

包雨莹,彭先蕊,潘若云,等. 百香果 SUS 基因家族鉴定与表达分析[J]. 江苏农业科学,2024,52(11):45-51.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2024.11.006

百香果 SUS 基因家族鉴定与表达分析

包雨莹,彭先蕊,潘若云,任锐,方庭

(福建农林大学园艺学院/福建农林大学园艺植物遗传育种研究所,福建福州 350002)

摘要:百香果(*Passiflora edulis* Sims)虽原产热带地区,但高温也会影响其开花坐果,进而影响产量。果实糖含量不仅影响果实风味品质,还可以作为渗透调节物质参与高温、干旱、盐害等逆境胁迫。蔗糖合成酶(sucrose synthase, SUS)是蔗糖代谢的关键酶之一,在植物糖积累及非生物胁迫响应中具有重要功能。对百香果 SUS 基因家族成员进行鉴定和生物信息学分析,并分析其在低温胁迫下的表达变化。运用生物信息学方法,对百香果蔗糖合成酶基因进行全基因组鉴定与基因结构、系统发育关系、蛋白质保守功能域、染色体定位分析,利用转录组数据分析其表达模式,利用 qRT-PCR 技术分析其在高温处理下的表达。结果显示,百香果中包含 5 个 SUS 基因,分布在 4 条染色体上,外显子数量为 13~15 个。5 个 SUS 基因家族成员可分为三大类,即 SUS I、SUS II、SUS III,百香果 SUS 基因家族成员启动子中含有激素响应、逆境响应相关的顺式作用元件。表达模式分析表明,*PeSUS3* 基因在百香果叶片和果皮中的表达量均较高。qRT-PCR 分析表明,*PeSUS1*、*PeSUS2* 基因在高温处理后表达量显著下降,*PeSUS5* 基因表达量显著性上升,说明 *PeSUS1*、*PeSUS2*、*PeSUS5* 基因可能在百香果高温胁迫中发挥重要的调控作用。

关键词:百香果;蔗糖合酶;高温胁迫;表达分析

中图分类号:S667.901 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2024)11-0045-06

百香果(*Passiflora edulis* Sims)是西番莲科西番莲属藤本植物,别名鸡蛋果、洋石榴等,原产于大、小安的列斯群岛,目前广泛种植于我国广东、海南、福建、云南、台湾等省份^[1]。百香果具有很高的食用、观赏和药用价值,近年来在我国热带和亚热带地区得到广泛推广^[2-3]。

可溶性糖含量是果实风味品质形成的主要因素,果实中的可溶性糖主要包括蔗糖、葡萄糖、果糖等^[4-5]。高等植物在进行光合作用的过程中会产生大量蔗糖,蔗糖合成酶(sucrose Synthase, SUS)则在植物蔗糖代谢生理过程中发挥关键作用,对蔗糖的转运和积累有着重要影响^[6]。蔗糖合成酶最早是在小麦胚芽中被发现的^[7],主要起分解蔗糖的作用,参与植物生长发育的多个过程,如源、库组织之间蔗糖的分配^[8]、淀粉的生物合成^[9]、植物纤维素的

的合成^[10]、非生物胁迫响应^[11]等。

近年来,随着测序技术的飞速发展,许多植物的基因组信息被破译,为 SUS 基因家族成员的鉴定奠定了基础。陈成等从海沃德猕猴桃基因组中鉴定出 7 个 SUS 成员,发现 *AdSUS2.2* 与果实中蔗糖、果糖、葡萄糖含量的相关性最高,说明其是调控猕猴桃果实蔗糖合成积累的重要基因^[12]。王亚娜等鉴定了 6 个柠檬蔗糖代谢关键酶 *CISUS* 基因家族成员,qRT-PCR 分析表明,*CISUS4* 基因对柠檬果实可溶性糖积累可能具有重要作用^[13]。吕佳红等从梨中鉴定出 17 份 *SUS* 基因家族成员,qRT-PCR 分析、调控网络分析表明,*PbrSUS2*、*PbrSUS15* 可能参与调控梨果实的蔗糖合成与积累^[14]。

