

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201811046

张树伟, 彭宏祥, 潘介春 等. ‘禾荔’优质晚熟突变体‘GLL-1’类黄酮糖基转移酶基因 *LcUFGT* 的克隆与表达分析 [J]. 广西植物, 2020, 40(1): 128–135.

ZHANG SW, PENG HX, PAN JC, et al. Cloning and expression analysis of UDP glucose-flavonoid-3-o-glycosyltransferase gene *LcUFGT* from ‘GLL-1’, a late-maturing mutant of ‘Heli’ [J]. *Guihaia*, 2020, 40(1): 128–135.

‘禾荔’优质晚熟突变体‘GLL-1’类黄酮糖基转移酶基因 *LcUFGT* 的克隆与表达分析

张树伟¹, 彭宏祥¹, 潘介春², 李鸿莉¹, 秦献泉¹, 朱建华¹, 李冬波¹,
徐 宁¹, 侯延杰¹, 邱宏业¹, 李 平³, 王金英², 丁 峰^{1*}

(1. 广西壮族自治区农业科学院, 园艺研究所, 南宁 530007; 2. 广西大学 农学院, 南宁 530004;
3. 广西桂平市麻垌镇农业技术推广站, 广西 桂平 537211)

摘 要: ‘GLL-1’为‘禾荔’中选育出的一个优质晚熟芽变新种质。为探讨‘GLL-1’果实成熟期延迟的遗传基础,该研究以‘禾荔’和‘GLL-1’为实验材料,克隆花色苷合成途径结构基因 *LcUFGT*,并对其生物信息学预测及分析,同时通过 qRT-PCR 对 *LcUFGT* 基因在果实发育不同阶段的表达进行研究,分析 *LcUFGT* 的表达对突变体果实发育速度的影响。结果表明:(1) *LcUFGT* 基因 ORF 长 1 359 bp, 编码 453 个氨基酸,推测蛋白质分子量约为 50.16 kD。(2) 序列比对发现所编码蛋白与‘禾荔’等荔枝品种高度保守,在蛋白的 C 端具有 PSPG 盒。(3) 在果实发育成熟进程中,‘禾荔’和‘GLL-1’果皮逐渐退绿转红,两者 *LcUFGT* 基因的表达量都呈先上升后下降的表达趋势,然而,‘禾荔’*LcUFGT* 基因的表达量在花后 56 d 显著增加,突变体‘GLL-1’*LcUFGT* 基因的表达量在花后 67 d 显著增加,*LcUFGT* 基因在突变体‘GLL-1’中显著上升表达的时间比‘禾荔’延迟,且与果实发育延迟基本一致。以上结果表明,*LcUFGT* 基因在荔枝果皮着色过程中发挥重要作用,是果实着色的关键基因之一,突变体‘GLL-1’中的延迟表达是引起突变体晚熟的原因之一。

关键词: 晚熟突变体, *LcUFGT* 基因, 果实发育, 花色苷合成, 表达分析

中图分类号: Q943 文献标识码: A

文章编号: 1000-3142(2020)01-0128-08

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Cloning and expression analysis of UDP glucose-flavonoid-3-o-glycosyltransferase gene *LcUFGT* from ‘GLL-1’, a late-maturing mutant of ‘Heli’

收稿日期: 2019-03-15

基金项目: 国家重点研发计划项目(2019YFD1000904); 国家自然科学基金(31760564); “广西八桂青年学者”专项项目(BGQN201979-1); 国家荔枝龙眼产业技术体系项目(CARS-33-03); 广西自然科学基金(2017GXNSFAA198350, 2016GXNSFBA380036, 2018GXNSFAA050089); 广西科技重大专项(桂科 AA17204026, 桂科 AA17204097); 广西荔枝龙眼创新团队建设专项(nycytxgxcxt-d-01); 亚热带农业生物资源保护与利用国家重点实验室开放课题(SKLCUSA-b201811); 广西农业科学院基本科研业务专项(桂农科 2018YM21) [Supported by the National Key Research and Development Program (2019YFD1000904); the National Natural Science Foundation of China (31760564); Bagui Young Scholar Foundation of Guangxi, China (BGQN201979-1); China Litchi and Longan Industry Technology Research System (CARS-33-03); Guangxi Natural Science Foundation (2017GXNSFAA198350, 2016GXNSFBA380036, 2018GXNSFAA050089); Science and Technology Major Program of Guangxi (AA17204026, AA17204097); Guangxi Litchi and Longan Innovation Team Construction Program (nycytxgxcxt-d-01); Open Program of the State Key Laboratory for the Protection and Utilization of Agricultural Biological Resources in Subtropics(SKLCUSA-b201811); Science and Technology Development Fund of Guangxi Academy of Agricultural Sciences (2018YM21)].

作者简介: 张树伟(1985-), 女, 河北邢台人, 博士, 副研究员, 主要从事果树分子生物学及生物技术育种研究, (E-mail) 568324059@qq.com。

通信作者: 丁峰, 博士, 副研究员, 研究方向为果树分子生物学及生物技术育种, (E-mail) dingfeng418@163.com。

ZHANG Shuwei¹, PENG Hongxiang¹, PAN Jiechun², LI Hongli¹, QIN Xianquan¹,
ZHU Jianhua¹, LI Dongbo¹, XU Ning¹, HOU Yanjie¹, QIU Hongye¹,
LI Ping³, WANG Jinying², DING Feng^{1*}

(1. Horticultural Research Institute, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning 530007, China; 2. College of Agricultural, Guangxi University, Nanning 530004, China; 3. Agricultural Technology Extension Station of Madong Town, Guiping 537211, Guangxi, China)

