

· 研究报告 ·

药用野生稻GBSS基因的系统发育及组织特异性表达

张霞¹, 景翔¹, 周光才², 包颖^{1*}

¹曲阜师范大学生命科学学院, 曲阜 273165; ²淄博市临淄区第二中学, 淄博 255400

摘要 淀粉作为主要的碳水化合物在储藏能量方面发挥至关重要的作用。颗粒结合型淀粉合酶(GBSS)与直链淀粉的合成息息相关。尽管该酶的编码基因已在许多栽培植物中被分离和确定, 但有关它们在作物野生近缘种中的序列分歧和表达的研究却相对较少。该研究以药用野生稻(*Oryza officinalis*)为研究对象, 定性和定量地分析了GBSS编码基因的序列特点、与其它植物同源基因的进化关系以及在叶和种子中的表达情况。系统发育分析表明, 该酶在禾本科植物中分别由GBSSI和GBSSII基因编码。在药用野生稻中, 这2种基因所编码蛋白的氨基酸序列一致性为62%, 并且它们在不同器官内呈现时空分化表达, 其中GBSSI在种子中超强表达, GBSSII则主要在叶片表达。

关键词 药用野生稻, 颗粒结合型淀粉合酶, 序列一致度, 表达分化, 叶, 种子

张霞, 景翔, 周光才, 包颖 (2019). 药用野生稻GBSS基因的系统发育及组织特异性表达. 植物学报 54, 343–349.

淀粉作为自然界天然生成的重要碳水化合物, 不仅为植物生长发育提供足够的营养和能量, 而且为人类和动物提供必要的食物(包颖等, 2015)。植物中的淀粉合成可以发生在不同的器官, 并基本可以划分为2个不同的阶段: 其一发生在光合器官(如叶), 由叶绿体通过光合作用进行首次的淀粉合成, 此为瞬时淀粉合成阶段; 但瞬时合成的淀粉在夜晚会解体成为麦芽糖和葡萄糖, 并进一步合成蔗糖, 其中一部分参与代谢, 而另一部分则运输到植物储藏器官(如根、茎、果实和种子), 由造粉体等质体重新合成淀粉, 此为储藏淀粉的合成阶段(包颖等, 2015)。

两个阶段的淀粉合成均至少需要5种酶参与, 它们分别是ADP焦磷酸化酶(AGPase)、淀粉合酶(SSS)、束缚态淀粉合酶(GBSS)、淀粉分支酶(SBE)和淀粉去分支酶(SBE)。其中, 束缚态淀粉合酶又被称为颗粒结合型淀粉合酶(granule-bound starch synthase), 该酶被认为与直链淀粉的合成有关(Shure et al., 1983)。由于直链淀粉与支链淀粉的相对比例决定淀粉糯性, 而糯性比例又直接影响淀粉的口感和营养价值, 因此GBSS的重要性不言而喻。在栽培水稻(*Oryza sativa*)中, GBSS具有2种异构型(张鹏, 2008)。其中, 相对分子量约为60 kDa的GBSSI

也被称为Waxy蛋白, 其编码基因GBSSI或Waxy被称为糯性基因或蜡质基因, 该基因在水稻基因组中位于第6号染色体的短臂, 由14个外显子和13个内含子组成(Wang et al., 1990)。此外, Dian等(2005)在研究水稻淀粉合成的过程中, 发现水稻基因组中还存在分子量为70–100 kDa的GBSSII, 该酶的编码基因为GBSSII。GBSSII和GBSSI的结构相似, 二者在氨基酸序列水平的一致度达66% (顾燕娟, 2006)。尽管GBSS基因在水稻中的研究已经比较深入, 但在水稻野生亲缘种内的研究, 尤其是2个异构酶基因在不同淀粉合成阶段的表达状态等鲜有报道, 极大地限制了我们对GBSS基因在禾本科内整体进化的全面了解, 也不利于今后从遗传的角度对此类基因进行有效利用。因此, 非常有必要扩展范围, 将尽可能多的野生种类纳入到研究之中。

药用野生稻(*O. officinalis*)是我国自然分布的3种野生稻之一。与栽培稻的AA基因组不同, 药用野生稻具有CC基因组(杨学明, 2003), 相异的基因组类型使该物种具有与栽培稻不一样的遗传多样性, 因此是用于水稻遗传改良的良好种质资源。

