

高温胁迫下景宁木兰淀粉与蔗糖代谢途径转录分析

郑晨璐¹, 王倩颖², 陆丹迎², 申亚梅², 马晶晶², 刘璐², 王云¹

(1. 上海交通大学设计学院, 上海 200240; 2. 浙江农林大学风景园林与建筑学院, 浙江 杭州 311300)

摘要: 【目的】从分子生物学角度探究景宁木兰 *Magnolia sinostellata* 能否适应城市高温环境, 为木兰属 *Magnolia* 植物城市推广应用和胁迫分子研究奠定基础。【方法】采取人工控制实验, 对景宁木兰幼苗进行 40 °C 极端高温处理, 测定果糖、葡萄糖、蔗糖、淀粉碳同化产物, 以及果糖磷酸酶、蔗糖磷酸合成酶, 进行了转录组测序。【结果】随着胁迫时间的延长, 景宁木兰叶片果糖、葡萄糖、蔗糖、淀粉质量分数发生一定的变化, 但是差异不显著 ($P>0.05$), 果糖合成酶活性呈现显著下降趋势 ($P<0.05$), 蔗糖合成酶变化不显著 ($P>0.05$)。转录组数据进一步揭示了在高温胁迫下, 相比于 24 h, 48 h 时景宁木兰叶片调节淀粉合成的 *SS*(Unigene 40295)、*Glc-1-pa*(Unigene 38453)、*GBE*(CL4668.contig3) 基因的表达量增加, 随着高温胁迫的加深, 调节蔗糖合成的 *SPS* 基因呈现下降趋势, 并通过荧光定量验证了以上结果。【结论】景宁木兰对极端高温 (40 °C) 有一定的短时耐受性, 为应对高温胁迫, 不但碳同化产物发生显著变化, 调控淀粉与蔗糖代谢途径的关键基因表达也发生了变化, 进一步证明了高温会导致景宁木兰叶片内蔗糖和淀粉的相互转化。图 4 表 3 参 25

关键词: 高温; 碳同化产物; 代谢途径; 关键基因; 景宁木兰

中图分类号: Q75; S685 文献标志码: A 文章编号: 2095-0756(2023)01-0055-09

Transcriptional analysis of starch and sucrose metabolism pathways in *Magnolia sinostellata* under heat stress

ZHENG Chenlu¹, WANG Qianying², LU Danying², SHEN Yamei², MA Jingjing², LIU Lu², WANG Yun¹

(1. School of Design, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China; 2. College of Landscape and Architecture, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, Zhejiang, China)

Abstract: [Objective] The purpose is to explore whether the shrub species of *Magnolia sinostellata* could adapt to the high temperature in the city and promote its application. [Method] The 1-year-old seedlings of *M. sinostellata* were treated with high temperature at 40 °C to determine the fructose, glucose, sucrose, starch carbon assimilates, fructose phosphatase, sucrose phosphate synthase, and transcriptome sequencing. [Result] With the extension of stress time, the contents of fructose, glucose, sucrose and starch in leaves of *M. sinostellata* were changed, but the difference was not significant ($P>0.05$). The fructose synthase was significantly decreased ($P<0.05$), but the sucrose synthase was not significantly changed ($P>0.05$). Transcriptomic data further revealed that *SS* (Unigene 40295), *Glc-1-pa* (Unigene 38453) and *GBE* (CL4668.contig3) regulated starch synthesis at 48 h compared with 24 h under heat stress. The expression of *GBE* (CL4668. contig3) gene increased, and the *SPS* gene that regulates sucrose synthesis decreased with the deepening of heat stress. The above results were verified by qPCR. [Conclusion] All results indicated that *M. sinostellata* had a certain short-term tolerance to extreme temperature of 40 °C. In order to cope with high temperature stress, not only the carbon assimilates

收稿日期: 2022-02-20; 修回日期: 2022-08-29

基金项目: 浙江省农业新品种选育重大科技专项 (2021C2071-3)

作者简介: 郑晨璐 (ORCID: 0000-0003-2415-3485), 从事城市景观相关研究。E-mail: zcl9679@sjtu.edu.cn。通信作者: 王云 (ORCID: 0000-0003-2268-5541), 教授, 从事城市公园绿地研究。E-mail: wangyun03@sjtu.edu.cn

were significantly changed, but also the expression of key genes regulating starch and sucrose metabolism were changed. It was further proved that high temperature could lead to mutual conversion of sucrose and starch in the leaves of *M. sinostellata*. [Ch, 4 fig. 3 tab. 25 ref.]

Key words: heat stress; carbon assimilation products; metabolic pathway; key genes; *Magnolia sinostellata*

