

# 蒿叶猪毛菜 GPAT 基因家族成员鉴定及其在干旱胁迫下的表达模式分析

杜明阳<sup>1</sup>, 马健芝<sup>1</sup>, 多杰措<sup>2</sup>, 罗天蓉<sup>1</sup>, 熊辉岩<sup>2</sup>, 陈亦婷<sup>2</sup>, 段瑞君<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>青海大学生态环境工程学院, 西宁 810000; <sup>2</sup>青海大学农牧学院, 西宁 810000)

**摘要:** 甘油-3-磷酸酰基转移酶(GPAT, glycerol-3-phosphate acyltransferase)是三酰甘油(TAG, triacylglycerol)生物合成的核心酶,在植物生长发育以及抗逆过程中发挥重要作用。本研究基于蒿叶猪毛菜(*Salsola abrotanoides* L.)转录组数据,利用生物信息学和qRT-PCR方法,对蒿叶猪毛菜 GPAT 基因家族成员进行鉴定分析并探究其表达模式。以BLASTP比对和HMM搜索2种方法共鉴定出35个GPAT成员;理化性质分析表明,大多数蛋白属于碱性蛋白;亚细胞定位预测表明,Sa\_GPAT家族成员主要分布于内质网;空间结构预测显示,二级结构主要以 $\alpha$ 螺旋为主,三级结构较为稳定。系统发育树分析显示,该家族分为4个亚家族,其中组别4为特有亚家族,且与拟南芥GPAT家族不存在聚类关系。信号肽预测显示蒿叶猪毛菜GPAT家族成员中未存在信号肽,且跨膜结构分析表明蒿叶猪毛菜GPAT家族成员中约63%存在跨膜结构。表达模式分析表明,蒿叶猪毛菜GPATs呈现组织特异性表达,其中Sa\_GPAT003在幼苗中高度表达,结合幼苗干旱胁迫转录组结果发现多数Sa\_GPAT家族成员响应外界干旱胁迫,其中Sa\_GPAT032在干旱胁迫后表达量极显著升高。由此推测,蒿叶猪毛菜GPAT基因家族成员可能在抵抗干旱胁迫方面起着重要作用。

**关键词:** 蒿叶猪毛菜;GPAT基因家族;生物信息学;转录组

## Identification of GPAT Gene Family Members in *Salsola abrotanoides* and Their Expression Analysis under Drought Stress

DU Mingyang<sup>1</sup>, MA Jianzhi<sup>1</sup>, DUO Jiecuo<sup>2</sup>, LUO Tianrong<sup>1</sup>, XIONG Huiyan<sup>2</sup>, CHEN Yiting<sup>2</sup>, DUAN Ruijun<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>College of Eco-Environmental Engineering, Qinghai University, Xining 810000; <sup>2</sup>College of

Agriculture and Animal Husbandry, Qinghai University, Xining 810000)

**Abstract:** Based on the genome and transcriptome data of *Salsola abrotanoides*, we identified and analysed the GPAT gene family members of *Salsola abrotanoides* and explored their transcriptional patterns under drought stress treatment using bioinformatics and qRT-PCR methods. A total of 35 GPAT members, named Sa\_GPAT1-35, were identified by BLASTP comparison and HMM search, and most of them encoded to the basic proteins that were mainly localized to the endoplasmic reticulum using the bioinformatics prediction. Spatial structure prediction showed that the secondary structure of Sa\_GPAT protein was mainly dominated by  $\alpha$ -helix with stable tertiary structure. These family members were divided into four subfamilies, of which subfamily 4 of *Salsola abrotanoides* was unique and not found in other species such as *Arabidopsis*. No signal peptides were found by prediction, and approximately 63% of *Salsola abrotanoides* GPAT family members were predicted with transmembrane structure. Through real time fluorescence quantitative PCR analysis, the *Salsola abrotanoides* GPATs genes were detected showing tissue-specific transcriptional characteristics. Sa\_GPAT003 was highly expressed in seedlings. In conjugation with transcriptome results under drought stress treatment, most family

收稿日期: 2024-01-21 网络出版日期: 2024-08-14

URL: <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20240121003>

第一作者研究方向为高原植物驯化与生态适应研究, E-mail: 2501457943@qq.com

通信作者: 段瑞君, 研究方向为植物生理与分子生物学, E-mail: ruijunduan@163.com

基金项目: 青海省中央引导地方科技发展资金计划项目(2023ZY003); 2023年度青海省“昆仑英才·高端创新创业人才”计划项目

Foundation projects: Qinghai Province Central Guided Local Science and Technology Development Funding Scheme Project (2023ZY003);

Qinghai Province “Kunlun Talents - High-end Innovation and Entrepreneurial Talents” Programme in 2023)

members were found with changed profiles. *Sa\_GPAT032* showed significantly higher expression after drought stress treatment. The comprehensive analysis results suggest that GPAT gene family members may play an important role in drought stress response in *Salsola abrotanoides*.

**Key words:** *Salsola abrotanoides*; GPAT gene family; bioinformatics; transcriptome

甘油-3-磷酸酰基转移酶(GPAT, glycerol-3-phosphate acyltransferase)是三酰甘油(TAG, triacylglycerol)生物合成的核心酶<sup>[1]</sup>,以不同脂肪族酰基及其衍生物为底物,催化酰基从酰基辅酶A(Acylcoenzyme A, acyl-CoA)或酰基载体蛋白(Acyl-carrierprotein, acyl-ACP)向甘油-3-磷酸(G3P, glycerin-3-phosphate)的sn-1或sn-2位点转移,生成溶血磷脂酸(LPA, lysophosphatidic acid)<sup>[2]</sup>,而溶血磷脂酸则是膜脂、胞外聚酯、储存脂等甘油脂质的主要中间产物<sup>[3]</sup>。因此GPATs可分为两种类型,第一类是将酰基载体蛋白(acyl-ACP)或酰基从酰基辅酶A(acyl-CoA)向sn-1转移的sn-1型GPAT,第二类则是具有磷酸酶活性的sn-2型GPAT<sup>[4]</sup>。GPAT作为调控脂质生物合成代谢过程中的重要物质,在植物生长发育以及抵抗逆境胁迫过程中起到了重要作用<sup>[5]</sup>。

目前,已在多种植物中对GPAT基因家族进行了一系列的深入研究,包括拟南芥(*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.)<sup>[6-7]</sup>、水稻(*Oryza sativa* L.)<sup>[8]</sup>、大麦(*Hordeum vulgare* L.)<sup>[9]</sup>、蒺藜苜蓿(*Medicago truncatula* Gaertn.)<sup>[2]</sup>、玉米(*Zea mays* L.)<sup>[10]</sup>,证实GPAT家族在植物中普遍存在。其中,在模式植物拟南芥中共鉴定10个*AtGPATs*,根据亚细胞定位可分为3类:质体*ATSI*<sup>[11]</sup>、线粒体*AtGPAT1*~*AtGPAT3*<sup>[12]</sup>和内质网*AtGPAT4*~*AtGPAT9*<sup>[13]</sup>,其中质体*ATSI*在叶绿体中起到合成甘油脂的重要作用<sup>[14]</sup>,通过调节脂类代谢进而影响植株的生长发育及逆境抗性<sup>[15]</sup>;线粒体*AtGPAT1*基因的突变会影响花粉粒细胞内膜的形成,从而导致雄性不育<sup>[16]</sup>。

植物在整个生长过程中会面临众多胁迫,大体分为生物胁迫和非生物胁迫,其中非生物胁迫给植物带来的影响更为明显。低温、干旱和高盐等逆境是最主要的逆境因子,它可通过改变细胞膜的流动性,干扰细胞膜的生理功能,引起细胞的生理功能异常,进而影响植株的生长发育<sup>[17]</sup>。前期研究表明,GPAT在逆境条件下可引起叶绿体类囊体膜中磷脂酰甘油不饱和度的变化,并通过调控脂质结构,增加顺式不饱和脂肪酸的含量,以保证细胞膜的流动性与完整性<sup>[18]</sup>。甘蓝型油菜在干旱胁迫下能够促进和诱导叶片中*BnGPAT9*的表达来抵抗干旱胁迫带来的影

响<sup>[19]</sup>。花生中*AhGPAT1*、*AhGPAT6*、*AhGPAT8*以及*AhATSI*干旱胁迫后在根中的表达水平显著升高,以此增强抗旱能力<sup>[20]</sup>。

