

毛竹磷转运蛋白 I 家族基因鉴定及表达模式

王绍良¹, 张雯宇¹, 高志民², 周明兵¹, 杨克彬², 宋新章¹

(1. 浙江农林大学 省部共建亚热带森林培育国家重点实验室, 浙江 杭州 311300; 2. 国际竹藤中心 竹藤资源基因科学与基因产业化研究所 国家林业和草原局竹藤科学与技术重点开放实验室, 北京 100102)

摘要: 【目的】鉴定毛竹 *Phyllostachys edulis* 磷转运蛋白 I (phosphate transporter 1, PHT I) 家族基因, 分析其表达模式。【方法】利用生物信息学方法, 鉴定毛竹 PHT I 家族成员, 分析基因启动子调控元件、编码蛋白的理化性质、基因结构、氨基酸保守基序、基因在染色体的位置、组织表达特异性、基因适应性进化及系统进化等。【结果】毛竹中共鉴定出 20 个 PHT I 家族基因 (*PePHTs*), 分布在 10 条染色体上, 均定位于细胞膜。每个基因都含有 1~2 个内含子, *PePHTs* 启动子序列中包含干旱、低温等非生物胁迫以及赤霉素等激素类响应元件。毛竹 PHT I 大部分为碱性蛋白质, 分子量为 48.61~76.37 kDa, 理论等电点为 6.84~9.30, 疏水性值均大于 0, 都属于疏水蛋白。基因适应性进化分析显示: 大多数 *PePHTs* 的选择压力值小于 0, 说明多数基因受到负选择压力。转录组表达图谱表明: *PePHTs* 在不同组织中的表达存在差异性, 说明该基因家族在毛竹生长发育过程中发挥着不同的作用。系统进化树表明: *PePHTs* 都聚类在第 I 亚家族, 并且优先和水稻 *Oryza sativa* 聚类在同一支上。【结论】PHT I 家族在植物吸收和转运磷的过程中扮演了重要作用。本研究结果为深入研究毛竹 PHT I 家族基因的功能奠定了理论基础。图 5 表 1 参 45

关键词: 毛竹; 磷转运蛋白; 磷吸收; 分子特征; 表达分析

中图分类号: Q943.2; TS721 文献标志码: A 文章编号: 2095-0756(2022)03-0486-09

Identification and expression pattern of phosphorus transporter I family genes of *Phyllostachys edulis*

WANG Shaoliang¹, ZHANG Wenyu¹, GAO Zhimin², ZHOU Mingbing¹, YANG Kebin², SONG Xinzhang¹

(1. State Key Laboratory of Subtropical Silviculture, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, Zhejiang, China; 2. Key Laboratory of National Forestry and Grassland Administration for Bamboo & Rattan Science and Technology, Institute of Gene Science and Industrialization for Bamboo and Rattan Resources, International Centre for Bamboo and Rattan, Beijing 100102, China)

Abstract: [Objective] This study is aimed to investigate the family members of phosphorus transporter I (PHT I) protein of Moso bamboo (*Phyllostachys edulis*) and analyze their expression patterns. [Method] With the employment of the bioinformatics, the PHT I family members of Moso bamboo were identified before an analysis was conducted of the regulatory elements of gene promoters, the physicochemical properties of coding proteins, gene structure, conserved motifs of amino acids, gene positions on chromosomes, tissue expression specificity, gene adaptive evolution and phylogeny. [Result] PHT I family of Moso bamboo consisted of 20 members distributed on ten chromosomes in the cell membrane and each gene contained 1 to 2 introns while the *PePHTs* promoter sequence contained elements of abiotic stress such as drought and low temperature and

收稿日期: 2021-07-05; 修回日期: 2021-12-06

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31930075, 32125027)

作者简介: 王绍良 (ORCID: 0000-0002-2342-7723), 从事植物生态学研究。E-mail: 2248837957@qq.com。通信作者: 宋新章 (ORCID: 0000-0003-2434-7466), 教授, 博士, 博士生导师, 从事人工林生产力与碳氮磷生物地球化学循环研究。E-mail: xzsong@126.com

hormone response elements such as Gibberellic acid. Most PHT I from *Ph.edulis* were basic proteins with the range of molecular weight of *PePHTs* between 48.61 and 76.37 kDa and that of the theoretical isoelectric point between 6.84 and 9.30. The hydrophobicity value of all *PePHTs* was greater than zero, indicating that all the proteins in this family were hydrophobic. In terms of gene adaptive evolution, the ω value of most *PePHTs* genes were lower than zero, indicating that most genes were under negative selection pressure. *PePHTs* had different expressions in different tissues, which indicated that *PePHTs* played different roles in the growth and development of Moso bamboo. *PePHTs* were clustered in the first I subfamily, preferentially in the same branch as rice (*Oryza sativa*). [Conclusion] PHT I family plays an important role in the absorption and transport of phosphorus in plants and the results of this study have provided a favorable theoretical foundation for a further analysis of the functions of the PHT I family genes in Moso bamboo. [Ch, 5 fig. 1 tab. 45 ref.]

Key words: *Phyllostachys edulis*; phosphate transporter; phosphorus absorption; molecular characteristics; expression analysis

