



植物遗传资源学报

Journal of Plant Genetic Resources

ISSN 1672-1810, CN 11-4996/S

《植物遗传资源学报》网络首发论文

题目：甘薯 PAL 基因家族的全基因组鉴定及生物信息学分析
作者：王崇，兰孟焦，肖满秋，潘皓，邓佳祺，吴问胜
DOI：10.13430/j.cnki.jpgr.20240626003
收稿日期：2024-06-26
网络首发日期：2024-11-05
引用格式：王崇，兰孟焦，肖满秋，潘皓，邓佳祺，吴问胜. 甘薯 PAL 基因家族的全基因组鉴定及生物信息学分析[J/OL]. 植物遗传资源学报.
<https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20240626003>



网络首发：在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认：纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188，CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

甘薯 *PAL* 基因家族的全基因组鉴定及生物信息学分析

王 崇 兰孟焦 肖满秋 潘 皓 邓佳祺 吴问胜

(江西省农业科学院作物研究所, 南昌 330200)

摘要: 苯丙氨酸解氨酶(phenylalanin ammonia-lyase, PAL)是苯丙烷代谢途径中的关键酶和限速酶, 在植物生长发育、抗逆等方面发挥重要作用。本研究在甘薯全基因组中筛选 *PAL* 基因家族成员, 对甘薯 *PAL* 基因家族成员的理化性质、系统进化、保守结构域、染色体定位及基因表达进行了分析。结果表明: 在甘薯全基因组中共鉴定出 33 个 *PAL* 成员, 不均匀地分布于 2、6、9 和 15 号染色体上, *PALs* 蛋白理化性质差异小, 保守基序和基因结构相近。*IbPALs* 启动子上存在多个逆境胁迫应答、激素响应和生长发育调控相关的顺式作用元件。甘薯 *IbPALs* 与拟南芥、三裂裂野牵牛和三裂叶薯 *PALs* 基因存在共线性关系。甘薯转录组数据显示, *IbPALs* 基因在甘薯不同组织部位中存在表达, 并且受到干旱胁迫的诱导表达。qRT-PCR 结果显示 *IbPALs* 基因受到干旱和盐胁迫的诱导, 在不同胁迫处理下表达模式不同。本研究为进一步探明甘薯 *PAL* 家族基因的功能提供了参考, 为甘薯遗传改良奠定了基础。

关键词: 甘薯; *PAL* 基因家族; 全基因组鉴定; 生物信息学分析

Genome-wide Identification and Bioinformatics Analysis of the *PAL* Gene Family in Sweetpotato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.)

WANG Chong, LAN Mengjiao, XIAO Manqiu, PAN Hao, DENG Jiaqi, WU Wensheng

(Institute of Crops, Jiangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanchang 330200)

Abstract: Phenylalanin ammonia-lyase (PAL) is a key and rate-limiting enzyme in the phenylpropane metabolic pathway, which plays an important role in plant growth, development and stress tolerance. In this study, we screened *PAL* gene family members in the whole genome of sweetpotato, and the physicochemical properties, phylogeny, conserved domains, chromosomal localization and gene expression of sweetpotato *PAL* gene family members were analyzed. The results showed that a total of 33 *IbPAL* genes were identified in the whole genome of sweetpotato. These genes were unevenly distributed on chromosomes 2, 6, 9 and 15. *PALs* proteins have small differences in physicochemical properties and similar conserved motifs and gene structures. Multiple *cis*-acting elements related to abiotic and biotic stress response, phytohormone responsive and growth and development regulation are present on the promoter of *IbPALs*. There were collinear relationships between sweetpotato *IbPALs* and *Arabidopsis thaliana*, *Ipomoea trifida* and *Ipomoea triloba* *PALs* genes. The transcriptome data of sweetpotato showed that *IbPALs* gene was expressed in different tissues of sweetpotato and was induced by drought stress. The results of qRT-PCR showed that *IbPALs* gene was induced by drought and salt stress, and the expression patterns of *IbPALs* were different under different stress treatments. This study provides a reference for further

收稿日期: 2024-06-26

第一作者研究方向为甘薯遗传育种, E-mail: wangchong199409@163.com

通信作者: 吴问胜, 研究方向为甘薯遗传育种与栽培。E-mail: 13755613524@163.com

基金项目: 国家现代农业产业技术体系项目(CARS-10-C8); 江西省农作物良种联合攻关项目(9021109126); 江西省农业科学院基础研究与人才培养专项(JXS NKYJCRC202422)

Foundation project: National Modern Agricultural Industry Technology System(CARS-10-C8); Jiangxi Joint Research Project on Crop Cultivar Breeding(9021109126); Basic Research and Talent Training Project of Jiangxi Academy of Agricultural Sciences (JXS NKYJCRC202422)

understanding the function of PAL family gene in sweetpotato and lays a foundation for genetic improvement of sweetpotato.

Keywords: *sweetpotato*; *PAL* gene family; complete genome identification; bioinformatics analysis

苯丙氨酸解氨酶(phenylalanin ammonia-lyase, PAL, EC4.3.1.5)是苯丙烷代谢途径中最首要的反应酶,同时也是此途径中的关键酶和限速酶^[1]。植物苯丙烷类代谢途径在植物次级代谢中占据着重要的一个关键位置,苯丙烷类代谢途径以 L-苯丙氨酸作为底物,在 PAL 催化下发生脱氢作用,生成花青素、黄酮、黄酮醇、木质素等代谢物,这些次生代谢物在植物的抗逆、抗病和生长发育过程中发挥重要作用^[2]。*PAL* 基因于 1961 年首次在大麦(*Hordeum vulgare*)中被分离得到,研究表明 PAL 蛋白是初生代谢和苯丙烷代谢途径的关键纽带,在植物的生理生化过程中具有重要的意义^[3]。例如在苹果果实发育前期,*PAL* 基因的表达水平显著上调^[4]。在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中,*AtPAL1* 和 *AtPAL2* 同时缺失突变会使木质素和花青素含量减少导致植株发育迟缓^[5]。通过研究 *PAL* 基因的基本性质、基因结构和功能,对深入理解其在植物生长发育及抗逆胁迫中的作用具有重要参考价值。

研究发现植物中 PAL 蛋白的数目丰富,且植物中的 PAL 蛋白高度保守,不同物种之间的 PAL 序列相似度甚至可以达到 80%^[6]。*PAL* 基因在不同植物中的研究愈发广泛,*PAL* 基因家族在植物中陆续得到鉴定,拟南芥中筛选鉴定得到 9 个 *PAL* 成员,并发现有 3 个 *AtPAL* 基因受到干旱和盐胁迫的诱导^[7]。在水稻(*Oryza sativa* L.)中筛选鉴定得到 9 个 *PAL* 基因^[8],烟草(*Nicotiana tabacum* L.)中 4 个^[9],马铃薯(*Solanum tuberosum* L.)中 14 个^[10],葡萄(*Vitis vinifera* L.)中 15 个^[11]。研究表明,在拟南芥中过表达大豆 *GmPAL1.1* 基因,转基因植株种子发育时期对干旱和盐胁迫的抗性增强^[12]。贝母 *FuPAL1* 基因通过调节木质素合成和水杨酸信号途径,增强转基因植株的抗旱能力^[13]。*PAL* 在植物抵御病害中也发挥着重要作用。在感染玉米小斑病、小麦赤霉病与稻瘟病等病原菌的植物中,*PAL* 的活性明显增强^[14-16]。过表达日本莲 *LjPAL1* 可延迟转基因植株中生孢子球菌感染后的感染过程并减少结节数量^[2]。植物 *PAL* 基因的表达量受到不同环境胁迫调节,ABA、GA 和 SA 等激素也会影响到 *PAL* 的表达量和酶活性^[17]。通过鉴定不同物种 *PAL* 基因家族成员并分析其表达模式,对于认识 *PAL* 基因的生物学功能具有重要指导价值。

甘薯(*Ipomoea batatas* (L.) Lam.)属于旋花科(Convulvaceae)番薯属(*Ipomoea* Linn.)双子叶植物,是全球范围内一种重要的粮食、饲料、工业原料和新能源作物,在世界各地广泛种植^[18-19]。甘薯是中国第五大作物,年种植面积 2.37×10^6 ha,年产量 5.32×10^7 t,对于维持我国粮食安全具有重要的意义^[20]。随着全球气候和生态环境受到的破坏日益加剧,干旱、高温、盐碱化、病虫害等逆境对甘薯的产量和品质造成了极大地危害,严重制约了甘

薯产业的发展,产生了巨大的经济损失,通过研究 PAL 家族成员对甘薯新品种选育具有重要意义^[21]。甘薯中 PAL 基因家族的研究较少,本研究基于甘薯基因组信息,采用生物信息学方法对甘薯 PAL 基因家族进行了系统分析,并对其编码蛋白的理化性质、保守基序和基因结构等进行了分析,并对甘薯 PAL 家族基因的启动子顺式作用元件进行了预测分析,并结合甘薯转录组数据分析 *IbPALs* 基因的表达模式,旨在为进一步探究甘薯 PAL 家族基因功能奠定基础,为甘薯育种提供理论指导。

1 材料与方法

1.1 甘薯 PAL 基因家族鉴定

在甘薯 [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] 基因组数据库 (<http://sweetpotato.uga.edu/>) 中下载甘薯全基因组数据及基因结构注释文件,从 TAIR 网站 (<https://www.arabidopsis.org/>) 下载拟南芥全基因组数据及基因结构注释文件。使用 TBtools 软件^[22]提取已报道的拟南芥 4 个 PAL 蛋白质氨基酸序列,将提取得到的序列作为 query 序列 BLASTP 比对甘薯蛋白数据,设置阈值为 $1e-5$,获得这些序列的同源序列,并删除其中的冗余序列。从 Pfam 数据库 (<http://pfam.xfam.org/>) 下载 PAL 保守结构域序列 (PF00221),利用 HMM 3.0 软件结合甘薯基因数据库比对筛选,获取甘薯 PAL 家族成员,将上述 2 种比对方法获得的候选蛋白质氨基酸序列合并,并删除复序列,利用在线工具 SMART (<http://smart.embl-heidelberg.de/>)、NCBI-CDD (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>) 对 PAL 蛋白进行保守结构域分析,进一步删除不含共同结构域和不含完整结构域的序列,最终获得甘薯 PAL 家族基因。

1.2 甘薯 PAL 家族成员序列分析

使用在线网站 ExPASy ProtParam (<https://web.expasy.org/protparam/>) 对 PAL 氨基酸序列长度、相对分子量、等电点、不稳定系数、脂溶指数和平均亲水系数等理化性质进行分析;CELL-Ploc (<http://www.csbio.sjtu.edu.cn/bioinf/plant-multi/>) 对各蛋白进行亚细胞定位预测;Prabi 工具 (https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=/NPSA/npsa_sopma.html) 预测 α -螺旋、 β 转角和不规则卷曲等二级结构所占比例;在线工具 SWISS-MODEL (<https://swissmodel.expasy.org/>) 预测 PAL 蛋白三级结构。通过 GSDS 数据库 (<http://gsds.gao-lab.org/>) 对甘薯 PAL 基因结构进行预测分析。在 MEME 网站 (<https://meme-suite.org/>) 分析各蛋白保守基序 Motif, Motif 数量设置为 8,宽度设置为 6~100。使用 DNAMAN 和 Jalview 软件对甘薯 PAL 家族蛋白保守结构域序列进行多重比对。