Abstract: ‘GLL-1’ is an excellent late-maturing bud sport germplasm, which was selected from ‘Heli’. To reveal the genetic basis of late-maturing, in this study, ‘Heli’ and ‘GLL-1’ were used as the materials. The *LcUFGT* which is a structural gene of anthocyanin synthesis pathway was cloned and analyzed by bioinformatic methods. The correlation between *LcUFGT* and the character of late-maturing in ‘GLL-1’ and the expression of *LcUFGT* during the development of litchi fruit were analyzed by qRT-PCR. The results were as follows: (1) ORF of *LcUFGT* gene was 1 359 bp, which encoded 453 amino acids with the molecular weight of 50.16 kD. (2) *LcUFGT* gene was conservative in ‘GLL-1’ and other litchi cultivars, and a PSPG box existed in the C-terminal. (3) With the development of litchi fruit, the color of pericarp began to turn from green to red; the expression of *LcUFGT* was increased and then decreased in both ‘GLL-1’ and ‘Heli’; the expression of *LcUFGT* was obviously increased at 56 d and 67 d after flowering of ‘Heli’ and ‘GLL-1’, respectively; the expression of *LcUFGT* had a delayed increase in ‘GLL-1’ than that of ‘Heli’, which was consistent with the late-maturing of fruits. It is supposed that *LcUFGT* plays an important role in color changes of pericarp, and it is one of the key genes to regulate coloration of pericarp. At the same time, the delay-expression of *LcUFGT* maybe the main reason of late-maturing of ‘GLL-1’.

Key words: late maturity mutant, *LcUFGT*, fruit development, anthocyanin synthesis, expression analysis

荔枝 (*Litchi chinensis*) 是我国华南地区种植面积最大的木本果树, 是华南地区农民经济收入的主要来源之一。目前, 生产上缺乏特早熟和特晚熟优质荔枝品种, 造成荔枝集中在六七月份成熟上市, 产期过于集中, 造成农民丰产而不丰收。‘禾荔’ 是广西传统的栽培品种, 品质优良, 并且丰产、稳产, 突变体 ‘GLL-1’ 不仅保留了 ‘禾荔’ 的优良特性, 而且成熟期延迟, 较 ‘禾荔’ 晚熟 15 d (李平等, 2016), 是调节荔枝品种栽培结构拉长鲜果供应期的优异资源, 同时也是荔枝熟期育种及果实发育理论研究的重要材料。

‘GLL-1’ 一个最重要突变特征是其果皮着色显著延迟, 成熟期延后。荔枝果皮着色是一个花色苷合成积累的过程, 最终果皮呈现出鲜艳的红色。自然界中花色苷以稳定的花青素的配糖体形式存在, 常见的有六种: 花葵素 (pelargonidin)、矢车菊素 (cyanidin)、飞燕草素 (delphinidin)、芍药素 (peonidin)、矮牵牛花色苷 (petunidin) 和锦葵色素 (malvidin) (王延玲等, 2012; 李金星和胡志和, 2013; 肖长城等, 2014)。荔枝果皮中的花色苷主要是矢车菊素-3-芸香糖苷 (刘亮等, 2013)。

植物花色苷合成途径已经明确, 在苯丙烷类代谢的基础上经由类黄酮合成途径完成。涉及的

结构基因依次有苯丙氨酸解氨酶 (Phenylalanine ammonialyase, PAL)、查尔酮合成酶 (Chalcone synthase, CHS)、查尔酮异构酶 (Chalcone isomerase, CHI)、黄烷酮 3-羟化酶 (Flavanone 3-hydroxylase, F3H)、二氢黄酮醇还原酶 (Dihydroflavonol reductase, DFR)、花色苷合成酶 (Anthocyanidin synthase, ANS) 和类黄酮-3-O-糖基转移酶 (UDP glucose: flavonoid 3-O-glycosyl transferase, UFGT) 等 (Winkel-Shirley, 2001)。在荔枝中 UFGT 酶活性与果皮花色苷合成显著正相关, *LcUFGT* 是荔枝果皮红色形成的关键基因 (王惠聪等, 2004; Li et al., 2016)。花色苷的生物合成受遗传因素和环境因素共同影响, 遗传因素主要影响花色苷合成的种类和合成的时间。突变体 ‘GLL-1’ 与 ‘禾荔’ 有高度相似遗传背景, 但是果实成熟期显著不同, 本研究从 ‘GLL-1’ 中分离 *UFGT* 基因, 探讨 ‘GLL-1’ 果实成熟延迟的遗传基础。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为 ‘禾荔’ 和其芽变 ‘GLL-1’, 样品采自桂平市麻垌镇 (芽变发现地), 样品为果实发

育不同时期的果皮(花后 30、42、56、67 和 79 d), 采摘洗净后将果皮放入锡纸袋, 液氮速冻带回实验室, -80 ℃ 冰箱中保存备用。

1.2 荔枝果皮总 RNA 提取和 cDNA 合成

果皮总 RNA 提取采用华越洋植物总 RNA 提取试剂盒(北京), 用 RNA free DNase(TaKaRa) 消化 DNA 残留, 分别用 1.0% 琼脂糖凝胶和全自动核酸蛋白分析仪检测 RNA 纯度和浓度, cDNA 第一链的合成采用 Invitrogen 的 cDNA 逆转录试剂盒, 具体操作步骤按照试剂盒说明书进行。

1.3 *LcUFGT* 基因的获得

根据 NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) 登入的荔枝 UFGT 基因序列信息 (GenBank No. HQ402914), 用 Primer Premier 5.0 软件设计引物 P1U 和 P1L(表 1), 以合成的 cDNA 第一链为模板, 用 ExTaq 酶(TaKaRa) 扩增。具体 PCR 反应体系和扩增程序参照产品说明书。PCR 产物检测纯化后克隆到 pMD20-T 载体, 进行测序。

1.4 *LcUFGT* 基因生物信息学分析

NCBI ORF finder (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/>) 在线分析 *LcUFGT* 的开放阅读框, 用 ExPASy ProtParam 在线工具 (<https://web.expasy.org/protparam/>) 分析 *LcUFGT* 的理化性质, 用 Wolf PSORT (<https://wolfsort.hgc.jp/>) 在线预测 *LcUFGT* 蛋白的定位。利用 SignalP 4.1 Server (<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/>) 进行信号肽分析。用 TMHMM Server v. 2.0 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/>) 在线工具预测其跨膜结构域, 通过 NCBI 中 BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) 工具进行同源性比对分析, 用 DNAMAN software(version 5.2.2.0) 软件进行多序列比对, 利用 MEGA5.0 采用邻近相接法(neighbour joining) 步长值 1 000 构建系统进化树。