高温胁迫不仅导致植物表型的变化,而且会引起植物体内细胞稳态失衡,生长发育受到抑制,严重影响观赏植物的品质^[1]。环境温度的变化对植物光合作用的多种生理生化过程有直接的影响,包括光合碳固定和还原、蔗糖合成、光合产物的运输与分配等^[2]。碳同化是光合作用中植物在同化力形成之后的第3个阶段,此阶段中,植物叶绿体基质中的 Rubisco 酶利用 ATP 和 NADPH 同化二氧化碳 (CO₂) 生成淀粉、蔗糖、葡萄糖、果糖等物质。在高等植物光合作用中,果糖-1,6-二磷酸酶 (Fructose-1, 6-diphosphate synthase, FBPase) 在卡尔文循环和细胞质中的蔗糖生物合成途径中都起着关键作用,其中存在至少 2 种酶:叶绿体型 FBPase 和胞质型 FBPase。叶绿体型 FBPase 主要参与还原磷酸戊糖途径,同时参与叶绿体中淀粉的合成;胞质型 FBPase 主要参与糖异生途径和蔗糖的合成,在蔗糖的合成中起着重要的调节作用^[3-4]。有研究指出蔗糖磷酸合酶 (sucrose diphosphate synthase, SPS) 与淀粉积累呈现负相关关系,而与蔗糖形成呈正比关系^[5-6],并与蔗糖合成酶 (sucrose synthase, SS) 一起成为蔗糖调节的关键酶^[7],为淀粉合成提供底物及能量。淀粉是植物体中碳水化合物的主要储存形式,叶片中淀粉合成是一个动态的过程^[8]。在淀粉合成通路中,腺苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶 (ADP-glucose pyrophosphorylase, AGP) 作为限速酶,参与第一步反应,颗粒结合淀粉合酶 (granule-bound starch synthase, GBSS) 参与直链淀粉合成,可溶性淀粉合酶 (soluble starch synthase, SSS) 和淀粉分支酶 (starch branching enzyme, SBE) 协作合成支链淀粉^[7]。这些碳同化产物既是光合作用的产物,同时还是植物呼吸作用的底物,为植物的生长发育提供碳骨架的同时,还可增强植物的抗逆性。为进一步了解植物对高温的响应,分子生物学与转录组学等应用与解析调控植物耐热的分子基础,培育了相关观赏植物品种^[1]。

景宁木兰 *Magnolia sinostellata* 是木兰科 Magnoliaceae 木兰属 *Magnolia* 灌木,早春开花,花色浅粉色到粉红色,具有较高的观赏价值,具有开发应用价值^[9]。全球变暖带来的极端高温可能对景宁木兰的生长发育带来潜在的威胁。目前已挖掘了景宁木兰热胁迫下实时荧光定量 PCR 内参基因,但还未深入研究。因此,本研究以景宁木兰幼苗为对象,采取高温胁迫处理,研究其糖代谢途径变化机制,从而探究景宁木兰对高温的响应情况,同时为木兰属植物的城市应用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

景宁木兰植株均来自浙江省景宁县草鱼塘林场苗圃 (海拔 1 100 m)。选择 1 年生、生长一致的景宁幼苗栽植于装有土壤与珍珠岩按质量比为 1:1 混合的容器中,常规管理。所有样品均放置于光照培养箱中 [光照 20 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 温度 (25 $\pm$ 1) $^{\circ}\text{C}$, 相对湿度 (70 $\pm$ 10)%, 光照黑暗各 12 h]。当植株生长到 10 cm 左右高度时,选取 20 株健康、长势均匀的幼苗转移到温度设定为 40 $^{\circ}\text{C}$ (H) 的光照培养箱中,以 25 $^{\circ}\text{C}$ 为对照 (ck)。处理 0、3、6、9、12、24 和 48 h 时采集景宁木兰第 2~3 叶 (成熟叶) 为样本,迅速保存在液氮中,用于后续的测定,其中选取 ck-24、ck-48、H-24、H-48 用于转录组测定,每个样本 3 次生物学重复。

1.2 糖、淀粉及酶活性测定

蔗糖、淀粉、葡萄糖和果糖质量分数的测定采用改进的苯酚-硫酸法^[10],果糖 1,6-二磷酸酶 (FBPase) 的测定方法采用 CHEN 等^[11]的方法,蔗糖磷酸合酶 (SPS) 根据 GROF 等^[12]方法测定。采用 SPSS 19.0 进行单因素方差分析,采用 LSD 法进行显著性差异分析。

1.3 转录组测序与数据分析

使用 Trizol 试剂盒 (天根,北京) 提取景宁木兰叶片总 RNA。质量检测合格后,经深圳华大基因科技服务有限公司使用 DNaseI 消化 DNA、富集 mRNA 并反转录合成 cDNA 和 PCR 扩增,制备 cDNA 文

库。用 Agilent 2100 Bioanalyzer 和 ABI StepOnePlusReal-Time PCR System 完成文库质量和产量检测后进行转录组测序。对原始数据 (raw reads) 进行质控 (QC) 获得滤后的数据 (clean reads), 再进行基因定量分析以及基于基因表达水平的各项分析 (主成分、相关性、条件特异表达、差异基因筛选等), 并对筛选出的样品间差异表达基因进行 GO 功能显著性富集分析、pathway 显著性富集分析和聚类以及蛋白互作网络和转录因子等深入挖掘分析。

1.4 基因表达量及差异基因分析

用 RSEM 工具^[13-14]进行基因表达定量, 运用 FPKM 法消除基因长度和测序量差异对计算基因表达的影响, 计算得到的基因表达量可直接用于比较不同样品间的基因差异表达。将候选响应基因利用 RefSeq non-redundant proteins(NR) 数据库、Swiss-Prot 数据库、Gene Ontology(GO) 数据库和 Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes(KEGG) 数据库进行 Blast 比对, 获得候选响应基因的注释信息。用 WEGO 软件^[15]对差异基因做 GO 功能分类统计, 利用 Omicshare 在线工具库中的动态 KEGG 富集分析程序进行候选响应基因的注释及功能预测。

