

甘薯 PEBP 基因家族鉴定以及影响甘薯块根发育候选 PEBP 基因的鉴定

黄哲瑞^{1,2}, 辛曙丽³, 赵 添^{1,2}, 刘永华^{1,2*}, 朱国鹏^{1,2*}

1. 海南大学三亚南繁研究院, 海南三亚 572022; 2. 海南大学园艺学院/海南省热带园艺作物品质调控重点实验室, 海南海口 570228; 3. 保亭黎族苗族自治县农业服务中心, 海南保亭 572316

摘 要: 磷脂酰乙醇胺结合蛋白 (PEBP) 在植物中广泛存在, 在调控开花、种子休眠以及地下储藏器官 (如马铃薯块茎和洋葱鳞茎) 形成中发挥着重要作用。但目前有关甘薯 (*Ipomoea batatas*) PEBP 基因家族成员的研究较少, 且尚未有研究系统揭示调控甘薯块根发育的关键 PEBP 家族成员。本研究首先通过生物信息学分析对甘薯基因组中 PEBP 基因家族成员的数量和种类进行鉴定, 然后通过 PEBP 基因表达的组织特异性分析、PEBP 基因在不同发育时期块根中表达水平的动态变化及其与糖转运蛋白 *SWEET* 基因表达水平之间的相关性分析, 系统筛选出调控甘薯块根发育的候选 PEBP 基因家族成员并初步揭示其可能的调控机制。结果如下: (1) 从甘薯基因组中共鉴定出 15 个 PEBP 基因, 聚类分析将其分为 4 个亚家族: 5 个 FT-like 成员 (*IbFT1~5*)、6 个 TFL1-like 成员 (*IbTFL1~6*)、2 个 MFT-like 成员 (*IbMFT1~2*) 和 2 个 PEBP-like 成员 (*IbPEBP1~2*)。 (2) 聚类分析结果表明, *IbFT5* 可能会促进甘薯块根发育, 而 *IbTFL3* 可能会抑制其块根发育。 (3) 甘薯 PEBP 基因表达的组织特异性分析表明, 在根系高表达的 PEBP 基因中, 只有 *IbFT5*、*IbTFL4* 和 *IbTFL6* 不仅在根系的表达水平高于在其他组织中的表达水平, 而且和根系中其他 PEBP 家族成员的表达水平相比, 这 3 个基因的表达水平也是最高的, 因此推测这 3 个 PEBP 基因可能会促进块根膨大。 (4) 对上述 2 种方法得到的 4 个候选 PEBP 基因 (*IbFT5*、*IbTFL3*、*IbTFL4* 和 *IbTFL6*) 在不同发育时期块根 (定植后 30、60、90、120 d) 中的表达水平测定结果表明, 随着块根的发育, *IbFT5*、*IbTFL4*、*IbTFL6* 的表达水平显著上升, 特别是在块根快速膨大期 (60~90 d), 而 *IbTFL3* 的表达水平在块根快速膨大期 (60~90 d) 则快速下降。因此, *IbFT5*、*IbTFL4*、*IbTFL6* 可能促进块根发育, 而 *IbTFL3* 则可能抑制块根发育。 (5) 伴随着 *IbFT5*、*IbTFL4*、*IbTFL6* 的表达水平的升高, 块根中高表达的 5 个 *SWEET* 基因中有 4 个 (*IbSWEET4*、*IbSWEET11*、*IbSWEET16* 和 *IbSWEET19*) 的表达水平均呈现不断下降的趋势, 这与马铃薯的研究结果相似, 表明甘薯 PEBP 基因可能也是通过抑制 *SWEET* 蛋白活性, 从而促进糖分通过更高效率的共质体转运途径向块根进行运输最终促进块根发育。综上, 本研究不仅确定了甘薯基因组中 PEBP 基因家族成员的数量和种类, 而且还筛选出 4 个可能影响甘薯块根发育的候选 PEBP 基因, 为进一步提高我国甘薯的产量提供理论依据。

关键词: 甘薯; PEBP 基因家族; 生物信息学; 组织表达特异性; 块根发育

中图分类号: S531 文献标识码: A

Identification of PEBP Gene Family in Sweet Potato and Screening of Key PEBP Genes Regulating Storage Root Development

HUANG Zherui^{1,2}, XIN Shuli³, ZHAO Tian^{1,2}, LIU Yonghua^{1,2*}, ZHU Guopeng^{1,2*}

1. Sanya Nanfan Research Institute, Hainan University, Sanya, Hainan 572022, China; 2. College of Horticulture, Hainan University / Key Laboratory for Quality Regulation of Tropical Horticultural Crops of Hainan Province, Haikou, Hainan 570228, China; 3. Agricultural Service Center of Baoting, Baoting, Hainan 572316, China

收稿日期 2023-06-27; 修回日期 2023-08-09

基金项目 海南省自然科学基金项目 (No. 320RC476); 海南省基础与应用基础研究计划 (自然科学领域) 高层次人才项目 (No. 2019RC146); 国家自然科学基金项目 (No. 32260440)。

作者简介 黄哲瑞 (1996—), 男, 硕士研究生, 研究方向: 甘薯栽培技术和产量。*通信作者 (Corresponding author): 刘永华 (LIU Yonghua), E-mail: yong-hua.liu@hainanu.edu.cn; 朱国鹏 (ZHU Guopeng), E-mail: zhuguopeng@hainanu.edu.cn。

Abstract: Phosphatidyl ethanolamine-binding protein (PEBP) widely exist in plants and play important roles in regulating flowering, seed dormancy and the formation of underground storage organs (e.g. potato tubers and onion bulbs). However, up to now, there is few studies conducted on PEBP genes in sweet potato (*Ipomoea batatas*), and there is also no research published to reveal the key members of PEBP gene family that regulate the development of storage root of sweet potato. Our study first identified the number and types of the PEBP gene family in sweet potato through bioinformatics analysis. Then, to screen the candidate members of the PEBP gene family that regulate the development of storage root of sweet potato, the tissue specificity of *PEBP* gene expression and the dynamic changes of *PEBP* gene expression level in storage roots at different development stages were analyzed. To explore possible regulatory mechanism, the correlation between *PEBP* gene expression level and *SWEET* gene expression level in storage roots were also examined. The results are as follows: (1) A total of 15 putative *PEBP* genes were identified from the sweet potato genome, which were classified into 4 subfamilies: 5 of FT-like genes (*IbFT1*–5), 6 of TFL1-like genes (*IbTFL1*–6), 2 of MFT-like genes (*IbMFT1*–2), and 2 of PEBP-like genes (*IbPEBP1*–2). (2) Clustering analysis revealed that *IbFT5* may promote the development of storage root of sweet potato, while *IbTFL3* may inhibit the development. (3) The tissue specificity analysis of sweet potato *PEBP* gene expression showed that *IbFT5*, *IbTFL4* and *IbTFL6* not only showed higher expression levels in the diverse root tissues than in other tissues, but also had higher expression levels in roots than other *PEBP* genes. Therefore, it is speculated that the three *PEBP* genes may promote root enlargement. (4) The expression levels of the four candidate *PEBP* genes (*IbFT5*, *IbTFL3*, *IbTFL4* and *IbTFL6*) obtained from the above two methods were determined in storage roots at different developmental stages (30, 60, 90 and 120 days after planting). It was found that the expression levels of *IbFT5*, *IbTFL4* and *IbTFL6* significantly increased with the development of root tubers, especially during the rapid expansion period (60–90 days), while the expression level of *IbTFL3* rapidly decreased during the rapid expansion period (60–90 days). Therefore, all the above measurement results indicate that *IbFT5*, *IbTFL4* and *IbTFL6* may promote root development, while *IbTFL3* may inhibit root development. (5) With the increase of expression levels of *IbFT5*, *IbTFL4* and *IbTFL6*, the expression levels of four out of the five highly expressed *SWEET* genes (*IbSWEET4*, *IbSWEET11*, *IbSWEET16* and *IbSWEET19*) in storage roots showed a continuous decreasing trend. This result is similar to the findings in potatoes, indicating that the *PEBP* gene of sweet potato may also inhibit *SWEET* activity and thus promotes the transportation of sugar to the storage roots through more efficient symplasmic pathway, which ultimately promotes the development of storage roots. In conclusion, this study not only determined the number and types of members of the *PEBP* gene family in the sweet potato genome, but also systematically identified four candidate *PEBP* genes affecting the development of sweet potato storage roots, which can provide a theoretical basis for further improvement of sweet potato yield in China.

