

秦斗文,徐庭亮,闫京艳,等. 柔毛郁金香叶绿体基因组密码子偏好性分析[J]. 江苏农业科学,2023,51(22):41-47.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2023.22.006

柔毛郁金香叶绿体基因组密码子偏好性分析

秦斗文, 徐庭亮, 闫京艳, 巨秀婷

(青海大学农牧学院/青海省园林植物与观赏园艺重点实验室,青海西宁 810016)

摘要:阐明柔毛郁金香(*Tulipa buhseana*)叶绿体基因组密码子使用模式,丰富野生郁金香种质资源的遗传背景信息。以柔毛郁金香的 53 条蛋白编码序列(CDS)为研究对象,结合 Codon W、EMBOSS 在线软件及 R 语言,计算密码子数量、有效密码子数、GC 含量,并通过中性绘图分析、PR2 - plot 分析、ENC - plot 分析的多元统计,对密码子使用偏好模式进行预测并筛选最优密码子。柔毛郁金香叶绿体基因组 53 条 CDS 的平均 GC 含量为 37.21%,不同位置的 GC 含量为 GC₁(45.5%) > GC₂(37.85%) > GC₃(28.27%),表明柔毛郁金香叶绿体基因组的密码子第 3 位碱基组成多为 A 和 T。多元统计分析表明,柔毛郁金香叶绿体基因组的密码子偏好性主要受自然选择的影响,并筛选到 17 个最优密码子同时满足高频率密码子和高表达优越密码子的条件。柔毛郁金香叶绿体基因组的密码子偏性较弱,均以 A 或 U 结尾,自然选择是影响密码子偏性的主要因素。研究结果可为后续开展郁金香叶绿体基因工程、野生郁金香种群演化及系统分类以及发育研究奠定基础。

关键词:柔毛郁金香;叶绿体基因组;密码子偏好性;最优密码子

中图分类号:S682.2+63.01 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2023)22-0041-06

密码子在生物体遗传信息传递的过程中扮演着重要的角色。遗传信息的传递经历了一个逐步进化的过程,其中非常必要的环节是通过使用氨基酸,而三联体密码子编码蛋白质的结构单位必不可少^[1]。mRNA 上每 3 个相邻的碱基决定 1 个氨基酸,这 3 个碱基被称为 1 个密码子^[2],在对蛋白质进行翻译的过程中,同义密码子会针对同一种氨基酸的不同密码子进行编码。由于基因突变和自然选择的存在,不同物种的遗传密码子使用模式存在较大差异,表现为编码同一氨基酸的不同密码子的使用频率不一样,即密码子使用偏好性^[3]。密码子的使用模式会对基因的功能与表达产生一定程度的影响,如密码子偏好性越强,该物种的基因表达量就会越大^[4]。因此,通过物种密码子的使用偏好模式可以推断或预测未知基因的表达和功能,尤其是在基因组层面有助于理解生物分子进化和环境

适应表现^[5]。

叶绿体是绿色植物独有的细胞器,是植物进行光合作用的场所,一般认为高等植物的叶绿体具有一套自己独立的遗传物质,即叶绿体基因组^[6]。叶绿体 DNA(cpDNA)是一个环状双链分子,包含 2 个反向重复序列(inverted repeat sequence,简称 IR),并被 2 段大小不同的非重复序列隔开,在不同植物中非重复序列的长度具有差异,如花椒) LSC 和 SSC 的长度分别为 85 898、17 611 bp,而川陕花椒 LSC 和 SSC 的长度分别为 85 821、17 556 bp^[7]。多数植物的 cpDNA 大小约为 150 kb,能编码 120 种左右的蛋白质,包含转录和翻译相关基因、光合作用相关基因、氨基酸及脂肪酸等生物合成有关的基因。近年来,大量植物的叶绿体基因组被公布,为叶绿体基因组的密码子偏好性分析提供了基础数据,同时为探讨植物的生命进化和调控基因表达具有重要意义。

郁金香,别称洋荷花、草麝香,作为非常重要的观赏花卉之一,是土耳其、荷兰等国的国花^[8]。郁金香为百合科郁金香属植物,而郁金香属植物大约有 150 种,分布在我国的有 14 种,以野生郁金香资源为主,占世界总资源的 10% 以上^[9],其中包括柔毛郁金香(*Tulipa buhseana*)、准噶尔郁金香、伊犁郁金香、天山郁金香等^[10]。柔毛郁金香花型优美、花

收稿日期:2023-02-21

基金项目:中国科学院“西部之光”项目[编号:中科人字(2022)4号];青海省“昆仑英才”科技领军人才培养项目[编号:青人才字(2022)1号]。

作者简介:秦斗文(1996—),女,河南信阳人,硕士研究生,主要从事观赏植物遗传育种研究。E-mail:qindouwen@163.com。

通信作者:巨秀婷,硕士,副教授,主要从事观赏植物遗传育种研究。

E-mail:juxiuting@163.com。

色明亮,主要分布在新疆北部(富蕴)和西部(伊宁)地区,多见于平原或低山草坡^[11]。因其较强的环境适应性,可作为国产郁金香品种选育的重要亲本,但针对这一类优异郁金香野生种质资源的相关研究鲜有报道。