1.5 实时荧光定量 PCR

将反转录产物 cDNA 稀释 10 倍, 使用 SYBR Premix Ex Tap II (TAKARA: Code No.RR820A) 实时定量 PCR 试剂盒, 使用 Light Cycler 480 II (Roche) 实时定量 PCR 仪进行定量分析。反应体系为 SYBR Premix Ex Tap II 10 μ L, cDNA 模板 2 μ L, 上下游引物各 0.8 μ L (10 μ mol $\cdot$ L⁻¹), ddH₂O 6.4 μ L, 共 20 μ L 体系。每个样品 3 次重复, 扩增反应程序为: 95 $^{\circ}$ C 预变性 30 s, 95 $^{\circ}$ C 变性 5 s, 60 $^{\circ}$ C 预变性 30 s, 共 40 个循环。然后 95 $^{\circ}$ C 持续 5 s, 60 $^{\circ}$ C 持续 1 min, 95 $^{\circ}$ C 持续 15 s 作为溶解曲线分析程序, 进行溶解曲线分析。最后根 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 法计算目的基因的相对表达量。

2 结果与分析

2.1 高温胁迫对景宁木兰碳水化合物质量分数与酶活性的影响

与对照相比, 高温胁迫下 24 和 48 h 时景宁木兰的果糖、葡萄糖和蔗糖质量分数增加 (图 1A~C), 除高温胁迫 24 h 的葡萄糖质量分数与对照无显著差异外 (图 1B), 其他均呈显著差异 ($P < 0.05$)。与对照相比, 高温胁迫 24 h 时的淀粉质量分数显著降低 ($P < 0.05$), 而胁迫 48 h 时的淀粉质量分数显著升高 ($P < 0.05$) (图 1D)。FBPase 和 SPS 是蔗糖合成的关键酶, 与对照相比, FBPase 活性在胁迫 24 h 时先显著升高 ($P < 0.05$), 在 48 h 时下降, 但差异不显著 ($P > 0.05$) (图 1E)。在高温胁迫下, SPS 活性相比对照在

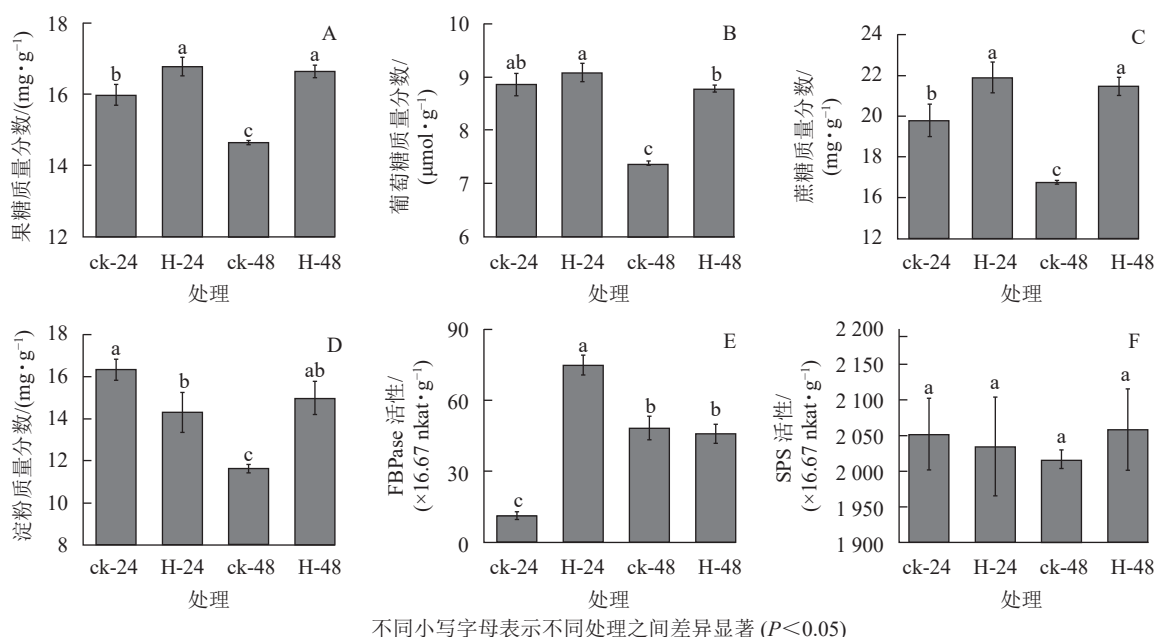


图 1 不同热胁迫处理对景宁木兰碳水化合物同化过程的影响

Figure 1 Effects of different heat stress treatments on the carbohydrates assimilation process of *M. sinostellata*

24 h下降, 48 h时有所上升, 但并无显著差异 ($P>0.05$)(图 1F)。相关性分析结果表明 (表 1): 蔗糖与果糖变化成极显著正相关 ($P<0.01$), 淀粉、SPS 活性与 FBPase 活性成负相关。

2.2 高温胁迫下景宁木兰叶片的转录组测序

转录组数据 (表 2) 显示: 测序碱基对总数为 7 054 万~7 313 万条。每个原始读取从一端测序, 长度为 50 bp。去除低质量序列后 (即含有 $<1\%$ 的不确定碱基), 各测序样本共获得 70 547 818(ck-24)、72 966 866(ck-48)、73 134 592(H-24) 和 73 140 464 (H-48) 条。每个库中 clean reads 的比例平均为 99.53%。来自对照和高温样本的转录组都有至少

7 000 万个 clean reads, 这表明景宁木兰转录组数据质量较高, 能够开展后续的生物信息学分析。数据筛选后得到的 17 884 个不同长度的差异 unigenes[错误发生率 ($FDR\leq 0.001$, $\log_2 R\geq 1$)]。H-24 与 ck-24 相比, 4 662 个基因的表达下调, 6 611 个基因的表达上调; H-48 与 ck-48 相比, 4 658 个基因的表达下调, 5 131 个基因的表达上调; H-48 与 H-24 相比, 4 548 个基因的表达下调, 4 056 个基因的表达上调 (表 3)。