Keywords: sweet potato; PEBP gene family; bioinformatics; tissue-specific expression; development of storage root

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2024.03.003

磷脂酰乙醇胺结合蛋白 (phosphatidylethanolamine-binding protein, PEBP) 具有 1 个非常保守的 PEBP 结构域, 该结构域因能与磷脂酰乙醇胺结合而得名^[1]。PEBP 是一种非常保守的蛋白, 在生物界中广泛存在, 无论是植物、动物还是古细菌中均有存在^[2]。植物中的 PEBP 最早在拟南芥中发现, 可分为 3 个亚家族: FT (FLOWERING LOCUS T)-like、TFL1 (TERMINAL FLOWER 1)-like、MFT (MOTHER OF FT AND TFL1)-like^[3]。随着研究的深入, 在小麦、棉花等作物中发现 PEBP 家族中还存在另一个亚家族, 将其命名为 PEBP-like^[4-5]。

PEBP 家族中成员较多, 功能多样^[3]。在拟南芥中存在 6 个 PEBP 家族成员, 其中 2 个属于 FT-like (*AtFT*、*AtTSF*)、3 个属于 TFL1-like (*AtTFL1*、

AtBFT、*AtATC*), 1 个属于 MFT-like (*AtMFT*)。拟南芥 *AtFT* 基因与 *AtTFL1* 基因在开花诱导方面显示出显著的拮抗功能^[6]。在长日照条件下, 拟南芥 *AtFT* 的上游基因 *CONSTANS* (*CO*) 表达上升并与光敏色素作用因子 PIF4 相互作用于 *AtFT* 的启动子区域, 从而激活了叶片中 FT 的表达^[7], FT 蛋白在叶片中产生后, 通过维管束运输到顶端分生组织的细胞质中^[8], 与 bZIP 转录因子 FD 蛋白结合形成 FT/FD 蛋白复合物, 从而诱导下游成花相关基因的表达, 促进拟南芥开花^[9]。在短日照条件下, *AtTFL1* 基因表达上升, 而 FD 既能和 FT 蛋白结合, 也能和 TFL1 蛋白结合, 因此 TFL1 蛋白通过与 FT 蛋白竞争和 FD 的结合, 从而抑制拟南芥开花^[10]。拟南芥 FT-like 的另一成员 TSF 会协助 FT 对 FD 的竞争。而 TFL1-like 成员 *AtBFT*、

AtATC 也会协助 TFL1 对 FD 的竞争。因此拟南芥开花不仅取决于 FT 和 TFL1, 还与 FT-like、TFL1-like 其他成员的表达水平有关^[11]。过表达研究表明, *AtMFT* 有促进拟南芥开花的作用, *AtMFT* 基因还可以通过调控 ABA 和 GA 信号来调节种子的萌发^[12-14]。与拟南芥 FT-like 类似, 水稻 FT-like 的 RICE FLOWERING LOCUS T1 (*RFT1*) 基因在长日照时具有诱导开花的作用^[15]。

除了调控植物开花和种子萌发外, PEBP 还可调控植物地下部储藏器官如鳞茎、块茎等的生长发育。如洋葱 (*Allium cepa* L) FT-like 中的 *AcFT1* 和 *AcFT4* 对洋葱鳞茎的发育有拮抗作用。在长日照条件下, *AcFT1* 基因表达量升高, 能够促进洋葱产生鳞茎, 而在短日照条件下, *AcFT4* 表达量增加, 抑制 *AcFT1* 基因的转录, 使洋葱提早开花, 同时鳞茎的形成受到抑制^[16]。在马铃薯中, 过表达 FT 同源基因 *StSP6A* 会抑制蔗糖转运蛋白 StSWEET11 的活性, 使蔗糖的卸载途径从质外体途径转变为糖转运效率更高的共质体途径, 从而提高蔗糖向块茎的转运和马铃薯块茎的形成^[17]。而另一个 FT 同源基因 *StSP5G* 可以通过抑制 *StSP6A* 的表达阻碍马铃薯块茎的形成^[18]。马铃薯 *StCEN1* 属于 TFL1-like, 与脱落酸和细胞分裂素的信号传导有关^[19], *StCEN1* 的过表达也可以抑制马铃薯块茎的形成^[20]。水稻 FT 同源基因 *Hd3a* 的产物在短日照条件下会与细胞质的 14-3-3 蛋白结合形成二级复合体, 然后该复合体进入细胞核中与 bZIP 转录因子 FD 蛋白结合形成三级复合体 FAC, 诱导水稻提早开花^[21]。此外, 水稻 *Hd3a* 基因在马铃薯中过表达能够促进马铃薯块茎的形成^[18]。还有研究表明 PEBP 基因也在番茄^[22]、大麦^[23-24]、毛竹^[25]、木薯^[26]、苹果^[27-28]、郁金香^[29]等多种作物的生长发育中发挥着重要的调控作用。

甘薯 (*Ipomoea batatas*) 别名甜薯、地瓜、番薯, 为旋花科草本植物。甘薯起源于中南美洲, 在 16 世纪末才传入中国^[30]。由于甘薯环境适应能力强、产量较高且易于栽培管理, 因此很快就在我国广泛种植^[31]。甘薯块根、茎、叶均可食用, 富含淀粉、可溶性糖、维生素 C、维生素 E、胡萝卜素、花青素等人体所需物质^[32]。此外, 甘薯还具有重要的经济价值, 可作为饲料、淀粉加工原料和工业原材料^[33]。甘薯已经成为全球第七大农作物, 我国甘薯栽培面积和产量分别占全球的

42% 和 68%, 稳居世界第一 (FAO, 2020)。目前我国甘薯单产已处于平台期, 近 20 年来 (1999—2020 年) 一直徘徊在 22 t/hm² 左右, 没有进一步提升 (FAO, 2020)。虽然和大多数发展中国家相比我国甘薯单产较高, 但和发达国家相比, 我国甘薯单产仍有一定差距, 例如美国和澳大利亚平均单产分别高达 25.4 t/hm² 和 39 t/hm² (FAO, 2020)。如何进一步提升甘薯产量是我国甘薯产业健康、可持续发展所亟需解决的重要问题之一。

与马铃薯块茎和洋葱鳞茎等类似, 甘薯的主要食用器官块根也属于地下部储藏器官, 因此对其 PEBP 家族成员进行研究将有助于进一步提高甘薯产量。虽然已有研究报道甘薯 PEBP 基因家族, 但该研究仅从甘薯基因组中鉴定出 13 个 PEBP 家族成员, 不包含 PEBP-like 成员^[34]。截至目前, 尚未有报道系统鉴定和阐明与甘薯块根发育相关的候选 PEBP 家族成员。鉴于此, 本研究首先利用生物信息学方法对甘薯基因组中 PEBP 家族成员的数量和种类进行系统鉴定, 然后通过生物信息学分析 PEBP 基因表达的组织特异性 (幼叶、成熟叶、茎、纤维根、柴根、薯皮、块根、花), 初步鉴定出可能调控甘薯块根发育的候选 PEBP 家族成员, 最后通过对候选 PEBP 基因在不同发育时期块根中表达水平的动态变化及其与 SWEET 基因表达水平之间的相关性分析, 进一步确认其在调控甘薯块根发育中的重要作用。本研究将为后续深入研究甘薯 PEBP 基因家族的功能奠定基础, 同时为进一步提高我国甘薯产量提供理论支撑。

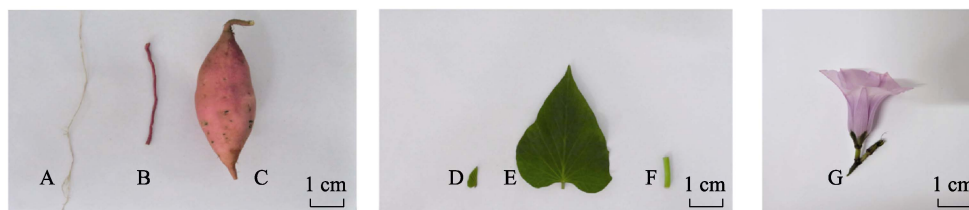
1 材料与方法

1.1 材料

选取甘薯品种高系 14 为实验材料, 于海南大学 (20°2'39.73"N, 110°18'26.93"E) 进行露地栽培, 以史丹利复合肥 (N:P:K=15:15:15) 450 kg/hm² 和羊粪有机肥 12 000 kg/hm² 作为基肥, 在种植前先整地起垄, 按照 40 cm 间隔起垄, 垄宽 80 cm, 每垄只种 1 行甘薯, 株距为 25 cm。种植时间为 2021 年 9 月 20 号至 2021 年 12 月 3 号, 开花后 (74 d) 取样。为了研究不同组织的基因表达, 选择高系 14 的幼叶 (茎尖周围的未展开叶)、成熟叶 (从茎尖向下数的第 5 片完全展开叶片)、茎、花 (不包括花柄和花萼)、纤维根 (白

色细长呈纤维状的根)、柴根(直径 0.2~2.0 cm 粗细均匀的红色根)、块根(直径约 4 cm 的膨大根)

的薯皮和薯肉 8 个部位(图 1), 每个部位取 0.2 g, 3 个生物学重复。



A: 纤维根; B: 柴根; C: 块根; D: 幼叶; E: 成熟叶; F: 茎; G: 花。

A: Fibrous root; B: Pencil root; C: Storage root; D: Young leaf; E: Mature leaf; F: Stem; G: Flower.

