



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 IbGAPCp1 在干旱和盐胁迫下的表达及上游调控因子筛选
作者: 曹艳东, 白楠楠, 罗状, 郑亚婷, 赵彩良, 唐锐敏, 武小平, 贾峥嵘, 吴宇浩, 陈伟, 贺立恒, 贾小云
DOI: 10.13430/j.cnki.jpgr.20241113002
收稿日期: 2024-11-13
网络首发日期: 2025-02-12
引用格式: 曹艳东, 白楠楠, 罗状, 郑亚婷, 赵彩良, 唐锐敏, 武小平, 贾峥嵘, 吴宇浩, 陈伟, 贺立恒, 贾小云. 甘薯 IbGAPCp1 在干旱和盐胁迫下的表达及上游调控因子筛选[J/OL]. 植物遗传资源学报.
<https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20241113002>



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 *IbGAPCp1* 在干旱和盐胁迫下的表达及上游调控因子筛选

曹艳东¹, 白楠楠¹, 罗状², 郑亚婷², 赵彩良², 唐锐敏¹, 武小平³, 贾峥嵘⁴, 吴宇浩⁵,
陈伟³, 贺立恒², 贾小云¹

(¹山西农业大学生命科学学院/山西省特用作物遗传和代谢工程研究中心, 太谷 030801; ²山西农业大学农学院/山西省特用作物遗传和代谢工程研究中心, 太谷 030801; ³山西农业大学玉米研究所, 忻州 034000; ⁴山西农业大学高粱研究所, 晋中 030600; ⁵山西农业大学棉花研究所, 运城 044000)

摘要: 我国盐碱和干旱土地面积广大, 边际土地利用率低。甘薯作为重要的块根类作物, 在保障国家粮食安全方面具有重要意义。因此, 挖掘甘薯重要抗逆基因并培育甘薯抗逆新品种, 可有效地利用这些盐碱、干旱和边际土地, 对进一步提升土地资源利用率至关重要。GAPCp1 是定位于质体中的一种甘油醛-3-磷酸脱氢酶, 在植物生长发育和能量代谢中起重要作用。本研究以栗子香 (LZX) 为材料, 成功克隆了其开放阅读框 (ORF) 序列。亚细胞定位研究表明, *IbGAPCp1* 编码的蛋白质定位于叶绿体中。定量 PCR 分析显示, *IbGAPCp1* 在甘薯不同组织中均有表达, 其中叶片中的表达量最高; 随着块根的发育, *IbGAPCp1* 基因的表达逐渐升高, 在 105 d 时达到最高水平。为进一步探索 *IbGAPCp1* 基因的调控机制, 克隆了长为 1940 bp 的 *IbGAPCp1* 基因启动子序列 Pro-*IbGAPCp1*。顺式作用元件预测结果表明, Pro-*IbGAPCp1* 中含有多个与光响应、激素响应及分生组织表达等相关的元件。干旱和盐胁迫处理下 *IbGAPCp1* 基因的表达动态结果显示, *IbGAPCp1* 基因的表达均呈现先上升后下降的趋势, 表明该基因对盐和干旱胁迫具有一定的响应。进一步通过构建诱饵载体并利用酵母单杂交技术筛选出了与 *IbGAPCp1* 启动子区相互作用的 35 个上游调控因子, 其中包括乙烯不敏感蛋白 2、蔗糖合酶 2 及 MYB44 等。这些因子与植物的生长发育、次生代谢、能量产生及多种逆境响应 (如干旱、盐和低温) 等相关。本研究为深入探讨 *IbGAPCp1* 在甘薯非生物胁迫中的功能及作用机制提供了理论基础。

关键词: 甘薯; 质体甘油醛-3-磷酸脱氢酶; 酵母单杂交; 非生物胁迫

Expression of *IbGAPCp1* in Sweetpotato under Drought and Salt Stress and Screening of Upstream Regulatory Factors

CAO Yandong¹, BAI Nannan¹, LUO Zhuang², ZHENG Yating², ZHAO Cailiang², TANG Ruimin¹, WU Xiaoping³,
JIA Zhengrong⁴, WU Yuhao⁵, CHEN Wei³, HE Liheng², JIA Xiaoyun¹

(¹College of Life Sciences, Shanxi Agricultural University/Shanxi Engineering Research Center for Genetics and Metabolism of Special Crops, Taigu 030801;

收稿日期: 2024-11-13

网络出版日期:

URL:

第一作者研究方向为植物重要功能基因的挖掘与应用, E-mail: kkgxb592260@163.com

通信作者: 贾小云, 研究方向为薯类作物遗传育种, E-mail: ji Xiaoyun@sxau.edu.cn

基金项目: 山西省研究生科研创新项目 (2023KY321); 中央引导地方科技发展资金项目 (YDZJSX2024B007); 山西农业大学科技创新提升工程 (CXGC2023051, CXGC2023074); 山西省回国留学人员科研资助项目 (2021-074); 山西省基础研究计划 (202403021212098); 山西农业大学杂粮研究院项目 (Z120220502)

Foundation projects: The Graduate Research and Innovation Projects of Shanxi Province (2023KY321); The Central Guidance for Local Science and Technology Development Fund Project (YDZJSX2024B007); Science and Technology Innovation Enhancement Programs of Shanxi Agricultural University (CXGC2023051, CXGC2023074); Research Funding Project for Returned Overseas Students in Shanxi Province (2021-074); Shanxi Province Basic Research Program (202403021212098); Projects of the Millet Research Institute of Shanxi Agricultural University (Z120220502)

²College of Agriculture, Shanxi Agricultural University/Shanxi Engineering Research Center for Genetics and Metabolism of Special Crops, Taigu 030801;

³Maize Research Institute, Shanxi Agricultural University, Xinzhou 034000; ⁴Sorghum Research Institute, Shanxi Agricultural University, Jinzhong 030600;

⁵Institute of Cotton Research, Shanxi Agricultural University, Yuncheng 044000)

Abstract: China characterized by extensive saline-alkali and arid land, along with low utilization rate of marginal lands. As an important tuberous root crop, sweetpotato plays a significant role in ensuring national food security. Therefore, identifying important stress-resistance genes in sweetpotato and developing new resilient varieties can effectively utilize these saline-alkali, arid, and marginal lands, thereby significantly enhancing the utilization efficiency of land resources. GAPCp1, a glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase located in plastid, plays a crucial role in plant growth, development, and energy metabolism. In this study, using the sweetpotato variety Lizixiang (LZX) as the material, we successfully cloned the open reading frame (ORF) sequence of *IbGAPCp1*. Subcellular localization studies showed that the protein encoded by *IbGAPCp1* is localized in chloroplasts. Quantitative real-time PCR analysis showed that *IbGAPCp1* is expressed in all tested tissues of sweetpotato, with the highest transcription level in leaf tissues. The expression of *IbGAPCp1* gene increased gradually with the development of sweetpotato tuberous root and reaching its peak at 105 days. In order to further explore the regulatory mechanism of *IbGAPCp1* gene, we cloned a 1940 bp sequence of the *IbGAPCp1* gene promoter, designated as Pro-*IbGAPCp1*. The prediction of cis-acting elements showed that Pro-*IbGAPCp1* contains several elements related to photoresponse, hormone response and meristem expression. Under drought and salt stress treatments, *IbGAPCp1* gene exhibited a trend of first increasing and then decreasing, indicating that this gene responds to drought and salt stress. Additionally, 35 upstream regulators interacting with the promoter region of *IbGAPCp1* were screened by yeast one-hybrid technique, including ethylene-insensitive protein 2, sucrose synthase 2 and MYB44. These factors are involved in plant growth and development, secondary metabolism, energy production, and various stress responses, such as drought, salt and low temperatures. This study provides a theoretical basis for further study on the function and mechanism of *IbGAPCp1* in response to abiotic stress in sweetpotato.

Key words: sweetpotato; plastid glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase; yeast one-hybrid; abiotic stress

甘薯 [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.], 又名地瓜、山芋等, 为旋花科双子叶块根作物^[1], 是世界上广泛种植的薯类作物之一^[2], 对维护国家粮食安全具有重要作用。甘薯作为一种集粮食、蔬菜、工业原料和生物能源于一体的多功能作物^[3-5], 因富含蛋白质、膳食纤维、碳水化合物等多种人体必需的营养成分及 β -胡萝卜素、花青素和酚酸等抗氧化物质而备受青睐^[6-7]。我国盐碱和干旱土地面积广泛, 边际土地利用率低。甘薯具有高产和抗逆性强等特点, 在逆境条件下仍可维持相对稳定的生长和产量。因此, 甘薯重要抗逆基因的进一步挖掘及甘薯抗逆新品种的培育, 可更有效地利用这些盐碱和干旱土地, 缓解耕地压力。

糖酵解是生物体内能量代谢的核心途径, 基本作用是氧化己糖产生 ATP、NADH 和丙酮酸, 同时为合成代谢提供必要的前体物质。糖酵解途径关键酶甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH, glyceraldehyde-3-phosphate

dehydrogenase) 在真核和原核生物中均广泛存在, 对能量产生、DNA 修复、转录调控、糖和氨基酸平衡、根系生长及 ABA 信号转导等有重要的影响。高等植物体内, GAPDH 根据磷酸化状态的不同, 可以分为磷酸化和非磷酸化两大类型: 非磷酸化的 GAPDH (GAPN, non-phosphorylated glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase) 定位于胞质中, 可以催化甘油醛-3-磷酸转化为 3-磷酸甘油酸, 但不产生能量。除此之外, GAPN 还参与基因表达调节、免疫应答反应和氧化还原反应等多种生物功能^[8]; 磷酸化的 GAPDH 根据其在细胞中的定位可分为细胞质 GAPDH (GAPC, cytosolic glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase)、质体 GAPDH (GAPCp, plastid glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase) 和叶绿体中的 GAPDH (GAPA/B, chloroplastic glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase) 三类^[9]。GAPDH 在大豆中存在 16 个家族成员, 蛋白结构均包含两个高度保守的结构域: 负责结合 NAD (P)⁺ 的 N 端 Gp_dh_N 结构域 (PF00044) 和具有催化活性的 C 端 Gp_dh_C 结构域 (PF02800)^[10]。部分 GAPDH 还包括 CP12 结构域 (PF02672) 以进一步增强其功能。其它作物中有关 GAPDH 家族基因的研究中基本上都是结合亚细胞定位分为 4 个亚家族。例如, 在小麦中 *TaGAPDH* 有 22 个家族成员, 亚家族 I 对应于 *TaGAPA/B* 基因, 亚家族 II 对应于 *TaGAPCp* 基因, 亚家族 III 对应于 *TaGAPC* 基因, 亚家族 IV 对应于 *TaGAPN* 基因^[11]; 杨树中的 13 个 *PtGAPDH* 家族成员分为 *PtGAPA/B*、*PtGAPC*、*PtGAPCp* 和 *PtGAPN* 四组^[12]。