磷 (phosphorus, P) 是植物中脂质、核酸、二磷酸腺苷 (ADP)、三磷酸腺苷 (ATP) 和糖类的重要组成元素, 是含量仅次于氮的第二大限制性养分^[1], 在植物生长发育过程中发挥着不可替代的作用。植物吸收磷素主要以可溶性的磷酸根离子 (PO_4^{3-} 、 HPO_4^{2-} 、 H_2PO_4^-) 形式为主^[2], 虽然土壤中磷素含量很高, 但是可供利用的无机磷素含量较少, 是导致植物缺磷的主要原因之一^[3]。植物磷转运蛋白 (phosphate transporter, PHT) 是植物从土壤中吸收无机磷酸盐并在体内进行再分配利用的载体。磷吸收动力学研究表明: 植物在进化过程中形成了 2 类不同的磷吸收转运系统^[4], 分别为高亲和力磷吸收转运系统 (high-affinity P uptake system) 和低亲和力磷吸收转运系统 (low-affinity P uptake system)^[5]。研究者最早在拟南芥 *Arabidopsis thaliana* 中克隆出了磷转运蛋白基因 *AtPHT1.1*, 随后通过基因组测序、同源序列分析等方法陆续在大豆 *Glycine max*^[6]、玉米 *Zea mays*^[7]、大麦 *Triticum aestivum*^[8] 和番茄 *Lycopersicon esculentum*^[9] 等植物中克隆出了磷转运蛋白基因。植物磷酸盐转运蛋白属于 MFS 超级家族 (major facilitator superfamily)^[10], 有 12 个疏水的跨膜区域, 蛋白质结构高度相似, 在氨基酸序列中存在保守特征序列 GGDYPLSATIMSE, 以及保守的磷酸化位点和糖基化位点。磷转运蛋白分为 4 个亚家族, 分别为 PHT I、PHT II、PHT III、PHT IV^[11]。拟南芥中, *AtPHT1.1*、*AtPHT1.2* 和 *AtPHT1.3* 对拟南芥吸收磷的贡献非常大, 而且 *AtPHT1.1* 在长距离运转磷的过程中具有重要作用^[12]。研究表明: 高磷环境中 *OsPHT1* 是水稻 *Oryza sativa* 吸收和转运磷素的关键 PHT I 成员^[13]。缺磷显著诱导 *OsPHT2*、*OsPHT4*、*OsPHT8*、*OsPHT9* 和 *OsPHT10* 等的表达。*OsPHT8* 几乎在水稻的各个器官中都强烈表达, 是组成型磷转运子; *OsPHT8* 下调会使新叶磷含量下降, 老叶磷含量上升, 处于灌浆期的胚乳和胚中的磷含量显著下降, 说明水稻 *OsPHT8* 对磷素从源到库的再分配起到至关重要的作用^[14]。大豆中, *GmPHT7* 在根际成熟丛枝菌 *Arbuscular mycorrhiza* (AM) 根的根冠小柱细胞、皮层细胞和无菌根的侧根原基细胞中表达, 在衰老叶片的维管束末端少数管胞中也有表达, 主要负责向种子转运再活化的磷素^[15]。此外, *GmPHT10* 和 *GmPHT11* 也会受 AM 诱导表达^[16], 即磷酸盐转运蛋白基因广泛存在于各种植物中。

毛竹 *Phyllostachys edulis* 属于禾本科 Gramineae 刚竹属 *Phyllostachys*, 具有经济价值高、用途广泛、栽培面积大等特点^[17]。影响毛竹生长发育的因素有很多, 如林地养分、水分不足^[18], 粗放的抚育管理和病虫害防治不及时等^[19], 其中, 磷元素是限制毛竹林生长的重要营养元素之一。因此, 研究毛竹磷素转运和吸收的相关基因的表达具有重要意义^[20]。由于土壤对磷素的化学固定作用, 磷素利用率普遍较低^[21]。磷酸盐转运蛋白是植物吸收和转运磷素的重要参与者。本研究利用生物信息学方法鉴定毛竹 PHT I 家族成员, 分析其基因启动子、蛋白质理化性质、基因结构、氨基酸保守基序、基因在染色体的位置以及基因的组织表达特异性等, 以期深入研究毛竹 PHT 基因功能, 探索毛竹磷素利用机制提供参考。

1 材料与amp;方法

1.1 毛竹 PHT I 家族序列的获取和确定

拟南芥和水稻 *PHT* 基因的 CDS 序列、基因序列以及氨基酸序列分别下载于 Tair (<https://www.arabidopsis.org>) 和 Rice Genome Annotation Project (<http://rice.plantbiology.mus.edu>)。在毛竹基因组数据库 Bamboo GDB (<http://bamboo.bamboogdb.org/>) 进行 BlastP、BlastN ($e\text{-value}=1e^{-10}$) 比对, 获取毛竹 *PHT* I 同源基因的候选序列。通过 SMART 数据库 (<http://smart.embl-heidelberg.de>) 和 PFAM 数据库 (<http://pfam.xfam.org>) 确定获取的候选序列的保守结构域的准确性和完整性, 保留具有编码完整保守结构域的候选序列, 并进行基因命名 (*PePHTs*)。

1.2 毛竹 PHT I 的生物信息学分析

利用 ProtParam (<http://web.expasy.org/prot-param/>) 获取毛竹 *PHT* I 基因编码蛋白质的基本理化特性, 使用 Gene Structure Display Server 2.0 (<http://gsds.cbi.pku.edu.cn/>) 在线工具分析 *PePHTs* 的基因结构, 通过 MEME Version 5.3.2 (<http://meme-suite.org/tools/meme>) 获取毛竹 *PHT* I 的保守基序, 利用 PlantCARE (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>) 在线分析平台对 *PePHTs* 所含作用元件进行分析, 在 Excel 软件中整理 Tab 结果文件, 用 TBtools 软件的 Basic BioSequence View 工具展示顺式作用元件的分布^[22], 使用 Plant-mPLoc 算法 (<http://www.csbio.sjtu.edu.cn>) 预测毛竹 *PHT* I 的亚细胞位置。

1.3 毛竹 *PHT* I 基因系统进化分析

使用 Clustal X 1.8 软件对毛竹、拟南芥、水稻等 *PHT* 基因的 CDS 序列进行多重比对, 比对结果在 MEGA 7.0 软件中使用邻接法 (neighbor-joining) 构建系统进化树, bootstrap 试验重复 1000 次^[23], 其他参数设置为默认值。利用在线工具 Evolview (<https://www.evolgenius.info/evolview/>) 进行树图编辑^[24]。

1.4 毛竹 *PHT* I 基因的染色体分布及适应性进化分析

利用在线软件 MEME Version 5.3.2 (<http://meme-suite.org/tools/meme>) 对毛竹 *PHT* I 的 motif 进行预测和分析, motif 数量设置为 10。使用 TBtools 软件的 Gene Location Visualize from GTF/GFF 工具展示基因在染色体上的位置。使用 KaKs_Calculator 软件计算毛竹 *PHT* I 基因的 CDS 序列的选择压力值 (ω)^[25]。

1.5 毛竹 *PHT* I 基因组织表达特异性分析

根据毛竹和竹笋不同组织的转录组数据^[26], 用 *PePHTs* 的 RPKM (reads per kilo-bases per million reads) 值表示基因的表达丰度, 利用 TBtools 制作热图展示基因的表达丰度。