1.3 甘薯 PAL 家族基因启动子顺式作用元件分析

从甘薯基因组数据选取甘薯 PAL 家族基因上游 2 000 bp 的序列，利用在线网站 PlantCARE(<https://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>)分析顺式作用元件，并在 TBtools 软件上进行可视化展示。

1.4 甘薯 PAL 家族基因系统发育进化树的构建

从拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)、水稻(*Oryza sativa*)、三浅裂野牵牛(*Ipomoea trifida*)、三裂叶薯(*Ipomoea triloba*)等基因组中筛选 PAL 基因家族成员，进行系统发育进化分析。利用 MEGA 7 软件的邻接法(Neighbor-joining)对氨基酸序列构建系统进化树，Bootstrap 值设定为 1000。

1.5 甘薯 PAL 家族基因染色体定位和共线性分析

使用 TBtools 软件从甘薯全基因组数据中提取 PAL 基因家族位置信息，绘制 PAL 基因家族成员在甘薯染色体上的定位图。对甘薯和拟南芥、三裂叶薯、三浅裂野牵牛 PAL 家族基因之间的共线性进行可视化展示。计算非同义替换率(Ka)和同义替换率(Ks)，Ka/Ks 值用于评估同源基因对中同源基因在进化过程中受到的选择压力。当 Ka/Ks 值大于 1 表示基因受到正向选择，Ka/Ks=1 表示基因可能处于中性进化状态，当 Ka/Ks<1 时，则说明基因受到表示基因受到纯化选择作用。

1.6 甘薯 PAL 基因家族表达模式分析

从甘薯转录组数据(SRR7661415、SRR7876249、SRR7876250、SRR7876253、SRR7876254、SRR7876255、SRR7876256、SRR7876257、SRR7876258)中筛选出 *IbPALs* 基因在不同组织及不同成长阶段的表达情况，在基因组数据库(<http://sweetpotato.uga.edu/>)下载三浅裂野牵牛和三裂叶薯的转录组数据，根据基因的 FKPM 值绘制基因表达热图。

1.7 *IbPALs* 基因胁迫下表达分析

以甘薯品种赣薯 15 号为试验材料，在大田选取长势一致的健康薯苗，在装有 1/2 霍格兰营养液的水培瓶中进行 1-2 周的水培。接着进行胁迫处理，分别培养在含有 20% PEG-6000 和 200 mmol/L NaCl 的 1/2 霍格兰溶液中，处理 0、6、12、24h 后采集甘薯叶片，提取叶片总 RNA，反转录成 cDNA，对 *IbPALs* 基因在干旱胁迫和盐胁迫下的表达模式进行分析。使用 Primer premier 5 设计荧光定量引物，并使用 NCBI 网站的 Primer blast 工具对引物进行特异性分析，以甘薯肌动蛋白 β -Actin 基因作为内参基因(表 1)。在罗氏荧光定量 PCR 仪上进行扩增，设置 3 个生物学重复和 3 个技术性重复，使用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法^[10]计算基因的相对表达量。使用 DPS 软件进行数据分析，采用单因素方差分析(ANOVA)，数据多重比较采用 Duncan's 法， $p\leq 0.05$ 表示差异显著， $p\leq 0.01$ 表示差异极显著。

表 1 甘薯 PAL 基因家族荧光定量引物序列

Table 1 Primer sequence for qRT-PCR in PLA gene family of sweetpotato

引物功能	引物名称	上游引物(5'-3')	下游引物(5'-3')	
Primer function	Primer name	Forward primer	Reverse primer	
荧光定量	<i>IbPAL1</i>	TCCTTGGAACCCCTGTCCTACT	ATTCTCCTCCAGGTGCCTCA	
qRT-PCR	<i>IbPAL2</i>	ACTCCGCCGTTCTTAACAAG	GATTTCACCGCCACACAACG	
	<i>IbPAL3</i>	GATGTTGCCAGAAGCAAGGC	GCCGATAGATGCAAGGGCTA	
	<i>IbPAL5</i>	ACGCAGTGAAGGTGCAGAAT	GCCATCTCCCAGTTCAAAGGA	
	<i>IbPAL8</i>	TGACAACAGCCACAAGAACG	CCATGCGCTTCACTTCATCC	
	<i>IbPAL9</i>	TTGGGACTGGAACAGAAACAG	TCTGATGCCGGAGTATCCTTG	
	<i>IbPAL10</i>	GTCCTGCCAAAGAAGTGGA	ACAGAATCACCGAGTGCAGG	
	<i>IbPAL26</i>	CATGTCGTCACGTATCTGGTAG	GGCTCACGCTGTTCTTCAC	
	<i>IbPAL28</i>	AGGAGATTCATGTACGCTGCC	GGCATGGAGTGATGTTGTGG	
	<i>IbPAL29</i>	CAATGGGATCAGCAGCAACG	GTCTCGCCTCCTAGCTTCAC	
	<i>IbPAL31</i>	TCGGCCCTCAGATTGAAGTG	CAGAGGATTGTCGTTTACAGAGT	
	<i>IbPAL32</i>	AGAGTACGTGTTCCGCTACG	ATGGCCTTGAGTTCTCTCTCG	
	内参基因	<i>β-Actin</i>	AGCAGCATGAAGATTAAGGTTGTAGCAC	TGGAAAATTAGAAGCACTTCCTGTGAAC
	Internal reference gene			

2 结果与分析

2.1 甘薯 PAL 基因家族成员鉴定

经序列比对, 在甘薯全基因组范围内鉴定得到 33 个 PALs 基因家族成员, 根据其在染色体上的先后位置分别将其命名为 *IbPAL1-IbPAL33*。 *IbPAL* 家族基因 CDS 大小在 1650–2184 bp, 编码氨基酸在 549–727 aa, 相对分子量大小为 60.13–78.87 kDa, 脂肪系数在 88.21–92.68(表 2)。 33 个 PALs 蛋白的等电点理论值在 5.73–6.09, 均小于 7.00, 表明其可能属于一类酸性蛋白。在 33 个 PALs 蛋白中 *IbPAL1* 和 *IbPAL33* 的不稳定系数大于 40, 属于不稳定蛋白, 其余 PALs 蛋白的不稳定系数小于 40, 属于稳定蛋白。亚细胞定位预测显示, 甘薯 PALs 蛋白主要定位于质膜中(表 3)。蛋白质二级结构预测分析结果显示, 甘薯 PALs 基因家族编码的蛋白二级结构以 α -螺旋结构(52.94%–60.47%)和不规则卷曲结构(27.14%–32.07%)为主, β -转角结构占比较(5.24%–7.31%)和延伸链结构(5.65%–8.96%)小(表 3)。蛋白质三级结构预测分析显示 *IbPALs* 均呈现相似的“海马状”(图 1)。

表 2 甘薯 33 个 PAL 基因家族成员理化性质分析

Table 2 Physical and chemical properties of 33 PAL gene family members in sweetpotato

基因 ID	基因名称	CDS 大小	氨基酸数目	分子量	等电点	不稳定系数	脂肪系数	亲水性
Gene name	Gene ID	CDS size/bp	Amino acid/aa	Molecular weight/kDa	pI	Instability index	Fat index	Grand average of hydropathicity
<i>Ibat.Brg.S050260.1</i>	<i>IbPAL1</i>	1860	619	67.41	5.82	41.88	91.15	-0.147
<i>Ibat.Brg.S040700.1</i>	<i>IbPAL2</i>	2148	715	77.42	5.94	35.75	91.57	-0.172

<i>Ibat.Brg.15F_G000710.1</i>	<i>IbPAL3</i>	2145	714	77.49	6.07	33.13	92.13	-0.155
<i>Ibat.Brg.15F_G000340.1</i>	<i>IbPAL4</i>	2145	714	77.49	6.07	33.13	92.13	-0.155
<i>Ibat.Brg.15D_G000510.1</i>	<i>IbPAL5</i>	2145	714	77.43	6.00	33.13	92.68	-0.148
<i>Ibat.Brg.15D_G000220.1</i>	<i>IbPAL6</i>	2145	714	77.49	6.07	33.13	92.13	-0.155
<i>Ibat.Brg.15C_G000890.1</i>	<i>IbPAL7</i>	2145	714	77.49	6.07	33.13	92.13	-0.155
<i>Ibat.Brg.09F_G017810.1</i>	<i>IbPAL8</i>	2112	703	76.49	6.09	31.33	89.94	-0.117
<i>Ibat.Brg.09F_G017800.1</i>	<i>IbPAL9</i>	2121	706	76.75	6.02	31.52	90.81	-0.158
<i>Ibat.Brg.09F_G017790.1</i>	<i>IbPAL10</i>	2130	709	77.02	6.09	31.58	90.71	-0.154
<i>Ibat.Brg.09E_G017810.1</i>	<i>IbPAL11</i>	1650	549	60.13	5.73	34.9	93.84	-0.083
<i>Ibat.Brg.09E_G017770.1</i>	<i>IbPAL12</i>	2121	706	76.63	6.09	31.29	91.91	-0.147
<i>Ibat.Brg.09E_G017750.1</i>	<i>IbPAL13</i>	2130	709	76.97	6.09	31.00	91.81	-0.149
<i>Ibat.Brg.09D_G017180.1</i>	<i>IbPAL14</i>	2112	703	76.46	6.18	30.25	89.39	-0.129
<i>Ibat.Brg.09D_G017170.1</i>	<i>IbPAL15</i>	2121	706	76.60	5.99	32.49	92.20	-0.145
<i>Ibat.Brg.09D_G017160.1</i>	<i>IbPAL16</i>	2130	709	77.02	6.23	31.12	90.71	-0.155
<i>Ibat.Brg.09C_G016770.1</i>	<i>IbPAL17</i>	2112	703	76.49	6.09	31.33	89.94	-0.117
<i>Ibat.Brg.09C_G016760.1</i>	<i>IbPAL18</i>	2112	706	76.75	6.02	31.52	90.81	-0.158
<i>Ibat.Brg.09C_G016750.1</i>	<i>IbPAL19</i>	2130	709	77.02	6.09	31.58	90.71	-0.154
<i>Ibat.Brg.09C_G014700.1</i>	<i>IbPAL20</i>	2112	703	76.44	6.18	30.25	88.83	-0.137
<i>Ibat.Brg.09C_G014690.1</i>	<i>IbPAL21</i>	2121	706	76.75	5.99	33.52	90.95	-0.166
<i>Ibat.Brg.09C_G014670.1</i>	<i>IbPAL22</i>	2130	709	77.09	6.02	31.70	90.71	-0.159
<i>Ibat.Brg.09A_G015890.1</i>	<i>IbPAL23</i>	2112	703	76.5	6.08	31.44	90.09	-0.115
<i>Ibat.Brg.09A_G015880.1</i>	<i>IbPAL24</i>	2121	706	76.59	5.99	31.89	91.91	-0.137
<i>Ibat.Brg.09A_G015860.1</i>	<i>IbPAL25</i>	2130	709	77.06	6.02	31.70	90.85	-0.154
<i>Ibat.Brg.06D_G001990.1</i>	<i>IbPAL26</i>	2148	715	77.43	5.94	35.71	91.57	-0.167
<i>Ibat.Brg.06C_G004560.1</i>	<i>IbPAL27</i>	2148	715	77.42	5.94	35.75	91.57	-0.172
<i>Ibat.Brg.06A_G004160.1</i>	<i>IbPAL28</i>	2145	714	77.28	5.91	35.89	91.69	-0.168
<i>Ibat.Brg.02F_G004030.1</i>	<i>IbPAL29</i>	2184	727	78.87	5.87	39.16	88.24	-0.197
<i>Ibat.Brg.02E_G004100.1</i>	<i>IbPAL30</i>	2178	725	78.65	5.81	39.47	88.74	-0.190
<i>Ibat.Brg.02D_G004630.1</i>	<i>IbPAL31</i>	2181	726	78.85	5.87	39.64	87.95	-0.211
<i>Ibat.Brg.02C_G003090.1</i>	<i>IbPAL32</i>	2178	725	78.67	5.95	38.92	88.21	-0.200
<i>Ibat.Brg.02B_G005760.1</i>	<i>IbPAL33</i>	2178	725	78.67	5.84	40.10	88.87	-0.186