主要定位于胞质中的 GAPC 负责催化甘油醛-3-磷酸形成 1,3-二磷酸甘油酸这一可逆反应。研究表明, GAPC 在植物对生物及非生物胁迫响应中扮演着关键角色。例如, 拟南芥 *AtGAPC* 在热胁迫下会进入细胞核并与转录因子 NF-YC10 结合增强拟南芥的耐热性^[13]; 木薯 *MeGAPCs* 基因沉默后抗病性增加^[14]; 马铃薯 *StGAPC1* 过表达促进了硝酸盐转运蛋白表达, 改善了植株对氮的吸收与利用^[15]; 厌氧条件会诱导 *GAPC3* 和 *GAPC4* 的表达^[16]; 水稻 *OsGAPC3* 过表达提高了植株的抗盐性^[17]; 甘蓝 *BoGAPC* 基因的启动子区包含许多逆境和激素反应相关的元件^[18]。主要存在于叶绿体中的 GAPA/B 负责将 1,3-二磷酸甘油酸还原为甘油醛-3-磷酸。GAPB 是由 GAPA 基因复制而来的, 与 GAPA 相比, GAPB 具有一个特定的 C 末端延伸, 但两者均参与陆地植物的卡尔文循环途径^[19]。主要定位于质体中的 GAPCp 与磷酸甘油酸激酶共同催化甘油醛-3-磷酸形成 3-磷酸甘油酸。GAPCp 在植物生长发育及能量产生中同样扮演着重要角色。异养细胞质体中, GAPCp 为合成代谢途径提供 3-磷酸甘油酸, 促进种子中脂肪酸的生物合成^[20]。GAPCp 还通过丝氨酸生物合成的磷酸化途径 (PPSB) 成为碳和氮代谢的重要连接器。在拟南芥中, GAPCp 缺乏会导致 ABA 不敏感、ABA 信号转导途径受损及雄性不育等, 尤其在 *gapcp1gapcp2* 双突变体中, 拟南芥花粉表现出收缩和坍塌的表型且在体外培养时无法发芽^[21-22]; 此外, 在根尖中, GAPCp 的表达是初生根生长所必需的^[23]。

以上研究表明定位于胞质中的 GAPC 和定位于质体中的 GAPCp 在植物对干旱和盐等非生物胁迫具有一定的响应。然而, 在甘薯中还尚未见到关于 GAPDH 家族基因鉴定和功能方面的相关报道。本研究以甘薯品种 ‘栗子香’ 为材料, 成功克隆了 *IbGAPCp1* 基因的 ORF 序列, 并分析了该基因在不同发育时期、不同

组织以及干旱和盐胁迫处理下的表达模式。同时，克隆了 *IbGAPCp1* 基因的启动子序列，通过顺式作用元件预测，发现该启动子中包含多个与光响应、激素响应及分生组织表达等密切相关的元件。为进一步探究 *IbGAPCp1* 基因的调控机制，构建了酵母单杂交诱饵载体并从甘薯块根 cDNA 酵母文库中筛选与 *IbGAPCp1* 启动子相互作用的调控因子。为进一步研究 *IbGAPCp1* 基因在甘薯非生物胁迫中的作用机制提供了理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

所用材料为淡黄心甘薯品种‘栗子香’（简称为‘LZX’），种植于试验田。在扦插后的第 60、75、90、105 d 分别对植株的块根、茎段（距顶部约 15 cm 的茎段）和顶部第三片叶片进行取样，每个样品包括三个生物学重复。叶片和茎段用酒精棉擦拭，块根用水冲洗干净后切成小块，立即用液氮速冻，于-80 °C 冰箱保存。

1.2 试验方法

1.2.1 DNA 与 RNA 的提取及 cDNA 的合成 分别采用 CTAB 法和华越洋试剂盒（购自北京华越洋生物科技有限公司）提取基因组 DNA 和 RNA，通过核酸蛋白检测仪 Nano Drop 2000C（Thermo Scientific）检测 RNA 的质量后，使用 MonScript™ RTIII All-in-One Mix with dsDNase 反转录试剂盒（购自武汉莫纳生物科技有限公司）合成 cDNA。

1.2.2 *IbGAPCp1* 基因克隆及亚细胞定位载体的构建 以‘LZX’的 cDNA 为模板，利用基因特异性引物扩增获得 *IbGAPCp1* 的 ORF 序列，使用 Axygen DNA 凝胶回收试剂盒对扩增产物进行纯化回收，将回收产物与 pMD19-T 载体连接后转化至 DH5 α 感受态细胞中，挑取阳性单克隆提取质粒，送生工生物公司进行测序验证。将测序成功的阳性质粒 pMD19-T-*IbGAPCp1* 和亚细胞定位载体 pCAMBIA1301-35S-GFP 分别使用 *SalI* 和 *XbaI* 进行双酶切，将双酶切后回收的基因片段和载体片段通过 T4 DNA Ligase 于 16 °C 过夜连接后转化至 DH5 α 感受态细胞。使用 *IbGAPCp1*-F-*SalI* 和 *IbGAPCp1*-R-*XbaI*（表 1）进行菌落 PCR 鉴定，提取阳性克隆质粒，同时用 *SalI* 和 *XbaI* 进行双酶切验证重组质粒是否构建正确。

表 1 所用引物序列和用途

Table 1 Sequence and application of primer

引物名称	引物序列 (5'-3')	用途
Primer Name	Primer Sequence (5'-3')	Application
<i>IbGAPCp1</i> -F- <i>XbaI</i>	GCTCTAGAAATGGGGTTCTCTTCTCTCCT	ORF 序列扩增
<i>IbGAPCp1</i> -R- <i>SalI</i>	GCGTCGACGTTGGTGGCAGTAGCA	
<i>IbGAPCp1</i> -F- <i>SalI</i>	GCGTCGACATGGGGTTCTCTTCTCTCCT	<i>IbGAPCp1</i> 亚细胞定位载体构建

表 1 (续)

引物名称 Primer Name	引物序列 (5'-3') Primer Sequence (5'-3')	用途 Application
Pro-IbGAPCp1-F	GGCAATGGACCATTATGGT	Pro-IbGAPCp1 启动子序列扩增
Pro-IbGAPCp1-R	AAGCAGTATGACCTCTCCG	
Pro-IbGAPCp1-1-HindIII-F	<u>CCAAGCTT</u> CCCATGCACGTGTTTTTCATA	Pro-IbGAPCp1-1 段启动子序列扩增
Pro-IbGAPCp1-1-XhoI-R	<u>CCCTCGAGCC</u> GGTATGAAATAGTGAAAG	
qRT-IbActin -F	GACTACCATGTTCCCGGTA	qRT-PCR 分析
qRT-IbActin -R	TTGTATGCCACGAGCATCTT	
qRT-IbGAPCp1-F	ACCACCAATTGCCTTGCTCC	
qRT-IbGAPCp1-R	TTTGTGTGGCTGTGGTAGCG	
pAbAi-F	GCTCCTTCCTTCGTTCTTCCTTC	诱饵重组质粒酵母菌落 PCR 鉴定
pAbAi-R	CGGCTACATGGCAGTTTGGAG	
T7-F	TAATACGACTCACTATAGGGC	酵母阳性质粒鉴定
3'AD-R	GTAGATGGTGCACGATGCACAG	

下划线代表酶切位点

Underscores represent cleavage sites

1.2.3 IbGAPCp1 蛋白的亚细胞定位 将已经构建好的亚细胞定位载体 pCAMBIA1301-35S-IbGAPCp1-GFP 和空载 pCAMBIA1301-35S-GFP 利用液氮冻融法分别转化农杆菌 GV3101，挑单克隆划线进行菌液 PCR 鉴定，经 PCR 鉴定为阳性的菌液接种于 25 mL 的 LB 液体培养基中，在 28 °C，200 rpm 下过夜培养至 OD₆₀₀ 为 0.6。于 4 °C，12000 rpm 离心 10 min，弃上清，用含有 100 μmol/mL 乙酰丁香酮 (AS)、1 mmol/mL 2-吗啉乙磺酸 (MES) 和 1 mmol/mL MgSO₄ 的等体积悬浮液重悬菌体，室温孵育 3 h 后注射生长期约为 30 d (14 h 光照/10 h 黑暗，25 °C) 的本氏烟草叶片，暗培养 12 h，光照培养 24 h 后，置于 Leica STELLARIS 5 激光共聚焦显微镜 (德国徕卡) 下观察 IbGAPCp1 蛋白的定位情况。

1.2.4 IbGAPCp1 基因在不同生长时期和组织部位的表达 在甘薯生长周期中，60 d 进入结薯期；75 d 时地上部分和地下块根同时生长进入薯蔓并长期；90 d 时地下块根迅速增长进入薯块膨大期；而到了 105 d，甘薯的生长接近成熟，块根的淀粉积累达到高峰。为了研究薯块不同发育阶段 IbGAPCp1 基因的表达情况，使用 NCBI 的 Primer-BLAST (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>) 设计 qRT-PCR 引物 (表 1)，分别提取 60、75、90 和 105 d 的 'LZX' 块根及生长期为 90 d 的根、茎、叶的 RNA，反转录为 cDNA 后，