2 结果与分析

2.1 毛竹 PHT I 家族基因鉴定及基本理化特征

通过比对分析毛竹基因组, 鉴定并确定编码完整 MFs_1 的候选基因共 20 个。植物 *PHT* 一般都含有 MFs_1 保守结构域, 候选基因编码的蛋白质都含有保守的跨膜结构域, 与 MFS 超家族的 *PHT* 家族特征相同。根据 *PHT* 候选基因在毛竹 Scaffold 中的位置以及同源基因的名称依次命名为: *PePHT1*~*PePHT20*。

对 20 个 *PHT* I 家族基因进行生物信息学分析, 其理化性质结果 (表 1) 显示: *PePHTs* 编码的氨基酸序列长度, 最长为 696 个氨基酸 (*PePHT1*), 最短为 432 个氨基酸 (*PePHT17*), 理论等电点为 6.84~9.30, 除 *PePHT15* 外, 其他均为碱性蛋白质, 分子量为 48.61~76.37 kDa。疏水性测试显示: 所有蛋白质疏水性值 (grand average hydropathicity, GRAVY) >0 , 说明该家族蛋白质均为疏水性蛋白质。脂肪族氨基酸指数显示: *PHT* I 家族的蛋白质热稳定性为 83.79~105.07, 热稳定性差异较大。亚细胞定位结果显示: *PePHTs* 均定位于细胞膜中。

2.2 毛竹 PHT I 家族基因结构及保守基序特征分析

由图 1 可知: 毛竹 *PHT* I 家族基因多数含 1~2 个内含子 (intron), 在所有 *PePHTs* 中, *PePHT14* 内含子区域最长, *PePHT8* 和 *PePHT11* 内含子区域最短。保守基序分析显示: *PePHTs* 含有 7~10 个保守基序, 分别命名为 motif1~motif10。其中有 6 个基序高度保守, 分别是 motif2、motif3、motif4、motif5、motif6、motif8, 其他基序在部分序列中缺失。9 个 *PePHTs* 中含有 10 个 motif, 其他 11 个 *PePHTs* 缺失 1~3 个 motif, *PePHT1*、*PePHT10* 都缺少 motif7, *PePHT11* 缺少 motif1, *PePHT12* 缺少 motif9、motif10,

表 1 毛竹 PHT I 家族基因编码蛋白序列的理化性质

Table 1 Physicochemical properties of proteins encoded by PHT I gene family in *Ph. edulis*

基因名称	基因登录号	氨基酸/个	理论等电点	分子量/kDa	疏水性值	脂肪族氨基酸指数	亚细胞定位
<i>PePHT1</i>	PH02Gene03602	696	7.63	76.37	0.269	92.56	细胞膜
<i>PePHT2</i>	PH02Gene11006	531	9.10	57.69	0.538	98.91	细胞膜
<i>PePHT3</i>	PH02Gene14509	541	9.15	59.64	0.322	95.10	细胞膜
<i>PePHT4</i>	PH02Gene21291	532	8.45	58.05	0.371	89.40	细胞膜
<i>PePHT5</i>	PH02Gene24702	536	8.71	59.02	0.321	90.80	细胞膜
<i>PePHT6</i>	PH02Gene37931	547	8.31	58.97	0.412	92.32	细胞膜
<i>PePHT7</i>	PH02Gene39948	558	8.85	60.96	0.313	93.58	细胞膜
<i>PePHT8</i>	PH02Gene44007	536	8.03	58.49	0.408	91.27	细胞膜
<i>PePHT9</i>	PH02Gene44009	574	8.60	62.35	0.449	94.79	细胞膜
<i>PePHT10</i>	PH02Gene48053	507	8.01	55.77	0.259	87.59	细胞膜
<i>PePHT11</i>	PH02Gene48969	598	9.21	59.84	0.204	83.79	细胞膜
<i>PePHT12</i>	PH02Gene49859	567	8.99	61.45	0.376	92.31	细胞膜
<i>PePHT13</i>	PH02Gene50239	554	8.95	60.55	0.329	93.92	细胞膜
<i>PePHT14</i>	PH02Gene21248	518	8.02	57.42	0.494	105.04	细胞膜
<i>PePHT15</i>	PH02Gene21249	655	6.84	71.89	0.226	90.87	细胞膜
<i>PePHT16</i>	PH02Gene21250	505	9.30	55.46	0.473	105.07	细胞膜
<i>PePHT17</i>	PH02Gene21252	432	9.24	48.61	0.348	101.83	细胞膜
<i>PePHT18</i>	PH02Gene47590	520	8.67	58.31	0.324	90.25	细胞膜
<i>PePHT19</i>	PH02Gene47591	563	8.92	62.63	0.314	94.81	细胞膜
<i>PePHT20</i>	PH02Gene49564	527	8.04	58.50	0.391	97.53	细胞膜