表 3 甘薯 PAL 蛋白质二级结构和亚细胞定位预测分析

Table 3 Prediction of secondary structure and subcellular location of PAL protein in sweetpotato

蛋白名称 Protein name	α -螺旋占比 α -helix/%	延伸链占比 Extended strand/%	β -转角占比 β -turn/%	不规则卷曲占比 Random coil/%	亚细胞定位预测 Subcellular location prediction
IbPAL1	58.00	7.11	5.56	29.24	细胞质 Cytoplasm
IbPAL2	57.76	7.11	5.87	28.53	细胞质 Cytoplasm
IbPAL3	52.94	7.83	6.72	32.07	细胞质 Cytoplasm
IbPAL4	52.94	8.26	6.72	32.07	细胞质 Cytoplasm
IbPAL5	56.16	7.98	6.72	29.13	细胞质 Cytoplasm
IbPAL6	52.94	8.26	6.72	32.07	细胞质 Cytoplasm
IbPAL7	52.94	8.26	6.72	32.07	细胞质 Cytoplasm
IbPAL8	55.62	8.39	5.83	30.16	细胞质 Cytoplasm
IbPAL9	55.38	6.80	6.66	31.16	细胞质 Cytoplasm
IbPAL10	56.28	8.89	5.50	29.34	细胞质 Cytoplasm
IbPAL11	60.47	5.65	5.65	27.14	细胞质 Cytoplasm
IbPAL12	56.80	6.94	6.94	30.59	细胞质 Cytoplasm
IbPAL13	55.43	7.48	5.64	31.45	细胞质 Cytoplasm
IbPAL14	54.62	8.96	5.69	30.73	细胞质 Cytoplasm

IbPAL15	55.38	7.51	5.81	31.30	细胞质 Cytoplasm
IbPAL16	54.44	7.76	6.06	31.73	细胞质 Cytoplasm
IbPAL17	55.62	8.39	5.83	30.16	细胞质 Cytoplasm
IbPAL18	56.23	6.37	6.94	30.45	细胞质 Cytoplasm
IbPAL19	56.28	8.89	5.50	29.34	细胞质 Cytoplasm
IbPAL20	55.76	7.82	6.12	30.30	细胞质 Cytoplasm
IbPAL21	55.24	6.66	6.66	31.44	细胞质 Cytoplasm
IbPAL22	56.98	8.46	5.08	29.48	细胞质 Cytoplasm
IbPAL23	54.77	8.68	5.69	30.87	细胞质 Cytoplasm
IbPAL24	54.77	6.80	5.69	30.87	细胞质 Cytoplasm
IbPAL25	56.52	8.32	5.24	31.44	细胞质 Cytoplasm
IbPAL26	55.66	7.13	6.29	30.91	细胞质 Cytoplasm
IbPAL27	57.20	7.55	5.87	29.37	细胞质 Cytoplasm
IbPAL28	55.04	7.56	6.30	31.09	细胞质 Cytoplasm
IbPAL29	54.75	7.43	6.88	30.95	细胞质 Cytoplasm
IbPAL30	53.79	7.59	7.03	31.59	细胞质 Cytoplasm
IbPAL31	54.55	7.85	5.92	31.68	细胞质 Cytoplasm
IbPAL32	55.03	7.86	7.31	29.79	细胞质 Cytoplasm
IbPAL33	54.76	7.03	6.62	31.59	细胞质 Cytoplasm

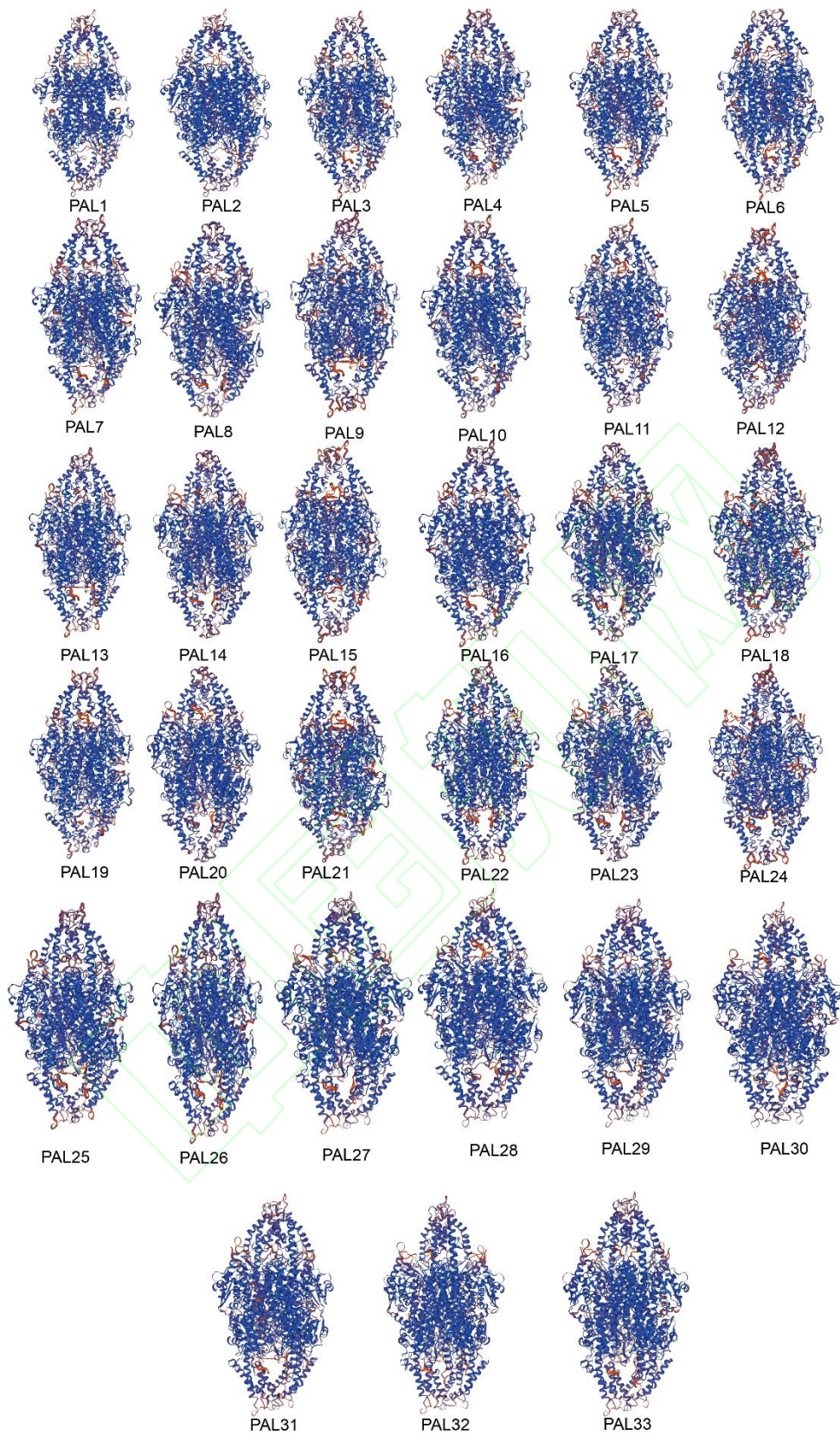
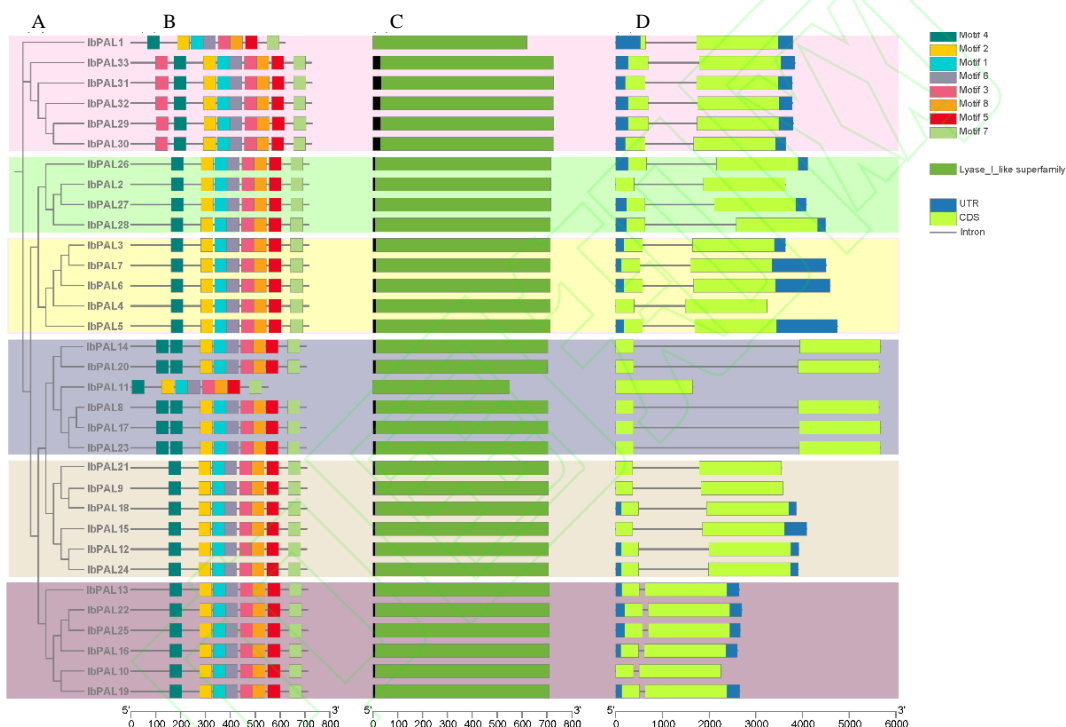


