

榴莲蔗糖磷酸合酶基因的全基因组鉴定与表达分析

周丽容¹, 郑雪文¹, 任小玉¹, 冯学杰², 陈迪³, 何小龙⁴, 梁清志^{1*}, 杨转英^{1*}

1. 广东海洋大学滨海农业学院, 广东湛江 524000; 2. 海南省农业科学院热带果树研究所, 海南海口 570100; 3. 阳西县西荔王果蔬专业合作社, 广东阳江 529500; 4. 中国热带农业科学院南亚热带作物研究所, 广东湛江 524000

摘要: 蔗糖磷酸合酶 (sucrose phosphate synthase, SPS) 在蔗糖合成过程中起重要作用, 研究榴莲 SPS 家族的生物学功能有助于提升榴莲果实品质。本研究在榴莲基因组中查找出 10 个榴莲 SPS 成员, 分别命名为 *DzSPS1*~*DzSPS10*, 通过研究表明, 其平均疏水系数小于 0, 等电点在 5.70~6.68 之间, 推测为亲水酸性蛋白, 亚细胞定位预测显示其主要集中在细胞膜和细胞核上。基因家族保守基序分析发现每个 SPS motif 的数量和分布有差异, 但均含有 motif 3, 可见 motif 3 是榴莲 SPS 基因家族重要的保守结构域。基因结构分析发现, 榴莲 SPS 结构相似, 含有 8~15 个外显子, 7~13 个内含子。系统发育树显示, 榴莲 SPS 家族可分为 2 个亚族, 亚类 II 数量多达 9 个, 亚类 I 有 1 个, 与可可树、柑橘等园艺果树的 SPS 相比, 榴莲 SPS 与拟南芥 SPS、水稻 SPS 亲缘关系更近。榴莲 SPS 中有 7 个成员空间结构相似度较高, 二级结构多为 α -螺旋和无规则卷曲。顺式作用元件分析表明, 榴莲 SPS 可能较易受光、低温、干旱、赤霉素等响应元件的诱导表达。检测到榴莲果实中可溶性糖的主要成分为蔗糖、果糖和葡萄糖, 蔗糖含量显著高于果糖和葡萄糖, 且不同品种间存在显著差异。荧光定量分析发现, 不同品种榴莲的 SPS 表达水平存在显著差异, 其中 *DzSPS3* 和 *DzSPS7* 在不同品种中的表达规律与总糖含量的变化一致, 推测 *DzSPS3* 和 *DzSPS7* 可能是糖分积累的关键成员。本研究通过分析榴莲 SPS 结构和理化性质, 探究不同品种榴莲 SPS 的积累特点, 为进一步探究 SPS 家族在榴莲中的生物学功能提供参考。

关键词: 榴莲; 蔗糖磷酸合酶 (SPS); 生物信息学; 基因表达

中图分类号: S667.9 文献标志码: A

Genome-wide Identification and Expression Analysis of Sucrose Phosphate Synthase Gene in *Durio zibethinus* Murr.

ZHOU Lirong¹, ZHENG Xuwen¹, REN Xiaoyu¹, FENG Xuejie², CHEN Di³, HE Xiaolong⁴, LIANG Qingzhi^{1*}, YANG Zhuanying^{1*}

1. College of Coastal Agricultural Sciences, Guangdong Ocean University, Zhanjiang, Guangdong 524000, China; 2. Institute of Tropical Fruit Tree, Hainan Academy of Agricultural Sciences, Haikou, Hainan 570100, China; 3. Yangxi County Xiliwang Fruit and Vegetable Professional Cooperative, Yangjiang, Guangdong 529500, China; 4. South Subtropical Crops Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Zhanjiang, Guangdong 524000, China

Abstract: Sucrose phosphate synthase (SPS) plays a crucial role in the sucrose synthesis process, and investigating the biological functions of the SPS family in durian (*Durio zibethinus* Murr.) can contribute to enhancing fruit quality. In the durian genome, 10 SPS members were identified and designated as *DzSPS1* to *DzSPS10*. The results indicated that the average hydrophobicity coefficient was less than 0, with isoelectric points ranging from 5.70 to 6.68, suggesting that they are hydrophilic acidic proteins. Subcellular localization predictions primarily placed them on the cell membrane and nucleus. Analysis of conserved motifs within the gene family revealed variations in the number and distribution of motifs among durian SPS members, although all contained motif 3, indicating that motif 3 is a significant conserved

收稿日期 2024-10-08; 接受日期 2025-01-07

基金项目 2022 年度广东省科技专项资金 (“大专项+任务清单”) 项目 (No. SDZX2022027)。

作者简介 周丽容 (1999—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 果树遗传育种学。*通信作者 (Corresponding author): 杨转英 (YANG Zhuanying), E-mail: 332933829@qq.com; 梁清志 (LIANG Qingzhi), E-mail: qingzhi2002@gdou.edu.cn。

domain within the durian SPS gene family. Gene structure analysis showed that durian SPS genes were structurally similar, containing 8 to 15 exons and 7 to 13 introns. Phylogenetic tree analysis demonstrated that durian SPS genes could be divided into two subfamilies, with subfamily II comprising nine members and subfamily I containing one member. Compared to SPS genes in horticultural fruit trees such as cacao and citrus, durian SPS genes exhibited closer phylogenetic relationships with *Arabidopsis* and rice SPS genes. Seven members of the durian SPS family shared high spatial structural similarity, with secondary structures predominantly consisting of α -helices and random coils. Cis-acting element analysis suggested that durian SPS genes may be readily induced by response elements related to light, low temperature, drought, and gibberellin. This study detected that the primary soluble sugars in durian fruit are sucrose, fructose, and glucose, with sucrose content significantly higher than that of fructose and glucose, and notable differences observed among different varieties. Fluorescence quantitative analysis revealed significant variations in SPS expression levels among different durian varieties, with the expression patterns of *DzSPS3* and *DzSPS7* correlating with changes in total sugar content between varieties, suggesting that *DzSPS3* and *DzSPS7* may be key members involved in sugar accumulation. By analyzing the structure and physicochemical properties of durian SPS genes and exploring the SPS accumulation characteristics in different varieties, this study would provide a reference for further investigation into the biological functions of the SPS family in durian.

Keywords: *Durio zibethinus* Murr.; sucrose phosphate synthetase (SPS); bioinformatics; gene expression

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2025.05.005

榴莲 (*Durio zibethinus* Murr.) 是木棉科热带常绿乔木, 被誉为“水果之王”, 其气味浓烈, 是一种独特的热带水果。果实外形呈椭圆形, 表面布满坚硬的刺。果肉多呈淡黄色, 口感细腻, 味道独特, 香甜浓郁。榴莲具有很高的营养价值, 富含多种维生素、矿物质和膳食纤维, 有助于补充身体所需的营养, 增强免疫力, 促进消化^[1]。榴莲原产于东南亚地区, 现广泛种植于泰国、马来西亚等国家和地区, 其中, 泰国的种植面积最大, 近几年在我国广东和海南也有榴莲的引种栽培。据统计, 目前我国是世界上最大的榴莲进口和消费国, 2021年, 我国对鲜食榴莲的进口额和进口量分别达 42.1 亿美元和 82.2 万 t^[2]。由此可知, 我国的榴莲市场开发潜力巨大。不过市场上的榴莲果实品质参差不齐, 提升榴莲果实品质具有重要意义。

蔗糖是植物能量、信号分子和碳骨架的来源, 是植物中储存和运输碳水化合物的重要形式之一^[3]。蔗糖磷酸合酶 (sucrose phosphate synthase, SPS) 是植物体内调节蔗糖生成的一个关键酶, 在植物的光合组织中展现出较高的活性, 对蔗糖的生物合成过程具有显著影响。SPS 的特点是利用二磷酸尿苷葡萄糖 (UDPG) 作为葡萄糖的供体, 在蔗糖的合成过程中, SPS 首先催化 UDP-葡萄糖与 6-磷酸果糖生成 6-磷酸蔗糖, 然后通过磷酸酯酶的作用水解脱去磷酸基团, 最终形成蔗糖^[4-7], SPS 是蔗糖合成的关键限速酶。该酶不仅参与植物的生长和产量形成, 还在植物应对逆境

