

丛汉卿,齐尧尧,朱文丽,等. 木薯 *PHOR1* 基因的序列分析及其乙烯和茉莉酸甲酯诱导表达特性[J]. 江苏农业科学,2016,44(11):29-33.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.11.008

# 木薯 *PHOR1* 基因的序列分析及其乙烯和茉莉酸甲酯诱导表达特性

丛汉卿,齐尧尧,朱文丽,陈松笔,李 丽

(中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所/农业部热带作物种质资源利用重点开放实验室,海南儋州 571737)

**摘要:**为研究木薯中 *PHOR1* 基因如何被逆境信号调控,根据杨树 2 个 *PHOR1* 同源基因搜索木薯基因组数据库,得到 2 个高度同源的木薯 *PHOR1* 基因,即 *MePHOR1\_1* 和 *MePHOR1\_2*。序列分析表明,它们都具有 E3 泛素连接酶家族成员特征:含有 U-box 和 armadillo 重复序列。此外其启动子区具有乙烯响应元件和茉莉酸响应元件。以木薯品种华南八号悬浮培养细胞为材料,利用 qRT-PCR 检测 *MePHOR1\_1* 和 *MePHOR1\_2* 基因在乙烯利和茉莉酸甲酯处理后的表达特性。结果显示:在乙烯和茉莉酸甲酯分别处理后的细胞悬浮液中,2 个 *PHOR1* 基因的表达变化呈现相似趋势,即乙烯处理后,2 个基因的表达均出现先下降后缓慢上升的趋势;而对茉莉酸信号则呈现先上升后下降又上升再下降的波动性趋势,故推测 2 个 *PHOR1* 基因可被乙烯和茉莉酸信号调控,并可在后续生根和淀粉积累等一系列生理生化过程中发挥作用。

**关键词:**木薯;*PHOR1* 基因;乙烯;茉莉酸;表达分析

**中图分类号:**S533.01 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2016)11-0029-05

木薯 (*Manihot esculenta* Crantz) 属于大戟科 (Euphorbiaceae) 木薯属 (*Manihot* P. Miller), 原产于热带南美洲, 是世界三大薯类作物之一, 是第六大粮食作物, 是重要的能源和淀粉作物。木薯的根作为其主要经济部位, 研究其生长发育和淀粉积累具有重要意义。

Amador 等在研究马铃薯 (*Solanum tuberosum*) 短日照条件下在上调表达的调控因子中首次获得了 *PHOR1* 基因, 并通过烟草转基因试验证明 *PHOR1* 对 GA 信号途径具有正调控作用<sup>[1]</sup>。*PHOR1* 编码 1 个 Cys-Pro-Ile motif (CPI) 结构域和 7 个 armadillo (ARM) 重复序列的蛋白<sup>[2]</sup>。此 CPI 结构域具有典型的 U-box 序列特征, U-box 结构一般存在于 E3 泛素连接酶中<sup>[3]</sup>, 可促进特异目标蛋白的泛素化<sup>[4]</sup>, 缺失试验表明, CPI 是一种可被 GA 抑制的细胞质内滞留信号。而 ARM 重复序列是 *PHOR1* 的核定位信号, 其核定位功能可为 CPI 所逆转。目前, 对 *PHOR1* 基因的研究已有一定基础, 但在木薯中的表达特性和基因功能还未被研究。

茉莉酸 (jasmonic acid, 简称 JA) 和乙烯 (ethylene, 简称 ET) 是植物逆境响应的信号分子, 在涉及植物对生物性和非生物性逆境胁迫和植物生长发育过程中的基因调控上发挥着重要作用。JA 作为一种逆境胁迫转导信号, 具有诱导植物防御基因的表达、调控植物对机械伤害、盐害及紫外线照射等非

生物胁迫的反应的功能<sup>[5-6]</sup>。而 ET 是另外一种植物生长调节物质, 可影响植物多个生长发育过程, 对植物自身来说, 乙烯在种子萌发、开花、叶片伸展、根的生长、果实成熟及器官衰老等方面发挥着作用; 对植物与外界环境的关系来说, 乙烯主要参与植物面对外界生物与非生物胁迫的反应过程。很多涉及上述相关过程的基因序列上都有乙烯响应元件<sup>[7-8]</sup>。