表 2 高温胁迫和非高温胁迫下景宁木兰的叶片测序结果与参考基因序列的对比率

Table 2 Ratio of leaf sequencing results to reference gene sequences of *M. sinotellata* under heat stress and non-heat stress

处理	总读数	总碱基对	总比数	高质量比数	丢失比数	单一比数	非单一—读数	总未比读数
ck-24	70 547 818 (100)	7 054 781 800 (100)	52 601 172 (74.56)	33 257 776 (47.14)	19 343 396 (27.42)	38 336 892 (54.34)	14 264 280 (20.22)	17 946 644 (25.44)
ck-48	72 966 866 (100)	7 296 686 600 (100)	55 252 592 (75.72)	35 172 380 (48.20)	20 080 212 (27.52)	39 734 140 (54.46)	15 518 452 (21.27)	17 714 272 (24.28)
H-24	73 134 592 (100)	73 134 592 009 (100)	52 733 028 (72.10)	33 645 473 (46.00)	19 087 555 (26.10)	38 257 910 (52.31)	14 475 118 (19.79)	20 401 562 (27.90)
H-48	73 140 464 (100)	7 314 046 400 (100)	54 165 208 (74.06)	34 404 377 (47.04)	19 760 831 (27.02)	40 219 158 (54.99)	13 946 050 (19.07)	18 975 254 (25.94)

说明: 括号内为参考基因序列的对比率(%)

2.3 GO 功能注释分类

GO 数据库定义了 3 类系统来描述基因产物的具体功能: 生物过程 (biological process)、细胞组分 (cellar component) 和分子功能 (molecular function), 这些基因又被具体分为 56 个小类, 从而发挥生物功能。将组装的景宁木兰 unigene 与 GO 数据库比对分析, 图 2A~C 显示: 景宁木兰序列中有 81 573 条 unigene 可以进行功能分类。其中 33.03% 的基因显著富集于生物过程、34.31% 的富集于细胞组分, 32.66% 的分子功能。生物学过程中的主要途径是细胞途径和代谢过程相关的转录调控, 细胞组分中最多的是膜的构成, 分子功能中最多的是结合和催化活性。

其中 33.03% 的基因显著富集于生物过程、34.31% 的富集于细胞组分, 32.66% 的分子功能。生物学过程中的主要途径是细胞途径和代谢过程相关的转录调控, 细胞组分中最多的是膜的构成, 分子功能中最多的是结合和催化活性。

2.4 KEGG 代谢通路分析

将组装的景宁木兰 unigene 与 KEGG 数据库比对及 KEGG 富集分析 (图 2D~E), 结果发现: 在景宁木兰高温胁迫的 3 个比较组中, ck-24 与 H-24、H-24 与 H-48 代谢相关通路高度富集; ck-24 与 H-24、ck-48 与 H-48 淀粉和蔗糖代谢通路富集排名第 3 位, H-24 与 H-48 排名第 4 位。这些结果表明: 淀粉和蔗糖代谢途径在景宁木兰高温胁迫响应机制中具有重要作用。

2.5 热胁迫诱导的淀粉-糖代谢途径差异基因表达分析

在淀粉代谢通路中共有 105 个差异基因。在该通路中, 8 个 DEGs 调控 ADP-glucose 以促进淀粉酶

表 1 高温胁迫下景宁木兰碳水化合物质量分数与酶活性的相关系数

Table 1 Correlation coefficient between carbohydrate contents and enzyme activities of *M. sinotellata* under high temperature stress

指标	果糖	葡萄糖	蔗糖	淀粉	FBPase活性	SPS活性
果糖	1					
葡萄糖	0.945	1				
蔗糖	0.999**	0.937	1			
淀粉	0.697	0.853	0.670	1		
FBPase活性	0.261	0.030	0.298	-0.493	1	
SPS活性	0.707	0.738	0.680	0.891	-0.432	1

说明: **表示差异极显著($P<0.01$)

