

# 植物肌醇半乳糖苷合酶的生理功能和调控机制

从青, 程龙军\*, 杨宁

(浙江农林大学 亚热带森林培育国家重点实验室, 杭州 311300)

**摘要** 植物肌醇半乳糖苷合酶(galactinol synthase, GalS)是高等植物棉子糖类寡糖合成途径中的关键酶,为棉子糖系列寡糖提供活化的半乳糖基,调控植物体内棉子糖(raffinose, RFO)系列寡糖的生物合成与积累。编码该酶的基因属于糖基转移酶(glycosyltransferases, GTs)GT8基因家族的亚家族。GalS参与合成的最终产物棉子糖家族低聚糖(raffinose family oligosaccharides, RFOs)是植物中重要的碳水化合物存在形式,在细胞内可溶性强,可作为脱水保护剂;还能发挥稳定膜结构的作用。同时, GalS催化合成的直接产物肌醇半乳糖苷(galactinol)和RFOs都能作为羟基自由基捕获分子参与活性氧的清除。因此, GalS参与的代谢途径在植物碳同化物的贮存与运输、生物和非生物逆境响应、种子的脱水效应等生命过程中均发挥了重要作用。GalS基因结构差异与表达模式不同,导致不同GalS基因参与的生物学功能具有很大的差异。研究植物中不同GalS基因的结构特征,组织特异性表达特性及它们响应不同生长发育阶段、环境变化的表达特性,对了解GalS参与的生物学功能具有重要意义。同时,在分子生物学水平上,深入了解调控植物GalS基因的分子调控机制,为通过遗传工程或分子辅助育种等手段,利用GalS改良农林作物的经济性状提供理论支持。本文针对近年来植物中GalS基因的生理功能和调控机制的研究进行了综述。

**关键词** 肌醇半乳糖苷; 棉子糖; 肌醇半乳糖苷合酶

**中图分类号** Q50

## Physiological Function and Regulation Mechanism of Galactinol Synthase in Plants

CONG Qing, CHENG Long-Jun\*, YANG Ning

(State Key Laboratory of Subtropical Silviculture, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, China)

**Abstract** Plant galactinol synthase (GalS) is the key enzyme in the synthesis of raffinose (RFO) oligosaccharides biosynthesis pathway by providing activated galactosyl groups for RFO oligosaccharides in higher plants. Genes encoding GalS protein belongs to the subfamily of glycosyltransferases 8 (GT8) gene family. RFOs, the final product of biosynthesis pathway in which GalS were involved, is an important form of carbohydrates in high plants. They are characterized as compatible solutes, assisting in osmotic adjustments as well as in membrane stabilization. Galactinol, the direct product GalS catalyze, and raffinose can scavenge hydroxyl radicals to contact the accumulation of reactive oxygen species (ROS) under stress conditions. Therefore, GalS play important roles in transport and storage of carbon, response to biotic and abiotic stress conditions and desiccation effects during seed maturation. Gene structure and

收稿日期: 2019-05-20; 修回日期: 2019-06-13; 接受日期: 2019-06-14

浙江省科技厅林木新品种选育重大科技专项(No. 2016C02056-9); 国家自然科学基金项目(No. 31270657)

\* 通讯作者 Tel: 13065711960; E-mail: ljcheng@zju.edu.cn

Received: May 20, 2019; Revised: June 13, 2019; Accepted: June 14, 2019

Supported by Key Project for Science and Technology Grant of Zhejiang Province (No. 2016C02056-9); National Natural Science Foundation of China (No. 31270657)

\* Corresponding author 13065711960; E-mail: ljcheng@zju.edu.cn

expression pattern of different *GolS* results in large different function for them. However, it is very important to characterize structure of *GolS* and their expression patterns in different tissues and to various environments. And, to elucidate molecular regulation mechanisms of different *GolS* also can provide theoretical support for the application of *GolS* to improve the economic traits of crops through genetic engineering or molecular-assisted breeding. In this paper, the physiological function and regulation mechanism of *GolS* gene in plants in recent years were reviewed.

**Key words** galactinol; raffinose; galactinol synthase(*GolS*)

植物中可溶性糖类物质的生物合成对植物生长、发育以及环境适应性有重要意义,尤其是当植物面对低温、干旱和高盐等逆境胁迫时,细胞中葡萄糖(glucose)、蔗糖(sucrose)、棉子糖系列寡糖(raffinose family oligosaccharides, RFOs)等可溶性糖的生物合成和含量增加,可以增强植物细胞的渗透调节能力,提高植物对逆境胁迫的耐受能力<sup>[1]</sup>。

RFOs 是存在于开花植物中一类重要的可溶性糖,具有广泛的生物学功能。棉子糖类寡糖主要由 3 种寡糖组成:棉子糖(raffinose)、水苏糖(stachyose)和毛蕊花糖(verbascose)。RFOs 具有多重生物学功能,能在种子成熟的脱水过程中保护胚芽的活性,并在种子发芽过程中提供能量和碳骨架<sup>[2]</sup>;在众多植物中,它们还是碳贮存和运输的主要形式,在蔗糖和 RFOs 之间的碳分配中发挥关键的调节作用<sup>[3]</sup>;RFOs 底物肌醇半乳糖苷能通过水杨酸依赖途径,诱导病程相关蛋白质 PR1a 的表达,而肌醇半乳糖苷合酶(galactinol synthase, *GolS*)和棉子糖合酶(raffinose synthase, *RafS*)基因启动子上大多含有 W-box 顺式作用元件,受到由脱落酸(abscisic acid, ABA)诱导的 WRKY 转录因子的调控,暗示 RFOs 代谢相关产物可能参与了植物的信号转导作用<sup>[4, 5]</sup>。同时, RFOs 在植物非生物逆境响应中同样发挥了非常重要的作用。研究表明,植物遭受干旱胁迫时, RFOs 大量积累,作为渗透调节物质增加细胞的保水能力<sup>[6, 7]</sup>。它们还作为冷冻保护物质在植物遭受低温逆境时,稳定细胞膜的结构<sup>[8]</sup>。在氧化胁迫下,协助自由基的清除<sup>[9]</sup>。