以 *IbActin* (AY905538) 为内参基因, 通过 qRT-PCR 分析 *IbGAPCp1* 在不同生长时期和组织部位中的相对表达量, 每个样品设置 3 个生物学重复, 采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算相对表达量。

1.2.5 *IbGAPCp1* 基因启动子克隆及顺式作用元件分析 甘薯 *IbGAPCp1* 启动子序列由甘薯参考基因组数据库 (<https://sweetpotato.uga.edu/>) 中比对获得。以 ‘LZX’ 的 DNA 为模板, Pro-*IbGAPCp1*-F 和 Pro-*IbGAPCp1*-R (表 1) 为引物进行 PCR 扩增, 产物纯化回收后与克隆载体 pMD19-T 连接, 连接产物转化至 DH5 α 感受态细胞, 挑取阳性单克隆提质粒, 测序比对后利用 Plant CARE (<https://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>) 在线网站对 *IbGAPCp1* 启动子的顺式作用元件进行分析。

1.2.6 干旱和盐胁迫下 *IbGAPCp1* 基因的表达模式分析 选取大田中生长旺盛的 ‘LZX’ 甘薯植株, 剪取长约 20 cm 的插条, 分别插入到含有 20 % PEG-6000 的 1/2 Hoagland 营养液及含有 200 mM NaCl 的 1/2 Hoagland 营养液中进行胁迫培养, 于 0、1、3、6、12、24 h 时取样, 液氮速冻后于 -80 °C 保存。以 *IbActin* 为内参基因, 通过 qRT-PCR 分析表达模式, 每个样品设置 3 个生物学重复, 采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算相对表达量。

1.2.7 pAbAi-Pro-*IbGAPCp1*-1 诱饵载体的构建及转化 为了更加精确的筛选出甘薯 *IbGAPCp1* 基因上游的调控因子, 选取包含一系列与脱落酸、乙烯响应及应激响应相关元件的 *IbGAPCp1* 基因启动子序列(-1106~-1391 bp 区域, 命名为 Pro-*IbGAPCp1*-1), 以克隆得到的启动子为模板, 根据 Pro-*IbGAPCp1*-1 的序列设计克隆引物 (表 1), 经纯化回收后与 pMD19-T 载体连接转化 DH5 α 感受态, 挑取阳性单克隆提取质粒。将阳性质粒和 pAbAi 酵母诱饵载体分别用 *Hind*III 和 *Xho*I 进行双酶切, 过柱回收后过夜连接, 提取阳性质粒并进行双酶切验证。利用限制性内切酶 *Bst*BI 将 pAbAi-Pro-*IbGAPCp1*-1 重组质粒线性化, 体系为: 6 μ L pAbAi-Pro-*IbGAPCp1*-1 质粒, 2 μ L 10 \times *Bst*BI buffer, 1 μ L *Bst*BI, 11 μ L ddH₂O。将线性化质粒转化到 Y1H 酵母菌株中, 涂布于 SD/-Ura 培养基, 30 °C 倒置培养 3-5 d 后, 经 PCR 鉴定诱饵重组质粒是否成功整合至 Y1H 酵母基因组中。

1.2.8 诱饵载体的自激活检测 挑取鉴定后正确的阳性单克隆, 用 0.9 % NaCl 溶液重悬菌体并调整至 OD₆₀₀ 为 0.002, 涂布于含不同浓度的金担子素 A (AbA, Aureobasidin A: 0 ng/mL、100 ng/mL、150 ng/mL 和 200 ng/mL) 的 SD/-Ura 的固体培养基上, 30 °C 培养 3-5 d 后观察酵母菌落的生长状况, 选择最佳的 AbA 浓度用于后期酵母单杂交筛库实验。

1.2.9 酵母单杂交文库筛选及阳性克隆的鉴定 按照欧易生物的酵母文库单杂交筛选说明将次级文库质粒转化到制备好的诱饵酵母感受态 pAbAi-Pro-*IbGAPCp1*-1 中, 取菌液分别涂布于 SD/-Leu/AbA* 的固体培养基上, 30 °C 下培养 3-5 d, 观察菌落的生长情况。

挑取 SD/-Leu/AbA* 的培养基上生长的单克隆, 在相同的培养基上划线进行二次筛选, 刮取菌液分别置于 3 mL 的 SD/-Leu 液体培养基中, 30 °C 摇床培养 24~36 h 后进行破壁处理, 通过琼脂糖凝胶电泳检测, 提

取阳性酵母质粒，将其转化至 DH5 α 感受态细胞，挑取阳性单克隆提取质粒，以 pGADT7 载体上的 T7-F 和 3'AD-R（表 1）为引物进行 PCR 鉴定，选择有条带的质粒测序，测序结果通过 NCBI 在线工具上的 BLAST (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastn&PAGE_TYPE=BlastSearch&LINK_LOC=blasthome) 进行序列比对分析和功能注释。

2 结果与分析

2.1 *IbGAPCp1* 基因克隆及亚细胞定位载体的构建

以 ‘LZX’ 的 cDNA 为模板，利用特异性引物克隆获得长度为 1281 bp 的 *IbGAPCp1* 基因 ORF 序列，与预期目的片段大小相符（图 1A）。重组质粒 pCAMBIA1301-35S-*IbGAPCp1*-GFP 的菌落 PCR 条带单一且大小为 1281 bp（图 1B）。*SalI* 和 *XbaI* 双酶切重组质粒后产生一条与空载大小相同的条带及一条 1281 bp 大小的条带（图 1C），表明 *IbGAPCp1* 亚细胞定位载体构建成功。

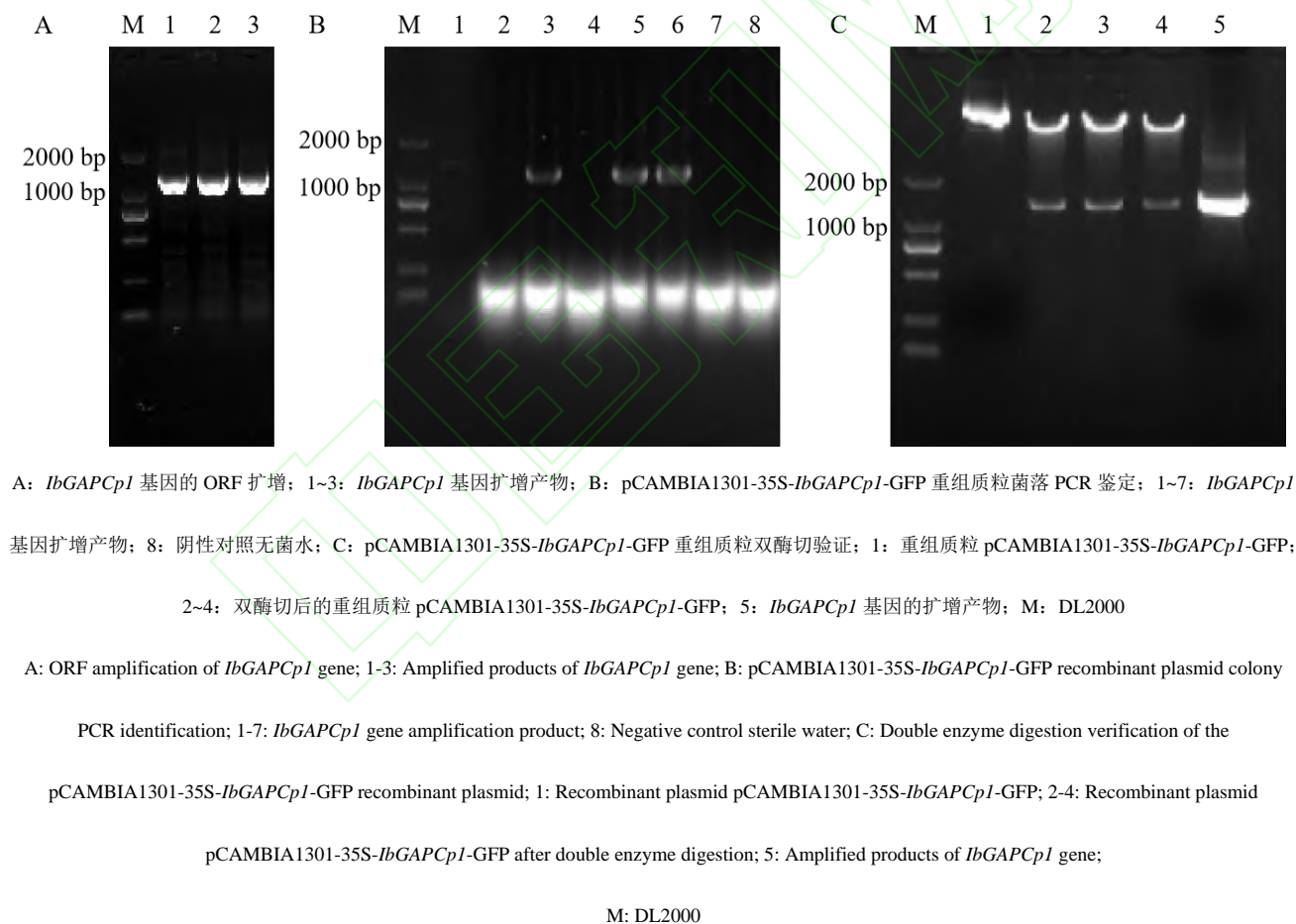


图 1 *IbGAPCp1* 基因克隆及亚细胞定位载体的构建

Fig.1 Cloning of *IbGAPCp1* gene and construction of subcellular localization vector