表 3 差异表达基因统计

Table 3 Statistic of differentially expressed genes

总计	ck-24/H-24	ck-48/H-48	H-24/H-48
上调	6611	5131	4056
下调	4662	4958	4548

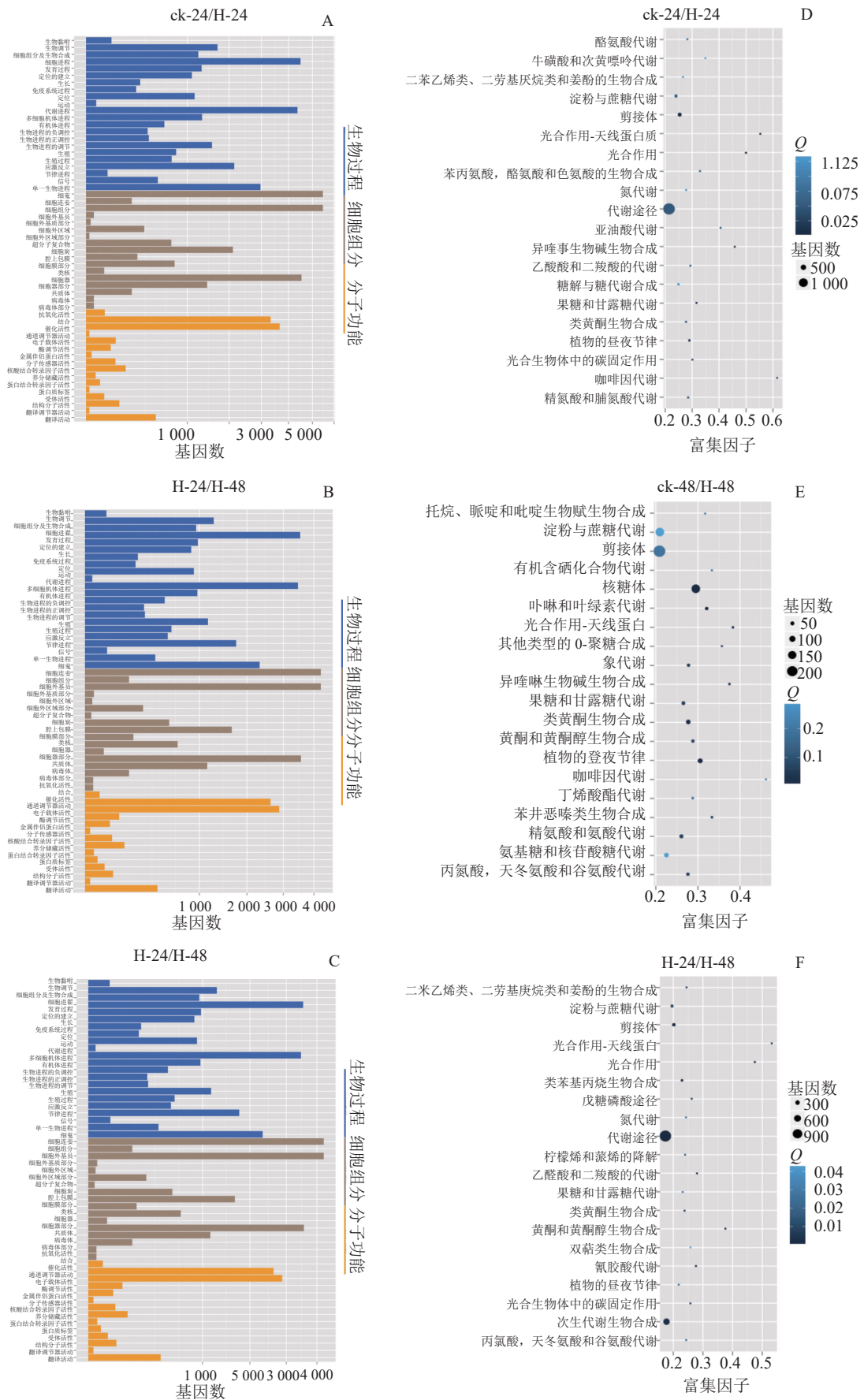
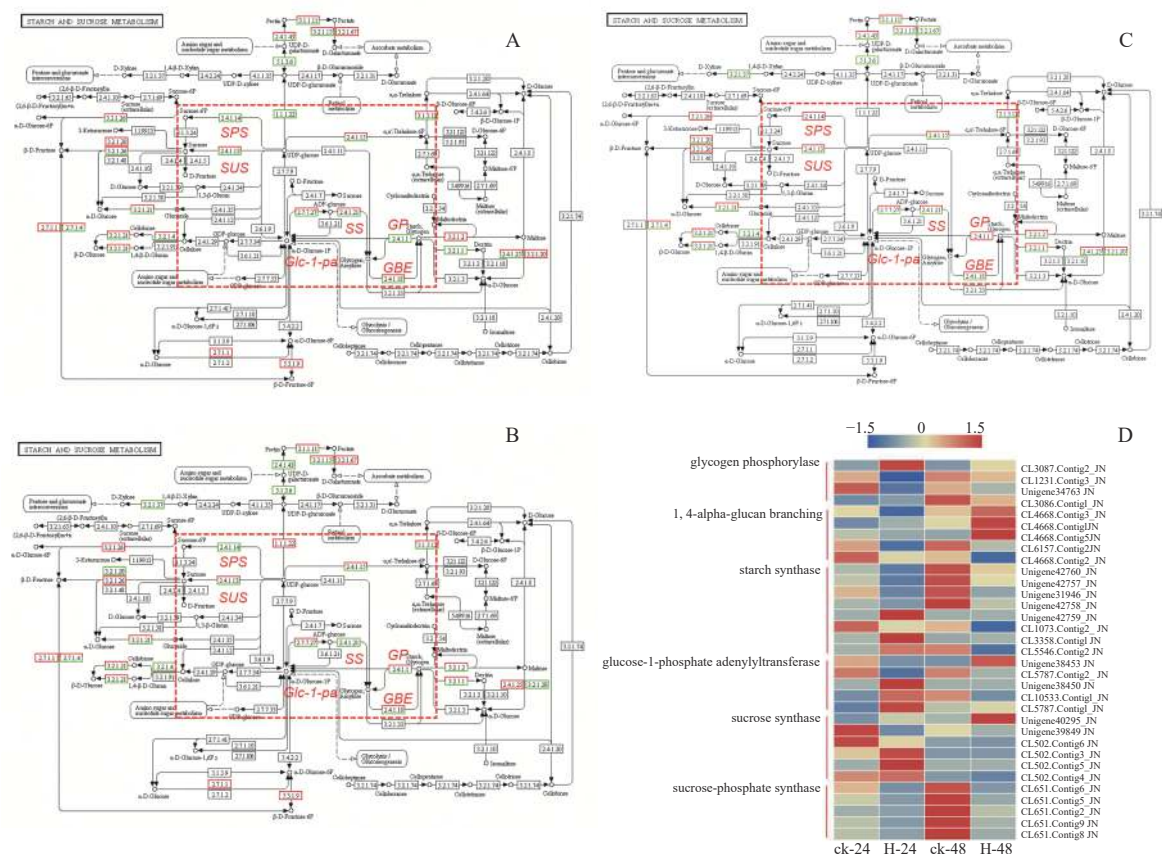