的过程中扮演重要角色^[6], 其活性受植物生长周期、光照条件、代谢产物以及内源性物质, 如激素和糖类等众多因素的复杂影响和调控^[8]。

前人已对多种植物的 SPS 家族进行相关研究, 如石榴中鉴定出 4 个 SPS 家族成员^[9]; 香蕉中鉴定出 3 个 SPS 基因^[10]; 苹果中鉴定出 7 个 SPS 基因^[3]; 马铃薯中鉴定出 4 个 SPS 基因^[11]。但对榴莲 SPS 基因的研究较少。因此, 本研究通过对公开获得的榴莲高质量基因组数据进行搜索, 鉴定出 10 个榴莲 SPS 基因家族成员, 分别命名为 *DzSPS1*~*DzSPS10*, 并对其进行生物信息学分析, 包括理化特性、染色体定位、保守序列、基因结构分析、二级三级结构模型以及系统发育关系、顺式作用元件分析等特征的研究, 并检测榴莲果实中可溶性糖的主要成分, 采用荧光定量试验分析不同品种榴莲的 SPS 表达水平, 对糖组分和榴莲 SPS 表达水平进行相关性分析, 解析其不同榴莲品种中的表达模式, 为今后深入研究榴莲果实蔗糖积累的分子机制提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 榴莲 SPS 基因家族成员的鉴定和理化性质分析

从 National Center for Biotechnology Information 网站 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 获取的 Thorn Biosystems (2017) Cultivar: Musang King 基因组版本^[12]获取榴莲基因组数据。将下载的蛋白序列使用 BLAST 构建本地数据库, 通过 TAIR11

数据库 (<https://www.arabidopsis.org/>) 获取拟南芥 SPS 基因家族的蛋白序列, 将榴莲和拟南芥 SPS 家族蛋白序列进行 BLAST 比对; 同时, 从 pfam 数据库 (<http://pfam.sanger.ac.uk>) 中下载典型的 SPS 家族蛋白结构的隐马尔科夫模型^[13], 利用 HMMER 软件搜索含有特征结构域的蛋白序列^[14]。将上述 2 种方法筛选出的候选蛋白进行合并, 利用 SnapGene 软件进行多重比对, 手工去除不完整或者冗余序列, 使用 Pfam 及 SMART 在线分析工具 (<http://smart.emblheidelberg.de/>) 对筛选结果进行检验, 删除不含 SPS 基因家族结构域或者含有 SPS 结构域但不完整的基因序列, 最终得到 10 个榴莲 SPS 基因, 并将其分别命名为 *DzSPS1~DzSPS10*, 所有基因均含有 SPS 特征结构域^[15]。利用在线工具 Expasy (<https://web.expasy.org/protparam/>)^[16]对这些蛋白质的理化性质进行分析, 并通过 WOLF PSORT 在线网站 (<https://wolfsort.hgc.jp/>)^[17]进行亚细胞定位预测。

1.2 榴莲 SPS 基因家族保守序列和基因结构分析

通过 MEME 在线工具 (<https://meme-suite.org/meme/>) 对榴莲 SPS 蛋白序列中的保守结构域进行预测, 其中设置 10 个 motif 的数量, 其他参数保持默认。随后, 利用 TBtools 软件对这些保守结构域进行可视化展示。依据榴莲基因组注释信息, 通过 GSDS^[18]在线平台 (<https://gsds.gao-lab.org/index.php>) 对榴莲 SPS 基因的结构进行可视化绘制。

1.3 榴莲 SPS 蛋白系统进化分析

使用 TAIR11 数据库 (<https://www.arabidopsis.org/>) 获取拟南芥 SPS 蛋白序列, 使用水稻数据库 (<https://Rice Genome Annotation Project>) 获取水稻 SPS 蛋白序列, 利用 National Center for Biotechnology Information 网站 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 获取可可树、柑橘、番木瓜、荔枝的 SPS 蛋白序列, 利用在线网站 BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) 与鉴定得到的 10 个榴莲 SPS 基因进行 BLAST 比对, 再利用 MEGA 11 软件构建系统发育树, bootstrap 设置为 1000 次^[19], 使用在线网站 ITOL (<https://itol.embl.de/>)^[20]对进化树进行美化。

1.4 榴莲 SPS 家族的二级、三级结构分析

使用在线网站 PRABI (<https://doua.prabi.fr/software/cap3>)^[21]对榴莲 SPS 进行二级结构预测,

进行数据汇总。利用在线网站 SWISS-MODEL (<https://swissmodel.expasy.org/interactive>)^[22]对榴莲 SPS 进行三级结构预测。

1.5 榴莲 SPS 启动子顺式作用元件分析

根据榴莲基因组注释信息和全基因组序列, 通过 TBtools^[23]软件提取榴莲 SPS 基因编码序列上游 2000 个碱基对的区域作为启动子, 并将这些启动子序列上传至在线平台 PlantCare (<https://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>)^[24]预测顺式调控元件。对 PlantCare 的分析结果进行简化整理后, 进一步使用 TBtools 软件对启动子区域进行可视化展示。

1.6 不同品种榴莲果实中糖组分分析

取马来西亚榴莲园区成熟期的 5 个品种 (红肉、黑刺、金枕、苏丹王和猫山王) 果实, 经液氮速冻后冷冻运输保存, 备用。在经微波灭酶处理后的 1 g 果肉样品中加入 2 mL 超纯水进行匀浆处理。然后使用超纯水对研钵进行 2 次清洗, 并将溶液定容至 10 mL; 取 2 mL 提取液, 在 13 000×g 离心力下离心 15 min; 取上清液过柱处理后, 采用高效液相色谱仪进行检测, 每个样品重复测定 3 次。参照杨转英等^[25]的高效液相色谱法 (HPLC) 分析果实中的糖组分。

1.7 不同品种榴莲 SPS 基因表达鉴定

取马来西亚榴莲园区成熟期的红肉、黑刺、金枕、苏丹王和猫山王 5 个品种的果实, 经液氮速冻后冷冻运输保存。利用 National Center for Biotechnology Information 网站 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 设计荧光定量引物 (表 1), 于生工生物工程 (上海) 股份有限公司合成, 参照 YANG 等^[26]荧光定量 PCR 方法分析不同榴莲品种果肉的 SPS 基因表达水平, 不同榴莲品种样品进行 3 次生物学重复, 并采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法计算基因表达量。

2 结果与分析

2.1 榴莲 SPS 基因家族鉴定及编码蛋白基本理化性质

榴莲中筛选出 10 个 SPS 家族成员, 利用在线网站 PSLP 预测其亚细胞定位, 采用 Expasy 预测蛋白的理化性质, 利用 TBtools 进行染色体定位。结果表明, 10 个 SPS 基因分布在榴莲的 9 条染色体上, 其中 Dz10 染色体上均有 2 个 SPS 基因, 数量最多, 其余 8 条染色体上的 SPS 基因较少 (图 1)。从表 2 可以看出, 所有榴莲 SPS 蛋白的平均

表 1 荧光定量 PCR 引物
Tab. 1 Fluorescent quantitative PCR primers

基因 Gene	基因序列（5'-3'）Primer sequence (5'-3')	基因 Gene	基因序列（5'-3'）Primer sequence (5'-3')
<i>DzSPS1</i>	TTAGTGCCAAGACCAAGGG GAGGGCATCTGCTATGGCTT	<i>DzSPS7</i>	GGCCGCTTATCAAGGGATGA CTTGCTCGCAGTTTACGCTC
<i>DzSPS2</i>	GATCTCTATGGGCTGGTGGC GTCCGAAAGGCTCAACCAGA	<i>DzSPS8</i>	GTGAACAAATTGGTGGGGGC AGCTGCTCGAGCTTGTTCCT
<i>DzSPS3</i>	AGCTTTCCTGATGGCGAA CACCTCTATAGCACCTGCG	<i>DzSPS9</i>	AACGTCTCAATGGTCCTGCC CTGGCGATAATAGGCCTCCC
<i>DzSPS4</i>	GGTTCCCCCTGTTAAGGAGC TTGACAGGTCAACCCCCAC	<i>DzSPS10</i>	TGTCCTTCCATCCGGTGTG TCACGCAACAATACCGTCCA
<i>DzSPS5</i>	CTATGAGCGATGGAGGCGAG GTCTCCATGGCACCTTTCA	<i>GmELF</i>	GCCCAAAAGACCATCAGACAAGC CGGAAGGACCAAAAGTGACAACC
<i>DzSPS6</i>	ACAGGTCGGCAATCAAGAG TGCTCTAAGTTTGCCTCCA		

注：GmELF 为内参引物^[27]。
Note: GmELF is the internal reference primer^[27].