百香果基因组测序在 2021 年完成^[1],这表明在全基因组水平上进行百香果相关基因家族分析成为可能。何锐杰等从百香果基因组中鉴定出 11 个 *CHS* 基因家族成员,发现 *PeCHS* 基因在果皮颜色的形成及逆境胁迫条件下发挥重要作用^[15]。Liang 等研究鉴定了 138 个百香果 *bHLH* 基因家族成员,筛选出可能调控不同花器官和果实发育的 *PebHLHs* 基因,其中许多基因在不同胁迫处理下存在表达差异^[16]。百香果 SUS 基因家族成员的鉴定与分析迄今未见报道。本研究基于基因组信息对百香果 SUS

收稿日期:2023-07-27

基金项目:福建省自然科学基金(编号:2021J05022);福建省种业创新与产业化工程项目(编号:zyexny2021010);福建省高原学科建设经费(编号:102/71201801101)。

作者简介:包雨莹(1999—),女,浙江台州人,硕士研究生,主要从事果树遗传育种方面的研究。E-mail:304492734@qq.com。

通信作者:方庭,博士,副教授,主要从事果树遗传育种方面的研究。E-mail:fangting@fafu.edu.cn。

基因家族成员进行鉴定,分析其在高温胁迫下的表达变化,以期为百香果 SUS 基因功能的进一步研究提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验时间和地点

试验于 2023 年 4—5 月在福建农林大学园艺学院园艺植物细胞与分子遗传学实验室完成。

1.2 百香果 SUS 基因家族成员的鉴定

从拟南芥基因组数据库 TAIR (<https://www.arabidopsis.org/>) 获取拟南芥 SUS 蛋白序列,从国家基因库生命大数据平台 (China National GeneBank DataBase, CNGBdb) 获取百香果基因组序列^[1]。选用模式植物拟南芥的 SUS 基因成员蛋白序列为 query,在百香果的蛋白质数据库中进行同源对比,条件设定为 E 值 $< 1 \times 10^{-5}$,筛选出百香果 SUS 基因家族候选序列,进一步利用 NCBI - CCD (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/cdd>) 和 Pfam 数据库 (<https://www.ebi.ac.uk/interpro/entry/pfam/#table>) 对其结构域进行鉴定,将仅含有蔗糖合成酶结构域 (sucrose - synth, PF00862) 和糖基转移酶结构域 (glycos - transf - 1, PF00534) 的蛋白序列作为百香果 SUS 基因家族候选序列^[17]。

1.3 百香果 SUS 基因编码的蛋白质理化性质分析

运用 TBtools 软件进行百香果蔗糖合成酶 (SUS) 蛋白理化性质分析。通过 DeepTMHMM (<https://dtu.biolib.com/DeepTMHMM>)、SignalP - 4.1 ([https://services.healthtech.dtu.dk/services/SignalP - 4.1/](https://services.healthtech.dtu.dk/services/SignalP-4.1/))、WoLF PSORT (<https://wolfpsort.hgc.jp/>) 在线软件,分别预测蛋白跨膜结构、信号肽、亚细胞定位情况。

1.4 百香果 SUS 基因的染色体定位、基因结构、系统进化和保守 motif 分析

运用 MG2C (http://mg2c.iask.in/mg2c_v2.0/) 网站在线分析预测百香果 SUS 家族成员的染色体定位;运用 TBtools 软件分析百香果 SUS 家族成员的基因结构;运用 MEME Suite 在线软件 (<https://meme-suite.org/meme/tools/meme>) 预测百香果 SUS 蛋白保守 Motif 图,Motif 数量设置为 8,其余参数默认不作设置。将拟南芥、水稻的 SUS 基因家族成员与百香果的进行多序列比对后,利用 MEGA 11 软件构建进化树,Bootstrap 重复 1 000 次,其余参数默认不作设置。