图 1 甘薯不同组织部位的样品

Fig. 1 Samples of different tissues in sweet potato

2022 年 1—5 月在海南大学海甸校区温室大棚盆栽种植高系 14。花盆规格为: 外径 29.6 cm, 内径 25.4 cm, 高 19.7 cm, 底部直径 17.8 cm。基肥用羊粪有机肥和史丹利复合肥(N:P:K=15:15:15), 田园土和羊粪有机肥按 3:1 的体积比加上每盆 0.8 g 的史丹利复合肥(N:P:K=15:15:15)混合均匀, 装入花盆。剪取 25 cm 长带茎尖的甘薯茎段, 以直插法进行扦插, 深度为 10 cm。在甘薯扦插后的 30、60、90、120 d 取样, 取 0.2 g 块根薯肉提取总 RNA, 每个取样时期均含 4 个生物学重复。取样后液氮处理, 置于-80℃超低温冰箱保存备用。

1.2 方法

1.2.1 甘薯 PEBP 基因家族成员鉴定 从甘薯基因组数据库(<https://ipomoea-genome.org/>)下载甘薯的全基因组文件和全基因组注释文件。从 NCBI 数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)下载拟南芥 PEBP 家族的蛋白序列^[26]。从 Phytozome v13 数据库(<https://phytozome-next.jgi.doe.gov/>)下载木薯 PEBP 家族的蛋白序列^[26]。从马铃薯的 Spud DB 数据库(<http://solanaceae.plantbiology.msu.edu>)下载马铃薯 PEBP 家族的蛋白序列^[35]。

为了鉴定甘薯 PEBP 候选基因, 使用 2 种方法搜索甘薯的蛋白质序列。第一种方法: 准备拟南芥(6 个)、木薯(10 个)、马铃薯(15 个)的 PEBP 基因家族蛋白序列, 通过 TBtools^[36](<https://github.com/CJ-Chen/TBtools>)在线软件将甘薯全蛋白序列进行本地 Blastp 比对, 参数阈值设置为 $E\text{-value} \leq 1e^{-5}$, 其他参数为默认值。第二种方法: 通过查找 PEBP 家族蛋白的隐马尔可夫模型(HMM)的 ID(PF01161)、下载甘薯全蛋白序列和 Pfam-A.hmm 文件([ftp://ftp.ebi.ac.uk/pub/data-](ftp://ftp.ebi.ac.uk/pub/data-bases/Pfam/current_release/Pfam-A.hmm.gz)

bases/Pfam/current_release/Pfam-A.hmm.gz)。将 ID(PF01161)、甘薯全蛋白序列、Pfam-A.hmm 文件用 TBtools 软件检索出可能的甘薯 PEBP 基因。

将 2 种方法得到的候选基因, 提交给 Pfam 数据库^[37](<http://pfam.xfam.org/>)、NCBI 网站^[38](<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/cdd.html>)和 SMART 网站^[39](http://smart.embl-heidelberg.de/smart/set_mode.cgi?NORMAL=1)进一步确认是否含有保守的 PEBP 结构域。

1.2.2 甘薯 PEBP 家族成员染色体定位 使用 TBtools 软件分析甘薯 PEBP 家族成员基因的注释信息。

1.2.3 甘薯 PEBP 家族蛋白系统发育分析 为了对甘薯的 PEBP 家族基因进行分类系统发育分析, 使用 MEGA-X(<https://www.megasoftware.net/>)在线软件的邻接法(Neighbor-joining method)将拟南芥、木薯、马铃薯、甘薯的 PEBP 蛋白的全氨基酸序列构建系统发育树, 其中参数设定的自展值为 1000, 其他参数默认。使用 Evolview(<https://www.evolgenius.info/evolview/>)在线软件对系统发育树进行美化。此外, 按上述方法用 MEGA-X 软件将甘薯 PEBP 基因与其他物种已知功能的 PEBP 基因(马铃薯的 *StSP6A*、*StSP5G*、*StCEN1*; 洋葱的 *AcFTI* 和 *AcFT4*; 水稻的 *Hd3a*)构建系统发育树, 以此推断相关甘薯 PEBP 基因的功能。

1.2.4 甘薯 PEBP 家族成员理化性质分析 使用 ExPASy(<http://web.expasy.org/protparam/>)在线软件预测 PEBP 蛋白的理化性质(等电点、分子量、氨基酸数目)。使用 Cell-PLoc 2.0(<http://www.csbio.sjtu.edu.cn/bioinf/Cell-PLoc-2/>)在线软件进行亚细胞定位预测。

1.2.5 甘薯 PEBP 基因家族成员表达分析 使用 Premier 5.0 软件设计实时定量 PCR 所需引物，并在 NCBI 网站检验引物特异性。其中 *IbFT1*、*IbFT3* 与 *IbFT2* 的 CDS 序列相似度高且前 2 个基因的 CDS 序列比 *IbFT2* 短，*IbTFL1* 与 *IbTFL2* 相比也是如此，因此 *IbFT1*、*IbFT3*、*IbTFL1* 无法设计特异性引物，后续不再对 *IbFT1*、*IbFT3*、*IbTFL1* 进行基因表达研究。具体引物信息如表 1 所示，其中，5 个 *SWEET* 基因（*IbSWEET4*、*IbSWEET7*、*IbSWEET11*、*IbSWEET16* 和 *IbSWEET19*）的引物信息参照张文杰^[40]的研究。

利用 CWBIO 公司的 RNA 提取试剂盒[OmniPlant RNA Kit（Dnase I）]提取总 RNA，并通过琼脂糖凝胶电泳检查其完整性；逆转录使用诺唯赞 HiScript III 1st Strand cDNA Synthesis Kit 逆转录试剂盒；使用诺唯赞 ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix 试剂盒，以甘薯的 β -Actin 基因为内参，用德国耶拿 qTOWER3G 定量 PCR 仪进行基因表达水平测定。具体反应条件如下：95 ℃ 预变性 5 min；95 ℃ 变性 5 s，58 ℃ 退火 30 s，72 ℃ 延伸 30 s，40 个循环。采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算基因的相对表达量。

表 1 qRT-PCR 所用引物序列
Tab. 1 Primer sequences used for qRT-PCR

基因名称 Gene name	登录号 Accession ID	正向引物（5'-3'） Forward primer (5'-3')	反向引物（5'-3'） Reverse primer (5'-3')	产物长度 Amplicon length/bp
<i>IbFT2</i>	g33292.t1	CTCAGCTCATCAACCCACCTAG	GGAAAAGCACAAACACAAAACG	240
<i>IbFT4</i>	g54865.t1	GTTGGCGGAGATGATTTTCG	CCTCAGGTTTGGGTTGCTTG	84
<i>IbFT5</i>	g54869.t1	TGGCCGTGTTATAGGGGATG	AGAAGGTGCGGAGATCATGG	161
<i>IbTFL2</i>	g4582.t1	GAGAAGGCTGGGAATGGGA	GAGATCGTTGTCGTCGCTAAAT	82
<i>IbTFL3</i>	g20567.t1	GAGAGTGATTGGGGAAGTTGTG	TTGGCGGTTGCTGTTATATGTA	76
<i>IbTFL4</i>	g25123.t1	TTTGGTGATGACTGACCCTGAT	GTTTGGCTTCGGAGTTTCGT	145
<i>IbTFL5</i>	g51106.t1	CCTCATTTGAAGAGACGGCA	GCTGGCAGTTGAAGAAGACG	123
<i>IbTFL6</i>	g51110.t1	TGATGGAGATTGAGATCCTTCT	GATTCCTATGTTTGGCTTTGGTG	181
<i>IbMFT1</i>	g35480.t1	ATGATGGTGAGGAGAAGTGTTG	AAGGTATAGAGCTGGGTGGAAT	200
<i>IbMFT2</i>	g46363.t1	TCCGTTGGTGGTCGGAAG	GATTGGGAGAAGCAGGGGAA	173
<i>IbPEBP1</i>	g9831.t1	TGGCGTTAGTGGGGTTGC	GCTTGTCTTTGTCGGCTTATT	207
<i>IbPEBP2</i>	g17997.t1	GATCCCGAAGCACCAATCGT	CTTCTCGTCGTTCTGCCCTT	150
<i>IbSWEET4</i>	g6480.t1	ATCTTCATCGTCTTCGCTCCTC	ATGCACACAAACCCTATGGCAT	152
<i>IbSWEET7</i>	g13601.t1	CATTCTACTGTGCTTCTTCCTCAC	GCTCTTCTACATTTTGTTCCTC	189
<i>IbSWEET11</i>	g37512.t1	AAAACCTTTGGGGTGGTTGCTA	TCGACGCTTCTTGCTTGATC	185
<i>IbSWEET16</i>	g45970.t1	CATTTTACCTCTCGCTTGCTACC	ACAAACAACCTTGACCACTTCTGC	291
<i>IbSWEET19</i>	g55355.t1	CAAGAAAGCGAGGGTACAAACTA	ACACACACAATGAAAAACGAGG	155
β -Actin	EU250003.1	TATGTTGGGATGGGACAGAA	CGGTAAGAAGGACAGGGTGCT	191

注： β -Actin 登录号来自 NCBI 网站。
Note: The β -Actin login number comes from the NCBI website.