1.5 *LcUFGT* 基因的表达水平分析

根据获得的 *LcUFGT* 基因序列, 用 Primer Premier 5.0 软件设计定量引物(表 1), Real-Time PCR 反应在罗氏 LightCycler 480 system 上完成, 试剂采用 SYBR Green Real-time PCR Master Mix (Takara), 反应体系 20 μ L, 反应程序如下: 95 ℃, 60 s; 95 ℃, 15 s; 55 ℃, 20 s; 72 ℃, 30 s; 40 个循环。以 *LcActin* 作为内参基因, 每个样品 3 次重复, 运用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ (Livak & Schmittgen, 2001) 计算 *LcUFGT* 基因的表达水平。

2 结果与分析

2.1 *LcUFGT* 基因的克隆

经检测, 从果皮提取的总 RNA 质量较好, A260/A280 比值在 1.80~2.0 之间, 电泳检测条带清晰无降解(图 1)。逆转录合成第一链 cDNA 用于克隆 *LcUFGT* 基因, 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 扩增产物, 可见一条清晰条带(图 1), 纯化后连接到 pMD20-T 载体, 转化到 DH5 α 大肠杆菌感受态细胞, 通过蓝白斑筛选克隆测序, 获得荔枝 *LcUFGT* 基因序列信息(图 2)。

2.2 *LcUFGT* 基因的序列分析

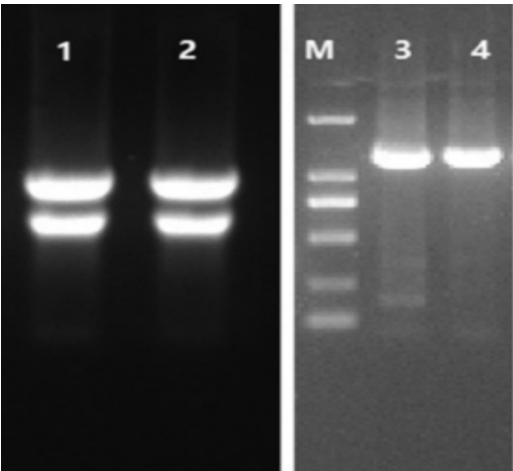
荔枝 *LcUFGT* 同源基因 ORF 长 1 359 bp, 编码 453 个氨基酸, 用 ExPASy ProtParam 在线工具预测 *LcUFGT* 蛋白分子式为 C₂₂₆₆H₃₅₄₉N₆₀₇O₆₄₃S₁₈, 相对分子质量是 50 160.87, 等电点为 7.70, 脂溶指数为 91.04, 是脂溶性蛋白, 不稳定指数为 44 053, 属于不稳定蛋白, 亲水性指数为 -0.067, 是疏水性蛋白。用 Wolf PSORT 在线工具预测 *LcUFGT* 蛋白定位在细胞质。SignalP 4.1 Server 在线预测表明该蛋白不存在信号肽。用 TMHMM Server v. 2.0 在线工具预测其跨膜结构域, 结果表明 *LcUFGT* 蛋白无跨膜区。可以推测, *LcUFGT* 蛋白合成后不经转运, 在细胞质中行使催化功能。

在蛋白数据库中对 *LcUFGT* 序列进行 blast, 结果显示荔枝 *LcUFGT* 与草莓(Q66PF5)、白梨(A0A0A0P547)、苹果(Q9XES4)、山葡萄(B6DU53)、蓝莓(X5HZM4)、樱桃(F2VR51)、葡萄柚(C5MR71)和克里曼丁橘(V4TSJ3)等的一致性在 53%~61% 之间。*LcUFGT* 具有 TDP 结合位点, 其三维结构类型为 GT-B 类, 在 C-端具有一个由 44 个氨基酸残基组成的 PSPG 盒, PSPG 盒是糖基转移酶结合糖基供体的区域, 其中第 22 位、第 23 位和第 44 位氨基酸在选择糖基供体中发挥重要作用, *LcUFGT* 的 PSPG 第 22 位为色氨酸, 可定位 UDP-葡萄糖, 第 23 位丝氨酸在 UDP-葡萄糖醛酸转移酶中保守性强, 第 44 位谷氨酰胺在葡萄糖糖基转移酶中保守性很强, 推测 *LcUFGT* 以 UDP-葡萄糖为主要糖基供体的葡萄糖基转移酶(图 3)。

用 MEGA5.0 邻近相接法对 *LcUFGT* 蛋白及其他物种 UFGT 进行系统进化树分析, 从图 4 可以看出, 荔枝 *LcUFGT* 同源性最高, 与柑橘类葡萄柚、甜

表 1 用于克隆及定量的引物序列
Table 1 Primer sequences used in clone and qRT-PCR analysis

引物名称 Primer name	序列 (5'-3') Sequence (5'-3')	用途 Use
P1U	CTACTTCAACCATGCACCA	LcUFGT 克隆引物 Primer for gene cloning
P1L	TACATGAACTTAAGACAG	
LcUFGT-F	CCCCAGGAGGACATTGAGTTA	qRT-PCR 引物 Primer for qRT-PCR
LcUFGT-R	GATAACCAACAAGGCACGAAA	
LcActin-F	GTGGTTCTACTATGTTCCTCG	内参基因引物 Primer for reference gene
LcActin-R	CTCGTCGTACTCATCCTTTG	



M. Marker DL2000; 1,3. ‘禾荔’; 2,4. ‘GLL-1’。
M. Marker DL2000; 1,3. ‘Heli’; 2,4. ‘GLL-1’。

图 1 果皮总 RNA(左)和 *LcUFGT*(右)扩增
序列琼脂糖凝胶电泳图

Fig. 1 Total RNA (left) of pericarp and *LcUFGT*
gene (right) by agarose gel electrophoresis

