

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202107004

马宇辰, 赵玉梅, 黄丹霖, 等. 白菜 *CesA* 基因家族鉴定及表达模式分析 [J]. 广西植物, 2022, 42(12): 2021–2031.

MA YC, ZHAO YM, HUANG DL, et al. Identification and expression analysis of *CesA* gene family in *Brassica rapa* var. *glabra* [J]. *Guihaia*, 2022, 42(12): 2021–2031.



白菜 *CesA* 基因家族鉴定及表达模式分析

马宇辰¹, 赵玉梅^{1,2}, 黄丹霖¹, 张梦晴¹, 吴晓宇^{1,2}, 王 洁^{1,2},
陈 雨¹, 黄家保^{1,2}, 段巧红^{1,2*}

(1. 山东农业大学 园艺科学与工程学院, 山东 泰安 271000; 2. 作物生物学国家重点实验室, 山东 泰安 271000)

摘 要: 为探究 *CesA* 基因家族在白菜生长发育及纤维素合成过程中的作用机制, 该文通过生物信息学的方法, 以白菜的全基因组序列为研究区域, 进行理化特征、基因结构、进化特征、保守基序及结构域、顺式作用元件和组织表达等鉴定分析。结果表明: (1) 共鉴定出 16 个编码纤维素合成酶亚基的 *CesA* 基因, 该家族成员所编码蛋白的理论等电点为 4.76~9.12, 相对分子量为 17.76~122.67 kD, 长度为 153~1 089 aa。 (2) 15 个基因不均匀地分布于白菜的 7 条染色体上, *Bra036008* 定位于 scaffold 上。 (3) 大部分成员包含 4~14 个外显子, 1~11 个保守基序。 (4) 该家族具有保守的 DDD-QXXRW 保守功能域。 (5) 该家族编码蛋白主要分布在质膜上, 二级结构以不规则卷曲与 α -螺旋为主, 多数成员都含有 *CesA* 蛋白典型的 N 端、C 端和跨膜区。 (6) *CesA* 基因在茎中表达量相对较高, 其中 *Bra011865*、*Bra023952* 和 *Bra029874* 在茎、叶、花中显著表达。该研究结果为后续深入研究 *CesA* 基因功能以及白菜生长发育研究奠定了基础。

关键词: 纤维素合成酶, 白菜, *CesA*, 基因家族, 基因表达

中图分类号: Q943.2 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2022)12-2021-11

Identification and expression analysis of *CesA* gene family in *Brassica rapa* var. *glabra*

MA Yuchen¹, ZHAO Yumei^{1,2}, HUANG Danlin¹, ZHANG Mengqing¹, WU Xiaoyu^{1,2},
WANG Jie^{1,2}, CHEN Yu¹, HUANG Jiabao^{1,2}, DUAN Qiaohong^{1,2*}

(1. College of Horticultural Science and Engineering, Shandong Agricultural University, Tai'an 271000, Shandong, China; 2. State Key Laboratory of Crop Biology, Tai'an 271000, Shandong, China)

Abstract: In order to explore the role of *CesA* gene family in cellulose synthesis and development of *Brassica rapa* var. *glabra*, we identified the members of *CesA* genes in *B. rapa* var. *glabra* genome via bioinformatic method and the physiochemical properties, gene structures, evolutionary characteristics, conserved motifs and domains, *cis*-acting

收稿日期: 2021-12-28

基金项目: 山东省自然科学基金重点项目 (ZR2020KC017) [Supported by Natural Science Foundation Shandong Province (ZR2020KC017)].

第一作者: 马宇辰 (2000-), 研究方向为园艺科学与工程, (E-mail) 2586922861@qq.com。

*通信作者: 段巧红, 博士, 教授, 研究方向为远源杂交中生殖隔离的形成机理, (E-mail) duanqh@sdau.edu.cn。

elements and tissue expressions were identified and analysed. The results were as follows: (1) We identified 16 *BrCesA* genes from 10 *B. rapa* var. *glabra* chromosomes with isoelectric point ranged from 4.76 to 9.12, molecular weight ranged from 17.76 to 122.67 kD and amino acid length ranged from 153 to 1 089 aa. (2) With an exception of *Bra036008*, which located in scaffold, the rest of 15 *BrCesA* genes unevenly distributed in seven chromosomes. (3) Most of *CesA* contained 4 to 14 exons and 1 to 11 conserved motifs. (4) This family had a DDD-QXXRW conserved functional domain. (5) The coding proteins of this family were mainly distributed on the plasma membrane, and the secondary structure was mainly random coil and α -helix, and most members contained the typical N-terminus, C-terminus and transmembrane regions of *CesA* protein. (6) *CesA* gene was expressed in relatively high amounts in stem, and *Bra011865*, *Bra023952* and *Bra029874* were significantly expressed in stem, leaf and flower. The results of this study provide a basis for further research on the function of *CesA* gene and the growth and development of *Brassica rapa* var. *glabra*.

Key words: cellulose synthase, *Brassica rapa* var. *glabra*, *CesA*, gene family, gene expression

植物纤维素合酶是由 36 个单体组成的玫瑰状复合体,其单体主要由纤维素合成酶基因家族成员编码,纤维素 (cellulose) 是植物细胞壁的主要成分(姚敦义和王静之,1988),在细胞生长、分化、信号转导等过程中起到重要作用(解盛等,2021)。纤维素合酶 (cellulose synthases A, *CesA*) 是合成纤维素的酶 (Doblin et al., 2002),本质上属于糖基转移酶,最初在革兰氏阴性细菌醋杆菌中被鉴定 (Wong et al., 1990)。高等植物纤维素合成酶复合体中,有不少于 3 种 *CesA* 亚型参与 (Doblin et al., 2002),*CesA* 亚基彼此相互作用形成高级复合物。迄今为止,*CesA* 基因家族已在模式植物拟南芥 (Pear et al., 1996)、水稻 (Huang et al., 2015)、烟草 (徐宗昌和孔英珍,2017) 中鉴定出来,其中拟南芥 *CesA* 基因的研究最为深入 (Richmond, 2000)。拟南芥基因组拥有 10 个 *CesA* 基因 (*CesA1-10*),它们编码与细菌纤维素合成酶同源的蛋白 (Pear et al., 1996);生细胞壁的形成需要 3 种类型的 *CesA* 亚基 (*CesA4/不规则 XYLEM5 [IRX5]*, *CesA7/IRX3* 和 *CesA8/IRX1*) (Hernández-Blanco et al., 2007),*CesA3* 基因突变使纤维素合成水平降低,通过茉莉酸和乙烯等信号通路激活木质素合成和防御反应 (Caño-Delgado et al., 2003);在水稻基因组中共鉴定到 11 个 *OsCesA* 基因,水稻中的赤霉素信号转导可以通过促进纤维素的合成,进而影响水稻植株节间的发育 (Huang et al., 2015);此外,烟草基因组中鉴定出 21 个 *NiCesA* 基因,*NiCesA7*、*NiCesA9*、*NiCesA11*、*NiCesA16*、*NiCesA18* 等基因主要参与烟草次生细胞

壁纤维素的合成(徐宗昌和孔英珍,2017)。除模式植物外,玉米 (Appenzeller et al., 2004)、棉花 (孟成生等,2012)、巨龙竹 (王文治等,2021)、紫花苜蓿 (刘希强等,2018)、罗布麻 (解盛等,2021) 等多种非模式植物中也鉴定出 *CesA* 基因。从玉米中鉴定出 12 个不同的 *ZmCesA* 基因,在初级或次级细胞壁合成的独特细胞类型中表达 (Doblin et al., 2002)。棉花中鉴定出 18 个 *CesA* 基因 (孟成生等,2012);巨龙竹中鉴定出 45 个 *CesA* 基因 (王文治等,2021)。紫花苜蓿盛花期 *CesA* 基因表达水平显著提高,纤维素含量大幅增加 (刘希强等,2018)。罗布麻 *CesA* 基因家族包含的大量光响应、胁迫响应、激素响应等元件,在植株生长发育与抗逆防御方面发挥着作用 (解盛等,2021)。