RFOs 均由肌醇半乳糖苷提供半乳糖供体,衍生蔗糖而形成。而肌醇半乳糖苷作为 RFOs 合成的共同底物,由肌醇半乳糖苷合酶催化肌醇和 UDP-半乳糖而形成,是 RFOs 生物合成中最关键的一个酶, *GolS* 的功能直接影响 RFOs 在植物生长发育和环境适应性方面作用的发挥。同时,其直接产物肌醇半乳糖苷也有重要的生物学功能。因此,近年来对 *GolS* 基因在植物中功能的研究越来越受到重视。本文即针对近年来 *GolS* 基因家族成员在植物中的

功能研究进行了综述。

## 1 肌醇半乳糖苷合酶基因家族分类及基因结构

*GolS* 基因家族在分类上属于糖基转移酶(glycosyltransferases, GTs) GT8 基因家族。该基因家族成员众多, Yin 等<sup>[10]</sup>针对植物、真菌和细菌等中的 918 个 GT8 家族成员的蛋白质序列进行聚类分析,将其分为 3 大类,植物中 GT8 成员主要分布在 I, II 类中,包括 GAUT(galacturonosyl transferase)、GATL(galacturonosyl transferase-like)、GATR(GATL-related)、*GolS*(galactinol synthase)和植物糖原样淀粉起始蛋白(plant glycogenin-like starch initiation proteins, PGSIP) 5 个亚家族。其中, GAUT、GATL 和 GATR 主要负责果胶和木聚糖的生物合成,参与细胞壁的构建过程<sup>[11]</sup>; PGSIP 为植物类糖原淀粉合成起始蛋白,参与淀粉生物合成的启动<sup>[12]</sup>; *GolS* 则为棉子糖系列寡糖合成的关键酶,能参与植物的非生物胁迫响应<sup>[13]</sup>。

GT8 基因家族有典型的 GT8 糖基转移酶结构域,但其不同的亚家族成员编码蛋白质序列均具有自己的特征性基序。*GolS* 除了含有 GT8 家族经典的结构基序 DxD 和 HxxGxxKPW 外,还有其特有的保守基序:YNLFAEQDFLNM、YFNAGMFVFEP 和 KLRIWEFVEY<sup>[10]</sup>。

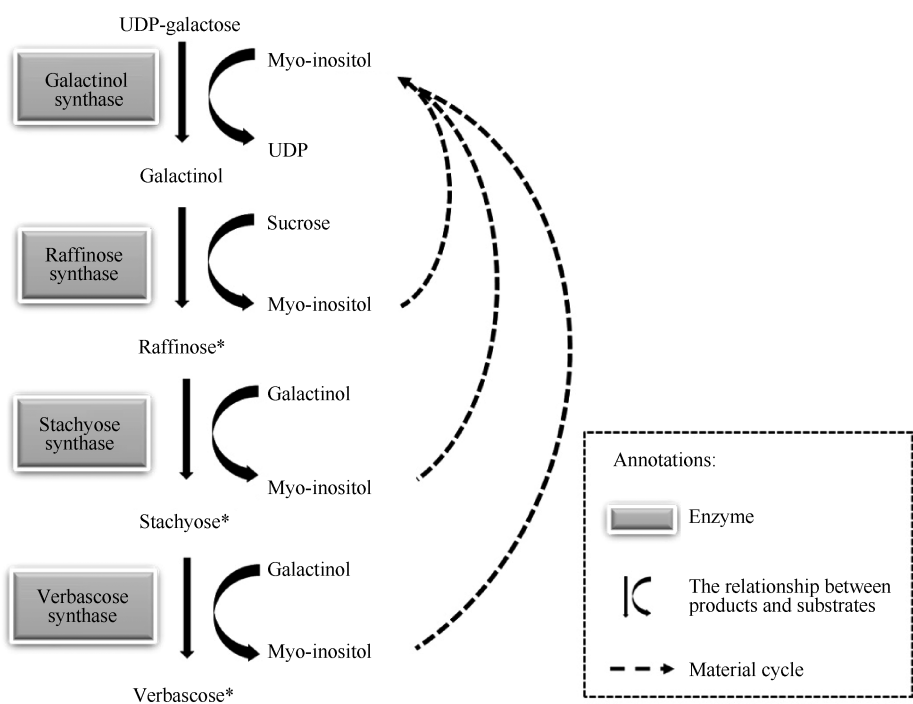
## 2 肌醇半乳糖苷合酶与棉子糖系列寡糖生物合成

肌醇半乳糖苷合酶(*GolS*)最早是由研究人员从豌豆种子中发现,能够催化 UDP-半乳糖和肌醇形成肌醇半乳糖苷,是催化 UDP-半乳糖和肌醇形成肌醇半乳糖苷(galactopyranosyl-L-myo-inositol)的关键调节酶,为棉子糖系列寡糖(RFOs)提供活化的半乳糖基,调控植物体内棉子糖系列寡糖的积累<sup>[14]</sup>。

肌醇半乳糖苷合酶是催化 RFOs 生物合成的第一步,棉子糖系列寡糖就是利用肌醇半乳糖苷提供的半乳糖基合成一系列不同的寡糖<sup>[3]</sup>。RFOs 合成

过程可分为肌醇( Myo-inositol )的生成、蔗糖合成以及半乳糖基转移三个步骤。半乳糖苷肌醇为半乳糖基的供体,为 RFOs 的合成提供半乳糖基团;蔗糖是 RFOs 的母体,其 6 号位的羟基为半乳糖基的受体,接下来的半乳糖基依次堆叠在 6 号羟基位上;而提供活化半乳糖基的肌醇半乳糖苷是通过肌醇半乳糖苷合酶完成的。肌醇半乳糖苷合酶是催化合成 RFOs 的关键步骤。如 Fig.1 所示,半乳糖苷肌醇作

