001053326); Si: 谷子, (Si016478m, XP\_004953156), (Si019385m, XP\_004953155), (Si009345m, XP\_004976241), (Si016467m, XP\_004953154), (Si016475m, XP\_004953157); Traes: 小麦, 小麦 PAL 序列均为基因模型

图1 PAL 基因家族氨基酸序列系统发育树

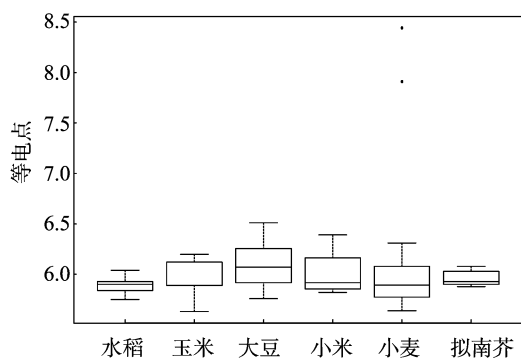


图2 PAL蛋白的等电点pI

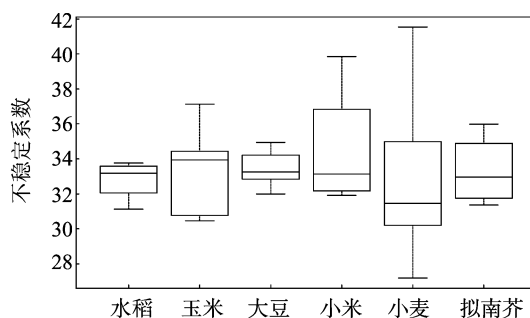


图3 PAL 蛋白的不稳定系数

其他组织中无明显表达; AT5G04230 在子叶(7 d)中有较弱表达, 在其余各组织中均无明显表达。

### 3 结论与讨论

PAL 是连接初级代谢和苯丙烷类代谢、催化苯丙烷类代

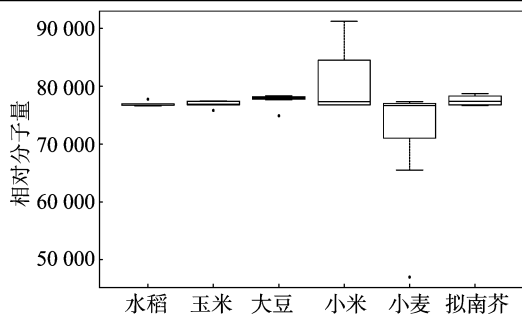


图4 PAL 蛋白的相对分子量

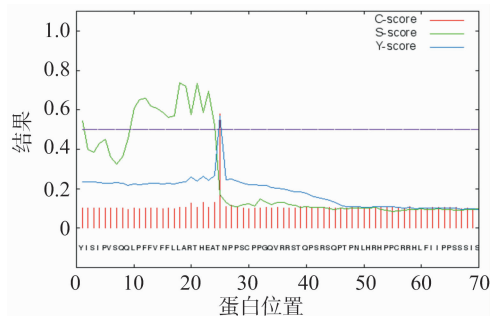
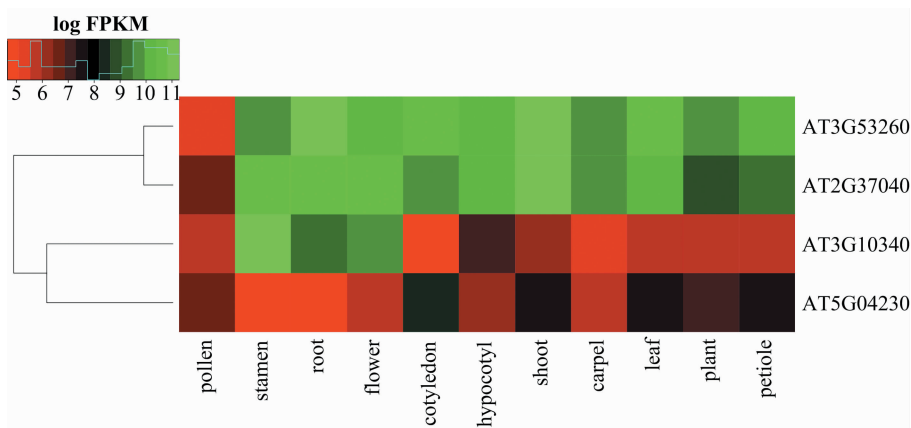