白菜 (*Brassica rapa* var. *glabra*) 属十字花科 (Cruciferae) 芸薹属 (*Brassica*) 2 年生草本植物,原产于我国,栽培历史悠久,年种植面积 180 万 hm^2 左右 (张凤兰等,2021),是人们日常餐桌上必不可少的蔬菜。2011 年,白菜全基因组测序工作完成 (Wang et al., 2011),2017 年获得了升级的 v2.5 版本 (Cai et al., 2017),2018 年获得了白菜参考基因组 v3.0 新版本 (Zhang et al., 2018),为后续开展白菜基因研究奠定了坚实的基础 (Chen et al., 2020)。目前,*CesA* 基因家族在白菜中还未进行深入鉴定与分析。本研究以白菜的全基因组序列为研究区域,依托在线软件与 qRT-PCR 分析,采用生物信息学方法,通过对 *CesA* 基因家族的结构、进化特征、组织表达等进行系统鉴定,拟探讨以下问题: (1) 白菜 *CesA* 基因家族的遗传进化规律;

(2) 该家族成员的理化性质; (3) 该家族成员的基因结构、蛋白质二级结构及保守结构域; (4) 该家族成员在各组织中的表达模式以及在盐胁迫下的表达模式。

1 材料与方法

1.1 基因家族成员鉴定及理化性质分析

根据拟南芥已经鉴定的 10 个 *CesA* 基因序列, 通过 BLAST 在白菜基因组 (*B. rapa* var. *glabra* genome v1.5) 中搜索候选的白菜 *CesA* 家族成员, 并通过综合分析确定候选基因。使用 TBtools 软件 (Chen et al., 2020) 结合 Expasy (Wang et al., 2012) (<https://www.expasy.org/>) 分析白菜 *CesA* 基因家族的蛋白质分子量 (molecular weight, MW)、等电点 (pI) 等理化性质。

1.2 基因结构及保守结构域分析

利用 TBtools 软件绘制白菜 *CesA* 基因结构图; 利用 MEME (Kumar et al., 1994) (<http://meme-suite.org/tools/meme>) 在线预测 *CesA* 蛋白质基序。TBtools 软件 (<https://github.com/>) 绘制可视化 MEME 结构, 并进行基因结构分析。

1.3 基因在染色体上的分布及共线性关系分析

通过白菜基因组数据库对鉴定获得的 *CesA* 基因家族成员进行染色体分析, 利用 TBtools 软件作图进行分析。使用 BLAST 比对, 合并、建库、蛋白对比; 运行 MCSanX (Bolser et al., 2003), 进行下游分析及可视化作图, 从而进行共线性分析, 得到共线性图。

1.4 亚细胞定位预测和蛋白质二级与三级结构分析

使用 WoLF PSORT (<http://www.genscript.com/wolf-psort.html>) 进行亚细胞定位 PRABI (https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=npsa_sopma.html) 进行蛋白二级结构分析。利用 Phyre2 (Kelley et al., 2015) (<http://www.sbg.bio.ic.ac.uk/phyre2/html/page.cgi?id=index>) 对白菜 *CesA* 蛋白进行三级结构预测。

1.5 白菜 *CesA* 基因家族成员蛋白跨膜螺旋与三级结构预测

利用 TMHMM Server v2.0 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/>) 对白菜 *CesA* 蛋白跨膜螺旋进行预测。

1.6 C 白菜 *CesA* 基因表达分析

以“蛋黄白”白菜品种为实验材料。提取 30 d 苗龄的根、茎、叶和 80 d 苗龄的花和果荚的 RNA, 进行组织特异性表达分析。挑选生长状况相近的白菜幼苗浸泡于用 Hoagland 营养液配制的 150 mmol · L⁻¹ NaCl 溶液中, 12 h 后进行材料的 RNA 提取, 并以正常水培幼苗为对照, 进行盐胁迫下基因表达分析。

使用 qPrimerDB-qPCR Primer Database (<https://biodb.swu.edu.cn/qprimerdb/>) (Li et al., 2017) 设计 qRT-PCR 引物, 以 *BraActin 2* 为内参基因 (表 1)。使用 RNA 提取试剂盒提取样品总 RNA, 使用 HiScript II QRT SuperMix for qPCR 试剂盒反转录得到 cDNA。使用 ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix 试剂盒进行定量实验。反应体系 20 μL: 2 μL cDNA, 上、下游引物各 0.4 μL, SYBR 10 μL, 用灭菌 dd H₂O 补至 20 μL。PCR 反应程序: 95 °C 预变性 30 s, 95 °C 变性 10 s, 60 °C 退火 22 s, 进行 40 个循环。基因的相对表达量以 2^{-ΔΔCt} 法计算。所得数据通过 TBtools 进行可视化分析。

2 结果与分析

2.1 白菜 *CesA* 基因家族成员的鉴定与理化性质分析

经筛选鉴定, 得到 16 个白菜 *CesA* 基因家族成员 (表 2), 分析结果表明白菜 *CesA* 家族蛋白等电点介于 4.76~9.12 之间, 酸性蛋白与碱性蛋白的数量相近, 分别为 7 个和 9 个。分子量介于 17.76 kD~122.67 kD 之间。Bra011865 的氨基酸数目最多, Bra004814、Bra010691 蛋白的氨基酸数目显著少于其他成员。

2.2 白菜 *CesA* 家族基因系统进化分析

许多物种中都有 *CesA* 家族同源基因的进化与表达 (表 3)。为了解白菜 *CesA* 基因家族与拟南芥 *CesA* 基因家族之间的进化关系, 利用 MEGA-X 软件, 对两者的 *CesA* 基因家族成员进行的系统进化分析 (图 1) 结果表明, 白菜 *CesA* 基因家族与拟南芥 *CesA* 基因家族有相近的进化关系。 *CesA* 基因可以分为 4 个亚族, 共发现有 5 个白菜 *CesA* (Bra006407、Bra012578、Bra033714、Bra011865、Bra006036) 与拟南芥 *CesA* 具有高度同源性, 表明这 5 对基因具有高度的亲缘关系。通过对基因分化时间预测, 在基因进化的角度推测以 *CesA1* 出现时间最早。

表 1 白菜 *CesA* 基因家族表达分析的 qRT-PCR 引物Table 1 qRT-PCR primers for expression analysis of *CesA* gene family in *Brassica rapa* var. *glabra*