为半乳糖的供体,由肌醇半乳糖苷合酶催化 UDP-半乳糖( UDP-gal )和肌醇反应生成,半乳糖基通过棉子糖合酶催化转移到蔗糖上形成棉子糖。半乳糖基通过水苏糖合酶催化转移到棉子糖上形成水苏糖。半乳糖基又通过毛蕊花糖合酶催化转移到水苏糖上形成毛蕊花糖。棉子糖系列寡糖的合成就是半乳糖链由多种棉子糖寡糖合酶作用,进一步延伸的过程<sup>[15]</sup>。



**Fig.1 Biosynthetic pathway of RFOs in plants** \* means raffinose family oligosaccharides, and it consists mainly of Raffinose, Stachyose and Verbascose. They are all synthesized by the addition of one to three galactosyl groups to a molecule of sucrose. Activated galactosyl determines molecular number of RFOs, which is supplied by galactinol. Thus, galactinol synthase that synthesizes galactinol becomes the key rate-limiting enzyme in this process

GolS 只存在于开花的植物中,在 RFOs 系列寡糖的生物合成中发挥重要作用<sup>[13]</sup>。不同植物中的 GolS 家族成员数目差异较大。如杨树中共有 10 个 GolS 基因<sup>[16]</sup>,拟南芥中有 7 个<sup>[17]</sup>,丹参中有 3 个<sup>[18]</sup>,葡萄中有 4 个<sup>[19]</sup>,水稻中有 2 个<sup>[20]</sup>,油菜 (*Brassica napus*) 和烟草 (*Nicotiana tabacum*) 中分别是 20 个和 9 个<sup>[21]</sup>。而不同成员编码的 GolS 同源异构体通常具有不同的组织及时空表达特异性,提示不同 GolS 基因成员可能发挥不同的功能。

匍匐筋骨草 (*Ajuga reptans*) 含有 2 个 GolS 基因: GolS1 和 GolS2,分别在叶片的不同部位表达, GolS1 在叶肉细胞中表达, GolS2 在韧皮部的伴胞中表达。进一步的研究表明, GolS1 主要负责 RFOs 的生物合成和贮存,而 GolS2 则主要参与 RFOs 的韧皮部装载

过程,负责 RFOs 的长程运输<sup>[22]</sup>;番茄 (*Lycopersicon esculentum*) 中的 *LeGolS1* 在种子中特异表达,与种子成熟过程中的脱水耐受性密切相关<sup>[23]</sup>;小粒咖啡 (*Coffea arabica*) 中的 3 个 GolS 同样存在组织表达特异性, *CaGolS1* 为叶片特异型表达基因,在其他组织中均不表达, *CaGolS2* 主要在胚乳和叶片中表达,但表达强度远低于 *CaGolS1*, *CaGols3* 则在花和根中表达量相对较高,在侧芽、叶片和胚乳中也有较低的表达量<sup>[24]</sup>。而棉花中的 *GhGolS* 主要在叶片、花药和棉花纤维中表达,且定位在细胞膜上<sup>[25]</sup>,暗示该基因在棉花育性,纤维品质等发育过程中具有重要作用。杂交杨 (*Populus alba* × *grandidentata*) 中 *Pa* × *gGolSII* 的表达甚至体现出季节性,以及昼夜节奏调控的变化<sup>[26]</sup>。兵豆 (*Lens culinaris*) 中的 *LcGolS2* 在



开花后 24 d 即达到最大表达水平,此时种子尚未进入干燥脱水状态,随后 *LcGolS1* 开始被诱导积累,显示种子的脱水干燥过程与 *LcGolS1* 有关<sup>[27]</sup>。而板栗中的 *CsGolS1* 的表达则与冬季休眠的诱导过程平行,暗示其与植株的休眠调控机制密切相关<sup>[28]</sup>。*GolS* 参与合成的肌醇半乳糖苷和棉子糖在植物中具有广泛的功能,这种 *GolS* 基因成员组织和时空表达特异性的差异,可能是为了满足这种功能的多样性而在进化中逐渐形成的。

### 3 肌醇半乳糖苷合酶的生物学功能

作为棉子糖类生物合成的关键酶,*GolS* 在植物中所发挥的功能越来越受到关注。研究发现,它们广泛参与植物的生物学功能,在非生物及生物逆境响应、碳的贮存和运输、种子成熟和萌发以及激素信号转导等植物生命过程中都扮演着极为重要的角色。

#### 3.1 肌醇半乳糖苷合酶在植物非生物逆境响应中的作用

尽管 RFOs 在植物中的生理重要性仍不是很清楚,但其在细胞内可溶性强,可作为脱水保护剂;还能够插入磷脂双分子层发挥稳定膜结构的作用<sup>[29]</sup>。同时,RFOs 生物合成的底物肌醇半乳糖苷和 RFOs 都可能作为自由基捕获分子参与羟基自由基的清除<sup>[9]</sup>。这些都显示,RFOs 在植物非生物逆境耐受方面发挥了重要的作用。因此,作为 RFOs 合成关键酶的 *GolS*,在非生物逆境响应方面的研究越来越受到重视。

**3.1.1 肌醇半乳糖苷合酶与非生物逆境胁迫** 研究表明,*GolS* 广泛参与植物的干旱、高盐、高温和低温等非生物逆境胁迫响应。在拟南芥中,*AtGolS1* 和 *AtGolS2* 受干旱和高温诱导,*AtGolS3* 在低温诱导下转录水平增加<sup>[30]</sup>。*AtGolS2* 在拟南芥中超表达可以通过增加植物体内肌醇半乳糖苷和棉子糖的含量,提高植株对干旱的耐性<sup>[30]</sup>。同时,在水稻中组成型表达 *AtGolS2*,可在干旱条件下提高转基因植株的穗数和产量<sup>[31]</sup>。叶片中 *GmGolS* 表达量的提高,还能增加肌醇半乳糖苷含量,使植株抵抗盐能力大大增强<sup>[32]</sup>。将牛耳草的 *BhGolS1* 转入烟草后,也能提高转基因烟草的抗旱能力<sup>[33]</sup>。丹参中的 *SmGolS1* 和 *SmGolS2* 基因表达受高温的诱导<sup>[18]</sup>,沙冬青的 *AmGolS* 基因能够被低温、干旱、盐胁迫等所诱导,向红叶石楠中转入 *AmGolS* 基因,转基因植株抗寒能力明显提高。除此之外,在番茄叶片和匍匐筋骨草