图 1 IbPALs 蛋白三级结构预测
Fig. 1 Protein tertiary structure predictions of IbPALs

2.2 甘薯 PAL 家族基因结构和保守基序分析

通过 MEME 在线工具对甘薯 PAL 家族基因结构和保守基序进行分析。由图 2 可知, 33 个甘薯 PALs 基因具有相似的基因结构, *IbPAL11* 基因不含内含子, 其余 32 个 *IbPALs* 含 1 个内含子。33 个 *IbPALs* 蛋白均包含 1 个 PAL 蛋白保守结构域 Lyase_I_like superfamily。确定了 *IbPALs* 蛋白 8 个保守基序, 将 8 个保守基序分别命名为 Motif1-Motif8。Motif1-Motif8 是 33 个 *IbPALs* 蛋白所共同含有的, *IbPAL14*、*IbPAL20*、*IbPAL8*、*IbPAL17* 和 *IbPAL23* 包含 2 个 Motif4 基序; *IbPAL33*、*IbPAL31*、*IbPAL32*、*IbPAL29* 和 *IbPAL30* 蛋白包含 2 个 Motif3 基序。研究表明, Motif1-Motif8 呈现出完整的 PAL 结构域, 其中 Motif4 位于结构域的 C 端, 而 Motif7 位于其 N 端。



(A) *IbPALs* 进化树; (B) *IbPALs* 保守基序分布, 不同颜色框代表不同的基序; (C) 蛋白保守结构域, 黑色框代表 PAL 蛋白非保守结构域, 绿色框代表 PAL 蛋白保守结构域; (D) *IbPALs* 基因外显子和内含子结构, 黄绿色框代表外显子, 黑线表示内含子, 深蓝色框表示 UTR 区域

(A) Evolutionary tree of *IbPALs*; (B) Distribution of conserved motifs in *IbPALs*, different color boxes represent different motifs; (C) Protein conserved structural domains, black boxes non-conserved domain, green boxes indicate PAL protein conserved domains; (D) Exon and intron structure of the *IbPALs* gene, yellow-green boxes represent exons, black lines indicate introns, and dark blue boxes indicate UTR regions

图 2 *IbPALs* 基因家族的进化关系、保守基序、蛋白保守结构域和基因结构分析

Fig. 2 Evolutionary relationship, conserved motif, protein conserved domain and gene structure of *IbPALs* gene family

2.3 甘薯 PAL 基因家族启动子顺式作用元件分析

为进一步加深对甘薯 PAL 基因家族的生物学功能的了解, 对 *IbPALs* 家族基因的启动子序列进行分析。结果发现, 在 *IbPALs* 启动子中逆境胁迫响应、激素响应和植物生长发育调节顺式作用元件, 逆境胁迫中 ARE、MBS 顺式作用元件分布最多, *IbPALs* 中还包含低温

响应元件，如 *IbPAL1*、*IbPAL21*、*IbPAL27* 和 *IbPAL33* 中含有 1 个低温应答元件 LTR。脱落酸响应元件 ABRE、水杨酸响应元件 TGACG-motif、茉莉酸甲酯响应元件 CGTCA-motif、生长素响应元件 TGA-element 在 *PAL* 基因家族植物激素响应相关的顺式元件中分布最为广泛，植物生长发育调节顺式作用元件中光响应元件 G-box、GT1-motif、Box 4 等分布最多 (图 3)。综合顺式作用元件分析发现，*IbPALs* 基因家族启动子中植物生长发育调节和激素响应元件数目最多。

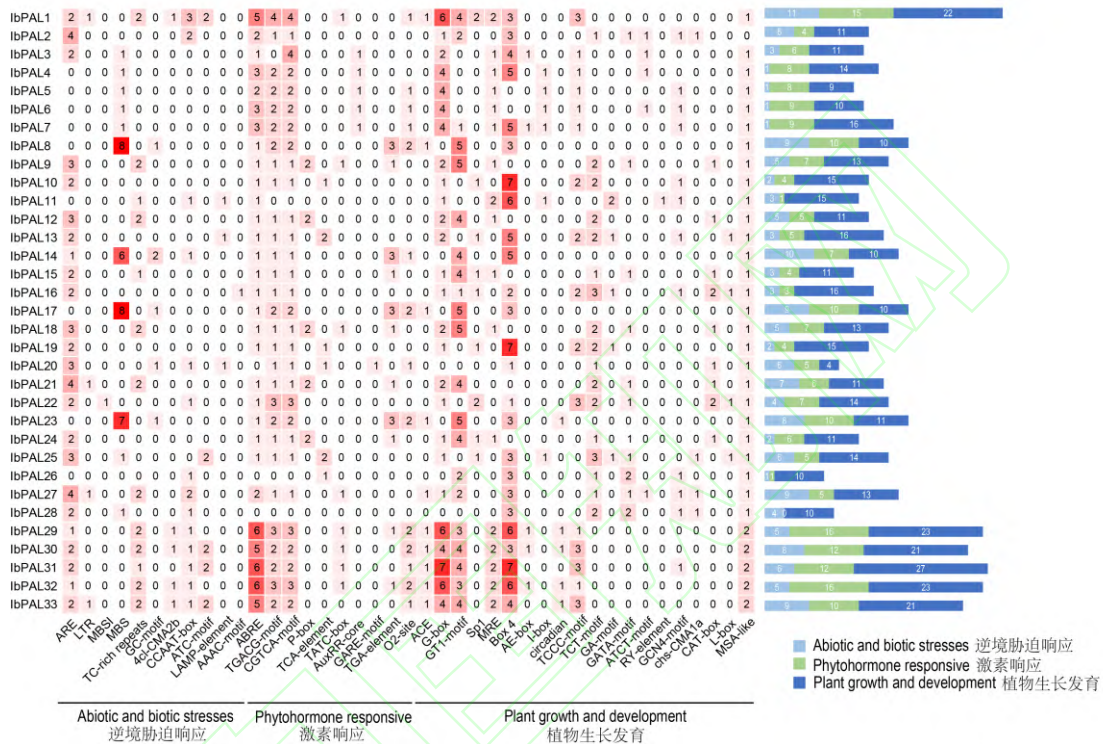
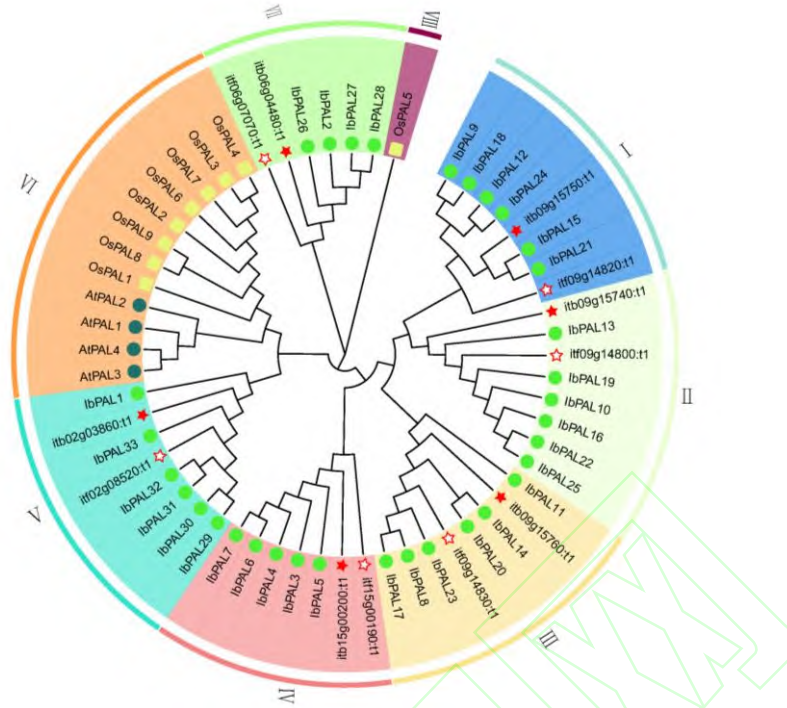


图 3 甘薯 *IbPALs* 基因家族启动子顺式作用元件分析

Fig. 3 Analysis of *cis*-acting elements in the promoters of *IbPALs* gene family in sweetpotato

2.4 *IbPALs* 家族系统发育分析

为了分析 *PAL* 蛋白的进化关系，使用 MEGA 软件对甘薯、拟南芥、水稻、三裂裂野牵牛和三裂叶薯 5 个物种共 58 个 *PAL* 蛋白序列进行了多重比对并构建系统发育进化树。由图 4 可知，58 个 *PALs* 被分为 8 个亚类，每个类群分别含有 8、8、8、7、8、12、6 和 1 个 *PALs*。33 个甘薯 *IbPALs* 分布在 1、2、3、5 和 7 类群上，三裂裂野牵牛和三裂叶薯在 I、II、III、V 和 VII 类群上也有分布，拟南芥和水稻则分布在 VI 和 VIII 类群上。甘薯与三裂裂野牵牛和三裂叶薯之间的亲缘关系较近，与拟南芥、水稻的亲缘关系则相对较远。



●甘薯(*Ipomoea batatas*); ●拟南芥(*Arabidopsis thaliana*); ☆三裂野牵牛(*Ipomoea trifida*); ★三裂叶薯(*Ipomoea triloba*); ■水稻(*Oryza sativa*)
●*Ipomoea batatas*; ●*Arabidopsis thaliana*; ☆*Ipomoea trifida*; ★*Ipomoea triloba* ■*Oryza sativa*

图 4 不同物种 PAL 蛋白的系统发育分析

Fig. 4 Phylogenetic analysis of the PAL proteins from different species

2.5 甘薯 PAL 家族基因染色定位和共线性分析

从甘薯基因组注释文件中提取 *IbPALs* 基因家族所在染色体位置的信息，绘制 *IbPALs* 家族基因在甘薯染色体上的分布图。如图 5 所示，甘薯 *IbPAL1* 和 *IbPAL2* 基因在染色体上的定位暂不明确，分别分布在 BrgTig00024019 和 BrgTig00028078 位点上，在 2、6、9 和 15 号染色体上不均匀地分布着 *IbPAL3-IbPAL33* 基因。第 9 号染色体上 *IbPALs* 分布的基因数目最多，为 18 个；第 6 染色体分布的 *IbPALs* 数目最少，为 3 个。第 2 染色体和第 15 号染色体上分布的 *IbPALs* 数目均为 5 个。以上结果表明 *IbPALs* 在甘薯染色体上的分布不均匀。在第 9 号染色体上共有 6 组基因紧密连锁，分别是 *IbPAL23/IbPAL24/IbPAL25*、*IbPAL17/IbPAL18/IbPAL19*、*IbPAL20/IbPAL21/IbPAL22*、*IbPAL14/IbPAL15/IbPAL16*、*IbPAL11/IbPAL12/IbPAL13* 和 *IbPAL8/IbPAL9/IbPAL10*，属于旁系同源基因。