杨树中的 *PHOR1* 同源基因被发现具有调控芽和根生长、淀粉积累、木质部形成的功能<sup>[9]</sup>。根据杨树 *PHOR1* 同源基因 *PtPHOR1\_1* (*POPTR\_0007s03730*) 和 *PtPHOR1\_2* (*POPTR\_0005s05880*) 的序列在 JGI 的木薯基因组数据库 v6.1<sup>[10]</sup> 中搜索获得 2 个高度同源序列: Manes. 12G152200 和 Manes. 13G071800, 分别命名为 *MePHOR1\_1* 和 *MePHOR1\_2*。生物信息学分析发现, 其具有典型的 U-box 结构和 ARM 重复序列, 且 *MePHOR1\_1* 启动子区具有 1 个乙烯响应元件和 1 个茉莉酸响应元件, *MePHOR1\_2* 具有 2 个茉莉酸响应元件。同时利用木薯悬浮培养细胞对其 ET 和 JA 甲酯诱导表达特性分析中也发现, *PHOR1* 基因可受 ET 和 JA 信号调控, 并呈现不同的表达趋势。本研究旨在通过序列分析和表达分析, 确定 ET 和 JA 信号是否能对 *PHOR1* 基因表达造成影响, 并初步探索表达变化特性及其机制, 为进一步研究逆境信号通过 *PHOR1* 基因在木薯块根发育和淀粉积累过程中所发挥的作用提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

木薯 (*Manihot esculenta* Crantz) 品种华南八号 (SC8) 悬浮培养细胞, 该细胞通过叶片愈伤组织建立, 保存于中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所。Axygen 总 RNA 小量制备试剂盒 (Axygen); PrimeScript™ Reverse Transcriptase 反转

收稿日期:2015-11-02

基金项目:中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金(编号:1630032014036)。

作者简介:丛汉卿(1983—),男,山东潍坊人,博士,助理研究员,主要从事分子生物学和生物信息学研究。E-mail:hiigara@yeah.net。

通信作者:李 丽,女,湖北天门人,博士,副研究员,主要从事分子生物学研究。E-mail:chenli907@163.com。

录试剂盒 (TaKaRa); SYBR Premix Ex Taq™ II (Pefect Real Time) 实时定量试剂盒 (TaKaRa); 引物由 Invitrogen (上海) 贸易有限公司合成。

1.2 方法

1.2.1 材料处理 吸取处于指数增长期的悬浮培养细胞 1 mL 于离心管中并置于摇床 25 ℃ 稳定 0.5 h, 分为 3 组, 其中 2 组分别以浓度为 400 μL/L 的乙烯利 (ethephon) (Solarbio)、茉莉酸甲酯 (methyl jasmonate, 简称 MeJA) (Sigma - Aldrich) 处理, 另一组不进行任何处理作为对照。选取处理后 0.5、1.0、2.0、4.0、8.0 h 共 5 个时间点的样品, 微离心后弃上清液氮速冻 -80 ℃ 冰箱保存。此步骤重复 3 次, 获得 3 批生物学重复。

1.2.2 PHOR1 基因及启动子区序列分析 使用 JGI 的木薯基因组数据库 ([http://phytozome.jgi.doe.gov/pz/portal.html#!info?alias=Org\\_Mesculenta\\_er](http://phytozome.jgi.doe.gov/pz/portal.html#!info?alias=Org_Mesculenta_er)) 获得 *MePHOR1\_1* 和 *MePHOR1\_2* 的 CDS 序列 (coding sequence) 和 DNA 序列 (genomic sequence)<sup>[10]</sup>。用 NetGene2 V2. 4 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/NetGene2/>) 分析基因结构<sup>[11-12]</sup>。用 GSDS (<http://gsds.cbi.pku.edu.cn>) 分析内含子相位<sup>[13]</sup>。用 TSSP (<http://linux1.softberry.com/berry.phtml?topic=tssp&group=programs&subgroup=promoter>) 分析转录起始位点<sup>[14]</sup>, 用 PlantCARE (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>) 分析启动子区序列, 寻找顺势作用元件位点<sup>[15]</sup>。