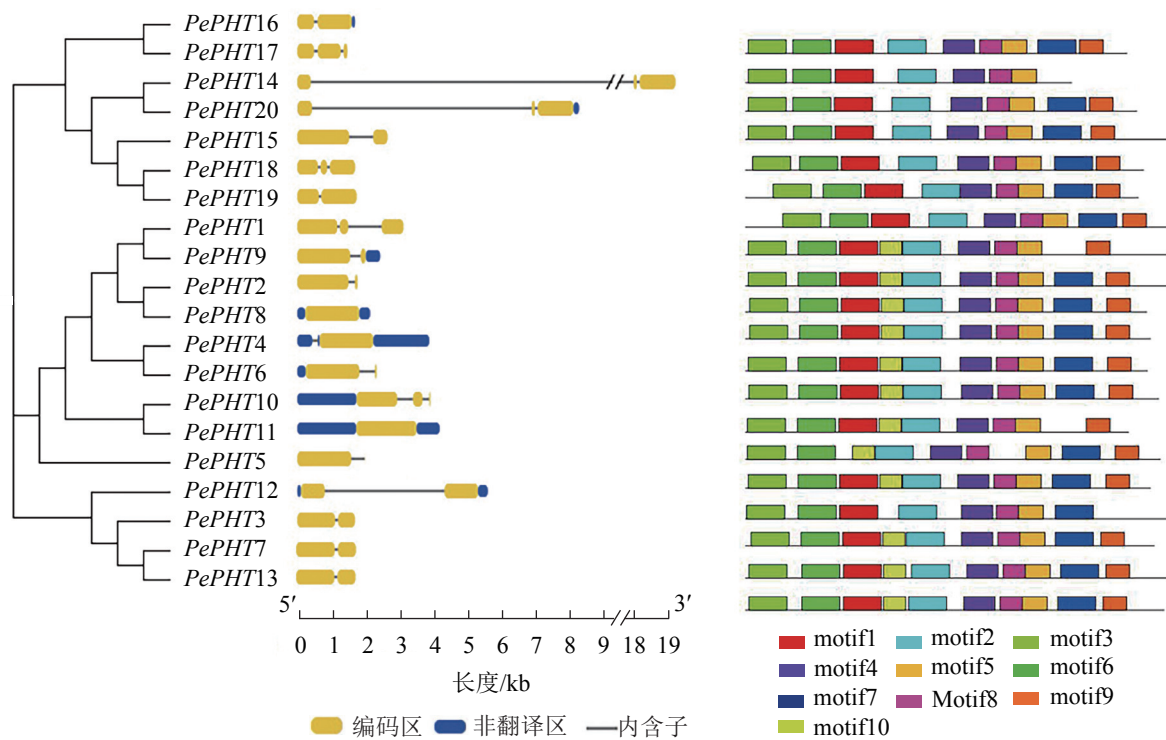


图 1 毛竹 PHT I 家族基因的结构

Figure 1 Structures analysis of PHT I gene family in *Ph. edulis*

PePHT14、*PePHT15*、*PePHT16*、*PePHT18*、*PePHT19*、*PePHT20*都缺少 motif10, *PePHT17*则缺少 motif7、motif9、motif10。*PePHTs* 高度保守基序的氨基酸数目也不尽相同, 最长的 motif 由 50 个氨基酸组成, 最短的 motif 由 29 个氨基酸组成。

为探究 *PePHTs* 受内在调控因子调节的情况和对外界环境的响应, 选取 *PePHTs* 距离起始密码子上游 2 000 bp 的序列, 对其所含顺式作用元件和应答元件进行分析。如图 2 所示: 所有启动子的顺式作用元件种类比较相似, 包括 MYB 转录因子结合的顺式作用元件, 生长素、赤霉素、水杨酸、脱落酸等激素响应元件以及低温、干旱、缺氧、光等非生物胁迫响应元件。由此表明: *PePHTs* 的转录表达可能会受到非生物胁迫和激素的影响。

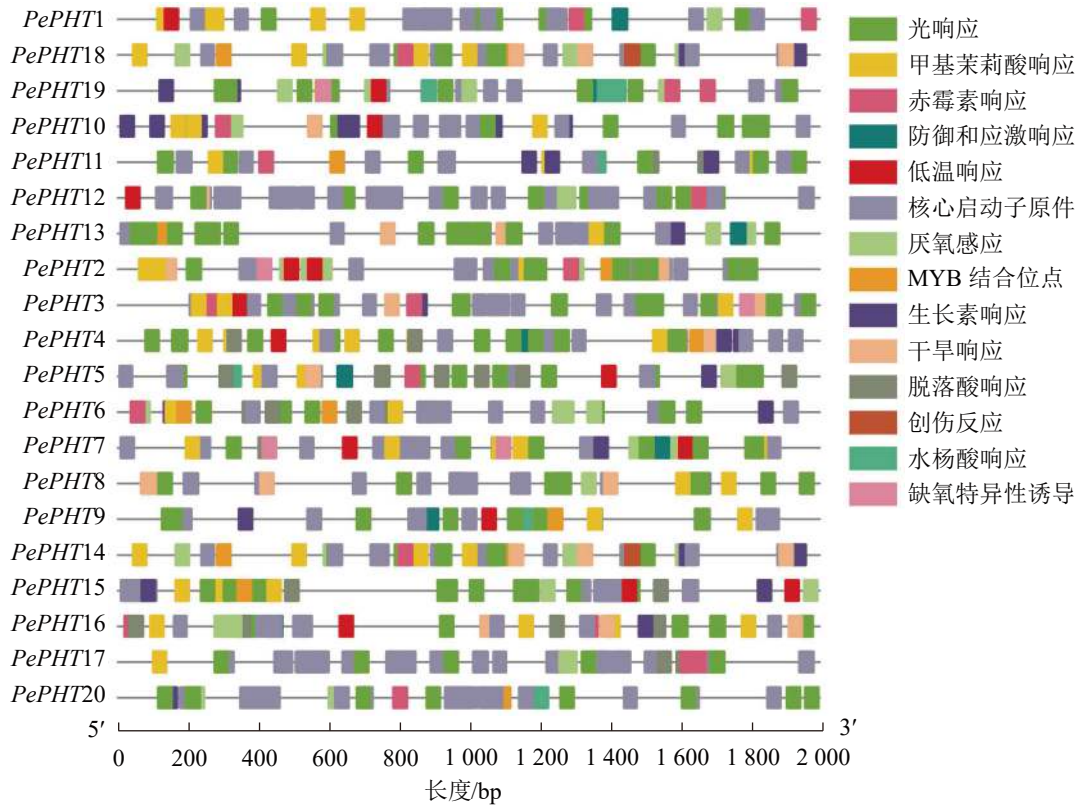


图 2 毛竹 PHT I 家族基因启动子区顺式作用元件位置信息

Figure 2 Location information of cis-acting regulatory elements identified in the promoter region of PHT I gene family in *Ph. edulis*

2.3 毛竹 PHT I 家族基因系统进化分析

为了解 *PePHTs* 的进化关系, 预测基因潜在功能, 本研究提取 20 个毛竹、18 个拟南芥和 25 个水稻的 *PHT* 基因的 CDS 序列进行多重序列比对, 并利用 MEGA 7.0 软件根据邻接法构建系统进化树。由图 3 显示: 毛竹、拟南芥和水稻的 *PHT* 基因被聚类到 4 个亚家族中, 来自毛竹的 20 个 *PePHTs* 均分布在第 I 亚家族的 5 个分支上, 1 个分支中只有 *PePHTs* 基因, 另 4 个分支和水稻聚类在一起。此外, 第 I 亚家族中还包含 9 个拟南芥和 12 个水稻的 *PHT* 基因。PHT 亚家族中的基因在功能上存在一定差异, 如大多数第 I 亚家族成员主要在直接接触根际环境的根毛和表皮细胞中表达, 参与根系对环境中的磷元素的吸收过程^[27-28], 定位在细胞膜上。相比拟南芥, 毛竹 *PHT* 基因均优先与水稻 *PHT* 基因聚类, 推测 *PePHTs* 在功能上可能与水稻同源基因更为相似。