随着高通量基因测序技术的发展,通过叶绿体基因组可为基因的改良、目标基因的优化提供依据^[12]。叶绿体基因组为单亲遗传,碱基很少发生替换,使其在植物分类及系统进化研究中具有独特的优势^[13]。目前柔毛郁金香的叶绿体基因组已发布,通过对柔毛郁金香叶绿体基因组密码子的使用模式与偏好性进行系统研究,可丰富野生郁金香种质资源的遗传背景信息,结合筛选的最优密码子提高目的基因的表达量,辅助研究野生种质资源适应外界环境的分子机制,为后续开展郁金香叶绿体基因工程、野生郁金香种群演化及系统发育研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

2022 年 9 月从 NCBI 数据库下载由笔者所在课题组前期测序获得的完整柔毛郁金香叶绿体基因组序列(GenBank 登录号:MT316022),根据各基因的注释结果获得 87 条可以编码蛋白的基因序列(coding DNA sequence, CDS)。为提高数据的可用性,剔除了序列长度小于 300 bp、重复基因和 CDS 内部存在终止密码子的序列,最终保留 53 条 CDS 用于后续密码子参数分析。

1.2 分析方法

1.2.1 密码子组成分析 53 条 CDS 以 fasta 格式在 CodonW 1.4.2 在线软件(<http://codonw.sourceforge.net>)中运行,计算每个基因的密码子数量、有效密码子数(effective number of codon, ENC)、同义密码子相对使用度(relative synonymous codon usage, RSCU);通过 EMBOSS 在线软件(<https://www.bioinformatics.nl/emboss-explorer/>)分析 GC 含量(分别为 GC₁、GC₂、GC₃)及 3 位碱基的 GC 平均含量(GC_{all})。使用 R 语言软件包完成相关性分析。

1.2.2 中性绘图分析 中性绘图分析在以 GC₃ 为横坐标,GC₁₂(GC₁ 和 GC₂ 的平均值)为纵坐标的二维散点图中,每 1 个散点代表 1 个基因。通过绘图结果中所有基因是否按对角线分布来判断碱基组成的差异性,并根据对角线斜率来衡量中性程度。

1.2.3 ENC - plot 绘图分析 ENC - plot 绘图分析

包括构建二维散点图和统计 ENC 比值频数。散点图以 ENC 为纵坐标,GC₃ 为横坐标,根据散点的分布位置绘制标准曲线并通过散点与标准曲线的距离来判断碱基组成与各基因密码子使用偏好性的关系。根据 ENC 的期望值与实际值的偏差来判断密码子使用模式的影响因素。

1.2.4 PR2 - plot 分析 PR2 - plot 分析是通过各密码子第 3 位上的 A、T、C、G 的含量,以 A₃/(A₃ + T₃)为纵坐标,以 G₃/(G₃ + C₃)为横坐标,用平面图显示各基因的碱基组成,中心点代表无偏性使用时的密码子状态,即 A = T 且 C = G,其余点与中心点的矢量距离代表其偏倚程度和方向。

1.2.5 最优密码子 以各基因的有效密码子(ENC)作为偏好性参考标准,对 53 条 CDS 的 ENC 值进行从大到小的排序,从两端各选择 10% 的基因构建高低偏性库,同时计算 $\Delta RSCU$ ($\Delta RSCU = RSCU_{\text{高表达}} - RSCU_{\text{低表达}}$)。在高低偏性库中选择 $\Delta RSCU \geq 0.08$ 的密码子为高表达优越密码子,将 RSCU 值大于 1 的密码子确定为高频密码子,同时满足高频率密码子和高表达优越密码子的确定为最优密码子。

2 结果与分析

2.1 密码子偏性分析

53 条 CDS 的 GC 平均含量(GC_{all})为 37.21%,不同位置的 GC 含量为 GC₁(45.50%) > GC₂(37.85%) > GC₃(28.27%)(表 1),密码子第 3 位的 GC 含量明显低于密码子第 1 位、第 2 位的 GC 含量,而 GC₃ 可反映密码子偏好性,表明柔毛郁金香叶绿体基因组的密码子第 3 位碱基组成多为 A 和 T。

ENC 值是衡量同义密码子使用偏度的重要指标,并与同义密码子的偏性呈负相关,即 ENC 值越小,偏性越强,ENC 值越大,偏性越弱^[14]。柔毛郁金香叶绿体基因组中 53 条 CDS 的 ENC 值在 38.82 ~ 62.28 范围内,平均值为 48.52(表 1)。不同 CDS 的同义密码子偏倚程度不同,其中 ENC > 45 的共有 41 条,表明柔毛郁金香叶绿体基因组密码子偏好性较弱。根据 ENC 的理论取值范围(20 ~ 61),*ycf3* 基因 ENC 值为 62.28,说明该基因的同义密码子完全没有偏倚。