中,低温会促进 *GOLS* 转录水平提高<sup>[22, 23, 34]</sup>,小粒咖啡中 *CaColS1* 和 *CaColS2* 在盐胁迫下转录水平升高<sup>[24]</sup>。将盐芥的 *TsGolS2* 基因转入拟南芥植株中,能够提高植株耐盐性<sup>[35]</sup>。杨树中,不同的 *GolS* 也响应干旱、高盐等不同的非生物逆境<sup>[36]</sup>。这些研究都表明,*GolS* 基因在植物的非生物逆境响应中发挥了非常重要的功能,甚至有可能成为改善作物等抗逆性状的重要分子工具。

除了参与低温、干旱、高盐 and 高温等非生物逆境响应外,研究还发现,*GolS* 参与合成的肌醇半乳糖苷和棉子糖类寡糖还参与了植物的抗氧化胁迫。它们能捕获羟基自由基而清除活性氧,保护细胞质膜<sup>[9]</sup>。用甲基紫精(methyl viologen, MV)处理拟南芥发现,*AtGolS* 基因的表达量升高,过表达 *AtGolS1* 或 *AtGolS2* 的植株内,RFOs 的积累水平提高,植株适应氧化胁迫的能力增强,植株氧化损伤相对于对照大大降低<sup>[9]</sup>。鹰嘴豆在氧化应激下,*CaGolS1*, *CaGolS2* 表达量升高,肌醇半乳糖苷和棉子糖含量增加。研究证明,它们具有清除羟基自由基,限制自由基引起的脂质氧化的能力,进而使得 *CaGolS* 转基因株能够抵抗非生物逆境因子造成的氧化胁迫,提高植物的非生物逆境适应能力<sup>[1, 17]</sup>。

近年来的研究还发现,*GolS* 可能在植物重金属胁迫响应中也发挥了作用。小麦中 *TaGolS3* 可以被高浓度的  $\text{ZnCl}_2$  和  $\text{CuCl}_2$  等诱导表达。同时,拟南芥中过表达 *TaGolS3* 的植株,其 ROS 清除能力、抗氧化酶活性和脯氨酸含量都得到提高,而丙二醛(MDA)含量降低。提示该基因在植物对重金属胁迫的耐受反应中发挥了积极的作用<sup>[37]</sup>。

**3.1.2 非生物逆境胁迫下肌醇半乳糖苷合酶基因的分子调控机制** 作为直接参与植物代谢作用的酶基因,其分子调控机制研究主要集中在其上游调控分子方面。研究发现,不同的非生物逆境响应过程中,存在不同的转录因子对 *GolS* 的调控作用。对葡萄中 *VvGolS1* 进行分析,发现 *VvHsfA2* 热激响应因子能结合在其启动子上,受高温条件诱导激活 *VvGolS1* 的表达,从而提高半乳糖苷肌醇含量来响应高温胁迫以使植株抵抗高温<sup>[19]</sup>。在拟南芥中,*AtGolS1* 也受热激转录因子 *AtHSF3* 调控<sup>[38]</sup>。进一步研究还发现,拟南芥中的 *AtGolS1*、*AtGolS2* 和玉米的 *ZmGolS2* 启动子上都含有与热激因子结合的顺式作用元件 HSE。其中,*Hsf3A* 介导了拟南芥对氧化逆境胁迫的耐受性<sup>[39]</sup>。但 *ZmGolS2* 在干旱、热激和高盐等胁迫下,除了受热激因子的调控外,还受

ZmDREB2A 的调控<sup>[40]</sup>。*AtGolS3* 在低温诱导下,受 DREB1A/CBF3 调控,提高转录水平<sup>[30]</sup>。拟南芥中,超表达 *DREB1A* 能够诱导 *AtGolSs* 的表达,这些都说明 *DREB* 类基因可能参与了 *GolS* 的调控<sup>[41]</sup>。而水稻中的 *OsGolS1* 在低温下的表达调控则与 CBF 无关,其受 *OsMyb4* 的诱导<sup>[20]</sup>。

*GolS* 启动子上除了含有热激响应元件 HSE、脱水响应元件 DRE/CRT 和低温响应元件 LTR 等,还发现有大量的脱落酸响应元件 ABRE,提示 ABA 可能也参与了 *GolS* 的表达调控<sup>[39, 42]</sup>。玉米种子中,参与棉子糖积累的 *ZmGolS2* 就是由 2 个 ABA 响应蛋白 ZmABI5 和 ZmVP1 通过互作来完成调控过程的,暗示 ABA 在该基因的调控过程中发挥了重要作用<sup>[43]</sup>。旋蒴苣苔里的 *BhGolS1* 基因在其启动子中含有 w-box 顺式元件,ABA 诱导的 WRKY 转录因子,可以作用于这些顺式作用元件实现植株对氧化应激的反应,这同样表明 *GolS* 基因在某些非生物逆境响应中可能作为 ABA 信号的下游调控因子来发挥作用<sup>[44]</sup>。另有证据表明,葡萄中的乙烯响应因子 VaERF092 可能通过对 WRKY 转录因子的调控,进而影响 *GolS* 基因的表达,说明乙烯可能也参与了 *GolS* 的调控<sup>[45]</sup>。

此外,另有证据表明,在非生物逆境胁迫下,*GolSs* 基因可以通过内含子保留的转录后调控方式,改变基因的表达模式,实现对非生物逆境因子的响应<sup>[46]</sup>,这提示了 *GolS* 基因表达调控的复杂性。