2.2 *IbGAPCp1* 蛋白定位于叶绿体

利用蛋白序列亚细胞定位在线工具 WoLF PSORT (<https://wolfsort.hgc.jp/>) 预测 *IbGAPCp1* 编码的蛋白

定位于叶绿体。为验证这一预测结果，将 pCAMBIA1301-35S-*IbGAPCp1*-GFP 重组质粒及 pCAMBIA1301-35S-GFP 空载体转化至农杆菌 GV3101 后注射烟草叶片。在 640 nm 波长的激发光下观察发现，转化空载体后整个细胞均呈现绿色荧光信号，而转化 pCAMBIA1301-35S-*IbGAPCp1*-GFP 的烟草叶片中，绿色荧光信号仅在叶绿体中观察到，且与叶绿体自发的红色荧光重合（图 2）。这一结果表明 *IbGAPCp1* 编码的蛋白质定位于叶绿体中，与预测结果一致。

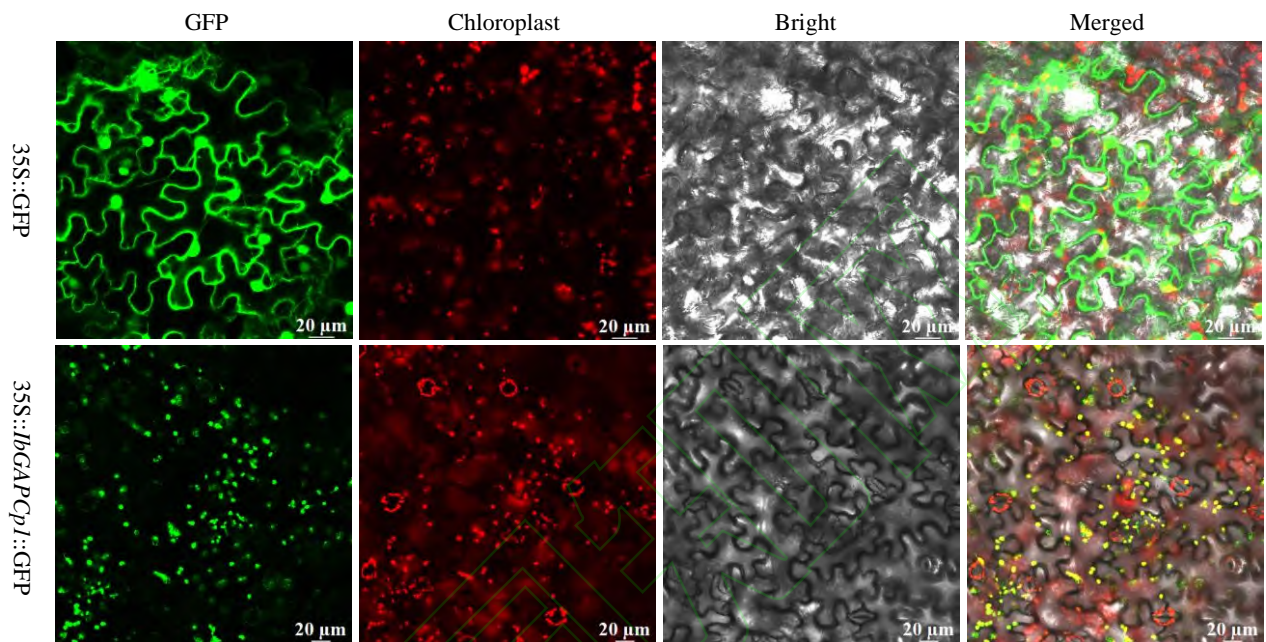
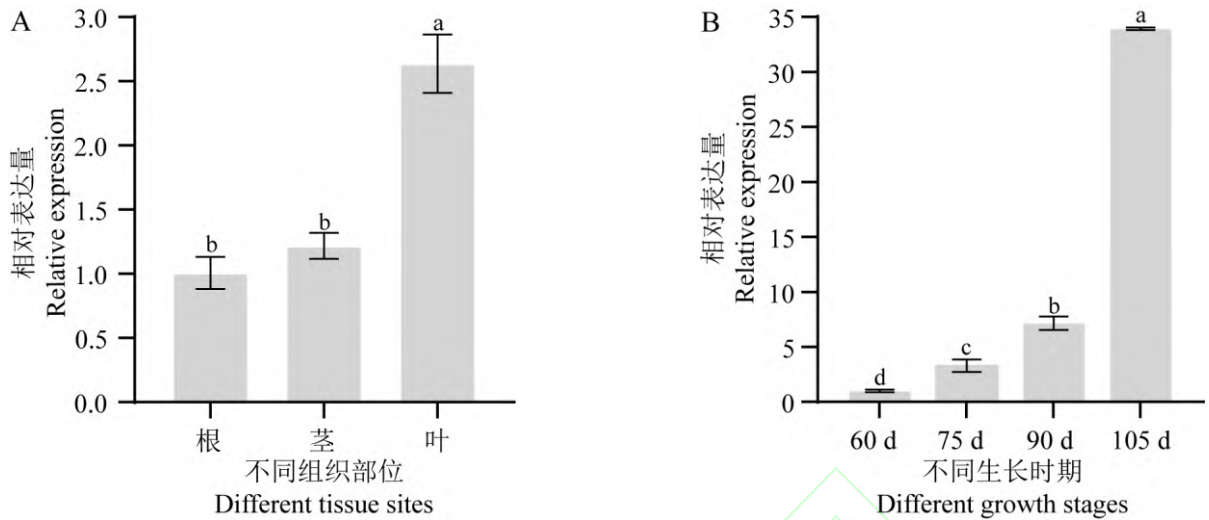


图 2 *IbGAPCp1* 亚细胞定位

Fig.2 Subcellular localization of *IbGAPCp1* protein

2.3 *IbGAPCp1* 在不同组织部位和生长时期的表达特性

以 ‘LZX’ 为材料，通过 qRT-PCR 分析了 *IbGAPCp1* 在生长期为 90 d 的甘薯不同组织部位（根、茎、叶）及块根不同生长时期（60、75、90、105 d）中的表达情况。结果显示，*IbGAPCp1* 在甘薯的不同组织中均有表达，且叶片中的表达量最高，约为根部的 2.63 倍，茎部表达量次之，约为根部的 1.2 倍（图 3A）。此外，随着甘薯块根的生长发育，*IbGAPCp1* 的表达量逐渐升高，在 105 d 时达到峰值（图 3B）。



A: *IbGAPCp1* 在生长期为 90 d 的甘薯不同组织中的表达分析; B: *IbGAPCp1* 在甘薯块根不同发育时期中的表达分析; 对于不同组织部位和生长期各处理间的差异显著性以不同小写字母标记 ($P < 0.05$)

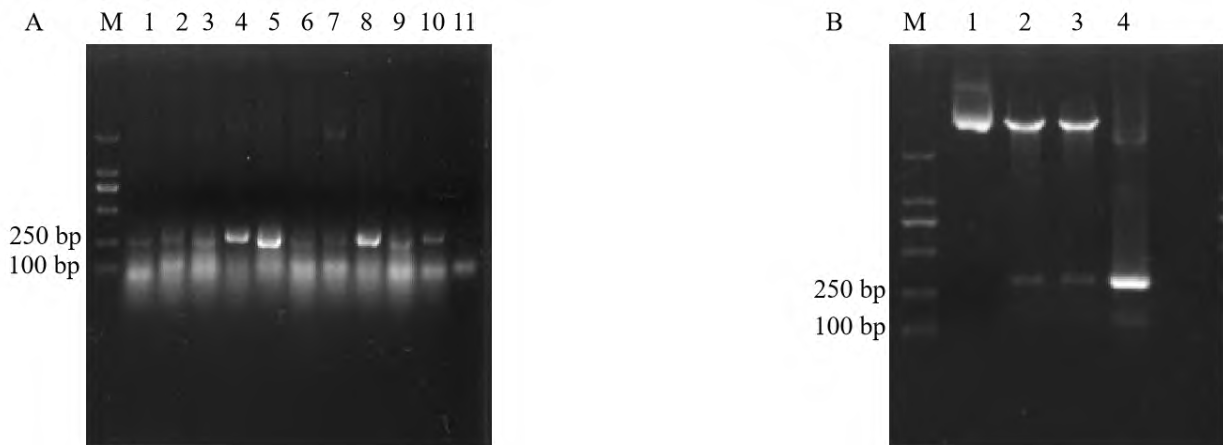
A: Expression analysis of *IbGAPCp1* in different tissues of sweetpotato at 90 days of growth; B: Expression analysis of *IbGAPCp1* in sweetpotato tuberous root at different developmental stages; Significance of differences between treatments under different tissue sites and growth periods marked with different lowercase letters ($P < 0.05$)

图 3 *IbGAPCp1* 在甘薯不同组织及不同生长时期的表达分析

Fig.3 Expression analysis of *IbGAPCp1* in different tissue and at different growth stages of sweetpotato

2.4 *IbGAPCp1* 基因启动子的克隆及诱饵载体的构建

以甘薯 ‘LZX’ 的 DNA 为模板，成功克隆得到了大小为 1940 bp 的 *IbGAPCp1* 基因启动子序列，以克隆得到的启动子序列为模板扩增 Pro-*IbGAPCp1*-1 片段，并通过琼脂糖凝胶电泳检测得到与预期片段大小一致的条带（图 4A）。测序比对结果显示相似度为 100%。进一步将克隆得到的 Pro-*IbGAPCp1*-1 和诱饵载体 pAbAi 分别进行双酶切回收后过夜连接，并转化至 DH5 α 感受态细胞。将得到的阳性重组诱饵质粒经 *Hind*III 和 *Xho*I 双酶切验证后，得到与预期相同大小的目的条带（图 4B），表明诱饵载体 pAbAi-Pro-*IbGAPCp1*-1 构建成功。



A: *Pro-IbGAPCp1-1* 菌落 PCR 鉴定; 1~10: *Pro-IbGAPCp1-1-HindIII-F* 和 *Pro-IbGAPCp1-1-XhoI-R* 为引物的扩增产物; 11: 阴性对照无菌水; B: *pAbAi-Pro-IbGAPCp1-1* 重组质粒双酶切验证; 1: 重组质粒 *pAbAi-Pro-IbGAPCp1-1*; 2~3: 双酶切后的重组质粒 *pAbAi-Pro-IbGAPCp1-1*; 4: *Pro-IbGAPCp1-1* 的 PCR 扩增产物; M: DL2000