从柔毛郁金香叶绿体基因组各基因参数(GC₁、GC₂、GC₃、GC_{all}、ENC 值)的相关性分析(表 2)可知,GC_{all}与 GC₁、GC₂、GC₃ 的相关性均达到极显著水平,

表 1 柔毛郁金香叶绿体基因组 GC 含量及 ENC 值

基因	GC ₁ (%)	GC ₂ (%)	GC ₃ (%)	GC _{all} (%)	ENC 值
<i>accD</i>	38.46	35.63	25.91	33.33	43.49
<i>atpA</i>	56.69	39.17	23.23	39.70	44.35
<i>atpB</i>	55.71	41.08	28.46	41.75	48.26
<i>atpE</i>	52.21	41.18	25.00	39.46	40.92
<i>atpF</i>	45.79	34.74	30.53	37.02	49.34
<i>atpI</i>	49.60	37.50	27.02	38.04	48.20
<i>ccsA</i>	31.99	36.96	22.67	30.54	44.24
<i>cemA</i>	40.00	27.83	28.26	32.03	52.08
<i>clpP</i>	58.05	36.10	31.22	41.79	58.25
<i>matK</i>	40.35	30.80	24.37	31.84	46.82
<i>ndhA</i>	41.76	38.46	18.96	33.06	42.47
<i>ndhB</i>	42.47	39.73	30.53	37.57	46.20
<i>ndhC</i>	48.76	34.71	28.10	37.19	50.65
<i>ndhD</i>	40.64	37.85	29.48	35.99	48.16
<i>ndhE</i>	38.24	30.39	25.49	31.37	52.35
<i>ndhF</i>	36.66	36.52	21.70	31.63	43.41
<i>ndhG</i>	41.81	35.03	23.16	33.33	48.07
<i>ndhH</i>	50.00	36.04	26.90	37.65	48.72
<i>ndhI</i>	41.44	37.02	23.76	34.07	46.83
<i>ndhJ</i>	48.43	36.48	29.56	38.16	52.33
<i>ndhK</i>	41.64	43.00	27.99	37.54	52.23
<i>petA</i>	53.89	36.14	28.66	39.56	50.09
<i>petB</i>	48.62	41.74	29.82	40.06	47.63
<i>petD</i>	49.69	38.51	26.71	38.30	43.71
<i>psaA</i>	52.33	43.14	32.09	42.52	51.34
<i>psaB</i>	48.44	42.99	32.38	41.27	49.90
<i>psbA</i>	48.87	43.22	30.51	40.87	41.76
<i>psbB</i>	53.83	45.97	31.83	43.88	48.26
<i>psbC</i>	53.80	45.99	35.23	45.01	47.89
<i>psbD</i>	51.13	43.50	33.62	42.75	46.13
<i>rbcL</i>	57.79	43.03	29.51	43.44	49.14
<i>rpl14</i>	54.47	36.59	22.76	37.94	46.89
<i>rpl16</i>	55.15	52.21	27.94	45.10	56.09
<i>rpl2</i>	51.28	49.82	29.67	43.59	52.43
<i>rpl20</i>	35.59	42.37	25.42	34.46	50.88
<i>rpl22</i>	39.42	40.15	21.90	33.82	46.27
<i>rpoA</i>	42.65	34.41	25.00	34.02	48.15
<i>rpoB</i>	49.77	37.89	27.13	38.26	47.82
<i>rpoC1</i>	49.64	37.81	29.00	38.82	50.42
<i>rpoC2</i>	45.18	36.35	27.37	36.30	48.94
<i>rps11</i>	55.40	54.68	23.02	44.36	47.91
<i>rps12</i>	51.61	47.58	23.39	40.86	44.69
<i>rps14</i>	46.53	45.54	29.7	40.59	49.36
<i>rps18</i>	39.22	41.18	24.51	34.97	38.82
<i>rps2</i>	41.77	40.93	27.85	36.85	47.91
<i>rps3</i>	46.58	34.70	21.92	34.4	44.20
<i>rps4</i>	48.02	37.62	25.25	36.96	45.93

表 1(续)

基因	GC ₁ (%)	GC ₂ (%)	GC ₃ (%)	GC _{all} (%)	ENC 值
<i>rps7</i>	52.56	44.87	21.79	39.74	45.95
<i>rps8</i>	42.11	40.60	22.56	35.09	44.91
<i>ycf1</i>	34.37	27.63	24.01	28.67	47.02
<i>ycf2</i>	40.88	34.42	36.49	37.26	53.48
<i>ycf3</i>	47.37	39.18	32.75	39.77	62.28
<i>ycf4</i>	44.32	41.08	29.19	38.20	49.73
平均值	45.50	37.85	28.27	37.21	48.52