蒿叶猪毛菜(*Salsola abrotanoides* L.)属藜科猪毛菜属C<sub>3</sub>植物,是一种超旱生多汁盐柴类半灌木,广泛分布于青藏高原的山坡、山麓洪积扇及多岩石河滩等地,是青藏高原地区荒漠地带的主要优势物种<sup>[21]</sup>。因其对恶劣环境有良好的适应能力<sup>[22]</sup>,主要生长于荒漠区及一些极端干旱区,是高原山地荒漠植被的建群种或主要伴生种之一,在抵抗风沙、维持高原荒漠生态平衡等方面发挥着重要的作用。在该植物的生态应用中,因其抗逆性强,在干旱荒漠地区的植被恢复与重建、水土流失治理方面具有重要的应用价值。目前对蒿叶猪毛菜的关注及相关研究甚少,主要集中在蒿叶猪毛菜植物的地理分布、形态结构特征<sup>[23]</sup>及生理生化特征<sup>[24]</sup>等研究,但缺乏蒿叶猪毛菜在干旱胁迫下抗旱机制的相关研究。因此,本研究基于蒿叶猪毛菜幼苗干旱胁迫下的转录组数据,通过已知的拟南芥GPAT基因家族,对蒿叶猪毛菜GPAT基因家族成员进行鉴定,并对其家族成员进行了理化性质、亚细胞定位预测、二级和三级结构预测、系统发育等分析以及非生物胁迫下的表达情况分析,以期解析出高原逆境胁迫下蒿叶猪毛菜耐受的分子机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

2022年10月于青海省德令哈市阿力腾寺院(N 37°22'48", E 97°21'36")采摘蒿叶猪毛菜成熟叶片、茎以及新鲜种子,经室外晾晒干燥处理后获得试验所需种子,先用无菌水浸泡并置于4℃冰箱中春化24 h,然后使用5%次氯酸钠浸泡消毒10 min后,无菌水冲洗5~7次,最后接种到MS培养基中置于培养间培养,培养条件为:光照/黑暗18 h/6 h,光照强度为6000 Lx,温度22℃,相对湿度30%。萌发一周后,将幼苗转移到水培培养体系中,取一半幼苗于1/2霍格兰营养液中培养,以未添加PEG-6000的1/2霍格兰营养液处理的幼苗为对照组,其余一半幼苗移至用营养液配制的处理液(1.5% PEG-6000)中进行胁迫处理作为处理组。在处理3 d后

进行取样,收集所有幼苗后快速放入液氮中进行速冻,-80℃冰箱保存待用。取对照组和处理组的幼苗用于干旱胁迫转录组测序,每组3次生物学重复。

## 1.2 蒿叶猪毛菜 GPAT 基因家族成员鉴定

基于蒿叶猪毛菜的干旱胁迫转录组测序数据及其注释结果(未公布),以拟南芥 GPAT 基因家族成员的蛋白序列为对比序列,通过 BLASTP 比对和 HMM 搜索 2 种方法( $E\text{-value} \leq 1 \times 10^{-5}$ ),初步鉴定获得蒿叶猪毛菜的 GPAT 基因家族候选成员。然后采用 PFAM (<https://www.ebi.ac.uk/interpro/entry/pfam/>)、NCBI CDD (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/cdd/>) 和 SMART (<http://smart.embl.de/>) 数据库对候选的 GPAT 蛋白序列进行保守结构域分析,确保每个 GPAT 家族候选成员都具有 PlsC 酰基转移酶结构域(PF01553)。

## 1.3 蒿叶猪毛菜 GPAT 基因家族成员的信号肽、亚细胞定位、跨膜结构预测分析及理化性质

利用 ExPASy (<https://web.expasy.org/protparam/>) 分析蒿叶猪毛菜 GPAT 蛋白序列的氨基酸数目、分子量、等电点、不稳定指数和亲疏水性等理化性质;利用 SignalP-6.0 (<https://services.healthtech.dtu.dk/services/SignalP-6.0/>) 进行信号肽预测;Plant-mPLoc (<http://www.csbio.sjtu.edu.cn/bioinf/plant-multi/>) 进行亚细胞定位预测;TMHMM-2.0 (<https://services.healthtech.dtu.dk/services/TMHMM-2.0/>) 进行跨膜结构预测。

## 1.4 蒿叶猪毛菜 GPAT 基因家族成员的二级结构、三级结构预测

分别利用 Prabi ([https://npsaprabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa\\_automat.pl?page=npsa\\_sopma.html](https://npsaprabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=npsa_sopma.html)) 和 SWISS-MODEL (<https://swissmodel.expasy.org/interactive>) 进行二级结构和三级结构预测,并整理蒿叶猪毛菜 GPAT 基因家族成员三级结构预测图。

## 1.5 蒿叶猪毛菜 GPAT 基因家族成员的保守基序和系统发育分析

使用在线网站 MEME 5.5.4 (<https://meme-suite.org/meme/tools/meme>) 预测分析 GPAT 蛋白序列的保守基序,搜寻 motif 值设置为 20,结构域宽度设定为最小 6、最大 100,其他参数设置为默认值,最后通过 TBTools<sup>[25]</sup> 软件绘制出保守基序图。通过 MEGA 7<sup>[26]</sup> 软件中的 Clustal W 程序将拟南芥、蒿叶猪毛菜 GPAT 蛋白序列进行多序列比对分析,并通过邻接法(NJ, neighbour-joining)构建系统发育树,bootstrap=1000 以评价系统发育树的构建的可靠性。最后使用 Evolvie (<http://www.omicsclass.com/article/963>) 在线软件对进化树进行美化。

## 1.6 蒿叶猪毛菜 GPAT 基因家族成员表达水平分析

根据构建的系统发育树进行分类,从 4 个亚家族中随机选取 7 个蒿叶猪毛菜 GPATs (*Sa\_GPAT003*、*Sa\_GPAT007*、*Sa\_GPAT016*、*Sa\_GPAT023*、*Sa\_GPAT032*、*Sa\_GPAT034*、*Sa\_GPAT035*) 且保证每个亚家族至少存在 1 个基因,进行 qRT-PCR 实验。使用 TaKaRa 公司的多糖多酚植物总 RNA 提取试剂盒,从蒿叶猪毛菜正常幼苗、成年枝、成年叶以及干旱胁迫处理的幼苗中提取总 RNA,并通过 1% 的琼脂凝胶电泳及 Nanodrop 测定其 RNA 完整性和浓度。然后按照 FastKing gDNA Dispelling RT SuperMix 试剂盒(天根生化科技有限公司,北京)进行 cDNA 合成。使用 Primer 5 以及 NCBI 在线引物设计网站设计 qRT-PCR 引物,以 NGDC 数据库中近缘物种碱蓬(*Suaeda glauca*)的 *Tubulin* 为参考,选择蒿叶猪毛菜的 *SaTubulin* 作为内参基因(表 1)。使用 SuperReal PreMix Plus (SYBR Green) 荧光定量预混试剂盒(天根生化科技有限公司,北京)进行 qRT-PCR,反应体系为 20  $\mu\text{L}$ : cDNA 模板 1  $\mu\text{L}$ 、上下游引物各 0.6  $\mu\text{L}$  (10  $\mu\text{mol/L}$ )、2 $\times$ SuperReal Color PreMix 10  $\mu\text{L}$ 、ddH<sub>2</sub>O 7.8  $\mu\text{L}$ 。实时荧光定量反应程序为三步法: 95℃ 预变性 15 min; 95℃ 变性 10 s、60℃ 退火 20 s、72℃ 延伸 32 s,共 40 个循环。采用  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  法计算各基因在不同组织中的相对表达量,每个基因进行 3 个生

表 1 qRT-PCR 引物列表

Table 1 Primer sequences for qRT-PCR

引物名称 Primer name	引物序列(5'-3') Primer sequence(5'-3')	引物用途 Primer function
<i>SaTubulin</i> -F	CAACTGGCTTCAAATGTGGTATCA	内参基因
<i>SaTubulin</i> -R	ATCTTCACGGGCTTCAGAAAACTC	
<i>Sa_GPAT003</i> -F	TCGCATCATTGCTCCCTCCA	qRT-PCR
<i>Sa_GPAT003</i> -R	GGACCCAACCGCCATTATTT	
<i>Sa_GPAT007</i> -F	TGAGCTTGACTGCCCTGTTT	
<i>Sa_GPAT007</i> -R	TCGGCAAATTGAATGGGGGT	
<i>Sa_GPAT016</i> -F	CGGTAATAGGATGGTCAATG	
<i>Sa_GPAT016</i> -R	AGTGCCCTCAACAAACAGAG	
<i>Sa_GPAT023</i> -F	CACTGCCATAGTCGCCATCT	
<i>Sa_GPAT023</i> -R	TCCAATCCCTCAAATCCAC	
<i>Sa_GPAT032</i> -F	TTTCTCCATCATACCCATCT	
<i>Sa_GPAT032</i> -R	CCCTTATTACACTACCACCT	
<i>Sa_GPAT034</i> -F	CCTGTGGCTGTGGATTGTCA	
<i>Sa_GPAT034</i> -R	TATCTAGGGCGAGGGTTCAT	
<i>Sa_GPAT035</i> -F	GCTTCATCCTAGCCATCTGC	
<i>Sa_GPAT035</i> -R	TCCCACGTATCACGAGTTT	