1.2.3 PHOR1 蛋白分析 使用 Blast 工具对预测的氨基酸序列进行比对分析, 用 PortParam (<http://web.expasy.org/portparam/>) 预测其蛋白分子量和等电点<sup>[16]</sup>, 使用 InterPro (<http://www.ebi.ac.uk/interpro/>) 预测结构域<sup>[17]</sup>。利用 MEME (<http://meme-suite.org/tools/meme>)<sup>[18]</sup> 和 MAST (<http://meme-suite.org/tools/mast>)<sup>[19]</sup> 分析木薯 PHOR1 蛋白的基序, 基序数目设为 10, E - values 为默认的 1. 0。用 TMHMM Server 在线工具 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/>) 进行跨膜区预测<sup>[20]</sup>, 使用 SubLoc 在线工具 (<http://www.bioinfo.tsinghua.edu.cn/SubLoc/>) 进行蛋白亚细胞定位预测<sup>[21]</sup>。使用 PSIPRED (<http://bioinf.cs.ucl.ac.uk/psipred/>) 预测二级结构<sup>[22]</sup>。利用 Swiss - model (<http://swissmodel.expasy.org/>) 预测三维结构<sup>[23]</sup>。使用 PFP (<http://kiharalab.org/web/pfp.php>) 预测蛋白功能<sup>[24]</sup>。

1.2.4 序列比对和进化树分析 鉴于目前只有少数作物对 *PHOR1* 进行了研究, 目前我们只找到了除木薯外的已报道的 6 种植物中的 *PHOR1* 基因。来自木薯的 2 个 *PHOR1* 基因 *MePHOR1\_1* 和 *MePHOR1\_2*、杨树 (*Populus trichocarpa*) 的 *PHOR1* 基因 *PtPHOR1\_1* (POPTR\_0007s03730) 和 *PtPHOR1\_2* (POPTR\_0005s05880)<sup>[9]</sup>、马铃薯 (*Solanum tuberosum*) *StPHOR1* (AJ306423)<sup>[1]</sup>、番茄 (*Lycopersicon esculentum*) 的 *LePHOR1* (Solyc04g071030)<sup>[25]</sup>、拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) *HIM1/HIM2/HIM3*<sup>[3]</sup>、龙眼 (*Dimocarpus longan* L.) *DlPHOR1*<sup>[26]</sup>、白羽扇豆 (*Lupinus albus*) 中具有完整 CDS 的 3 条 *PHOR1* 同源 contigs (LAGI01\_34089、LAGI01\_33328、LAGI01\_27558)<sup>[27]</sup>。使用 MEGA 6 对其氨基酸进行序列比对, 并构建邻接 (neighbor - joining, N - J) 聚类进化树。使用 bootstrap 方法 1 000 次重复对进化树进行验证。

1.2.5 PHOR1 诱导表达的 qRT - PCR 检测 提取 RNA 后进行 cDNA 反转录, 利用 qRT - PCR 检测木薯 *PHOR1* 基因在悬浮培养细胞中受乙烯利和茉莉酸甲酯诱导表达情况, 所有的 qRT - PCR 反应均来自同一批反转录的 cDNA 产物, 18S rRNA 为内参。所用 *PHOR1* 基因及 18S rRNA 的引物为 Primer premier 5.0 软件设计 (表 1)。

表 1 qRT - PCR 所用引物

引物名称	序列
<i>MePHOR1_1</i> 正向引物	5' - GATTCCTAGCTTTTCCGGTG - 3'
<i>MePHOR1_1</i> 反向引物	5' - TGCTTGGGGACGAATCTTT - 3'
<i>MePHOR1_2</i> 正向引物	5' - ATTTAGGGACGGGAAAGCG - 3'
<i>MePHOR1_2</i> 反向引物	5' - TCAAAACGGCATAATATGGCTAG - 3'
18S rRNA 正向引物	5' - ATGATAACTCGACGGATCGC - 3'
18S rRNA 反向引物	5' - CTTGGATGTGCTAGCCGTTT - 3'

2 结果与分析

2.1 基因结构分析

基因结构分析发现, *MePHOR1\_1* 和 *MePHOR1\_2* 基因仅有 1 个外显子, 都没有内含子。转录起始位点预测显示: *MePHOR1\_1* 基因的转录起始位点位于起始密码子上游 857 bp 处, 而 *MePHOR1\_2* 基因的转录起始位点位于起始密码子上游 1 282 bp 处。顺势作用元件位点分析发现: *MePHOR1\_1* 基因启动子区域包含典型启动子调控元件 CAAT - box 和 TATA - box 及多个光响应顺式元件、1 个乙烯响应元件和 1 个茉莉酸响应元件; 此外还包含真菌诱导子响应元件、MYB 结合位点以及参与细胞周期和胚乳表达响应元件。而 *MePHOR1\_2* 除具有典型启动子调控元件 CAAT - box 和 TATA - box 外, 也存在多个光响应顺式元件和 2 个茉莉酸响应元件, 但不具有乙烯响应元件; 另外还包含厌氧诱导的响应元件、真菌诱导子响应元件、MYB 结合位点以及生长素响应元件 (表 2)。