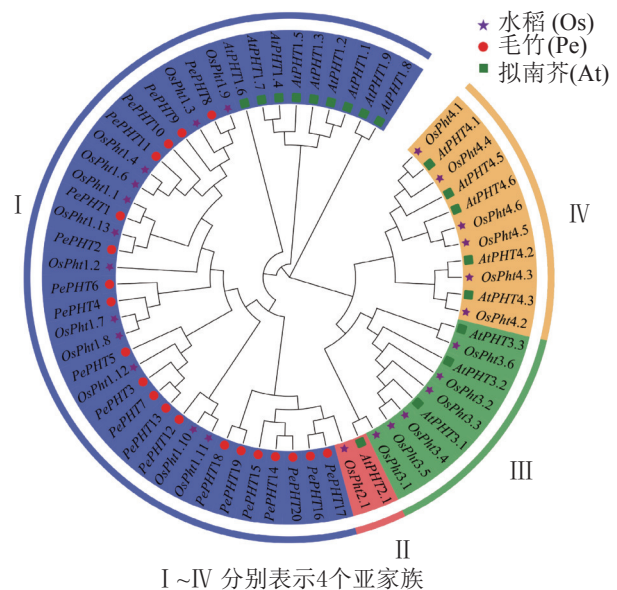


图 3 毛竹、拟南芥和水稻 PHT 家族基因系统进化树

Figure 3 Phylogenetic tree of PHT gene family from *Ph. edulis*, *A. thaliana* and *O. sativa*

2.4 毛竹 PHT I 家族基因在染色体上的位置及适应性进化分析

染色体定位显示：20 个毛竹 *PHT* 基因位于 10 条染色体上，其中 23 号染色体上最多，有 6 个，分别是 *PePHT14*、*PePHT15*、*PePHT16*、*PePHT17*、*PePHT18*、*PePHT19*；其次是 24 号染色体，有 3 个，分别是 *PePHT10*、*PePHT11*、*PePHT20*，推测这 2 个基因簇中的基因可能分别编码催化 2 种新陈代谢途径中不同步骤的磷转运酶^[29]。5 号、14 号以及 15 号染色体上各有 2 个基因，其余染色体各有 1 个(图 4)。除数量分布不均匀外，各基因在染色体上的分布位置也不均匀，大多数基因位于染色体的中部，少量则位于顶部和底部。适应性分析结果表明：*PePHT7* 的 $\omega > 0$ ，其他基因的 $\omega < 0$ ，表明 *PePHT7* 受到正选择压力，其他基因受到负选择压力^[30]。

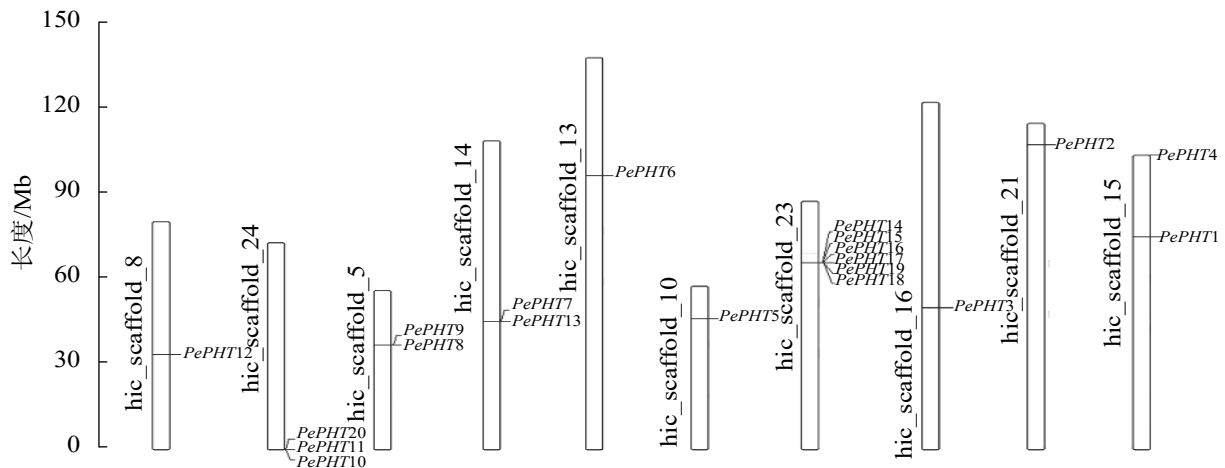


图 4 毛竹 *PHT* I 基因在染色体上的位置

Figure 4 Chromosomal location of *PHT* I genes from *Ph. edulis*

2.5 毛竹 PHT I 家族基因组织表达模式分析

根据毛竹 6 个不同部位的转录组表达谱数据^[26]，对毛竹 *PHT* I 家族基因进行组织特异性表达分析。由图 5 可知：毛竹不同组织中的 *PePHTs* 表达丰度差异较大，其中 *PePHT5*、*PePHT7*、*PePHT8*、*PePHT12*、*PePHT14*、*PePHT19* 在箨鞘中大量表达；*PePHT2*、*PePHT3*、*PePHT6*、*PePHT13*、*PePHT15* 在根中表达丰度较高；*PePHT18* 在叶中大量表达，*PePHT10*、*PePHT20* 在叶鞘中大量表达，*PePHT16*、*PePHT17* 在叶和叶鞘中也有少量表达。

3 讨论

植物从环境中吸收磷元素的过程中，磷酸盐转运蛋白起着至关重要的载体作用。植物 *PHT* I 磷酸盐转运蛋白为膜蛋白，大多数属于高亲和力转运系统，并且具有相似的蛋白质序列和化学结构。在双子叶植物拟南芥和单子叶植物水稻中分别发现了 9 个^[31-32] 和 12 个 *PHT* I 家族成员^[6]。VERSAW 等^[33] 证实拟南芥 *AtPHT2.1* 除了参与植物对磷元素的吸收与转运，还可能参与茎部对磷的转运，其蛋白质定位于叶绿体内膜上。*PHT* II 磷酸盐转运蛋白也在拟南芥^[34]、马铃薯 *Solanum tuberosum*^[35]、茄 *Solanum melongena*^[36]、菠菜 *Spinacia oleracea*^[37]、烟草 *Nicotiana tabacum*^[38] 和小麦 *Triticum aestivum*^[39] 等多种植物中被发现。*PHT* III 磷酸盐转运蛋白最初在拟南芥中被克隆得到的。研究表明：*PHT* III 磷酸盐转运家族与 *PHT* I 家族一样，通过 P/H⁺ 同向转运和 P/OH⁻ 反向转运方式参与细胞质间磷的交换^[39-40]。随后水稻、玉米和大豆等其他植物也克隆得到了该蛋白^[41]。但是 *PHT* IV 磷酸盐转运蛋白只在少数几种植物中发现^[42]，研究报道很少。