物学重复,并对每次样本进行3次技术重复,用以检测目的基因的表达情况。最后使用软件 GraphPad Prism 8 进行分析并绘制基因表达柱状图。

## 2 结果与分析

### 2.1 蒿叶猪毛菜 GPAT 基因家族成员的鉴定与理化性质分析

基于蒿叶猪毛菜转录组数据,以拟南芥 GPAT 蛋白序列为查询序列,开展 BLASTP 比对和 HMM 搜索,共获得 45 个 GPAT 候选基因,经过结构域验证,最终在蒿叶猪毛菜中共筛选鉴定出 35 个 GPATs,分别命名为 *Sa\_GPAT001*~*Sa\_GPAT035*。利用 ExPASy 在线软件对蒿叶猪毛菜 GPATs 蛋白进行理化性质预测,预测结果见表 2。蒿叶猪毛菜 35 个 GPAT 基因家族成员之间的氨基酸数量以及其他理化性质差异较大,在 35 条 GPATs 蛋白序列中,蛋白氨基酸数量为 111 (*Sa\_GPAT025*)~1136 (*Sa\_GPAT005*)个,平均长度约为 298 个氨基酸残基;分子量在 11423.07 (*Sa\_GPAT024*)~129590.95 (*Sa\_GPAT005*)Da 之间,平均分子量为 33915.67;等电点在 7.01 (*Sa\_GPAT006*)~10.27 (*Sa\_GPAT011*)之间,其中 3 个蛋白 (*Sa\_GPAT002*、*Sa\_GPAT006*、*Sa\_GPAT033*)的等电点分别为 7.15、7.01、7.91,为酸性蛋白,但绝大多数蛋白(91.4%)的 pI 都大于 8,说明大多数蒿叶猪毛菜 GPATs 蛋白富含碱性氨基酸,属于碱性蛋白。不稳定系数范围在 23.46 (*Sa\_GPAT021*)~62.14 (*Sa\_GPAT004*)之间,13 个蛋白 (*Sa\_GPAT003*、*Sa\_GPAT004*、*Sa\_GPAT007*、*Sa\_GPAT010*、*Sa\_GPAT011*、*Sa\_GPAT013*、*Sa\_GPAT016*、*Sa\_GPAT017*、*Sa\_GPAT020*、*Sa\_GPAT023*、*Sa\_GPAT026*、*Sa\_GPAT029*、*Sa\_GPAT032*)为不稳定蛋白(不稳定系数 > 40),其余 22 个蛋白均为稳定蛋白。GPATs 家族成员的脂溶性指数介于 78.87 (*Sa\_GPAT030*)~116.86 (*Sa\_GPAT013*)之间,16 个蛋白的亲水性平均系数小于 0,为亲水性蛋白,其余蛋白为疏水性蛋白。

### 2.2 蒿叶猪毛菜 GPAT 基因家族成员系统发育分析

为深入解析蒿叶猪毛菜 GPAT 基因家族蛋白之间的进化关系,使用 MEGA 7 邻接法构建蒿叶猪毛菜(35 个)与拟南芥(10 个)GPAT 蛋白的系统发育树。如图 1 所示,以模式植物拟南芥的蛋白家族为分类基准,将 35 个 GPATs 蛋白分为组别 1(5 个)、组别 2(8 个)、组别 3(9 个)、组别 4(13 个),其中组别 1 对应拟南芥 *AtGPAT1*~*AtGPAT8*,组别 2 对应拟南芥的 *AtGPAT9*,组别 3 对应拟南芥的 *ATS1*。此外,组别 4 中 *Sa\_GPAT023* 和 *Sa\_GPAT029* 各聚为一类,

其余 11 个成员单独聚为一类,且组别 4 未与拟南芥 GPAT 家族成员存在聚类关系。

### 2.3 蒿叶猪毛菜 GPAT 基因家族成员亚细胞定位、跨膜结构及信号肽分析

跨膜结构预测显示 13 个蛋白(约占 37%)不存在跨膜结构且大多属于组别 3,其余 22 个蛋白(约占 63%)均存在 1~3 个跨膜结构。家族成员信号肽指数皆小于 0.5,且大部分为 0,表明蒿叶猪毛菜 GPAT 家族成员中不含有信号肽。亚细胞定位表明,GPATs 家族成员主要分布于细胞膜、线粒体、内质网、叶绿体以及高尔基体上,其中 2 个蛋白定位于叶绿体,11 个蛋白定位于线粒体上,其余定位于内质网、细胞膜、高尔基体上(表 2)。

### 2.4 蒿叶猪毛菜 GPAT 基因家族成员结构分析

利用 Prabi 在线软件对蒿叶猪毛菜 GPAT 家族成员进行二级结构预测(表 2),结果显示 GPATs 蛋白的二级结构均由  $\alpha$  螺旋、 $\beta$  折叠、无规则卷曲、延长链组成,其所占比例平均值分别为 39.74%、5.11%、36.36%、18.79%。且在所有 GPATs 蛋白中,除 13 个蛋白 (*Sa\_GPAT009*、*Sa\_GPAT011*、*Sa\_GPAT014*、*Sa\_GPAT019*、*Sa\_GPAT022*、*Sa\_GPAT023*、*Sa\_GPAT024*、*Sa\_GPAT026*、*Sa\_GPAT027*、*Sa\_GPAT029*、*Sa\_GPAT030*、*Sa\_GPAT033*、*Sa\_GPAT034*)外, $\alpha$  螺旋占比均大于无规则卷曲。使用 SWISS-MODEL 软件对蒿叶猪毛菜 GPAT 家族成员进行三级结构预测,表 2 和图 2 表明蒿叶猪毛菜 GPAT 家族 35 个蛋白共有 22 种三级结构模型,其中模型 5kym.1.A 占比最高(31.4%);其中 20 个蛋白建模氨基酸比例均高于 90%;序列同源性除 *Sa\_GPAT016* 蛋白外均高于 70%;并且主要以 1-酰基-sn-甘油-3-磷酸酰基转移酶结构(54%)模型为主,如图 2 中 *Sa\_GPAT008*。此外,通过观察对比表 2、图 2 发现这 35 个 GPAT 蛋白质都由较多的  $\alpha$  螺旋和无规则卷曲构成,各 GPAT 亚家族均具有典型的 PlsC 结构且属于  $\alpha$  型结构域,这与二级结构的预测结果一致,但各个蛋白质的三级结构的氨基端和羧基端部分却含有不同的磷酸化位点,如组别 1 中氨基端和羧基端部分的主要磷酸位点为亮氨酸;组别 2 中氨基端的磷酸位点主要为丝氨酸,羧基端的磷酸位点为甘氨酸;组别 3 中氨基端的磷酸位点主要为异亮氨酸,羧基端的磷酸位点为甘氨酸;组别 4 中氨基端的磷酸位点主要为脯氨酸,羧基端的磷酸位点为亮氨酸,氨基酸残基的不同,可能会引起蛋白三维空间结构的不同,故组别 1~4 的蛋白质空间结构相似性并不高,但因蛋白结构的差异使得不同的亚家族成员具有不同的功能。

表 2 蒿叶猪毛菜 GPAT 基因家族成员理化性质、亚细胞定位、信号肽、二级和三级结构分析

Table 2 Physicochemical characteristics, subcellular localization, signal peptide, secondary and tertiary structure analysis of GPAT gene family members of *Salsola arbuscula*