### 3.2 肌醇半乳糖苷合酶在植物生物逆境响应中的作用

*GolS* 不仅参与植物的非生物胁迫,在生物胁迫响应中也发挥重要的作用。在黄瓜 (*Cucumis sativus*) 中,绿色假单胞菌 (*Pseudomonas chlororaphis*) O6 介导的植物诱导性系统性抗性 (Induced systemic resistance, ISR) 与 *CsGolS1* 的产物肌醇半乳糖苷密切相关。黄瓜褐斑病菌 (*Corynespora cassicola*) 侵染发生时的前几个小时, O6 处理的植株相对于对照,能够诱导叶片中 *CsGolS1* 的表达和肌醇半乳糖苷的含量的积累。烟草中,过表达 *CsGolS1* 在增加转基因植株体内肌醇半乳糖苷含量的同时,增强了其对灰霉菌 (*Botrytis cinerea*) 和软腐欧文氏菌 (*Erwinia carotovora*) 的组成型抗性。外源施加肌醇半乳糖苷能够诱导植物防御相关基因,如 *PR1a*, *PR1b* 和 *NtACS1* 基因的表达,并提高了植株病原体感染的抗性<sup>[47]</sup>。进一步的研究表明,这种 *GolS* 响应 O6 介导的 ISR 通过茉莉酸 (Jasmonate, JA) 依赖型的分子调

控途径来实现<sup>[48]</sup>。在杨树中,超表达 *AtGolS3* 时,由于体内活性氧水平的抑制作用,降低了对叶锈病的抵抗能力<sup>[31]</sup>。茶树 (*Camellia sinensis*) 和杨树 (*Populus trichocarpa* × *deltoides*) 中的 *GolS* 还被证明能响应害虫的攻击<sup>[49, 50]</sup>。尽管对 *GolS* 参与生物胁迫的研究还不多,但上述例子仍然证明, *GolS* 有可能在生物胁迫响应中也扮演了重要的角色,其具体机制值得进一步深入研究。

### 3.3 *GolS* 在种子脱水和萌发中的作用

大多数植物的种子在成熟过程中,必需经过一个水分含量下降的过程。因此,种子的脱水耐受性 (desiccation tolerance, DT) 对种子活力的保存具有重要作用<sup>[51]</sup>。RFOs 被认为在种子脱水耐受过程中发挥了重要作用<sup>[52]</sup>。而 RFOs 在种子脱水过程中作用的发挥依赖于 *GolS* 的表达。油菜 (*Brassica napus*) 种子脱水期间,棉子糖和水苏糖的含量相应增加。同时, *BnGolS-1* 基因表达与成熟油菜种子脱水过程相一致,暗示由 *BnGolS-1* 控制的棉子糖类寡糖在种子脱水中发挥了重要作用<sup>[53]</sup>。另外,在调查拟南芥和卷心菜肌醇提取物含量与种子耐贮性之间关系时,发现 *GolS* 的直接产物肌醇半乳糖苷与种子寿命存在正相关。进一步调查拟南芥 *gols2* 和 *gols1*、*gols2* 双突变株,结果表明,突变体种子中肌醇半乳糖苷下降的同时,导致种子活力和寿命下降。成熟种子中肌醇半乳糖苷甚至能作为反映十字花科植物种子寿命的标志物<sup>[54]</sup>。这表明,肌醇半乳糖苷和 RFOs 一样,也可以作为渗透保护剂,在种子脱水过程中发挥对种子胚芽的保护作用。鹰嘴豆 (*Cicer arietinum*) 中的 *CaGolS1* 和 *CaGolS2* 在拟南芥种子中过表达,可以通过脂质过氧化作用,限制种子老化产生的活性氧来改善种子的活力和寿命<sup>[55]</sup>。这从另一个角度说明, *GolS* 在种子脱水过程中发挥的作用是多方面的。 *GolS* 还参与了种子的萌发过程。研究发现,当条件有利于种子萌发时, *AtGolS1* 的表达被抑制,而且突变体 *atgols1* 和 *AtGolS1* 干扰转基因株系的种子发芽率更快。这些都表明, *AtGolS1* 在种子萌发中发挥了负调节作用<sup>[56]</sup>。但在拟南芥中,过表达盐芥 (*Thellungiella salsuginea*) 的 *TsGolS2*,却能提高转基因植株在盐胁迫和渗透胁迫下的发芽率<sup>[57]</sup>。除此之外,在拟南芥中超表达 *ZmGolS2* 可以提高种子活力<sup>[58]</sup>。这表明,在植物种子萌发过程中,不同的 *GolS* 发挥的功能也有非常大的差异。

尽管目前越来越多的研究认为, *GolS* 在种子脱水和萌发过程发挥了重要作用,但也有例外表明,在

某些植物中, GolS 对种子发育过程似乎并没那么重要。例如, 对 7 个豌豆 (*Pisum sativum*) 生态型的研究均发现, 在种子发育过程中, GolS 活性与 RFOs 的含量未见明显的关系<sup>[59]</sup>。在番茄种子的发育和萌发中, GolS 转录本的水平与棉子糖的含量相关性也非常小<sup>[60]</sup>。因此, 对 GolS 在种子发育和萌发过程中的功能仍需要做进一步的研究予以明确。

3.4 GolS 在其他方面的功能

植物为了更好地完成自己的生长和发育, 需要对叶片中的光合同化产物进行贮存、运输和分配。除了淀粉、多元醇类在这个过程中担任重要角色之外, 棉子糖类寡糖也发挥了重要作用<sup>[61]</sup>。因此, 作为棉子糖类寡糖合成的关键酶, GolS 也参与了植物体内碳同化产物的贮存、运输和分配过程。有研究表明, 在植物叶片中有 2 个 RFOs 库, 1 个是位于叶肉细胞的贮存库, 1 个是位于伴胞中的运输库。这 2 个库的形成和作用的发挥是由不同 *GolS* 基因组织特异性表达所决定的。匍匐筋骨草中, *GolS1* 在叶肉细胞中表达, 参与 RFOs 的合成, 使 RFOs 进行贮存; 而 *GolS2* 则主要在韧皮部间细胞中表达, 负责 RFOs 的装载和运输<sup>[62]</sup>。甜瓜中, *CmGAS1* 启动子结合的 *GUS* 基因在拟南芥和烟草叶片中, 主要在小的叶脉中进行表达, 与其在甜瓜中发挥的 RFOs 韧皮部的装载和运输功能是一致的<sup>[63]</sup>。而且 GolS 参与糖的贮存和运输还与低温有密切的关系<sup>[64]</sup>。同时, GolS 参与的糖贮存和分配甚至可以改变次生细胞壁的成分和结构, 可能在木本植物的木材形成中发挥一定的作用<sup>[26]</sup>。