1.5 百香果 SUS 基因启动子的顺式作用元件分析

利用 Tbttools 提取基因成员转录起始位点上游 2 000 bp 的序列,利用 PlantCARE (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>) 进行 PeSUS 基因顺式作用元件预测,并进一步利用 Tbttools 进行数据可视化处理。

1.6 百香果 SUS 基因家族成员的表达模式分析

基于从 NCBI 获得的公共转录组数据 (PRJNA634206) 和笔者所在课题组保存的百香果转录组数据,分析百香果 SUS 基因家族成员在不同品种果皮和叶片中的表达模式。基于 FPKM (每 1 000 个碱基的转录每百万映射读取的碎片) 定量分析各基因表达水平,并利用 TBtools 软件绘制表达热图。

1.7 百香果 SUS 基因在高温处理下的表达分析

对苗龄为 2 个月的钦蜜 9 号百香果幼苗进行 40 ℃ 高温胁迫处理 6 h,以 28 ℃ 生长的植株为对照,处理、对照各设 3 株。处理完成后,取相同部位的百香果叶片样品并立即用液氮冷冻,在 -80 ℃ 保存备用。采用天根生化科技 (北京) 有限公司的 RNAprep Pure 多糖多酚植物 RNA 提取试剂盒提取 RNA;cDNA 合成按照 TransGen 的 TransScript® One - Step gDNA Removal and cDNA Synthesis SuperMix 试剂盒进行^[15]。选用 *Pe60S* 基因作为内参基因^[18],采用实时荧光定量 PCR 检测各基因的表达量水平,所用引物序列见表 1。所用试剂为 SYBR Green I Master Mix (TaKaRa),所用仪器为 LightCycler 96 Real - Time PCR Systems (Roche)。使用 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 方法^[19] 计算相对表达量,并利用 SPSS 软件中的 Duncan's 新复极差法对试验数据进行显著性分析。利用 Prism 9 软件绘制柱形图。

表 1 用于百香果 SUS 基因家族成员实时荧光定量 PCR 的引物

基因	正向引物序列 (5'→3')	反向引物序列 (5'→3')
<i>Pe60S</i>	AGTGGGTAACAGGATTATC	TGGCTGTCTTTTGCTGCTG
<i>PeSUS1</i>	CGAGAAGGGGTGGGGAGA	GGATCCGGTGCTTGGAGG
<i>PeSUS2</i>	CAATGGTGGCCCTGCTGA	GGAGTTACAGCGGCTTGTT
<i>PeSUS3</i>	GAAGCCCCCAGGAGAGGA	CTGCTTCTCTCGGCGCTT
<i>PeSUS4</i>	TCAGGCAGCTGAGACCCCT	GCTTGAGGCCACCCTGAG
<i>PeSUS5</i>	TTGAGGCCATGACCTGCG	TTGAGGCCATGACCTGCG

2 结果与分析

2.1 百香果 SUS 基因家族成员的鉴定

由表 2 可知,从百香果基因组中鉴定出 5 个

SUS 成员,命名为 *PeSUS1* ~ *PeSUS5*。其中 *PeSUSs* 较小,为 2 391 ~ 2 520 bp。G + C 含量为 0.40 ~ 0.42, A + T 含量为 0.58 ~ 0.60。

表 2 百香果 SUS 基因家族成员基本信息

基因名称	基因 ID	基因全长 (bp)	编码区长 (bp)	G + C	A + T
<i>PeSUS1</i>	ZX.01G0048920	4 977	2 472	0.41	0.59
<i>PeSUS2</i>	ZX.04G0002590	5 120	2 520	0.41	0.59
<i>PeSUS3</i>	ZX.06G0029520	6 765	2 442	0.40	0.60
<i>PeSUS4</i>	ZX.09G0012760	4 117	2 397	0.41	0.59
<i>PeSUS5</i>	ZX.09G0013180	3 968	2 391	0.42	0.58