植物磷转运蛋白是众多转运蛋白中的一类重要蛋白家族，它们在植物的根、茎、叶、花等器官都有分布，是磷元素吸收和运转的主要载体^[1]。物种中均存在 *PHT* 基因，说明该基因具有重复性和多样性，这也是基因组重新排列和扩展的结果。本研究从毛竹基因组中鉴定出 20 个 *PHT* I 家族基因，每个成员都含有 Sugar_tr 和 MFs_1 保守结构域，这是它们具有相似功能的基础。理化性质分析显示：*PHT* 长度、理论等电点以及分子量区间跨度较大，这有可能是因为基因进行多次复制转录后进化的结果。本研究

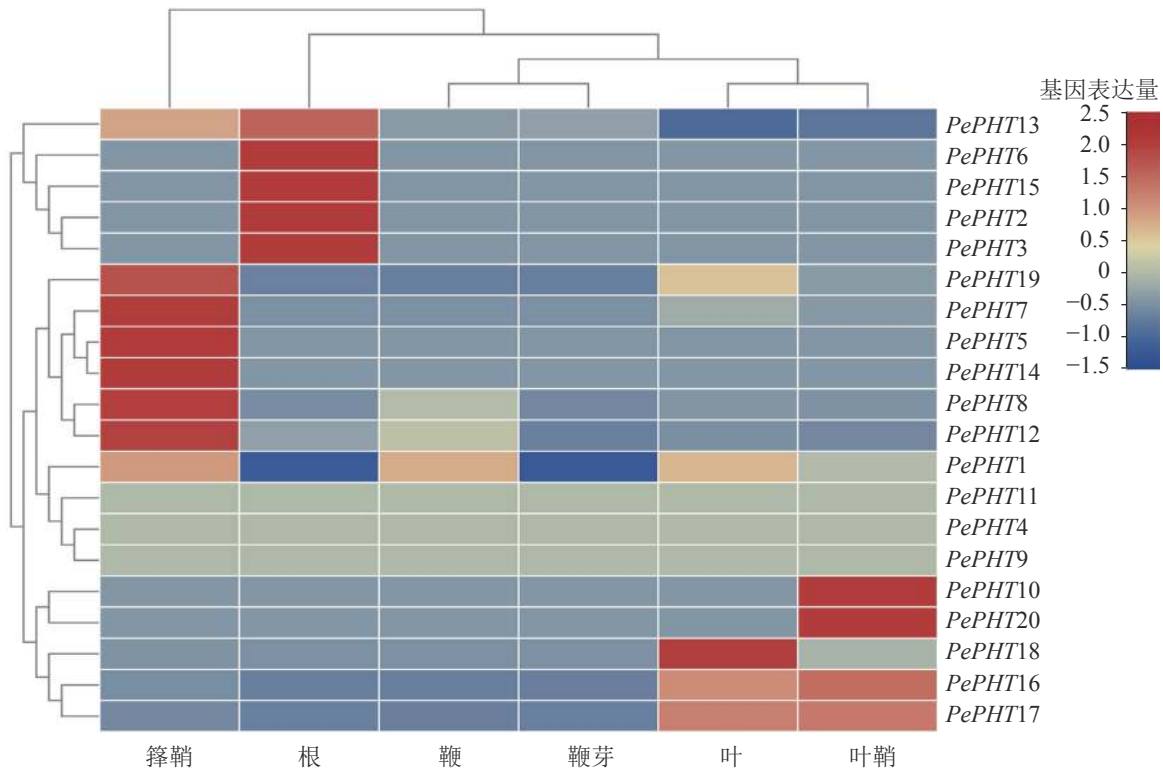


图5 *PePHTs* 在毛竹 6 个部位的表达

Figure 5 Expression analysis of *PePHTs* in 6 parts of *Ph. edulis*

预测了毛竹 *PHT I* 基因在细胞中的位置,发现毛竹 *PHT I* 基因都分布在细胞膜上,与已有研究一致^[3],说明鉴定出的毛竹 *PHT I* 亚家族中的基因符合磷酸盐转运蛋白基因的特性。在植物进化过程中,选择压力能很好地体现发挥重要功能的蛋白的变化。基因适应性进化分析显示:大多数 *PePHTs* 基因受到较强烈的负选择压力,说明毛竹磷转运蛋白相对趋于稳定,是其保持原有重要功能的原因;同时 *PePHT7* 基因受到正选择压力,提示该基因编码的蛋白可能会延伸出一些新的功能^[30]。植物基因组织特异性表达与基因的功能关系密切,毛竹磷转运蛋白在箨鞘、根、叶和叶鞘都有 1 个及以上的基因大量表达, *PePHT4*、*PePHT9*、*PePHT11* 等 3 个基因在任何组织中都没有检测到,还需深入研究; *PePHT1* 在根和鞭芽中明显下调,说明基因在不同组织中表达丰度不一样且发挥着不同的作用。

系统进化分析发现:毛竹 *PHT I* 基因聚类在第 I 亚家族的 5 个分支上,同一支中的基因可能具有相似的功能。拟南芥的 *PHT I* 亚家族中有 9 个成员,其中 *AtPHT1.6* 在花粉中表达,其余 8 个在根中表达^[43];当拟南芥缺磷时, *AtPHT1.1* 和 *AtPHT1.4* 会大量表达,这 2 个磷酸盐转运蛋白提供了 70% 的磷酸盐转运活性^[44]。水稻 *PHT I* 亚家族中有 12 个成员^[6],其中 *OsPHT1* 主要功能是吸收磷素和体内磷酸盐的再分配^[13], *OsPHT2* 主要在地上部分表达,也是水稻 *PHT I* 亚家族中唯一一个低亲和力磷转运蛋白^[45]。*PHT I* 家族在水稻和拟南芥吸收和转运磷的过程中具有重要作用^[32, 45],推测在毛竹对磷的吸收转运过程中也可能具有重要作用,但需要进一步的转录组数据进行验证。