另有研究发现, 某些 *GolS* 基因表达特异性与植物成花蛋白质 FT 的合成位置完全一致, 都在特定的叶片伴胞细胞中发生。如果植物丧失能特异表达 *GolS* 的这些伴胞, 开花会受到强烈的抑制。尽管这种特殊的共表达特性的原因仍不清楚, 但不排除 GolS 参与的代谢途径在一定程度上可能与植物成花分子调控途径有互作效应<sup>[65, 66]</sup>。

4 问题与展望

GolS 所参与的棉子糖类合成途径为高等植物所特有。目前的研究表明, 该途径中代谢产物肌醇半乳糖苷和棉子糖类寡糖广泛参与了植物碳同化产物的贮存与运输、植物的生物与非生物逆境胁迫响应和种子的脱水效应等多种重要生物学过程。甚至和植物的成花途径也可能存在一定的关系。目前, 对 GolS 的认识仍不够全面。例如, GolS 参与的代谢

途径与植物成花分子途径之间是否存在互作, GolS 的产物肌醇半乳糖苷和棉子糖类寡糖除了作为碳同化物和渗透调节物质, 参与碳的贮存与运输及逆境响应外, 是否可作为信号分子参与细胞分子和代谢途径的调控, 以及具有不同功能特性的 GolS 在分子调控网络上各具什么特点等。对这些问题深入研究, 能够在更深的层面上了解不同植物中不同 GolS 所发挥的功能和调控机制, 为通过遗传工程或分子辅助育种等手段, 利用 GolS 改良植物经济性状提供理论支持。

参考文献 (References)

[ 1 ] Salvi P, Kamble NU, Majee M. Stress-Inducible Galactinol Synthase of Chickpea ( CaGolS ) is Implicated in Heat and Oxidative Stress Tolerance Through Reducing Stress-Induced Excessive Reactive Oxygen Species Accumulation[J]. Plant Cell Physiol, 2018, **59**(1): 155-166

[ 2 ] Blöchl A, Pterbauer T, Hofmann J, et al. Enzymatic breakdown of raffinose oligosaccharides in pea seeds[J]. Planta, 2008, **228**(1): 99-110

[ 3 ] Saravitz DM, Pharr DM, Carter TE. Galactinol synthase activity and soluble sugars in developing seeds of four soybean genotypes [J]. Plant Physiol, 1987, **83**(1): 185-189

[ 4 ] Kim MS, Cho SM, Kang EY, et al. Galactinol Is a Signaling Component of the Induced Systemic Resistance Caused by Pseudomonas chlororaphis O6 Root Colonization[J]. Mol Plant Microbe Interac, 2008, **21**(12): 1643-1653

[ 5 ] Wang Z, Zhu Y, Wang L, et al. A WRKY transcription factor participates in dehydration tolerance in Boea hygrometrica by binding to the W-box elements of the galactinol synthase (BhGolS1) promoter[J]. Planta, 2009, **230**(6): 1155-1166

[ 6 ] Ende WV, Peshev D, Gara LD. Disease prevention by natural antioxidants and prebiotics acting as ROS scavengers in the gastrointestinal tract[J]. Trends Food Sci Technol, 2011, **22**(12): 689-697

[ 7 ] Peshev D, Vergauwen R, Moglia A, et al. Towards understanding vacuolar antioxidant mechanisms: a role for fructans? [J]. J Exp Bot, 2013, **64**(4): 1025-1038

[ 8 ] Amiard V, Morvan-Bertrand A, Billard JP, et al. Fructans, but not the sucrosyl-galactosides, raffinose and loliose, are affected by drought stress in perennial ryegrass[J]. Plant Physiol, 2003, **132**(4): 2218-2229

[ 9 ] Nishizawa A, Yabuta Y, Shigeoka S. Galactinol and raffinose constitute a novel function to protect plants from oxidative damage [J]. Plant Physiol, 2008, **147**(3): 1251-1263

[ 10 ] Yin Y, Chen H, Hahn MG, et al. Evolution and function of the plant cell wall synthesis-related glycosyltransferase family 8[J]. Plant Physiol, 2010, **153**(4): 1729-1746

[ 11 ] Brown DM, Goubet F, Wong VW, et al. Comparison of five xylan synthesis mutants reveals new insight into the mechanisms of xylan synthesis[J]. Plant J, 2010, **52**(6): 1154-1168

[ 12 ] Chatterjee M, Berbezy P, Vyas D, et al. Reduced expression of a protein homologous to glycogenin leads to reduction of starch content in Arabidopsis leaves[J]. Plant Sci, 2005, **168**(2): 501-509

[ 13 ] Sengupta S, Mukherjee S, Parween S, et al. Galactinol synthase across evolutionary diverse taxa: Functional preference for higher plants? [J]. FEBS Lett, 2012, **586**(10): 1488-1496

[ 14 ] Bachmann M, Matile P, Keller F. Metabolism of the Raffinose Family Oligosaccharides in Leaves of Ajuga reptans L. ( Cold Acclimation, Translocation, and Sink to Source Transition: Discovery of Chain Elongation Enzyme ) [J]. Plant Physiol,