GC₃ 与 GC₁ 达到显著水平,而与 GC₂ 未达到显著水平,说明柔毛郁金香叶绿体基因组密码子第 2 位的碱基组成与第 3 位的碱基组成具有差异。ENC 仅与 GC₃ 达到极显著相关水平,而与 GC₁、GC₂ 相关性均不显著,表明柔毛郁金香的使用偏好性受 GC₁、GC₂ 的影响不大,主要与 GC₃ 有关。密码子数量与 ENC 的相关性未达到显著水平,同时说明基因的序列长度对密码子使用偏性无明显影响。

表 2 柔毛郁金香叶绿体基因组各基因参数的相关性分析

基因参数	相关系数					
	GC ₁	GC ₂	GC ₃	GC all	ENC 值	密码子数量
GC ₁	1.000					
GC ₂	0.500 **	1.000				
GC ₃	0.309 *	0.161	1.000			
GC all	0.868 **	0.774 **	0.560 **	1.000		
ENC 值	0.197	0.002	0.535 **	0.279 *	1.000	
密码子数量	-0.074	-0.201	0.374 **	-0.011	0.104	1.000

注: ** 表示极显著相关 ($P < 0.01$); * 表示显著相关 ($P < 0.05$)。

2.2 中性绘图分析

中性绘图即碱基组成差异性分析,是初步判断影响密码子使用偏好性因素的方法之一^[15]。通过分析 GC₁₂ 与 GC₃ 之间的关系,来判断密码子受到自然选择和突变压力的程度。各基因均落在对角线上方,且分布不均匀,说明柔毛郁金香的叶绿体基因组密码子偏好性主要受自然选择的影响(图 1 - A)。柔毛郁金香的叶绿体基因组的密码子中 GC₃ 介于 0.19 ~ 0.36,而 GC₁₂ 介于 0.31 ~ 0.55 之间,回归系数为 0.3764,GC₁₂ 与 GC₃ 的相关系数为 0.279,说明 2 个变量间的相关性很弱(图 1 - B)。

2.3 ENC - plot 绘图分析

ENC - plot 分析通过 ENC 值和 GC₃ 分布的关系,对基因数据的密码子偏好性进行图像可视化来判断自然选择和突变压力对密码子偏好性的影响

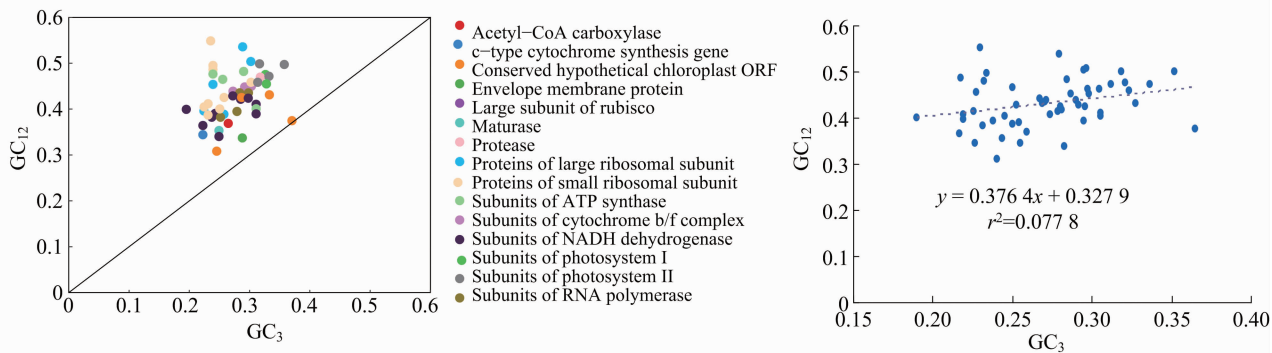


图1 柔毛郁金香叶绿体基因组中性绘图分析

程度(图2)。通过二维散点图发现各散点未沿标准曲线均匀分布,离标准曲线有一定的距离。结合 ENC 比值频数分布表(表3),49%的基因分布在 $-0.05 \sim 0.05$ 区间,与预期 ENC 值接近,主要受突

变压力的影响;此区间以外的 51% 的基因与预期 ENC 值存在一定差异,主要受自然选择的影响。因此,柔毛郁金香叶绿体基因组中大部分密码子的偏好性主要受自然选择的影响。

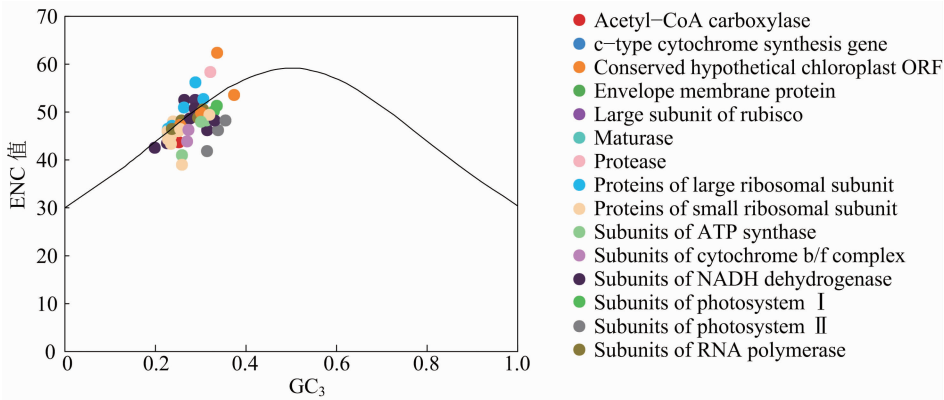


图2 柔毛郁金香叶绿体基因组 ENC-plot 分析

表3 柔毛郁金香叶绿体基因组 ENC 比值频数分布

组限	组中值	频数	频率
$-0.15 \sim -0.05$	-0.1	4	0.08
$-0.05 \sim 0.05$	0.0	26	0.49
$0.05 \sim 0.15$	0.1	19	0.36
$0.15 \sim 0.25$	0.2	4	0.08