A: *Pro-IbGAPCp1-1* colony PCR identification; 1-10: The amplification products obtained using *Pro-IbGAPCp1-1-HindIII-F* and *Pro-IbGAPCp1-1-XhoI-R* as primers; 11: Negative control sterile water; B: Double enzyme digestion verification of the *pAbAi-Pro-IbGAPCp1-1* recombinant plasmid; 1: Recombinant plasmid *pAbAi-Pro-IbGAPCp1-1*; 2-3: Recombinant plasmid *pAbAi-Pro-IbGAPCp1-1* after double enzyme digestion; 4: *Pro-IbGAPCp1-1* PCR amplification product; M: DL2000

图 4 *Pro-IbGAPCp1-1* 启动子克隆及诱饵载体的构建

Fig.4 Cloning of *Pro-IbGAPCp1-1* promoter and construction of bait vector

2.5 *IbGAPCp1* 基因启动子序列分析

使用在线网站 Plant CARE 对甘薯 *IbGAPCp1* 启动子顺式作用元件进行分析。结果显示, *IbGAPCp1* 启动子序列中除含有基本顺式作用元件 TATA-box、CAAT-box 和 AT~TATA-box 外, 还含有 6 类光响应相关元件 G-box、GT1-motif、AE-box、Box 4、TCT-motif 和 GATA-motif; 4 类激素响应相关元件, 如乙烯响应元件 ERE、茉莉酸甲酯响应元件 TGACG-motif、脱落酸响应元件 ABRE3a 和 ABRE; 1 类与分生组织表达相关的 CAT-box 元件; 2 类应激响应元件 STRE 和 As-1; 其他元件包括参与创伤响应、厌氧诱导所必需的调节元件、转录因子识别位点及 Myc 识别和结合元件 (表 2)。

表 2 *IbGAPCp1* 启动子序列中的顺式作用元件分析

Table 2 Analysis of *cis*-acting elements of *IbGAPCp1* promoter sequence

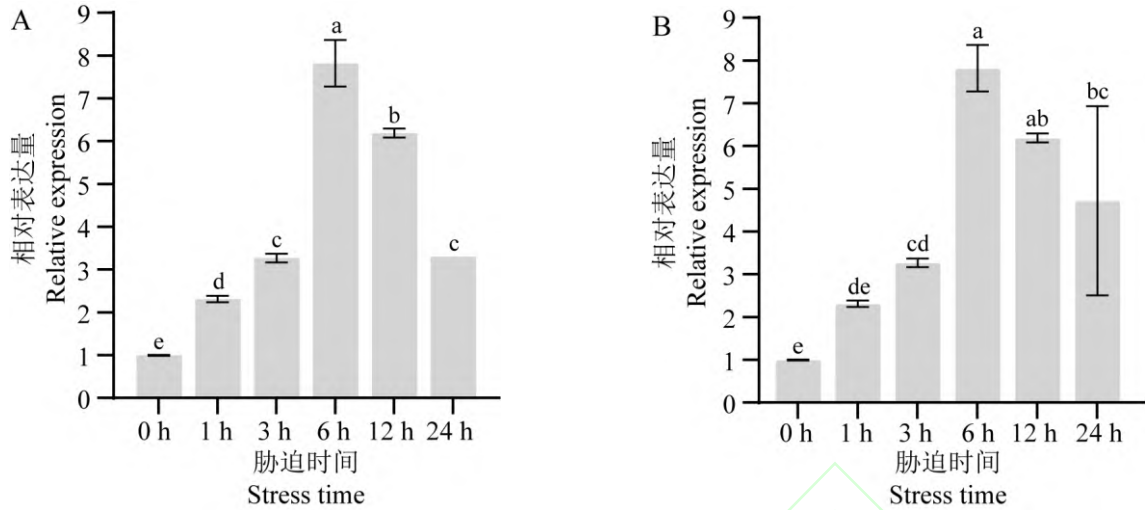
元件	序列	数量	功能
Element	Sequence	Number	Function
G-box	CACGTG	2	参与光响应的顺式作用元件
G-box	CACGTC	1	参与光响应的顺式作用元件
G-box	TACGTG	1	参与光响应的顺式作用元件

表 2 (续)

元件 Element	序列 Sequence	数量 Number	功能 Function
GT1-motif	GGTTAAT	1	光响应元件
AE-box	AGAAACTT	1	光响应模块的一部分
Box 4	ATTAAT	2	参与光响应的保守 DNA 模块的一部分
TCT-motif	TCTTAC	1	光响应元件的一部分
GATA-motif	GATAGGA	1	光响应元件的一部分
ERE	ATTCATA	1	乙烯响应元件
ERE	ATTTTAAA	1	乙烯响应元件
TGACG-motif	TGACG	2	参与茉莉酸甲酯响应的顺式作用元件
ABRE3a	TACGTG	1	参与脱落酸响应的顺式作用元件
ABRE	CACGTG	1	参与脱落酸响应的顺式作用元件
ABRE	ACGTG	2	参与脱落酸响应的顺式作用元件
ABRE	TACGGTC	1	参与脱落酸响应的顺式作用元件
CAT-box	GCCACT	1	与分生组织表达有关的顺式作用元件
STRE	AGGGG	2	应激响应顺式作用元件
As-1	TGACG	2	氧化应激响应元件
WRE3	CCACCT	2	伤害响应
W-box	TTGACC	1	创伤响应
WUN-motif	AAATTACT	1	创伤诱导响应元件
ARE	AAACCA	3	厌氧诱导必需的顺式作用元件
MYC	CATTTG	1	转录因子识别位点
Myc	TCTCTTA	2	Myc 识别和结合元件

2.6 *IbGAPCp1* 基因在干旱和盐胁迫下的表达模式

对甘薯植株进行干旱和盐胁迫处理,利用 qRT-PCR 检测 *IbGAPCp1* 基因在干旱和盐胁迫下的表达情况。结果显示,含有 20 % PEG-6000 和 200 mM NaCl 的干旱和盐胁迫均会诱导 *IbGAPCp1* 基因的表达(图 5)。在干旱和盐胁迫条件下,随着胁迫时间的增加,*IbGAPCp1* 基因的表达量均呈现出先上升后下降的趋势,且在胁迫处理 6 h 时,表达量达到峰值,约为 0 h 的 8 倍。这一结果表明 *IbGAPCp1* 基因的表达对干旱和盐胁迫均有一定的响应。



A: *IbGAPCp1* 在干旱胁迫下的表达分析; B: *IbGAPCp1* 在盐胁迫下的表达分析; 对于干旱和盐胁迫各处理间的差异显著性以不同小写字母标记 ($P < 0.05$)

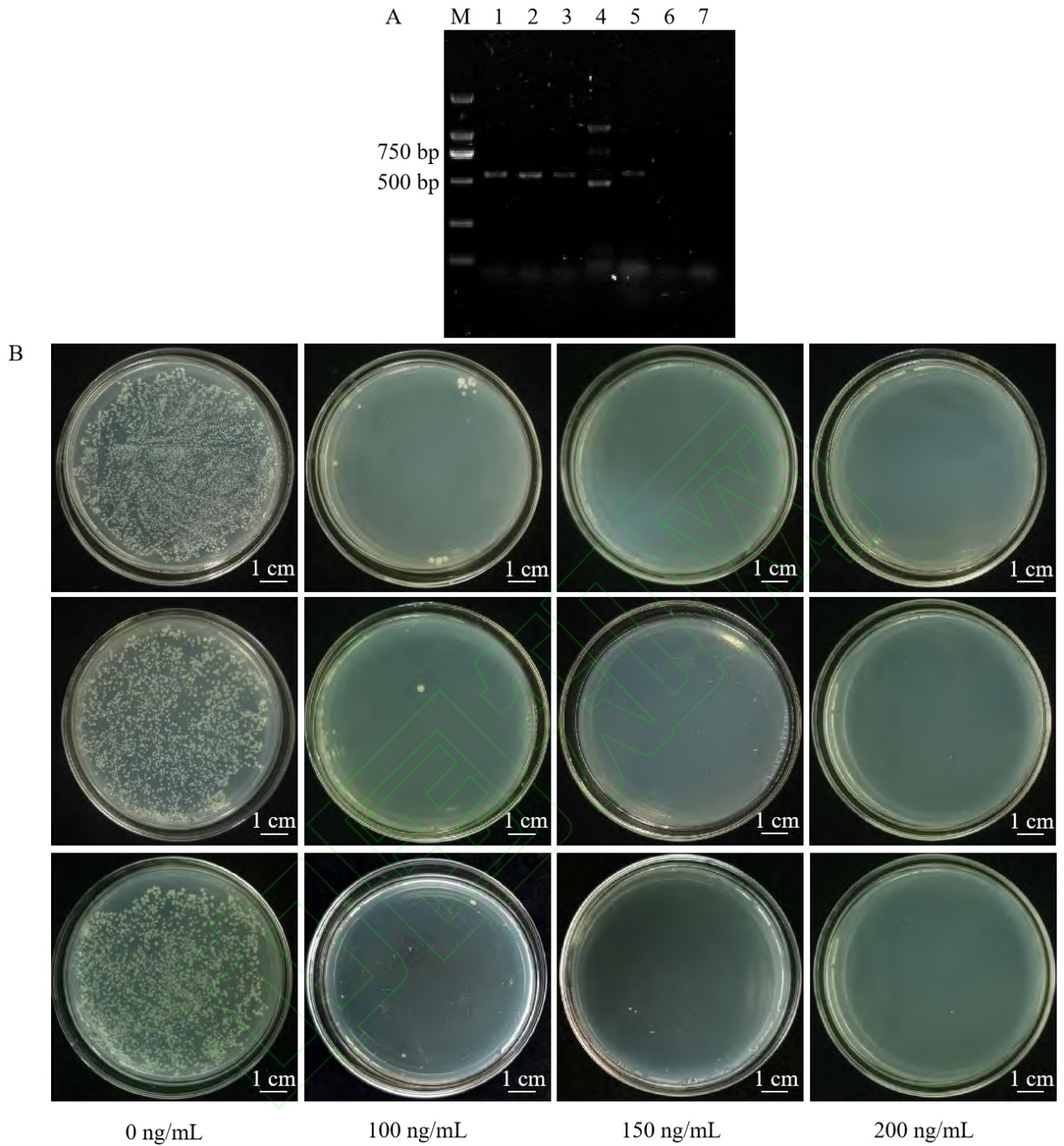
A: Analysis of *IbGAPCp1* expression under drought stress; B: Analysis of *IbGAPCp1* expression under salt stress; Significance of differences between treatments under salt and drought stress is marked with different lowercase letters ($P < 0.05$).