2.2 百香果 SUS 蛋白理化性质分析

由表 3 可知,*PeSUS5* 基因有最少的氨基酸数 (796 个)、分子量 (91 523.73 u),*PeSUS2* 有最多的氨基酸数 (839 个)、分子量 (96 524.79 u);蛋白质等电点在 5.37 ~ 6.89 之间,均 < 7,说明均为酸性蛋白;5 个家族成员的不稳定系数均在 40 以下,说明

这些蛋白质较稳定,其中 *PeSUS2* 基因具有最强的稳定性;脂肪系数为 84.50 ~ 94.64;平均亲水性系数均为负值,说明百香果 *SUS* 基因家族蛋白均为亲水性蛋白;由亚细胞定位分析可见,百香果 *SUS* 基因表达产物大部分定位于细胞质中,因此可推测该家族蛋白主要参与胞质基因组转录调控。

表 3 百香果 SUS 家族成员的蛋白质理化性质分析

基因名称	氨基酸数 (个)	分子量 (u)	等电点	不稳定系数	脂肪系数	平均亲水指数	亚细胞定位
<i>PeSUS1</i>	823	93 610.19	6.89	32.66	84.50	-0.338	细胞质
<i>PeSUS2</i>	839	96 524.79	6.00	31.76	94.55	-0.259	细胞质
<i>PeSUS3</i>	813	93 021.56	6.04	39.02	90.65	-0.277	细胞质
<i>PeSUS4</i>	798	90 976.03	5.37	34.69	91.24	-0.208	细胞核、细胞质
<i>PeSUS5</i>	796	91 523.73	5.91	31.77	94.64	-0.289	线粒体、叶绿体

2.3 百香果 SUS 基因家族染色体定位分析

如图 1 所示,百香果 5 个 *SUS* 基因分布在 1、4、6、9 号染色体上,其中 9 号染色体上有 2 个成员,其余 3 条染色体上各含有 1 个成员。

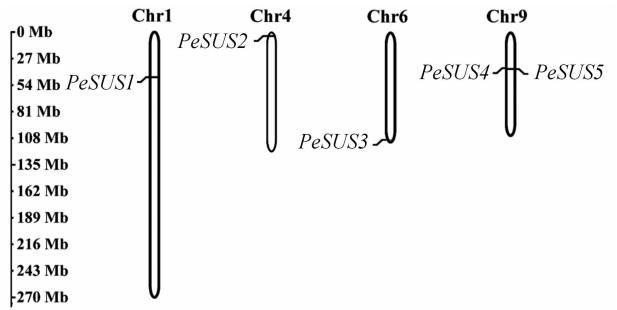


图1 百香果 SUS 基因家族成员的染色体定位

含子数量较多,介于 12 ~ 14 个之间;其中 *PeSUS3* 基因最多,含有 14 个,*PeSUS2* 基因最少,含有 12 个。

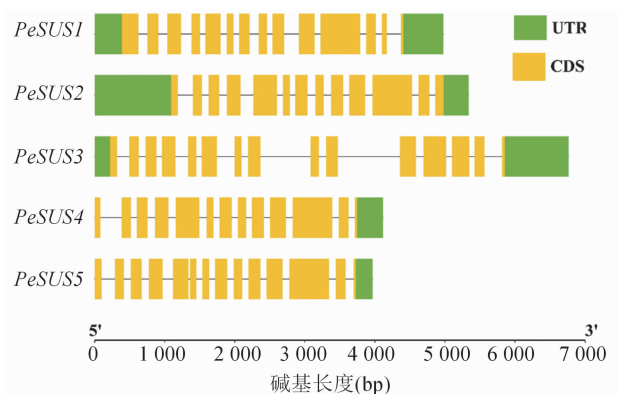


图2 百香果 SUS 基因家族成员的基因结构

2.4 百香果 SUS 基因家族成员的基因结构及编码的蛋白质的保守基序分析

如图 2 所示,百香果 *SUS* 基因家族成员含有内

由图 3 可知,百香果 *SUS* 基因家族成员之间所包含的保守基序的种类、数量、位置均存在不同程度的差异,大致可分为 3 类,成员 *PeSUS1* 包含 Motif 1 ~ Motif 11、Motif 13 ~ Motif 17、Motif 19;成员