2.4 PR2 - plot 绘图分析

根据密码子第3位的 A、T、C、G 的含量判断第3位 A 与 T、C 与 G 之间的线性关系,通过偏倚程度来判断影响密码子偏好性的主要因素。柔毛郁金香的叶绿体基因组中各基因在第一、二、三、四象限呈不均匀分布,主要集中分布在右下侧且其他点与中心点的矢量距离较远(图3),说明柔毛郁金香叶绿体基因组第3位碱基在密码子的使用上具有一定的偏好性,且密码子中碱基的使用频率 $G > C, T > A$,其密码子偏好使用 T 和 G。表明柔毛郁金香叶绿体基因组的密码子使用模式不仅受到突变压力的影响,同时也受到自然选择的影响。

2.5 最优密码子

构建的高表达基因和低表达基因偏性库中(表4),筛选到高频密码子($RSCU > 1$)共 32 个,其中以 A 或 U 结尾的密码子有 29 个,以 G 结尾的有 3 个;筛选到高表达优越密码子($\Delta RSCU \geq 0.08$)共 19 个。同时满足 $RSCU > 1$ 且 $\Delta RSCU \geq 0.08$ 的共有 17 个密码子,是柔毛郁金香叶绿体基因组的最优密码子:GCU、CGU、AAU、CAA、GAA、GGU、AUA、AUU、UUA、AAA、UUU、CCU、AGU、UCU、ACU、GUA 和 GUU,均以 A 或 U 结尾。

3 讨论与结论

叶绿体基因组具有一套独立、完整的遗传信息,且编码区的基因序列相对保守,常用于植物的群体进化和系统发育关系研究^[16]。而密码子的使用模式是植物基因组的基本特征,会影响基因的功能与表达^[17],同时密码子的使用频率受多重因素的影响,如基因表达水平、基因长度、tRNA 丰度、突变

