

DOI:10.12113/201907005

蒺藜苜蓿多聚半乳糖醛酸酶基因家族的全基因组分析

胡龄予, 伊霖晟, 刘冬雪, 王 阳, 杨欢欢, 张鑫茹, 杨 爽, 束永俊*

(哈尔滨师范大学 生命科学与技术学院, 哈尔滨 150025)

摘要:多聚半乳糖醛酸酶(Polygalacturonases, PGs)是一种果胶水解酶,参与果实成熟、器官脱落、花粉成熟等多个植物发育过程。采用相似性比对和结构域搜索方法,从蒺藜苜蓿基因组中共鉴定出74个*MtPG*基因。根据系统进化关系将其分为6个亚家族,分别包含9、7、4、11、18和25个*MtPG*基因家族成员。染色体定位分析发现,*MtPG*基因在蒺藜苜蓿的8条染色体上呈现不均匀分布,每条染色体上分布有2-16个*MtPG*基因;同时,基因组复制分析结果显示,蒺藜苜蓿的*PG*基因家族成员之间存在大量的基因复制。最后,通过蒺藜苜蓿的高通量测序数据分析发现,*MtPG*基因家族广泛地在根部、结瘤、叶片、芽、心皮和花等组织中表达。根据它们在不同组织中表达水平,将31个*MtPG*基因聚类为4组,分别探讨了四组基因在蒺藜苜蓿组织器官分化中表达模式,重点解析了它们在花器官发育以及根部组织分化中可能的调控机制,这将为进一步研究蒺藜苜蓿*MtPG*基因家族成员的基因功能提供了理论基础。

关键词:蒺藜苜蓿; *PG*; 系统进化分析; 表达模式

中图分类号: Q343.1 文献标志码: A 文章编号: 1672-5565(2020)01-031-08

Genome-wide analysis of polygalacturonase gene family in *Medicago truncatula*

HU Lingyu, YI Linsheng, LIU Dongxue, WANG Yang, YANG Huanhuan, ZHANG Xinru, YANG Shuang, SHU Yongjun*

(College of Life Science and Technology, Harbin Normal University, Harbin 150025, China)

Abstract: Polygalacturonases (PGs) are pectin degrading enzymes, which are involved in various plant developmental processes, such as fruit ripening, organ abscission, and pollen ripening. Through using homolog searching and protein domain identifying method, 74 *MtPG* genes were distinguished from the *Medicago truncatula* genome. According to multiple alignments and phylogenetic analysis results, the genes were classified into six subfamilies, including 9, 7, 4, 11, 18, and 25 *MtPG* gene members. Besides, chromosomal location analysis shows that the *MtPG* genes in *M. truncatula* were unevenly distributed among the eight chromosomes, varying from two to sixteen members on every chromosome. Meanwhile, numerous duplication events were identified in the *PG* gene family, which indicates that *MtPG* genes expanded through gene duplication events in *M. truncatula*. Finally, their expressional profiles were assessed using public RNA-Seq data, and results show that *MtPG* genes were expressed in the root, nodule, blade, bud, seedpod, and flower. The 31 *MtPG* genes were clustered into four groups (Cluster Group I to VI) based on their expression levels, and most of the *PG* gene family members showed the highest expression levels in nodule and/or flower, which suggests their significant roles in tissues development process, especially for flower and root. In summary, these findings will be valuable for determining detailed *MtPG* genes functions in *M. truncatula*.

Keywords: *Medicago truncatula*; *PG*; Phylogenetic analysis; Expression patterns

多聚半乳糖醛酸酶 (polygalacturonases, PGs) 属于一个大的水解酶家族,它通过降解果胶在植株生长发育过程中的细胞分离事件中发挥重要作用^[1]。果胶是一种杂多糖,它是双子叶植物体细胞初生细胞壁

收稿日期:2019-07-22;修回日期:2019-10-18.

基金项目:国家自然科学基金项目(No. 31302019);中国博士后科学基金项目(No. 2016T90307和No. 2015M571430).

作者简介:胡龄予,女,研究方向:基因组学与生物信息学. E-mail: 1632819365@qq.com.

* 通信作者:束永俊,男,副教授,研究方向:基因组学与生物信息学. E-mail: syjun2003@126.com.