蛋白 Protein	氨基酸数量 Number of amino acids	分子量 (Da) Molecular weight	等电点 pI	不稳定 系数 Instability index	亲脂 系数 Aliphatic index	亲水性 平均系数 GRAVY	亚细胞 定位 Subcellular location	跨膜结构 Transmembrane structure	信号肽 Signal peptide	$\alpha$ 螺旋(%) Alpha helix	$\beta$ 折叠(%) Beta turn	无规则 卷曲(%) Random coil	延长链 (%) Extended strand	模型及序列同源性(%) Model and sequence homology
Sa_GPAT001	267	29419.72	10.18	37.00	106.63	0.251	细胞膜, 线粒体	2	0	43.45	5.62	32.58	18.35	A0A0F7RXP5.1.A (83.15%)
Sa_GPAT002	233	26217.49	7.15	33.50	112.58	0.191	内质网	1	0.0004	32.19	9.01	30.90	27.90	B9SAC8.1.A (73.16%)
Sa_GPAT003	476	53538.22	9.52	49.21	87.23	-0.301	内质网	0	0	53.36	5.88	31.72	9.03	A0A0K9QUJ4.1.A (80.08%)
Sa_GPAT004	162	18159.21	8.48	62.14	114.88	0.132	线粒体	0	0.0010	38.27	9.88	31.48	20.37	A0A316UHQ7.1.A (79.63%)
Sa_GPAT005	1136	129590.95	8.95	36.08	98.90	-0.106	叶绿体	0	0	53.35	4.05	29.31	13.29	8e4y.1.A (27.06%)
Sa_GPAT006	130	15174.57	7.01	38.37	93.00	-0.028	线粒体	0	0	41.54	9.23	33.08	16.15	8e4y.1.A (38.58%)
Sa_GPAT007	381	44020.24	8.52	47.83	91.31	-0.069	内质网	3	0	45.93	3.94	35.17	14.96	R0GQV7.1.A (82.13%)
Sa_GPAT008	333	38805.47	9.60	36.19	98.32	-0.054	内质网	2	0	48.35	3.00	33.63	15.02	5kym.1.A (30.08%)
Sa_GPAT009	175	19481.80	9.92	32.72	96.97	0.014	内质网	0	0.0101	30.29	4.57	41.71	23.43	5kym.1.A (23.18%)
Sa_GPAT010	191	22476.86	9.45	43.19	116.44	0.329	内质网	2	0	40.84	2.62	36.65	19.90	C6T7V7.1.A (73.82%)
Sa_GPAT011	145	16686.48	10.27	41.86	86.00	-0.105	内质网	0	0.0059	31.03	5.52	41.38	22.07	7zkq.1.E (36.23%)
Sa_GPAT012	419	47641.07	9.23	33.31	94.25	-0.132	细胞膜, 线粒体	1	0.0005	42.00	3.10	40.10	14.80	5kym.1.A (26.01%)
Sa_GPAT013	185	21634.80	9.41	43.26	116.86	0.365	内质网	2	0	49.19	3.24	29.73	17.84	A0A6A3A2Q3.1.A (76.76%)
Sa_GPAT014	254	28613.51	9.86	26.95	101.22	0.144	内质网	1	0	36.61	1.97	40.16	21.26	5kym.1.A (27.91%)
Sa_GPAT015	151	17295.18	9.42	30.76	91.13	-0.103	内质网	1	0	45.03	4.64	33.11	17.22	5kym.1.A (30.83%)
Sa_GPAT016	321	36515.91	9.48	42.95	99.00	0.108	内质网	1	0	47.04	4.36	30.84	17.76	11JG72.1.A (83.01%)
Sa_GPAT017	286	32986.02	9.03	44.25	112.41	0.244	内质网	1	0	51.40	3.85	28.67	16.08	A0A2Z6MWG6.1.A (70.88%)
Sa_GPAT018	396	45340.54	9.43	27.05	91.57	-0.107	内质网	3	0	47.98	3.54	34.60	13.89	5kym.2.A (19.21%)
Sa_GPAT019	162	18227.07	8.86	30.47	87.16	0.078	内质网, 高尔基体	0	0	30.25	3.09	39.51	27.16	5kym.2.A (24.24%)

表 2 ( 续 )

蛋白 Protein	氨基酸数量 Number of amino acids	分子量 (Da) Molecular weight	等电点 pI	不稳定 系数 Instability index	亲脂 系数 Aliphatic index	亲水性 平均系数 GRAVY	亚细胞 定位 Subcellular location	跨膜结构 Transmembrane structure	信号肽 Signal peptide	$\alpha$ 螺旋(%) Alpha helix	$\beta$ 折叠(%) Beta turn	无规则 卷曲(%) Random coil	延长链 (%) Extended strand	模型及序列同源性(%) Model and sequence homology
Sa_GPAT020	348	41264.33	9.34	44.48	93.85	-0.064	内质网, 高尔基体	2	0	51.15	3.16	31.90	13.79	8e4y.1.A (19.84%)
Sa_GPAT021	210	24418.25	9.84	23.46	100.24	0.200	内质网	1	0	51.43	6.67	27.14	14.76	5kym.1.A (28.81%)
Sa_GPAT022	145	16766.56	9.78	33.42	90.00	-0.234	内质网	1	0	33.10	4.14	35.17	27.59	5kym.1.A (19.09%)
Sa_GPAT023	259	29351.65	9.80	50.96	106.49	0.358	叶绿体	3	0	28.57	5.41	38.61	27.41	A0A0K9RBY9.1.A (74.89%)
Sa_GPAT024	103	11423.07	9.91	36.41	83.20	-0.335	内质网	0	0	15.53	8.74	45.63	30.10	5kym.1.A (30.30%)
Sa_GPAT025	111	12243.39	9.75	26.58	100.18	-0.017	内质网	0	0	44.14	5.41	33.33	17.12	5kym.1.A (24.21%)
Sa_GPAT026	224	25184.44	9.03	42.36	98.35	-0.013	内质网	0	0	34.82	5.36	42.86	16.96	A0A068UH70.1.A (74.16%)
Sa_GPAT027	203	22080.64	8.23	28.46	80.25	0.032	内质网	0	0	31.03	2.96	49.75	16.26	5kym.1.A (21.74%)
Sa_GPAT028	463	52203.22	9.12	30.10	95.51	0.162	内质网, 线粒体	2	0.0095	38.88	5.62	34.34	21.17	A0A803KN11.1.A (72.53%)
Sa_GPAT029	272	31060.03	8.86	42.16	93.86	0.048	内质网	2	0	27.57	5.15	48.53	18.75	A0A4U5QZR5.1.A (71.95%)
Sa_GPAT030	142	16428.01	8.63	29.63	78.87	-0.258	线粒体	0	0	33.10	8.45	42.25	16.20	5kym.1.A (17.92%)
Sa_GPAT031	501	55652.08	9.27	34.79	98.98	0.155	内质网, 线粒体	2	0	40.52	5.39	35.13	18.96	Q9CAY3.1.A (71.87%)
Sa_GPAT032	573	64950.10	9.25	44.81	94.19	0.031	线粒体	2	0.0010	38.22	5.93	38.05	17.80	A0A5J4ZZA4.1.A (70.40%)
Sa_GPAT033	124	13510.58	7.91	34.31	81.77	-0.181	线粒体	0	0	34.68	5.65	41.94	17.74	A0A066VZM6.1.A (72.73%)
Sa_GPAT034	532	60408.84	8.59	36.25	98.89	0.119	内质网, 线粒体	2	0	38.53	4.32	38.72	18.42	A0A803LF07.1.A (80.99%)
Sa_GPAT035	428	48278.04	9.20	36.62	101.61	0.116	线粒体	2	0.0001	41.59	5.37	35.05	17.99	A0A803KZA9.1.A (85.65%)