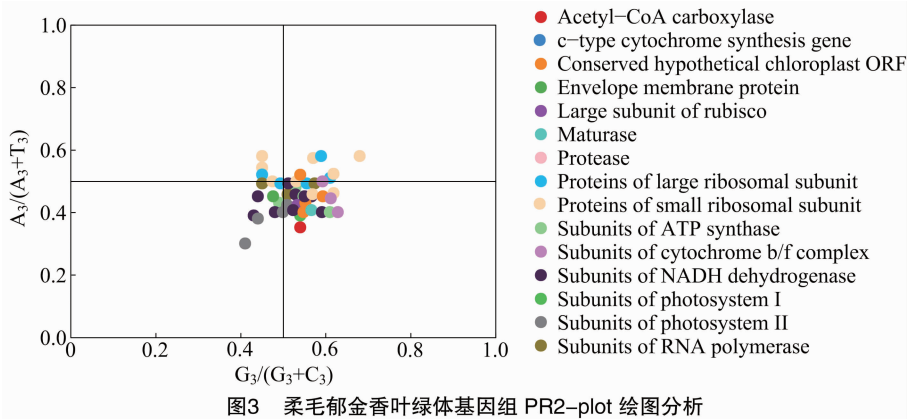


图3 柔毛郁金香叶绿体基因组 PR2-plot 绘图分析

表 4 柔毛郁金香叶绿体基因组 RSCU 及最优密码子分析

氨基酸	密码子	高表达		低表达		Δ RSCU
		数目	RSCU	数目	RSCU	
Ala	GCA [#]	30	1.03	35	1.19	-0.16
	GCC	13	0.44	22	0.75	-0.31
	GCG	6	0.21	17	0.58	-0.37
	GCU ^{#*}	68	2.32	44	1.49	0.83
Arg	AGA [#]	28	2.18	73	2.11	0.07
	AGG	4	0.31	26	0.75	-0.44
	CGA [#]	16	1.25	44	1.27	-0.02
	CGC	2	0.16	11	0.32	-0.16
	CGG	3	0.23	20	0.58	-0.35
	CGU ^{#*}	24	1.87	34	0.98	0.89
Asn	AAC	18	0.41	45	0.5	-0.09
	AAU ^{#*}	69	1.59	134	1.5	0.09
Asp	GAC	8	0.35	29	0.37	-0.02
	GAU [#]	38	1.65	129	1.63	0.02
Cys	UGC	4	0.67	12	0.71	-0.04
	UGU [#]	8	1.33	22	1.29	0.04
Gln	CAA ^{#*}	37	1.64	71	1.34	0.30
	CAG	8	0.36	35	0.66	-0.30
Glu	GAA ^{#*}	46	1.48	118	1.33	0.15
	GAG	16	0.52	60	0.67	-0.15
Gly	GGA [#]	44	1.42	67	1.65	-0.23
	GGC [*]	20	0.65	19	0.47	0.18
	GGG	13	0.42	34	0.84	-0.42
	GGU ^{#*}	47	1.52	42	1.04	0.48
His	CAC	6	0.55	21	0.53	0.02
	CAU [#]	16	1.45	59	1.48	-0.03
Ile	AUA ^{#*}	70	1.14	81	1.01	0.13
	AUC	28	0.46	54	0.68	-0.22
	AUU ^{#*}	86	1.40	105	1.31	0.09
Lys	AAA ^{#*}	41	1.71	115	1.26	0.45
	AAG	7	0.29	68	0.74	-0.45
Leu	CUA [*]	30	0.85	36	0.76	0.09
	CUC	10	0.28	25	0.53	-0.25
	CUG	6	0.17	27	0.57	-0.40
	CUU [#]	44	1.25	72	1.52	-0.27
	UUA ^{#*}	91	2.59	61	1.29	1.30
	UUG [#]	30	0.85	63	1.33	-0.48
Met	AUA	0	0.00	1	0.03	-0.03
	AUG [#]	48	1.00	69	1.97	-0.97
Phe	UUC	31	0.53	89	0.99	-0.46
	UUU ^{#*}	86	1.47	90	1.01	0.46
Pro	CCA [#]	18	1.11	38	1.15	-0.04
	CCC	4	0.25	30	0.91	-0.66
	CCG	7	0.43	17	0.52	-0.09
	CCU ^{#*}	36	2.22	47	1.42	0.80
Ser	AGC	3	0.12	12	0.26	-0.14
	AGU ^{#*}	41	1.65	47	1.03	0.62
	UCA [#]	26	1.05	61	1.34	-0.29
	UCC [#]	13	0.52	51	1.12	-0.60
	UCG	11	0.44	32	0.70	-0.26
	UCU ^{#*}	55	2.21	71	1.55	0.66
Thr	ACA [#]	27	1.29	42	1.24	0.05
	ACC	12	0.57	23	0.68	-0.11
	ACG	2	0.10	25	0.74	-0.64
	ACU ^{#*}	43	2.05	45	1.33	0.72
Trp	UGG	34	1.00	53	1.00	0.00
Tyr	UAC	14	0.41	25	0.44	-0.03
	UAU [#]	55	1.59	89	1.56	0.03
Val	GUA ^{#*}	39	1.70	40	1.29	0.41
	GUC	8	0.35	16	0.52	-0.17
	GUG	7	0.30	21	0.68	-0.38
	GUU ^{#*}	38	1.65	47	1.52	0.13

注：* 表示 Δ RSCU ≥ 0.08 ；# 表示 RSCU > 1 ；带下划线显示的密码子为最优密码子。

偏倚和碱基组成等都会影响同义密码子的使用偏性^[18-19]。因此,植物叶绿体基因组密码子偏好性的研究有助于明晰功能基因的碱基组成,从而更好地确定目的基因的功能^[20]。本研究在柔毛郁金香叶绿体基因组中筛选出的 53 条 CDS 序列中有 41 条的 ENC 值大于 45, ENC 值越大,密码子偏性越弱,表明柔毛郁金香的密码子表现出较弱的偏好性。

在前人的研究结果中,定向突变压力和自然选择是影响密码子使用偏性的重要因素,被广泛用于解释物种间密码子使用的差异^[21-23]。大多数的植物叶绿体基因组中,密码子第 3 位通常比较保守,选择压力对其影响不大^[24]。在本研究中密码子第 3 位的 GC 含量明显低于密码子第 1 位、第 2 位的 GC 含量,所以,第 3 位的碱基组成多为 A 和 T。结合 PR2 - plot 绘图分析,密码子第 3 位的碱基使用频率呈现 G > C、T > A 的规律。针对影响柔毛郁金香的叶绿体基因组密码子的偏性因素进行多元统计分析,其密码子使用模式不仅受到突变压力的影响,同时也受到自然选择的影响,在糜子 (*Panicum miliaceum* L.)^[25]、美丽梧桐 (*Firmiana pulcherrima*)、云南梧桐 (*F. major*)^[26]、巨桉 (*Encalyptus grandis*)^[27] 等植物的研究中也得到相同的结论。结合 ENC 比值的频数分布,51% 的基因实际 ENC 值与预期 ENC 值存在一定差异,认为自然选择的作用对柔毛郁金香叶绿体基因组密码子的影响更大。