的主要成分,同时也是花粉内壁和花粉管壁的主要成分,因此,参与果胶代谢相关酶和蛋白对植物的生长和生殖发育至关重要^[2]。PG已被鉴定出具有四个保守的功能结构域(I-IV),依据PG降解途径的不同,可以把PG分为内切PG(endo-PG)、外切PG(exo-PG)、鼠李糖PG(rhamno-PG),它们分别能够在不同部位催化水解 α -(1-4)聚半乳糖苷键的断裂^[3]。目前,已经在拟南芥^[4]、黄瓜^[5]、桃^[1]、苹果^[6]等众多植物中对PG基因家族进行了鉴定,对其进行功能分析发现,PGs调控着果实成熟软化、器官脱落、宿主相互作用、荚果和花药开裂、花粉管生长、种子萌发和幼苗下胚轴伸长等多个生物学过程^[7]。

紫花苜蓿是当今世界上栽培面积最大的牧草作物,具有适应性强、产草量高、品质优等特点,素有“牧草之王”之称。但是,紫花苜蓿为自交不亲和的同源四倍体植物,基因组极其复杂,严重限制了其遗传育种研究。蒺藜苜蓿(*Medicago truncatula*)是一种自花授粉的苜蓿,其基因组较小(约470 Mb),且为二倍体,已经完成基因组测序,使其成为研究豆科,特别是苜蓿属(如紫花苜蓿)基因功能的模式植物^[8]。对蒺藜苜蓿中PG基因家族进行全基因鉴定,通过序列比对和系统进化分析,完成PG基因家族成员的分类,同时,根据PG基因家族的染色体定位信息,明确其在基因组的分布特征。最后,利用蒺藜苜蓿的转录组测序数据,分析PG基因家族在蒺藜苜蓿生长发育过程的表达谱,为解析蒺藜苜蓿中PG基因家族的重要作用提供参考。

1 材料和方法

1.1 蒺藜苜蓿PG基因家族的鉴定和分类

从JCVI数据库(<http://www.jevi.org/medicago/>)下载蒺藜苜蓿基因组测序数据,构建本地BLAST数据库。从TAIR数据库中收集拟南芥PG家族蛋白序列,利用这些蛋白序列作为BLAST查询序列,对蒺藜苜蓿基因组进行搜索^[9],*evalue*设置为: 1×10^{-5} ,覆盖率大于80%。在Pfam数据库中下载PG结构域的HMM文件(Glyco_hydro_28, PF00295),利用HMMER(*evalue*: 1×10^{-2})^[10]搜索候选PG蛋白的结构域信息;同时,采用软件SMART检测,确认候选基因含有PG的结构域。最后,根据拟南芥PG蛋白基因的分类信息对蒺藜苜蓿PG基因家族进行分类。

1.2 蒺藜苜蓿PG基因家族的系统进化分析

利用ClustalW2^[11]对拟南芥和蒺藜苜蓿PG蛋

白进行多序列联对比对分析,采用MEGA4^[12]构建PG基因家族系统发育树,系统进化分析参数如下:(1)建树方法为邻近法(neighbor-joining, NJ);(2)遗传距离为泊松距离(Poisson correction);(3)抽样次数为1 000次(bootstrap: 1 000 replications)。

1.3 蒺藜苜蓿PG基因家族的染色体定位分析

从蒺藜苜蓿基因组中检索到所有PG基因的位置信息和CDS序列,利用BLAST进行两两对比,当两个PG基因的一致性超过80%时,则这两个基因之间存在基因复制。根据PG基因在蒺藜苜蓿基因组中的位置信息及基因间的复制情况,利用软件CIRCOS^[13]绘制PG基因家族在蒺藜苜蓿基因组中的分布情况。

1.4 蒺藜苜蓿PG基因家族的表达分析

蒺藜苜蓿转录组测序(RNA-seq)数据(SRR350517-SRR350521, SRR350538和SRR349692)从NCBI的SRA数据库下载,转录组数据包含蒺藜苜蓿的根部(Root)、根部结瘤(Nodule)、叶片(Blade)、芽(Bud)、心皮(Seedpod)和花(Flower)六个组织或部位。利用TopHat将所有高通量序列映射到蒺藜苜蓿基因组,并通过Cufflinks进行基因表达^[14]。提取PG基因的表达数据,利用R软件对其进行分析、聚类 and 可视化。

2 结果与分析

2.1 蒺藜苜蓿PG基因家族的鉴定和分类

通过相似性比对和结构域搜索,从蒺藜苜蓿基因组中共鉴定出74个*MtPG*基因家族成员,根据它们所属的亚家族和染色体位置,依次命名为MtPG01-MtPG74,如表1所示。这些*MtPG*基因编码的推测蛋白长度为236-775 aa,内含子2-9个,其中,2个*MtPG*基因(*MtPG39*和*MtPG47*)只含有两个内含子,60个*MtPG*含有4个以上内含子。在已报道的PG基因家族的研究中,蒺藜苜蓿PG的数量是高于其他植物,如拟南芥(68)、番茄(54)、黄瓜(53)、桃子(45)。根据PGs的分子系统进化关系,将这些PG基因分为六个亚家族(A-F),分别含有9、7、4、11、18和25个PG基因家族成员。