PeSUS3、*PeSUS4* 相较于成员 *PeSUS1* 多了 Motif 18；成员 *PeSUS2*、*PeSUS5* 相较于成员 *PeSUS3*、*PeSUS4* 多了 Motif 20。其中 Motif 1 ~ Motif 11、Motif 13 ~

Motif 17、Motif 19 的保守性最高,因此 Motif 1 ~ Motif 11、Motif 13 ~ Motif 17、Motif 19 是百香果蔗糖合酶基因编码蛋白的重要组件。

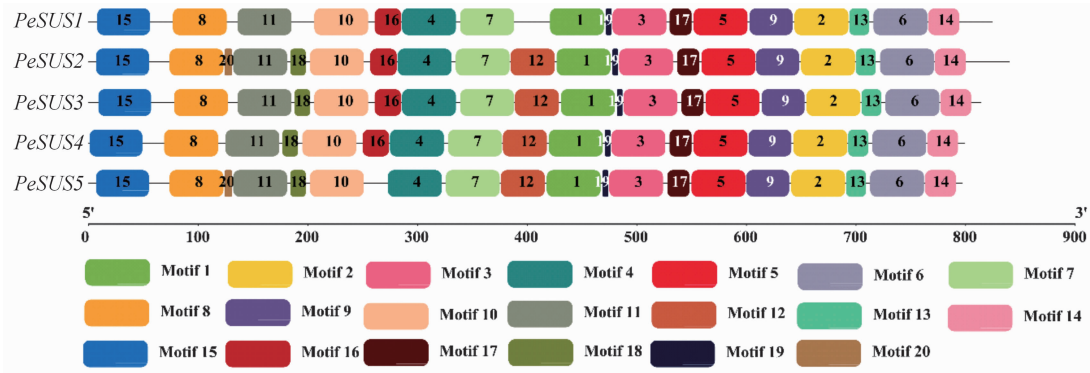
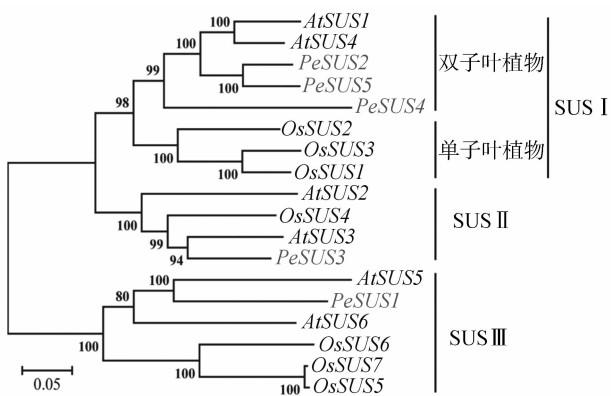


图3 百香果 SUS 基因家族的保守基序

2.5 百香果 SUS 基因家族的进化分析

将拟南芥 SUS 基因家族、水稻 SUS 基因家族、百香果 SUS 基因家族成员进行多序列比对,其进化树如图 4 所示。结果显示,SUS 基因家族共分为 3 个亚家族,其中 *PeSUS2*、*PeSUS4*、*PeSUS5* 属于 SUS I 亚家族,*PeSUS1* 属于 SUS III 亚家族,*PeSUS3* 属于 SUS II 亚家族。



各基因登录号如下: *AtSUS1*(At5g20830)、*AtSUS2*(At5g49190)、*AtSUS3*(At4g02280)、*AtSUS4*(At3g43190)、*AtSUS5*(At5g37180)、*AtSUS6*(At1g73370)、*OsSUS1*(XP_015629843.1)、*OsSUS2*(XP_015643025.1)、*OsSUS3*(XP_015644807.1)、*OsSUS4*(XP_015632177.1)、*OsSUS5*(XP_015634172.1)、*OsSUS6*(XP_015626470.1)、*OsSUS7*(XP_015634274.1)