橙和克里曼丁橘的 UFGT 有较近的亲缘进化关系;来自同一科的 UFGT 进化关系较近,蔷薇科草莓、梨、苹果、月季和樱桃等 UFGT 聚为一类;山葡萄、圆叶葡萄和河岸葡萄的 UFGT 聚为一类。

2.3 *LcUFGT* 基因的表达分析

UFGT 是荔枝果皮花色素苷合成的关键酶之一,荧光定量分析显示结果见图 5。‘GLL-1’突变体和‘禾荔’中,*LcUFGT* 均随荔枝果实发育和着色增加表达量先上升后下降,在果实发育前期表达量维持较低水平,果实发育进入转色期表达量显著增加,接近成熟时表达量显著降低。花后 56~

67 d 是‘禾荔’果实花色苷快速积累的时期,此时 *LcUFGT* 表达量显著增加;‘GLL-1’突变体果实着色延迟,*LcUFGT* 的表达也延迟到 67 d 显著增加。因此,*LcUFGT* 的表达与‘禾荔’、‘GLL-1’的果实着色进程一致,推测‘GLL-1’果实着色延迟与 *LcUFGT* 的表达延迟有关。

3 讨论与结论

荔枝 *LcUFGT* 蛋白含有 453 个氨基酸残基,是一种存在于细胞质基质的非分泌型蛋白,有类黄酮-3-O-葡萄糖基转移酶保守序列 PSPG 盒,该保守序列是糖基供体的结合域,*LcUFGT* 的 PSPG 盒第 22 位色氨酸,说明其糖基供体主要是 UDP-葡萄糖。*LcUFGT* 在进化关系上与柑橘类葡萄柚、甜橙和克里曼丁橘较近,但是是否具有相同的功能,还有待进一步研究。

‘GLL-1’突变体果实发育迟缓,较母株果实成熟期延迟 15 d 左右,而荔枝果实成熟的主要标志之一即为果皮花色苷的积累。UFGT 是花色素苷合成的最后一个关键酶,使不稳定的花青素转变成稳定的花青苷,苹果、梨、草莓和葡萄等果树中,UFGT 活性与花色素合成显著正相关(Kobayashi et al., 2001; Griesser et al., 2008; Onik et al., 2018),抑制荔枝果皮 UFGT 酶活性可以抑制花青苷合成。已有研究表明,桂味荔枝果皮中,*LcUFGT* 的表达量呈直线增加,在采收时略微降低(魏永赞等,2014);妃子笑 *LcUFGT* 的表达量随着果皮颜色加深表达量逐渐增加(Wei et al., 2011);糯米糍 *LcUFGT* 基因在红色果皮和嫩叶中表达量

```

1      atgcaccagcctgataatgccagtgaccctcatgtggcagtcctcgcctttccattctccacacatgctgctcctctcctctccattatc
M H Q P D N A S D P H V A V L A F P F S T H A A P L L S I I
91     agccgcctagcctcctctgctccaaacactcattttctcattcttcagcactgcagaatccaacaactccctcttgtctacacacaaacac
S R L A S S A P N T H F S F F S T A E S N N S L L S T H K H
181    tacttcccttcccaatgtgaaagcttataatgtttccaatgggggttcggatcactatgtgttcccttgggaagccccaggaggacattgag
Y F L P N V K A Y N V S N G V P D H Y V F L G K P Q E D I E
271    ttattcatgaaggcagctcctgagaacttgagggaaggcagtgaggcgaaggctgcagtgaggagacaagagaagggtgagttgtttgttact
L F M K A A P E N L R K A V A K A A V E T K R K V S C L V T
361    gatagtttcccttgggttcgcagcagaaatggcagaggagatgcagggtgcctttcgtgccttgttgggttatcagggtctagctcactctcg
D S F L W F A A E M A E E M Q V P F V P C W L S G S S S L S
451    actcatttttatactgatgttatcagggaaaagataggacttgaagggaattgaagggaagagaagatgagcagcttaaattcattcaagga
T H F Y T D V I R E K I G L E G I E G R E D E Q L K F I Q G
541    atgtcaaaagtgtgcattagagacttgcctgaaggagtcccttttggaaacttgcaatcagtattttccgatatgctacatcgaatgggc
M S K V C I R D L P E G V L F G N L Q S V F S D M L H R M G
631    ctgaaactaccacgaggggacgcagttgtcataaacagctttgaagaattagaccctacaataaacaatgatctcaaatccaaattcaaa
L K L P R G D A V V I N S F E E L D P T I N N D L K S K F K
721    cagttttctcaacgttgggtcccttcaatctaatctctccccaccagcagttcctgataccagcggctgcctgctgtggctcgacaggcag
Q F L N V G P F N L I S P P P A V P D T S G C L L W L D R Q
811    aagccagcatccgtggcatatcttgggttcgggttctgtctcaaggctgtctcctaattgagattgtagcagtagcagaggcatttgaagcg
K P A S V A Y L G F G S V S R L S P N E I V A V A E A L E A
901    agcaaaactgccatttatatgtgtcactgaagaagaatctacaggcacatttgcacaatacaaaagtgaacggaattgtgtgtggaatgggct
S K L P F I W S L K K N L Q A H L P N T K L N G I V V E W A
991    cctcagttggatgttttagcacacaatgcagtaggagtttttataaatcatggtggctggagttcattgtatggagagtatggcatgtggg
P Q L D V L A H N A V G V F I N H G G W S S L M E S M A C G
1081   gtgcctatgattataagggcatttttgcggagaccaaaaggccttaagtcaagaatggtacaagatgagtggaagattggtgttagtgttgaa
V P M I I R P F F G D Q R L N A R M V Q D E W K I G V S V E
1171   ggtgggattatcaccaaaaggggattcctcagaagccttgatttgaatttgttggcaagaaaatggaaagaaaatgagggaataatttaga
G G I I T K R G F L R S L D L I L W Q E N G K K M R E N V R
1261   aaattcaaacaactagcagaacagccgttggaccccaaggaagctccatgaaaaatttcaaagcattggttagatatagtgtcaaggcca
K F K Q L A E T A V G P Q G S S M K N F K A L V D I V S R P
1351   aaggatgcctaa
      K D A *