2.2 蒺藜苜蓿PG基因家族的系统进化分析

为了详细地研究蒺藜苜蓿PG基因家族的分子系统进化关系,利用74个*MtPG*基因的蛋白质序列进行了多序列比对和系统进化树构建,结果显示,它们可以分为六个亚家族,如图1所示。六个亚家族

(A-F)分别含有 9、7、4、11、18 和 25 个 *PG* 基因家族成员,这与水稻、杨树^[15]、桃、苹果等植物中 *PG* 基因家族成员分布类似,都为 6 亚家族。但是,在拟南芥中,*PG* 基因家族总共有 68 个成员,可以分为 7 个亚家族,即 A-G,其中亚家族 G 含有 7 个成员,研

究表明它们在花粉发育过程中执行降解花粉母细胞细胞壁的生物学功能。同时,对比几种植物的 *PG* 基因家族成员分布发现,蒺藜苜蓿的亚家族 E 和 F 明显拥有更多的成员,这可能是蒺藜苜蓿 *PG* 基因家族成员明显增多的主要原因。

表 1 蒺藜苜蓿基因组中 *PG* 基因

Table 1 *PG* genes identified in *Medicago truncatula*

基因	基因座位号	染色体定位	氨基酸	内含子	亚家族
<i>MtPG01</i>	Medtr1g086390	chr1:38659765-38662894	477	5	A
<i>MtPG02</i>	Medtr2g032710	chr2:12315408-12322300	463	5	A
<i>MtPG03</i>	Medtr4g094715	chr4:38832640-38835379	461	5	A
<i>MtPG04</i>	Medtr5g033680	chr5:14516292-14519678	470	8	A
<i>MtPG05</i>	Medtr5g034090	chr5:14734905-14739416	534	5	A
<i>MtPG06</i>	Medtr6g005630	chr6:863153-867302	425	5	A
<i>MtPG07</i>	Medtr7g110050	chr7:45101037-45103855	462	5	A
<i>MtPG08</i>	Medtr8g065010	chr8:27295111-27299002	521	6	A
<i>MtPG09</i>	Medtr8g065030	chr8:27310073-27313786	461	8	A
<i>MtPG10</i>	Medtr1g052315	chr1:21183250-21186740	449	7	B
<i>MtPG11</i>	Medtr2g060350	chr2:24855141-24858654	444	7	B
<i>MtPG12</i>	Medtr2g103410	chr2:44519609-44523183	451	7	B
<i>MtPG13</i>	Medtr3g030540	chr3:9670728-9674889	437	8	B
<i>MtPG14</i>	Medtr7g091840	chr7:36347147-36349369	384	8	B
<i>MtPG15</i>	Medtr7g091850	chr7:36353948-36360735	450	8	B
<i>MtPG16</i>	Medtr7g113910	chr7:46959130-46964803	376	9	B
<i>MtPG17</i>	Medtr2g029170	chr2:10881421-10882932	361	3	C
<i>MtPG18</i>	Medtr2g049400	chr2:21772816-21776116	391	3	C
<i>MtPG19</i>	Medtr4g083660	chr4:32522029-32524282	374	4	C
<i>MtPG20</i>	Medtr8g009810	chr8:2423952-2426973	400	3	C
<i>MtPG21</i>	Medtr1g088160	chr1:39390473-39392282	407	3	D
<i>MtPG22</i>	Medtr2g058640	chr2:24230991-24232613	407	3	D
<i>MtPG23</i>	Medtr2g058670	chr2:24242502-24244330	419	3	D
<i>MtPG24</i>	Medtr2g058840	chr2:24297949-24299598	417	3	D
<i>MtPG25</i>	Medtr2g100040	chr2:42942787-42944494	365	4	D
<i>MtPG26</i>	Medtr2g435640	chr2:13791435-13796366	423	4	D
<i>MtPG27</i>	Medtr3g438050	chr3:13011474-13013852	395	3	D
<i>MtPG28</i>	Medtr4g120320	chr4:49884372-49886301	422	4	D
<i>MtPG29</i>	Medtr5g063430	chr5:26299058-26301816	315	3	D
<i>MtPG30</i>	Medtr5g097860	chr5:42842979-42844751	343	3	D
<i>MtPG31</i>	Medtr8g030930	chr8:11531499-11533056	399	3	D
<i>MtPG32</i>	Medtr1g086030	chr1:38484669-38488435	510	3	E
<i>MtPG33</i>	Medtr1g099850	chr1:45067030-45068986	475	5	E
<i>MtPG34</i>	Medtr1g100040	chr1:45074575-45076650	481	5	E
<i>MtPG35</i>	Medtr1g100050	chr1:45077811-45079785	473	5	E
<i>MtPG36</i>	Medtr1g100060	chr1:45082095-45084624	516	6	E

续(表 1)