最优密码子的确定可进行基因表达载体设计,提高目的基因的表达量^[28],为分子辅助育种提供参考依据。本研究结合柔毛郁金香叶绿体基因组密码子的使用偏好模式,筛选到 17 个最优密码子,符合高等植物最优密码子 NNA 和 NNU 的模式^[29-30]。同时密码子偏好性分析可辅助研究野生种质资源适应外界环境的分子机制,我国有丰富的野生郁金香种质资源,是育种的重要基础材料。因此,后续须加快对郁金香属其他野生种质资源的偏好性研究,以确定属间不同种植物偏好性差异的因素是否一致,为郁金香属植物种质资源的开发与利用提供理论支撑。

本研究以柔毛郁金香的 53 条蛋白编码序列 (CDS) 为研究对象,对密码子使用偏好模式进行预测并筛选到 17 个最优密码子,阐明了柔毛郁金香叶绿体基因组密码子使用模式及偏好性。研究结果可为后续开展郁金香叶绿体基因工程、野生郁金香种群演化及系统分类以及发育研究奠定基础。

参考文献:

- [1] 冉 然,张晓明,宛 涛,等. 密码子偏好性的相关研究及方法分析[J]. 草原与草业,2022,34(3):5-10,43.
- [2] 夏 晞,彭劲谕,王大玮,等. 3 种榕属叶绿体基因组密码子偏好性分析[J]. 西北林学院学报,2022,37(5):88-94.
- [3] Grantham R, Gautier C, Gouy M. Codon frequencies in 119 individual genes confirm consistent choices of degenerate bases according to genome type[J]. Nucleic Acids Research,1980,8(9):1893-1912.
- [4] Rao Y S, Wu G Z, Wang Z F, et al. Mutation bias is the driving force of *Codon* usage in the *Gallus gallus* genome[J]. DNA Research, 2011,18(6):499-512.
- [5] Nie X J, Deng P C, Feng K W, et al. Comparative analysis of codon usage patterns in chloroplast genomes of the Asteraceae family[J]. Plant Molecular Biology Reporter,2014,32(4):828-840.
- [6] 杨家鑫. 掌叶木和伞花木的叶绿体全基因组研究及其系统位置分析[D]. 贵阳:贵州大学,2019:4-7.
- [7] 陈 雪. 花椒属植物亲缘关系及遗传多样性研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2022:10-12.
- [8] 蒋丹青. 5℃ 郁金香日光温室栽培技术[J]. 安徽农学通报, 2021,27(17):69-70.
- [9] 邢桂梅,刘振雷,张艳秋,等. 三个野生郁金香的繁殖方法[J]. 北方园艺,2018(6):62-67.
- [10] 王世苗,陈天意,冯亚萍,等. 伊犁野生郁金香内生烟曲霉的分离鉴定及活性[J]. 微生物学通报,2023,50(1):289-300.
- [11] 葛 翎,黄晓德,张峰伦,等. 郁金香的化学成分及药理活性研究进展[J]. 中国野生植物资源,2019,38(5):79-83.
- [12] 郭 松,梁湘兰,黄青青,等. 紫金牛叶绿体基因组密码子偏好性分析[J]. 广西植物,2022,42(8):1426-1432.
- [13] Tao X L, Ma L C, Zhang Z S, et al. Characterization of the complete chloroplast genome of alfalfa (*Medicago sativa*) (Leguminosae) [J]. Gene Reports,2017,6:67-73.
- [14] 周桂花,蒲梅清,李丽梅,等. 锦绣黄桃叶绿体基因组密码子偏好性分析[J/OL]. 分子植物育种. (2022-11-24)[2023-01-23]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.s.20221123.1011.014.html>
- [15] 李显煌,杨生超,辛雅萱,等. 灯盏花叶绿体基因组密码子偏好性分析[J]. 云南农业大学学报(自然科学),2021,36(3):384-392.
- [16] Asaf S, Khan A L, Khan A R, et al. Complete chloroplast genome of *Nicotiana glauca* and its comparison with related species[J]. Frontiers in Plant Science,2016,7:843.
- [17] 沈宗芳,陆添权,张志荣,等. 榧蕨属叶绿体基因组密码子偏好性分析[J]. 广西植物,2021,41(2):266-273.
- [18] Duret L, Mouchiroud D. Expression pattern and, surprisingly, gene length shape codon usage in *Caenorhabditis*, *Drosophila*, and *Arabidopsis*[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,1999,96(8):4482-4487.
- [19] Sueoka N, Kawanishi Y. DNA G + C content of the third codon position and codon usage biases of human genes[J]. Gene,2000,

杜 萌,马凌霄,吕小红,等. 滨海稻区水直播稻抗逆性及稻米品质对播种密度的响应[J]. 江苏农业科学,2023,51(22):47-52.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2023.22.007

滨海稻区水直播稻抗逆性及稻米品质 对播种密度的响应

杜 萌,马凌霄,吕小红,李 旭,隋 鑫,任 海,马 畅,王 宇,付立东
(辽宁省盐碱地利用研究所,辽宁盘锦 124010)