2.2 蛋白分析

*MePHOR1\_1* 有 418 个氨基酸, 分子量为 46 610. 3 u, 理论等电点为 8. 28。 *MePHOR1\_2* 有 418 个氨基酸, 分子量为 46 795. 6 u, 理论等电点为 7. 47。跨膜区分析显示此蛋白可能无跨膜结构。亚细胞定位预测表明, 这 2 个蛋白有可能定位在核上。二者具有相同基序。符合 E - value < 1 的基序有 6 个, 二级结构预测 *MePHOR1\_1* 和 *MePHOR1\_2* 有 22 个螺旋结构, 可参考其三维预测结构 (图 1)。PFP 蛋白功能预测显示: *MePHOR1\_1* 和 *MePHOR1\_2* 基因最符合 Gene Ontology (GO) 中的 GO:0005515 条目, 具有蛋白结合功能。

2.3 PHOR1 基因进化树分析

从进化树可以看出, 同一科植物的 *PHOR1* 基因基本聚为一类, 木薯作为大戟科植物, 2 个 *PHOR1* 处于一个单独分支上, 且在亲缘关系上较为接近杨树和龙眼 (图 2); 杨树与龙眼作为木本植物处于同一分支, 且龙眼的 *DlPHOR1* 与杨树 *PtPHOR1\_1* 的亲缘关系要近于杨树自身的 *PtPHOR1\_2*; 此外拟南芥的 3 个基因也处于同一分支; 马铃薯和番茄同为茄科植物, 处于同一分支; 与此亲缘关系较远的白羽扇豆位于一个距离较远的独立分支上。

表 2 PHOR1 基因启动子顺式调控元件预测

调控元件	来源	特征序列	功能注释	PHOR1_1	PHOR1_2
5UTR Py – rich stretch	<i>Lycopersicon esculentum</i>	TTTCTTCTCT	高转录水平的顺式元件	✓	✓
ACE	<i>Petroselinum crispum</i>	AAAACGTTTA	参与光响应的顺式元件	✓	
AE – box	<i>Arabidopsis thaliana</i>	AGAAACAA	光响应模块的一部分		✓
ARE	<i>Zea mays</i>	TGGTTT	主要由缺氧诱导的顺式元件		✓
Box 4	<i>Petroselinum crispum</i>	ATTAAT	参与光响应保守 DNA 模块的一部分	✓	
Box I	<i>Pisum sativum</i>	TTTCAAA	光响应元件	✓	
Box – W1	<i>Petroselinum crispum</i>	TTGACC	真菌诱导子响应元件	✓	✓
CAAT – box	<i>Arabidopsis thaliana</i>	CCAAT	启动子、增强子区域顺式作用元件	✓	✓
CCAAT – box	<i>Hordeum vulgare</i>	CAACGG	MYBHv1 结合位点	✓	
CGTCA – motif	<i>Hordeum vulgare</i>	CGTCA	参与茉莉酸响应的顺式元件	✓	✓
ERE	<i>Dianthus caryophyllus</i>	ATTTCAAA	乙烯响应元件	✓	
G – Box	<i>Pisum sativum</i>	CACGTT	参与光响应的顺式元件	✓	✓
HD – Zip 3	<i>Arabidopsis thaliana</i>	GTAAT(G/C)ATTAC	蛋白结合位点	✓	
MBS	<i>Arabidopsis thaliana</i>	TAACTG	干旱诱导的 MYB 结合位点		✓
MNF1	<i>Zea mays</i>	GTGCCC(A/T)(A/T)	光响应元件	✓	
MRE	<i>Petroselinum crispum</i>	AACCTAA	光响应的 MYB 结合位点		✓
MSA – like	<i>Catharanthus roseus</i>	TCCAACGGT	参与细胞周期的顺式元件	✓	
Skn – 1_motif	<i>Oryza sativa</i>	GTCAT	参与胚乳表达的顺式元件	✓	
Sp1	<i>Zea mays</i>	CC(G/A)CCC	光响应元件	✓	✓
TATA – box	<i>Glycine max</i>	TAATA	转录起始 – 30 核心启动子元件	✓	✓
TCT – motif	<i>Arabidopsis thaliana</i>	TCTTAC	光响应元件的一部分	✓	✓
TGA – element	<i>Brassica oleracea</i>	AACGAC	生长素响应元件		✓
TGACG – motif	<i>Hordeum vulgare</i>	TGACG	参与茉莉酸响应的顺式元件		✓
chs – Unit 1 ml	<i>Hordeum vulgare</i>	ACCTAACCCGC	光响应元件的一部分		✓
circadian	<i>Lycopersicon esculentum</i>	CAANNNNATC	参与生物钟调控的顺式作用元件	✓	
sbp – CMA1c	<i>Arabidopsis thaliana</i>	CTTTATCTCTCCA	光响应元件的一部分	✓	