基因	基因座位号	染色体定位	氨基酸	内含子	亚家族
<i>MtPG37</i>	Medtr2g042740	chr2:18636698-18641564	474	4	E
<i>MtPG38</i>	Medtr2g042750	chr2:18643705-18646214	294	5	E
<i>MtPG39</i>	Medtr2g083670	chr2:35111056-35113079	236	2	E
<i>MtPG40</i>	Medtr3g096330	chr3:44022720-44026955	775	7	E
<i>MtPG41</i>	Medtr3g449590	chr3:16889169-16895715	451	4	E
<i>MtPG42</i>	Medtr4g124980	chr4:51838098-51842179	492	4	E
<i>MtPG43</i>	Medtr5g090160	chr5:39270733-39275416	450	4	E
<i>MtPG44</i>	Medtr7g078680	chr7:29762570-29765948	483	5	E
<i>MtPG45</i>	Medtr7g088550	chr7:34504347-34506744	476	5	E
<i>MtPG46</i>	Medtr7g110710	chr7:45367344-45371719	466	4	E
<i>MtPG47</i>	Medtr7g092470	chr7:36649364-36655367	482	2	E
<i>MtPG48</i>	Medtr8g028725	chr8:11061041-11065754	479	5	E
<i>MtPG49</i>	Medtr8g098840	chr8:41331762-41334923	470	4	E
<i>MtPG50</i>	Medtr0157s0060	scaffold0157:15247-20596	365	7	F
<i>MtPG51</i>	Medtr1g012390	chr1:2447667-2451099	397	8	F
<i>MtPG52</i>	Medtr1g013730	chr1:3277876-3280656	382	8	F
<i>MtPG53</i>	Medtr1g013740	chr1:3272148-3276100	390	8	F
<i>MtPG54</i>	Medtr2g103650	chr2:44625414-44629212	404	9	F
<i>MtPG55</i>	Medtr2g435340	chr2:13606670-13610605	452	5	F
<i>MtPG56</i>	Medtr3g054320	chr3:21549576-21552288	401	6	F
<i>MtPG57</i>	Medtr3g084360	chr3:38089185-38091032	391	6	F
<i>MtPG58</i>	Medtr3g084380	chr3:38095209-38097944	396	6	F
<i>MtPG59</i>	Medtr4g034020	chr4:12499881-12505230	365	7	F
<i>MtPG60</i>	Medtr4g084050	chr4:32729268-32731175	394	6	F
<i>MtPG61</i>	Medtr4g120730	chr4:49981535-49985560	459	5	F
<i>MtPG62</i>	Medtr5g043350	chr5:19056081-19058555	400	6	F
<i>MtPG63</i>	Medtr6g028080	chr6:9978081-9985497	400	6	F
<i>MtPG64</i>	Medtr7g035415	chr7:13555483-13559381	334	6	F
<i>MtPG65</i>	Medtr8g008700	chr8:1829561-1832039	292	6	F
<i>MtPG66</i>	Medtr8g008765	chr8:1861927-1866353	346	7	F
<i>MtPG67</i>	Medtr8g010040	chr8:2522127-2526378	388	7	F
<i>MtPG68</i>	Medtr8g010050	chr8:2530574-2534406	356	6	F
<i>MtPG69</i>	Medtr8g010070	chr8:2539644-2543850	390	7	F
<i>MtPG70</i>	Medtr8g010080	chr8:2548763-2551323	388	7	F
<i>MtPG71</i>	Medtr8g010090	chr8:2553377-2556933	389	7	F
<i>MtPG72</i>	Medtr8g010110	chr8:2562133-2566759	389	7	F
<i>MtPG73</i>	Medtr8g031180	chr8:11657369-11659557	281	6	F
<i>MtPG74</i>	Medtr8g077320	chr8:32921813-32926670	364	9	F

2.3 蒺藜苜蓿 *PG* 基因家族的染色体定位分析

为了探究蒺藜苜蓿 *PG* 基因家族扩增和进化的机制,本研究对蒺藜苜蓿 *PG* 基因进行染色体定位分

析。通过提取蒺藜苜蓿 *PG* 基因的染色体定位信息发现,73 个 *MtPG* 基因(*MtPG50* 除外)定位在 8 条染色体上,如图 2 所示。图中结果显示,这些 *MtPG* 基

因在染色体上不是均匀分布,其中,8 号和 2 号染色体上分布成员最多,分别为 16 个和 15 个,6 号染色体最少,只有 2 个 *MtPG* 基因。此外,这些 *MtPG* 基因在单条染色体上也不是均匀分布,呈现明显的聚集分布,如 1 号和 8 号染色体上都形成了 *MtPG* 基因

簇。通过比对发现,这些 *MtPG* 基因簇都是基因复制形成的;同时,染色体之间也存在 *MtPG* 基因间的复制事件,这些复制事件可能是 *MtPG* 基因家族的主要扩增动力。