基因编号 Gene ID	引物序列 (5'-3')	
	Primer sequence (5'-3')	
<i>Bra023952</i>	F : AAAGGTGGAGAAATTGAAGGGA	R : AATAATCACAAACCCGGTAAAGGT
<i>Bra011345</i>	F : GACATGATTCTCAGCCAATTCC	R : CTGATGTAGTTCGCACAGATTG
<i>Bra011865</i>	F : ATCGATACTCTAATCGCAACGT	R : ACAACCTGTCCCGACATATATC
<i>Bra010691</i>	F : CGCCTCGTCTAGTATTAAGTGT	R : CCAACGTATATCGGTCCTTGTA
<i>Bra029874</i>	F : TTAGCTGTGGATATGAGGACAC	R : CAGTCTCCCTCCATAACCATAC
<i>Bra005845</i>	F : CGGAGCTCTACTTGTCAAATG	R : GGTATCCACTGTTGATAGCGTA
<i>Bra028768</i>	F : CATGTCATTAGCTGTGGTTACG	R : GCATTTTGAACCCAGTCAGAAT
<i>Bra033714</i>	F : GCAAGCTCAAGATTCTAGAAGG	R : AACCGCTGGGATAGTACAATAG
<i>Bra036008</i>	F : CGACAACGGAAGCAATTTTCTA	R : GACATCCCAAATCTCTTCTCGA
<i>Bra006036</i>	F : CTTGGCCTGTAATAATGTTCCG	R : TTTGCTGTGTTGATGTAGTGG
<i>Bra037793</i>	F : TAATAGCACAAAGAGATCACCCC	R : GAACCCCTGAGACTCGTATAAG
<i>Bra024324</i>	F : TTTGTTCTGATTAATGCCGACC	R : TCTCTGCAGATTTTACACGTCT
<i>Bra031904</i>	F : ATATGAAGGTTTGGATGGGTT	R : ATAGGAAAACACATTTAGGCCA
<i>Bra004814</i>	F : GAGGACGAGGATGATAATGAGG	R : ATACACTAACCCAACATCCCAG
<i>Bra006407</i>	F : CAAGCAAGATCAATCCATACCC	R : AGAGACGGTCTAGATAGGTCTC
<i>Bra012578</i>	F : ACAGTCTCCACAATAGACAGTG	R : GGATAGGTATCACAACCGAGAG
<i>BraActin 2</i>	F : CGGTGTCATGTTGGGAGA	R : CGTGCTCGATGGGTTACTTC

表 2 白菜 *CesA* 基因家族信息Table 2 Information of *CesA* gene family in *Brassica rapa* var. *glabra*

基因编号 Gene ID	染色体 Chromosome	等电点 Isoelectric point	分子量 Molecular weight (kD)	起始位置 Start location (bp)	终止位置 End location (bp)	蛋白长度 Protein length (aa)
<i>Bra023952</i>	A03	6.34	122.17	28 621 459	28 626 059	1 083
<i>Bra011345</i>	A01	6.51	121.85	2 640 630	2 645 508	1 080
<i>Bra011865</i>	A01	7.04	121.03	150 169	154 808	1 074
<i>Bra010691</i>	A08	6.98	31.61	16 010 300	16 016 114	287
<i>Bra029874</i>	A05	8.39	118.03	21 907 336	21 912 132	1 046
<i>Bra005845</i>	A03	7.67	118.62	899 408	903 741	1 055
<i>Bra028768</i>	A02	7.43	119.79	2 136 518	2 141 039	1 066
<i>Bra033714</i>	A06	8.43	119.81	25 466 123	25 470 303	1 052
<i>Bra036008</i>	scaffold	9.12	20.92	492 903	493 889	1 089
<i>Bra006036</i>	A03	6.65	121.40	1 703 119	1 708 289	1 076
<i>Bra037793</i>	A09	7.65	122.18	3 605 709	3 610 867	1 083
<i>Bra024324</i>	A06	7.24	122.67	14 970 360	14 975 283	1 082
<i>Bra031904</i>	A02	7.81	121.49	27 187 433	27 192 926	1 079
<i>Bra004814</i>	A05	4.76	17.76	1 926 040	1 927 962	153
<i>Bra006407</i>	A03	6.18	116.43	3 382 190	3 386 798	1 034
<i>Bra012578</i>	A03	6.69	111.40	23 439 101	23 442 994	985

2.3 白菜 *CesA* 家族基因的结构和保守结构域分析

利用 TBtools 对 16 个白菜 *CesA* 基因家族成员进行基因结构分析(图 2)。该家族成员大都包含 4~14 个内显子。其中 5 个基因含有 14 个 CDS 序列,3 个基因含有 13 个 CDS 序列,4 个基因含有 12

个 CDS 序列,*Bra033714* 含 11 个 CDS 序列,*Bra010691* 含 6 个 CDS 序列,*Bra004814* 含有 5 个 CDS 序列,*Bra036008* 含有 4 个 CDS 序列。表明部分家族基因结构间存在较大差异,具有丰富的多样性。

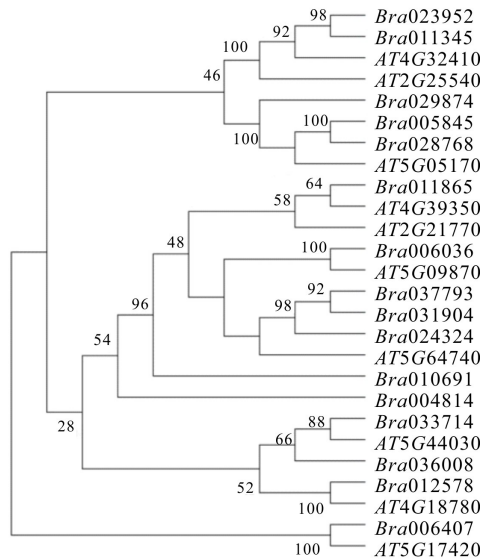
利用 MEME/MAST 程序进行蛋白保守结构域

表 3 *CesA* 家族同源基因在不同物种中的功能研究
Table 3 Function study of *CesA* family homologous genes in different species