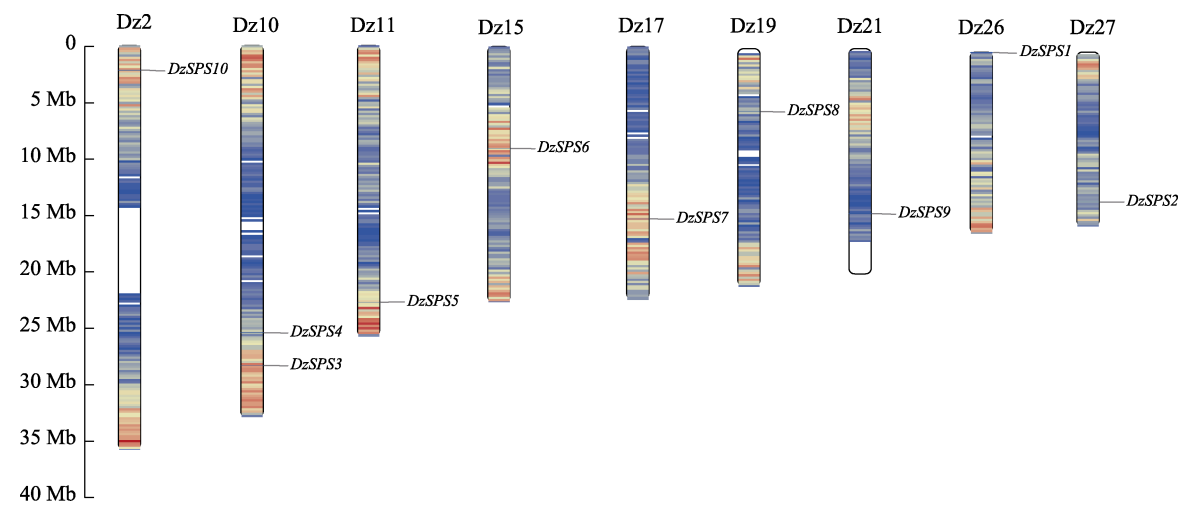


图 1 榴莲 SPS 基因染色体定位
Fig. 1 Chromosomal localization of SPS genes in durian

表 2 榴莲 SPS 基因鉴定与蛋白质理化性质
Tab. 2 Gene identification and protein physicochemical properties of durian SPS

基因 Gene	基因 ID Gene ID	亚细胞定位 Subcellular localization	等电点 pI	分子量 Molecular weight/Da	氨基酸数 Number of amino acids	疏水系数 Hydrophobicity coefficient	位置 Location
<i>DzSPS1</i>	111276696	细胞核	6.68	115 859.01	1026	-0.429	chr.26: 23 822~34 915
<i>DzSPS2</i>	111279832	细胞膜	5.91	119 515.25	1063	-0.431	chr.27: 13 282 115~13 289 347
<i>DzSPS3</i>	111284186	细胞核	6.04	117 797.54	1051	-0.351	chr.10: 28 386 092~28 392 498
<i>DzSPS4</i>	111286073	细胞核	6.09	118 072.89	1052	-0.419	chr.10: 25 486 518~25 495 125
<i>DzSPS5</i>	111293650	细胞膜	5.85	48 112.78	425	-0.407	chr.11: 22 768 493~22 772 322
<i>DzSPS6</i>	111299386	细胞核	6.31	117 845.60	1054	-0.365	chr.15: 9 031 493~9 037 599
<i>DzSPS7</i>	111303296	过氧化物酶体	5.70	97 616.35	868	-0.481	chr.17: 15 286 445~15 293 489
<i>DzSPS8</i>	111307848	细胞膜	6.24	119 881.85	1064	-0.420	chr.19: 5 549 188~5 556 639
<i>DzSPS9</i>	111310424	细胞膜	6.12	48 565.49	423	-0.387	chr.21: 14 628 094~14 634 893
<i>DzSPS10</i>	111311629	叶绿体	5.99	49 272.31	433	-0.389	chr.2: 2 192 345~2 196 485

疏水系数均低于 0，即 10 个榴莲 SPS 蛋白均为亲水蛋白；其分子量在 48 112.78~119 881.85 Da 范围内，氨基酸数目在 423~1064 之间；等电点为 5.70~6.68，均小于 7，均为酸性蛋白。通过预测

其亚细胞定位发现, 榴莲的蔗糖磷酸合酶分布广泛, 但主要集中在细胞膜和细胞核上。

2.2 榴莲 SPS 基因家族保守基序和基因结构分析

利用 MEME 在线工具对榴莲 SPS 基因家族的蛋白质序列进行保守基序分析, 预测了 10 个保守基序, 并利用 TBtools 进行美化。从预测的保守基序来看, 每个榴莲 SPS 的 motif 数量和分布有一定差异, 10 个榴莲 SPS 蛋白均含有家族中最基本的 motif 3 (图 2), 说明 motif 3 是榴莲 SPS 基因家族重要的保守结构域。DzSPS1、DzSPS2、

DzSPS3、DzSPS4、DzSPS6、DzSPS8 均含有 motif 1~motif 10, 且各 motif 的相对位置 (N-C 顺序) 按 motif 5-motif 7-motif 8-motif 6-motif 3-motif 9-motif 4-motif 1-motif 2-motif 10 的顺序出现, 说明榴莲 SPS 蛋白序列高度保守, 在榴莲繁衍进化中具有重要意义。

利用 GSDS 网站对榴莲 SPS 基因结构进行分析, 从图 3 可以看出, 榴莲 SPS 基因结构较为相似, 含有 8~15 个外显子, 7~13 个内含子, 基因的外显子数目均大于 8, 这 10 个 SPS 基因结构极为相似, 但其长度存在一定差异。