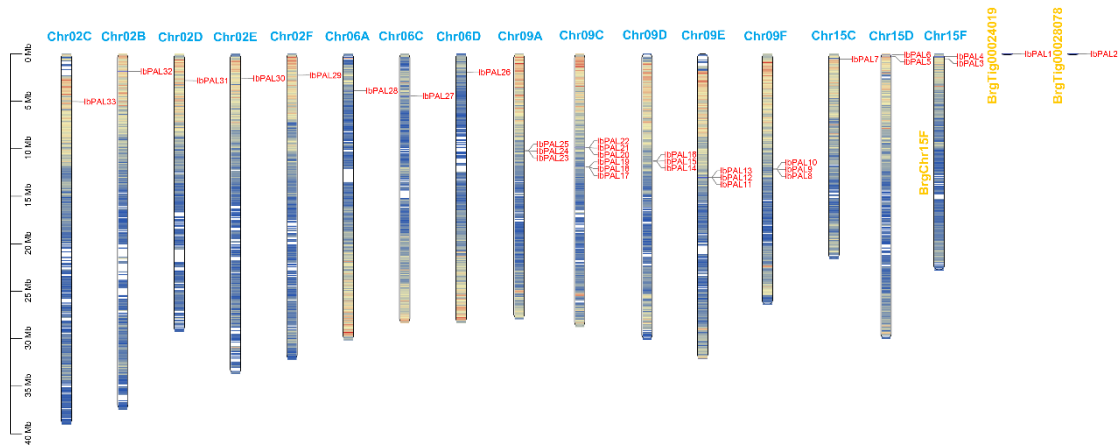
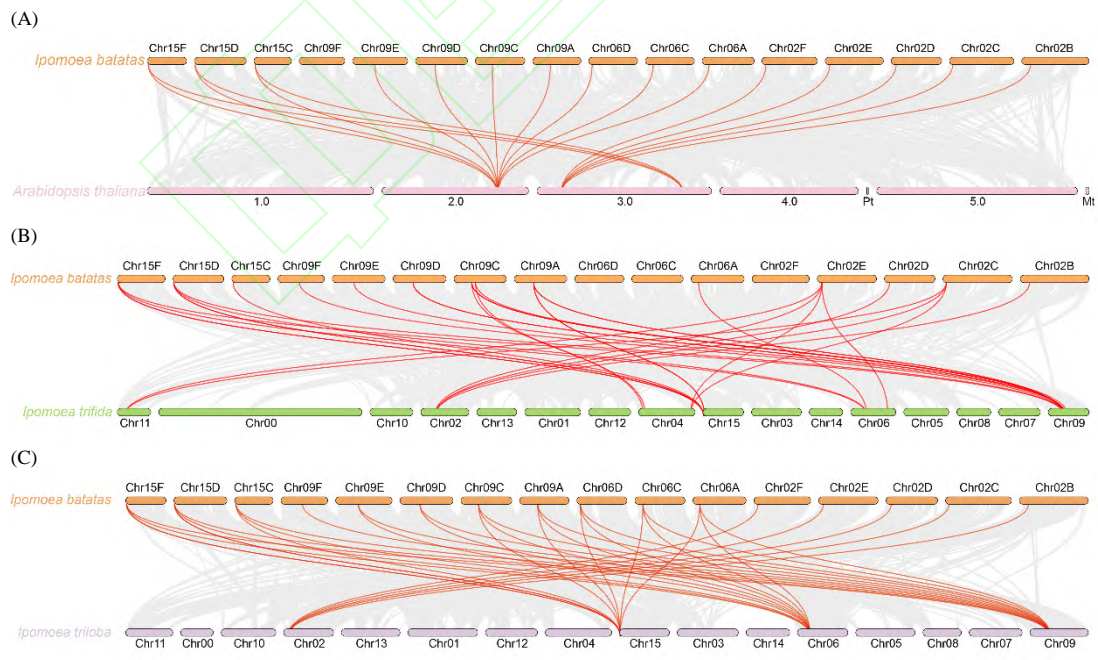


图 5 甘薯 PAL 家族基因染色体定位
Fig. 5 Chromosome localization of PAL family genes in *Ipomoea batatas*

对甘薯与拟南芥、三裂裂野牵牛、三裂叶薯 *PAL* 基因就在转基因之间的共线性关系进行分析。共线性分析结果显示，甘薯与拟南芥、三裂裂野牵牛、三裂叶薯 *PAL* 基因家族之间存在共线性关系，基因对数量分别为 18、33 和 36 对(图 6)。在甘薯 *IbPALs* 基因中存在多个至少与两个同源基因对结合在一起的基因，表明这些基因在 *PALs* 基因家族的进化中发挥至关重要的作用。除此之外，甘薯 *IbPALs* 基因与三裂裂野牵牛、三裂叶薯存在共线性基因对，但在拟南芥中不存在共线性基因对（图 6），这一结果表明 *PALs* 基因家族在植物分化过程中发生了新的复制事件。



(A)甘薯 *IbPALs* 与拟南芥 *AtPALs* 的种间共线性分析; (B)甘薯 *IbPALs* 与三裂裂野牵牛 *ItfPALs* 的种间共线性分析; (C)甘薯 *IbPALs* 与三裂叶薯 *ItbPALs* 的种间共线性分析

(A)Synteny analysis of sweet potato *IbPALs* with *Arabidopsis thaliana AtPALs*; (B)Synteny analysis of sweet potato *IbPALs* with *Ipomoea trifida ItfPALs*; (C)Synteny analysis of sweet potato *IbPALs* with *Ipomoea triloba ItbPALs*

图 6 甘薯及其它 3 个物种的 *PAL* 基因共线性分析

Fig. 6 Collinearity analysis of the PAL genes from *Ipomoea batatas* and three other species

对 *IbPALs* 基因在甘薯内的共线性关系进行分析，共线性分析结果显示，甘薯 *IbPALs* 基因间存在共线性关系，甘薯 33 个 *PALs* 成员中 24 个基因存在共线性关系，共有 57 对基因对，发现部分 *IbPALs* 基因与多个基因存在共线性关系，如 *IbPAL33* 与 *IbPAL32*、*IbPAL31*、*IbPAL30*、*IbPAL29* 存在共线性，结合进化分析，这 5 个基因均聚类于V类群；*IbPAL25* 与 *IbPAL22*、*IbPAL19*、*IbPAL13*、*IbPAL10* 存在共线性，均被聚类到II类群，表明具有共线性的基因被聚类到同一类群中，在结构和功能上具有相似性(图 7)。对共线性基因对的 Ka/Ks 进行计算，结果显示 Ka/Ks 值小于 1，表明甘薯 *PAL* 基因在进化过程中受到纯化选择影响(表 4)。

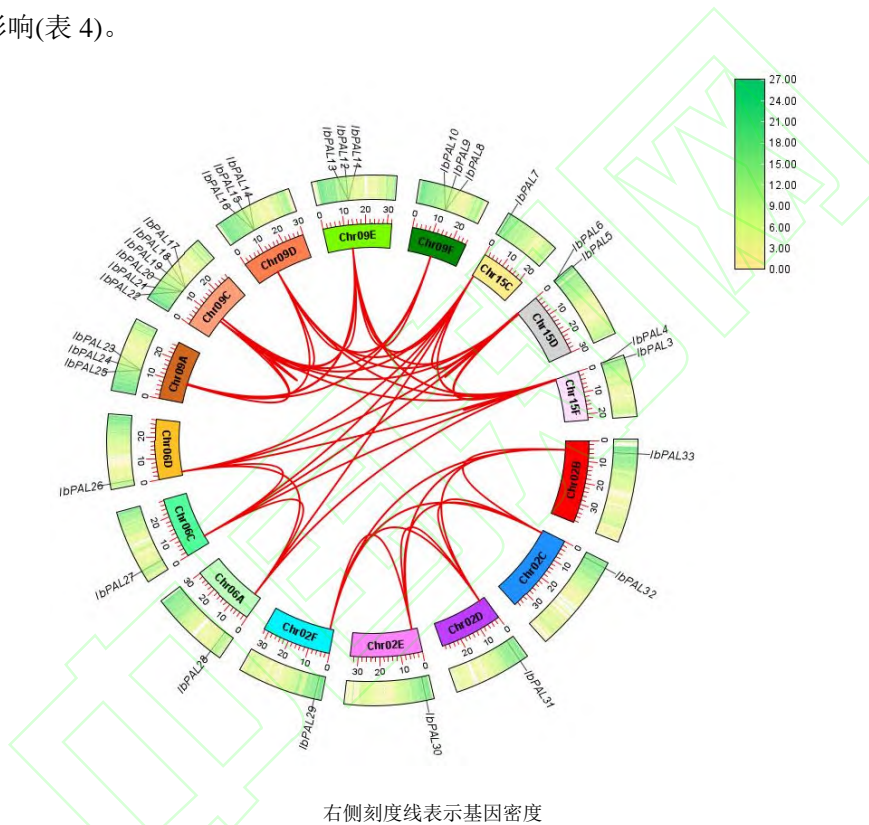


图 7 甘薯 *PALs* 基因共线性分析示意图

Fig. 7 The schematic diagram of *PALs* gene collinearity analysis in *Ipomoea batatas*

表 4 甘薯 *PAL* 基因家族共线性关系及非同义替换率(Ka)和同义替换率(Ks)

Table.4 Collinearity of *PAL* gene family and non-synonymous rate (Ka) and synomous (Ks) in sweetpotato

共线性序列 1 Sequence1	共线性序列 2 Sequence2	Ka	Ks	Ka/Ks	共线性序列 1 Sequence1	共线性序列 2 Sequence2	Ka	Ks	Ka/Ks
<i>IbPAL8</i>	<i>IbPAL9</i>	0.034	0.177	0.193	<i>IbPAL27</i>	<i>IbPAL2</i>	0.000	0.000	NaN
<i>IbPAL7</i>	<i>IbPAL5</i>	0.001	0.016	0.076	<i>IbPAL26</i>	<i>IbPAL7</i>	0.066	1.528	0.043
<i>IbPAL7</i>	<i>IbPAL6</i>	0.000	0.028	0.000	<i>IbPAL26</i>	<i>IbPAL5</i>	0.068	1.529	0.044
<i>IbPAL7</i>	<i>IbPAL2</i>	0.066	1.528	0.043	<i>IbPAL26</i>	<i>IbPAL2</i>	0.001	0.028	0.022
<i>IbPAL7</i>	<i>IbPAL4</i>	0.000	0.028	0.000	<i>IbPAL25</i>	<i>IbPAL22</i>	0.001	0.054	0.011
<i>IbPAL6</i>	<i>IbPAL5</i>	0.001	0.016	0.076	<i>IbPAL25</i>	<i>IbPAL19</i>	0.001	0.063	0.020
<i>IbPAL6</i>	<i>IbPAL4</i>	0.000	0.000	NaN	<i>IbPAL25</i>	<i>IbPAL13</i>	0.002	0.078	0.032
<i>IbPAL6</i>	<i>IbPAL2</i>	0.066	1.564	0.042	<i>IbPAL25</i>	<i>IbPAL10</i>	0.001	0.063	0.020
<i>IbPAL5</i>	<i>IbPAL2</i>	0.067	1.529	0.044	<i>IbPAL24</i>	<i>IbPAL12</i>	0.003	0.042	0.074