GRAVY : Grand average of hydropathicity

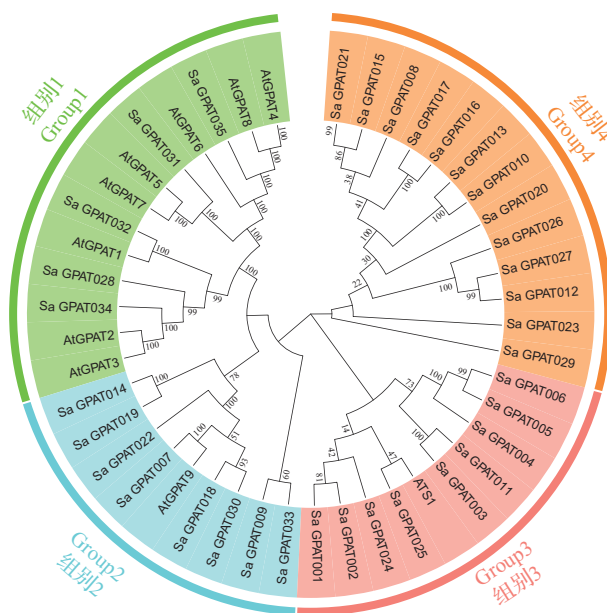


图 1 蒿叶猪毛菜与拟南芥 GPAT 基因家族成员的系统发育树

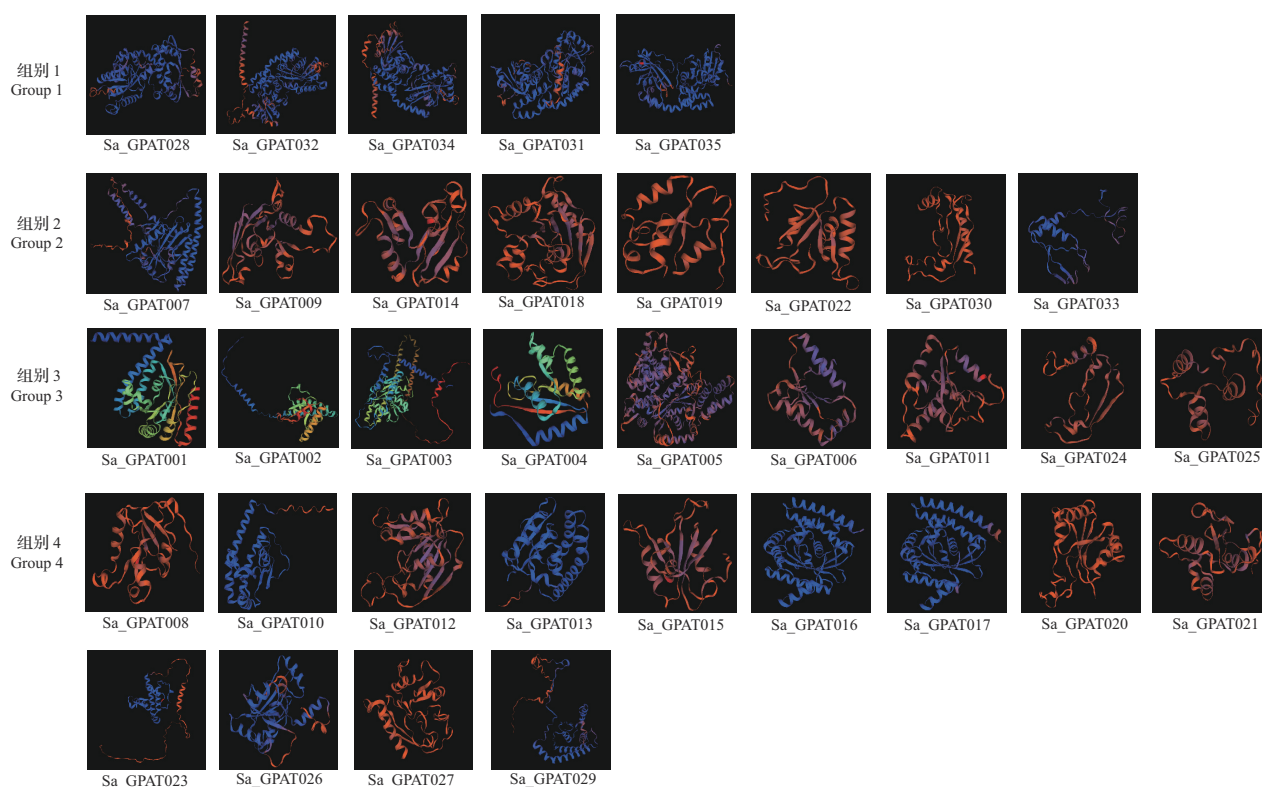
Fig. 1 Phylogenetic tree of GPAT gene family members of *Salsola abrotanoides* and *Arabidopsis*

图 2 蒿叶猪毛菜 GPAT 基因家族成员三级结构预测

Fig. 2 The tertiary structure prediction of GPAT gene family members of *Salsola abrotanoides*

## 2.5 蒿叶猪毛菜 GPAT 基因家族成员保守基序分析

使用 MEME 在线预测 GPAT 蛋白的保守基序构成 (图 3), 结果表明蒿叶猪毛菜 GPAT 蛋白序列的基序组成数量为 1 (Sa\_GPAT024)~9 (Sa\_GPAT032), 甘油-3-磷酸酰基转移酶保守结构域主要由 Motif 2

组成。35 个 GPAT 成员可大致分为 4 组 (I、II、III、IV), 与聚类树分类基本一致。同一分组的大多数成员具有相似的 Motif 组成, 其中最保守的基序是 Motif 2, 共有 24 个 GPATs 蛋白包含该基序, 占比 69%, 组别 4 成员大多存在 Motif 2, 推测 GPATs 蛋白在功能上可

能存在一定的相似性。同一类的大多数 GPAT 蛋白含有一些特有的 Motif, 比如 Motif 3、Motif 5 为组别

3 特有, Motif 1 为组别 4 特有。同时同一分类成员的 Motif 组成相似, 说明具有相似的生物学功能。

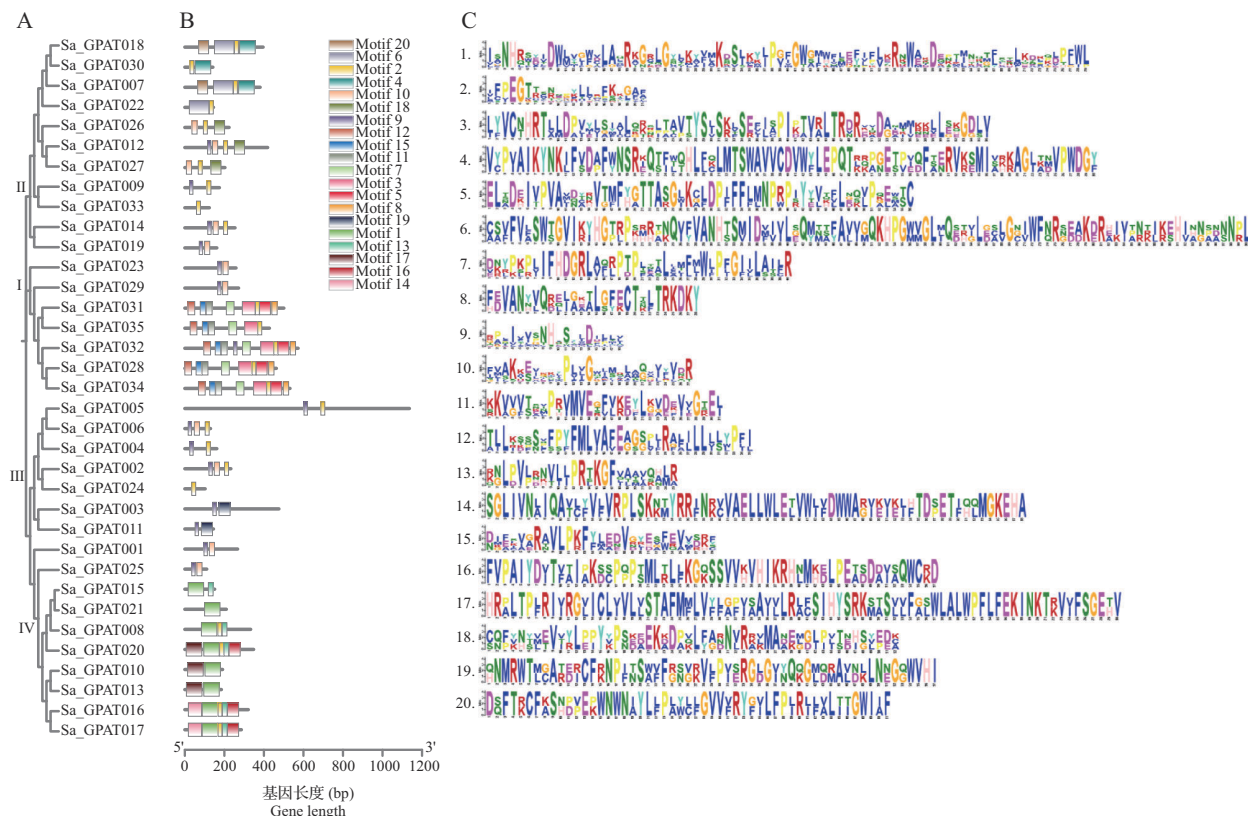


图 B 中不同颜色区块表示不同的保守基序; 图 C 中字母的相对大小表示其在序列中出现的频率, 且字母越高, 该位点的保守性越好  
Different coloured blocks in figure B indicate different conserved motifs; The relative size of the letters in figure C indicates how often they appear in the sequence, and the higher the letters, the better the conservation of the locus

图 3 蒿叶猪毛菜 GPAT 基因家族成员的系统发育树 (A)、蛋白质保守基序 (B) 及其序列预测图 (C)

Fig. 3 The phylogenesis (A), conserved motifs (B) and conserved motif sequence (C) analysis of GPAT gene family members of *Salsola abrotanoides*

## 2.6 蒿叶猪毛菜 GPAT 基因家族成员组织表达分析

为了分析蒿叶猪毛菜中各 GPAT 家族成员在不同组织的表达情况, 基于系统发育树分析结果, 从 4 个亚家族中随机挑选 7 个基因, 且保证每个亚家族至少存在一个基因, 进行 qRT-PCR 验证并计算各基因在不同组织中的相对表达量 (图 4)。组织表达结果分析显示, 蒿叶猪毛菜 GPAT 成员在各个不同的组织部位都有其特异性的表达情况。首先与拟南芥 *AT1* 同源的 *Sa\_GPAT003* 在幼苗中的表达量最高, 其次是未与拟南芥 GPAT 家族成员存在聚类关系的 *Sa\_GPAT023* 在幼苗中表达量较高, 意味着 *Sa\_GPAT003*、*Sa\_GPAT016* 基因在蒿叶猪毛菜的早期发育中起着重要作用。而其他 4 条 GPAT 在不同组织的表达量较低甚至不表达, 但不同组织间仍有较强的特异性。