图5 PAL 蛋白的信号肽



标尺颜色显示基因表达强度 (绿色表示高表达, 红色表示低表达)

图6 拟南芥 *PAL* 基因生育期芯片表达模式

谢途径第一步反应的酶,是苯丙烷类代谢的关键酶和限速酶,苯丙烷类代谢途径的产物在植物生长发育过程中起着重要的作用,而这些物质的含量总是与 *PAL* 的活性密切相关,因此 *PAL* 对植物有着非常重要的生理意义。

本研究对拟南芥、水稻、玉米、小麦、谷子和大豆 6 种植物中共 45 条 *PAL* 基因家族蛋白进行了系统发育分析,结果显示,单子叶植物水稻、玉米、小麦、谷子的基因聚集在一支,双子叶植物拟南芥、大豆基因聚集在一支,单子叶植物与双子叶植物分别聚集在不同的分支,说明单子叶植物水稻、玉米、小麦、谷子亲缘关系较近,双子叶植物拟南芥、大豆亲缘关系较近,单子叶植物与双子叶植物亲缘关系相对较远,说明以 *PAL* 基因家族构建系统进化树能够准确地反映植物物种之间的亲缘关系及进化关系,也说明在进化过程中,*PAL* 基因的分化在单子叶植物和双子叶植物分化前形成;同时,与拟南芥最近的分支上共有 7 条大豆基因和 1 条小麦基因,推测它们可能属于 *PAL* 基因家族;在已知的拟南芥的 *PAL* 基因功能的前提下,可以推测出与拟南芥最近的分支上的序列可能与拟南芥中 *PAL* 基因具有相似功能。

理化性质分析结果显示,酸性蛋白质占 93.3%,与之前报道的 *PAL* 是一种酸性蛋白一致<sup>[33-35]</sup>。稳定性蛋白占 97.8%,有信号肽的蛋白占 2.2%,有导肽的蛋白占 4.4%,所有蛋白均为有明显跨膜现象的亲水性蛋白;仅小麦基因 *Traes\_1AS\_6BDC65775*、*Traes\_2AS\_EC4ADE04E* 具有叶绿体转运肽,其余氨基酸序列均没有导肽。说明大多数蛋白为非分泌性蛋白,它们由游离的核糖体合成,在细胞质内参与生化反应,在细胞内代谢过程中发挥重要作用。

结构分析结果得出,所有氨基酸序列均有蛋白活性位点,均属于 *PAL* 丝氨酸(*Ser*)酶,具有 *PAL* 基因家族的特征序列,初步认为这些基因属于 *PAL* 基因家族。同时,亚细胞定位发现所有 *PAL* 基因都定位于细胞质中,与理化性质分析结果一致,进一步说明 *PAL* 基因在细胞质内发挥作用。

拟南芥 *PAL* 基因生育期芯片表达模式分析结果表明, *AT3G53260* 和 *AT2G37040* 在子叶(7 d)、下胚轴(7 d)、幼苗(7 d)、幼叶(10 d)、根(7 d)、茎(17 d)、花(>21 d)、雄蕊(>21 d)、雌蕊(>21 d)等中均有较强表达,在花粉(6 周)中无明显表达; *AT3G10340* 主要在雄蕊(>21 d)、花(>21 d)、根(7 d)中有较强表达,在子叶(7 d)、下胚轴(7 d)、幼苗(7 d)、幼叶(10 d)、茎(17 d)、雌蕊(>21 d)、花粉(6 周)中表达较弱; *AT5G04230* 在子叶(7 d)中有较弱表达,在其余各组织中均表达较弱。说明拟南芥中 *PAL* 基因的表达模式呈现明显的组织特异性,为本研究中主要作物的 *PAL* 基因表达研究提供参考。