图 5 *IbGAPCp1* 在干旱和盐胁迫下的表达分析

Fig.5 Expression analysis of *IbGAPCp1* under salt and drought stresses

2.7 pAbAi-Pro-*IbGAPCp1*-1 诱饵载体的自激活检测

将 pAbAi-Pro-*IbGAPCp1*-1 诱饵重组质粒转化至 Y1H 后, 选择菌落 PCR 鉴定为阳性的菌液 (图 6A), 分别涂布到含有不同浓度 AbA 的 SD/-Ura 培养基上。结果显示, pAbAi-Pro-*IbGAPCp1*-1 在 SD/-Ura/AbA (150 ng/mL) 的培养基上只生长出一个菌落, 而在 SD/-Ura/AbA (200 ng/mL) 的培养基上则完全不生长 (图 6B), 表明 200 ng/mL 浓度的 AbA 能够抑制 pAbAi-Pro-*IbGAPCp1*-1 的自激活活性。



A: pAbAi-Pro-IbGAPCp1-1 酵母菌落 PCR 鉴定; 1-6: pAbAi-F 和 pAbAi-R 为引物的扩增产物; 7: 阴性对照无菌水; M: DL2000; B: pAbAi-Pro-IbGAPCp1-1

诱饵载体自激活检测

A: pAbAi-Pro-IbGAPCp1-1 yeast colony PCR identification; 1-6: pAbAi-F and pAbAi-R are amplified products of primers; 7: Negative control sterile water; M:

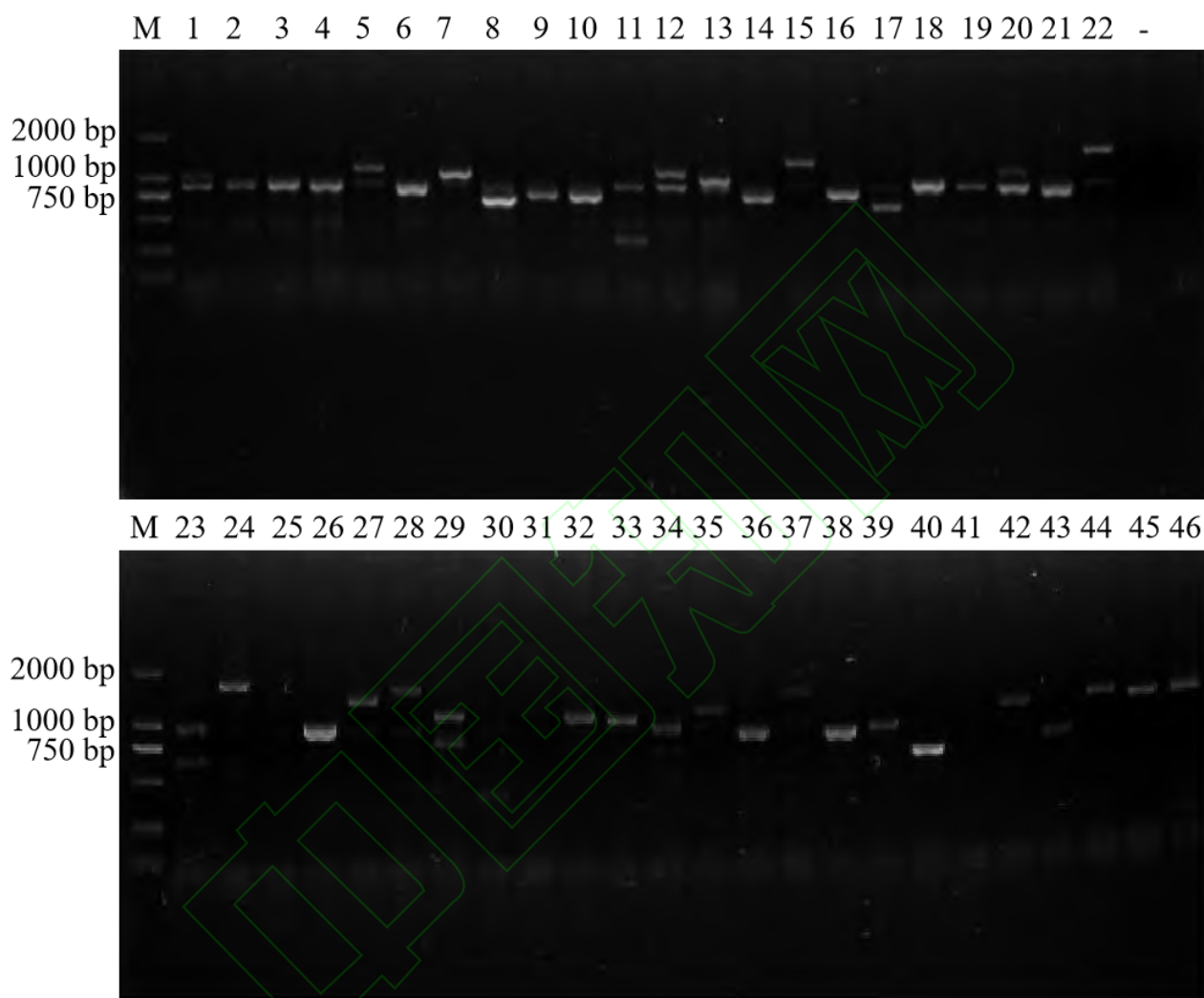
DL2000; B: Self-activation detection of the pAbAi-Pro-IbGAPCp1-1 bait vector

图 6 pAbAi-Pro-IbGAPCp1-1 阳性诱饵菌株鉴定及自激活检测

Fig.6 Identification and self-activation detection of pAbAi-Pro-IbGAPCp1-1 positive bait strains

2.8 酵母单杂交文库筛选

以 Y1H[pAbAi-Pro-*IbGAPCp1*-1]为诱饵菌株，在甘薯块根 cDNA 酵母次级文库质粒中筛选与之互作的结合蛋白，通过在 SD/-Leu/AbA (200 ng/mL) 的培养基上初筛和复筛后，共获得了 50 个阳性克隆。以通用引物 T7-F 和 3'AD-R 进行 PCR 扩增后，部分结果如图 7 所示，扩增产物大小均介于 500-2000 bp 之间。选取扩增条带明亮的阳性质粒送至生工生物公司测序。



1~46: 酵母阳性质粒的 PCR 片段; -: 阴性对照无菌水; M: DL2000

1-46: PCR fragments of yeast positive plasmid; -: negative control sterile water; M: DL2000

图 7 酵母阳性质粒 PCR 鉴定

Fig.7 PCR identification of positive plasmids

2.9 阳性克隆序列分析和功能注释

将测序所得到的序列通过 NCBI 在线网站上的 BLAST 进行比对，去掉重复、未表征及未比对上的序列后，最终得到了 35 个可能调控 *IbGAPCp1* 基因启动子的上游调控因子（表 3）。功能注释与分析结果显示，这些上游调控因子包括：在甘薯中特异表达的贮藏蛋白；参与蛋白质合成的核糖体蛋白；具有抗氧化和抗

癌功能的结合蛋白；与植物次生代谢和花青素合成相关的黄烷酮-3-羟化酶（F3H）；在转录调控和 DNA 修复中发挥功能的组蛋白；参与各种非生物胁迫且影响植物生长发育的蔗糖合酶 2 和 MYB44 等。这些结果为我们进一步揭示 *IbGAPCp1* 基因的调控网络和机制提供了线索。

表 3 Pro-*IbGAPCp1*-1 互作蛋白分析

Table 3 Analysis of proteins interacting with Pro-*IbGAPCp1*-1

编号 Number	蛋白名称 Protein Name	蛋白编号 Protein ID	功能注释 Function Annotations
1	贮藏蛋白 A	M16861.1	甘薯块根中的一种多功能贮藏蛋白，在植物生长发育中发挥功能
2	贮藏蛋白 B	M16883.1	甘薯块根中特异表达，提供生长发育所需的氮源和氨基酸
3	pTrip1Ex2-18 贮藏蛋白 A 前体	DQ195776.1	编码贮藏蛋白 A 的 mRNA 前体
4	组蛋白 H4	XM_031271466.1	在转录调控、DNA 修复、DNA 复制和染色体稳定性中发挥作用
5	40S 核糖体蛋白 S13 类似物	XM_031251527.1	参与核糖体组装和蛋白质合成
6	RNA 结合蛋白 pno1	XM_031259394.1	参与核糖体生物合成和蛋白质修饰过程
7	可能的 RNA 依赖性 RNA 聚合酶 1	XM_031266735.1	对植物病毒起至关重要的防御作用
8	真核生物翻译起始因子 1A	XM_031270345.1	在真核生物翻译起始过程中起关键作用
9	40S 核糖体蛋白 S12 类似物	XM_031269564.1	参与蛋白质合成
10	60S 核糖体蛋白 L21-2 类似物	XM_031245851.1	参与蛋白质合成
11	蛋白翻译因子 SUI1 同源物 2	XM_031263649.1	参与蛋白质合成
12	赖氨酸 tRNA 连接酶	XM_031270931.1	将赖氨酸（Lys）连接到相应的 tRNA 分子上，为蛋白质合成提供原料
13	NADH 脱氢酶[泛醌]1-亚复合物亚基 9	XM_019331359.1	有 NADH 脱氢酶活性和氧化还原酶活性，在线粒体呼吸链中起作用
14	伴侣蛋白 dnaJ11	XM_031263975.1	参与蛋白质折叠、装配和运输
15	β -胰蛋白酶-28-单加氧酶类似物	XM_031266341.1	在蛋白质分解方面起作用
16	DNAJ 蛋白同源物	XM_031252192.1	参与蛋白质稳态调控、植物对环境胁迫的响应
17	磷酸-2-脱氢-3-脱氧庚酮糖醛缩酶 2	XM_031272576.1	在芳香族氨基酸生物合成途径中起关键作用
18	SRC1 样蛋白	XM_031272391.1	调节基因表达、参与癌症发展、作为潜在药物靶点
19	CTP 合酶类似物	XM_031239064.1	在核苷酸代谢、细胞增殖及免疫反应中发挥作用
20	remorin 样蛋白	XM_031255071.1	在植物生长发育、信号转导和胁迫应答方面起作用
21	FCS 样锌指蛋白 1	XM_031268069.1	在植物发育、衰老、应激缓解和糖信号传导方面发挥作用
22	ADP-核糖基化因子 2	XM_031244691.1	参与植物生长发育、激素信号传导及环境胁迫响应
23	受体样蛋白激酶 FERONIA	XM_031270242.1	在植物生长发育、非生物和生物胁迫反应中发挥作用