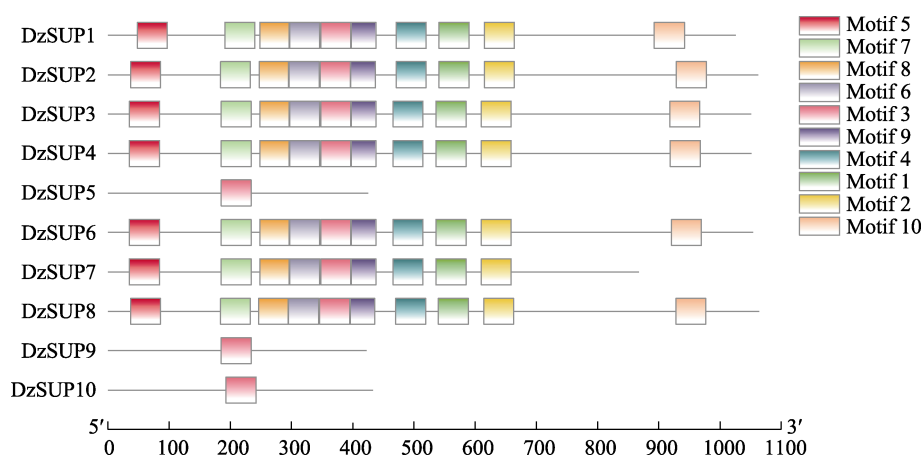


图 2 榴莲 SPS 蛋白保守基序
Fig. 2 Conserved motif of durian SPS protein

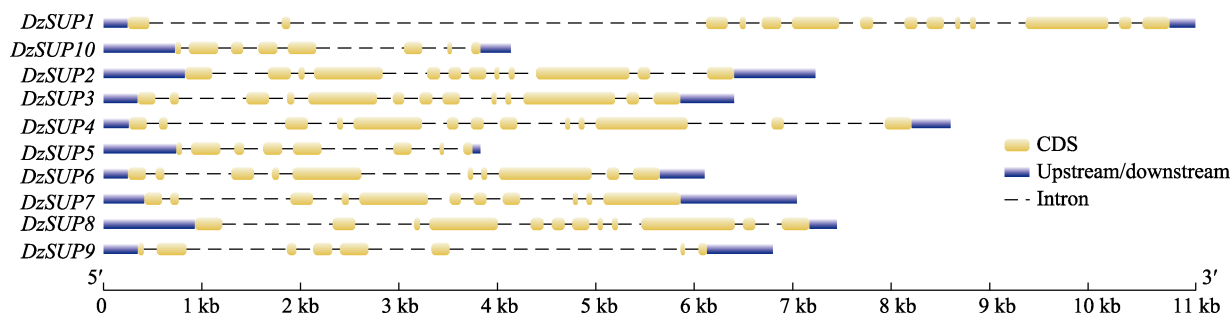


图 3 榴莲 SPS 基因结构分析
Fig. 3 Gene structure analysis of durian SPS

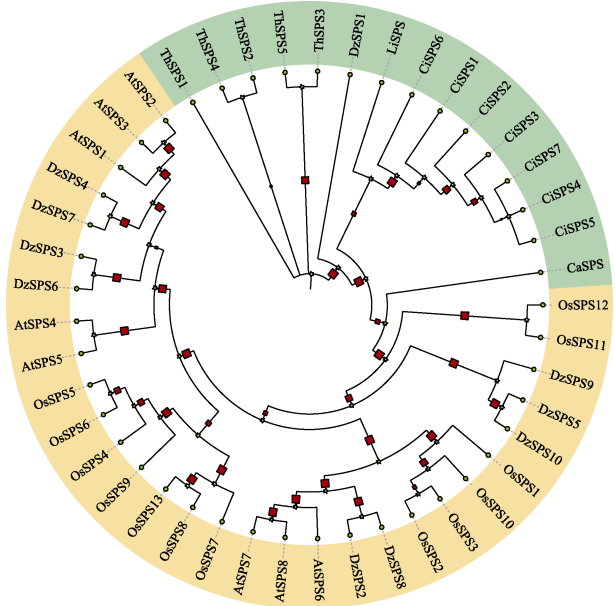
2.3 榴莲 SPS 蛋白系统进化分析

使用 MEGA 11 软件对 10 个榴莲 SPS 蛋白、13 个水稻 SPS 蛋白、8 个拟南芥 SPS 蛋白、5 个可可树 SPS 蛋白、7 个柑橘 SPS 蛋白、1 个番木瓜 SPS 蛋白以及 1 个荔枝 SPS 蛋白的氨基酸序列进行比对, 并构建系统发育进化树 (图 4)。根据进化关系分析得出, 榴莲 SPS 蛋白可划分为 2 个亚类。在这 2 个亚家族中, 榴莲 SPS 蛋白的分布

数量不同, 其中亚类 II 包含的榴莲 SPS 蛋白最多, 共有 9 个, 而亚类 I 则包含 1 个榴莲 SPS 蛋白, 与可可树、柑橘等园艺果树 SPS 蛋白相比, 榴莲 SPS 蛋白与拟南芥 SPS 蛋白、水稻 SPS 蛋白的亲缘关系更近。

2.4 榴莲 SPS 家族的二级、三级结构分析

利用 PRABI 在线网站对榴莲 SPS 家族二级结构进行预测, 结果表明, 榴莲 SPS 蛋白存在 α -螺



AtSPS、OsSPS、ThSPS、CiSPS、CaSPS、LiSPS 分别为拟南芥、水稻、可可树、柑橘、番木瓜和荔枝的 SPS 基因家族成员。
AtSPS, OsSPS, ThSPS, CiSPS, CaSPS and LiSPS are members of *Arabidopsis*, rice, cacao, citrus, papaya and litchi SPS gene family, respectively.

图 4 SPS 基因家族系统进化树
Fig. 4 Phylogenetic tree of SPS gene family

旋（占 34.35%~44.35%）、延伸链（占 11.06%~20.47%）、 β -转角（占 5.44%~7.06%）和无规卷曲（占 37.72%~40.66%）4 种二级结构（表 3）。这 4 种类型的二级结构含量相对稳定，表现出特定的保守特性。

表 3 榴莲 SPS 蛋白的二级结构预测
Tab. 3 Secondary structure prediction of durian SPS proteins

蛋白质 Protein	占比 Percentage/%			
	α -螺旋 Alpha helix	延伸链 Extended strand	β -转角 Beta turn	无规则卷曲 Random coil
DzSPS1	42.88	13.16	6.24	37.72
DzSPS2	42.05	13.83	6.30	37.82
DzSPS3	40.91	13.61	6.47	39.01
DzSPS4	41.92	14.07	6.18	37.83
DzSPS5	34.35	20.47	7.06	38.12
DzSPS6	40.99	13.57	6.93	38.52
DzSPS7	44.35	11.06	5.65	38.94
DzSPS8	40.60	13.44	6.58	39.38
DzSPS9	34.52	19.39	5.44	40.66
DzSPS10	36.26	19.63	5.77	38.34

榴莲 SPS 蛋白的主要结构由 α -螺旋和无规则卷曲构成，通过 SWISS-MODEL 在线平台进行同源建模分析。结果显示 DzSPS1、DzSPS2、DzSPS3、DzSPS4、DzSPS6、DzSPS7、DzSPS8 的空间结构相似；DzSPS5、DzSPS9、DzSPS10 的空间结构相似，但表现出更短且简单（图 5）。

2.5 榴莲 SPS 启动子顺式作用元件分析

利用 TBtools 软件提取榴莲 SPS 家族基因起始密码子前 2000 个碱基对的启动子序列，并通过 PlantCARE 在线分析工具对榴莲 SPS 基因的表达调控元件进行预测。如图 6 所示，在环境变化响

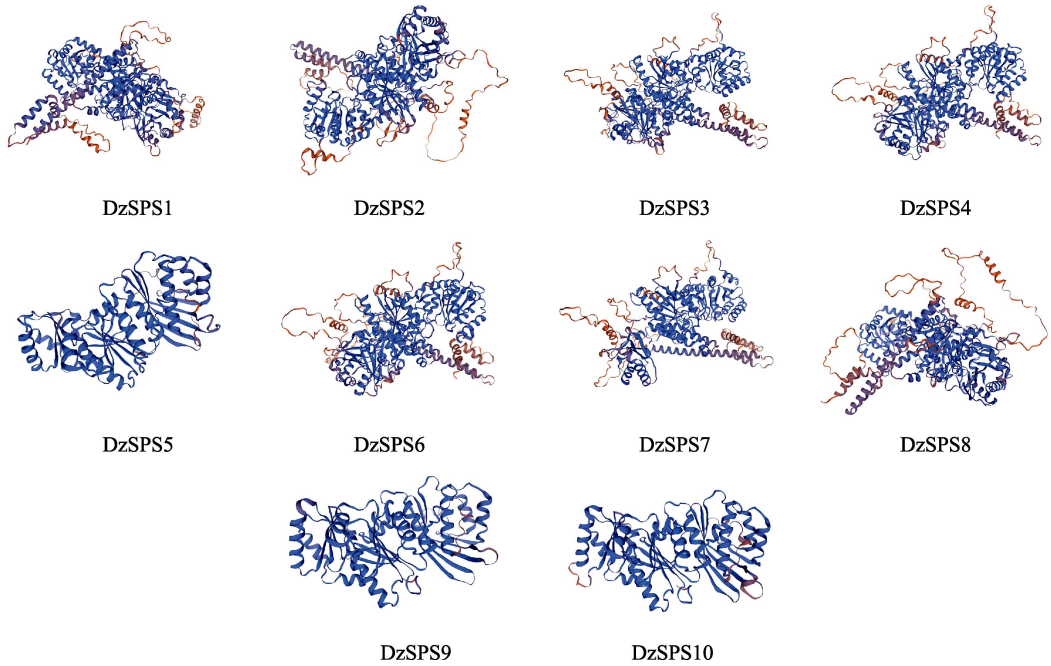


图 5 榴莲 SPS 蛋白三级结构预测
Fig. 5 Prediction of SPS protein tertiary structure in durian