拟南芥基因 ID <i>Arabidopsis thaliana</i> gene ID	基因 ID Gene ID	物种 Species	功能 Function	参考文献 Reference
<i>ATCesA2</i>	<i>CrCESA2-2</i>	琯溪蜜柚 <i>Guanxi pomelo</i>	初生壁纤维素合成调控 Regulation of primary wall cellulose synthesis	代亚兰等, 2021
<i>ATCESA7</i> 、 <i>ATCESA8</i>	<i>CrCESA4</i> 、 <i>CrCESA7-1</i> 、 <i>CrCESA8</i>	琯溪蜜柚 <i>Guanxi pomelo</i>	汁胞粒化过程次生壁纤维素的积累 Accumulation of secondary wall cellulose during granulation of juice cells	代亚兰等, 2021
<i>ATCesA1</i> 、 <i>ATCesA3</i>	<i>AvCesA2</i> 、 <i>AvCesA3</i>	罗布麻 <i>Apocynum venetum</i>	初生细胞壁纤维素合成基因 Primary cell wall cellulose synthesis gene	解盛等, 2021
<i>ATCesA7</i> 、 <i>ATCesA4</i> 、 <i>ATCesA8</i>	<i>AvCesA5</i> 、 <i>AvCesA8</i> 、 <i>AvCesA10</i>	罗布麻 <i>A. venetum</i>	次生细胞壁纤维素的合成 Primary cell wall cellulose synthesis	解盛等, 2021
<i>ATCesA6</i> 、 <i>ATCesA1</i>	<i>De10040587</i> 、 <i>De10044972</i> 、 <i>De10083985</i> 、 <i>De10040239</i>	细茎石斛 <i>Dendrobium candidum</i>	初生细胞壁的纤维素合成 Primary cell wall is involved in cellulose synthesis	兰晓天等, 2019
<i>ATCesA4</i> 、 <i>ATCesA7</i> 、 <i>ATCesA8</i>	<i>De110044623</i> 、 <i>De10069041</i>	细茎石斛 <i>D. candidum</i>	次生细胞壁合成 Secondary cell wall synthesis is related	兰晓天等, 2019
<i>ATCesA1</i> 、 <i>ATCesA3</i> 、 <i>ATCesA6</i>	<i>MLCesA7</i>	南荻 <i>Miscanthus lutarioriparius</i>	初级细胞壁的形成 Formation of primary cell walls	李遥等, 2021
<i>ATCesA4</i> 、 <i>ATCesA7</i> 、 <i>ATCesA8</i>	<i>MLCesA4</i> 、 <i>MLCesA9</i>	南荻 <i>M. lutarioriparius</i>	次级细胞壁的形成 Formation of secondary cell walls	李遥等, 2021
<i>ATCesA8</i>	<i>ClCesA1</i>	杉松 <i>Abies holophylla</i>	木材次生壁形成 Formation of wood secondary walls	庞景等, 2015
<i>ATCesA1</i>	<i>ClCesA2</i>	杉松 <i>A. holophylla</i>	细胞初生壁的形成 Formation of the primary wall of a cell	庞景等, 2015
<i>ATCesA1</i> 、 <i>ATCesA2</i> 、 <i>ATCesA3</i> 、 <i>ATCesA5</i> 、 <i>ATCesA6</i>	<i>LgCesA1</i> 、 <i>LgCesA3</i> 、 <i>LgCesA5</i> 和 <i>LgCesA6</i>	落叶松 <i>Larix gmelinii</i>	细胞初生壁的生长 Growth correlates with the primary wall of cells	特日格勒等, 2021
<i>ATCesA4</i> 、 <i>ATCesA7</i> 、 <i>ATCesA8</i>	<i>LgCesA4</i> 、 <i>LgCesA8</i>	落叶松 <i>L. gmelinii</i>	细胞次生壁的生长 Growth correlates with cell secondary walls	特日格勒等, 2021
<i>ATCesA3</i> 、 <i>ATCesA9</i>	<i>F01_cb9914_c103031/f5p6/3907</i> 、 <i>F01_cb9914_c4357/f4p0/4200</i>	巨龙竹 <i>Dendrocalamus sinicus</i>	初生壁纤维素生物合成 Primary wall cellulose biosynthesis	王文治等, 2021
<i>ATCesA4</i> 、 <i>ATCesA7</i> 、 <i>ATCesA8</i>	<i>NtCesA7</i> 、 <i>NtCesA9</i> 、 <i>NtCesA11</i> 、 <i>NtCesA16</i> 、 <i>NtCesA18</i>	烟草 <i>Nicotiana tabacum</i>	烟草次生细胞壁纤维素的合成 Synthesis of cellulose from secondary cell wall	徐宗昌和孔英珍, 2017
<i>ATCesA1</i> 、 <i>ATCesA3</i> 、 <i>ATCesA6</i>	<i>NtCesA19</i>	烟草 <i>N. tabacum</i>	初生细胞壁纤维素合成 Primary cell wall cellulose synthesis	徐宗昌和孔英珍, 2017
<i>ATCesA1</i> 、 <i>ATCesA3</i> 、 <i>ATCesA6</i>	<i>RpCesA2</i>	刺槐 <i>Robinia pseudoacacia</i>	初生细胞壁纤维素合成 Primary wall cellulose biosynthesis	张凯权等, 2017
—	<i>DlCesA3-2</i> 、 <i>DlCesA6</i> 、 <i>DlCesA7-1</i>	龙眼 <i>Euphoria longan</i>	可能影响植物胚乳发育 Affecting plant endosperm development probably	朱永静等, 2020
—	<i>DlCesA7</i>	龙眼 <i>E. longan</i>	可能参与龙眼体胚发育调控 Regulation of somatic embryo development probably	朱永静等, 2020

注: 拟南芥 ID 栏为物种基因家族对应同源基因; — 表示无对应基因。

Note: ID column of *Arabidopsis thaliana* is the corresponding homologous gene of the species gene family; — indicates no corresponding genes.



Bra. 白菜; *AT.* 拟南芥。下同。

Bra. *Brassica rapa* var. *glabra*; *AT.* *Arabidopsis thaliana*. The same below.

图 1 白菜与拟南芥 *CesA* 基因家族系统进化树
Fig. 1 Phylogenetic tree of *CesA* gene family of *Brassica rapa* var. *glabra* and *Arabidopsis thaliana*

分析(图 3),共鉴定到 10 种 motif,大部分成员含有相同的 motif 组成。均含有一个保守的 motif 1; *Bra011345* 基因中含有 motif 1~10 及一个重复的 motif 6; *Bra011865* 基因中含有 motif 1~10 及一个重复的 motif 8,推测具有差异的基因在白菜生长周期中发挥不同于其他的作用。利用 DNAMAN 对白菜 *CesA* 进行氨基酸序列进比对(图 4)显示,除了 *Bra010691*、*Bra036008* 和 *Bra004814*,其余家族基因都含有 *CesA* 蛋白典型 DDD-QXXRW 保守功能域,与拟南芥 *CesA* 蛋白具有相同的保守功能域(Delmer, 1999)。

2.4 白菜 *CesA* 家族染色体定位与共线性分析

利用 TBtools 绘制出白菜 *CesA* 家族基因的染色体分布图(图 5)。*CesA* 基因不均匀地分布于 A01、A02、A03、A05、A06、A08、A09 七条染色体上, *Bra036008* 定位于 scaffold 上。

利用 TBtools 对 16 个白菜 *CesA* 基因家族成员与拟南芥进行分析,共鉴定到 7 对共线性基因对(图 6)。大多数白菜 *CesA* 家族成员都可找到在拟南芥中的直系同源基因,仅 *Bra010691* 和 *Bra004814* 无与之对应的共线性的基因。

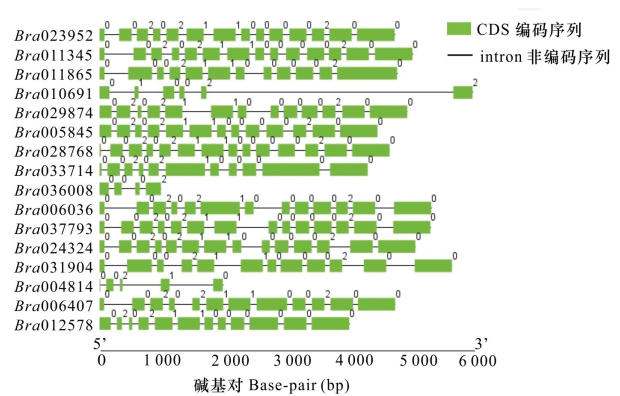


图 2 白菜 *CesA* 基因的结构
Fig. 2 Structures of *CesA* genes in *Brassica rapa* var. *glabra*

2.5 亚细胞定位预测和蛋白质二级结构分析

基因的亚细胞定位有助于我们进一步了解其功能。利用 WoLF PSORT 在线网站进行亚细胞定位分析,发现绝大多数白菜 *CesA* 定位在质膜上,与纤维素合酶的作用机制相符。蛋白质二级结构是多肽链在空间的三维排列中的一个高级组织层次,了解 *CesA* 蛋白的结构有助于预测其分子功能。利用 PRABI 在线网站对白菜 *CesA* 蛋白进行分析,发现 *CesA* 基因家族成员的蛋白质二级结构含有大量无规则卷曲、 α -螺旋和延伸链结构及少量的 β -转角(表 4)。

2.6 白菜 *CesA* 家族成员蛋白跨膜结构域预测

利用 TMHMM 对白菜 *CesA* 家族成员蛋白的跨膜结构进行预测结果(图 7)显示:除 *Bra010691*、*Bra036008*、*Bra004814* 蛋白外,其余家族成员蛋白在 C 端均含有 6 个完整的跨膜结构域,且每个组成跨膜结构域的氨基酸数量与位置均相似,据此推测其可能有相同的结构和功能,而 *Bra010691*、*Bra036008*、*Bra004814* 可能因为发生突变,相应功能发生变化,而导致跨膜结构缺失。仅有 *Bra005845*、*Bra006036*、*Bra024324*、*Bra028768*、*Bra031904*、*Bra033714*、*Bra037793* 蛋白在近 N 端均含有 2 个完整的跨膜结构域。