表 3 (续)

编号 Number	蛋白名称 Protein Name	蛋白编号 Protein ID	功能注释 Function Annotations
24	膜联蛋白样蛋白 RJ4	XM_031257564.1	可能是一种具有钙依赖性的磷脂结合蛋白
25	3-异丙基苹果酸脱氢酶	XM_031241111.1	参与亮氨酸生物合成和花粉发育；促进植株开花和生长
26	1 型金属硫蛋白	AF116845.1	在金属离子稳态和信号传导方面发挥重要作用
27	泛素结合酶 E2 28	XM_019314443.1	参与泛素化修饰和信号传导
28	黄烷酮-3-羟化酶	AB023790.1	参与植物次生代谢、生长发育和逆境胁迫响应
29	乙烯不敏感蛋白 2	XM_031257049.1	乙烯信号转导途径中的核心正调节因子，参与信号转导、转录调控、对环境刺激做出响应
30	含锌指 CCCH 结构域蛋白 47	XM_031238411.1	参与植物的生长发育和逆境响应
31	F-box 蛋白 pp2-a12 类似物	XM_031269773.1	参与植物对逆境胁迫的响应
32	扩张蛋白 B3	XM_031248668.1	参与植物种子萌发、根系生长、叶柄脱落、果实成熟等多种生理过程
33	蔗糖合酶 2	XM_031257639.1	参与植物生长发育、淀粉合成及逆境响应（如缺氧和寒冷）
34	细胞壁/液泡果糖甘酶 1 抑制剂	XM_031256581.1	在植物胁迫响应中起作用，特别是在调节 ABA 反应和耐盐性方面
35	转录因子 MYB44	XM_031253583.1	参与植物代谢调节，如淀粉、蔗糖和花青素的生物合成；在植物对生物和非生物胁迫的响应中发挥关键作用

3 讨论

自然界中，干旱和盐分引发的渗透胁迫能够破坏植物细胞结构，干扰正常代谢途径，进而对农业生产和粮食安全构成严重威胁^[24-25]。甘薯因营养丰富且抗逆性强^[26]而被视为一种重要的农作物。为有效增强甘薯在盐碱和干旱地区的适应能力和生产潜力，抗逆性强甘薯新品种的培育成为当前研究的重要方向。

GAPDH 作为糖酵解途径中的关键酶，参与多种细胞活动，包括蛋白磷酸化修饰、膜融合与转运、蛋白质表达调控及 DNA 损伤修复等^[27]。GAPCp 作为 GAPDH 的一个亚家族，存在于质体中，参与植物的碳氮代谢以及对逆境的响应。已有研究证实，在 PEG、ABA、H₂O₂ 处理下，小麦 *TaGAPCp1* 基因在根和叶中的表达模式均呈现出先上升后下降的趋势^[28]。与本研究甘薯 *IbGAPCp1* 基因在盐分和干旱胁迫条件下的表达模式相同。这一结果揭示了 *IbGAPCp1* 基因对盐和干旱具有一定的响应，进一步表明了 *IbGAPCp1* 基因在甘薯应对盐和干旱胁迫中具有一定的作用。

启动子序列分析发现 *IbGAPCp1* 基因的启动子区域含有多种与光响应、激素响应及与分生组织表达相关的顺式作用元件，暗示了该基因可能受到多种信号分子的调控。转录因子等上游蛋白通过与下游靶基因启动子区域的特定 DNA 序列结合以调控基因表达，进而影响植物的生长发育过程^[29]。本研究通过酵母单杂交筛库共获得了 35 个与 Pro-*IbGAPCp1*-1 相互作用的调控因子，这些调控因子不仅涉及蛋白质合成、能量储存等基础生理过程，还包括多种与植物生长发育和逆境响应相关的酶^[30-31]。其中，蔗糖合酶 (SuS) 是一

种糖基转移酶，在淀粉、纤维素的合成、糖代谢及种子和果实发育中起着重要作用。拟南芥 *sus2* 和 *sus3* 突变体中淀粉含量降低^[32]。草莓 *GAPCp1* 过表达降低了蔗糖合酶、花青素合酶的转录水平进而抑制了果实成熟^[33]。黄酮-3-羟化酶（F3H）在黄酮类化合物的生物合成中具有关键作用，进而影响植物的抗逆性。拟南芥中，南极苔藓 *PnF3H* 基因的过表达增强了植株对盐和干旱的耐受性^[34]。CCCH 锌指蛋白是一类含有特定锌指结构域的逆境响应蛋白，过表达 *IbC3H18* 增强了甘薯的抗盐性和抗旱性^[35]。串联锌指蛋白 *GmZF351* 过表达增强了大豆植株的抗盐性^[36]。乙烯不敏感蛋白 2（EIN2）是一种重要的信号转导蛋白^[37]，在植物生长发育中起关键作用，*NtEIN2* 基因沉默的转基因烟草植株的花瓣衰老延迟^[38]。转录因子 MYB44 属于 R2R3-MYB 亚家族，在植物胁迫响应和代谢调节中发挥重要功能，拟南芥中过表达小麦 *TaMYB44-5A* 降低了转基因植株的抗旱性^[39]；*VvMYB44* 的过表达降低了葡萄的耐寒性^[40]。这些研究结果表明蔗糖合酶 2、黄酮-3-羟化酶、CCCH 锌指蛋白、乙烯不敏感蛋白 2 及 MYB44 转录因子等上游调控因子可能通过与 *IbGAPCp1* 启动子的特定区域结合进而调控植物的生长发育及对逆境的响应。后续研究中，我们将构建这些调控因子的过表达或者 CRISPR 基因编辑载体并进行甘薯的遗传转化，以期获得抗逆性强的甘薯新材料。

综上所述，本研究不仅揭示了 *IbGAPCp1* 基因在甘薯不同组织、不同发育阶段及盐和干旱胁迫下的表达模式，还通过启动子序列分析和酵母单杂交筛库初步解析了该基因的调控机制。这些发现为培育具有更强抗逆性的甘薯新品种奠定了理论基础和候选基因资源。然而，关于这些上游调控因子如何具体影响 *IbGAPCp1* 基因的表达以及这些调控机制在甘薯抗逆性中的具体作用，仍需进一步的研究来阐明。我们期待未来的研究能够深入探索这些调控机制，为甘薯的遗传改良和抗逆性育种提供新的思路和方法。

参考文献

- [1] Behera S, Chauhan V B S, Pati K, Bansode V, Nedunchezhiyan M, Verma A K, Monalisa K, Naik P K, Naik S K. Biology and biotechnological aspect of sweet potato (*Ipomoea batatas* L.): A commercially important tuber crop. *Planta*, 2022, 256(2): 40
- [2] Guo F, Meng X Q, Hong H T, Liu S Y, Yu J, Huang C, Dong T T, Geng H X, Li Z Y, Zhu M K. Systematic identification and expression analysis of *bHLH* gene family reveal their relevance to abiotic stress response and anthocyanin biosynthesis in sweetpotato. *BMC Plant Biology*, 2024, 24(1):156
- [3] Sapakhova Z, Raissova N, Daurov D, Zhapar K, Daurova A, Zhigailov A, Zhambakin K, Shamekova M. Sweet potato as a key crop for food security under the conditions of global climate change: A review. *Plants*, 2023, 12(13): 2516
- [4] Lyu R Q, Ahmed S, Fan W J, Yang J, Wu X Y, Zhou W Z, Zhang P, Yuan L, Wang H X. Engineering properties of sweet potato starch for industrial applications by biotechnological techniques including genome editing. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(17): 9533
- [5] Rizzolo J A, Woiciechowski A L, Júnior A I M, Torres L A Z, Soccol C R. The potential of sweet potato biorefinery and development of alternative uses. *SN Applied Sciences*, 2021, 3(3): 347
- [6] Gao X R, Zhang H, Li X, Bai Y W, Peng K, Wang Z, Dai Z R, Bian X F, Zhang Q, Jia L C, Li Y, Liu Q C, Zhai H, Gao S P, Zhao N, He S Z. The B-box transcription factor *IbBBX29* regulates leaf development and flavonoid biosynthesis in sweet potato. *Plant Physiology*, 2023, 191(1): 496-514