- 1994, **105**(4): 1335-1345
- [15] Peterbauer T, Richter A. Biochemistry and physiology of Raffinose family oligosaccharides and galactosyl cyclitols in seeds [J]. *Seed Sci Res*, 2001, **11**(3): 185-197
- [16] Geisler-Lee J, Geisler M, Coutinho P M, *et al.* Poplar Carbohydrate-Active Enzymes. Gene Identification and Expression Analyses [J]. *Plant Physiol*, 2006, **140**(3): 946-962
- [17] Nishizawa-Yokoi A, Yabuta Y, Shigeoka S. The contribution of carbohydrates including raffinose family oligosaccharides and sugar alcohols to protection of plant cells from oxidative damage [J]. *Plant Signal Behav*, 2008, **3**(11): 1016-1018
- [18] Wang D, Yao W, Song Y, *et al.* Molecular characterization and expression of three galactinol synthase genes that confer stress tolerance in *Salvia miltiorrhiza* [J]. *J Plant Physiol*, 2012, **169**(18): 1838-1848
- [19] Pillet J, Egert A, Pieri P, *et al.* VvGOLS1 and VvHsfA2 are involved in the heat stress responses in grapevine berries [J]. *Plant Cell Physiol*, 2012, **53**(10): 1776-1792
- [20] Takahashi R, Joshee N, Kitagawa Y. Induction of chilling resistance by water stress, and cDNA sequence analysis and expression of water stress-regulated genes in rice [J]. *Plant Mol Biol*, 1994, **26**(1): 339-352
- [21] Fan Y, Yu M, Liu M, *et al.* Genome-Wide Identification, Evolutionary and Expression Analyses of the GALACTINOL SYNTHASE Gene Family in Rapeseed and Tobacco [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, **18**(12).pii: E2768
- [22] Sprenger N, Keller F. Allocation of raffinose family oligosaccharides to transport and storage pools in *Ajuga reptans*; the roles of two distinct galactinol synthases [J]. *Plant J*, 2000, **21**(3): 249-258
- [23] Downie B, Gurusinge S, Dahal P, *et al.* Expression of a GALACTINOL SYNTHASE Gene in Tomato Seeds Is Up-Regulated before Maturation Desiccation and Again after Imbibition Whenever Radicle Protrusion Is Prevented [J]. *Plant Physiol*, 2003, **131**(3): 1347-1359
- [24] dos Santos TB, Budzinski IG, Marur CJ, *et al.* Expression of three galactinol synthase isoforms in *Coffea arabica* L. and accumulation of raffinose and stachyose in response to abiotic stresses [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2011, **49**(4): 441-448
- [25] Zhou T, Zhang R, Guo S. Molecular Cloning and Characterization of GhGols1, a Novel Gene Encoding Galactinol Synthase from Cotton (*Gossypium hirsutum*) [J]. *Plant Mol Biol Rep*, 2012, **30**(3): 699-709
- [26] Unda F, Kim H, Hefer C, *et al.* Altering carbon allocation in hybrid poplar (*Populus alba* × *grandidentata*) impacts cell wall growth and development [J]. *Plant Biotechnol J*, 2017, **15**(7): 865-878
- [27] Kannan U, Sharma R, Khedkar Y, *et al.* Differential expression of two galactinol synthase isoforms LcGols1 and LcGols2 in developing lentil (*Lens culinaris* Medik. cv CDC Redberry) seeds [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2016, **108**: 422-433
- [28] Ibáñez C, Collada C, Casado R, *et al.* Winter induction of the galactinol synthase gene is associated with endodormancy in chestnut trees [J]. *Trees (Berlin, Germany: West)*, 2013, **27**(5): 1309-1316
- [29] ElSayed AI, Rafudeen MS, Goldack D. Physiological aspects of raffinose family oligosaccharides in plants: protection against abiotic stress [J]. *Plant Biol*, 2014, **16**(1): 1-8
- [30] Tajiri T, Ohsumi C, Iuchi S, *et al.* Important roles of drought- and cold-inducible genes for galactinol synthase in stress tolerance in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant J*, 2002, **29**(4): 417-426
- [31] Selvaraj MG, Ishizaki T, Valencia M, *et al.* Overexpression of an *Arabidopsis thaliana* galactinol synthase gene improves drought tolerance in transgenic rice and increased grain yield in the field [J]. *Plant Biotechnol J*, 2017, **15**(11): 1465-1477
- [32] Ishibashi Y, Yamaguchi H, Yuasa T, *et al.* Hydrogen peroxide spraying alleviates drought stress in soybean plants [J]. *J Plant Physiol*, 2011, **168**(13): 1562-1567
- [33] Wang Z, Zhu Y, Wang L, *et al.* A WRKY transcription factor participates in dehydration tolerance in *Boea hygrometrica* by binding to the W-box elements of the galactinol synthase (BhGols1) promoter [J]. *Planta*, 2009, **230**(6): 1155-1166
- [34] Zuther E, Büchel K, Hundertmark M, *et al.* The role of raffinose in the cold acclimation response of *Arabidopsis thaliana* [J]. *FEBS Lett*, 2004, **576**(1-2): 169-173
- [35] Sun Z, Qi X, Wang Z, *et al.* Overexpression of TsGOLS2, a galactinol synthase, in *Arabidopsis thaliana* enhances tolerance to high salinity and osmotic stresses [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2013, **69**(8): 82-89
- [36] Zhou J, Yang Y, Yu J, *et al.* Responses of *Populus trichocarpa* galactinol synthase genes to abiotic stresses [J]. *J Plant Res*, 2014, **127**(2): 347-358
- [37] Wang Y, Liu H, Wang S, *et al.* Overexpression of a common wheat gene GALACTINOL SYNTHASE3 enhances tolerance to zinc in *Arabidopsis* and rice through the modulation of reactive oxygen species production [J]. *Plant Mol Biol Rep*, 2016, **34**(4): 794-806
- [38] Panikulangara TJ, Eggers-schumacher G, Wunderlich M, *et al.* Galactinol synthase1. A novel heat shock factor target gene responsible for heat-induced synthesis of raffinose family oligosaccharides in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiol*, 2004, **136**(2): 3148-3158
- [39] Song C, Chung WS, Lim CO. Overexpression of heat shock factor gene HsfA3 increases galactinol levels and oxidative stress tolerance in *Arabidopsis* [J]. *Mol Cells*, 2016, **39**(6): 477-483
- [40] Gu L, Zhang Y, Zhang M, *et al.* ZmGOLS2, a target of transcription factor ZmDREB2A, offers similar protection against abiotic stress as ZmDREB2A [J]. *Plant Mol Biol*, 2016, **90**(1-2): 157-170
- [41] Kudo M, Kidokoro S, Yoshida T, *et al.* Double overexpression of DREB and PIF transcription factors improves drought stress tolerance and cell elongation in transgenic plants [J]. *Plant Biotechnol J*, 2017, **15**(4): 458-471
- [42] Filiz E, Ozyigit II, Vatansever R. Genome-wide identification of galactinol synthase (Gols) genes in *Solanum lycopersicum* and *Brachypodium distachyon* [J]. *Comput Biol Chem*, 2015, **58**: 149-157
- [43] Zhang Y, Sun Q, Zhang C, *et al.* Maize VIVIPAROUS1 Interacts with ABA INSENSITIVE5 to Regulate GALACTINOL SYNTHASE2 Expression Controlling Seed Raffinose Accumulation [J]. *J Agric Food Chem*, 2019, **67**(15): 4214-4223
- [44] Valluru R, Van den Ende W. Myo -inositol and beyond-Emerging networks under stress [J]. *Plant Sci*, 2011, **181**(4): 387-400
- [45] Sun XM, Zhang LL, Wong D C J, *et al.* The ethylene response factor Va ERF 092 from Amur grape regulates the transcription factor Va WRKY 33, improving cold tolerance [J]. *Plant J*, 2019, doi:10.1111/tpj.14378
- [46] Mukherjee S, Sengupta S, Mukherjee A, *et al.* Abiotic stress regulates expression of galactinol synthase genes post-transcriptionally through intron retention in rice [J]. *Planta*, 2019, **249**(3): 891-912
- [47] Kim MS, Cho SM, Kang EY, *et al.* Galactinol is a signaling component of the induced systemic resistance caused by *Pseudomonas chlororaphis* O6 root colonization [J]. *Mol Plant Microbe Interact*, 2008, **21**(12): 1643-1653
- [48] Cho SM, Kang EY, Kim MS, *et al.* Jasmonate-dependent expression of a galactinol synthase gene is involved in priming of systemic fungal resistance in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Botany*, 2010, **88**(5): 452-461
- [49] Zhou Y, Liu Y, Wang S, *et al.* Molecular cloning and characterization of galactinol synthases in *Camellia sinensis* with different responses to biotic and abiotic stressors [J]. *J Agric Food Chem*, 2017, **65**(13): 2751-2759
- [50] Philippe RN, Ralph SG, Mansfield SD, *et al.* Transcriptome profiles of hybrid poplar (*Populus trichocarpa* × *deltoides*) reveal rapid changes in undamaged, systemic sink leaves after simulated feeding by forest tent caterpillar (*Malacosoma disstria*) [J]. *New*