1.3 数据处理

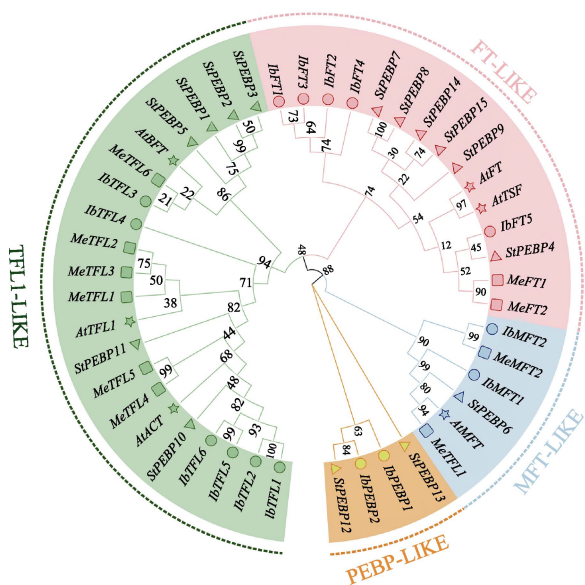
利用 Excel 2020 软件和 Graphpad prism 8.0 软件处理甘薯 PEBP 基因相对表达数据，使用 SPSS 22.0 软件对数据进行单因素方差分析（ANOVA），多重比较采用 Duncan’s 法分析。

2 结果与分析

2.1 甘薯 PEBP 基因家族成员的鉴定

通过本地 Blastp 比对和隐马尔可夫模型

（HMM）分析，从甘薯基因组中找到 16 个 PEBP 候选基因，然后将其提交到 Pfam 数据库、NCBI 网站和 SMART 网站验证，发现编号为 g46241.t1 的蛋白无 PEBP 结构域，将其剔除。因此，从甘薯基因组中总共鉴定出 15 个 PEBP 家族成员。用 MEGA-X 软件将鉴定出的 15 个甘薯 PEBP 家族成员与已经公布的拟南芥、木薯、马铃薯的 PEBP 家族成员用邻接法构建系统发育树（图 2）。结果显示，15 个甘薯 PEBP 家族成员被分为 4 个亚家



圆角为甘薯 PEBP 家族成员, 五角形为拟南芥 PEBP 家族成员, 正方形为木薯 PEBP 家族成员, 三角形为马铃薯 PEBP 家族成员。

The circle is sweet potato PEBP family, the pentagon is *Arabidopsis* PEBP family, the square is cassava PEBP family, and the triangle is sweet potato PEBP family.

图 2 甘薯、拟南芥、木薯、马铃薯 PEBP 家族系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic tree of PEBP families of sweet potato, *Arabidopsis*, cassava and potato

族, 其中包含 5 个 FT-like 成员、6 个 TFL1-like 成员、2 个 MFT-like 成员和 2 个 PEBP-like 成员。根据每个亚家族成员在染色体上位置的先后顺序进行命名, 分别命名为 *IbFT1*~5、*IbTFL1*~6、*IbMFT1*~2、*IbPEBP1*~2 (表 2)。值得注意的是, 现有研究仅在甘薯基因组中鉴定出 13 个 PEBP 家族成员, 包括 5 个 FT-like 成员、6 个 TFL1-like 成员、2 个 MFT-like 成员, 但缺少 2 个 PEBP-like 成员^[34]。

2.2 甘薯 PEBP 基因家族成员的功能预测

为了鉴定出可能与甘薯块根发育相关的 PEBP 家族成员, 将其他农作物中已知会促进或抑制地下部储藏器官膨大的 PEBP 基因 (包括马铃薯的 *StSP6A*、*StSP5G* 和 *StCEN1* 基因^[17-20], 洋葱的 *AcFT1* 和 *AcFT4* 基因^[16], 以及水稻的 *Hd3a* 基因^[18]) 和甘薯的 15 个 PEBP 家族成员进行聚类分析 (图 3), 通过亲缘关系的远近预测可能和块根发育相关的甘薯 PEBP 基因。结果发现, 在 15 个甘薯 PEBP 基因中, *IbFT5* 与洋葱基因 *AcFT1* 和水稻基因 *Hd3a* 的亲缘关系较近, 而这 2 个基因可分别促进洋葱鳞茎^[16]和马铃薯块茎的发育^[18]。因此, 推测 *IbFT5* 可能和甘薯块根发育密切相关。

此外, 与其他甘薯 PEBP 基因相比, *IbTFL3* 和马铃薯中抑制块茎膨大的 TFL1-like 基因 *StCEN1* (*StPEBP5*)^[20, 35]的亲缘关系较近, 因此推测 *IbTFL3* 可能会抑制甘薯块根的发育。

2.3 甘薯 PEBP 基因的组织特异性表达分析

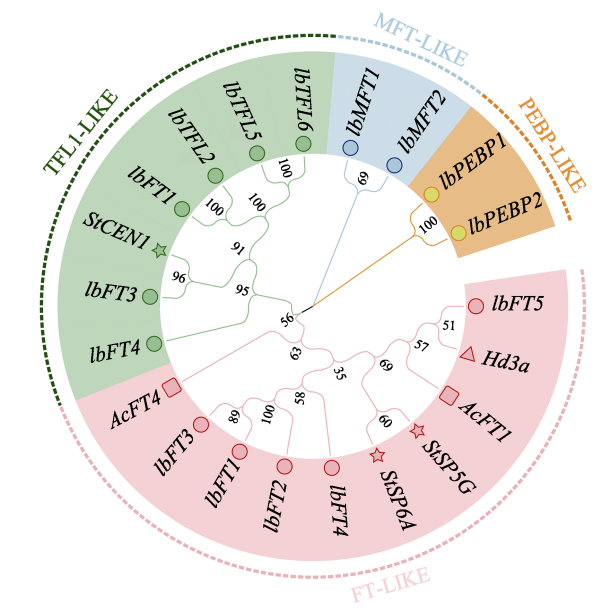
为进一步揭示甘薯 PEBP 家族成员的功能, 对甘薯 PEBP 基因在不同组织 (幼叶、成熟叶、茎、纤维根、柴根、薯皮、薯肉、花) 中的表达特异性进行 qRT-PCR 分析 (图 4)。结果表明, *IbTFL5*、*IbMFT1* 和 *IbPEBP2* 在所有组织中均具有较高的表达水平, 其可能在不同组织的发育中均发挥着重要作用, 而与块根的膨大无必然联系。*IbFT2* 只在幼叶和成熟叶中表达, 为叶片特异表达基因。*IbMFT2* 在花中的表达水平远高于其他组织, 为花特异性表达基因。*IbFT4* 仅在花和成熟叶中有表达, 且在花中的表达水平显著高于成熟叶, 为花和叶片特异表达基因。*IbTFL3*、*IbTFL4* 和 *IbTFL6* 不仅在花中高表达, 也在块根的薯皮和薯肉中高表达。根系特异表达的基因为 *IbFT5*、*IbTFL2* 和 *IbPEBP1*, 其中 *IbFT5* 仅在非膨大根 (纤维根和柴根) 中高表达, 而 *IbTFL2* 和 *IbPEBP1* 不仅在非膨大根中高表达, 也在膨大块根的薯皮和薯肉中高表达。上述结果表明, 甘薯 PEBP 基因家族成员的表达具有明显的组织特异性, 推测甘薯 PEBP 家族成员存在显著的功能分化, 其不同组织中发挥着不同的功能。

由图 4 可知, 在根系 (膨大根和非膨大根) 中特异表达基因为 *IbFT5*、*IbTFL2* 和 *IbPEBP1*。此外, *IbTFL3*、*IbTFL4* 和 *IbTFL6* 也在根系中特别是薯皮和薯肉中高表达。推测上述 6 个甘薯 PEBP 基因可能与甘薯块根发育密切相关。为缩小 PEBP 基因成员的选择范围, 本课题组进一步对特定根系组织 (纤维根、柴根、薯皮和薯肉) 中不同 PEBP 家族成员的相对表达水平进行测定 (图 5)。结果发现, 在纤维根中, *IbFT5* 和 *IbTFL4* 为高表达基因, 且 *IbFT5* 的表达水平显著高于 *IbTFL4*。在柴根中, *IbFT5* 为高表达基因, 其余基因的表达水平极低。在膨大块根薯皮中, *IbTFL4*、*IbTFL6* 为高表达基因, 其余基因低表达或不表达。在膨大块根薯肉中, *IbTFL4* 为高表达, 其余基因为低表达或不表达。

综上所述, 在根系中高表达的 6 个 PEBP 基因中, *IbFT5*、*IbTFL4* 和 *IbTFL6* 不仅在根系中的

表 2 甘薯 PEBP 基因家族蛋白的理化性质分析
Tab. 2 Analysis of physicochemical properties of PEBP proteins in sweet potato

蛋白名称 Protein name	登录号 Accession ID	氨基酸数量 Number of amino acids	等电点 pI	分子量 MW/Da	亚细胞定位 Subcellular localization	染色体定位 Chromosomal localization
IbFT1	g33291.t1	110	4.96	12 249.99	Nucleus	LG8
IbFT2	g33292.t1	190	6.91	21 419.32	Nucleus	LG8
IbFT3	g33331.t1	111	5.20	12 404.20	Nucleus	LG8
IbFT4	g54865.t1	147	9.97	16 126.35	Nucleus	LG13
IbFT5	g54869.t1	174	6.96	19 648.14	Nucleus	LG13
IbTFL1	g4574.t1	149	9.34	17 190.56	Cytoplasm	LG2
IbTFL2	g4582.t1	175	9.46	19 965.83	Cytoplasm	LG2
IbTFL3	g20567.t1	173	9.50	19 501.29	Cytoplasm	LG5
IbTFL4	g25123.t1	210	11.00	23 960.81	Cytoplasm Nucleus	LG6
IbTFL5	g51106.t1	121	5.42	13 698.13	Nucleus	LG12
IbTFL6	g51110.t1	175	9.07	19 884.51	Cytoplasm	LG12
IbMFT1	g35480.t1	178	8.59	19 818.88	Cytoplasm	LG9
IbMFT2	g46363.t1	165	9.57	17 888.33	Nucleus	LG11
IbPEBP1	g9831.t1	140	6.10	15 426.60	Nucleus	LG3
IbPEBP2	g17997.t1	169	5.26	18 549.21	Nucleus	LG5



圆形：甘薯；五角形：马铃薯；矩形：洋葱；三角形：水稻。
Round: Sweet potato; Pentagon; Potato;
Rectangle: Onion; Triangle: Rice.