- [7] Vamougne Kourouma. 甘薯的营养成分及β-胡萝卜素纳米乳液研究. 北京: 中国农业科学院, 2019
- Kourouma V. Nutritional components of sweet potato and nanoemulsion of β-carotene. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2019
- [8] 陈玉彬, 刘奇源, 罗燕, 彭科琴, 吕元兵, 刘一灵, 李振华. 烟草*GAPDH*全基因家族鉴定及其在烟苗发育早期的表达分析. 山地农业生物学报, 2024, 43(5): 8-17
- Chen Y B, Liu Q Y, Luo Y, Peng K Q, Lv Y B, Liu Y L, Li Z H. Genome-wide identification of the *GAPDH* gene family and their expression analysis during the early development of tobacco seedlings. *Journal of Mountain Agricultural Biology*, 2019, 43(5): 8-17
- [9] 卢倩, 弭晓菊, 崔继哲. 植物甘油醛-3-磷酸脱氢酶作用机制的研究进展. 生物技术通报, 2013 (8): 1-6
- Lu Q, Mi X J, Cui J Z. Research advances on the mechanism of glyceraldehydes-3-phosphate dehydrogenase in plant. *Biotechnology bulletin*, 2013(8): 1-6
- [10] Zhao X C, Wang J, Xia N, Qu Y W, Zhan Y H, Teng W L, Li H Y, Li W B, Li Y G, Zhao X, Han Y P. Genome-wide identification and analysis of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase family reveals the role of *GmGAPDH14* to improve salt tolerance in soybean (*Glycine max* L.). *Frontiers in Plant Science*, 2023, 14: 1193044
- [11] Zeng L F, Deng R, Guo Z P, Yang S S, Deng X P. Genome-wide identification and characterization of Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase genes family in wheat (*Triticum aestivum*). *BMC Genomics*, 2016, 17:240
- [12] Wei H, Movahedi A, Yang J, Zhang Y Y, Liu G Y, Zhu S, Yu C M, Chen Y H, Zhong F, Zhang J. Characteristics and molecular identification of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenases in poplar. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2022, 219:185-198
- [13] Kim S C, Guo L, Wang X M. Nuclear moonlighting of cytosolic glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase regulates *Arabidopsis* response to heat stress. *Nature Communications*. 2020, 11(1):3439
- [14] Zeng H Q, Xie Y W, Liu G Y, Lin D Z, He C Z, Shi H T. Molecular identification of *GAPDHs* in cassava highlights the antagonism of *MeGAPCs* and *MeATG8s* in plant disease resistance against cassava bacterial blight. *Plant Molecular Biology*, 2018, 97(3): 201-214
- [15] Liu J R, Song J, Zhuang X Y, Lu Y F, Wang Q, Yang S M, Lu L M, Wang X Y, Li L Q. Overexpression of cytosolic glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase 1 gene improves nitrogen absorption and utilization in potato. *Horticulturae*. 2023; 9(10):1105
- [16] Manjunath S, Sachs M M. Molecular characterization and promoter analysis of the maize cytosolic glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase gene family and its expression during anoxia. *Plant Molecular Biology*, 1997, 33(1): 97-112
- [17] Zhang X H, Rao X L, Shi H T, Li R J, Lu Y T. Overexpression of a cytosolic glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase gene *OzGAPC3* confers salt tolerance in rice. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 2011, 107: 1-11
- [18] Xie Q Q, Zhang H C, Hu D K, Liu Q Y, Zuo T H, Zhang Y Z, Liu Y M, Zhou S R, Zhu L Q. Analysis of SI-related *BoGAPDH* family genes and response of *BoGAPC* to SI signal in *Brassica oleracea* L. *Genes*, 2021, 12(11): 1719
- [19] Robbens S, Petersen J, Brinkmann H, Rouz éP, Van de Peer Y. Unique regulation of the Calvin cycle in the ultrasmall green alga *Ostreococcus*. *Journal of Molecular Evolution*, 2007, 64(5): 601-604

- [20] Flores-Tornero M, Anoman A D, Rosa-Téllez S, Toujani W, Weber A P M, Eisenhut M, Kurz S, Alseekh S, Fernie A R, Muñoz-Bertomeu J, Ros R. Overexpression of the triose phosphate translocator (TPT) complements the abnormal metabolism and development of plastidial glycolytic glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase mutants. *Plant Journal*, 2017, 89(6): 1146-1158
- [21] Muñoz-Bertomeu J, Anoman A D, Toujani W, Cascales-Miñana B, Flores-Tornero M, Ros R. Interactions between abscisic acid and plastidial glycolysis in *Arabidopsis*. *Plant Signaling and Behavior*, 2011, 6(1): 157-159
- [22] Muñoz-Bertomeu J, Cascales-Miñana B, Irlés-Segura A, Mateu I, Nunes-Nesi A, Fernie A R, Segura J, Ros R. The plastidial glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase is critical for viable pollen development in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 2010, 152(4): 1830-1841
- [23] Anoman A D, Flores-Tornero M, Rosa-Téllez S, Muñoz-Bertomeu J, Segura J, Ros R. The specific role of plastidial glycolysis in photosynthetic and heterotrophic cells under scrutiny through the study of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. *Plant Signaling and Behavior*, 2016, 11(3): e1128614
- [24] Zhang H, Wang Z, Li X, Gao X R, Dai Z R, Cui Y F, Zhi Y H, Liu Q C, Zhai H, Gao S P, Zhao N, He S Z. The *IbBBX24-IbTOE3-IbPRX17* module enhances abiotic stress tolerance by scavenging reactive oxygen species in sweet potato. *New Phytologist*, 2022, 233(3): 1133-1152
- [25] Zhu J K. Abiotic stress signaling and responses in plants. *Cell*, 2016, 167(2): 313-324
- [26] Huang C P, Liao J L, Huang W J, Qin N N. Salicylic acid protects sweet potato seedlings from drought stress by mediating abscisic acid-related gene expression and enhancing the antioxidant defense system. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(23): 14819
- [27] Muñoz-Bertomeu J, Cascales-Miñana B, Alaiz M, Segura J, Ros R. A critical role of plastidial glycolytic glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase in the control of plant metabolism and development. *Plant Signaling and Behavior*, 2010, 5(1): 67-69
- [28] Li X X, Wei W J, Li F F, Zhang L, Deng X, Liu Y, Yang S S. The plastidial glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase is critical for abiotic stress response in wheat. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(5): 1104
- [29] 蔡艳梅, 付雪梅, 王华波, 杨楠, 陈龙清. 蜡梅*CpBEAT3* 启动子克隆及其互作蛋白的初步验证. *山东农业科学*, 2024, 56(5): 27-35
Cai Y M, Fu X M, Wang H B, Yang N, Chen L Q. Cloning of *CpBEAT3* gene promoter from *chimonanthus praecox* and preliminary verification of its interacting protein. *Shandong agricultural sciences*, 2024, 56(5): 27-35
- [30] Carlson M A, Haddad B G, Weis A J, Blackwood C S, Shelton C D, Wuerth M E, Walter J D, Spiegel P C Jr. Ribosomal protein L7/L12 is required for GTPase translation factors EF-G, RF3, and IF2 to bind in their GTP state to 70S ribosomes. *FEBS Journal*, 2017, 284(11): 1631-1643
- [31] Senthilkumar R, Yeh K W. Multiple biological functions of sporamin related to stress tolerance in sweet potato (*Ipomoea batatas* Lam). *Biotechnology advances*, 2012, 30(6): 1309-1317
- [32] Angeles-Núñez J G, Tiessen A. *Arabidopsis* sucrose synthase 2 and 3 modulate metabolic homeostasis and direct carbon towards starch synthesis in developing seeds. *Planta*, 2010, 232(3): 701-718
- [33] Luo Y, Ge C, Yang M, Long Y, Li M Y, Zhang Y, Chen Q, Sun B, Wang Y, Wang X R, Tang H R. Cytosolic/Plastid glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase is a negative regulator of strawberry fruit ripening. *Genes*, 2020, 11(5): 580
- [34] Li C C, Liu S H, Yao X H, Wang J, Wang T L, Zhang Z H, Zhang P Y, Chen K S. *PnF3H*, a flavanone 3-hydroxylase from the Antarctic moss *Pohlia*

nutans, confers tolerance to salt stress and ABA treatment in transgenic Arabidopsis. *Plant Growth Regulation*, 2017, 83: 489-500

- [35] Zhang H, Gao X R, Zhi Y H, Li X, Zhang Q, Niu J B, Wang J, Zhai H, Zhao N, Li J G, Liu Q C, He S Z. A non-tandem CCCH-type zinc-finger protein, IbC3H18, functions as a nuclear transcriptional activator and enhances abiotic stress tolerance in sweet potato. *New Phytologist*, 2019, 223(4): 1918-1936
- [36] Wei W, Lu L, Bian X H, Li Q T, Han J Q, Tao J J, Yin C C, Lai Y C, Li W, Bi Y D, Man W Q, Chen S Y, Zhang J S, Zhang W K. Zinc-finger protein GmZF351 improves both salt and drought stress tolerance in soybean. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2023, 65(7): 1636-1650
- [37] Ando A, Kirkbride R C, Qiao H, Chen Z J. Endosperm and maternal-specific expression of *EIN2* in the endosperm affects endosperm cellularization and seed size in Arabidopsis. *Genetics*, 2023, 223(2): iyac161
- [38] Chakrabarti M, Bharti S. Role of EIN2-mediated ethylene signaling in regulating petal senescence, abscission, reproductive development, and hormonal crosstalk in tobacco. *Plant Science*, 2023, 332:111699
- [39] Peng D, Li L Q, Wei A S, Zhou L, Wang B X, Liu M L, Lei Y H, Xie Y Z, Li X J. TaMYB44-5A reduces drought tolerance by repressing transcription of *TaRD22-3A* in the abscisic acid signaling pathway. *Planta*, 2024, 260(2):52
- [40] Zhang H J, Hu Y F, Gu B, Cui X Y, Zhang J X. VvMYB44 transcription factor from Chinese wild *Vitis amurensis* negatively regulates cold tolerance in transgenic *Arabidopsis thaliana* and *V. vinifera*. *Plant Cell Reports*. 2022, 41(8):1673-1691