注：“✓”代表含有此调控元件。

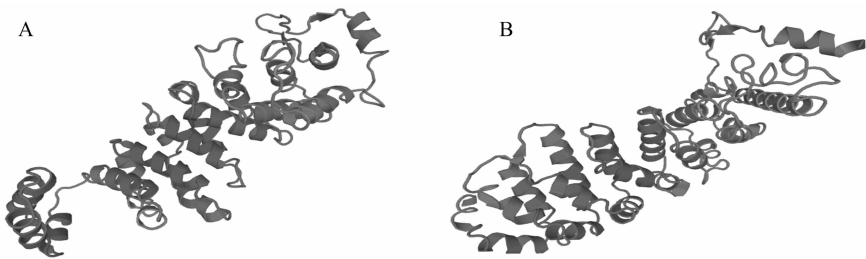


图1 MePHOR1\_1 (A)和 MePHOR1\_2 (B)三维结构预测

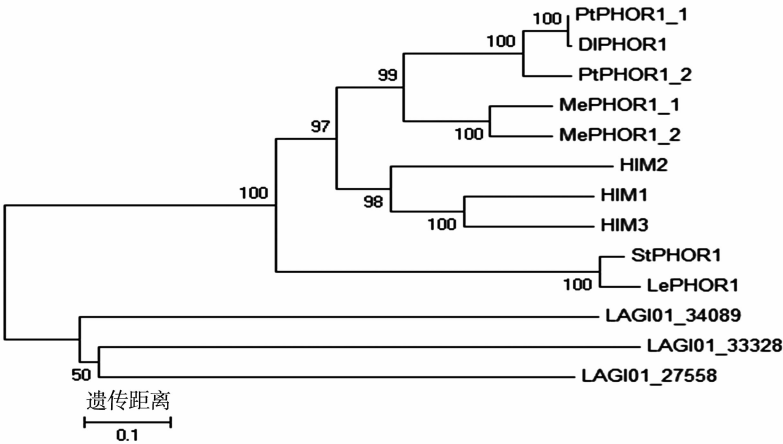


图2 2 个木薯 PHOR1 蛋白与其他 6 个物种 PHOR1 蛋白的系统发生进化树

## 2.4 茉莉酸甲酯和乙烯诱导木薯 *PHOR1* 表达水平变化

为排除 *PHOR1* 基因本底变化造成的影响,将茉莉酸甲酯和乙烯诱导后的 qRT-PCR 表达量值除以相应对照的表达量值,值 1.0 为本底表达水平。最终获得其在 2 种处理下的表达趋势,结果显示两者呈现不同趋势:*MePHOR1\_1* 在茉莉酸甲酯的响应整体呈现波浪状,处理 0.5 h 后表达量提升至 1.7 左右,又在 1 h 快速下降至 0.7 水平,后在 4 h 时,逐渐恢复到初始水平,但又在 8 h 出现剧烈下降至最低水平。而乙烯信号对其的影响呈现先在 1 h 下降至最低点后又逐渐上升的趋势(图 3-A)。茉莉酸甲酯诱导后,*MePHOR1\_2* 的趋势与 *MePHOR1\_1* 较为类似,也呈现波浪状,但表达水平有较大差异,处理 0.5 h 后表达量提升至 2.0 以上,又在 1 h 快速下降至初始水平以下,但在 4 h 时提升到 4.0,后又在 8 h 出现剧烈下降。而乙烯信号对其没有非常明显的影响,趋势线较为平直得维持在略低于初始水平的状态下(图 3-B)。