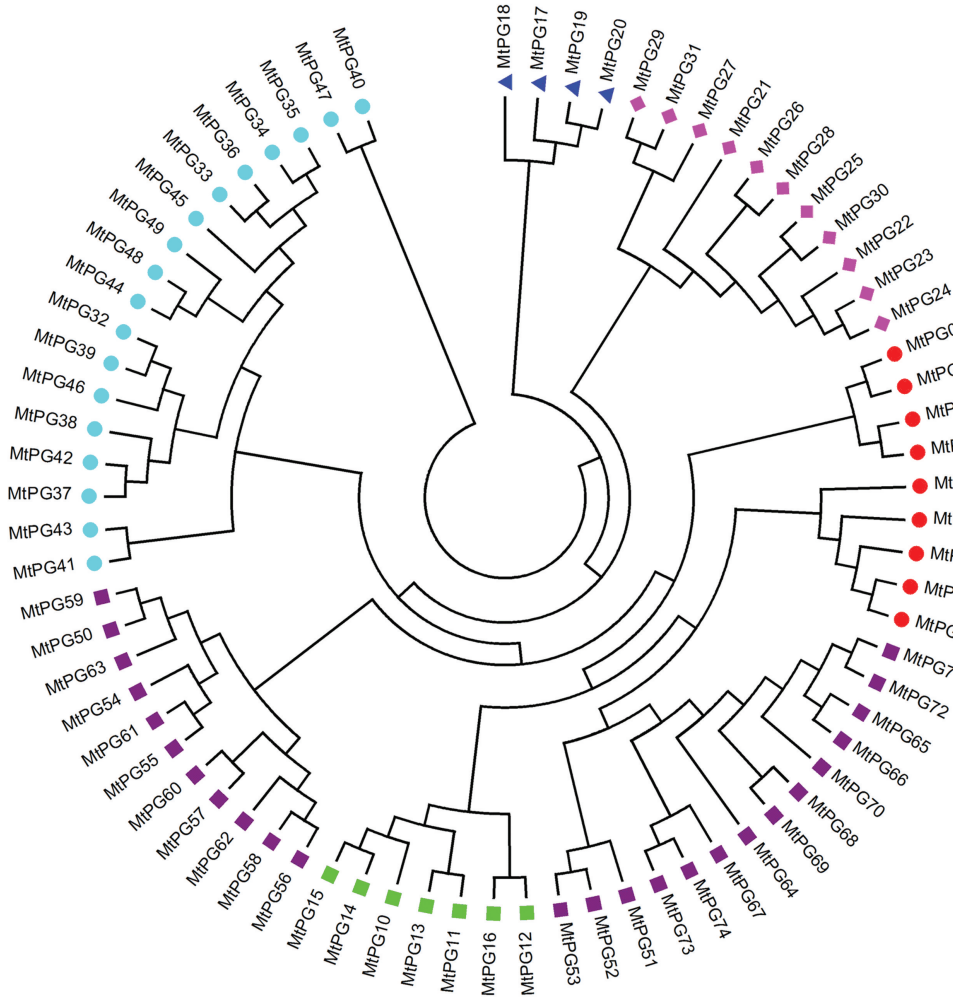


图 1 蒺藜苜蓿 *PG* 基因家族的系统进化分析

Fig.1 Phylogenetic analysis of *PG* gene family in *Medicago truncatula*

注:红色圆形代表亚家族 A;绿色方形代表亚家族 B;蓝色三角形代表亚家族 C;粉红色菱形代表亚家族 D;青色圆形代表亚家族 E;紫色方形代表亚家族 F。

2.4 蒺藜苜蓿 *PG* 基因家族的表达分析

为了研究 *MtPG* 基因家族成员在蒺藜苜蓿生长发育过程中生物学功能,本研究从 NCBI 数据库中下载了蒺藜苜蓿转录组测序数据,获得了 31 个 *MtPG* 基因在六种组织(或器官)中的表达模式,对它们的表达模式进行了聚类分析,结果如图 3 所示。结果显示,31 个 *MtPG* 基因成员可以分成四组(Cluster Group I-IV)。其中, I 组含有 7 个 *MtPG* 基因(*MtPG*21, 22, 23, 26, 28, 35 和 52),它们主要在蒺藜苜蓿的心皮和花组织中表达,推测这些 *MtPG* 基因主要与蒺藜苜蓿的生殖发育过程相关; II 组含有 11 个