4 参考文献

- [1] ABEL S, TICCONI C A, DELATORRE C A. Phosphate sensing in higher plants [J]. *Physiol Plant*, 2002, **115**(1): 1 – 8.
- [2] VANCE C P, UHDE-STONE C, ALLAN D L. Phosphorus acquisition and use: critical adaptations by plants for securing a nonrenewable resource [J]. *New Phytol*, 2003, **157**(3): 423 – 447.
- [3] SCHACHTMAN D P, REID R J, AYLING S M. Phosphorus uptake by plants: from soil to cell [J]. *Plant Physiol*, 1998, **116**(2): 447 – 453.
- [4] POIRIER Y, BUCHER M. Phosphate transport and homeostasis in *Arabidopsis* [J/OL]. *Am Soc Plant Biol*, 2002: e0024 [2021-06-05]. doi: 10.1199/tab.0024.
- [5] LÓPEZ-ARREDONDO D L, LEYVA-GONZÁLEZ M A, GONZÁLEZ-MORALES S I, et al. Phosphate nutrition: improving

- low-phosphate tolerance in crops [J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2014, **65**: 95 – 123.
- [6] PASZKOWSKI U, KROKEN S, ROUX C, *et al.* Rice phosphate transporters include an evolutionarily divergent gene specifically activated in arbuscular mycorrhizal symbiosis [J]. *Proc Nat Acad Sci*, 2002, **99**(20): 13324 – 13329.
- [7] NAGY R, VASCONCELOS M J V, ZHAO S, *et al.* Differential regulation of five *Pht1* phosphate transporters from maize (*Zea mays* L.) [J]. *Plant Biol*, 2006, **8**(2): 186 – 197.
- [8] RAE A L, CYBINSKI D H, JARMEY J M, *et al.* Characterization of two phosphate transporters from barley; evidence for diverse function and kinetic properties among members of the *Pht1* family [J]. *Plant Mol Biol*, 2003, **53**(1/2): 27 – 36.
- [9] NAGY R, KARANDASHOV V, CHAGUE V, *et al.* The characterization of novel mycorrhiza-specific phosphate transporters from *Lycopersicon esculentum* and *Solanum tuberosum* uncovers functional redundancy in symbiotic phosphate transport in solanaceous species [J]. *Plant J*, 2005, **42**(2): 236 – 250.
- [10] PAO S S, PAULSEN I T, SAIER M H. Major facilitator superfamily [J]. *Microbiol Mol Biol Rev*, 1998, **62**(1): 1 – 34.
- [11] WANG Duoli, LÜ Sulian, JIANG Ping, *et al.* Roles, regulation, and agricultural application of plant phosphate transporters [J/OL]. *Front Plant Sci*, 2017, **8**: 817[2021-06-05]. doi: [10.3389/fpls.201700817](https://doi.org/10.3389/fpls.201700817).
- [12] AYADIA, DAVID P, ARRIGHI J F, *et al.* Reducing the genetic redundancy of *Arabidopsis* PHOSPHATE TRANSPORTER1 transporters to study phosphate uptake and signaling [J]. *Plant Physiol*, 2015, **167**(4): 1511 – 1526.
- [13] SUN Shubin, GU Mian, CAO Yue, *et al.* A constitutive expressed phosphate transporter, *OsPht1;1*, modulates phosphate uptake and translocation in phosphate-replete rice [J]. *Plant Physiol*, 2012, **159**(4): 1571 – 1581.
- [14] LI Yiting, ZHANG Jun, ZHANG Xiao, *et al.* Phosphate transporter *OsPht1;8* in rice plays an important role in phosphorus redistribution from source to sink organs and allocation between embryo and endosperm of seeds [J]. *Plant Sci*, 2015, **230**: 23 – 32.
- [15] INOUE Y, KOBAE Y, OMOTO E, *et al.* The soybean mycorrhiza-inducible phosphate transporter gene, *GmPT7*, also shows localized expression at the tips of vein endings of senescent leaves [J]. *Plant Cell Physiol*, 2014, **55**(12): 2102 – 2111.
- [16] GORDON-WEEKS R, TONG Yiping, DAVIES T G E, *et al.* Restricted spatial expression of a high-affinity phosphate transporter in potato roots [J]. *J Cell Sci*, 2003, **116**(15): 3135 – 3144.
- [17] SONG Xinzhang, PENG Changhui, CIAIS P, *et al.* Nitrogen addition increased CO₂ uptake more than non-CO₂ greenhouse gases emissions in a Moso bamboo forest [J/OL]. *Sci Adv*, 2020, **6**(12): eaaw5790[2021-06-20]. doi: [10.1126/sciadv.aaw5790](https://doi.org/10.1126/sciadv.aaw5790).
- [18] 郑德华. 不同土壤类型对毛竹林生长的影响研究[J]. *世界竹藤通讯*, 2014, **12**(5): 32 – 34.
ZHENG Dehua. Influence of soil type on the growth of *Phyllostachys heterocycla* cv. *pubescens* forest [J]. *World Bamboo Rattan*, 2014, **12**(5): 32 – 34.
- [19] 严圣钦. 低产毛竹林的成因和改造技术[J]. *世界竹藤通讯*, 2009, **7**(3): 34 – 36.
YAN Shengqin. Causes for low-yield moso forest and the improvement technology [J]. *World Bamboo Rattan*, 2009, **7**(3): 34 – 36.
- [20] DU Enzai, TERRER C, PELLEGRINI A F A, *et al.* Global patterns of terrestrial nitrogen and phosphorus limitation [J]. *Nat Geosci*, 2020, **13**(3): 221 – 226.
- [21] 赵光强, 付循成, 曹慧. 高等植物的磷营养研究[J]. *安徽农业科学*, 2007, **35**(31): 9851 – 9854.
ZHAO Guangqiang, FU Xuncheng, CAO Hui. Research on the phosphorus nutrition in higher plant [J]. *J Anhui Agric Sci*, 2007, **35**(31): 9851 – 9854.
- [22] CHEN Chengjie, CHEN Hao, ZHANG Yi, *et al.* TBtools: an integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data [J]. *Mol Plant*, 2020, **13**(8): 1194 – 1202.
- [23] KUMAR S, STECHER G, TAMURA K. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets [J]. *Mol Biol Evol*, 2016, **33**(7): 1870 – 1874.
- [24] HE Zilong, ZHANG Huangkai, GAO Shenghan, *et al.* Evolview V2: an online visualization and management tool for customized and annotated phylogenetic trees [J]. *Nucleic Acids Res*, 2016, **44**(W1): W236 – W241.
- [25] IVANOVA Z, SABLOK G, DASKALOVA E, *et al.* Chloroplast genome analysis of resurrection tertiary relict *haberlandia* highlights genes important for desiccation stress response [J/OL]. *Front Plant Sci*, 2017, **8**: 204[2021-06-21]. doi: [10.3389/fpls.2017.00204](https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00204).