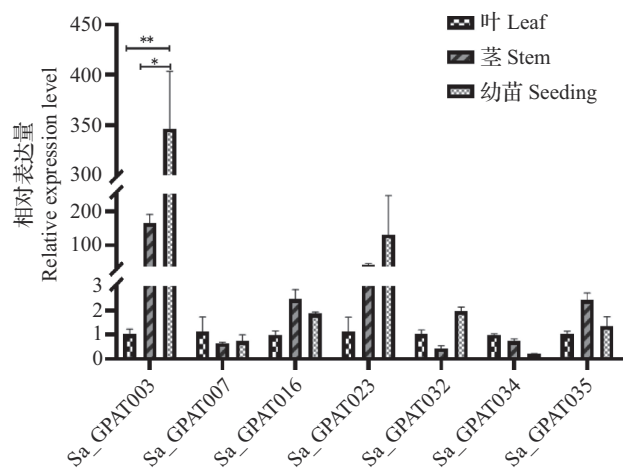
## 2.7 蒿叶猪毛菜 GPAT 基因家族成员在干旱胁迫下的表达模式分析

为进一步探究蒿叶猪毛菜在干旱胁迫条件下

的生物学功能, 对蒿叶猪毛菜 35 个 GPATs 在干旱胁迫下的表达情况进行了分析。差异基因的筛选条件为  $|\log_2 \text{Fold Change}| \geq 1$ , 且错误发现率  $\text{FDR} < 0.05$ , 结果如转录组热图 (图 5) 所示, 在干旱胁迫处理后, 16 个 GPATs 下调, 19 个 GPATs 上调, 且均为差异表达基因, 表明 GPATs 可能在蒿叶猪毛菜响应高原干旱胁迫方面起着重要作用。

## 2.8 蒿叶猪毛菜 *Sa\_GPATs* 基因 qRT-PCR 验证分析

本研究从蒿叶猪毛菜 GPAT 家族成员中随机挑选 7 个基因 (*Sa\_GPAT003*, *Sa\_GPAT007*, *Sa\_GPAT016*, *Sa\_GPAT023*, *Sa\_GPAT032*, *Sa\_GPAT034*, *Sa\_GPAT035*), 通过 qRT-PCR 技术验证分析了干旱胁迫下这 7 个基因的差异表达变化。实验结果表明, 对照组和处理组的 7 个基因在干旱胁迫处理下的表达量均具有一定的差异性。由图 6 可知, 所选 7 个基因在干旱胁迫处理下均呈不同程度上调表达趋势, 且与转录组数据结果一致。



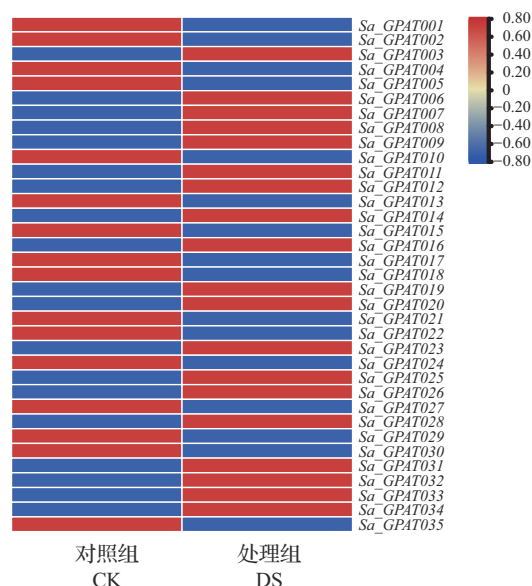
\*和\*\*分别代表不同处理组相较于对照组在  $P < 0.05$  和  $P < 0.01$  水平下存在显著性差异;下同

\* and \*\* represent significant differences between different treatment groups at the levels of  $P < 0.05$  and  $P < 0.01$ , respectively;

The same as below

图4 蒿叶猪毛菜 GPATs 基因在不同组织中的表达情况

Fig.4 Expression of GPATs genes in different tissues of *Salsola abrotanoides*



CK: Control; DS: Drought stress; The same as below

图5 蒿叶猪毛菜 GPATs 基因在干旱胁迫下的表达模式

Fig.5 Expression patterns of GPATs genes under drought stress of *Salsola abrotanoides*

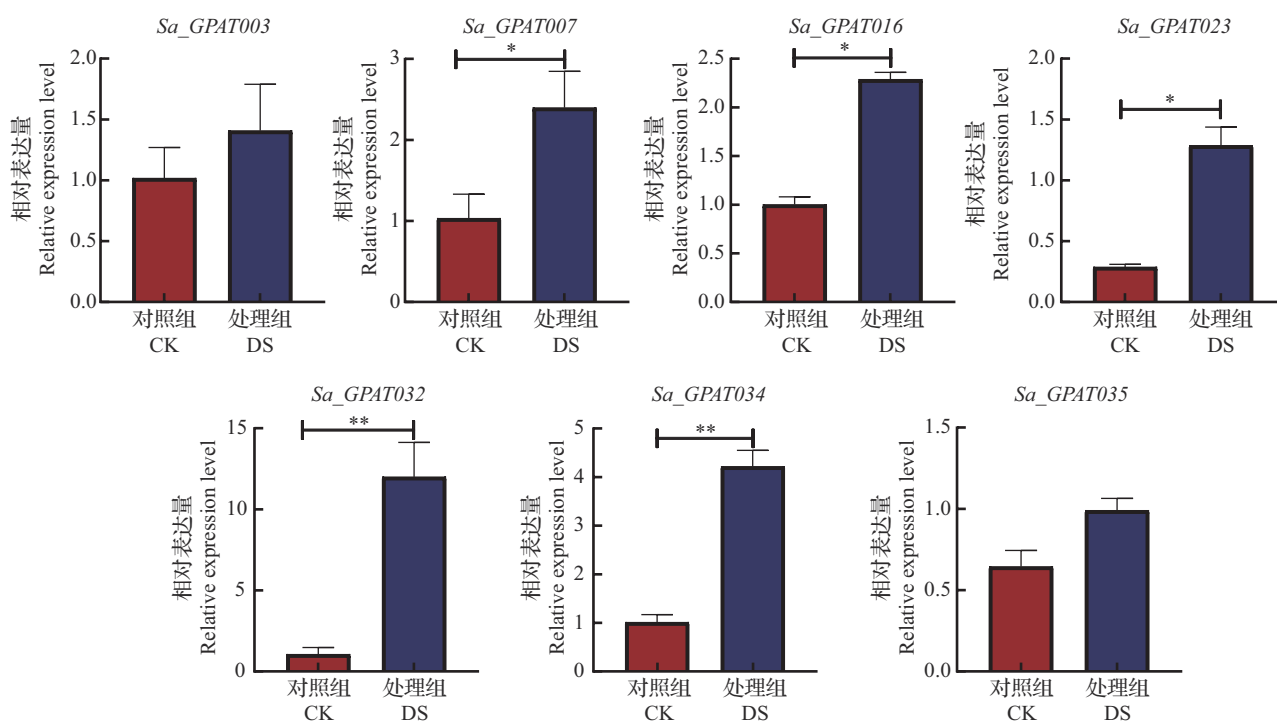


图6 干旱胁迫处理下蒿叶猪毛菜 7 个 *Sa\_GPATs* 基因的 qRT-PCR 分析

Fig.6 qRT-PCR analysis of 7 *Sa\_GPATs* genes in *Salsola abrotanoides* under drought stress treatment

### 3 讨论

甘油-3-磷酸酰基转移酶是三酰甘油生物合成的限速酶,催化酰基从酰基辅酶 A (acyl-CoA) 或酰基载体蛋白 (acyl-ACP) 向甘油-3-磷酸 (G3P) 的 sn-1 或 sn-2 位点转移,生成溶血磷脂酸 (LPA) [2]。已有

研究表明,GPAT 不仅是植物生长发育、脂质合成等过程的关键物质,还是植物体应答逆境胁迫的重要物质 [27]。迄今为止已经在众多植物中发现 GPATs,但在不同的植物体内其数量存在一定的差异性,如目前已在拟南芥中鉴定出 10 个 GPAT 基因家族成员 [19]、毛竹中鉴定出 16 个 GPAT 基因家族成员 [28]、

椰子中鉴定出 14 个 GPAT 基因家族成员<sup>[29]</sup>、紫花苜蓿中鉴定出 73 个 GPAT 家族成员<sup>[30]</sup>。在本研究中基于蒿叶猪毛菜转录组数据,共鉴定出 35 个 GPAT 成员,数量较多,推测可能与蒿叶猪毛菜为多倍体有关。