2.7 白菜 *CesA* 基因家族表达分析

通过 qRT-PCR 分析 *CesA* 在根、茎、叶、花、果荚中表达水平,使用 TBtools 将这些基因进行可视化分析(图 8)。结果表明 *CesA* 基因在根、茎、叶、花、果荚中均有不同程度的表达,且在茎部表达量较高。*Bra011865*、*Bra023952* 和 *Bra029874* 在茎、

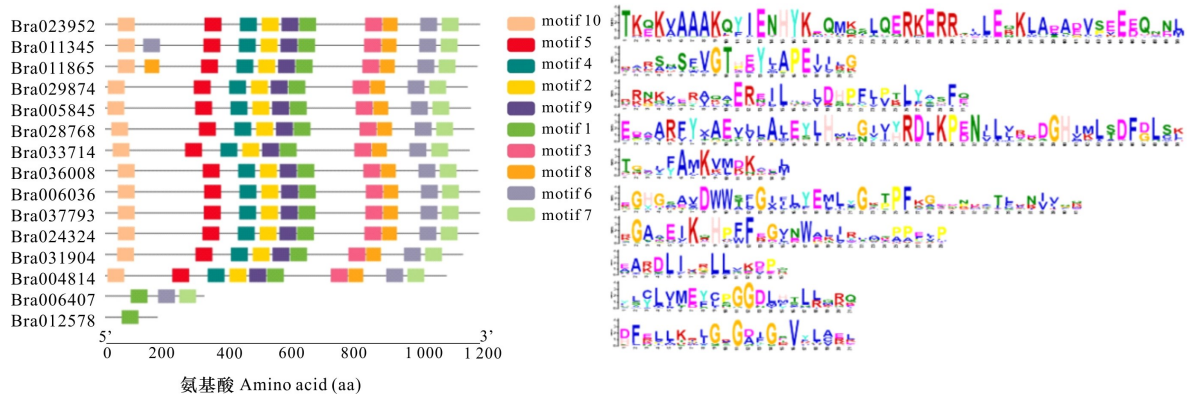
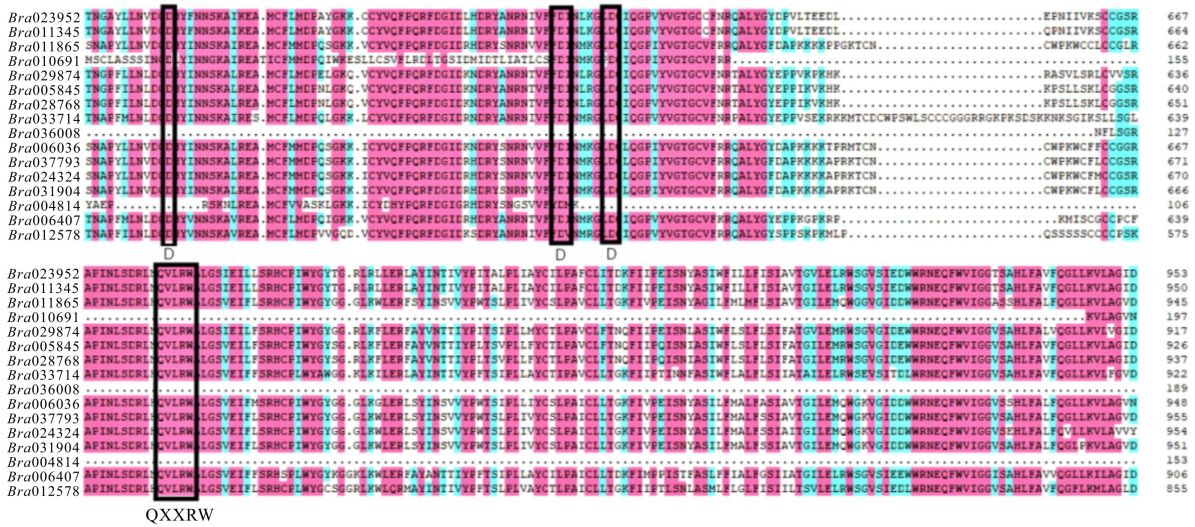


图 3 白菜 *CesA* 蛋白家族保守结构域结构域分析
 Fig. 3 Domain analysis of *CesA* protein family in *Brassica rapa* var. *glabra*



框选内容为白菜 *CesA* 蛋白 D, DD 保守功能域与 QXXRW 保守功能域。
 Boxes are *CesA* protein D, DD conserved functional domain and QXXRW conserved functional domain.

图 4 白菜 *CesA* 家族氨基酸序列比对

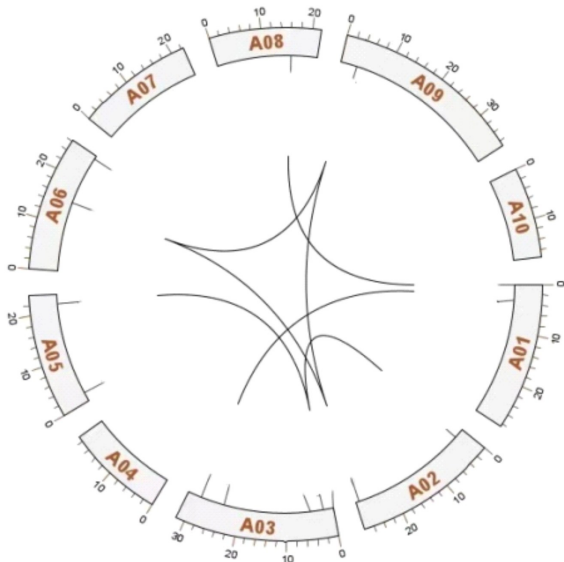
Fig. 4 Sequence alignment of aminoacid of *CesA* family in *Brassica rapa* var. *glabra*

叶、花和果荚中表达量均显著高于在根中的表达水平,其中, *Bra029874* 的表达量最为显著,在茎、叶、花中表达量为在根中表达量的 6~7 倍。

通过 qRT-PCR 分析 *CesA* 在正常与 150 mM · L⁻¹ NaCl 胁迫状态下的表达水平,结果表明大部分 *CesA* 基因对盐处理有一定程度的响应,其中 *Bra011865* 的 2 h 和 6 h 处理组,与 *Bra010691* 的 6 h 处理组响应最为显著, *Bra024324*、*Bra028768* 及 *Bra023952* 也有比较明显的响应(图 9)。

3 讨论与结论

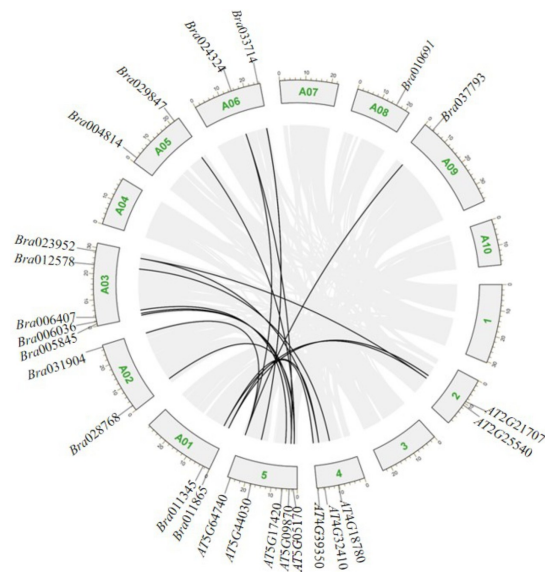
纤维素是植物细胞壁形成的主要成分,通过参与细胞形态建成,调控细胞发育,参与多种胞内信号转导途径,从而影响植物体的生长发育。植物纤维素合酶是由 36 个单体组成的,本质为糖基转移酶的玫瑰状复合体。Doblin 等(2002)研究显示,纤维素合酶的主要功能是负责在质膜上催化



A01-A10. 白菜染色体。

A01-A10. *Brassica rapa* var. *glabra* chromosomes.