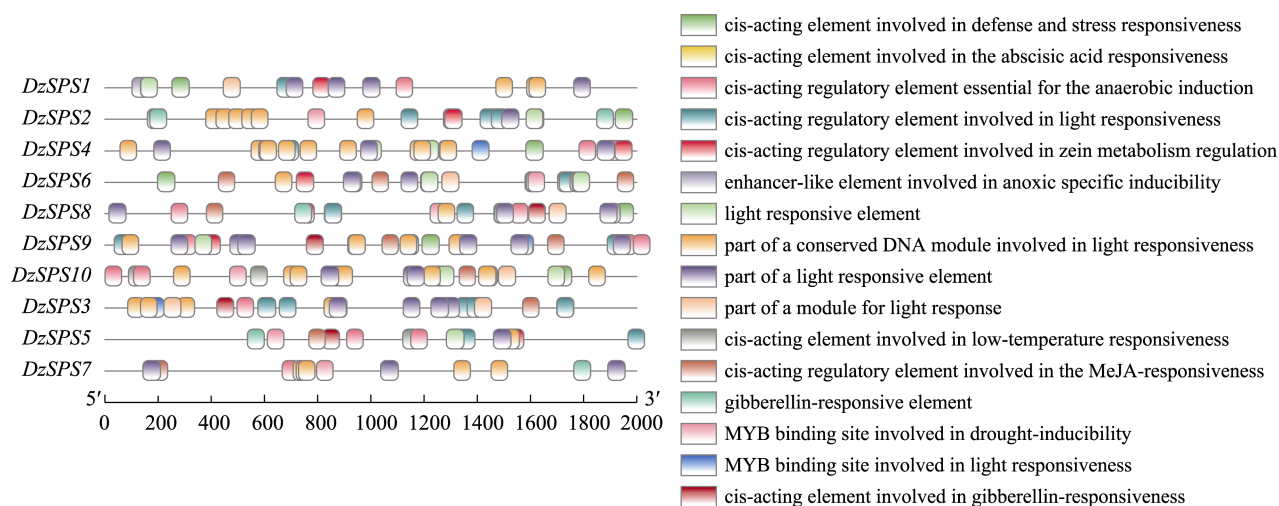


图 6 榴莲 SPS 基因家族顺式作用元件分析

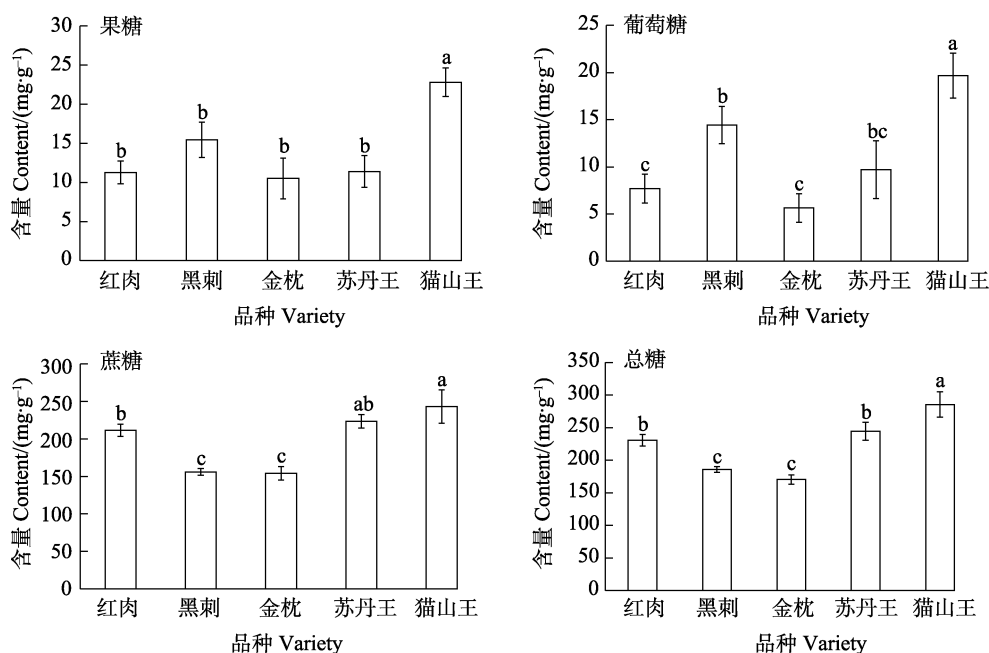
Fig. 6 Analysis of cis-acting elements of durian SPS gene family

应元件中, 10 个 SPS 基因均含有大量的光响应元件, 其余干旱、低温、厌氧、防御和应激环境变化响应元件则少量分布在不同的基因中, 说明榴莲 SPS 基因参与调控榴莲的光合作用、开花、叶片伸展和叶绿体发育等生物学过程。在内源激素响应元件中发现榴莲 SPS 基因存在少量赤霉素响应元件, 说明榴莲 SPS 基因参与植物激素的诱导表达。

2.6 榴莲 SPS 基因表达模式分析

2.6.1 不同品种榴莲果实糖组分分析 由图 7 可知, 榴莲果实中的可溶性糖组分主要有果糖、葡

萄糖和蔗糖, 其中蔗糖含量明显高于果糖和葡萄糖, 果糖和葡萄糖含量接近 1:1。不同品种中总糖及 3 种糖组分含量具有显著性差异, 猫山王果实中总糖、果糖、葡萄糖及蔗糖含量均最高, 而金枕中含量最低。苏丹王果实中蔗糖及总糖含量仅低于猫山王, 果糖和葡萄糖含量除低于猫山王外, 也低于黑刺。红肉品种蔗糖及总糖含量低于苏丹王及猫山王, 而高于黑刺与金枕; 红肉果糖与葡萄糖含量显著低于黑刺与猫山王, 与金枕和苏丹王含量无显著差异。