系统发育树分析表明,以模式植物拟南芥的蛋白家族为分类基准,35 个 Sa\_GPAT 蛋白共划分为 4 个亚家族。其中组别 1 含有 5 个 Sa\_GPAT 成员,对应拟南芥 AtGPAT1~AtGPAT8。研究表明 AtGPAT1-8 可能会在拟南芥<sup>[31]</sup>、水稻<sup>[8]</sup>细胞外脂质如几丁质生物合成过程中起重要作用,由此推测组别 1 成员可能具有相似的生物学功能;组别 2 含有 8 个 Sa\_GPAT 成员,对应拟南芥的 AtGPAT9,其中 Sa\_GPAT007 与 AtGPAT9 亲缘关系最近,由于 AtGPAT9 基因序列高度保守,推测其与蒿叶猪毛菜中三酰甘油含量以及脂肪酸合成有关<sup>[32]</sup>。组别 3 对应拟南芥的质体型 AT5G10330,含有 9 个 Sa\_GPAT 成员,其中 Sa\_GPAT025 与 AT5G10330 进化距离较近,拟南芥 AT5G10330 酶以及椰子 CnGPAT6 酶都是可溶性质体 GPAT 酶,在其植物体的叶绿体膜脂的合成代谢过程中起着重要作用<sup>[33]</sup>,进而推测 Sa\_GPAT025 也是质体型基因。另外,组别 4 中 Sa\_GPAT023、Sa\_GPAT029 各聚为一类,其余 11 个成员单独聚为一类,推测这可能与蒿叶猪毛菜物种特异性有关。

保守基序分析发现,蒿叶猪毛菜 GPAT 成员与聚类树分类基本一致,可大致分为 4 组(I、II、III、IV),且基于同一分组的大多数 GPAT 成员具有相似的 Motif 组成,有学者已经对拟南芥和玉米中 GPAT 蛋白进行序列保守基序分析,发现 ZmGPAT13 蛋白与部分 GPAT 家族蛋白均含有排序相同的保守 Motif,由此可推测出 GPAT 家族成员不仅在序列进化上具有很强的保守性,还在功能上可能存在一定的相似性<sup>[34]</sup>。

已有学者发现大豆 GmGPAT9-2 基因在其叶中显著表达,且在油脂积累过程中起主要作用<sup>[35]</sup>,在拟南芥中过表达 AhGPAT9,发现其在抽薹期的茎、茎生叶以及成熟胚中表达,推测其在花生种子发育、植株生长过程中发挥重要作用<sup>[36]</sup>。在本研究中,不同组织的表达模式分析显示,拟南芥 AT5G10330 同源的 Sa\_GPAT003 在幼苗中的表达量最高,其次是未与拟南芥 GPAT 家族成员存在聚类关系的 Sa\_GPAT023,这表明 Sa\_GPAT003、Sa\_GPAT016 在蒿叶猪毛菜的早期发育中起着重要作用。

已有研究提出,植物体内 GPAT 家族成员在各

种抗逆过程中起着关键作用,椰子 CnGPAT4 在胚愈伤组织中高度表达,在组织损伤修复过程起重要作用<sup>[29]</sup>;油菜 HaGPAT1 不仅参与花器官的发育还在耐旱、耐盐过程中发挥重要作用<sup>[37]</sup>;玉米 ZmGPAT13 在干旱胁迫前后存在显著的表达差异,推测其在耐旱过程中发挥作用<sup>[38]</sup>。本研究通过干旱胁迫表达分析发现,与 AT5G10330 进化距离较近的 Sa\_GPAT025 在干旱胁迫后表达量上调,由此可推测 Sa\_GPAT025 可能是蒿叶猪毛菜响应干旱胁迫的特异基因,而拟南芥 AtAT5G10330 在烟草幼苗中过表达可提高其对冷胁迫的耐受性<sup>[39]</sup>,这表明植物的质体型 GPAT 在多种逆境胁迫下均发挥作用。

## 参考文献

- [1] 尹航,袁岚瑛,俞凯,章丽,石慧,王何瑜,龚一富.三角褐指藻 GPAT 生物信息学及表达差异分析.核农学报,2019,33(8):1483-1489  
Yin H, Yuan L Y, Yu K, Zhang L, Shi H, Wang H Y, Gong Y F. Bioinformatics and expression differences of GPAT in *Phaeodactylum tricornutum*. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2019, 33(8): 1483-1489
- [2] 杨成兰,段瑞君,武雄雄,祁存英,马银花,熊辉岩.藜蓼苜蓿 GPAT 基因家族的全基因组鉴定序列变异和表达分析.草业科学,2021,38(10):1966-1974  
Yang C L, Duan R J, Wu X X, Qi C Y, Ma Y H, Xiong H Y. Genome-wide identification, sequence variation, and expression of the GPAT gene family in *Medicago truncatula*. Pratacultural Science, 2021, 38(10): 1966-1974
- [3] 张楠,徐荣华,刘小焯,刘爱忠.小桐子甘油-3-磷酸酰基转移酶(JcGPAT) cDNA 的克隆与序列分析.植物生理学报,2011,47(2):181-188  
Zhang N, Xu R H, Liu X Z, Liu A Z. Cloning and sequence analysis of sn-glycerol-3-phosphate acyltransferase gene (JcGPAT) from *Jatropha curcas* L.. Plant Physiology Journal, 2011, 47(2): 181-188
- [4] Yang W, Simpson J P, Li-beisson Y, Beisson F, Pollard M, Ohlrogge J B. A land-plant specific glycerol-3-phosphate acyltransferase family in *Arabidopsis*: Substrate specificity, sn-2 preference, and evolution. Plant Physiology, 2012, 160(2): 638-652
- [5] Wang J, Singh S K, Geng S, Zhang S, Yuan L. Genome-wide analysis of glycerol-3-phosphate-o-acyltransferase gene family and functional characterization of two cutin group GPATs in *Brassica napus*. Planta, 2020, 251 (4): 93
- [6] 刘聪,肖旦望,施春霖,胡学芳,邬克彬,官春云,熊兴华.植物 GPATs 基因研究进展.遗传,2013,35(12):1352-1359  
Liu C, Xiao D W, Shi C L, Hu X F, Wu K B, Guan C Y, Xiong X H. sn-glycerol-3-phosphate acyltransferases (GPATs) in plants. Hereditas. 2013, 35(12): 1352-1359