- [26] ZHAO Hansheng, GAO Zimin, WANG Le, *et al.* Chromosome-level reference genome and alternative splicing atlas of Moso bamboo (*Phyllostachys edulis*) [J/OL]. *GigaScience*, 2018, 7(10): giy115 [2021-06-23]. doi: [10.1093/gigascience/giy115](https://doi.org/10.1093/gigascience/giy115).
- [27] BUN-YA M, NISHIMURA M, HARASHIMA S, *et al.* The *PHO84* gene of *Saccharomyces cerevisiae* encodes an inorganic phosphate transporter [J]. *Mol Cell Biol*, 1991, 11(6): 3229 – 3238.
- [28] AZIZ T, FINNEGAN P M, LAMBERS H, *et al.* Organ-specific phosphorus-allocation patterns and transcript profiles linked to phosphorus efficiency in two contrasting wheat genotypes [J]. *Plant Cell Environ*, 2014, 37(4): 943 – 960.
- [29] 林翩翩, 白有煌, 周明兵. 毛竹细胞色素 P450 的基因组学分析[J]. 植物生理学报, 2014, 50(9): 1387 – 1400.
LIN Pianpian, BAI Youhuang, ZHOU Mingbing. Genomics analysis of cytochrome P450 monooxygenase genes in *Phyllostachys heterocycla* [J]. *Plant Physiol J*, 2014, 50(9): 1387 – 1400.
- [30] 王捷, 魏爱丽, 石瑛, 等. 念珠藻属植物 *hetR* 基因的适应性进化分析[J]. 植物科学学报, 2020, 38(1): 23 – 31.
WANG Jie, WEI Aili, SHI Ying, *et al.* Adaptive evolutionary analysis of *hetR* gene in *Nostoc* [J]. *Plant Sci J*, 2020, 38(1): 23 – 31.
- [31] YE Ying, YUAN Jing, CHANG Xiaojian, *et al.* The phosphate transporter gene *OsPht1;4* is involved in phosphate homeostasis in rice [J/OL]. *PLoS One*, 2015, 10(5): e0126186 [2021-06-23]. doi: [10.1371/journal.pone.0126186](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0126186).
- [32] MUDGE S R, RAE A L, DIATLOFF E, *et al.* Expression analysis suggests novel roles for members of the Pht1 family of phosphate transporters in *Arabidopsis* [J]. *Plant J*, 2002, 31(3): 341 – 353.
- [33] VERSAW W K, HARRISON M J. A chloroplast phosphate transporter, *PHT2;1*, influences allocation of phosphate within the plant and phosphate-starvation responses [J]. *Plant Cell*, 2002, 14(8): 1751 – 1766.
- [34] KARTHIKEYAN A S, VARADARAJAN D K, JAIN A, *et al.* Phosphate starvation responses are mediated by sugar signaling in *Arabidopsis* [J]. *Planta*, 2007, 225(4): 907 – 918.
- [35] GOFF S A, RICKE D, LAN T H, *et al.* A draft sequence of the rice genome (*Oryza sativa* L. ssp. *japonica*) [J]. *Science*, 2002, 296(5565): 92 – 100.
- [36] CHEN Aiqun, HU Jiang, SUN Shubin, *et al.* Conservation and divergence of both phosphate- and mycorrhiza-regulated physiological responses and expression patterns of phosphate transporters in solanaceous species [J]. *New Phytol*, 2007, 173(4): 817 – 831.
- [37] FERRO M, SALVI D, RIVIÈRE-ROLLAND H, *et al.* Integral membrane proteins of the chloroplast envelope: identification and subcellular localization of new transporters [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2002, 99(17): 11487 – 11492.
- [38] GUO Chengjin, ZHAO Xiaolei, LIU Xiaoman, *et al.* Function of wheat phosphate transporter gene *TaPHT2;1* in Pi translocation and plant growth regulation under replete and limited Pi supply conditions [J]. *Planta*, 2013, 237(4): 1163 – 1178.
- [39] RAUSCH C, BUCHER M. Molecular mechanisms of phosphate transport in plants [J]. *Planta*, 2002, 216(1): 23 – 37.
- [40] SAIA S, RAPPÀ V, RUISI P, *et al.* Soil inoculation with symbiotic microorganisms promotes plant growth and nutrient transporter genes expression in durum wheat [J/OL]. *Front Plant Sci*, 2015, 6: 815 [2021-04-15]. doi: [10.3389/fpls.2015.00815](https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00815).
- [41] WOHLRAB H. Identification of the N-ethylmaleimide reactive protein of the mitochondrial phosphate transporter [J]. *Biochemistry*, 1979, 18(10): 2098 – 2102.
- [42] GUO Biwei, IRIGOYEN S, FOWLER T B, *et al.* Differential expression and phylogenetic analysis suggest specialization of plastid-localized members of the PHT4 phosphate transporter family for photosynthetic and heterotrophic tissues [J]. *Plant Signaling Behav*, 2008, 3(10): 784 – 790.
- [43] WOHLRAB H, BRIGGS C. Yeast mitochondrial phosphate transport protein expressed in *Escherichia coli*. Site-directed mutations at *threonine-43* and at a similar location in the second tandem repeat (*isoleucine-141*) [J]. *Biochemistry*, 1994, 33(32): 9371 – 9375.
- [44] MISSION J, RAGHOTHAMA K G, JAIN A, *et al.* A genome-wide transcriptional analysis using *Arabidopsis thaliana* Affymetrix gene chips determined plant responses to phosphate deprivation [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2005, 102(33): 11934 – 11939.
- [45] AI Penghui, SUN Suibin, ZHAO Jianning, *et al.* Two rice phosphate transporters, *OsPht1;2* and *OsPht1;6*, have different functions and kinetic properties in uptake and translocation [J]. *Plant J*, 2009, 57(5): 789 – 809.