```

图 2 *LcUFGT* 基因的核酸及氨基酸序列Fig. 2 Nucleotide sequence and deduced amino acid sequences of the *LcUFGT*

高于其他绿色组织,并且 *LcUFGT* 表达量随果实发育逐渐增加,*LcUFGT* 与荔枝果皮着色进程显著正相关(王惠聪等,2004;Wei et al., 2011;Lai et al., 2014)。本研究与前人研究结果一致,‘禾荔’及其突变体‘GLL-1’的果皮中 *LcUFGT* 表达趋势与果皮着色进程正相关,随着果实发育进入转色期,*LcUFGT* 表达量增加,并且‘GLL-1’突变体 *LcUFGT* 表达上升期比‘禾荔’延迟,与果实发育延迟一致。因此,我们推测,*LcUFGT* 是‘GLL-1’突变体果实发育延迟的关键基因之一。

VvUFGT 是葡萄花色苷合成的关键酶,白色和红色葡萄浆果的发育过程中,检测花色苷合成相关基因的表达发现 *VvUFGT* 仅在红色品种中表达

(Boss et al., 1996),进一步研究发现白色和红色葡萄品种的 *UFGT* 基因序列没有差异,这可能与 *VvUFGT* 的调控基因变异有关(Kobayashi et al., 2001, 2002)。本研究从‘禾荔’及其突变体‘GLL-1’中克隆 *LcUFGT* 基因,两者序列一致性 100%,没有变异。花色苷的合成受到结构基因和调控基因的协同调控,需要进一步研究 *LcUFGT* 的上游调控基因,找到 *LcUFGT* 基因表达上升期延迟的原因,为研究‘GLL-1’果实成熟期延迟的遗传基础奠定基础。

参考文献:

BOSS PK, DAVIES C, ROBINSON SP, 1996. Analysis of the

GLL-1	HHAVILAFPPSTHAPFLISITSRLLASSFNTHTSFSTAESNSSLSTHKKHYFLNVAKYNVNSGVETHVFLCKPQED	79
<i>Fragaria ananasa</i>	GHAVILAFPPSTHAPFLINIVCRLLAAAPSTILSFNTKQSSSILAGNISVLRYSNVSVCEVALGVFEGYVFGCKPQED	80
<i>Pyrus bretschneideri</i>	RHVAALAFPPSTHAPFLIDIVRLLAAALINTLSEFSTSKSSSLSNNSNNNNMFFLRVYDVALGVFEGYVFGCKPQED	80
<i>Prunus avium</i>	HHVAALAFPPSTHAPFLIALIRLLAAASNTLSEFSTSCSSNLSFN.TINTNLFNRKVFEDVALGVFEGYVFGCKPQED	79
<i>Daucus carota</i>	HHAVILAFPPSTHAGLLGLVCRLLAKAPNVKTFHTAKSNHSSFSN..SSSIASIVFYDVYGVFEGYVFGCKPQED	78
<i>Vitis vinifera</i>	HHAVILAFPPSTHAPFLIAVVRLLAAAPHAHVSFFSTSCSNASIFHD.SMHMTMQNIRKSYDIDSGVFEGYVFGCKPQED	79
<i>Vitis davidii</i>	HHAVILAFPPSTHAPFLIAVVRLLAAAPHAHVSFFSTSCSNASIFHD.SMHMTMQNIRKSYDIDSGVFEGYVFGCKPQED	79
<i>Citrus paradisi</i>	HHAVILAFPPSTHASSVISIIRKLAVSPHATLTFSTSCSNKALFSTGQQRHLFSNVKPYDVSIGVFEGYVFGCKPQED	80
<i>Citrus clementina</i>	HHAVILAFPPSTHASSVISIIRKLAVSSHTALTFSTSCSNKALESTGQQRHLFSNVKPYDVSIGVFEGYVFGCKPQED	80
Consensus	h a f p f t h a r l a p f f f t s n n g v v f g q e d	
GLL-1	IEIFMKAPFNLRKAVAKAAVETKRVKSCIVTDSLWFAAFAEMQ.VFFVFWLGLSGSSSLSHFYTDVIREKIGLEGI	158
<i>Fragaria ananasa</i>	IEIFMKAPFNRRRCLEASVAESGREVSCIVTDRFWEFGVHMADEMGGVFWVFWTGPRLSPHVTDLIRSTISGGCH	160
<i>Pyrus bretschneideri</i>	IEIFMNAAPFNLRSLDASVADTGHHFCLITDAGIWEFGVHMADELG.ALWVLEWLSGLISLSHVHTDLIRDTIGTCGI	159
<i>Prunus avium</i>	IEIFMKAPFNHTTSLDACVAHIGKRLTCLITDAGIWEFGVHMADELG.VFWVLEWLSGLISLSHVHTDLIRHTIGTCGI	158
<i>Daucus carota</i>	INIFLAVAADEFRRGLEKAVUSGRCICSLVADAGIWEFGVHMADELG.VFWVLEWLSGLISLSHVHTDLIRHTIGTCGI	157
<i>Vitis vinifera</i>	IEIFTRAPESFRQGMVMAVAETGRFVSCIVTDRFWEFGVHMADEMQ.LAWLFWTGPRLSPSHVYDIREKIGVSGI	158
<i>Vitis davidii</i>	IEIFMNAAPESFRQGMVMAVAETGRFVSCIVTDRFWEFGVHMADEMQ.VANLFWTGPRLSPSHVYDIREKIGVSGI	158
<i>Citrus paradisi</i>	IEIFMNAADANERKAVEAAVAETGRFLTCIVTDRFWEFGVHMADEMAREWNNVFWVFWTGPRLSPSHVYDIREKIGVSGI	159
<i>Citrus clementina</i>	IEIFMNAADANERKAVEAAVAETGRFLTCIVTDRFWEFGVHMADEMAREWNNVFWVFWTGPRLSPSHVYDIREKIGVSGI	159
Consensus	i f a c l d f w f a p w g s l s h d	
GLL-1	EGREDECLK...FIFGMSKVCIRDLPGVLEGNISQVFSMDIHRMGLKIPRGDAVUINSFEELDFTINNLKSKER.QF	233
<i>Fragaria ananasa</i>	D..EKETIT...VIRGMSKVRFDLPGVLEGNISQVFSMDIHRMGLKIPRGDAVUINSFEELDFTINNLKSKER.RF	233
<i>Pyrus bretschneideri</i>	TGRENELIVKNNVICGLSNVRIMDLPGVLEGNISQVFSMDIHRMGLKIPRGDAVUINSFEELDFTINNLKSKER.KL	238
<i>Prunus avium</i>	AGLENELIT.KNANIFGMSKVRIRDLPGVLEGNISQVFSMDIHRMGLKIPRGDAVUINSFEELDFTINNLKSKER.KL	236
<i>Daucus carota</i>	EGRMDEKLN...FIFGYSNLRIGDLPGVLEGNISQVFSMDIHRMGLKIPRGDAVUINSFEELDFTINNLKSKER.KI	232
<i>Vitis vinifera</i>	QGREDELLN...FIFGMSKVRIRDLPGVLEGNISQVFSMDIHRMGLKIPRGDAVUINSFEELDFTINNLKSKER.KI	233
<i>Vitis davidii</i>	QGREDELLN...FIFGYSNLRIGDLPGVLEGNISQVFSMDIHRMGLKIPRGDAVUINSFEELDFTINNLKSKER.KI	233
<i>Citrus paradisi</i>	CNQCQCLIH...FIFGMSKVRIRDLPGVLEGNISQVFSMDIHRMGLKIPRGDAVUINSFEELDFTINNLKSKER.KI	235
<i>Citrus clementina</i>	CNQCQCLIH...FIFGMSKVRIRDLPGVLEGNISQVFSMDIHRMGLKIPRGDAVUINSFEELDFTINNLKSKER.KI	235