MtPG 基因 (*MtPG*08, 09, 12, 37, 41, 42, 43, 46, 55, 61 和 63),它们主要在根或心皮组织中表达,可能参与了这两种组织(或器官)的发育和形成过程; III 组含有 10 个 *MtPG* 基因家族成员(*MtPG*02, 03, 05, 16, 32, 40, 44, 47, 48 和 49),它们主要集中在根和根部的结瘤中表达,表明它们可能与蒺藜苜蓿的根组织形态建成相关;最后, IV 组包含 3 个 *MtPG* 基因(*MtPG*01, 06 和 19),它们主要在根、结瘤和花组织中表达,表明它们主要参与这两个组织的发育调控过程。

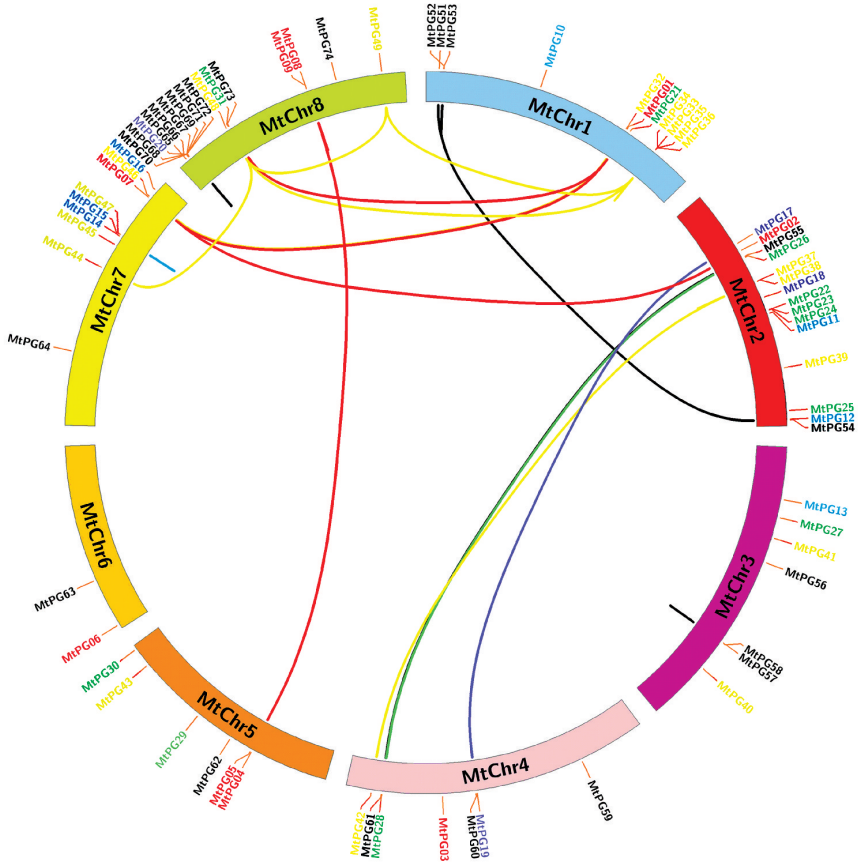


图 2 蒺藜苜蓿 PG 基因在染色体定位

Fig.2 Chromosomal locations of PG genes in *Medicago truncatula*

注:红色连线代表亚家族 A 成员间的复制事件;蓝色连线代表亚家族 B 成员间的复制事件;紫色连线代表亚家族 C 成员间的复制事件;绿色连线代表亚家族 D 成员间的复制事件;黄色连线代表亚家族 E 成员间的复制事件;黑色连线代表亚家族 F 成员间的复制事件。