本研究以药用野生稻为研究对象, 通过序列相似性比较、进化分析和荧光实时定量PCR等方法, 定性

收稿日期: 2018-04-26; 接受日期: 2018-12-10

基金项目: 国家自然科学基金(No.31570218)

* 通讯作者。E-mail: baoyingus@126.com

并定量地对 *GBSSI* 和 *GBSSII* 基因的编码序列、与其它植物同源基因的系统发育关系以及在代表淀粉合成不同阶段的器官(叶和种子)中的表达情况进行深入探究,旨在回答如下问题:(1)在DNA序列水平,药用野生稻 *GBSSI* 和 *GBSSII* 彼此之间以及与其它植物的同源基因之间的序列相似度和分子进化关系如何?(2)在基因表达水平,药用野生稻 *GBSSI* 和 *GBSSII* 在相同或不同的淀粉合成阶段是否存在差异表达?其表达模式在植物中是否保守?

1 材料与方法

1.1 材料

药用野生稻(*Oryza officinalis* Wall. ex Watt)种子来自国际水稻研究所(International Rice Research Institute)种子库(编号104973)。为打破种子休眠,将去壳的药用野生稻种子在50°C恒温箱内处理5天;之后将其移入铺有湿润滤纸的培养皿中,在30°C的培养箱中萌发。萌发后的种子直接播种在大花盆中,并移入温室中培养至成年植株,分别选取午后充分开展的全叶和完全成熟的种子用于RNA提取。

1.2 目标基因获取

以栽培稻 *GBSSI* (GenBank No.FJ750947.1)和 *GBSSII* (GenBank No.AY069940.1)为参考序列,利用本实验室早期的药用野生稻叶转录组数据(Bao et al., 2015)进行对位排列和组装,具体方法详见包颖等(2015)。同时,以GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)中栽培稻的 *GBSSI* 和 *GBSSII* 基因作为搜索序列,生物选项中填入“*Oryza officinalis* (taxid: 4535)”,进行BLAST直接查询。

1.3 药用野生稻与其它植物 *GBSS* 同源基因的序列比较和系统发育分析

为深入了解药用野生稻 *GBSS* 基因和其它植物在DNA序列水平上的遗传差异并探究该基因在植物中的分子进化趋势,我们利用NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)和Uniprot (<https://www.uniprot.org/>)数据库,结合注释查询和以目标基因为搜索项的BLAST搜寻(阈值设为1e-5),对具有全基因组数据的18种植物(表2)的 *GBSS* 同源基因的核苷酸或其编码的

氨基酸序列进行全面查找。将获取的所有序列全部转换成蛋白序列并导入Seaview软件(Gouy et al., 2010)。采用Clustal W方法进行对位排列后,利用PhyML v3.0.1软件(Guindon and Gascuel, 2003)在默认模式下构建最大似然性(maximum likelihood, ML)系统发育树。以藻类植物莱茵衣藻(*Chlamydomonas reinhardtii* P. A. Dang.)作为外类群。

1.4 *GBSS* 基因相对表达分析

分别选取药用野生稻的叶和种子各3份生物学重复样品混合后,采用超纯RNA提取试剂盒(CWbio, Cat No.cw0581)提取总RNA,然后采用AMV Reverse Transcriptase XL反转录酶(TaKaRa, Cat No.2630A)将RNA反转录成cDNA。

以药用野生稻 *GBSSI* 和 *II* 序列为依据,应用Primer Premier 5.0软件在其保守区域设计定量引物(表1)。为保证扩增产物的准确性,我们以cDNA作为模板,对目的基因进行RT-PCR扩增,然后将得到的PCR产物回收后测序。测序工作在3100-Avant Genetic Analyzer (Life Technologies)自动测序仪上完成。

表1 *GBSSI* 和 *GBSSII* 的引物序列

Table 1 Primer sequences of *GBSSI* and *GBSSII*

Gene	Primer name	Primer sequence (5'-3')
<i>GBSSI</i>	GBSSI-F	AACGTGGCTGCTCCTTGAA
	GBSSI-R	TTGGCAATAAGCCACACACA
<i>GBSSII</i>	GBSSII-F	AGGCATCGAGGGTGAGGAG
	GBSSII-R	CCATCTGGCCCACATCTCTA