图4 百香果 SUS 基因家族成员的系统进化树

2.6 百香果 SUS 基因家族成员启动子的顺式作用元件分析

如图 5 所示,*PeSUS* 基因家族共鉴定出 16 种不同顺式作用元件,包括参与干旱诱导 MYB 结合位点、低温、分生组织表达、光、茉莉酸甲酯、胚乳表达、赤霉素、创伤、缺氧特异性诱导增强子、防御和胁迫、生长素、水杨酸、脱落酸、厌氧诱导、蛋白质结合位点和玉米代谢顺式作用元件,大致可分为 3 类,

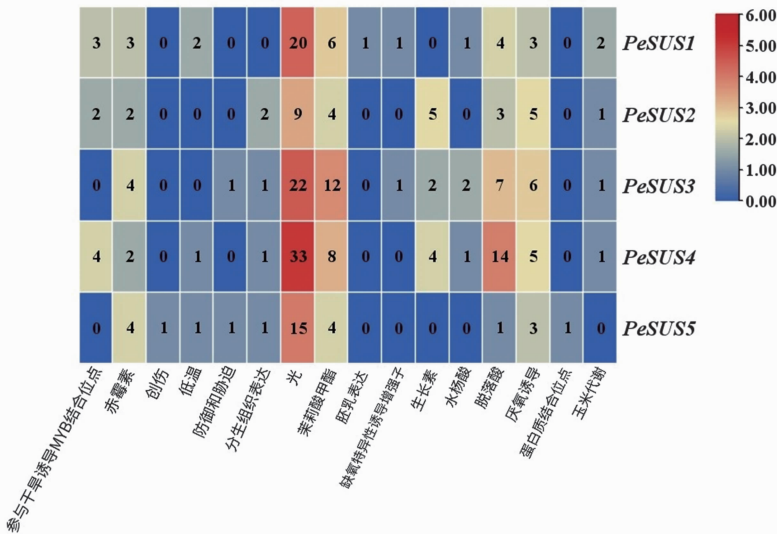
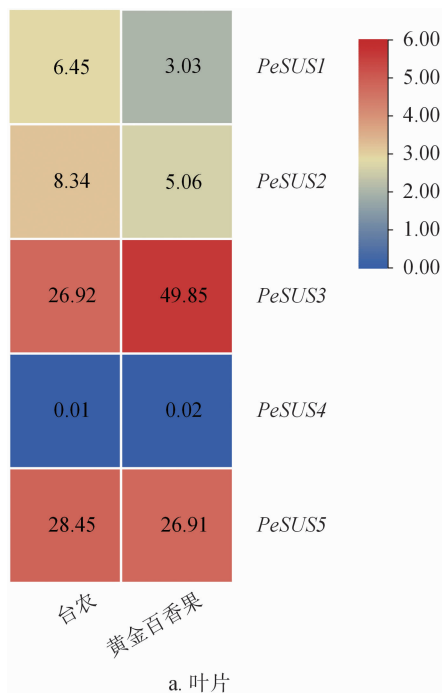


图5 百香果 SUS 基因家族成员启动子的顺式作用元件分析

即生长发育相关、激素相关、逆境相关,表明 *PeSUS* 家族在百香果的不同生长阶段以及应对不同的环境条件都具有重要的作用。其中,生长发育相关的顺式作用元件占比最多,尤其是光顺式作用元件,说明 *PeSUS* 家族对百香果生长发育调控具有重要作用。

2.7 百香果 *SUS* 基因家族成员的组织表达模式分析

如图 6 所示,百香果 *SUS* 各基因在叶片中的表达量有差别,其中 *PeSUS3* 基因的表达量最高,*PeSUS5* 基因的表达量位于其次,*PeSUS1*、*PeSUS2* 基因的表达量较低,*PeSUS4* 基因在叶片中几乎不表