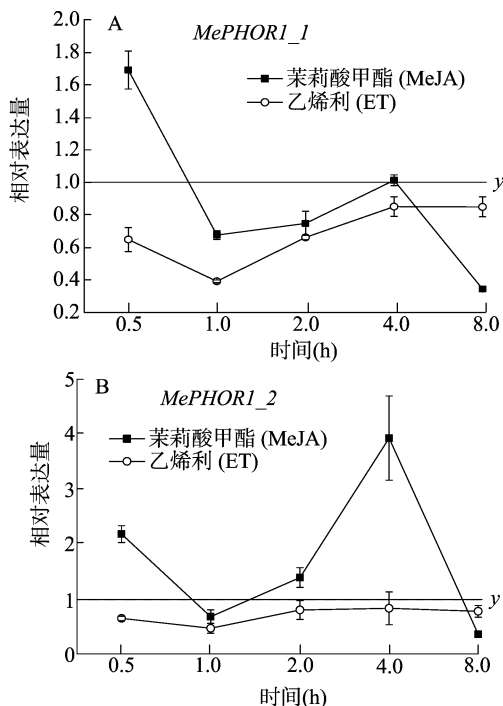


图3 *MePHOR1\_1* 和 *MePHOR1\_2* 的 qRT-PCR 检测结果

## 3 结论与讨论

植物悬浮培养细胞是分子生物学实验中研究信号传递和基因响应的常用方法。加入外源信号物质刺激后,信号物质可快速、均匀地分布在每个细胞周围,操作简易,为试验结果的一致性和重复性提供了保障。本研究选用的悬浮培养细胞大小接近、生长迅速且生长周期基本一致。本试验中,*PHOR1* 基因在逆境信号物质施加后 0.5 h 内即作出了响应,并且在整个过程中表达量最高可达初始水平的 4 倍,表明本试验所选用的材料适用于基因表达分析研究。

如同杨树 *PtPHOR1*<sup>[9]</sup>,木薯 *PHOR1* 基因也是一类较为保守的基因,*MePHOR1\_1* 和 *MePHOR1\_2* 两者具有很高的序列相似性。在蛋白结构上具有和已知的植物 *PHOR1* 基因类似的 U-box 结构和 ARM 重复序列。进化树分析中,与杨树的 *PtPHOR1* 和龙眼的 *DlPHOR1* 基因具有较近的亲缘关系,

可以推断 *MePHOR1* 是一类典型的 *PHOR1* 基因。同时启动子区分析发现 *MePHOR1* 具有乙烯响应因子 ERE 及茉莉酸响应元件 CGTCA-motif 和 TGACG-motif,初步解释了乙烯和茉莉酸信号可影响 *PHOR1* 基因的表达。尽管 *MePHOR1\_1* 有 1 个乙烯响应元件,但乙烯响应的变化趋势却是下调的,可能有其他调控机制抑制了乙烯信号的顺势调控,具体原因还须进一步探索。*MePHOR1\_2* 没有乙烯响应元件,其 ET 处理后的变化曲线尽管略低于本底水平 1.0,但趋势较为平缓,从一个角度解释了 *MePHOR1\_2* 为何对乙烯信号不敏感。此外,*MePHOR1\_2* 在 0.5 h 和 4.0 h 对 JA 响应的表达量要明显高于 *MePHOR1\_1*,推测与其具有 2 个茉莉酸响应元件有一定关系。

在乙烯和茉莉酸处理后 0.5 h 内,*PHOR1* 呈现出不同的响应趋势,ET 导致下调而 JA 导致上调,表明虽同为逆境信号物质,却对 *PHOR1* 具有不同的调控作用。植物中茉莉酸和乙烯与其他信号转导通路的激素的交叉相互作用在整个生活周期内、不同组织器官间、不同类型细胞中一直存在。不同激素信号的整合共同介导了植物的生长发育、对环境的反应及衰老死亡。此外,2 个 *PHOR1* 基因的启动子区还有各自独有的调控元件,如生长素响应、MYB 结合位点等。故此推测,2 种不同逆境信号施加后与其他不同激素的综合作用,产生了迥异的调控模式,最终造成 *PHOR1* 基因不同的表达特性。