图 5 白菜 *Cesa* 基因在染色体上的位置分布
Fig. 5 Chromosome localization of amino acid of *Cesa* gene in *Brassica rapa* var. *glabra*



1-5. 拟南芥染色体; A01-A10. 白菜染色体。

1-5. *Arabidopsis thaliana* chromosomes; A01-A10. *Brassica rapa* var. *glabra* chromosomes.

图 6 白菜与拟南芥间 *Cesa* 基因家族共线性分析
Fig. 6 Synteny analysis of *Cesa* gene family between *Brassica rapa* var. *glabra* and *Arabidopsis thaliana*

纤维素的生物合成,高等植物纤维素合成酶复合体中,存在 3 种以上 *Cesa* 亚型参与,其亚基之间

相互作用形成高级复合物。本研究鉴定到 16 个白菜 *Cesa* 基因,对白菜和拟南芥 *Cesa* 基因家族共线性分析显示,两者的进化关系较近,而聚类在同一分支上的基因,如 *Bra023952*、*Bra011345* 与 *ATCesA1* (*AT4G32410*) 聚类在同一分支上,可能具有相似的生物学功能。对白菜 *Cesa* 基因家族成员进行的理化性质分析表明,蛋白等电点介于 4.76~9.12 之间,对酸性及碱性环境适应性均较好。16 个家族成员定位在 7 条染色体上,其中 ChrA03 上最多,且 *Bra036008* 定位在 scaffold 上。Nawaz 等 (2019) 的研究表明,家族成员蛋白有 8 个完整的跨膜结构域,各种植物来源的 *Cesa* 基因在序列水平上有些差异。本研究中,白菜 *Cesa* 家族成员多数有 8 个完整的跨膜结构域,其中 C 端有 6 个,近 N 端有 2 个,多数成员具有类似的保守结构域组成,表明其功能存在相似性。*Cesa* 蛋白跨膜区在膜上形成一个通道用于分泌葡萄糖链,在分泌通道的活性区域的附近,DDD 残基与 QXXRW 保守结构域行使催化糖链合成的功能 (Richmond, 2000),本研究显示,白菜 *Cesa* 基因家族大部分成员均含有 DDD-QXXRW 结构域,与现有报道的拟南芥与烟草等具有相同的结构域,存在进化上的保守性。

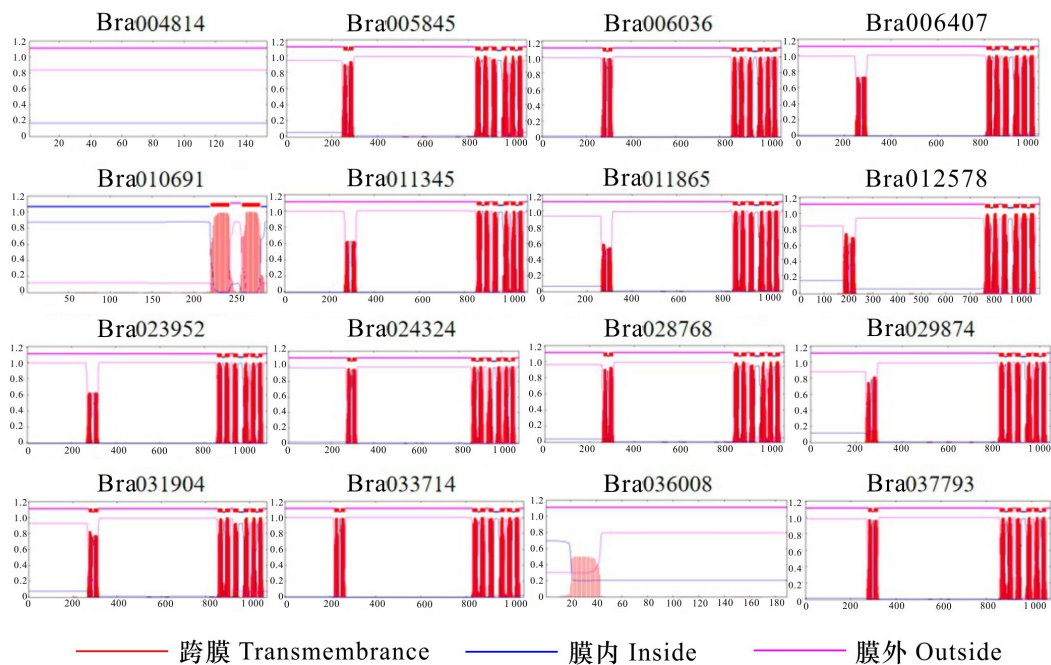
Cesa 在转录水平调控纤维素合成,编码序列中内含子的有无及其在序列中的位置造成了 *Cesa* 基因间的差异 (Richmond, 2000)。已有研究显示,烟草中鉴定出 21 个 *Cesa* 基因家族成员中有 12~16 个内含子 (徐宗昌和孔英珍, 2017),水稻中鉴定出 11 个家族成员中有 1~13 个内含子 (王振怡等, 2015),铁皮石斛 (兰晓天等, 2019) 和巨龙竹 (王文治等, 2021) 中均含有较多内含子。本研究对基因结构的分析显示,白菜 *Cesa* 基因家族成员都有 3~13 个内含子,因其内含子较多,基因进化保守性降低,转录时出现可剪接突变的概率较高,因此 *Cesa* 基因家族之间在结构上存在差异,具有丰富的多样性。植物中存在多种纤维素合成酶基因,不同基因作用在不同部位,表达的功能有差异。南荻的 *MICesA7* 参与初级细胞壁的形成, *MICesA4*、*MICesA9* 则参与次级细胞壁的形成 (李遥等, 2021); 杉木的 *ClCesA1* 参与木材次生壁形成, *ClCesA2* 参与细胞初生壁的形成 (庞景等, 2015); 琯溪蜜柚中, *CrCesA2-2* 基因参与初生壁纤维素合成调控, *CrCesA4*、*CrCesA7-1*、*CrCesA8* 参与了次生

表 4 白菜 *CesA* 亚细胞定位预测与二级结构分析Table 4 Prediction of subcellular location and secondary structure analysis of *CesA* in *Brassica rapa* var. *glabra*

蛋白质 ID Protein ID	亚细胞结构定位预测 Subcellular localization prediction						蛋白质二级结构分析 Protein secondary structure analysis				
	质膜 Plasma membrane	叶绿体 Chloroplast	胞浆 Endochy- lema	线粒体 Mitochon- dion	液泡 Vacuole	细胞核 Nucleus	内质网 Endoplasmic reticulum	α -螺旋 α -helix (%)	延伸链 Extended strand (%)	β -转角 β -turn (%)	不规则卷曲 Random coil (%)
Bra023952	11	—	—	—	—	—	2	31.86	15.51	4.89	47.74
Bra011345	12	—	—	—	—	1	—	32.13	16.67	4.63	46.57
Bra011865	12	—	—	—	—	1	—	33.71	15.74	5.59	44.97
Bra010691	7	—	1	1	2	1	1	35.54	24.04	9.06	31.36
Bra029874	9	—	—	—	—	2	2	32.70	14.63	4.49	48.18
Bra005845	10	—	—	—	1	—	—	33.27	14.60	4.36	47.77
Bra028768	11	—	—	—	—	2	—	33.49	14.45	4.69	47.37
Bra033714	11	—	—	—	—	2	—	35.08	14.54	5.23	45.15
Bra036008	—	1	—	4	—	8	—	28.04	17.46	8.47	46.03
Bra006036	13	—	—	—	—	—	—	31.78	15.24	4.28	48.70
Bra037793	13	—	—	—	—	—	—	31.95	15.14	4.89	48.01
Bra024324	13	—	—	—	—	—	—	32.75	14.37	4.20	48.68
Bra031904	13	—	—	—	—	—	—	32.25	14.02	3.73	50.00
Bra004814	—	8	4	—	—	1	—	16.99	26.14	10.46	46.41
Bra006407	11	1	—	—	—	1	—	34.53	14.81	3.59	47.06
Bra012578	12	—	—	—	—	2	—	32.79	14.42	4.77	48.02