为定量了解2个 *GBSS* 基因在 *O. officinalis* 不同淀粉合成阶段的表达差异,我们分别选取作为光合器官的叶和作为储存器官的种子进行定量分析,以 *Actin* 为内参基因,引物序列参照陈凤花等(2005)。定量反应在RoChe Light Cycler® 480II荧光定量PCR仪上完成。*GBSSI* 和 *GBSSII* 在2种器官内的相对定量采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 算法进行计算。

2 结果与讨论

2.1 *GBSSI* 和 *GBSSII* 的序列特点

通过对实验室前期的叶转录组数据进行分析,我们只找到了 *GBSSII* 基因(GenBank No.KM264356.1),这

可能是由于GBSSI在药用野生稻叶中不表达或表达量过低造成。但是, 我们幸运地在药用野生稻中通过GenBank BLAST搜索到Waxy基因, 即GBSSI (GenBank No.GU977195.1)序列全长。该GBSSI长3 071 bp, 包括14个外显子和13个内含子(图1), 结构和栽培稻同源基因(GenBank No.X64108.1)完全一致。对于GBSSII, 由于在叶转录组数据中, 我们只得到其mRNA序列, 为了解该基因的结构, 我们将其mRNA序列与栽培稻同源基因(GenBank No.GQ15-0862.1)的DNA和CDS序列同时进行对位排列。排列结果显示, 药用野生稻GBSSII基因具有与栽培稻同源基因一致的基因结构, 即包括13个外显子和12个内含子(图1)。



图1 药用野生稻GBSSI和GBSSII基因结构

Figure 1 Gene structures of the GBSSI and GBSSII in *Oryza officinalis*

编码区序列分析表明, 尽管药用野生稻GBSSI和GBSSII的CDS长度非常接近, 分别为1 830 和1 827 bp, 但彼此的相似程度并不高, 二者的序列一致性在核苷酸水平为63.80%, 氨基酸水平为61.97%。进一步对这2个GBSS与其它植物的同源基因进行比较, 发现其同源对之间的一致度随物种的不同而存在差异(表2)。例如, 就蛋白质序列而言, 药用野生稻与栽培稻的籼稻亚种(*O. sativa* subsp. *indica*) GBSSI (GBSSII)直系同源对之间有98% (97%)的氨基酸一致度; 而与莱茵衣藻(*Chlamydomonas reinhardtii*)之间的一致度则下降到48% (47%)。此外, 除栽培稻外, 其它同样隶属禾本科的植物与药用野生稻的GBSS直系同源对之间也都具有较高的相似性(79%–93%)。但是, 对于非禾本科植物, 其GBSS基因与药用野生稻GBSSI或GBSSII的一致度均下降到62%–68%之间。

2.2 系统发育分析

在上述18种植物中, 我们共筛选到34条同源基因(表2), 利用这些基因和药用野生稻的2个GBSS基因的氨基酸序列, 我们构建了最大似然性(ML)系统发育关系树(图2)。该树所展示的拓扑结构和已知植物的系

统进化关系高度一致。单子叶植物和真双子叶植物首先以较高的支持率(97%和91%)并列成2个大支, 而作为被子植物基部类群的无油樟(*Amborella trichopoda*)毫无例外地位于这2大支的外围基部。在单子叶植物分支内部, 比较突出的特点是禾本科的所有植物都包含2个GBSS基因, 即GBSSI和GBSSII, 并且这2个基因的同源序列各自聚合在一起, 进一步构成2个平行的分支。其中, 值得注意的是, 芭蕉科植物*M. acuminata*的3个GBSS基因并没有分布在不同的分支, 而是单独聚在一起, 并于最后归入禾本科的GBSSI分支。此外, 在一些小的分支上, ML树也同样展示了物种之间清晰的亲缘关系。例如, 同为稻属的药用野生稻与栽培稻(*O. sativa* subsp. *japonica*和*O. sativa* subsp. *indica*)在GBSSI和GBSSII同源序列的2个分支内均呈现一致的拓扑结构, 即均是首先聚合在一起, 然后先后与其近缘的假稻属植物*Leersia perrieri*, 以及菰属植物*Zizania latifolia*聚成高支持率(98%)的递进分支, 最后与以玉米(*Zea mays*)和小麦(*Triticum aestivum*)为代表的各自小分支形成并列关系。相比单子叶植物, 真双子叶植物GBSS多为单个基因, 即使少数植物内出现多拷贝, 如雷蒙德氏棉(*Gossypium raimondii*)内出现3个GBSS, 但这3个GBSS均为物种特异, 没有进入其它物种分支, 而是单独聚合在一起。因此, 双子叶植物分支中没有出现类似禾本科GBSSI和GBSSII的并列的同源序列分支。