目前,虽有关于主要作物中 *PAL* 基因的研究,但都是对单个基因的克隆,尚未发现有从主要作物中 *PAL* 基因家族层面的报道。本研究选取了 5 种主要作物的 *PAL* 基因家族为研究对象,对其基因家族系统进化、理化性质、定位、结构等进行了分析,对今后在主要作物中研究 *PAL* 基因的时空表达模式及功能,增强多个基因的协同表达,更好地利用 *PAL* 对主要作物进行改造,从而增强主要作物的抗病性有重要意义。

#### 参考文献:

[1] Pellegrini L, Rohfritsch O, Fritig B, et al. Phenylalanine ammonia -

- lyase in tobacco (molecular cloning and gene expression during the hypersensitive reaction to tobacco mosaic virus and the response to a fungal elicitor) [J]. *Plant Physiology*, 1994, 106(3): 877–886.
- [2] Dorey S, Kopp M, Geoffroy P, et al. Hydrogen peroxide from the oxidative burst is neither necessary nor sufficient for hypersensitive cell death induction, phenylalanine ammonia lyase stimulation, salicylic acid accumulation, or scopoletin consumption in cultured tobacco cells treated with elicitor [J]. *Plant Physiology*, 1999, 121(1): 163–172.
  - [3] Hartley S E, Finn R D. Phenolic biosynthesis, leaf damage, and insect herbivory in birch (*Betula pendula*) [J]. *Journal of Chemical Ecology*, 1989, 15(1): 275–283.
  - [4] 江昌俊, 余有本. 苯丙氨酸解氨酶的研究进展 (综述) [J]. *安徽农业大学学报*, 2001, 28(4): 425–430.
  - [5] Koukol J, Conn E E. The metabolism of aromatic compounds in higher plants IV. Purification and properties of the phenylalanine deaminase of *Hordeum vulgare* [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1961, 236(10): 2692–2698.
  - [6] 欧阳光察, 应初衍, 沃绍根, 等. 植物苯丙氨酸解氨酶的研究——VI. 水稻、小麦 PAL 的纯化及基本特性 [J]. *植物生理学报*, 1985, 11(2): 204–214.
  - [7] Mauch – Mani B, Slusarenko A J. Production of salicylic acid precursors is a major function of phenylalanine ammonia – lyase in the resistance of *Arabidopsis* to *Peronospora parasitica* [J]. *The Plant Cell*, 1996, 8(2): 203–212.
  - [8] Minami E I, Ozeki Y, Matsuoka M, et al. Structure and some characterization of the gene for phenylalanine ammonia – lyase from rice plants [J]. *European Journal of Biochemistry*, 1989, 185(1): 19–25.
  - [9] Ritter H, Schulz G E. Structural basis for the entrance into the phenylpropanoid metabolism catalyzed by phenylalanine ammonia – lyase [J]. *The Plant Cell*, 2004, 16(12): 3426–3436.
  - [10] Kawamata S, Shimobara K, Imura Y, et al. Temporal and spatial pattern of expression of the pea phenylalanine ammonia – lyase gene1 promoter in transgenic tobacco [J]. *Plant and Cell Physiology*, 1997, 38(7): 792–803.
  - [11] Santiago L J M, Louro R P, de Oliveira D E. Compartmentation of phenolic compounds and phenylalanine ammonia – lyase in leaves of *Phyllanthus tenellus* Roxb. and their induction by copper sulphate [J]. *Annals of Botany*, 2000, 86(5): 1023–1032.
  - [12] Nakazawa A, Nozue M, Yasuda H, et al. Expression pattern and gene structure of phenylalanine ammonia – lyase in *Pharbitis nil* [J]. *Journal of Plant Research*, 2001, 114(3): 323–328.
  - [13] Raes J, Rohde A, Christensen J H, et al. Genome – wide characterization of the lignification toolbox in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiology*, 2003, 133(3): 1051–1071.
  - [14] 王光达, 黄初女, 吴委林, 等. 不同玉米品种对大斑病的抗性及相关防御酶活性的关系研究 [J]. *玉米科学*, 2014, 22(5): 146–152.