不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

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

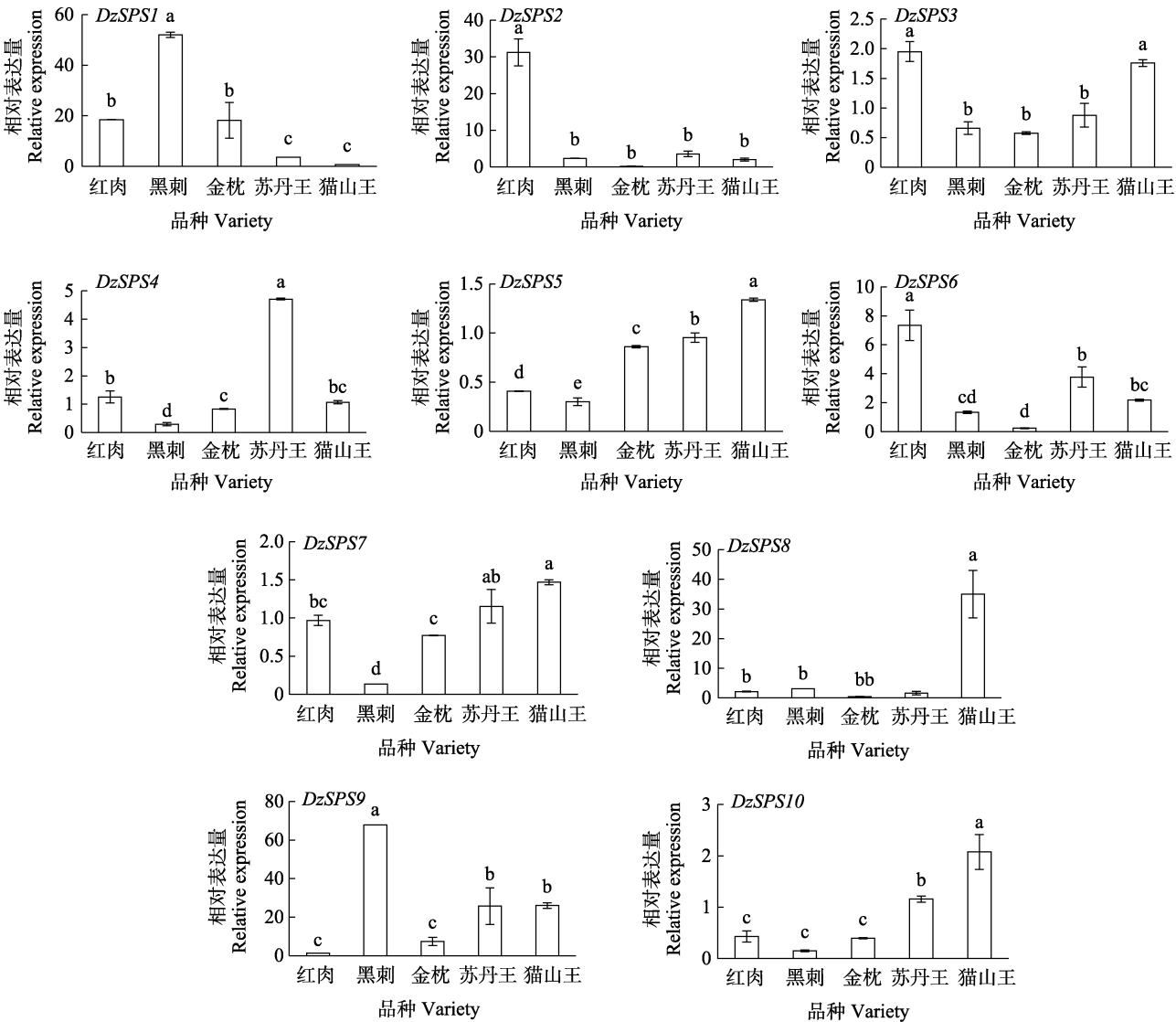
图 7 不同品种榴莲果实中糖组分分析

Fig. 7 Analysis of sugar components in durian fruits of different varieties

2.6.2 不同品种榴莲果实中 SPS 表达量分析 通过荧光定量 PCR 分析不同品种榴莲果实的 SPS 表达量，结果表明，不同品种各基因表达量存在显著差异（图 8）。*DzSPS1* 和 *DzSPS9* 在黑刺中表达量最高，*DzSPS2*、*DzSPS3* 和 *DzSPS6* 在红肉品种中表达量最高，*DzSPS4* 在苏丹王中表达最高，*DzSPS5*、*DzSPS7*、*DzSPS8* 和 *DzSPS10* 在猫山王中表达最高。其中，不同榴莲品种的 *DzSPS3* 表达量与果实的蔗糖、总糖含量呈极显著正相关，*DzSPS7* 表达量与果实的蔗糖、总糖含量呈显著正相关（表 4），推测 *DzSPS3* 和 *DzSPS7* 可能在榴莲果实糖分积累中起着关键的作用。

3 讨论

本研究从榴莲的全基因组中鉴定出 10 个榴莲 SPS 基因家族成员，分别命名为 *DzSPS1*~*DzSPS10*。这些成员具有相似的蛋白理化特性，均为酸性亲水蛋白，亚细胞定位预测主要集中在细胞膜和细胞核上，同样在柑橘^[28]和樱桃^[29]中有类似报道。榴莲 SPS 家族保守性分析发现，每个榴莲 SPS 的 motif 数量和分布有一定的差异，但均含有家族中最基本的 motif 3,说明 motif 3 是榴莲 SPS 基因家族重要的保守结构域。后续可以对 motif 3 作进一步研究。在苹果^[30]和猕猴桃^[31]等物种中也有相似的研究。基因结构分析发现，榴莲



不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。
Different lowercase letters indicate significant difference ($P<0.05$).

图 8 不同品种果实中榴莲 SPS 表达量
Fig. 8 SPS expression in durian fruits of different varieties

表 4 榴莲 SPS 表达量与果实糖组分的相关性分析
Tab. 4 Correlation analysis between SPS expression levels and fruit sugar composition in durian

项目 Item	果糖 Fructose	葡萄糖 Glucose	蔗糖 Sucrose	总糖 Total sugar	DzSPS1	DzSPS2	DzSPS3	DzSPS4	DzSPS5	DzSPS6	DzSPS7	DzSPS8	DzSPS9	DzSPS10
果糖	1													
葡萄糖	0.964**	1												
蔗糖	0.464	0.441	1											
总糖	0.634	0.614	0.979**	1										
DzSPS1	-0.139	-0.005	-0.740	-0.665	1									
DzSPS2	0.268	0.469	0.329	0.374	-0.052	1								
DzSPS3	0.640	0.617	0.976**	0.999**	-0.687	0.386	1							
DzSPS4	-0.307	-0.201	0.489	0.369	-0.545	0.629	0.381	1						
DzSPS5	0.520	0.396	0.600	0.630	-0.834	0.243	0.665	0.314	1					
DzSPS6	-0.244	-0.215	0.520	0.401	-0.195	-0.142	0.363	0.289	-0.294	1				
DzSPS7	0.608	0.533	0.941*	0.955*	-0.827	0.296	0.966**	0.385	0.823	0.229	1			
DzSPS8	0.946*	0.848	0.629	0.758	-0.432	0.149	0.769	-0.190	0.712	-0.143	0.791	1		
DzSPS9	0.363	0.555	-0.310	-0.160	0.687	0.608	-0.161	-0.178	-0.282	-0.438	-0.301	0.054	1	
DzSPS10	0.725	0.656	0.839	0.893*	-0.756	0.387	0.913*	0.312	0.897*	-0.021	0.966**	0.866	-0.130	1

注：*表示显著相关（ $P<0.05$ ）；**表示极显著相关（ $P<0.01$ ）。
Note: * indicaets significant correlation ($P<0.05$); ** indicates extremely significant correlation ($P<0.01$).

SPS 基因结构较为相似,含有 8~15 个外显子,7~13 个内含子,基因的外显子数目均大于 8,类似的基因结构分析在木薯^[32]和荔枝^[33]研究中也发现。蛋白系统进化分析结果显示,榴莲 SPS 与水稻 SPS、拟南芥 SPS 亲缘关系较近,亲缘关系较近的家族成员具有相似的基因结构、保守区域和保守基序^[34]。

蛋白质二级、三级结构的预测与空间结构分析对了解其功能具有重要意义^[35]。二级结构预测中,榴莲 SPS 的 α -螺旋和无规则卷曲占比较高,延伸链、 β -转角占比较低;三级空间结构分析发现大多数榴莲 SPS 成员均具有相似的结构。蛋白质的结构决定了其功能,进一步研究榴莲 SPS 蛋白质的二级、三级结构,有助于揭示榴莲 SPS 的功能。启动子顺式作用元件分析发现,基因的表达往往受多重因素的影响^[36],榴莲 SPS 基因家族成员均含有大量的光响应元件,表明其可能参与调控榴莲的光合作用、开花、叶片伸展和叶绿体发育等生物学过程。

通过分析不同品种榴莲果实糖组分发现,榴莲果实中的可溶性糖组分主要有果糖、葡萄糖和蔗糖,其中蔗糖含量显著高于果糖和葡萄糖,不同品种中总糖及 3 种糖组分含量均有显著差异。荧光定量 PCR 及相关性分析发现,不同品种的

DzSPS3 表达量与果实的蔗糖、总糖含量呈极显著正相关,DzSPS7 表达量与果实的蔗糖、总糖含量呈显著正相关,推测 DzSPS3 和 DzSPS7 可能在榴莲果实糖分积累中起着关键的作用,可以进一步研究 DzSPS3 和 DzSPS7 在榴莲果实中的糖分积累机制。