图 3 甘薯 PEBP 基因家族成员与其他作物的 PEBP 基因的聚类分析

Fig. 3 Phylogenetic tree of PEBP genes of sweet potato and other crops

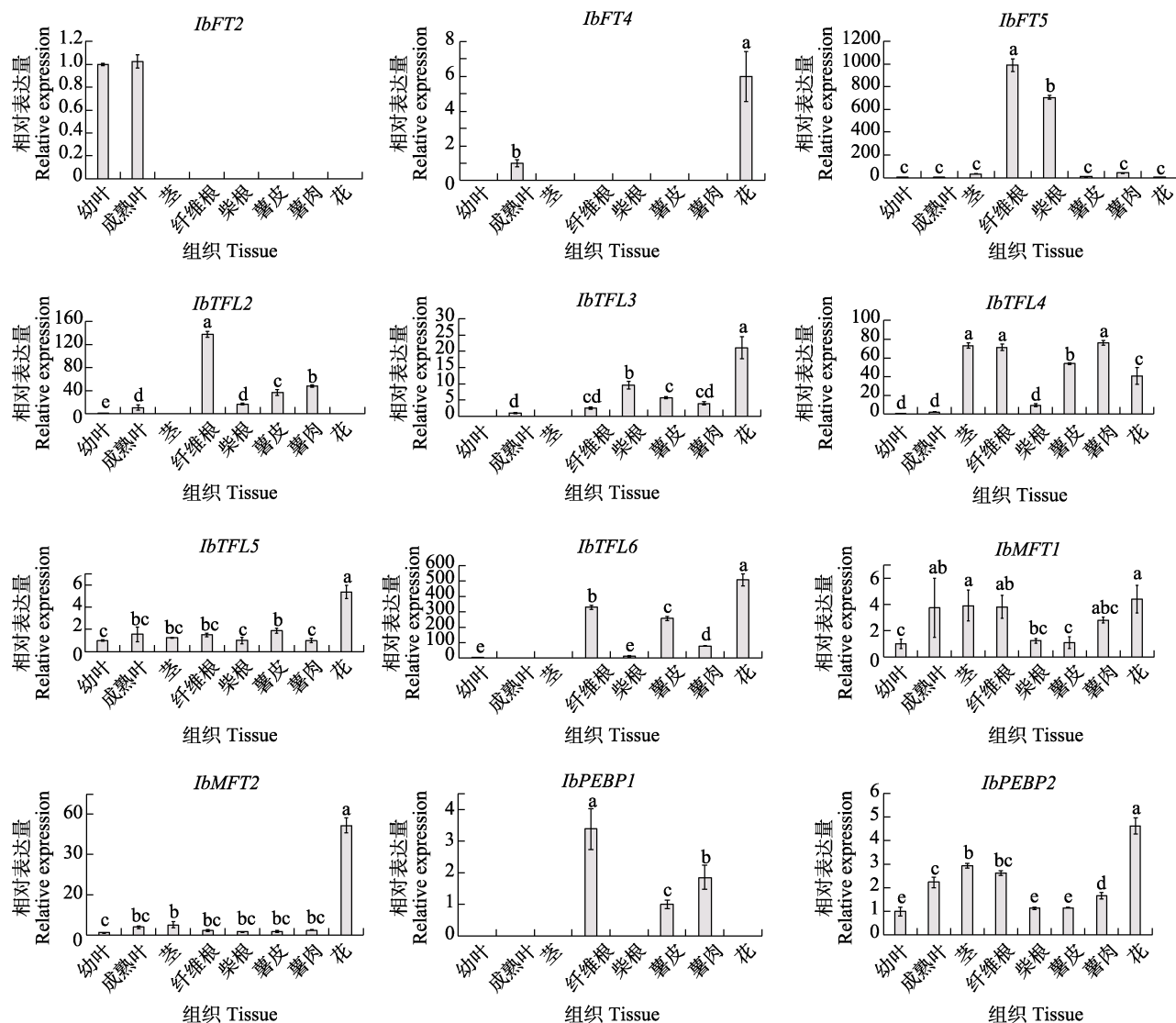
表达水平高于在其他组织，而且也高于根系中其他 PEBP 家族成员。因此推测这 3 个 PEBP 基因在块根膨大中发挥着重要作用。

2.4 甘薯 PEBP 基因在不同发育时期块根中的表达及其与 SWEET 基因表达的相关性

聚类分析揭示 *IbFT5* 可能会促进甘薯块根的发育，而 *IbTFL3* 则可能会抑制甘薯块根的发育(图 3)；此外，组织表达特异性分析则表明 *IbFT5*、*IbTFL4* 和 *IbTFL6* 与块根发育密切相关(图 4、图 5)。因此，本课题组进一步对上述 4 个基因 (*IbFT5*、*IbTFL3*、*IbTFL4* 和 *IbTFL6*) 在不同发育时期块根(定植后 30、60、90、120 d)中的表达水平动态变化进行测定，观察上述基因表达水平和块根膨大之间的相关性。

结果表明，在块根发育的前期(30~60 d)，*IbFT5*、*IbTFL4* 的表达水平无显著变化，而在块根发育中期(60~90 d)，这 2 个基因的表达水平快速大幅增加，但在块根发育后期(90~120 d)，其表达水平均快速下降(图 6)。与 *IbFT5*、*IbTFL4* 不同，*IbTFL6* 的表达水平在整个块根发育时期一直呈上升的趋势，在整个发育时期呈‘S’形曲线，即在块根发育前期(30~60 d)和后期(90~120 d)，其表达水平上升速度较慢，而在发育中期则上升速度较快。

在上述 4 个基因 (*IbFT5*、*IbTFL3*、*IbTFL4* 和 *IbTFL6*) 中，只有 *IbTFL3* 基因根据聚类分析



不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

The different lowercase letters indicate significant difference ($P < 0.05$).

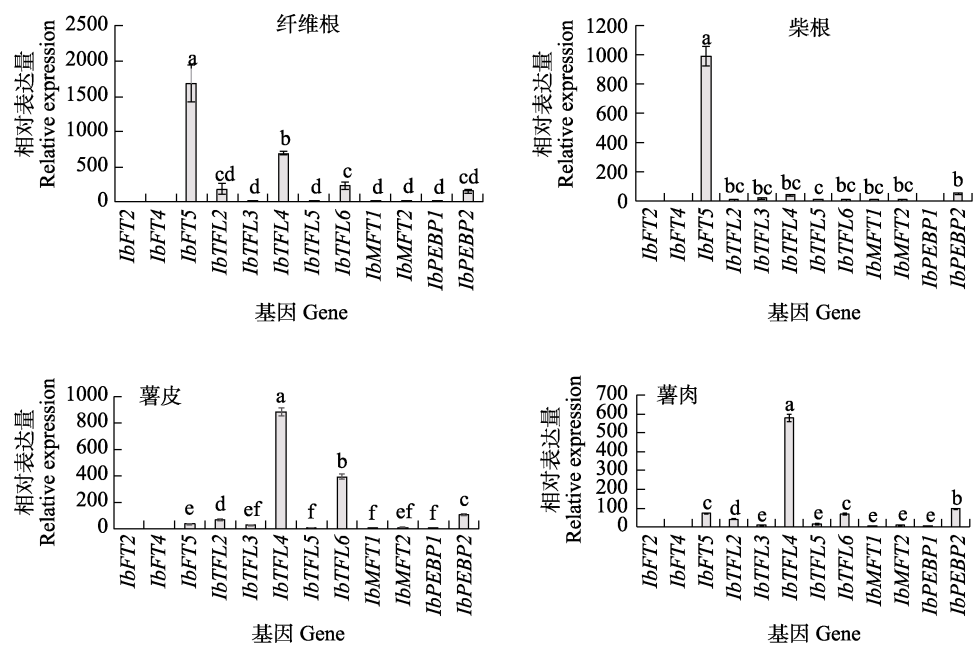
图 4 甘薯 *PEBP* 基因在不同组织中的表达分析

Fig. 4 Expression of *PEBP* genes in different tissues of sweet potato

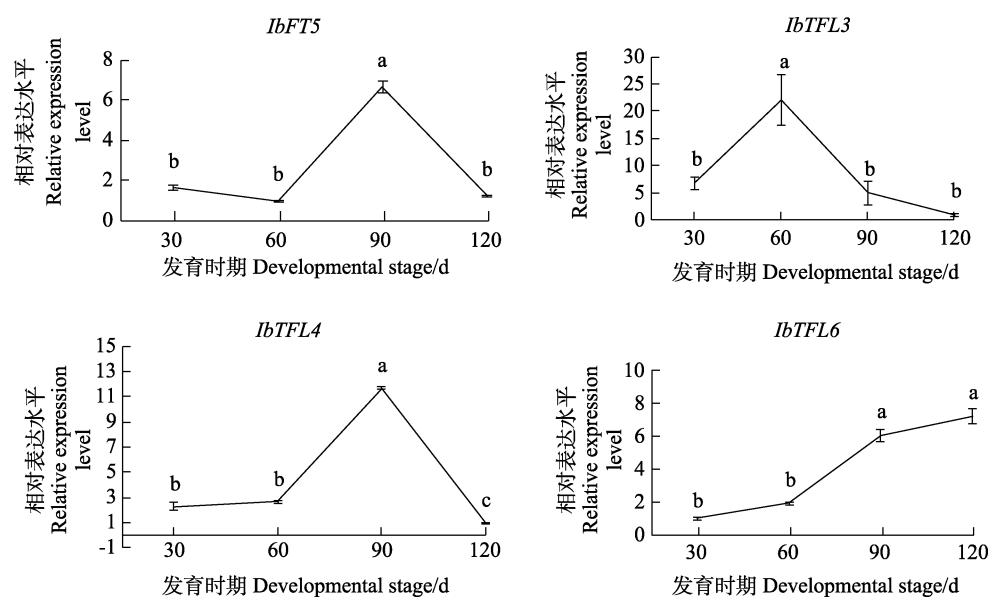
(图 3) 被认为可能会抑制甘薯块根的发育。*IbTFL3* 基因表达水平的动态分析表明, 其表达水平在块根膨大前期 (30~60 d) 呈上升趋势, 而在块根发育的中后期 (60~120d) 其表达水平快速下降。总的来讲, 伴随着 *IbFT5*、*IbTFL4* 和 *IbTFL6* 表达水平的上升, *IbTFL3* 的表达水平则呈现下降趋势, 表明这 2 类基因之间可能存在拮抗作用, 前者可能促进块根发育, 而后者可能抑制块根发育。