图 2 3 个比较组差异基因的 GO 分类 (A~C) 和 KEGG 富集图 (D~F)

Figure 2 GO classification (A~C) and KEGG enrichment map (D~F) of DEGs in 3 comparison groups

合成, 5 个 DEGs 调控淀粉酶以生产淀粉; 淀粉也可以通过同样的途径调控 ADP-glucose 产生 α -D-Glucose-1P, 然后再形成 UDP-glucose, UDP-glucose 再在蔗糖合成酶基因和蔗糖 6 磷酸合成酶基因的作用下形成蔗糖; 蔗糖代谢通路中有 17 个差异基因, 其中有 6 个属于蔗糖合酶基因, 5 个属于蔗糖磷酸合成酶 (图 3A~D)。选取 6 个淀粉和蔗糖代谢途径高表达基因, 即 *GP*(CL3087.contig2)、*SS*(Unigene40295)、*Glc-1-pa*(Unigene38453)、*GBE*(CL4668.contig3)、*SUS*(Unigene42760)、*SPS*(CL651.contig6), 通过 qPCR 定量分析, 结果显示 (图 4): 与对照相比, 高温胁迫 48 h 处理下淀粉和糖代谢途径上的 *GP*(CL3087.contig2)、



A~C 为淀粉-糖代谢关键通路; D 为淀粉-糖代谢关键通路上相关基因表达分析

图 3 高温胁迫下淀粉-糖代谢途径及相关基因表达分析图

Figure 3 Analysis of starch and sugar metabolic pathway and related gene expression under high temperature stress metabolism

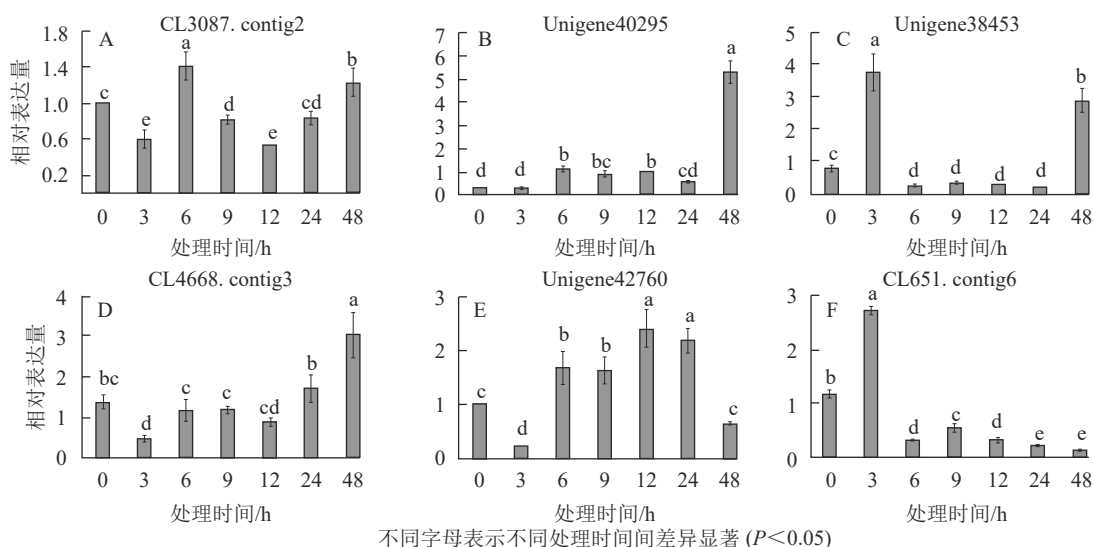


图 4 淀粉与蔗糖代谢途径 6 个 DEGs 在不同时间点的相对表达

Figure 4 Relative expression of 6 DEGs in starch and sucrose metabolism pathways at different time points

SS(Unigene40295)、Glc-1-pa(Unigene38453)、GBE(CL4668.contig3) 基因表达显著上调 ($P < 0.05$), SUS(Unigene42760)、SPS(CL651.contig6) 基因表达显著下降 ($P < 0.05$)。由此说明, 在高温胁迫下, 淀粉合成酶基因及蔗糖 6 磷酸合成酶基因表达均呈现上调的趋势, 以促进蔗糖产生。

3 讨论与结论

极端高温天气势必影响植物的生长发育, 最终导致部分植物处于濒危状态。本研究转录组数据显示: 极端高温处理景宁木兰之后, 其大部分基因可注释到生物进程, 代谢功能途径中基因分布最多, 这与非洲菊 *Gerbera jamesonii*^[16]、牡丹 *Paeonia suffruticosa*^[1] 等相似。景宁木兰的 KEGG 数据库显示: 在高温处理后, 大部分基因高度富集于代谢通路, 同时淀粉与糖代谢通路中占据重要的比例。由此推断, 淀粉和蔗糖代谢对景宁木兰响应高温胁迫机制具有重要的作用。

植物叶片光合作用同化吸收的碳用于叶绿体淀粉的形成, 或者运输到细胞质中合成蔗糖, 蔗糖随后被运输到植物的非光合位置。不同植物叶片淀粉和蔗糖积累水平差异很大, 环境因子 (如温度、光照等) 也影响着植物叶片所固定碳在蔗糖和淀粉之间的分配^[17]。本研究中, 随着高温胁迫的加深, 24 和 48 h 处理下景宁木兰叶片蔗糖和淀粉质量分数差异不显著, 但是均显著高于对照。本研究中 FBPase 与淀粉显著正相关, 与蔗糖负相关。这与马铃薯 *Solanum tuberosum*^[18]、拟南芥 *Arabidopsis thaliana*^[19] 的研究结果一致。FBPase 在 24 h 达到最高值之后, 说明景宁木兰对高温具有一定的适应性, 然而 48 h 时与对照相比差异不显著, 说明高温对景宁木兰 FBPase 影响不大。