蔗糖磷酸合酶 (SPS) 在蔗糖代谢路径中扮演着重要的角色,对果树作物的生长、发育以及品质塑造具有显著影响^[32, 37]。郭雪飞等^[38]研究表明,在枣果实的发育早期,蔗糖的积累与分解酶的活性呈负相关,而在果实发育的中后期,则与蔗糖磷酸合酶的活性呈正相关。李雯等^[39]在香蕉中的研究发现,SPS 在香蕉果实的成熟、衰老和糖的积累及果实软化等方面扮演着重要角色。在葡萄和草莓果实成熟过程中的蔗糖积累机制^[40]研究结果表明,蔗糖磷酸合酶和蔗糖转运蛋白 1 (SUT1) 的转录水平在果实成熟过程中迅速增加。LI 等^[41]研究发现,在菠萝蜜果实成熟过程中,总可溶性糖和蔗糖含量迅速增加,而葡萄糖和果糖含量的增加则较慢,表明 SPS 和蔗糖合成酶 (SuSy) 是负责蔗糖合成的关键酶。这些研究结果进一步说明,蔗糖磷酸合酶在多种水果果实的糖积累和成熟过程中起着关键作用,且其作用机制因果树种类和发育阶段的不同而有差异。本研

究通过生物信息学方法对榴莲的 10 个 SPS 基因进行全面鉴定和分析, 今后将利用不同发育阶段的榴莲果实样本, 深入探究榴莲 SPS 家族成员的生物学功能, 揭示 SPS 在榴莲糖分积累中的作用机制, 有助于了解榴莲果实品质形成理论。

参考文献

- [1] 彭文丽, 杨成坤, 崔志富, 赵成志, 王红. 榴莲 PEPC 基因家族全基因组鉴定及表达分析[J]. 分子植物育种, 2022, 20(1): 76-85.
PENG W L, YANG C K, CUI Z F, ZHAO C Z, WANG H. Genome-wide identification and expression analysis of PEPC gene family in durian (*Durio zibethinus* Murr.)[J]. Molecular Plant Breeding, 2022, 20(1): 76-85. (in Chinese)
- [2] 冯学杰, 罗志文, 郭利军, 华敏, 谢圣华, 李向宏, 王祥和, 邓会栋. 榴莲幼树栽培关键技术[J]. 中国热带农业, 2022(5): 77-80, 76.
FHENG X J, LUO Z W, GUO L J, HUA M, XIE S H, LI X H, WANG X H, DENG H D. Key cultivation technologies for durian saplings[J]. China Tropical Agriculture, 2022(5): 77-80, 76. (in Chinese)
- [3] ZHANG L H, ZHU L C, XU Y, LV L, LI X G, LI W H, LIU W D, MA F Y, LI M J, HAN D. Genome-wide identification and function analysis of the sucrose phosphate synthase MdSPS gene family in apple[J]. Journal of Integrative Agriculture, 2023, 22(7): 2080-2093.
- [4] 曾德雯, 朱龙英, 冯岩, 朱为民, 张迎迎. 高等植物蔗糖磷酸合酶(SPS)的研究进展[J]. 植物生理学报, 2020, 56(5): 931-938.
ZHENG D W, ZHU L Y, FENG Y, ZHU W M, ZHANG Y Y. Research advance of sucrose phosphate synthase (SPS) in higher plant[J]. Plant Physiology Journal, 2020, 56(5): 931-938. (in Chinese)
- [5] 苏纪勇, 姚圆, 刘玉含, 韩秋宇, 张雯露. 蔗糖磷酸合酶功能、结构与催化机制的研究进展[J]. 生物工程学报, 2021, 37(6): 1858-1868.
SU J Y, YAO Y, LIU Y H, HAN Q Y, ZHANG W L. Function, structure and catalytic mechanism of sucrose phosphate synthase: a review[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2021, 37(6): 1858-1868. (in Chinese)
- [6] LU W, HAO W H, LIU K X, LIU J H, YIN C M, SU Y J, HANG Z Y, PENG B, LIU H, XIONG B, LIAO L, HE J X, ZHANG M F, WANG X, WANG Z H. Analysis of sugar components and identification of SPS genes in citrus fruit development[J]. Frontiers in Plant Science, 2024, 15: 1372809.
- [7] LAURA B, EDOARDO T, LIBERO G, PAOLO T, GIUSEPPE F, FRANCESCA S. *Arabidopsis thaliana* sucrose phosphate synthase A2 affects carbon partitioning and drought response[J]. Biology, 2023, 12(5): 685.
- [8] 吴建阳, 陈妹, 姚艳丽, 张秀梅. 植物蔗糖磷酸合成酶 (SPS) 基因研究进展[J]. 分子植物育种, 2022, 20(8): 2597-2606.
WU J Y, CHEN M, YAO Y L, ZHANG X M. Research progress of sucrose phosphate synthetase (SPS) gene in plants[J]. Molecular Plant Breeding, 2022, 20(8): 2597-2606. (in Chinese)
- [9] 冯立娟, 李英朋, 王传增, 尹燕雷, 郭琳, 谭伟. 石榴蔗糖代谢相关酶 SPS 和 INV 基因家族鉴定与表达分析[J]. 山东农业科学, 2024, 56(3): 11-18.
FENG L J, LI Y P, WANG C Z, YIN Y L, GUO L, TAN W. Identification and expression analysis of sucrose phosphate synthase (SPS) and invertase (INV) gene families in pomegranate[J]. Shandong Agricultural Sciences, 2024, 56(3): 11-18. (in Chinese)
- [10] 陈妹, 吴建阳, 张秀梅, 邓旭, 涂行浩, 胡会刚, 杜丽清. 香蕉 SPS 基因家族的系统进化分析[J]. 分子植物育种, 2021, 19(19): 6309-6317.
CHEN M, WU J Y, ZHANG X M, DENG X, TU X H, HU H G, DU L Q. Phylogenetic analysis of the SPS gene family in banana (*Musa acuminata*)[J]. Molecular Plant Breeding, 2021, 19(19): 6309-6317. (in Chinese)
- [11] CAI C, LIU S, LIU J, WEN H, LI L, WANG Q, LI L, WANG X. Screening and identification of *PotatoStSPS1*, a potential crucial gene regulating seed potato vigor[J]. Horticulturae, 2023, 9(4): 511.
- [12] 王佳琦, 唐丽珠, 李菊, 李茂富, 杨成坤, 崔志富. 榴莲酸性转化酶家族 DzAI 的全基因组鉴定及表达分析[J]. 分子植物育种, 2024, 22(4): 1066-1074.
WANG J Q, TANG L Z, LI J, LI M F, YANG C K, CUI Z F. Genome-wide identification and expression analysis of durian acid invertase family DzAI[J]. Molecular Plant Breeding, 2019, 22(4): 1066-1074. (in Chinese)
- [13] EL-GEHALI S, MISTRY J, BATEMAN A, EDDY S R, LUCIANI A, POTTER S C, QURESHI M, RICHARDSON L J, SALAZAR G A, SMART A. The Pfam protein families database in 2019[J]. Nucleic Acids Research, 2019, 47(D1): D427-D432.
- [14] EDDY S R. Hidden markov models[J]. Current Opinion in Structural Biology, 1996, 6(3): 361-365.
- [15] 张积森, 郑月霞, 邹丽娟, 叶冰莹, 陈由强, 陈如凯. 酵母单杂交方法初步鉴定甘蔗 SPSIII启动子区域调控序列[J]. 农业生物技术学报, 2012, 20(11): 1282-1290.
ZHANG J S, ZHENG Y X, ZOU L J, YE B Y, CHEN Y Q, CHEN R K. Preliminary identification of binding protein