2.3 GBSSI和GBSSII在不同器官中的相对定量表达

通过定量PCR分析, 我们发现在光合器官叶中, 2个GBSS基因均有表达, 但GBSSII的表达量较高, 约比GBSSI高2倍, 说明在淀粉合成的第1个阶段即瞬时淀粉合成阶段, GBSSII基因比GBSSI基因发挥更为重要的作用(图3A, B)。

但是, 这种情况并没有持续, 在淀粉合成的第2个阶段即储存淀粉的合成阶段(在本研究中选取的是种子), 2个GBSS基因的表达出现两极分化, 其中GBSSI表达量上升极快, 而GBSSII的表达量却急速下降, 接近不表达。此外, 对比在叶和种子内均表达的GBSSI的相对表达量, 我们发现种子中GBSSI的表达量较叶中提高了1 221倍。因此不难发现, 在药用野生稻中, GBSS的表达存在时空分化现象, 其中,

表2 药用野生稻和其它植物的GBSS氨基酸序列一致度

Table 2 Amino acid sequence identities of GBSSs between *Oryza officinalis* and other plants

Plants	Gene (GenBank/UniProt No.)	Sequence identity (%)	
		<i>Oryza officinalis</i>	
		GBSSI	GBSSII
<i>Oryza sativa</i> subsp. <i>japonica</i>	GBSSI (XP_025882300.1)	95.22	60.35
	GBSSII (XP_015647210.1)	62.30	96.72
<i>O. sativa</i> subsp. <i>indica</i>	GBSSI (AAN77100.1)	97.87	62.30
	GBSSII (ACY56079.1)	62.46	97.04
<i>Leersia perrieri</i>	GBSSI (A0A0D9WLF6) *	93.01	62.15
	GBSSII (A0A0D9WED4) *	58.44	85.62
<i>Zizania latifolia</i>	GBSSI (ASSH01051725.1) **	90.80	62.01
	GBSSII (ASSH01023543.1) **	59.46	87.47
<i>Brachypodium distachyon</i>	GBSSI (XP_003557139.1)	79.31	61.16
	GBSSII (XP_003569238.1)	60.33	85.43
<i>Hordeum vulgare</i>	GBSSI (BAC41202.1)	81.97	60.76
	GBSSII (BAJ99426.1)	61.85	86.12
<i>Setaria italica</i>	GBSSI (AGW27658.1)	86.72	61.90
	GBSSII (XP_004956034.1)	62.40	87.34
<i>Sorghum bicolor</i>	GBSSI (XP_002436418.1)	82.52	61.90
	GBSSII (XP_002461889.1)	62.62	86.18
<i>Triticum aestivum</i>	GBSSI (XP_020146905.1)	81.37	60.36
	GBSSII (AAG27624.1)	61.79	86.09
<i>Zea mays</i>	GBSSI (NP_001105001)	82.08	62.13
	GBSSII (NP_001334833)	62.36	85.88
<i>Musa acuminata</i>	GBSS1 (KF512020.1)	66.39	65.35
	GBSS2 (KF512021.1)	67.96	63.99
	GBSS3 (KF512023.1)	63.93	62.91
<i>Arabidopsis thaliana</i>	GBSS (XP_020866584.1)	62.48	63.88
<i>Gossypium raimondii</i>	GBSS1 (XP_012474755.1)	63.89	66.01
	GBSS2 (XP_012439861.1)	63.11	66.77
	GBSS3 (XP_012486622.1)	62.75	64.01
<i>Solanum lycopersicum</i>	GBSS (NP_001311457.1)	67.05	62.03
<i>Carica papaya</i>	GBSS (XP_021900468.1)	65.91	66.45
<i>S. tuberosum</i>	GBSS (XP_006343763.1)	62.89	67.27
<i>Vitis vinifera</i>	GBSS1 (XP_010660257.1)	65.52	66.23
	GBSS2 (XP_019081062.1)	64.07	67.76
<i>Amborella trichopoda</i>	GBSS (XP_006837847.1)	62.81	66.17
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	GBSS (XP_001697117.1)	47.79	47.05

* 从UniProt库获取的氨基酸序列; ** 括号内的样品号代表包含GBSS基因序列的scaffold的GenBank号。

* Amino acid sequence was obtained from UniProt; ** The accession number in parentheses represents the GenBank number of a scaffold that contain GBSS gene.