摘要:为探究不同播种密度对水直播稻抗逆性及稻米品质的影响,在辽宁省盐碱地利用研究所试验基地进行研究。采用水直播的方式,以盐丰 47(Y)、盐粳 939(J)为供试材料,试验设 5 个播种密度(M)水平,分别为 60.0(M1)、82.5(M2)、105.0(M3)、127.5(M4)、150.0 kg/hm²(M5)。在水稻生育期测定水稻植株受病害情况及抗倒伏能力。收获后测定稻米品质,分析不同播种密度对水直播稻抗逆性及稻米品质的影响。结果表明,盐丰 47、盐粳 939 均在 M5 密度处理病情严重,播种密度越大,植株病情指数越高。盐丰 47 的倒二、倒三、倒四节间和盐粳 939 的倒三、倒四节间的倒伏指数在 M3 密度处理最小,因为倒伏指数与抗折能力成反比,所以盐丰 47 在 M3 密度处理的抗折力最大,抗倒伏能力最强。在 5 个播种密度下,盐粳 939 的食味值均优于盐丰 47,2 个品种的食味值均随播种密度的增大而先增后减,其中盐丰 47 食味值的降幅比盐粳 930 更明显。稻米加工品质在相同播种密度下表现为盐丰 47 优于盐粳 939,盐粳 939 受播种密度影响较大。不同品种的直链淀粉含量、蛋白质含量差异显著,同一品种的蛋白质含量和食味值均随着播种密度的增大而先增后减。盐粳 939 的稻米品质性状(外观品质、蒸煮食味品质、加工品质等)总体更优于盐丰 47,会更受消费者喜爱。

关键词:水稻;播种密度;直播;抗逆性;品质

中图分类号:S511.04 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2023)22-0047-06

水稻是我国主要的粮食作物,水稻生产对粮食

安全和解决农业生产都具有重要作用,对提高国民经济具有重要影响^[1-2]。随着人们生活水平的提高和水稻品种的不断更新迭代,水稻高产不仅仅是水稻生产过程中的唯一目标,当前优质的稻米品种更受市场和消费者的喜爱。目前,我国稻米市场中,优质稻米供不应求且现象尤为突出,向市场提供大量优质稻米越发迫切,大量学者对优质稻米生产做出贡献^[3-15]。但关于如何在滨海稻区有效利用盐碱地资源鲜有报道。我国滨海地区盐碱地面积较

收稿日期:2023-04-19

基金项目:辽宁省民生科技计划(编号:2021JH2/10200028);辽宁省科学事业公益研究基金(编号:20170034);国家重点研发计划(编号:2018YFD0300306);辽宁春玉米粳稻密植抗逆丰产增效关键技术与示范项目(编号:2017YFD0300710);辽宁省水稻产业重大农技推广服务试点项目。

作者简介:杜 萌(1989—),男,辽宁阜新人,硕士,助理研究员,主要从事水稻栽培及盐碱地改良研究。E-mail:492079244@qq.com。

261(1):53-62.

[20] Behura S K, Severson D W. Codon usage bias: causative factors, quantification methods and genome-wide patterns; with emphasis on insect genomes[J]. Biological Reviews, 2013, 88(1): 49-61.

[21] Sharp P M, Emery L R, Zeng K. Forces that influence the evolution of codon bias[J]. Philosophical Transactions of the Royal Society of London, 2010, 365(1544): 1203-1212.

[22] 梁 娥, 齐敏杰, 丁延庆, 等. 竹节参转录组使用密码子偏好性分析[J]. 江苏农业科学, 2019, 47(2): 59-63.

[23] 辛雅萱, 黎若竹, 李 鑫, 等. 杠果叶绿体基因组密码子使用偏好性分析[J]. 中南林业科技大学学报, 2021, 41(9): 148-156, 165.

[24] 侯 哲, 娄晓鸣, 李 昂, 等. 星毛唐草叶绿体基因组的测序及其密码子偏好性分析[J]. 西南林业大学学报(自然科学),

2023, 43(5): 47-56.

[25] 刘 慧, 王梦醒, 岳文杰, 等. 糜子叶绿体基因组密码子使用偏性的分析[J]. 植物科学学报, 2017, 35(3): 362-371.

[26] 陆奇丰, 骆文华, 黄至欢. 两种梧桐叶绿体基因组密码子使用偏性分析[J]. 广西植物, 2020, 40(2): 173-183.

[27] 王鹏良, 吴双成, 杨利平, 等. 巨桉叶绿体基因组密码子偏好性分析[J]. 广西植物, 2019, 39(12): 1583-1592.

[28] 吴宪明, 吴松峰, 任大明, 等. 密码子偏性的分析方法及相关研究进展[J]. 遗传, 2007, 29(4): 420-426.

[29] 童一涵, 郑 倩, 杜新明, 等. 多齿红山茶叶叶绿体基因组序列特征分析[J]. 植物资源与环境学报, 2022, 31(5): 27-36.

[30] 段祥光, 于 涛, 曹 萌, 等. 樟叶槭叶绿体基因组序列密码子偏性分析[J]. 西北林学院学报, 2023, 38(1): 102-107.