杨树中 *PHOR1* 基因受到抑制后,其茎部和根部的淀粉积累出现了上升<sup>[9]</sup>,马铃薯中,*PHOR1* 的下调可以促进块茎的生长<sup>[1]</sup>。*PHOR1* 具有抑制根和芽生长的功能,众所周知,当不利环境来临时,植物开始大量合成贮藏营养物质,并伴随着生长的停滞<sup>[28]</sup>。因此,*PHOR1* 是一种当不利环境来临时植物将碳水化合物从用于生长转为用于贮藏的调控机制的一部分。*PHOR1* 调控淀粉代谢的方式可能与 GA 信号途径有关<sup>[29]</sup>。*PHOR1* 基因可能在根的发育过程中起一定的控制作用,杨树 *PHOR1* 基因的过量表达会显著减少生根<sup>[9]</sup>。有研究表明,GA 会严重影响生长素的运输<sup>[30-32]</sup>。因此,*PHOR1* 作为 GA 信号的一部分,可能会干扰生长素的运输和其感知定位生长素浓度信息的能力,这对根的形成至关重要。总之,*PHOR1* 基因即可受光诱导,又可与 GA 信号互相影响,说明其是链接光信号途径和 GA 途径的一个桥梁<sup>[1]</sup>。由此推测:随着季节更替,日照时间发生变化,这一光信号将影响到植物 *PHOR1* 基因的表达,进而通过调节 GA 影响植株芽和根的生长,并促进淀粉积累,以迎接即将到来的秋冬季节的低温不利环境。

木薯作为重要的粮食作物及工业乙醇和淀粉来源<sup>[33-34]</sup>,根作为其主要经济部位,其生长发育和淀粉的积累具有重要的科研意义和经济价值,*PHOR1* 基因作为可以调控此二者的重要基因,研究逆境信号如何对其造成影响并探索相关机制,可以进一步为木薯产量的提高和质量的提升奠定理论基础。目前我们已知木薯的 *PHOR1* 基因可受到乙烯和茉莉酸信号影响,并初步确定其表达特性,但具体的信号转导路径及此蛋白的具体功能,还需要进一步验证和探索。