植物的生长发育所需要的光合产物大部分以蔗糖的形式供应和运输, 其中, SPS 是蔗糖合成途径的一个重要控制点, 同时也是蔗糖进入各种代谢途径所必需的关键酶之一, 它的活性可反映蔗糖生物合成途径的能力^[20-21]。一些研究指出 SPS 与淀粉积累呈现负相关, 而与蔗糖形成呈正相关^[5-6]。本研究结果与之相似。在温州蜜柑 *Citrus unshiu* ‘Miyagawawase’^[22]、灌浆期水稻 *Oryza sativa* ‘Koshihikari’ 和 *O. sativa* ‘Sasanishiki’^[23] 的研究中也发现了同样的问题, 可能是因为光合细胞中同化的碳水化合物在蔗糖和淀粉之间的分配受 SPS 的调节, 但 SPS 不起主要作用, 蔗糖和淀粉的合成还受其他因子的影响^[24-25]。

淀粉和蔗糖代谢途径和多种酶密切相关, 植物一般利用糖苷键将蔗糖 [β -D-fructose-(2 $\rightarrow$ 1)- α -D-glucose] 和海藻糖 [α -D-glucose-(2 $\rightarrow$ 1)- α -D-glucose] 中的己糖残基连接在一起, 蔗糖和海藻糖的形成掩盖了葡萄糖和果糖的活性基团, 两者反应活性低于葡萄糖^[16]。本研究果糖、葡萄糖质量分数随着胁迫的加深有所下降, 从而促进了淀粉质量分数的增加, 虽然差异不显著, 但是调节淀粉合成的 SS(Unigene40295)、Glc-1-pa(Unigene38453)、GBE(CL4668.contig3) 基因的表达量增加, 进一步证明了高温可能促进胞质蔗糖质量分数的变化, 通过 ADP-glucose 催化促进淀粉的合成^[16]。虽然 ADP-glucose 是否是催化淀粉合成的关键酶还存在争议^[16], 但是本研究定量结果显示: SPS(CL651.contig6) 基因随着高温胁迫的加深, 呈现下降趋势, 这进一步说明了淀粉积累与蔗糖积累之间存在相关性, 但是具体机制还需要深入研究。

综上所述, 景宁木兰在高温胁迫下, 积累糖和淀粉以提升抵抗胁迫能力, 且淀粉与蔗糖途径的关键基因表达也反映了景宁木兰响应高温胁迫的机制。具体基因的功能验证还需进一步研究。

4 参考文献

- [1] 郝力慧, 董彬, 朱绍华, 等. 牡丹响应高温胁迫的转录组分析及 *PsHSP* 基因表达 [J]. *浙江农林大学学报*, 2021, 38(4): 802 – 811.
HAO Lihui, DONG Bin, ZHU Shaohua, *et al.* Transcriptome analysis and *PsHSP* gene expression of *Paeonia suffruticosa* in response to high temperature stress [J]. *Journal of Zhejiang A&F University*, 2021, 38(4): 802 – 811.
- [2] 许大全. 光合作用 [M]. 北京: 科学出版社, 2013.
XU Daquan. *Photosynthesis* [M]. Beijing: Science Press, 2013.
- [3] DAIE J. Cytosolic fructose-1, 6-bisphosphatase: a key enzyme in the sucrose biosynthetic pathway [J]. *Photosynthesis Research*, 1993, 38(1): 5 – 14.
- [4] SERRATO A, de DIOSBARAJASLOPE Z J, CHUECA A, *et al.* Changing sugar partitioning in FBPase-manipulated plants