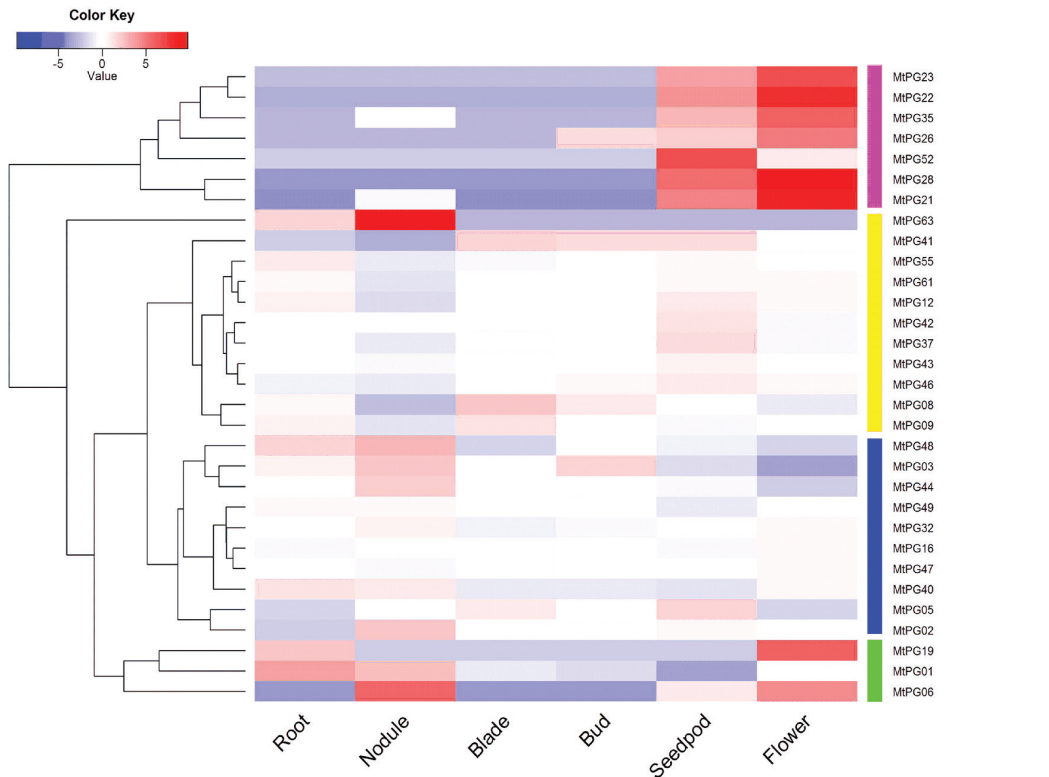


图 3 蒺藜苜蓿 PG 基因表达的聚类分析

Fig.3 Cluster analysis of PG gene expression in *Medicago truncatula*

注:粉色为聚类 I ;黄色为聚类 II ;蓝色为聚类 III ;绿色为聚类 IV。

3 讨论

多聚半乳糖醛酸酶属于植物最大的水解酶家族之一,它参与到了果实成熟、器官脱落、花粉成熟等过程,对植物的生长发育具有重要意义。在不同植物中,PG基因的进化和分类已经被大量的研究。通过生物信息学方法分析,在蒺藜苜蓿基因组中总共发现了74个*MtPG*基因,这些基因被聚类到六个亚家族(A-F),且这几个亚家族之间基因成员数目差异较大,其中亚家族F成员最多,高达25个;亚家族C成员最少,只有4个。通过序列比对发现,*MtPG*基因家族各成员之间存在大量的基因复制事件,按照产生原因,它们可以分为串联复制和片段复制两类。在蒺藜苜蓿基因组范围内,总共发生了25次*MtPG*基因复制事件,其中串联复制事件11次,片段复制事件14次,这些复制事件促使了*MtPG*基因家族的扩张,超过了其他植物基因组中的数量。此外,串联复制事件促使*MtPG*基因在染色体上分布发生富集,形成*MtPG*基因簇,如1号染色体上的*MtPG32-36*基因簇。同时,片段复制事件促进了*MtPG*基因家族成员在不同染色体上的扩张,如5号染色体和8号染色体间发生了*MtPG04-05*与*MtPG08-09*的片段复制,引起亚家族A的基因成员增多。

通过蒺藜苜蓿的基因表达谱分析发现,*MtPG*基因在蒺藜苜蓿的根器官形成和生殖生长过程中承担重要的调控作用。研究结果显示,部分*MtPG*基因成员(*MtPG21*、*22*、*23*、*26*、*28*、*35*和*52*)主要在心皮和花组织中表达,可能与蒺藜苜蓿的雌雄蕊发育相关,这与梁颖^[2]的报导是一致的,明确了它们在花蕊发育过程中调控作用。同时,这些*MtPG*基因分布较为集中在1号和2号染色体,表明它们可能通过同一遗传机制参与花蕊的生长发育调控过程。类似的还有*MtPG48*和*MtPG49*,它们都在根器官和根部的结瘤组织中表达,说明它们可能参与蒺藜苜蓿根部形态的建成过程。同时,这两个*MtPG*基因是通过片段复制事件形成的,而且两者的表达模式类似,略有差别,说明*MtPG*基因复制扩展基因家族的规模,为*MtPG*基因功能的分化创造了条件。

4 结论

采用相似性比对和结构域搜索相结合的方法,从蒺藜苜蓿基因组中鉴定出了74个*MtPG*基因家族成员,并通过系统进化分析,明确了蒺藜苜蓿*MtPG*基因家族的分类和进化关系。同时,对蒺藜苜蓿PG

基因家族进行染色体定位分析,解析了基因复制在*MtPG*基因进化过程中的作用。最后,通过蒺藜苜蓿基因表达谱分析,初步阐述了*MtPG*基因在蒺藜苜蓿根器官生长和生殖发育过程中的重要作用,这将为进一步解析*MtPG*基因的分子调控作用机制提供基础。

参考文献(References)