SWEET 蛋白为蔗糖转运蛋白, 其主要功能是将蔗糖和己糖 (葡萄糖和果糖) 由细胞内向外转运, 其表达量低往往代表糖分的转运途径以高效的共质体途径为主, 而低效的质外体途径则属于次要途径。例如, 在马铃薯中, 过表达 *PEBP*

基因 *StSP6A* 会抑制蔗糖转运蛋白 *StSWEET11* 的表达, 从而促进蔗糖由叶片通过共质体途径向块茎的高效转运, 最终促进马铃薯块茎的形成^[17]。研究表明, 在甘薯块根中表达的 *SWEET* 基因有 5 个, 分别为 *IbSWEET4*、*IbSWEET7*、*IbSWEET11*、*IbSWEET16* 和 *IbSWEET19*^[40]。本课题组对不同发育时期块根中这 5 个 *SWEET* 基因的表达水平进行测定。结果表明, 随着块根膨大和块根发育相关 *PEBP* 基因 (*IbFT5*、*IbTFL4* 和 *IbTFL6*) 表达水平的上升, *IbSWEET4*、*IbSWEET11*、*IbSWEET16* 和 *IbSWEET19* 的表达均呈现不断下降的趋势, 在定植后 60 d (*IbSWEET19* 是在定植后 90 d) 达到最低值, 其表达水平在块根膨大后期 (90~



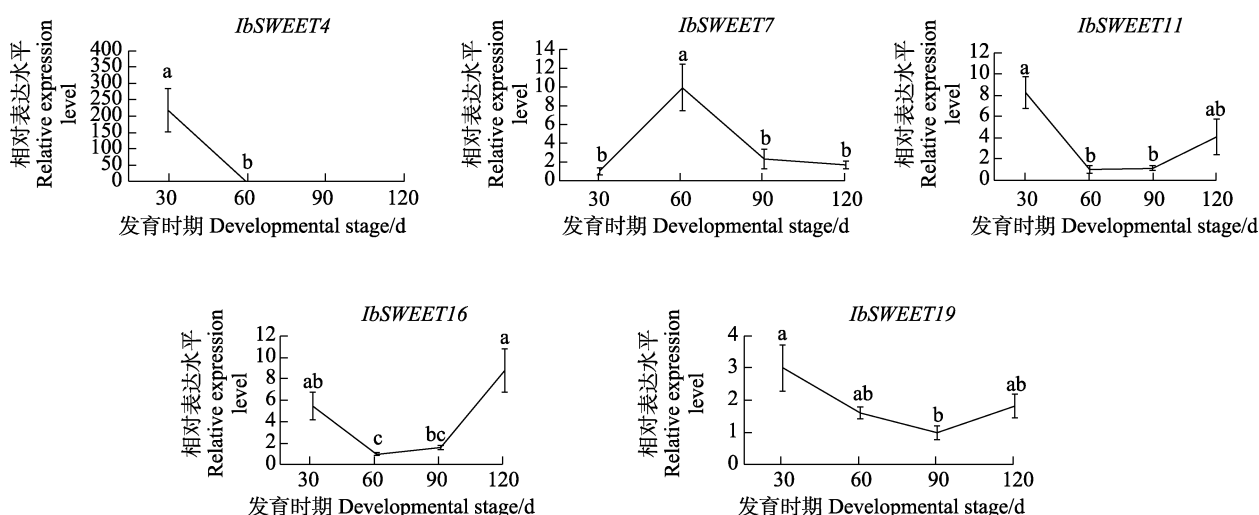
不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。
The different lowercase letters indicate significant difference ($P < 0.05$).
图 5 甘薯根系中 PEBP 家族成员相对表达水平
Fig. 5 Relative expression levels of PEBP family genes in root tissues of sweet potato



不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。
The different lowercase letters indicate significant difference ($P < 0.05$).
图 6 *IbFT5*、*IbTFL3*、*IbTFL4* 和 *IbTFL6* 在不同发育时期块根中的表达趋势分析
Fig. 6 Dynamic changes in expression level of *IbFT5*, *IbTFL3*, *IbTFL4* and *IbTFL6* at different developmental stages of storage roots in sweet potato

120 d) 又呈现回升的趋势, 而 *IbSWEET7* 基因的表达在块根膨大前期 (30~60 d) 呈现上升的趋势 (图 7)。根据上述结果, 可推测甘薯 PEBP 基因很可能也是通过抑制 *SWEET* 基因的表达来促进块根发育。

3 讨论
PEBP 家族在植物中广泛存在, 近年来研究人员已经在多种植物中发现了 PEBP 基因家族。PEBP 基因在植物生长发育中发挥着重要作用, 不仅调控拟南芥和水稻等植物的开花^[6, 12, 15, 21], 还



不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

The different lowercase letters indicate significant difference ($P < 0.05$).

图 7 SWEET 基因在不同发育时期块根中的表达趋势分析

Fig. 7 Dynamic changes in expression level of SWEET genes at different developmental stages of storage roots of sweet potato

参与调控地下部储藏器官的形成如马铃薯块茎^[17-20]和洋葱鳞茎等^[16]。与马铃薯块茎和洋葱鳞茎等类似,甘薯的主要食用器官块根也属于地下部储藏器官,因此对其 PEBP 家族成员进行研究将有助于进一步提高其块根产量。虽然近期有研究报道了甘薯 PEBP 家族的生物信息学分析结果,但该研究从甘薯基因组中仅鉴定出 13 个 PEBP 家族成员,且只包含 FT-like、TFL1-like 和 MFT-like,并不包含 PEBP-like^[34]。此外,目前尚未有报道系统研究并筛选可能和甘薯块根发育相关的候选 PEBP 家族成员。

为了解决上述存在的问题,本研究利用生物信息学方法从甘薯基因组中共鉴定出 16 个 PEBP 候选基因,然后将其提交到 Pfam 数据库、NCBI 网站和 SMART 网站验证,发现除了编号 g46241.t1 的成员,其他 15 个甘薯 PEBP 成员和前人研究的拟南芥、木薯、马铃薯结果相同,均存在着保守的 PEBP 结构域。将 g46241.t1 剔除,得到 15 个甘薯 PEBP 家族成员。在植物进化过程中,许多植物都经历过 1 次或多次多倍体化从而导致基因家族成员扩张,拟南芥和木薯为二倍体,甘薯为六倍体,且拟南芥 PEBP 家族成员(6 个)和木薯 PEBP 家族成员(10 个)与甘薯成员相比,甘薯 PEBP 家族成员数量更多,说明甘薯在进化过程中随着染色体倍数的增加,导致了甘薯 PEBP 家族的扩张。此外,系统发育树结果显示与拟南芥和木薯相比,甘薯除了有 FT-like、TFL1-like 和

MFT-like 外,还多了 PEBP-like,而在他人研究的马铃薯、小麦、棉花等多个物种中也鉴定出 PEBP-like^[4-5, 35]。甘薯有 5 个 FT-like 成员、6 个 TFL1-like 成员、2 个 MFT-like 成员和 2 个 PEBP-like 成员,比较发现不管是在拟南芥、木薯还是马铃薯中的 TFL1-like 成员数量在亚家族中都是最多的,推测在进化过程中 TFL1-like 受环境选择发生的基因复制和变异的频率更高。和已有的研究相比^[34],本研究从甘薯基因组中多鉴定出 2 个 PEBP 基因,且这 2 个基因均为 PEBP-like 成员。

在植物中 PEBP 家族基因能够影响贮藏器官的形成。在马铃薯中,块茎为马铃薯的贮藏器官,过表达 *StSP6A* 能够促进块茎的形成,而过表达 *StSP5G* 和 *StCEN1* 抑制了块茎的形成^[17-20]。此外过表达水稻的 *Hd3a* 基因也能够促进马铃薯块茎的形成^[18]。在洋葱中,鳞茎为洋葱的贮藏器官,过表达 *AcFT1* 能够促进鳞茎的形成,而过表达 *AcFT4* 能够抑制鳞茎的形成^[16]。甘薯、马铃薯、洋葱、水稻聚类分析发现,*IbFT5* 与洋葱基因 *AcFT1* 和水稻基因 *Hd3a* 的亲缘关系较近,而这 2 个基因可分别促进洋葱鳞茎^[16]和马铃薯块茎的发育^[18]。推测 *IbFT5* 可能也会促进甘薯块根的发育。此外,和其他甘薯 PEBP 基因相比,*IbTFL3* 和马铃薯 *StPEBP5* (*StCEN1*)^[20, 35]的亲缘关系较近,推测 *IbTFL3* 可能会抑制甘薯块根的发育。