- [7] Waschburger E, Kulcheski F R, Veto N M, Margis R, Margis-Pinheiro M, Turchetto-Zolet A C. Genome-wide analysis of the glycerol-3-phosphate acyltransferase (GPAT) gene family reveals the evolution and diversification of plant GPATs. *Genetics and Molecular Biology*, 2018, 41 (suppl 1): 355-370
- [8] Men X, Shi J, Liang W, Zhang Q, Lian G, Quan S, Zhu L, Luo Z, Chen M, Zhang D. Glycerol-3-phosphate acyltransferase 3 (OsGPAT3) is required for anther development and male fertility in rice. *Journal of Experimental Botany*, 2017, 68 (3): 513-526
- [9] 杨成兰, 武雄雄, 祁存英, 马银花, 熊辉岩, 段瑞君. 大麦 GPAT 基因家族在环境抗逆中的功能分析//中国作物学会. 第十九届中国作物学会学术年会论文摘要集. 武汉: 华中农业大学, 2020: 205  
Yang C L, Wu X X, Qi C Y, Ma Y H, Xiong H Y, Duan R J. Functional analysis of the barley GPAT gene family in environmental stress tolerance //The Crop Science Society of China. Abstracts of the 19th annual conference of the crop society of China. WuHan: Huazhong Agricultural University, 2020: 205
- [10] Zhang L, Luo H, Zhao Y, Chen X, Huang Y, Yan S, Li S, Liu M, Huang W, Zhang X, Jin W. Maize male sterile 33 encodes a putative glycerol-3-phosphate acyltransferase that mediates anther cuticle formation and microspore development. *BMC Plant Biology*, 2018, 18 (1): 318
- [11] Nishida I, Tasaka Y, Shiraiishi H, Murata N. The gene and the RNA for the precursor to the plastid-located glycerol-3-phosphate acyltransferase of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Molecular Biology*, 1993, 21(2): 267-277
- [12] Zheng Z, Xia Q, Dauk M, Shen W, Selvaraj G, Zou J. *Arabidopsis AtGPAT1*, a member of the membrane-bound glycerol-3-phosphate acyltransferase gene family, is essential for tapetum differentiation and male fertility. *Plant Cell*, 2003, 15(8): 1872-1887
- [13] Chen X, Snyder C L, Truksa M, Shah S, Weslake R J. sn-Glycerol-3-phosphate acyltransferases in plants. *Plant Signal & Behavior*, 2011, 6(11): 1695-1699
- [14] Ohlrogge J, Browse J. Lipid biosynthesis. *The Plant Cell*. 1995, 7(7): 957-970
- [15] Zhu T, Wu S, Zhang D, Li Z, Xie K, An X, Ma B, Hou Q, Dong Z, Tian Y, Li J, Wan X. Genome-wide analysis of maize GPAT gene family and cytological characterization and breeding application of *ZmMs33/ZmGPAT6* gene. *Theoretical and Applied Genetics*, 2019, 132 (7): 2137-2154
- [16] 韩妮莎, 丁硕, 郑月萍, 魏琳燕, 柯星星, 刘宏波, 刘娟, 郑志富. 植物甘油酯合成途径第一步酰化反应的研究进展. *中国油料作物学报*, 2022, 44(4): 699-711  
Han N S, Ding S, Zheng Y P, Wei L Y, Ke X X, Liu H B, Liu J, Zheng Z F. Advance in studies on the initial step of the glycerolipid biosynthetic pathway in plants. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 2022, 44(4): 699-711
- [17] Safder I, Shao G N, Sheng Z H, Hu P S, Tang S Q. Identification and analysis of the structure, expression and nucleotide polymorphism of the GPAT gene family in rice. *Plant Gene*, 2021, (45) 3: 447-454
- [18] Xue M, Guo T, Ren M, Wang Z, Tang K, Zhang W, Wang M. Constitutive expression of chloroplast glycerol-3-phosphate acyltransferase from *Ammopiptanthus mongolicus* enhances unsaturation of chloroplast lipids and tolerance to chilling, freezing and oxidative stress in transgenic *Arabidopsis*. *Plant Physiology Biochemistry*, 2019, 143: 375-387
- [19] 邢蔓. 甘蓝型油菜 *BnGPAT9* 基因的克隆与表达分析. 长沙: 湖南农业大学, 2018  
Xing M. Cloning and expression analysis of *BnGPAT9* gene from *Brassica napus*. Changsha: Hunan Agricultural University, 2018
- [20] Chi X, Yang Q, Pan L, Chen N, Wang T, Wang M, Yang Z, Guan X, Yu S. Isolation and expression analysis of glycerol-3-phosphate acyltransferase genes from peanuts (*Arachis hypogaea* L.). *Grasas Y Aceites*, 2015, 66, 093
- [21] 谢玲娟, 叶楚玉, 沈恩惠. 植物基因组测序研究进展. *植物科学学报*, 2021, 39(6): 681-691  
Xie L J, Ye C Y, Shen E H. Advances in plant genome construction. *Plant Science Journal*, 2021, 39(6): 681-691
- [22] 王俊惠. 蒿叶猪毛菜光合碳同化途径的适应性进化研究. 杨凌: 西北农林科技大学, 2017  
Wang J H. The adaptive evolution of photosynthetic carbon assimilating pathway in *Salsola abrotanoides*. Yangling: Northwest a&f University, 2017
- [23] 郑伟, 范高华, 黄迎新, 王婷, 禹朴家, 王鹤琪. 不同密度猪毛菜形态结构性状及生物量分配策略的异速关系. *生态学报*, 2021, 41(7): 2845-2854  
Zheng W, Fan G H, Huang Y X, Wang T, Yu P J, Wang H Q. Allometric relationships between the morphological traits and biomass allocation strategies of *Salsola collina* under different population density. *Acta Ecologica Sinica*, 2021, 41(7): 2845-2854
- [24] 高松, 苏培玺, 严巧娣, 丁松爽, 张岭梅. C4 荒漠植物猪毛菜与木本猪毛菜的叶片解剖结构及光合生理特征. *植物生态学报*, 2009, 33(2): 347-354  
Gao S, Su P X, Yan Q D, Ding S S, Zhang L M. Leaf anatomical structure and photosynthetic physiological characteristics of C<sub>4</sub> desert species *salsola collina* and *S. arbuscula*. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 2009, 33 (2) : 347-354
- [25] 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. *Molecular Plant*, 2020, 13(8), 1194-1202
- [26] Kumar S, Stecher G, Tamura K. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 33(7), 1870-1874
- [27] 陈文玲, 张晴晴, 唐韶华, 龚伟, 洪月云. 甘油-3-磷酸酰基转移酶在植物脂质代谢、生长及逆境反应中的作用. *植物生理学报*, 2018, 54 (5): 725-735

- Chen W L, Zhang Q Q, Tang S H, Gong W, Hong Y Y. Glycerol-3-phosphate acyltransferase in lipid metabolism, growth and response to stresses in plants. *Plant Physiology Journal*, 2018, 54 (5): 725-735
- [28] 戴丽红, 柳丽霞, 傅志真, 华俊峰, 邓先俊. 毛竹甘油 3-磷酸酰基转移酶(GPAT)基因家族成员的生物信息学分析. *林业科技*, 2020, 45 (6): 25-28
- Dai L H, Liu L X, Fu Z Z, Hua J F, Deng X J. Bioinformatics analysis of moso bamboo glycerol3-phosphoacyltransferase (GPAT) gene family members. *Forestry Science & Technology*, 2020, 45 (6): 25-28
- [29] 周倩倩, 张照华, 弓淑芳, 夏志辉. 椰子 GPAT 基因家族的鉴定及生物信息学分析. *分子植物育种*, 2024, 22(11): 3545-3553
- Zhou Q Q, Zhang Z H, Gong S F, Xia Z H. Identification and bioinformatics analysis of coconut gpat gene family. *Molecular Plant Breeding*, 2024, 22(11): 3545-3553
- [30] 唐芳, 梅亭, 佳荷, 王佳妮, 石凤翎, 高翠萍. 紫花苜蓿 GPAT 基因家族鉴定及在盐碱胁迫下的表达模式分析. *草地学报*, 2023, 31 (9): 2608-2620
- Tang F, Mei T, Jia H, Wang J N, Shi F X, Gao C P. Identification and expression analysis of the *GPAT* gene family in *Medicago sativa* under saline alkali stress. *Acta Agrestia Sinica*, 2023, 31 (9): 2608-2620
- [31] Jayawardhane K N, Singer S D, Weselake R J, Chen G. Plant sn-glycerol-3-phosphate acyltransferases: Biocatalysts involved in the biosynthesis of intracellular and extracellular lipids. *Lipids*, 2018, 53(5): 469-480
- [32] Shockey J, Regmi A, Cotton K, Adhikari N, Bates P D. Identification of Arabidopsis *GPAT9* (at5g60620) as an essential gene involved in triacylglycerol biosynthesis. *Plant Physiology*, 2016 170(1): 163-179
- [33] Kang H, Jia C, Liu N, Aboagla Aaa, Chen W, Gong W, Tang S, Hong Y. Plastid glycerol-3-phosphate acyltransferase enhanced plant growth and prokaryotic glycerolipid synthesis in *brassica napus*. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(15): 5325
- [34] 李鑫, 柯珂, 任晓晨, 刘皓宇, 张丙林, 刘卫娟, 邹华文. 玉米甘油-3-磷酸酰基转移酶基因 *ZmGPAT13* 生物信息学及表达特性分析. *福建农业学报*, 2023, 38(8): 901-909
- Li X, Ke K, Ren X C, Liu H Y, Zhang B L, Liu W J, Zou H W. Bioinformatics and expression of glycerol-3-phosphate acyltransferase 13 gene of maize. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2023, 38(8): 901-909
- [35] 魏琳燕. 大豆 3-磷酸甘油酰基转移酶基因的克隆及功能分析. 杭州: 浙江农林大学, 2022
- Wei L Y. Cloning and function analysis of glycerol-3-phosphate acyltransferases gene in soybean. Hangzhou: Zhejiang A&F University, 2022
- [36] 沈悦, 沈一, 刘永惠, 梁满, 张旭尧, 陈志德. 花生 *AhGPAT9* 基因启动子克隆及其功能分析. *中国油料作物学报*, 2023, 45 (3): 533-541
- Shen Y, Shen Y, Liu Y H, Liang M, Zhang X Y, Chen Z D. Cloning and functional analysis of peanut *AhGPAT9* promoter. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 2023, 45 (3): 533-541
- [37] 卢天信, 成丽颖, 刘文豪, 吕新华, 孙黎. 油葵 *HaGPAT1* 基因的克隆及表达分析. *西北植物学报*. 2019, 39(3): 439-444
- Lu T X, Cheng L Y, Liu W H, Lyu X H, Sun L. Cloning and expression analysis of *hagpat1* gene from *Helianthus annuus* L. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2019, 39 (3) : 439-444
- [38] Zhu Y Q, Liu Y, Zhou K M, Tian C Y, Aslam M, Zhang B L, Liu W J, Zou H W. Overexpression of *ZmEREBP60* enhances drought tolerance in maize. *Journal of Plant Physiology*, 2022, 275: 153763
- [39] Cui Y, Ma J, Liu G, Wang N, Pei W, Wu M, Li X, Zhang J, Yu J. Genome-wide identification, sequence variation, and expression of the glycerol-3-phosphate acyltransferase (GPAT) gene family in *Gossypium*. *Frontiers in Genetics*, 2019, 10: 116