<i>IbPAL5</i>	<i>IbPAL4</i>	0.001	0.016	0.076	<i>IbPAL22</i>	<i>IbPAL19</i>	0.001	0.074	0.008
<i>IbPAL4</i>	<i>IbPAL2</i>	0.066	1.564	0.042	<i>IbPAL22</i>	<i>IbPAL16</i>	0.001	0.099	0.012
<i>IbPAL33</i>	<i>IbPAL32</i>	0.003	0.064	0.047	<i>IbPAL22</i>	<i>IbPAL13</i>	0.002	0.078	0.024
<i>IbPAL33</i>	<i>IbPAL31</i>	0.003	0.058	0.052	<i>IbPAL22</i>	<i>IbPAL10</i>	0.001	0.074	0.008
<i>IbPAL33</i>	<i>IbPAL30</i>	0.005	0.080	0.064	<i>IbPAL22</i>	<i>IbPAL7</i>	0.057	1.043	0.055
<i>IbPAL33</i>	<i>IbPAL29</i>	0.003	0.064	0.047	<i>IbPAL22</i>	<i>IbPAL5</i>	0.058	1.020	0.057
<i>IbPAL32</i>	<i>IbPAL31</i>	0.002	0.075	0.024	<i>IbPAL22</i>	<i>IbPAL2</i>	0.075	1.226	0.061
<i>IbPAL32</i>	<i>IbPAL30</i>	0.001	0.069	0.018	<i>IbPAL19</i>	<i>IbPAL16</i>	0.001	0.092	0.007
<i>IbPAL32</i>	<i>IbPAL29</i>	0.001	0.008	0.156	<i>IbPAL19</i>	<i>IbPAL13</i>	0.001	0.045	0.027
<i>IbPAL31</i>	<i>IbPAL30</i>	0.002	0.092	0.020	<i>IbPAL16</i>	<i>IbPAL13</i>	0.002	0.085	0.022
<i>IbPAL31</i>	<i>IbPAL29</i>	0.002	0.079	0.023	<i>IbPAL16</i>	<i>IbPAL10</i>	0.001	0.092	0.007
<i>IbPAL30</i>	<i>IbPAL29</i>	0.000	0.069	0.000	<i>IbPAL16</i>	<i>IbPAL7</i>	0.057	1.174	0.049
<i>IbPAL28</i>	<i>IbPAL27</i>	0.001	0.063	0.010	<i>IbPAL16</i>	<i>IbPAL5</i>	0.058	1.147	0.051
<i>IbPAL28</i>	<i>IbPAL26</i>	0.001	0.067	0.018	<i>IbPAL16</i>	<i>IbPAL2</i>	0.075	1.358	0.055
<i>IbPAL28</i>	<i>IbPAL7</i>	0.065	1.534	0.042	<i>IbPAL15</i>	<i>IbPAL12</i>	0.004	0.039	0.110
<i>IbPAL28</i>	<i>IbPAL5</i>	0.066	1.535	0.043	<i>IbPAL13</i>	<i>IbPAL10</i>	0.001	0.045	0.027
<i>IbPAL28</i>	<i>IbPAL2</i>	0.001	0.063	0.010	<i>IbPAL13</i>	<i>IbPAL7</i>	0.056	1.059	0.053
<i>IbPAL27</i>	<i>IbPAL26</i>	0.001	0.028	0.022	<i>IbPAL13</i>	<i>IbPAL5</i>	0.057	1.035	0.055
<i>IbPAL27</i>	<i>IbPAL7</i>	0.066	1.528	0.043	<i>IbPAL13</i>	<i>IbPAL2</i>	0.076	1.299	0.058
<i>IbPAL27</i>	<i>IbPAL5</i>	0.067	1.529	0.044					

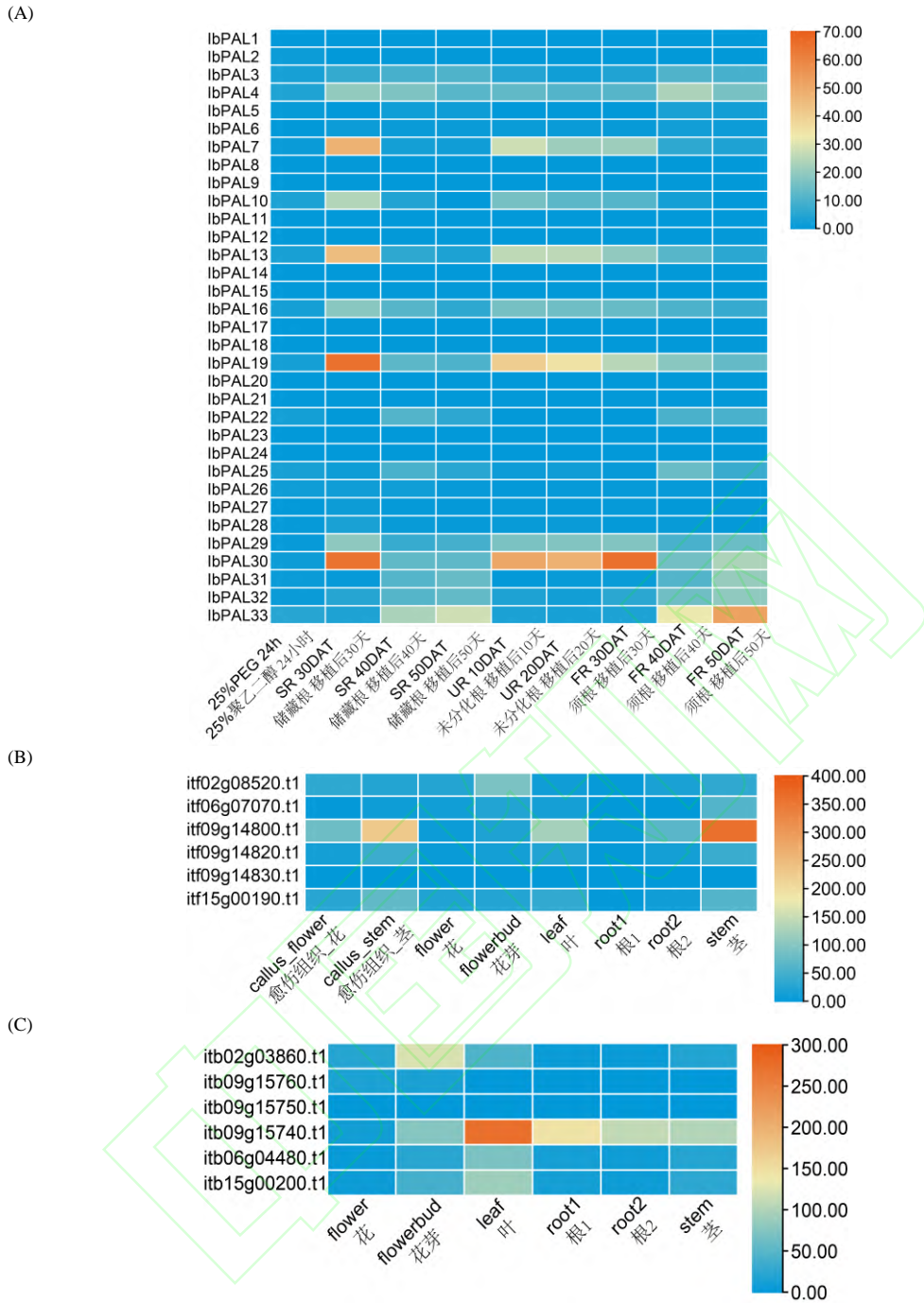
注：“NaN”表示运行无结果

Note: “NaN” indicates the results not obtained

2.6 甘薯 PAL 家族基因表达分析

利用甘薯、三裂裂野牵牛和三裂叶薯的转录组数据信息，分析 33 个甘薯 *IbPALs* 以及三裂裂野牵牛和三裂叶薯 *PALs* 基因的表达模式，并绘制热图，结果如图 8 所示。对 33 个 *IbPALs* 在非生物胁迫(干旱)以及不同根部发育时期的表达情况进行分析，在 25% PEG 处理 24h 后，*IbPALs* 基因的表达水平发生了变化，*IbPAL4*、*IbPAL13*、*IbPAL33* 表达量升高。*IbPAL19*、*IbPAL30* 在移植 30 天后的储藏根中表达量最高，且随着移植天数增加，表达量降低，*IbPAL33* 在储藏根中的表达量则随着时间增加而增加。在不分化根中，*IbPAL19* 和 *IbPAL30* 的表达量随着移植天数增加呈现下降趋势，其余 *IbPALs* 基因的表达量随着时间的变化无明显升降趋势(图 8A)。

在三裂裂野牵牛中，*itf09g14800.t1* 在茎中的表达量最高，在根和叶中也存在表达，在花中的表达量远远低于茎、根和叶中的表达量；*itf02g05852.t1* 在花芽中的表达量显著高于其他 *ItfPALs* 基因(图 8B)。三裂叶薯 PAL 基因 *itb09g15740.t1* 在花芽、叶、根、茎等组织部位中均存在表达，在叶片中的表达量最高，*itb02g03860.t1* 在花芽中存在表达，在叶、根、茎等部位中表达水平低(图 8C)。



(A)甘薯 *IbPALs* 基因在干旱、不同组织不同时期表达量; (B)三浅裂野牵牛 *ItfPALs* 基因在不同组织表达量; (C)三裂叶薯 *ItbPALs* 基因在不同组织表达量

(A)Expression of sweet potato *IbPALs* genes in drought and different tissues at different periods of time; (B)Expression of *Ipomoea trifida* *ItfPALs* genes in different tissues; (C)Expression of *Ipomoea triloba* *ItbPALs* genes in different tissues

图 8 *PALs* 基因表达水平分析

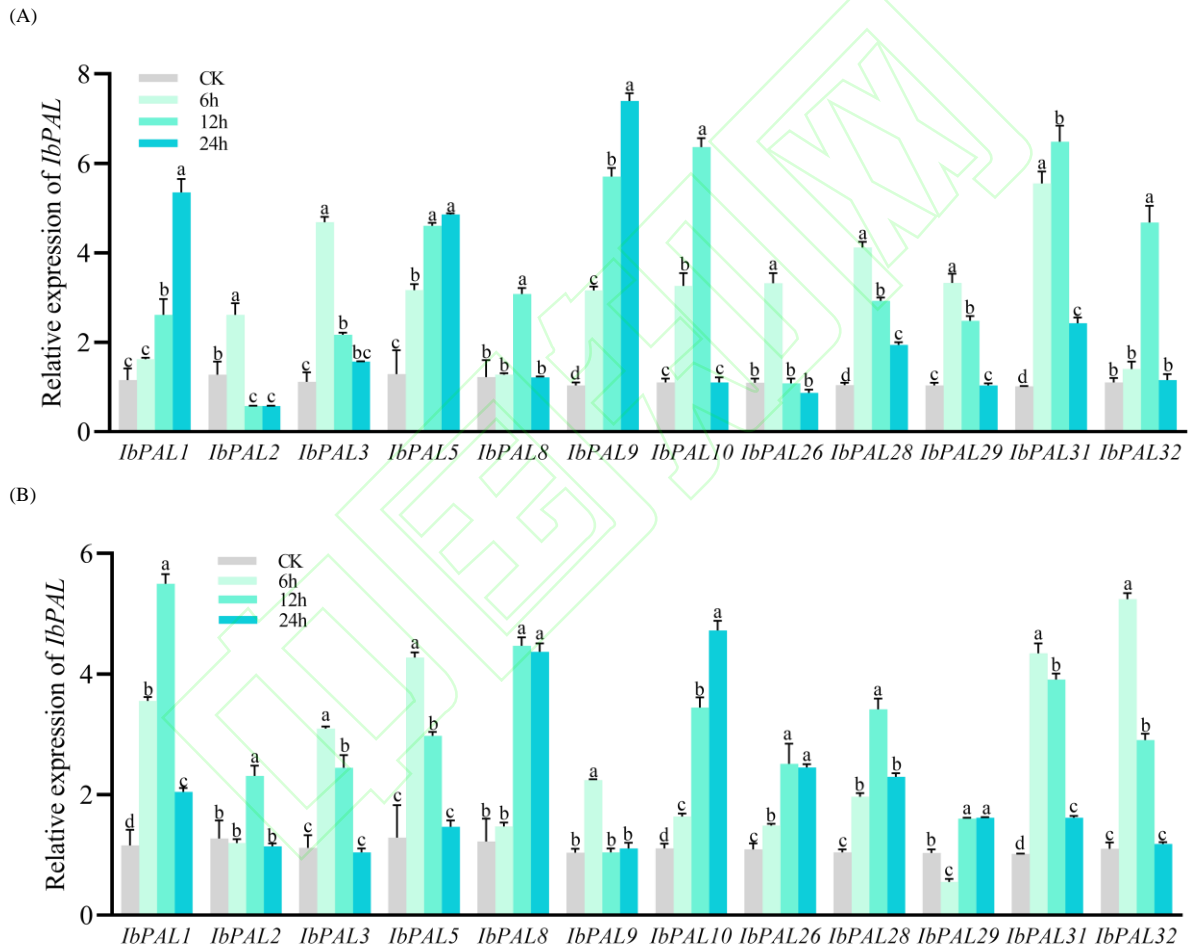
Fig. 8 Transcriptional profiling and expression levels of *PALs* genes