植物 PEBP 基因家族具有组织特异性。木薯中 *MeFT1* 和 *MeFT2* 在成熟叶中高表达,推测成

熟叶是产生花诱导信号的部位。*MeMFT1* 在幼叶和花芽的生长组织中高表达,而 *MeMFT2* 在须根和茎中高表达^[26]。本研究中,甘薯根系(膨大根和非膨大根)特异表达的基因为 *IbFT5*、*IbTFL2* 和 *IbPEBP1*。此外,*IbTFL3*、*IbTFL4* 和 *IbTFL6* 除了在花中高表达,也在根系中特别是薯皮和薯肉中高表达,但在其他组织中为低表达或不表达。推测上述 6 个 PEBP 基因和甘薯块根发育密切相关。为进一步研究发现,上述 6 个基因在甘薯根系中(纤维根、柴根和膨大块根薯皮和薯肉)中高表达的 PEBP 基因只有 *IbFT5*、*IbTFL4*、*IbTFL6* 等 3 个基因,其余基因为低表达。因此,在根系中高表达的 6 个 PEBP 基因中,只有 *IbFT5*、*IbTFL4* 和 *IbTFL6* 不仅在根系中的表达水平高于在其他组织中的表达水平,而且和根系中表达的其他 PEBP 家族成员相比,这 3 个基因的表达水平也是最高的。推测这 3 个 PEBP 基因(*IbFT5*、*IbTFL4* 和 *IbTFL6*) 在根系膨大中发挥着重要的作用。

综合上述 2 个方面的结果,推测 *IbFT5*、*IbTFL4* 和 *IbTFL6* 可能会促进块根的发育,而 *IbTFL3* 则可能会抑制块根的发育。已有的研究表明,甘薯块根定植后 30 d 开始逐渐膨大,定植后 60~90 d 进入快速膨大期,随后膨大速度逐渐减慢^[41]。对上述 4 个基因在不同发育时期块根(定植后 30、60、90、120 d)中的表达水平进行的测定结果表明,在块根发育的前期(30~60 d),*IbFT5*、*IbTFL4* 的表达水平无显著变化,而在块根快速膨大期(60~90 d),这 2 个基因的表达水平快速大幅增加。与 *IbFT5*、*IbTFL4* 不同,*IbTFL6* 的表达水平在整个块根发育时期一直呈现上升的趋势,特别在块根快速膨大期(60~90 d)其上升速度较快。这与马铃薯中的 *StSP6A* 表达相似。马铃薯的 *StSP6A* 也在贮藏器官发育时期呈现上升趋势,当地下匍匐茎弯钩角度为 150° 时,*StSP6A* 的表达量急剧增加,发育成小薯和大薯时,表达量也还保持在较高水平^[42]。推测 *IbFT5*、*IbTFL4* 和 *IbTFL6* 这 3 个基因可能促进甘薯块根的发育,根据聚类分析推测 *IbTFL3* 基因可能会抑制甘薯块根的发育。*IbTFL3* 基因表达水平的动态变化分析表明,其表达水平在块根快速膨大期(60~90 d)开始快速下降,表明其很可能对块根膨大起抑制作用。此外,*IbTFL3* 在柴根中表达水平显著高于其他根系(纤维根、块根的薯肉和薯皮),而柴根是生长停滞的块根,这进一步证明 *IbTFL3* 很可能

会抑制块根的膨大。

SWEET 蛋白为蔗糖转运蛋白,其主要功能是将蔗糖和己糖(葡萄糖和果糖)由细胞内向外转运,从而促进糖分经由低效率的质外体途径转运,而不是经由高效率的共质体途径转运。前人研究表明,在甘薯块根中高表达 SWEET 基因有 5 个,分别为 *IbSWEET4*、*IbSWEET7*、*IbSWEET11*、*IbSWEET16* 和 *IbSWEET19*^[40]。不同发育时期的块根中,随着块根膨大和 PEBP 基因(*IbFT5*、*IbTFL4* 和 *IbTFL6*) 表达水平的上升,4 个 SWEET 基因(*IbSWEET4*、*IbSWEET11*、*IbSWEET16* 和 *IbSWEET19*) 的表达均呈现不断下降的趋势,在定植后 60 d (*IbSWEET19* 是在定植后 90 d) 达到最低值。推测甘薯 PEBP 基因很可能是通过抑制 SWEET 基因的表达来促进块根发育。在马铃薯的研究中,过表达 PEBP 基因, *StSP6A* 会抑制蔗糖转运蛋白 *StSWEET11* 的表达,从而促进蔗糖通过共质体途径向块茎的高效转运,最终促进马铃薯块茎的形成^[18]。此外,甘薯块根中 SWEET 基因表达水平的下降也可以解释为何甘薯块根在定植后 40 d 块根开始膨大时其蔗糖转运途径由质外体途径转变为共质体途径^[41]。

本研究不仅确定了甘薯基因组中 PEBP 基因家族成员的数量和种类,而且通过生物信息学分析和 PEBP 基因表达的组织特异性分析初步鉴定出可能调控甘薯块根发育的候选 PEBP 家族成员。此外,通过对相关 PEBP 基因在不同发育时期块根中表达水平的动态变化及其与 SWEET 基因表达水平之间的相关性分析,初步推断 PEBP 可能通过调控糖分转运来影响甘薯块根发育。本研究将为后续深入研究甘薯 PEBP 基因家族的功能提供理论依据。

参考文献

- [1] GRANDY D K, HANNEMAN E, BUNZOW J, SHIH M, MACHIDA C A, BIDLACK J M, CIVELLI O. Purification, cloning, and tissue distribution of a 23 kDa rat protein isolated by morphine affinity chromatography[J]. *Molecular Endocrinology*, 1990, 4(9): 1370-1376.
- [2] DANILEVSKAYA O N, MENG X, HOU Z L, ANANIEV E V, SIMMONS C R. A genomic and expression compendium of the expanded PEBP gene family from maize[J]. *Plant Physiology*, 2008, 146(1): 250-264.

- [3] JIN S, NASIM Z, SUSILA H, AHN J H. Evolution and functional diversification of FLOWERING LOCUS T/TERMINAL FLOWER 1 family genes in plants[J]. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 2021, 109: 20-30.
- [4] DONG L, LU Y, LIU S. Genome-wide member identification, phylogeny and expression analysis of PEBP gene family in wheat and its progenitors[J]. *Plant Biology*, 2020, 8: 17-39.
- [5] ZHANG X, WANG C, PANG C, WEI H, WANG H, SONG M, FAN S, YU S. Characterization and functional analysis of PEBP family genes in upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.)[J]. *PloS One*, 2016, 11(8): 61-80
- [6] JEONG S, CLARK S E. Photoperiod regulates flower meristem development in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Genetics*, 2005, 169(2): 907-915.
- [7] KOBAYASHI Y, WEIGEL D. Move on up, it's time for change-mobile signals controlling photoperiod-dependent flowering[J]. *Genes and Development*, 2007, 21(19): 2371-2384.
- [8] MATHIEU J, WARTHMAN N, KÜTTNER F, SCHMID M. Export of FT protein from phloem companion cells is sufficient for floral induction in *Arabidopsis*[J]. *Current Biology*, 2007, 17(12): 1055-1060.
- [9] CORBESIER L, VINCENT C, JANG S, FORNARA F, FAN Q, SEARLE I, GIAKOUNTIS A, FARRONA S, GISSOT L, TURNBULL C, COUPLAND G. FT protein movement contributes to long-distance signaling in floral induction of *Arabidopsis*[J]. *Science*, 2007, 316(5827): 1030-1033.
- [10] HANANO S, GOTO K. *Arabidopsis* TERMINAL FLOWER1 is involved in the regulation of flowering time and inflorescence development through transcriptional repression[J]. *Plant Cell*, 2011, 23(9): 3172-3184.
- [11] KIM W, PARK T I, YOO S J, JUN A R, AHN J H. Generation and analysis of a complete mutant set for the *Arabidopsis* FT/TFL1 family shows specific effects on thermo-sensitive flowering regulation[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2013, 64(6): 1715-1729.
- [12] VAISTIJ F E, GAN Y, PENFIELD S, GILDAY A D, DAVE A, HE Z, JOSSE E M, CHOI G, HALLIDAY K J, GRAHAM I A. Differential control of seed primary dormancy in *Arabidopsis* ecotypes by the transcription factor SPATULA[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2013, 110(26): 10866-10871.
- [13] XI W, LIU C, HOU X, YU H. MOTHER OF FT AND TFL1 regulates seed germination through a negative feedback loop modulating ABA signaling in *Arabidopsis*[J]. *Plant Cell*, 2010, 22(6): 1733-1748.
- [14] YOO S Y, KARDAILSKY I, LEE J S, WEIGEL D, AHN J H. Acceleration of flowering by overexpression of MFT (MOTHER OF FT AND TFL1)[J]. *Molecules and Cells*, 2004, 17(1): 95-101.
- [15] SUN C H, FANG J, ZHAO T L, XU B, ZHANG F, LIU L C, TANG Y U, ZHANG G F, DENG X J, CHEN F, QIAN Q, CAO X F, CHU C C. The histone methyltransferase SDG724 mediates H3K36me2/3 deposition at MADS50 and RFT1 and promotes flowering in rice[J]. *Plant Cell*, 2012, 24(8): 3235-3247.
- [16] LEE R, BALDWIN S, KENEL F, MCCALLUM J, MACKNIGHT R. FLOWERING LOCUS T genes control onion bulb formation and flowering[J]. *Nature Communication*, 2013, 4: 2884.
- [17] NAVARRO C, ABELANDA J A, CRUZ-ORO E, CUELLAR C A, TAMAKI S, SILVA J, SHIMAMOTO K, PRAT S. Control of flowering and storage organ formation in potato by FLOWERING LOCUS T[J]. *Nature*, 2011, 478: 119-122.
- [18] ABELANDA J A, CRUZ-ORO E, FRANCO-ZORRILLA J M, PRAT S. Potato StCONSTANS-like1 Suppresses storage organ formation by directly activating the FT-like *StSP5G* repressor[J]. *Current Biology*, 2016, 26(7): 872-881.
- [19] MORRIS W L, ALAMAR M C, LOPEZ-COBOLLO R M, CANETE J C, BENNETT M, KAAJ V D, STEVENS J, SHARMA S K, MCLEAN K, THOMPSON A J. A member of the TERMINAL FLOWER 1/CENTRORADIALIS gene family controls sprout growth in potato tubers[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2019, 70(3): 835-843.
- [20] ZHANG X, CAMPBELL R, DUCREUX L J, MORRIS J, HEDLEY P E, MELLADO-ORTEGA E, ROBERTS A G, STEPHENS J, BRYAN G J, TORRANCE L, CHAPMAN S N, PRAT S, TAYLOR M A. TERMINAL FLOWER-1/CENTRORADIALIS inhibits tuberisation via protein interaction with the tuberigen activation complex[J]. *The Plant Journal*, 2020, 103(6): 2263-2278.
- [21] KOMIYA R, IKEGAMI A, TAMAKI S, YOKOI S, SHIMAMOTO K. Hd3a and RFT1 are essential for flowering in rice[J]. *Development*, 2008, 135(4): 767-774.
- [22] CAO K, CUI L, ZHOU X, YE L, ZOU Z, DENG S. Four tomato FLOWERING LOCUS T-Like proteins act antagonistically to regulate floral initiation[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2016, 6: 1213.
- [23] KIKUCHI R, KAWAHIGASHI H, ANDO T, TONOOKA T, HANDA H. Molecular and functional characterization of PEBP genes in barley reversion of their roles in flowering[J]. *Plant Physiology*, 2009, 149(3): 1341-1353.