- [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2009, **60**(10): 2923 – 2931.
- [5] 王宁宁, 朱建新, 王淑芳, 等. 苦参碱对小麦旗叶中蔗糖磷酸合成酶活性的调节[J]. 南开大学学报(自然科学版), 2000, **33**(1): 19 – 22.
- WANG Ningning, ZHU Jianxin, WANG Shufang, *et al.* The effect of matrine on sucrose biosynthesis in wheat flag leaves [J]. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Nankaiensis*, 2000, **33**(1): 19 – 22.
- [6] HUBER S C. Role of sucrose-phosphate synthase in partitioning of carbon in leaves [J]. *Plant Physiology*, 1983, **71**(4): 818 – 821.
- [7] 李梓铭, 泮仪晨, 范小平, 等. 浙贝母淀粉、蔗糖代谢相关基因的克隆与表达分析[J]. 核农学报, 2021, **35**(11): 2470 – 2481.
- LI Zhiming, PAN Yichen, FAN Xiaoping, *et al.* Cloning and expression analysis of genes related to starch and sucrose metabolism in *Fritillaria thunbergii* [J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2021, **35**(11): 2470 – 2481.
- [8] BALLICORA M A, IGLESIAS A A, PREISS J. ADP-glucose pyrophosphorylase: a regulatory enzyme for plant starch synthesis [J]. *Photosynthesis Research*, 2004, **79**: 1 – 24.
- [9] 王倩颖, 常鹏杰, 申亚梅, 等. 景宁木兰热胁迫下实时荧光定量 PCR 内参基因的筛选[J]. 浙江农林大学学报, 2019, **36**(5): 935 – 942.
- WANG Qianying, CHANG Pengjie, SHEN Yamei, *et al.* Reference genes for quantitative PCR in *Magnolia sinostellata* with heat stress [J]. *Journal of Zhejiang A&F University*, 2019, **36**(5): 935 – 942.
- [10] BUYSSE J, MERCKX R. An improved colorimetric method to quantify sugar content of plant tissue [J]. *Journal of Experimental Botany*, 1993, **44**(10): 1627 – 1629.
- [11] CHEN L S, CHENG L. Carbon assimilation and carbohydrate metabolism of ‘Concord’ grape (*Vitis labrusca* L.) leaves in response to nitrogen supply [J]. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 2003, **128**(5): 754 – 760.
- [12] GROFC P, KNIGHTD P, MCNEILSD, *et al.* A modified assay method shows leaf sucrose-phosphate synthase activity is correlated with leaf sucrose content across a range of sugarcane varieties [J]. *Functional Plant Biology*, 1998, **25**(4): 499 – 502.
- [13] LI B, DEWEY C N. RSEM: accurate transcript quantification from RNA-Seq data with or without a reference genome [J/OL]. *BMC Bioinformatics*, 2011, **12**(1): 323 [2022-01-17]. doi: [10.1186/1471-2105-12-323](https://doi.org/10.1186/1471-2105-12-323).
- [14] WANF W, VINOCUR B, ALTMAN A. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance [J]. *Planta*, 2003, **218**(1): 1 – 14.
- [15] YE Jia, FANG Lin, ZHENG Hongkun, *et al.* WEGO: a web tool for plotting GO annotations [J]. *Nucleic Acids Research*, 2006, **34**(2): 293 – 297.
- [16] 祝小云. 切花非洲菊苗期在高温胁迫中的生理生化响应和转录组分析[D]. 杭州: 浙江农林大学, 2016.
- ZHU Xiaoyun. *Physiological and Biochemical Responses of Gerbera Cultivars to Heat Stress and Transcriptome Analysis* [D]. Hangzhou: Zhejiang A&F University, 2016.
- [17] TAIZ L, ZEIGER E. 植物生理学[M]. 4版. 宋纯鹏, 王学路, 译. 北京: 科学出版社, 2015.
- TAIZ L, ZEIGER E. *Plant Physiology* [M]. 4th ed. SONG Chunpeng, WANG Xuelu, tran. Beijing: Science Press, 2015.
- [18] THORBGORNSSEN T, ASP T, JORGENSEN K, *et al.* Starch biosynthesis from triose-phosphate in transgenic potato tubers expressing plastidic fructose-1, 6-bisphosphatase [J]. *Planta*, 2002, **214**(4): 616 – 624.
- [19] STRANDÅ, ZRENNER R, TREVANION S, *et al.* Decreased expression of two key enzymes in the sucrose biosynthesis pathway, cytosolic fructose-1, 6-bisphosphatase and sucrose phosphate synthase, has remarkably different consequences for photosynthetic carbon metabolism in transgenic *Arabidopsis thaliana* [J]. *The Plant Journal*, 2000, **23**(6): 759 – 770.
- [20] HARBRON S, FOYER C, WALKER D. The purification and properties of sucrose-phosphate synthetase from spinach leaves: the involvement of this enzyme and fructose biphosphatase in the regulation of sucrose biosynthesis [J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1981, **212**(1): 237 – 246.
- [21] 刘凌霄, 沈法富, 卢合全, 等. 蔗糖代谢中蔗糖磷酸合成酶 (SPS) 的研究进展[J]. 分子植物育种, 2005, **3**(2): 275 – 281.
- LIU Lingxiao, SHEN Fafu, LU Hequan, *et al.* Research advance on sucrose phosphate synthase in sucrose metabolism [J]. *Molecular Plant Breeding*, **3**(2): 275 – 281.
- [22] 赵智中, 张上隆, 徐昌杰, 等. 蔗糖代谢相关酶在温州蜜柑果实糖积累中的作用[J]. 园艺学报, 2001, **28**(2): 112 – 118.

- ZHAO Zhizhong, ZHANG Shanglong, XU Changjie, *et al.* Roles of sucrose-metabolizing enzymes in accumulation of sugars in satsuma mandarin fruit [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2001, **28**(2): 112 – 118.
- [23] 李天, 刘奇华, 大杉, 等. 灌浆结实期高温对水稻籽粒蔗糖及降解酶活性的影响[J]. *中国水稻科学*, 2006, **20**(6): 626 – 630.
- LI Tian, LIU Qihua, RYU O, *et al.* Effect of high temperature on sucrose content and sucrose-cleaving enzymes activity in rice during grain filling stage [J]. *Chinese Journal of Rice Science*, 2006, **20**(6): 626 – 630.
- [24] CHATTERTON J, SILVIUS E. Photosynthate partitioning into starch in soybean leaves ‘ I ’. Effects of photoperiod versus photosynthetic period duration [J]. *Plant Physiology*, 1979, **64**(5): 749 – 753.
- [25] 郭金妹, 李天来, 姜晶, 等. 昼间亚高温下番茄叶中糖含量与蔗糖代谢相关酶的活性日变化[J]. *植物生理学通讯*, 2007, **43**(2): 231 – 234.
- GUO Jinmei, LI Tianlai, JIANG Jing, *et al.* Diurnal changes in sugar contents and enzymes activities involving sucrose metabolism in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill) leaves under sub-high temperature by day [J]. *Plant Physiology Communications*, 2007, **43**(2): 231 – 234.