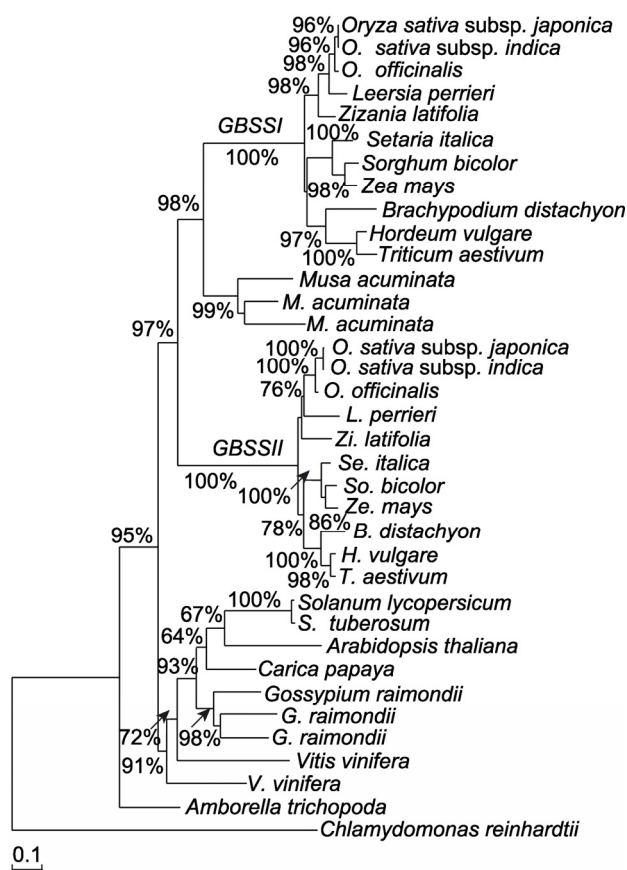


图2 利用氨基酸序列构建的淀粉合酶的最大似然性系统发育树
分支旁的数字代表自展支持率。

Figure 2 A maximum likelihood phylogenetic tree of the GBSS based on amino acid sequences
Numbers near branches indicate bootstrap value.

GBSSII在叶中优势表达, 而GBSSI在种子中高效表达(图3C, D), 这可能与淀粉合成的第2个阶段, 即种子胚乳中营养快速累积有关。

2.4 讨论

淀粉合酶GBSS是直链淀粉合成中最为关键的酶, 在药用野生稻中, 我们共鉴定出2个控制直链淀粉合成的基因(GBSSI和GBSSII)。作为旁系同源基因, 这2个基因彼此之间并不十分相似, 其CDS序列存在36.2%的核苷酸差异。但是, 对于物种间的GBSS直系同源基因, 其相似性却与选取的物种密切相关, 其亲缘关系较近的物种相似性较高(表2)。非常有意思的是, 似乎仅在禾本科内发现同时拥有2个旁系同源

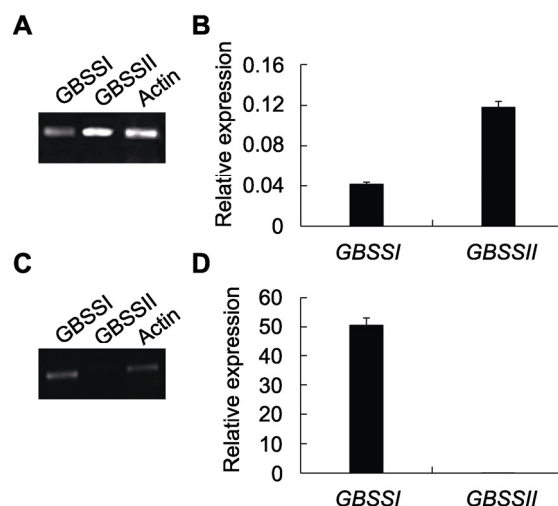


图3 GBSSI和GBSSII在药用野生稻叶和种子中的相对表达
(A), (B) GBSS基因在叶中的RT-PCR和qRT-PCR扩增结果;
(C), (D) GBSS基因在种子中的RT-PCR和qRT-PCR扩增结果。

Figure 3 Relative expression of GBSSI and GBSSII in leaves and seeds of *Oryza officinalis*
(A), (B) Amplification results of RT-PCR and qRT-PCR for GBSS genes in leaves; (C), (D) Amplification results of RT-PCR and qRT-PCR for GBSS genes in seeds.