注: 关于亚细胞定位数值根据分选信号、氨基酸组成和功能域数, 经 KNN 算法而得到; 数值表示所占比例; “—” 表示无数值。

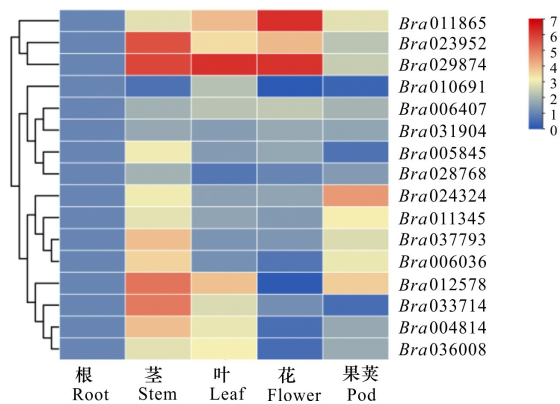
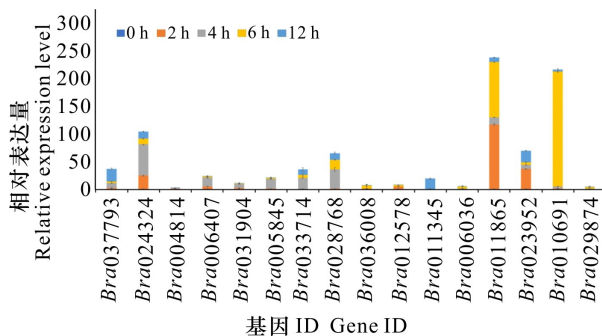
Note: Values of subcellular localization is obtained according to sorting signals, amino acid composition and functional motifs from KNN. The numerical value represents the proportion column; — represents the absence of a value.



横坐标为蛋白序列长度(氨基酸数量); 纵坐标为概率。

X-coordinate is the length of the protein sequence (the number of amino acids); Y-coordinate is the probability.

图 7 白菜 *CesA* 蛋白跨膜螺旋预测Fig. 7 Prediction of *CesA* protein transmembrane helix of *Brassica rapa* var. *glabra*

图8 白菜不同组织中 *CesA* 基因的表达模式Fig. 8 Expression patterns of *CesA* genes in different tissues图9 在盐胁迫下白菜 *CesA* 基因家族表达分析Fig. 9 Expression analysis of *CesA* gene family under salt stress in *Brassica rapa* var. *glabra*

壁纤维素的积累(代亚兰等, 2021);罗布麻的 *AvCesA2*、*AvCesA3* 参与初生细胞壁纤维素合成, *AvCesA5*、*AvCesA8*、*AvCesA10* 参与次生细胞壁纤维素合成(解盛等, 2021)。本研究对二级结构的分析显示,除 *Bra036008* 和 *Bra004814* 外,白菜 *CesA* 基因家族成员均定位在质膜上,表明该基因家族与细胞壁纤维素合成相关。*CesA* 基因具有组织表达的特异性,兰晓天等(2019)对铁皮石斛 *CesA* 基因进行分析得出, *De10015261*、*De10044519*、*De10126237* 基因只在铁皮石斛的根中表达, *De10015633*、*De10018596* 只在茎中表达, *De10002966* 在根、叶、花中均有表达。本研究中, 16个白菜 *CesA* 家族基因在根茎叶花果荚中表达的个数和表达量均不相同,其中茎中表达量相对较高,尤其 *Bra011865*、*Bra023952* 和 *Bra029874* 在茎、叶、花中显著表达。Zhang等(2016)的研究表明, *AtCesA6* 在拟南芥盐胁迫耐受性中发挥重要作用。

用。在本研究中,大部分 *CesA* 基因对盐胁迫存在一定程度的响应,其中 *Bra010691* 的 6 h 处理组响应最为显著,表明该家族成员参与非生物胁迫的信号应答(徐宗昌和孔英珍, 2017)。

目前,对白菜 *CesA* 基因家族还没有进行系统的功能鉴定,许多基因的功能尚未发掘。本研究利用生物信息学方法对白菜 *CesA* 基因家族进行了全基因组鉴定,并对其进化关系、基因结构、顺式作用元件等进行分析,为进一步探究白菜生长发育机制奠定了基础。

参考文献:

- APPENZELLER L, DOBLIN M, BARREIRO R, et al., 2004. Cellulose synthesis in maize: isolation and express analysis of the cellulose synthase (*CesA*) gene family [J]. *Cellulose*, 11(3/4): 287-299.
- BOLSER D, STAINES DM, PRITCHARD E, et al., 2003. Ensembl plants: Integrating tools for visualizing, mining, and analyzing plant genomics data [J]. *Methods Mol Biol*, 1374: 115-140.
- CAÑO-DELGADO A, PENFIELD S, SMITH C, et al., 2003. Reduced cellulose synthesis invokes lignification and defense responses in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant J*, 34(3): 351-362.
- CAI C, WANG X, LIU B, et al., 2017. *Brassica rapa* genome 2.0: A reference upgrade through sequence re-assembly and gene re-annotation[J]. *Mol Plant*, 10(4): 649-651.
- CHEN C, CHEN H, ZHANG Y, et al., 2020. TBtools: An integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data [J]. *Mol Plant*, 13(8): 1194-1202.
- DELMER DP, 1999. Cellulose biosynthesis: exciting times for a difficult field of study [J]. *Ann Rev Plant Biol*, 50: 245-276.
- DOBLIN MS, KUREK I, JACOB-WILK D, et al., 2002. Cellulose biosynthesis in plants: from genes to rosettes [J]. *Plant Cell Physiol*, 43(12): 1407-1420.
- DAI YL, ZHAO QY, LIU RN, et al., 2021. Analysis of cellulose content and synthase gene expression in juice sacs secondary wall during granulation of Guanxi pomelo [J]. *J Fruit Sci*: 1-13. [代亚兰, 赵秋月, 刘若南, 等, 2021. 琯溪蜜柚成熟期间汁胞纤维素含量及其合成酶基因表达分析 [J]. *果树学报*, 38(9): 1435-1443.]
- HERNÁNDEZ-BLANCO C, FENG DX, HU J, et al., 2007. Impairment of cellulose synthases required for *Arabidopsis* secondary cell wall formation enhances disease resistance [J]. *Plant Cell*, 19(3): 890-903.
- HUANG D, WANG S, ZHANG B, et al., 2015. A gibberellin-mediated DELLA-NAC signaling cascade regulates cellulose synthesis in rice [J]. *Plant Cell*, 27(6): 1681-1696.
- KUMAR S, TAMURA K, NEI M, 1994. MEGA: Molecular evolutionary genetics analysis software for microcomputers [J]. *Comput Appl Biosci*, 10(2): 189-191.