- [1] 霍如雪,刘振宁,杨青,等. 桃PG基因家族的鉴定与分析[J]. 江苏农业科学, 2016, 44(6): 33-40. DOI: 10.15889/j.issn.1002-1302.2016.06.008.
HUO Ruxue, LIU Zhenning, YANG Qing, et al. Identification and analysis of the PG gene family in peach [J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2016, 44(6): 33-40. DOI: 10.15889/j.issn.1002-1302.2016.06.008.
- [2] 梁颖. 植物PG基因进化的研究与白菜雄蕊发育相关的两个PG基因的表达分析和功能鉴定[D]. 杭州: 浙江大学, 2016.
LIANG Ying. Molecular evolution of polygalacturonase genes in plants and the expression analysis and functional characterization of two stamen PG genes in *brassica campestris* [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2016.
- [3] 钱铭. 桃PG (Polygalacturonase) 家族成员在果实成熟软化过程中的表达特性及质地形成中的功能研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2017.
QIAN Ming. Expression characteristics and function of peach PG (polygalacturonase) family members during fruit ripening and softening [D]. Yangling: Northwest Agricultural & Forestry University, 2017.
- [4] GONZALEZ-CARRANZA Z H, ELLIOTT K A, ROBERTS J A. Expression of polygalacturonases and evidence to support their role during cell separation processes in *Arabidopsis thaliana* [J]. Journal of Experimental Botany, 2007, 58(13): 3719-3730. DOI: 10.1093/jxb/erm222.
- [5] YU Y, LIANG Y, LV M, et al. Genome-wide identification and characterization of polygalacturonase genes in *Cucumis sativus* and *Citrullus lanatus* [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2014, 74:263-275. DOI: 10.1016/j.plaphy.2013.11.022.
- [6] 陈鸿飞, 邵红霞, 樊胜, 等. 苹果全基因组多聚半乳糖醛酸酶基因家族的鉴定及进化分析[J]. 园艺学报, 2016, 43(10): 1863-1877. DOI: 10.16420/j.issn.0513-353x.2016-0224.
CHEN Hongfei, SHAO Hongxia, FAN Sheng, et al. Identification and phylogenetic analysis of the polygalacturonase gene family in apple [J]. Horticultural Plant Journal, 2016, 43(10): 1863-1877. DOI: 10.16420/j.issn.0513-353x.2016-0224.
- [7] HADFIELD K A, BENNETT A B. Polygalacturonases: Many

- genes in search of a function [J]. *Plant Physiology*, 1998, 117:337–343. DOI:10.1104/pp.117.2.337.
- [8] YOUNG N D, DEBELLE F, OLDROYD G E, et al. The medicago genome provides insight into the evolution of rhizobial symbioses [J]. *Nature*, 2011, 480 (7378): 520–524. DOI: 10.1038/nature10625.
- [9] ALTSCHUL S F, MADDEN T L, SCHAFFER A A, et al. Gapped BLAST and PSI-BLAST: A new generation of protein database search programs [J]. *Nucleic Acids Research*, 1997, 25(17): 3389–3402. DOI: 10.1093/nar/25.17.3389.
- [10] FINN R D, CLEMENTS J, EDDY S R. HMMER web server: Interactive sequence similarity searching [J]. *Nucleic Acids Research*, 2011, 39(suppl 2): W29–W37. DOI: 10.1093/nar/qrk367.
- [11] THOMPSON J D, HIGGINS D G, GIBSON T J. CLUSTAL W: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice [J]. *Nucleic Acids Research*, 1994, 22 (22): 4673–4680. DOI: 10.1093/nar/22.22.4673.
- [12] TAMURA K, DUDLEY J, NEI M, et al. MEGA4: Molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0 [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2007, 24(8): 1596–1599. DOI: 10.1093/molbev/msm092.
- [13] KRZYWINSKI M I, SCHEIN J E, BIROL I, et al. Circos: An information aesthetic for comparative genomics [J]. *Genome Research*, 2009, 19 (9): 1639–1645. DOI: 10.1101/qr.092759.109.
- [14] TRAPNELL C, WILLIAMS B A, PERTEA G, et al. Transcript assembly and quantification by RNA-Seq reveals unannotated transcripts and isoform switching during cell differentiation [J]. *Nature Biotechnology*, 2010, 28(5): 511–515. DOI: 10.1038/nbt.1621.
- [15] YANG Z L, LIU H J, WANG X R, et al. Molecular evolution and expression divergence of the *Populus* polygalacturonase supergene family shed light on the evolution of increasingly complex organs in plants [J]. *New Phytologist*, 2013, 197(4): 1353–1365. DOI: 10.1111/nph.12107.
- [16] RHEE S Y, OSBORNE E, POINDEXTER P D, et al. Microspore separation in the quartet 3 mutants of *Arabidopsis* is impaired by a defect in a developmentally regulated polygalacturonase required for pollen mother cell wall degradation [J]. *Plant Physiology*, 2003, 133(3): 1170–1180. DOI: 10.1104/pp.103.028266.

[责任编辑:吴永英]