- genes of cis-element in promoter region of sugarcane (*Saccharum* spp.) SPS III by yeast one-hybrid library[J]. Journal of Agricultural Biotechnology, 2012, 20(11): 1282-1290. (in Chinese)
- [16] SÉVERINE D, CHIARA G, FRÉDÉRIQUE L, HEINZ S, VASSILIOS I, CHRISTINE D. Expasy, the Swiss bioinformatics resource portal, as designed by its users[J]. Nucleic Acids Research, 2021, 49: W216-W227.
- [17] PAUL H, KEUN-JOON P, TAKESHI O, NAOYA F, HAJIME H, ADAMS-COLLIER C J, KENTA N. WoLF PSORT: protein localization predictor[J]. Nucleic Acids Research, 2007, 35(W1): W585-W587.
- [18] 郭安源, 朱其慧, 陈新, 罗静初. GSDS: 基因结构显示系统[J]. 遗传, 2007, 29(8): 1023-1026.
GUO A Y, ZHU Q H, CHEN X, LUO J C. GSDS: a gene structure display server[J]. Hereditas (Beijing), 2007, 29(8): 1023-1026. (in Chinese)
- [19] KOICHIRO T, GLEN S, SUDHIR K. MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11[J]. Molecular Biology and Evolution, 2021, 38(7): 3022-3027.
- [20] LETUNIC I, BORK P. Interactive tree of life (iTOL) v6: recent updates to the phylogenetic tree display and annotation tool[J]. Nucleic Acids Research, 2024, 52(W1): W78-W82.
- [21] PICARD F, PERRIÈRE G. Bioinformatics developments for NGS data analysis at PRABI[J]. EMBnet. Journal, 2012, 17(B): 12.
- [22] BHUMIKA C, BINDU S. Swiss-Model: a web-based computational tool for designing of protein structures[J]. Biotech Today, 2021, 10(2): 43-44.
- [23] CHEN C J, WU Y, LI J W, WANG X, ZENG Z H, XU J, LIU Y L, FENG J T, CHEN H, HE Y H, XIE R. TBtools-II: a “One for All, All for One” bioinformatics platform for biological big-data mining[J]. Molecular Plant, 2023, 16(11): 1733-1742.
- [24] LESCOT M, DÉHAIS P, THIJS G, MARCHAL K, MOREAU Y, PEER Y V D, ROUZÉ P, ROMBAUTS S. 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.
- [25] 杨转英, 王惠聪, 赵志常, 秦永华, 胡桂兵. 不同产地荔枝果实糖含量及组成的比较[J]. 热带作物学报, 2012, 33(8): 1398-1402.
YANG Z Y, WANG H C, ZHAO Z C, QIN Y H, HU G B. A comparative study on the sugar accumulation and composition in the aril of litchi from different regions[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2012, 33(8): 1398-1402. (in Chinese)
- [26] YANG Z Y, WANG T D, WANG H C, HUANG X M, QIN Y H, HU G B. Patterns of enzyme activities and gene expressions in sucrose metabolism in relation to sugar accumulation and composition in the aril of *Litchi chinensis* Sonn.[J]. Journal of Plant Physiology, 2013, 170(8): 731-740.
- [27] THONGKUM M, MCATEE P M, SCHAFER R J, ALLAN A C, KETSA S. Characterization and differential expression of ethylene receptor genes during fruit development and dehiscence of durian (*Durio zibethinus*)[J]. Scientia Horticulturae, 2018, 240: 623-630.
- [28] 魏清江, 马张正, 勒思, 雷常玉, 马巧利, 辜青青. 柑橘磷酸蔗糖合酶基因 CsSPS 的鉴定和表达[J]. 园艺学报, 2020, 47(2): 334-344.
WEI Q J, MA Z Z, LE S, LEI C Y, MA Q L, GU Q Q. Identification and expression analysis of sucrose-phosphate synthase (SPS) genes in citrus[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2020, 47(2): 334-344. (in Chinese)
- [29] 齐希梁, 刘聪利, 宋露露, 李明. 甜樱桃磷酸蔗糖合酶基因 *Pav SPS* 的功能分析[J]. 园艺学报, 2021, 48(8): 1446-1456.
QI X L, LIU C L, SONG L L, LI M. Functional analysis of sucrose-phosphate synthase genes (SPS) in sweet cherry[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2021, 48(8): 1446-1456. (in Chinese)
- [30] SUN Y J, SHI Z D, JIANG Y P, ZHANG X H, LI X A, LI F J. Effects of preharvest regulation of ethylene on carbohydrate metabolism of apple (*Malus domestica* Borkh cv. Starkrimson) fruit at harvest and during storage[J]. Scientia Horticulturae, 2021, 276: 109748.
- [31] LIAO G L, LI Y Q, WANG H L, LIU Q, ZHONG M, JIA D F, HUANG C H, XU X B. Genome-wide identification and expression profiling analysis of sucrose synthase (SUS) and sucrose phosphate synthase (SPS) genes family in *Actinidia chinensis* and *A. eriantha*[J]. BMC Plant Biology, 2022, 22(1): 215.
- [32] HUANG T W, LUO X L, WEI M G, SHAN A Y, ZHU Y M, YANG Y, FAN Z P. Molecular cloning and expression analysis of sucrose phosphate synthase genes in cassava (*Manihot esculenta* Crantz)[J]. Scientific Reports, 2020, 10(1): 20707.
- [33] WANG D, ZHAO J T, HU B, LI J Q, QIN Y Q, CHEN L H, QIN Y H, HU G. Identification and expression profile analysis of the sucrose phosphate synthase gene family in *Litchi chinensis* Sonn.[J]. PeerJ, 2018, 6: e4379.
- [34] SOLÍS-GUZMÁN M G, ARGÜELLO-ASTORGA G, LÓPEZ-BUCIO J, RUIZ-HERRERA L F, LÓPEZ-MEZA J E, SÁNCHEZ-CALDERÓN L, CARREÓN-ABUD Y, MARTÍNEZ-TRUJILLO M. *Arabidopsis thaliana* sucrose

- phosphate synthase (SPS) genes are expressed differentially in organs and tissues, and their transcription is regulated by osmotic stress[J]. *Gene Expression Patterns*, 2017, 25/26: 92-101.
- [35] 牛俊奇, 苗小荣, 黎东海, 李梦玲, 黄维. 甘蔗细胞壁蔗糖转化酶基因 *SoCIN2* 的克隆和表达分析[J]. *分子植物育种*, 2022, 20(15): 4967-4974.
- NIU J Q, MIAO X R, LI D H, LI M L, HUANG W. Cloning and expression analysis of cell wall invertase gene *SoCIN2* in sugarcane[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2022, 20(15): 4967-4974. (in Chinese)
- [36] 陈雪, 吉春容, 巴特尔·巴克, 胡启瑞, 杨明凤, 郭燕云, 刘爱琳. 膜下滴灌条件下棉花花铃期光合特征参数对于旱胁迫的响应[J]. *中国农学通报*, 2023, 39(19): 1-8.
- CHEN X, JI C R, BATEE B, HU Q R, YANG M F, GUO Y Y, LIU A L. Response of photosynthetic characteristic parameters of cotton at flower and boll stages to drought stress under mulched drip irrigation[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2023, 39(19): 1-8. (in Chinese)
- [37] ZHANG Y Y, ZENG D W, LIU Y H, ZHU W M. SISPS, a sucrose phosphate synthase gene, mediates plant growth and thermotolerance in tomato[J]. *Horticulturae*, 2022, 8(6): 491.
- [38] 郭雪飞, 周晓凤, 冯一峰, 蒲小秋, 吴翠云. 两种糖积累型枣品种果实糖积累生理代谢机制研究[J]. *植物生理学报*, 2019, 55(6): 837-846.
- GUO X F, ZHOU X F, FENG Y F, PU X Q, WU C Y. Physiological metabolic mechanism of sugar accumulation in fruit of two sugar-accumulated jujube varieties[J]. *Plant Physiology Journal*, 2019, 55(6): 837-846. (in Chinese)
- [39] 李雯, 邵远志, 庄军平, 陈维信. 蔗糖磷酸合成酶与香蕉果实成熟、衰老的关系[J]. *园艺学报*, 2006(5): 1087-1089.
- LI W, SHAO Y Z, ZHUANG J P, CHEN W X. Relationships between the sucrose phosphate synthase and ripening, senescence of banana fruits[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2006(5): 1087-1089. (in Chinese)
- [40] TIAN L, JIA H F, LI C L, FAN P G, XING Y, SHEN Y Y. Sucrose accumulation during grape berry and strawberry fruit ripening is controlled predominantly by sucrose synthase activity[J]. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 2012, 87(6): 661-667.
- [41] LI Z Y, DUAN X Q, LIU S H, LI Y, ZHANG Z H, YE C H. Changes in soluble sugar accumulation and activities of sucrose-metabolizing enzymes during fruit ripening of jackfruit[J]. *Journal of Agricultural Science*, 2017, 9(8): 155-166.