- [24] FAURE S, HIGGINS J, TURNER A, LAURIE D. The FLOWERING LOCUS T-Like gene family in barley (*Hordeum vulgare*)[J]. Genetics, 2007, 176(1): 599-609.
- [25] YANG Z H, CHEN L, KOHNEN M V, XIONG B, ZHEN X, LIAO J K, OKA Y, ZHU Q, GU L F, LIN C, LIU B B. Identification and characterization of the PEBP family genes in moso bamboo (*Phyllostachys heterocycla*)[J]. Scientific Reports, 2019, 9: 14998.
- [26] ADEYEMO O S, HYDE P T, SETTER T L. Identification of FT family genes that respond to photoperiod, temperature and genotype in relation to flowering in cassava (*Manihot esculenta*, Crantz) [J]. Plant Reproduction, 2019, 32: 181-191.
- [27] KOTODA N, HAYASHI H, SUZUKI M, IGARASHI M, HATSUYAMA Y, KIDOU S, IGASAKI T, NISHIGUCHI M, YANO K, SHIMIZU T, TAK ANAMI H, MORIYA S, ABE K. Molecular characterization of FLOWERING LOCUS T-like genes of apple (*Malus domestica* Borkh.)[J]. Plant and Cell Physiology, 2010, 51(4): 561-575.
- [28] FLACHOWSKY H, SZANKOWSKI I, WAIDMANN S, PEIL A, TRÄNKNER C, HANKE M. The *MdTFL1* gene of apple (*Malus domestica* Borkh.) reduces vegetative growth and generation time[J]. Tree Physiology, 2012, 32(10): 1288-1301.
- [29] LEEGGANGERS H, ROSILIO-BRAMI T, BIGAS-NADAL J, RUBIN N, DIJK A V, NÚÑEZ DE CÁCERES GONZÁLEZ F, SAADON-SHITRIT S, NIJVEEN H, HILHORST H, IMMINK R, ZACCAI M. *Tulipa gesneriana* and *Lilium longiflorum* PEBP genes and their putative roles in flowering time control[J]. Plant and Cell Physiology, 2018, 59(1): 90-106.
- [30] 王思明. 外来作物如何影响中国人的生活[J]. 中国农史, 2018, 37(2): 3-14.
WANG S M. How foreign-originated crops affect the daily life of the ordinary chinese[J]. Agricultural History of China, 2018, 37(2): 3-14. (in Chinese)
- [31] 李强, 赵海, 靳艳玲, 朱金城, 马代夫. 中国甘薯产业助力国家粮食安全的分析与展望[J]. 江苏农业学报, 2022, 38(6): 1484-1491.
LI Q, ZHAO H, JIN Y L, ZHU J C, MA D F. Analysis and perspectives of sweet potato industry contributing to national food security in China[J]. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences, 2022, 38(6): 1484-1491. (in Chinese)
- [32] 李星, 赵海, 刘国强, 靳艳玲. 甘薯营养品质评价的研究进展[J]. 农业与技术, 2020, 40(19): 8-12.
LI X, ZHAO H, LIU G Q, JIN Y L. Research progress in the evaluation of nutritional quality of sweet potato[J]. Agriculture and Technology, 2020, 40(19): 8-12. (in Chinese)
- [33] 王欣, 李强, 曹清河, 马代夫. 中国甘薯产业和种业发展现状与未来展望[J]. 中国农业科学, 2021, 54(3): 483-492.
WANG X, LI Q, CAO Q H, MA D F. Current status and future prospective of sweet potato production and seed industry in China[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2021, 54(3): 483-492. (in Chinese)
- [34] 何锐杰, 杨航, 李丽, 李晓慧, 李云. 甘薯 PEBP 全基因家族生物信息学分析[J/OL]. 分子植物育种, 1-19[2023-04-09]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20230407.1145.006.html>.
HE R J, YANG H, LI L, LI X H, LI Y. Genome-wide bioinformatics analysis of PEBP gene family in sweet potato[J/OL]. Molecular Plant Breeding, 1-19[2023-04-09]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20230407.1145.006.html>. (in Chinese)
- [35] ZHANG G, JIN X, LI X, ZHANG N, LI S Q, SI H J, RAJORA O P, LI X Q. Genome-wide identification of PEBP gene family members in potato, their phylogenetic relationships, and expression patterns under heat stress[J]. Molecular Biology Reports, 2022, 49: 4683-4697.
- [36] CHEN C, CHEN H, ZHANG Y, THOMAS H R, FRANK M H, HE Y, XIA R. TBtools: an integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data[J]. Molecular Plant, 2020, 13(8): 1194-1202.
- [37] MISTRY J, CHUGURANSKY S, WILLIAMS L, QURESHI M, SALAZAR G A, SONNHAMMER E L L, TOSATTO S C E, PALADIN L, RAJ S, RICHARDSON L J, FINN R D, BATEMAN A. Pfam: the protein families database in 2021[J]. Nucleic Acids Research, 2021, 49(D1): D412-D419.
- [38] MARCHLER-BAUER A, DERBYSHIRE M K, GONZALES N R, LU S, CHITSAZ F, GEER L Y, GEER R C, HE J, GWADZ M, HURWITZ D I, LANCZYCKI C J, LU F, MARCHLER G H, SONG J S, THANKI N, WANG Z X, YAMASHITA R A, ZHANG D C, ZHENG C J, BRYANT S H. CDD: NCBI's conserved domain database[J]. Nucleic Acids Research, 2015, 43(D1): D222-226.
- [39] LETUNIC I, DOERKS T, BORK P. SMART: recent updates, new developments and status in 2015[J]. Nucleic Acids Research, 2015, 43(D1): D257-260.
- [40] 张文杰. 影响甘薯块根发育关键糖转运蛋白和蔗糖分解酶种类及其基因家族成员的鉴定[D]. 海口: 海南大学, 2022.
ZHANG W J. Key sugar transporters and affecting root tuber development in sweet potato studies on the species of sucrose decomposing enzymes and their gene family members appraisal[D]. Haikou: Hainan University, 2022. (in Chinese)

- [41] LIU H, SI C, SHI C, WANG S, SUN Z, SHI Y. Switch from apoplasmic to symplasmic phloem unloading during storage roots formation and bulking of sweet potato[J]. Crop Science, 2019, 59(2): 675-683.
- [42] 张文哲, 荐红举, 尚丽娜, 张梅花, 王季春, AHMED M, 吕典秋. 马铃薯 StPEBP 基因家族成员鉴定及其在块茎中的表达分析[J]. 中国马铃薯, 2022, 36(2): 97-110.
- ZHANG W Z, JIAN H J, SHANG L N, ZHANG M H, WANG J C, AHMED M, LYU D Q. Genome-wide identification of StPEBP genes in *Solanum tuberosum* L. and their expression analysis in tuber[J]. Chinese Potato Journal, 2022, 36(2): 97-110. (in Chinese)