Consensus	i g d l g g l s f s r l r g p n feed l k	
GLL-1	LNVGFFNLISFFFAVF.....ETSGCLLWLDCK..FASVAYLFCFVSRLSPKBIIVAVASALEASKVFFWLSL	300
<i>Fragaria ananasa</i>	LNVGFFDLLEFPASAAITTFCTAAEAVAGDGLISWLDCK..VAS.VVYVSFGSVITRESFBLMALASALEASRVFFWLSL	311
<i>Pyrus bretschneideri</i>	LNVGFFSNVASFLLF.....SDACLSWLDCKD.AFSSVYVSFGSVATFEBLLAIAASALEATGPFWLSL	303
<i>Prunus avium</i>	LNVGFFNLAAAASFLL..FEALTAADVTGCLISWLDCK..AASSVYVSFGSVAREFEBLLAMACALEASGVFFWLSL	312
<i>Daucus carota</i>	LNVGFFNLISFFPASCYS.....DEYGCIFWLDKRN.FKS.VAYICFGVAMLFEBBLIVELASALESSGVFFWLSL	300
<i>Vitis vinifera</i>	LNIGFFNLITFFVVF.....NTTGCLQWIKERK.FTS.VVYISFGVITTFEPBVLVALASALEASRVFFWLSL	300
<i>Vitis davidii</i>	LNIGFFNLITFFVVF.....NTTGCLQWIKERK.FTS.VVYISFGVITTFEPBVLVALASALEASRVFFWLSL	300
<i>Citrus paradisi</i>	LSVGFFKLLASDQCP...SATDLDEYGCILWLDCKKKFASVAYVSFGVATFEBBLIVELASALEASKVFFWLSL	311
<i>Citrus clementina</i>	LSVGFFKLLASDQCP...SATDLDEYGCILWLDCKKKFASVAYVSFGVATFEBBLIVELASALEASKVFFWLSL	311
Consensus	l gp w l v y f g v e a l e p f w s l	
GLL-1	KKNLQAHLEN...TKL..NGIVVWFAHQLVLPHPNVGVFVINEGWSLSPSMAGVYITREFFFCQRLINARMVQDE	373
<i>Fragaria ananasa</i>	RDNLNKRQDEFLSKGR..LNGMVWFAHQLVLPHPNVGVFVINEGWSLSPSMAGVYITREFFFCQRLINARMVEIV	389
<i>Pyrus bretschneideri</i>	KDNFKTFLKEFIITKRLSKINGMVWFAHQLVLPHPNVGVFVINEGWSLSPSMAGVYITREFFFCQRLINARMVEIV	383
<i>Prunus avium</i>	KDSFKTFLINELLIVKAS...NGMVWFAHQLVLPHPNVGVFVINEGWSLSPSMAGVYITREFFFCQRLINARMVEIV	389
<i>Daucus carota</i>	KDCSKHFLPEGFLETRT...SGKIVWFAHQLVLPHPNVGVFVINEGWSLSPSMAGVYITREFFFCQRLINARMVEIV	378
<i>Vitis vinifera</i>	RDKARVHFLPEGFLEKTRG..YGMVWFAHQLVLPHPNVGVFVINEGWSLSPSMAGVYITREFFFCQRLINARMVEIV	378
<i>Vitis davidii</i>	RDKARVHFLPEGFLEKTRG..YGMVWFAHQLVLPHPNVGVFVINEGWSLSPSMAGVYITREFFFCQRLINARMVEIV	378
<i>Citrus paradisi</i>	RHRSCANLNGFLERTS...LGIIVWFAHQLVLPHPNVGVFVINEGWSLSPSMAGVYITREFFFCQRLINARMVEIV	389
<i>Citrus clementina</i>	RHRSCANLNGFLERTS...LGIIVWFAHQLVLPHPNVGVFVINEGWSLSPSMAGVYITREFFFCQRLINARMVEIV	389
Consensus	g v w a q v l h v g h g w s e a g v p i x p f f g n	
GLL-1	WKICVSVEGG.IIKKFGILRLSLDLILWQENCKRMRENVRKFKLAETAVGCGSSMKNKALVIVISRFKD	443
<i>Fragaria ananasa</i>	WKICGLRLEGG.VFTKNGKRLSLDMLSCDKCKTKMKNKINTLKQFAKQAVEFGSSARNEESLLEMTITN..	457
<i>Pyrus bretschneideri</i>	LEHCNVVEGG.VFTKGLVKSLEUVLLAESGRKFRDNIRKVKQLAVEALFCGSSITRANKSILLIVISGSKK	453
<i>Prunus avium</i>	LEHCNVVEGG.VFTKGLIKYFDQLSCQRCGRKMRGNINTVKKLQQSVFEGSSAONFKILLIVISGSKT	459
<i>Daucus carota</i>	WKICVRIEGG.VFTKNGKADALECQLLRCKGKELNCCQITLLKDLAFKAVGNCSSINFTLIVKIVAV..	445
<i>Vitis vinifera</i>	LEHCVRIEGG.VFTKSGLSMFCITQLSCQKCKKLRLENLALRETADRAVCFGSSITBNFTLIVLVSFKFD	448
<i>Vitis davidii</i>	LEHCVRIEGG.VFTKSGLSMFCITQLSCQKCKKLRLENLALRETADRAVCFGSSITBNFTLIVLVSFKFD	448
<i>Citrus paradisi</i>	WGVGVAVDGGGICIKREGLSSLLILLCQCKIKIREKVKIKLQCNAIFCGSSMKNKALVIVISRSY..	459
<i>Citrus clementina</i>	WGVGVAVDGGGICIKREGLSSLLILLCQCKIKIREKVKIKLQCNAIFCGSSMKNKALVIVISRSY..	459
Consensus	g g t g l g p g s s n l	