GBSS基因I和II的情况。最近, 基于20种陆生植物和2种藻类植物的基因组数据, 王倩等(2017)分析了GBSS基因家族的构成, 结果与我们目前的发现一致, 即所选的所有禾本科植物, 无一例外地同时具有2个GBSS拷贝。我们的序列一致度分析进一步表明, 只有禾本科内的直系同源基因之间的一致度能达到80%以上; 而非禾本科植物, 即使同时包括2个以上的拷贝, 它们的GBSS与禾本科内的2个基因的相似度也差异不大(均为60%以上)。这种情况一方面表明GBSS基因在植物中的高度保守性; 另一方面也表明非禾本科植物的GBSS基因, 无论拷贝数目多少, 基本上都属于同一类型。Cheng等(2012)根据比较系统的进化分析推断, 被子植物中的GBSS基因大约在2 510万年前发生了重复, 并由此产生了GBSSI和GBSSII两类基因, 但在后续的进化中, GBSSI仅在单子叶植物中被保留下来。因此暗示目前双子叶植物中的GBSS均为原始的GBSSII谱系直接保留或继续复制形成。

从基因表达水平来看, 目前的研究表明, 药用野生稻GBSSI与GBSSII在叶和种子中具有非常不一致的表达模式。在叶中, GBSSII占据表达优势, 但在种子中, GBSSI出现强势表达。这种表达方式与栽培稻

中2个同源基因的表达方式非常类似,但在栽培稻中,*GBSSI*完全在种子中特异表达(Ohdan et al., 2005)。这说明相比野生稻,栽培稻*GBSSI*和*GBSSII*基因表达的时空特异性更为明显,功能的亚分化更加彻底。本研究中,2个*GBSS*基因在淀粉合成不同阶段的差异表达显示,至少从野生稻开始出现了稻属*GBSSI*和*GBSSII*的功能亚分化现象。这种亚分化不仅体现在同一基因在不同淀粉合成阶段的不同表达水平(如*GBSSII*的有和无的差异)上,也体现在不同*GBSS*基因在同一器官中的表达差异(图3)。

当然,已有研究表明,*GBSSI*和*GBSSII*分化表达的现象不仅局限于稻属。例如,Vrinten和Nakamura (2000)的研究证明,小麦*GBSSI*在胚乳中高表达,而*GBSSII*仅在叶、秆和果皮中表达。但是,在非禾本科植物中,*GBSS*基因却承担了禾本科植物中2类*GBSS*的全部功能。例如,在马铃薯(*Solanum tuberosum*)中,*GBSS*基因是单拷贝,它在植物光合和储藏器官均有表达,但在块茎中的表达水平明显高于叶(Van Harsselaar et al., 2017)。结合前人基于全基因组的搜索和系统发育分析(Cheng et al., 2012; 王倩等, 2017),以及本研究结果,即*GBSSI*只出现在禾本科植物中,我们推测禾本科植物的*GBSS*基因之所以发生功能亚分化,由*GBSSI*取代*GBSS*在双子叶植物内全效表达的部分功能,成为存储器官特异基因,可能与其为适应淀粉在胚乳中的大量积累所产生的谱系特异进化密切相关。更多有关淀粉代谢途径在禾本科植物进化中作用的详细研究将有助于进一步阐明这种功能分化的意义。