2.7 胁迫处理下甘薯 *IbPAL* 基因表达分析

对甘薯 *IbPAL* 家族基因在干旱和盐胁迫处理下不同时期的表达量进行分析, 结果如图 9 所示。在干旱胁迫下, *IbPAL1*、*IbPAL5*、*IbPAL9* 基因的表达量在 0–24 h 呈现上升趋势, 在 24 h 时达到表达量最高; *IbPAL8*、*IbPAL10*、*IbPAL32* 基因的表达量在 12 h 达到峰值, *IbPAL10* 在干旱胁迫下呈现先上升然后下降的趋势; *IbPAL2*、*IbPAL3*、*IbPAL26*、

IbPAL28、*IbPAL29* 基因表达量在 6 h 达到峰值，然后呈现下降趋势；*IbPAL32* 基因的表达量在 0–12 h 呈现上升趋势，且在 12 h 达到最高值，然后开始下降(图 9A)。

在盐胁迫下，对甘薯 *IbPAL* 基因的表达量分析发现，*IbPAL10* 基因的表达量在 0–24 h 呈现上升趋势，在 24 h 达到峰值；*IbPAL1*、*IbPAL2*、*IbPAL8*、*IbPAL26*、*IbPAL28*、*IbPAL29* 基因表达量在 12 h 达到最大值，*IbPAL1* 呈现表达量上升再下降的趋势，*IbPAL29* 表达量先下降然后再上升；*IbPAL3*、*IbPAL5*、*IbPAL9*、*IbPAL31*、*IbPAL32* 的表达量在 6 h 达到峰值，*IbPAL3*、*IbPAL5*、*IbPAL9*、*IbPAL31*、*IbPAL32* 在表达量达到峰值后开始呈现下降趋势(图 9B)。



(A)甘薯 *IbPALs* 基因在干旱胁迫下不同时期表达量；(B) 甘薯 *IbPALs* 基因在盐胁迫下不同时期表达量；CK: 对照；6h: 处理 6 小时；12h: 处理 12 小时；24h: 处理 24 小时；不同小写字母表示在 $p \leq 0.05$ 水平上差异显著

(A)Expression of sweet potato *IbPALs* genes in drought stress at different periods of time; (B) Expression of sweet potato *IbPALs* genes in salt stress at different periods of time; CK: control check; 6h: treatment for 6 hours; 12h: treatment for 12 hours; 24h: treatment for 24 hours; different lowercase letters indicate significant differences between the data at $p \leq 0.05$

图 9 *PALs* 基因响应干旱和盐胁迫 qRT-PCR 分析

Fig. 9 Transcriptional profiling and expression levels of *PALs* genes

3 讨论

在长期的进化过程中，植物形成了重要的次生代谢途径，参与响应自然界中的各种胁迫

迫^[23-24]。苯丙烷代谢是植物中最重要的三大次生代谢途径之一，该途径起始物质为苯丙氨酸，最终生成类黄酮、酚类、木质素等多种次生代谢产物，这些产物在植物抵御外界压力和逆境胁迫等方面发挥着重要作用^[25]。PAL 是植物初生代谢和苯丙烷代谢的纽带，对生物代谢具有重要的生理意义^[4]。对于甘薯 *PALs* 基因家族的研究鲜有报道。本研究在甘薯全基因组中鉴定 *PALs* 基因，对 *IbPALs* 的理化性质、保守基序信息、基因结构、系统进化、染色体定位和表达模式进行了研究，为了解甘薯 *PALs* 家族基因提供参考。

不同物种中的 *PAL* 数量不同，番茄(*Lycopersicon esculentum*)中 26 个^[26]，玉米(*Zey mays*)中 7 个^[6]，小麦中(*Triticum aestivum*)54 个^[27]。本研究从甘薯中鉴定得到了 33 个 *PAL* 基因，除了 *IbPAL1* 和 *IbPAL2* 基因在染色体上的定位不明确之外，其余 31 个 *PAL* 基因分别定位在 2 号、6 号、9 号和 15 号染色体上(图 4)。33 个基因的 CDS 序列长度较长，*IbPAL1* 和 *IbPAL11* 的序列长度小于 2100 bp，其余 *IbPALs* 基因均在 2100 bp 以上，蛋白的氨基酸序列大小、相对分子量、等电点、不稳定系数、平均亲水性指数等(表 2)与其他植物中的 *PAL* 蛋白基本一致^[7, 28]。对 *IbPALs* 蛋白亚细胞定位预测显示 33 个 *PALs* 均在细胞质内(表 3)，说明其可能与马铃薯 *PALs* 在细胞质发挥的功能相同^[10]。分析发现，*IbPALs* 蛋白的二级结构均由 α -螺旋、延伸链、 β -转角、不规则卷曲等组成， α -螺旋和不规则卷曲在蛋白质结构中所占比例最大(表 3)。*IbPALs* 蛋白的三级结构均呈现相似的“海马状”，与其他植物中的 *PALs* 三级结构相似，*PALs* 的每个亚基与两个其他 *PALs* 蛋白的亚基头尾相连，构成稳定的四聚体结构^[29]。

高等植物的 *PALs* 基因的同源性较高，一般由 2 个外显子和 1 个内含子组成，*IbPALs* 基因中 *IbPAL11* 只包含 1 个外显子，其余 *IbPALs* 基因均包含 2 个外显子和 1 个内含子，证实了 *PALs* 在不同物种中同源性高，且 *IbPALs* 蛋白均包含 1 个保守结构域 Lyase_I_like superfamily(图 2)。构建不同物种 *PALs* 进化树，系统进化分析显示来甘薯、三裂野牵牛和三裂叶薯的 *PALs* 被聚类在一起，拟南芥和水稻的 *PALs* 被聚类在一起，表明同属旋花科的 *PALs* 蛋白同源性高，与拟南芥和水稻中的蛋白同源性较低。

启动子顺式作用元件广泛存在于基因中，影响到基因的表达，在基因发挥功能的过程中起到重要作用^[30]。甘薯 *PALs* 基因启动子上分布多样化的顺式作用调控元件也可能反映了基因的功能分化，本研究中甘薯 *IbPALs* 基因启动子顺式作用元件分析显示，*IbPALs* 启动子中包含逆境胁迫、激素、植物生长发育等响应元件，其中逆境胁迫应答元件主要以干旱胁迫响应元件(MBS)为主，激素应答元件主要是脱落酸(ABRE)、茉莉酸甲酯(CGTC-motif)、水杨酸响应元件(TGACG-motif)、生长素(TGA-element)等，植物生长发育响应元件

主要是光应答元件(G-box、Box 4)、细胞周期调控元件等,该结果与番茄 PAL 基因家族启动子顺式作用元件一致^[31],推测甘薯 PALs 基因家族可能在甘薯逆境胁迫应答、激素响应、生长发育等过程中发挥重要作用。

基因间共线性关系反应了相同或不同基因组中的基因在染色体位置和顺序上的相似性,通过共线性分析可以帮助理解基因组的结构和演化过程,并揭示不同物种之间的亲缘关系。对甘薯与拟南芥、三浅裂野牵牛和三裂叶薯 PALs 基因的共线性进行分析,发现甘薯拟南芥、三浅裂野牵牛和三裂叶薯之间存在多对共线性基因对,说明甘薯 PAL 基因在进化时具有一定的保守性(图 6)。甘薯 PALs 基因间存在共线性关系,且共线性基因对的 Ka/Ks 值小于 1,说明 *IbPALs* 基因在进化中受到纯化选择(表 4)。

PAL 家族成员是植物生长发育调节中一类重要的蛋白,在植物遭受逆境胁迫时 PAL 基因表达发生变化,如番茄 *SIPAL5* 基因受到干旱和盐胁迫的显著诱导^[32];当处于低温环境,黄瓜 PAL 基因表达量上升^[33]。本研究对不同处理下甘薯转录组数分析发现,*IbPALs* 基因在干旱胁迫下表达量上升,如 *IbPAL4*、*IbPAL13*、*IbPAL33*,预测这 3 个基因可能正调控甘薯抗旱。研究发现,PAL 基因在植物不同部位中存在表达差异,如三尖杉的 PAL 基因主要在根和茎叶中表达^[34]。*IbPALs* 基因在甘薯储藏根、不分化根和须根中的表达量存在差异,*IbPAL33* 在移植后 50 天的须根中表达量高,*IbPAL4* 在移植后 40 天的须根中表达量高,*IbPAL30* 在移植后 30 天的须根中表达量高。在移植后 10 天的不分化根中,*IbPAL7*、*IbPAL13*、*IbPAL19*、*IbPAL30* 的表达量最高,表明在不同组织中甘薯 *IbPALs* 基因的表达存在差异性,*IbPAL7*、*IbPAL13*、*IbPAL19*、*IbPAL30* 等基因在甘薯的组织中发挥重要作用。对三浅裂野牵牛和三裂叶薯 PALs 基因表达进行分析,*itf09g14800.t1* 在茎中表达量最高,*itb09g15740.t1* 在叶片中的表达量最高,表明 *itf09g14800.t1*、*itb09g15740.t1* 在植物叶片和茎中发挥重要作用。在干旱和不同组织中表达量高的基因可作为甘薯转基因工程的潜在目的基因,为后续开展甘薯转基因育种提供参考。甘薯中关于 PAL 基因的研究发现,*IbPAL* 基因在甘薯茎尖和叶中表现出组织特异性,*IbPAL* 基因的表达量还与绿原酸代谢高度相关,但甘薯 PALs 基因在干旱和盐胁迫等逆境中的表达模式研究尚少^[35]。本研究还对不同胁迫处理下的 *IbPAL* 基因表达模式进行了分析,结果表明,*IbPAL* 基因响应干旱、盐等胁迫,且不同处理条件及不同处理时间下表达量存在差异(图 9),表明 *IbPAL* 基因参与甘薯响应逆境的过程,推测其在植物抵御逆境等方面发挥着重要作用。

综上所述,本研究在全基因组水平对甘薯 PAL 家族基因进行了鉴定和生物信息学分析,同时对甘薯 PAL 家族基因的组织表达特性和在逆境胁迫下的响应进行了分析,并用

qRT-PCR 对不同胁迫处理下 *IbPAL* 基因表达量进行了分析, 为进一步鉴定甘薯 PAL 家族基因在甘薯中发挥的功能提供了参考, 为甘薯的转基因育种提供了候选基因。