图3 荔枝 UFGT 与其他物种 UFGT 氨基酸序列比对

Fig. 3 Sequence alignments of the UFGT in litchi with other species

expression of anthocyanin pathway genes in developing *Vitis vinifera* L. cv. Shiraz grape berries and the implications for pathway regulation [J]. Plant Physiol, 111: 1059–1066.

GRIESSER M, HOFFMANN T, BELLIDO ML, et al., 2008. Redirection of flavonoid biosynthesis through the down-regulation of an anthocyanidin glucosyltransferase in ripening

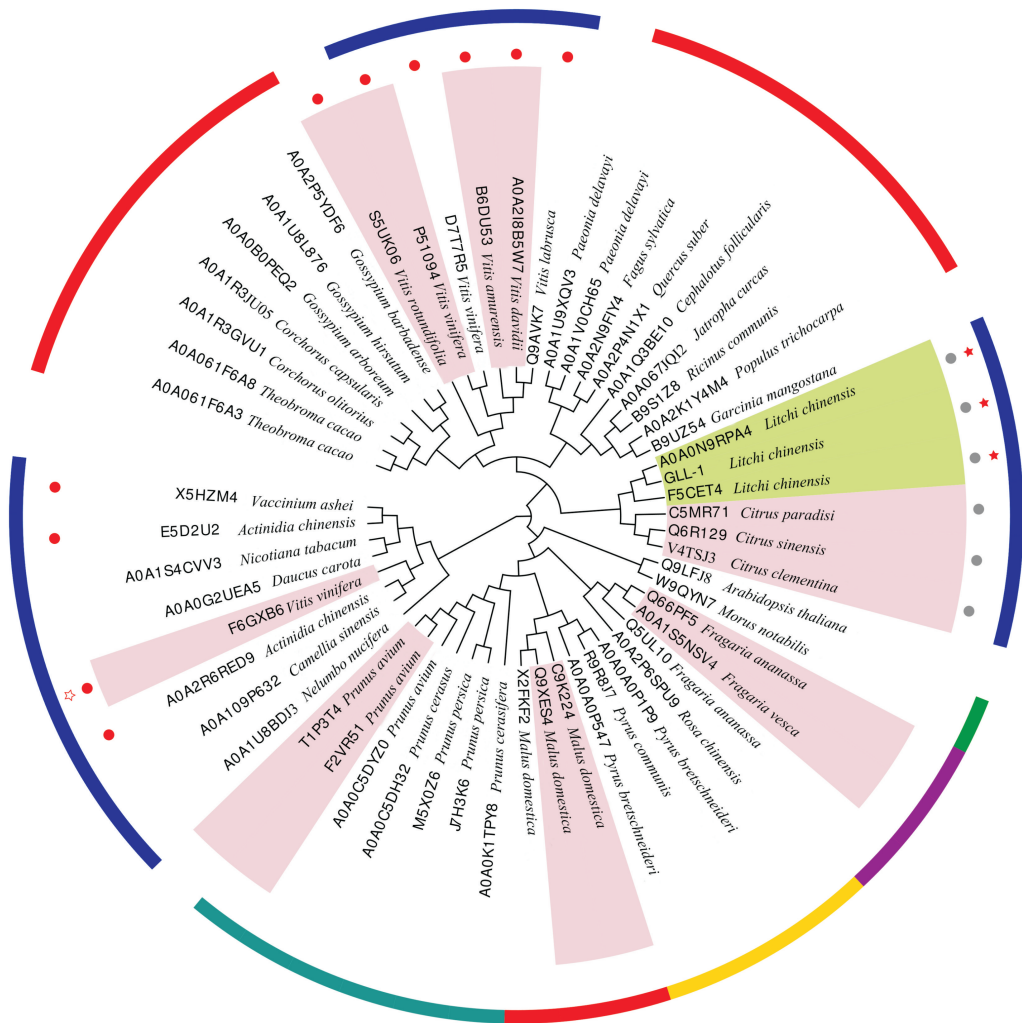


图 4 LcUFGT 与其他物种 UFGT 的系统进化分析

Fig. 4 Phylogenetic analysis of LcUFGT with the UFGT of other plant species

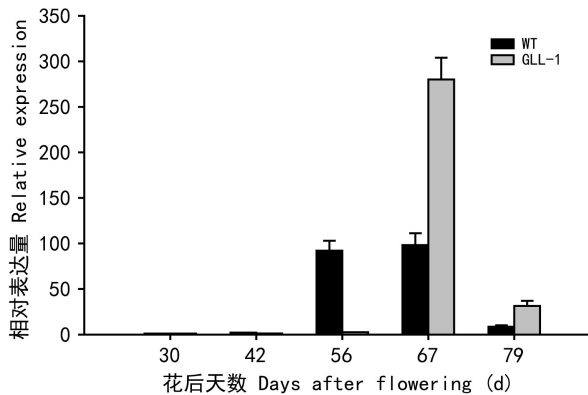


图 5 不同发育阶段果皮中 LcUFGT 的表达分析

Fig. 5 Relative expression levels of LcUFGT in the pericarp of litchi at different developing stages

strawberry fruit [J]. Plant Physiol, 146: 1528–1539.

KOBAYASHI S, ISHIMARU M, DING CK, et al., 2001. Comparison of UDP glucose: flavonoid 3-O-glucosyltransferase (UFGT) gene sequences between white grapes (*Vitis vinifera*) and their sports with red skin [J]. Plant Sci, 160: 543–550.

KOBAYASHI S, ISHIMARU M, HIRAOKA K, et al., 2002. MYB related genes of the Kyoho grape (*Vitis labruscana*) regulate anthocyanin biosynthesis [J]. Planta, 215: 924–933.

LAI B, LI XJ, HU B, et al., 2014. LcMYB1 is a key determinant of differential anthocyanin accumulation among genotypes, tissues, developmental phases and ABA and light stimuli in *Litchi chinensis* [J]. PLoS ONE, 9(1): e86293.

LI JX, HU ZH, 2013. Advances in research on anthocyanins of blueberry [J]. J Nucl Agric Sci, 27(6): 817–822. [李金星, 胡志和, 2013. 蓝莓花青素的研究进展 [J]. 核农学

- 报, 27(6):817-822.]
- LI P, ZHONG MZ, DING F, et al., 2016. Screening and identification of a new late-maturing litchi mutation GLL-1 [J]. *Chin Trop Agric*, 6: 46-49. [李平, 钟敏芝, 丁峰, 等, 2016. 特晚熟荔枝优良芽变新种质‘GLL-1’筛选鉴定 [J]. 中国热带农业, 6:46-49.]
- LI XJ, ZHANG JQ, WU ZC, et al., 2016. Functional characterization of a glucosyltransferase gene, *LcUGFT1*, involved in the formation of cyanidin glucoside in the pericarp of *Litchi chinensis* [J]. *Physiol Plant*, 156(2): 139-149.
- LIU L, CAO SQ, XIE BJ, 2013. Purification and structural identification of anthocyanins and oligomeric flavanols from litchi pericarp [J]. *J Chin Inst Food Sci Technol*, 13(4): 191-201. [刘亮, 曹少谦, 谢笔钧, 2013. 荔枝果皮中花色苷及低聚黄烷醇类化合物的分离纯化及结构鉴定 [J]. 中国食品学报, 13(4):191-201.]
- LIVAK KJ, SCHMITTGEN TD, 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ methods [J]. *Methods*, 25(4):402-408.
- ONIK JC, HU XJ, LIN Q, et al., 2018. Comparative transcriptomic profiling to understand pre-and post-ripening hormonal regulations and anthocyanin biosynthesis in early ripening apple fruit [J]. *Molecules*, 23(8): 1908.
- WANG A, TAN D, TATSUKI M, et al., 2009. Molecular mechanism of distinct ripening profiles in “Fuji” apple fruit and its early maturing sports [J]. *Postharvest Biol Technol*, 52(1): 38-43.
- WANG HC, HUANG XM, HU GB, et al., 2004. Studies on the relationship between anthocyanin biosynthesis and related enzymes in litchi pericarp [J]. *Sci Agric Sin*, 37(12): 2028-2032. [王惠聪, 黄旭明, 胡桂兵, 等, 2004. 荔枝果皮花色苷合成与相关酶的关系研究 [J]. 中国农业科学, 37(12):2028-2032.]
- WANG YL, ZHANG YM, FENG SQ, et al., 2012. The mechanism of red coloring difference between skin and cortex in *Malus sieversii* f. *neidzwetzkyana* (Dieck) Langenf [J]. *Sci Agric Sin*, 45(13): 2771-2778. [王延玲, 张艳敏, 冯守千, 等, 2012. 新疆红肉苹果果皮果肉呈色差异机理 [J]. 中国农业科学, 45(13):2771-2778.]
- WEI YZ, ZHANG HN, LAI B, et al., 2014. Effect of abscisic acid and CPPU on the coloration of lychee pericarp [J]. *J Fruit Sci*, 31(4): 653-659. [魏永赞, 张红娜, 赖彪, 等, 2014. 脱落酸和吡效隆对荔枝果皮着色的影响 [J]. 果树学报, 31(4):653-659.]
- WINKEL-SHIRLEY B, 2001. Flavonoid biosynthesis, a colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology [J]. *Plant Physiol*, 126: 485-493.
- XIAO CC, LI JM, YAO GF, et al., 2014. Characteristics of components and contents of anthocyanin in peel of red-skinned pear fruits from different species [J]. *J Nanjing Agric Univ*, 37(4): 60-66. [肖长城, 李甲明, 姚改芳, 等, 2014. 不同红梨品种果皮中花色素苷组分及含量特征分析 [J]. 南京农业大学学报, 37(4):60-66.]

(责任编辑 何永艳)