## 参考文献:

[1] Amador V, Monte E, Martínez - García J L, et al. Gibberellins signal

- nuclear import of PHOR1, a photoperiod – responsive protein with homology to *Drosophila armadillo* [J]. *Cell*, 2001, 106(3): 343 – 354.
- [2] Olszewski N, Sun T P, Gubler F. Gibberellin signaling: biosynthesis, catabolism, and response pathways [J]. *Plant Cell*, 2002, 14: S61 – S80.
  - [3] Monte E, Amador V, Russo E, et al. PHOR1, a U – Box GA signaling component with a role in proteasome degradation? [J]. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2003, 22: 152 – 162.
  - [4] Pringa E, Martinez – Noel G, Muller U, et al. Interaction of the RING finger – related U – box motif of a nuclear dot protein with ubiquitin – conjugating enzymes [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2001, 276: 19617 – 19623.
  - [5] Conconi A, Smerdon M J, Howe G A, et al. The octadecanoid signalling pathway in plants mediates a response to ultraviolet radiation [J]. *Nature*, 1991, 383(6603): 826 – 829.
  - [6] Turner J G, Ellis C, Devoto A. The jasmonate signal pathway [J]. *Plant Cell*, 2002, 14( Suppl1): S153 – S164.
  - [7] Bleecker B, Kende H. Ethylene: a gaseous signal molecule in plants [J]. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 2000, 16: 1 – 18.
  - [8] Johnson P R, Ecker J R. The ethylene gas signal transduction pathway: a molecular perspective [J]. *Annual Review of Genetics*, 1998, 32: 227 – 254.
  - [9] Zawaski C, Ma C, Strauss S H, et al. PHOTOPERIOD RESPONSE 1 (PHOR1) – like genes regulate shoot/root growth, starch accumulation, and wood formation in *Populus* [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2012, 63(15): 5623 – 5634.
  - [10] Prochnik S, Marri P R, Desany B, et al. The cassava genome: current progress, future directions [J]. *Tropical Plant Biology*, 2012, 5: 88 – 94.
  - [11] Brunak S, Engelbrecht J, Knudsen S. Prediction of human mRNA donor and acceptor sites from the DNA sequence [J]. *Journal of Molecular Biology*, 1991, 220: 49 – 65.
  - [12] Hebsgaard S M, Korning P G, Tolstrup N, et al. Splice site prediction in *Arabidopsis thaliana* pre – mRNA by combining local and global sequence information [J]. *Nucleic Acids Research*, 2010, 24(17): 3439 – 3452.
  - [13] Hu B, Jin J P, Guo A Y, et al. GSDS 2.0: an upgraded gene feature visualization server [J]. *Bioinformatics*, 2015, 31(8): 1296 – 1297.
  - [14] Solovyev V V, Shahmuradov I A. PromH: Promoters identification using orthologous genomic sequences [J]. *Nucleic Acids Research*, 2003, 31(13): 3540 – 3545.
  - [15] Lescot M, Déhais P, Moreau Y, et al. PlantCARE, a database of plant cis – acting regulatory elements and a portal to tools for *in silico* analysis of promoter sequences [J]. *Nucleic Acids Research*, 2002, 30(1): 325 – 327.
  - [16] Gasteiger E, Gattiker A, Hoogland C, et al. ExPASy: the proteomics server for in – depth protein knowledge and analysis [J]. *Nucleic Acids Research*, 2003, 31(13): 3784 – 3788.
  - [17] Hunter S, Apweiler R, Attwood T K, et al. InterPro: the integrative protein signature database [J]. *Nucleic Acids Research*, 2009, 37(Database issue): D211 – D215.
  - [18] Bailey T L, Elkan C. Fitting a mixture model by expectation maximization to discover motifs in biopolymers [J]. *Intell Syst Mol Biol*, 1994, 2: 28 – 36.
  - [19] Bailey T L, Gribskov M. Combining evidence using p – values: application to sequence homology searches [J]. *Bioinformatics*, 1998, 14(1): 48 – 54.
  - [20] Krogh A, Larsson B, Von Heijne G, et al. Predicting transmembrane protein topology with a hidden Markov model: application to complete genomes [J]. *Journal of Molecular Biology*, 2001, 305: 567 – 580.
  - [21] Hua S J, Sun Z R. Support vector machine approach for protein subcellular localization prediction [J]. *Bioinformatics*, 2015, 17(8): 721 – 728.
  - [22] Jones D T. Protein secondary structure prediction based on position – specific scoring matrices [J]. *Journal of Molecular Biology*, 1999, 292: 195 – 202.
  - [23] Arnold K, Bordoli L, Kopp J, et al. The SWISS – MODEL Workspace: a web – based environment for protein structure homology modelling [J]. *Bioinformatics*, 2006, 22: 195 – 201.
  - [24] Khan I K, Wei Q, Chitale M, et al. PFP/ESG: automated protein function prediction servers enhanced with Gene Ontology visualization tool [J]. *Bioinformatics*, 2015, 31(2): 271 – 272.
  - [25] Martinelli F, Uratsu S L, Reagan R L, et al. Gene regulation in parthenocarpic tomato fruit [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2009, 60: 3873 – 3890.
  - [26] Jia T, Wei D, Meng S, et al. Identification of regulatory genes implicated in continuous flowering of longan (*Dimocarpus longan* L.) [J]. *PLoS One*, 2014, 9(12): e114568.
  - [27] O'Rourke J A, Yang S S, Miller S S, et al. An RNA – Seq transcriptome analysis of orthophosphate – deficient white lupin reveals novel insights into phosphorus acclimation in plants [J]. *Plant Physiology*, 2013, 161: 705 – 724.
  - [28] Hermans C, Hammond J P, White P J, et al. How do plants respond to nutrient shortage by biomass allocation? [J]. *Trends in Plant Science*, 2006, 11: 610 – 617.
  - [29] Thomas S G, Sun T P. Update on gibberellin signaling: a tale of the tall and the short [J]. *Plant Physiology*, 2004, 135: 668 – 676.
  - [30] Bjorklund S, Antti H, Uddestrand I, et al. Cross – talk between gibberellin and auxin in development of *Populus* wood: gibberellin stimulates polar auxin transport and has a common transcriptome with auxin [J]. *The Plant Journal*, 2007, 52: 499 – 511.
  - [31] Gou J Q, Strauss S H, Tsai C J, et al. Gibberellins regulate lateral root formation in *Populus* through interactions with auxin and other hormones [J]. *Plant Cell*, 2010, 22: 623 – 39.
  - [32] Mauriat M, Sandberg L G, Moritz T. Proper gibberellin localization in vascular tissue is required to control auxin – dependent leaf development and bud outgrowth in hybrid aspen [J]. *The Plant Journal*, 2011, 67: 805 – 816.
  - [33] 曾文丹, 罗兴录. 2 个淀粉含量不同木薯品种 *SSII* 基因序列及不同生育期淀粉含量比较 [J]. *江苏农业科学*, 2015, 43(5): 35 – 38.
  - [34] 安飞飞, 简纯平, 杨播龙, 等. 木薯幼苗叶绿素含量及光合特性对盐胁迫的响应 [J]. *江苏农业学报*, 2015, 31(3): 500 – 504.