- KELLEY LA, MEZULIS S, YATES CM, et al., 2015. The Phyre2 web portal for protein modeling, prediction and analysis [J]. *Nat Protoc*, 10(6): 845–858.
- LI W, WANG J, SUN Q, et al., 2017. Expression analysis of genes encoding double B-box zinc finger proteins in maize [J]. *Funct Integr Genomics*, 17(6): 653–666.
- LIU XQ, ZHANG H, GONG P, et al., 2018. Transcriptome analysis of secondary cell wall synthesis regulation at different developmental stages in Alfalfa (*Medicago sativa* L.) [J]. *Sci Agric Sin*, 51(11): 2049–2059. [刘希强, 张涵, 龚攀, 等, 2018. 紫花苜蓿不同发育时期次生壁合成调控的转录组分析 [J]. *中国农业科学*, 51(11): 2049–2059.]
- LAN XT, HU S, FENG L, et al., 2019. Bioinformatic analysis of the cellulose synthase supergene family in *Dendrobium candidum* [J]. *J Henan Agric Sci*, 48(8): 49–55. [兰晓天, 胡淞, 冯磊, 等, 2019. 铁皮石斛纤维素合成酶超级基因家族生物信息学分析 [J]. *河南农业科学*, 48(8): 49–55.]
- LI Y, HE YC, LIN YH, et al., 2021. Bioinformatics analysis of cellulose synthase *CesA* gene from *Miscanthus lutarioriparius* [J]. *Mol Plant Breed*, 19(13): 4378–4385. [李遥, 何彦岑, 林宇环, 等, 2021. 南荻纤维素合成酶 *CesA* 基因的生物信息学分析 [J]. *分子植物育种*, 19(13): 4378–4385.]
- MENG CS, WANG ZW, ZHANG JH, et al., 2012. Bioinformatic comparison of the cellulose synthase gene family of cotton and *Arabidopsis thaliana* [J]. *Guizhou Agric Sci*, 40(7): 39–41. [孟成生, 王志伟, 张俊红, 等, 2012. 棉花与拟南芥纤维素合成酶基因家族的生物信息学比较 [J]. *贵州农业科学*, 40(7): 39–41.]
- NAWAZ MA, LIN X, CHAN TF, et al., 2019. Characterization of cellulose synthase A (CESA) gene family in eudicots [J]. *Biochem Genet*, 57(2): 248–272.
- PEAR JR, KAWAOGOE Y, SCHRECKENGOST WE, et al., 1996. Higher plants contain homologs of the bacterial *celA* genes encoding the catalytic subunit of cellulose synthase [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 93(22): 12637–12642.
- PANG J, TONG ZK, HUANG HH, et al., 2015. Isolation and expression analysis of cellulose synthase genes in Chinese fir (*Cunninghamia lanceolata*) [J]. *J Zhejiang A & F Univ*, 32(1): 40–46. [庞景, 童再康, 黄华宏, 等, 2015. 杉木纤维素合成酶基因 *CesA* 的克隆及表达分析 [J]. *浙江农林大学学报*, 32(1): 40–46.]
- RICHMOND T, 2000. Higher plant cellulose synthases [J]. *Genome Biol*, 1(4): 3001–3006.
- TE RGL, XU K, LIN XF, et al., 2021. Cloning of and bioinformatics analysis of cellulose synthase (*CesA*) genes from *Larix gmelinii* [J/OL]. *Mol Breed*: 1–18. <https://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.s.20210330.1606.006.html>. [特日格勒, 徐坤, 林晓飞, 白玉娥, 2021. 兴安落叶松纤维素合酶基因的克隆及生物信息学分析 [J/OL]. *分子植物育种*: 1–18. <https://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.s.20210330.1606.006.html>.]
- WONG HC, FEAR AL, CALHOON RD, 1990. Genetic organization of the cellulose synthase operon in *Acetobacter xylinum* [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 87(20): 8130–8134.
- WANG X, WANG H, WANG J, et al., 2011. *Brassica rapa* genome sequencing project consortium. The genome of the mesopolyploid crop species *Brassica rapa* [J]. *Nat Genet*, 43(10): 1035–1039.
- WANG Y, TANG H, DEBARRY JD, 2012. MCSanX: A toolkit for detection and evolutionary analysis of gene synteny and collinearity [J]. *Nucl Acids Res*, 40(7): e49.
- WANG ZY, WANG JP, PAN YX, et al., 2015. Bioinformatic analysis of *CesA* gene family in *Arabidopsis* and rice [J]. *J Henan Agric Sci*, 44(6): 13–17. [王振怡, 王金朋, 潘玉欣, 等, 2015. 拟南芥和水稻 *CesA* 基因家族的生物信息学分析 [J]. *河南农业科学*, 44(6): 13–17.]
- WANG WZ, WANG J, WANG CM, et al., 2021. Bioinformatics analysis of cellulose synthase a (*CesA*) gene family based on the transcriptome of *Dendrocalamus sinicus* [J]. *Mol Breed*, 19(9): 2912–2921. [王文治, 王娟, 王昌命, 等, 2021. 基于转录组的巨龙竹 *CesA* 基因家族的生物信息学分析 [J]. *分子植物育种*, 19(9): 2912–2921.]
- XU ZC, KONG YZ, 2017. Genome-wide identification, subcellular localization and gene expression analysis of the members of CESA gene family in common tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) [J]. *Hereditas*, 39(6): 512–524. [徐宗昌, 孔英珍, 2017. 普通烟草 *CESA* 基因家族成员的鉴定、亚细胞定位及表达分析 [J]. *遗传*, 39(6): 512–524.]
- XIE S, LI GQ, SONG LX, et al., 2021. Bioinformatics analysis of *Apocynum venetum* *CesA* gene family [J]. *Guihaia*, 41(4): 522–534. [解盛, 李国旗, 宋立肖, 等, 2021. 罗布麻 *CesA* 基因家族的生物信息学分析 [J]. *广西植物*, 41(4): 522–534.]
- YAO DY, WANG JZ, 1988. Cytoderm [J]. *Chin Bull Bot*, (1): 18–21. [姚敦义, 王静之, 1988. 细胞壁 [J]. *植物学通报*, (1): 18–21.]
- ZHANG SS, SUN L, DONG XR, et al., 2016. Cellulose synthesis genes *CESA6* and *CS11* are important for salt stress tolerance in *Arabidopsis* [J]. *J Integr Plant Biol*, 58(7): 623–626.
- ZHANG L, CAI X, WU J, et al., 2018. Improved *Brassica rapa* reference genome by single-molecule sequencing and chromosome conformation capture technologies [J]. *Hortic Res*, 5: 50–60.
- ZHANG FL, YU SC, YU YJ, et al., 2021. Research progress on Chinese cabbage genetic breeding during ‘The Thirteenth Five-year Plan’ in China [J]. *Chin Veget*, 383(1): 22–32. [张凤兰, 于拴仓, 余阳俊, 等, 2021. “十三五”我国大白菜遗传育种研究进展 [J]. *中国蔬菜*, 383(1): 22–32.]
- ZHANG KQ, MA LY, DUAN J, et al., 2017. Cloning, expression and SNP analysis of the cellulose synthase gene (*RpCesA2*) from *Robinia pseudoacacia* L [J]. *Mol Plant Breed*, 15(2): 474–482. [张凯权, 马履一, 段劼, 等, 2017. 刺槐纤维素合酶基因 (*RpCesA2*) 克隆、表达及 SNP 分析 [J]. *分子植物育种*, 15(2): 474–482.]
- ZHU YJ, LU BS, ZHANG ST, et al., 2020. Identification of *Euphoria longan* (*Lour.*) Steud cellulose synthase gene family members and expression patterns [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 26(5): 1235–1243. [朱永静, 路保顺, 张舒婷, 等, 2020. 龙眼纤维素合酶基因家族成员鉴定及表达模式 [J]. *应用与环境生物学报*, 26(5): 1235–1243.]