- Phytol, 2010, **188**(3): 787-802
- [51] Leprince O, Buitink J. Desiccation tolerance: from genomics to the field[J]. Plant Sci(Oxford), 2010, **179**(6): 554-564
- [52] Van den Ende W. Multifunctional fructans and raffinose family oligosaccharides[J]. Front Plant Sci, 2013, **4**: 247
- [53] Li X, Zhuo J, Jing Y, *et al.* Expression of a GALACTINOL SYNTHASE gene is positively associated with desiccation tolerance of Brassica napus seeds during development[J]. J Plant Physiol, 2011, **168**(15): 1761-1770
- [54] de Souza Vidigal D, Willems L, van Arkel J, *et al.* Galactinol as marker for seed longevity[J]. Plant Sci, 2016, **246**: 112-118
- [55] Salvi P, Saxena SC, Petla BP, *et al.* Differentially expressed galactinol synthase (s) in chickpea are implicated in seed vigor and longevity by limiting the age induced ROS accumulation[J]. Sci Rep, 2016, **6**: 35088
- [56] Jang JH, Shang Y, Kang HK, *et al.* Arabidopsis galactinol synthases 1 (AtGOLS1) negatively regulates seed germination [J]. Plant Sci, 2018, **267**: 94-101
- [57] Sun Z, Qi X, Wang Z, *et al.* Overexpression of TsGOLS2, a galactinol synthase, in Arabidopsis thaliana enhances tolerance to high salinity and osmotic stresses[J]. Plant Physiol Biochem, 2013, **69**: 82-89
- [58] Li T, Zhang Y, Wang D, *et al.* Regulation of seed vigor by manipulation of raffinose family oligosaccharides in maize and Arabidopsis thaliana[J]. Mol Plant, 2017, **10**(12): 1540-1555
- [59] Karner U, Peterbauer T, Raboy V, *et al.* myo-Inositol and sucrose concentrations affect the accumulation of raffinose family oligosaccharides in seeds[J]. J Exp Bot, 2004, **55**(405): 1981-1987
- [60] Downie B, Gurusinghe S, Dahal P, *et al.* Expression of a GALACTINOL SYNTHASE gene in tomato seeds is up-regulated before maturation desiccation and again after imbibition whenever radicle protrusion is prevented[J]. Plant Physiol, 2003, **131**(3): 1347-1359
- [61] Lemoine R, La Camera S, Atanassova R, *et al.* Source-to-sink transport of sugar and regulation by environmental factors[J]. Front Plant Sci, 2013, **4**: 272
- [62] Sprenger N, Keller F. Allocation of raffinose family oligosaccharides to transport and storage pools in Ajuga reptans: the roles of two distinct galactinol synthases[J]. Plant J, 2000, **21**(3): 249-258
- [63] Haritatos E, Ayre BG, Turgeon R. Identification of phloem involved in assimilate loading in leaves by the activity of the galactinol synthase promoter[J]. Plant Physiol, 2000, **123**(3): 929-937
- [64] Hao JH, Yang R, Fang KF, *et al.* Low night temperatures inhibit galactinol synthase gene expression and phloem loading in melon leaves during fruit development[J]. Russ J Plant Physiol, 2014, **61**(2): 178-187
- [65] Corbesier L, Vincent C, Jang S, *et al.* FT protein movement contributes to long-distance signaling in floral induction of Arabidopsis[J]. Science, 2007, **316**(5827): 1030-1033
- [66] Chen Q, Payyavula RS, Chen L, *et al.* FLOWERING LOCUS T mRNA is synthesized in specialized companion cells in Arabidopsis and Maryland Mammoth tobacco leaf veins[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2018, **115**(11): 2830-2835