达;推测 *PeSUS3* 对百香果叶片生长具有一定作用。5 个成员在不同发育时期果实果皮中的表达趋势与叶片中基本一致。

2.8 百香果 *SUS* 基因在高温处理下的表达分析

如图 7 所示,对钦蜜 9 号百香果进行 6 h 的高温胁迫处理后,对其 *PeSUS* 基因进行表达分析。其中,*PeSUS1*、*PeSUS2* 基因的表达量均显著下调 ($P < 0.05$), *PeSUS5* 基因的表达量极显著上调 ($P < 0.01$);而 *PeSUS3* 基因的表达量有所下降,*PeSUS4* 基因的表达量有所上升,但两者表达量变化均无显著性差异。

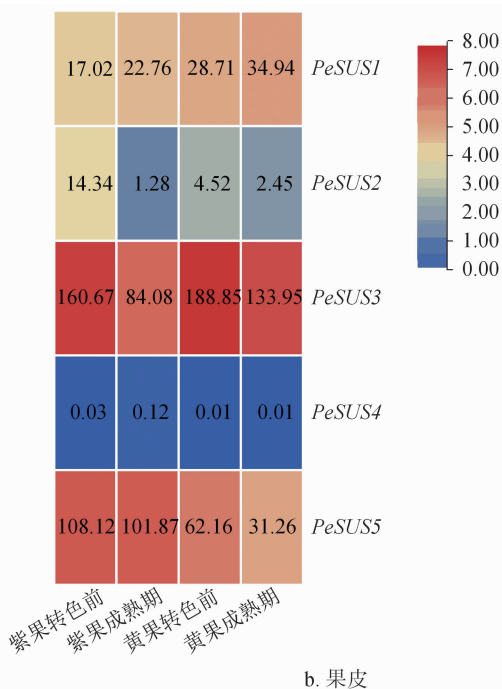


图6 百香果 *SUS* 基因家族成员的表达模式分析

3 讨论

本研究发现,百香果 *SUS* 基因家族中含有 5 个成员,其数量与目前已发现的一些物种相似,即拟南芥有 6 个^[17]、水稻有 7 个^[20]、柠檬有 6 个^[13]、辣椒有 5 个^[21]等。5 个家族成员基因结构相似,进化分析结果显示,百香果中的 *SUS* 成员分为 3 个亚家族,类似的结果在拟南芥^[17]、豌豆^[9]、无籽蜜柚^[22]中都有发现。基因的组织表达模式与其功能特征密切相关,利用转录组数据开展的基因表达模式分析表明,*PeSUS3* 基因在百香果 2 个品种的叶片、果皮中表达量均最高,推测此基因在百香果生长发育过程中可能担任较为重要的角色,但未来还需进一步探究该基因的具体生理作用和调控机

制等。

前人的相关研究已经表明,*SUS* 家族成员在植物逆境胁迫中发挥重要作用,例如 *BoSUS1a*、*BoSUS1b* 基因表达水平在低温处理后的耐冷甘蓝 CT-923 叶片中急剧升高^[23],干旱胁迫下发菜 *Sus2* 在转录水平的表达量逐渐增加^[24]。部分研究的启动子顺式作用元件分析发现,百香果 *SUS* 基因家族成员启动子存在大量的逆境响应元件,暗示该家族基因可能也会参与百香果的逆境胁迫响应。高温处理后 *PeSUS1*、*PeSUS2* 基因的表达量显著下降,*PeSUS5* 基因的表达量极显著上升,说明 *PeSUS1*、*PeSUS2*、*PeSUS5* 基因在高温胁迫中发挥重要调控作用。