参考文献

- [1] Barros J, Dixon R A. Plant phenylalanine/tyrosine ammonia-lyases. *Trends in Plant Science*, 2020, 25(1): 66-79.
- [2] Sharma H, Chawla N, Dhatt A S. Role of phenylalanine/tyrosine ammonia lyase and anthocyanidin synthase enzymes for anthocyanin biosynthesis in developing *Solanum melongena* L. genotypes. *Physiologia Plantarum*, 2022, 174(5): e13756.
- [3] Koukol J, Conn E E. The metabolism of aromatic compounds in higher plants. IV. Purification and properties of the phenylalanine deaminase of *Hordeum vulgare*. *Journal of Biological Chemistry*, 1961, 236: 2692-2698.
- [4] Baldi P, Moser M, Brilli M, Vrhovsek U, Pindo M, Si-Ammour A. Fine-tuning of the flavonoid and monolignol pathways during apple early fruit development. *Planta*, 2017, 245(5): 1021-1035.
- [5] Olsen K M, Lea U S, Slimestad R, Verheul M, Lillo C. Differential expression of four *Arabidopsis* PAL genes; *PAL1* and *PAL2* have functional specialization in abiotic environmental-triggered flavonoid synthesis. *Journal of Plant Physiology*, 2008, 165(14): 1491-1499.
- [6] Zhang X, Liu C J. Multifaceted regulations of gateway enzyme phenylalanine ammonia-lyase in the biosynthesis of phenylpropanoids. *Molecular Plant*, 2015, 8(1): 17-27.
- [7] 秦余, 田春尧, 赵咏洋, 黄思沛, 宋思敏, 廖海. 拟南芥 *PAL* 基因家族鉴定及表达模式分析. *四川大学学报: 自然科学版*, 2022, 59(6): 172-178.
Qin Y, Tian C Y, Zhao Y Y, Huang S P, Song S M, Liao H. Identification and expression pattern analysis of *PAL* family genes in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Sichuan University: Natural Science Edition*, 2022, 59(6): 172-178.
- [8] 曾嘉丽, 欧阳林娟, 刘家林, 贺浩华, 朱昌兰, 彭小松, 贺晓鹏, 傅军如, 陈小荣, 边建民, 徐杰, 孙晓棠, 周大虎, 胡丽芳. 水稻 *PAL* 基因的全基因组分析及胁迫表达研究. *基因组学与应用生物学*, 2018, 37(9): 3881-3888.
Zeng J L, Ouyang L J, Liu J D, He H H, Zhu C L, Peng X S, He X P, Fu J R, Chen X R, Bian J M. Whole genome analysis and stress expression research of *PAL* gene in rice. *Genomics and Applied Biology*, 2018, 37(9): 3881-3888.
- [9] Reichert A I, He X Z, Dixon R A. Phenylalanine ammonia-lyase (*PAL*) from tobacco (*Nicotiana tabacum*): characterization of the four tobacco *PAL* genes and active heterotetrameric enzymes. *Biochemical Journal*, 2009, 424(2): 233-242.
- [10] Mo F Y, Li L, Zhang C, Yang C H, Chen G, Niu Y, Si J X, Liu T, Sun X X, Wang S L, Wang D D, Chen Q, Chen Y. Genome-wide analysis and expression profiling of the phenylalanine ammonia-lyase gene family in *Solanum tuberosum*. *International Journal of mechanical Sciences*, 2022, 23(12): 6833.
- [11] Zhao T, Li R M, Yao W, Wang Y J, Zhang C H, Li Y. Genome-wide identification and characterisation of phenylalanine ammonia-lyase gene family in grapevine. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 2021, 96(4): 456-468.
- [12] Zhang X, Shen Y Z, Mu K B, Cai W H, Zhao Y Y, Shen H, Wang X H, Ma H. Phenylalanine ammonia lyase *GmPAL1.1* promotes seed vigor under high-temperature and -humidity stress and enhances seed germination under salt and drought stress in transgenic *Arabidopsis*. *Plants (Basel)*, 2022, 11(23): 2329.
- [13] Qin Y, Li Q E, An Q J, Li D X, Huang S P, Zhao Y Y, Chen W J, Zhou J Y, Liao H. A phenylalanine ammonia lyase from *Fritillaria unibracteata* promotes drought tolerance by regulating lignin biosynthesis and SA signaling pathway. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2022, 213: 574-588.
- [14] Zang Y, Jiang T, Cong Y, Zheng Z J, Ouyang J. Molecular characterization of a recombinant *Zea mays* phenylalanine ammonia-lyase (*ZmPAL2*) and its application in *trans*-cinnamic acid production from L-Phenylalanine. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2015, 176(3): 924-937.
- [15] Zhou M P, Hayden M J, Zhang Z Y, Lu W Z, Ma H X. Saturation and mapping of a major *Fusarium* head blight resistance QTL on chromosome 3BS of Sumai 3 wheat. *Journal of Applied Genetics*, 2010, 51(1): 19-25.
- [16] You X M, Fang H, Wang R Y, Wang G L, Ning Y S. Phenylalanine ammonia lyases mediate broad-spectrum resistance to pathogens and insect pests in plants. *Science Bulletin*, 2020, 65(17): 1425-1427.

- [17] 仪丹. 茶树两个响应低温与干旱胁迫的苯丙氨酸解氨酶基因克隆、表达与功能分析. 西南大学, 2020.
Yi D. Cloning, expression and functional analysis of two phenylalanine ammonia-lyase genes of *Camellia sinensis* in response to low temperature and drought stress. Southwest university, 2020.
- [18] 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. 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 sweetpotato production and seed industry in China. *Scientia Agricultura Sinica*, 2021, 54(3): 483-492.
- [19] Yang J, Moeinzadeh M H, Kuhl H, Helmuth J, Xiao P, Haas S, Liu G L, Zheng J L, Sun Z, Fan W J, Deng G F, Wang H, Hu F H, Zhao S S, Fernie A R, Boerno S, Timmermann B, Zhang P, Vingron M. Haplotype-resolved sweet potato genome traces back its hexaploidization history. *Nature Plants*, 2017, 3(9): 696-703.
- [20] 张欢, 杨乃科, 商丽丽, 高晓茹, 刘庆昌, 翟红, 高少培, 何绍贞. 甘薯抗旱相关基因 *IbNAC72* 的克隆与功能分析. 作物学报, 2020, (11): 1649-1658.
Zhang H, Yang N K, Shang L L, Gao X R, Liu Q C, Zhai H, Gao S P, He S Z. Cloning and functional analysis of a drought tolerance-related gene *IbNAC72* in sweet potato. *Acta Agronomica Sinica*, 2020, (11): 1649-1658.
- [21] Yan M X, Nie H Z, Wang Y Z, Wang X Y, Jarret R, Zhao J M, Wang H X, Yang J. Exploring and exploiting genetics and genomics for sweetpotato improvement: Status and perspectives. *Plant Communications*, 2022, 3(5): 100332.
- [22] Chen C J, Wu Y, Li J, Wang X, Zeng Z H, Xu J, Liu Y L, Feng J T, Chen H, He Y H, Xia R. TBtools-II: A "one for all, all for one" bioinformatics platform for biological big-data mining. *Molecular Plant*, 2023, 16(11): 1733-1742.
- [23] Sun Y, Fernie A R. Plant secondary metabolism in a fluctuating world: climate change perspectives. *Trends in Plant Science*, 2023, 29(5): 560-571.
- [24] Dong B R, Jiang R, Chen J F, Xiao Y, Lv Z Y, Chen W S. Strategic nanoparticle-mediated plant disease resistance. *Critical Reviews in Biotechnology*, 2023, 43(1): 22-37.
- [25] Liu Q, Luo L, Zheng L. Lignins: Biosynthesis and biological functions in plants. *International Journal of Mechanical Sciences*, 2018, 19(2): 335.
- [26] Chang A, Lim M H, Lee S W, Robb E J, Nazar R N. Tomato phenylalanine ammonia-lyase gene family, highly redundant but strongly underutilized. *Journal of Biological Chemistry*, 2008, 283(48): 33591-33601.
- [27] Zhan C, Li Y T, Li H, Wang M R, Gong S J, Ma D F, Li Y. Phylogenomic analysis of phenylalanine ammonia-lyase (PAL) multigene family and their differential expression analysis in wheat (*Triticum aestivum* L.) suggested their roles during different stress responses. *Frontiers in Plant Science*, 2022, 13: 982457.
- [28] Gao X G, Hu Y P, Xu Z B, Peng D Q, Guo Q R. Expression profiling of the phenylalanine ammonia-lyase (PAL) gene family in *ginkgo biloba* L. *Plant Signaling and Behavior*, 2023, 18(1): 2271807.
- [29] Chai P P, Cui M J, Zhao Q, Chen L J, Guo T D, Guo J K, Wu C D, Du P, Liu H, Xu J, Zheng Z, Huang B Y, Dong W Z, Han S Y, Zhang X Y. Genome-wide characterization of the phenylalanine ammonia-lyase gene family and their potential roles in response to *Aspergillus flavus* L. Infection in cultivated peanut (*Arachis hypogaea* L.). *Genes (Basel)*, 2024, 15(3): 265.
- [30] Cui Y, Cao Q, Li Y P, He M Q, Liu X G. Advances in cis-element- and natural variation-mediated transcriptional regulation and applications in gene editing of major crops. *Journal of Experimental Botany*, 2023, 74(18): 5441-5457.
- [31] Zhang F L, Wang J, Li X G, Zhang J, Liu Y X, Chen Y J, Yu Q H, Li N. Genome-wide identification and expression analyses of phenylalanine ammonia-lyase gene family members from tomato (*Solanum lycopersicum*) reveal their role in root-knot nematode infection. *Frontiers in Plant Science*, 2023, 14: 1204990.
- [32] Guo J, Wang M H. Characterization of the phenylalanine ammonia-lyase gene (*SIPAL5*) from tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *Molecular Biology Reports*, 2009, 36(6): 1579-1585.
- [33] 董春娟, 李亮, 曹宁, 尚庆茂, 张志刚. 苯丙氨酸解氨酶在诱导黄瓜幼苗抗寒性中的作用. 应用生态学报, 2015, 26(7): 2041-2049.
Dong C J, Li L, Cao N, Shang Q M, Zhang Z G. Roles of phenylalanine ammonia-lyase in low temperature tolerance in cucumber seedlings. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2015, 26(7): 2041-2049.

- [34] He Y D, Zhong X H, Jiang X F, Cong H Q, Sun H, Qiao F. Characterisation, expression and functional analysis of PAL gene family in *Cephalotaxus hainanensis*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2020, 156: 461-470.
- [35] 饶莉萍, 苏文瑾, 刘意, 宋天晓, Soviguidi Reine Judesse, 杨新笋, 张文英. 甘薯苯丙氨酸解氨酶基因 *IbPAL* 的克隆与表达分析. *植物科学学报*, 2020, 38(3): 360-368.
- Rao L P, Su W J, Liu Y, Song T X, Soviguidi R J, Yang X S, Zhang W Y. Cloning and expression analysis of *Ipomoea batatas* (L.) Lam. gene *IbPAL*. *Plant Science Journal*, 2020, 38(3): 360-368.