  - [15] 马春红, 翟彩霞, 郑秋玲, 等. 玉米小斑病菌 T 小种毒素诱导对玉米叶片苯丙氨酸解氨酶活性的影响 [J]. *华中农业大学学报*, 2010, 29(1): 21–25.
  - [16] 陈捷, 蔺瑞明, 高增贵, 等. 玉米弯孢叶斑病菌毒素对寄主防御酶活性的影响及诱导抗性效应 [J]. *植物病理学报*, 2002, 32(1): 43–48.
  - [17] 王雅平, 吴兆苏, 刘伊强. 小麦抗赤霉病性的生化研究及其机制的探讨 [J]. *作物学报*, 1994, 20(3): 327–333.
  - [18] 李元, 高潇潇, 高召华, 等. UV – B 辐射和稻瘟病菌胁迫对水稻幼苗苯丙氨酸解氨酶活性和类黄酮含量的影响 [J]. *中国生态农业学报*, 2010, 18(4): 856–860.
  - [19] 张淑珍, 徐鹏飞, 吴俊江, 等. 大豆疫霉根腐病菌毒素处理抗感不同大豆品种后苯丙氨酸解氨酶活性的变化 [J]. *作物杂志*, 2008(1): 47–49.
  - [20] Khandekar S, Leisner S. Soluble silicon modulates expression of *Arabidopsis thaliana* genes involved in copper stress [J]. *Journal of Plant Physiology*, 2011, 168(7): 699–705.
  - [21] Goodstein D M, Shu S, Howson R, et al. Phytozome: a comparative platform for green plant genomics [J]. *Nucleic Acids Research*, 2012, 40(D1): D1178–D1186.
  - [22] Do C B, Mahabhashyam M S, Brudno M, et al. probCons: Probabilistic consistency – based multiple sequence alignment [J]. *Genome Research*, 2005, 15(2): 330–340.
  - [23] Tamura K, Stecher G, Peterson D, et al. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0 [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2013, 30(12): 2725–2729.
  - [24] Ronquist F, Teslenko M, van der Mark P, et al. MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space [J]. *Systematic Biology*, 2012, 61(3): 539–542.
  - [25] Walker J M. The proteomics protocols handbook [M]. Totowa, New Jersey: Humana Press, 2005: 571–607.
  - [26] Hofmann K, Stoffel W. Tmbase – a database of membrane spanning protein segments [J]. *Biological Chemistry Hoppe – Seyler*, 1993, 374: 166.
  - [27] Chou K – C, Shen H – B. Plant – mPLOC: a top – down strategy to augment the power for predicting plant protein subcellular localization [J]. *PLoS One*, 2010, 5(6): e11335.
  - [28] Emanuelsson O, Brunak S, von Heijne G, et al. Locating proteins in the cell using TargetP, SignalP and related tools [J]. *Nature Protocols*, 2007, 2(4): 953–971.
  - [29] Petersen T N, Brunak S, von Heijne G, et al. SignalP 4.0: discriminating signal peptides from transmembrane regions [J]. *Nature Methods*, 2011, 8(10): 785–786.
  - [30] Sigrist C J, Cerutti L, Hulo N, et al. PROSITE: a documented database using patterns and profiles as motif descriptors [J]. *Briefings in Bioinformatics*, 2002, 3(3): 265–274.
  - [31] Dash S, van Hemert J, Hong L, et al. PLEXdb: gene expression resources for plants and plant pathogens [J]. *Nucleic Acids Research*, 2012, 40(D1): D1194–D1201.
  - [32] Guruprasad K, Reddy B B, Pandit M W. Correlation between stability of a protein and its dipeptide composition: a novel approach for predicting *in vivo* stability of a protein from its primary sequence [J]. *Protein Engineering*, 1990, 4(2): 155–161.
  - [34] 刘卮洲, 张摇磊, 钱国良, 等. 生防菌 sf628 对梨叶片苯丙氨酸解氨酶和过氧化物酶活性的影响 [J]. *江苏农业学报*, 2014, 30(2): 268–274.
  - [35] 王燕芳, 吴瑛. 外源水杨酸对棉花相关抗虫酶活性诱导的时间和浓度效应 [J]. *江苏农业科学*, 2015, 43(4): 138–140.
  - [36] 崔建东, 李艳, 牟德华. 苯丙氨酸解氨酶 (PAL) 的研究进展 [J]. *食品工业科技*, 2008, 29(7): 306–308.