致谢 感谢国际水稻研究所(International Rice Research Institute, IRRI)提供药用野生稻种子样品。

参考文献

- 包颖, 杜家潇, 景翔, 徐思 (2015). 药用野生稻叶中淀粉合成酶基因家族的序列分化和特异表达. 植物学报 **50**, 683–690.
- 陈凤花, 王琳, 胡丽华 (2005). 实时荧光定量RT-PCR内参基因的选择. 临床检验杂志 **23**, 393–395.
- 顾燕娟 (2006). 支链淀粉合成相关基因等位基因间的差异对稻米淀粉理化特性的影响. 硕士论文. 扬州: 扬州大学. pp. 3–8.
- 王倩, 孙文静, 包颖 (2017). 植物颗粒结合淀粉合酶*GBSS*基因家族的进化. 植物学报 **52**, 179–187.
- 杨学明 (2003). 几个重复序列在不同稻种中的分布及其与稻种分化关系的研究. 硕士论文. 扬州: 扬州大学. pp. 6–10.
- 张鹏 (2008). 抑制淀粉分支酶类基因表达对稻米品质影响的研究. 硕士论文. 扬州: 扬州大学. pp. 3–8.
- Bao Y, Xu S, Jing X, Meng L, Qin ZY (2015). *De novo* assembly and characterization of *Oryza officinalis* leaf transcriptome by using RNA-seq. *Biomed Res Int* **2015**, 982065.
- Cheng J, Khan MA, Qiu WM, Li J, Zhou H, Zhang Q, Guo WW, Zhu TT, Peng JH, Sun FJ, Li SH, Korban SS, Han YP (2012). Diversification of genes encoding granulebound starch synthase in monocots and dicots is marked by multiple genome-wide duplication events. *PLoS One* **7**, e30088.
- Dian WM, Jiang HW, Wu P (2005). Evolution and expression analysis of starch synthase III and IV in rice. *J Exp Bot* **56**, 623–632.
- Gouy M, Guindon S, Gascuel O (2010). SeaView version 4: a multiplatform graphical user interface for sequence alignment and phylogenetic tree building. *Mol Biol Evol* **27**, 221–224.
- Guindon S, Gascuel O (2003). A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. *Syst Biol* **52**, 696–704.
- Ohdan T, Francisco Jr PB, Sawada T, Hirose T, Terao T, Satoh H, Nakamura Y (2005). Expression profiling of genes involved in starch synthesis in sink and source organs of rice. *J Exp Bot* **56**, 3229–3244.
- Shure M, Wessler S, Fedoroff N (1983). Molecular identification and isolation of the waxy locus in maize. *Cell* **35**, 225–233.
- Van Harsselaar JK, Lorenz J, Senning M, Sonnewald U, Sonnewald S (2017). Genome-wide analysis of starch metabolism genes in potato (*Solanum tuberosum* L.). *BMC Genomics* **18**, 37.
- Vrinten PL, Nakamura T (2000). Wheat granule-bound starch synthase I and II are encoded by separate genes that are expressed in different tissues. *Plant Physiol* **122**, 255–264.
- Wang ZY, Wu ZL, Xing YY, Zheng FG, Guo XL, Zhang WG, Hong MM (1990). Nucleotide sequence of rice waxy gene. *Nucleic Acids Res* **18**, 5898.

Phylogeny and Tissue-specific Expression of the GBSS Genes in *Oryza officinalis*

Xia Zhang¹, Xiang Jing¹, Guangcai Zhou², Ying Bao^{1*}

¹School of Life Sciences, Qufu Normal University, Qufu 273165, China; ²Lin Zi No.2 Middle School of Zibo, Zibo 255400, China

Abstract Starch is a main kind of carbohydrates and plays a vital role in energy storage. The granule-bound starch synthase (GBSS) is responsible for the synthesis of amylose. Although GBSS genes have been cloned and identified in many cultivated plants, there are only a few cases of studies on non-cultivated plants. The present study involved qualitative and quantitative analyses on the sequence characteristics, phylogeny, and expression pattern of GBSS genes in *Oryza officinalis*. Phylogenetic analysis showed that the GBSS was encoded by two GBSS genes (GBSSI and GBSSII) in all species of Poaceae. In *O. officinalis*, the two genes shared 62% amino acid identity and displayed different expression patterns in different organs. GBSSII expression was higher in leaves than seeds, whereas GBSSI was mainly expressed in seeds, which suggests divergent spatial expression of the two genes in this wild rice.

Key words *Oryza officinalis*, granule-bound starch synthase, sequence identity, expression divergence, leaf, seed

Zhang X, Jing X, Zhou GC, Bao Y (2019). Phylogeny and tissue-specific expression of the GBSS genes in *Oryza officinalis*. *Chin Bull Bot* **54**, 343–349.

* Author for correspondence. E-mail: baoyingus@126.com

(责任编辑: 朱亚娜)