本研究从百香果基因组中鉴定出 5 个 *PeSUS* 基因家族成员,其编码的氨基酸具有不同的理化性

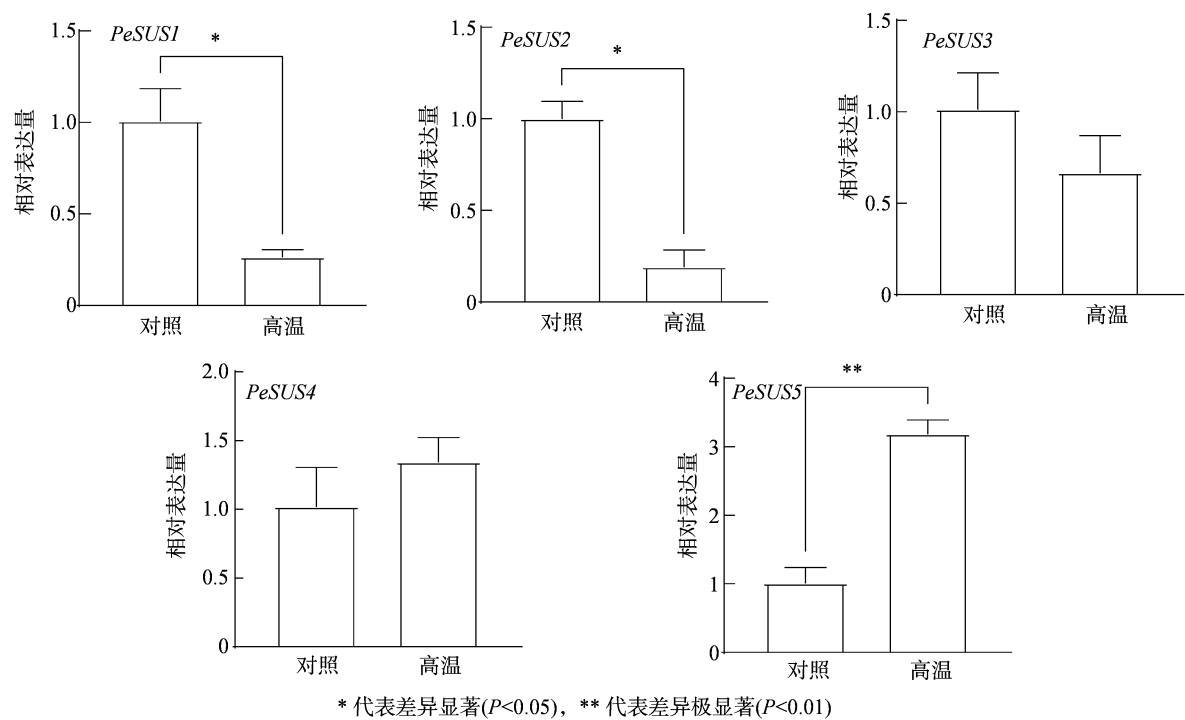


图7 百香果 SUS 基因在高温处理下的表达分析

质。系统进化树显示 5 个 PeSUS 蛋白被分为 3 个亚家族,且亚家族 I 中包含 3 个成员。*PeSUS3* 基因在 2 个品种叶片和果皮中的表达量最高,很可能在百香果叶片蔗糖合成和运输中发挥作用。*PeSUS3* 基因的生物学功能还需进一步研究验证,期待本研究结果可为 PeSUS 候选基因功能的深入研究提供理论基础,为百香果的分子育种提供一定的理论依据和基因资源。

参考文献:

[1] Ma D N, Dong S S, Zhang S C, et al. Chromosome - level reference genome assembly provides insights into aroma biosynthesis in passion fruit (*Passiflora edulis*) [J]. Molecular Ecology Resources, 2021, 21 (3) : 955 - 968.

[2] 唐语琪, 杨其军, 冼淑颜, 等. 百香果产业支撑乡村振兴的现状与对策建议 [J]. 中国农业文摘 (农业工程), 2021, 33 (3) : 31 - 32, 60.

[3] Xia Z Q, Huang D M, Zhang S K, et al. Chromosome - scale genome assembly provides insights into the evolution and flavor synthesis of passion fruit (*Passiflora edulis* Sims) [J]. Horticulture Research, 2021, 8 : 14.

[4] Fang T, Peng Y, Rao Y, et al. Genome - wide identification and expression analysis of sugar transporter (ST) gene family in Longan (*Dimocarpus longan* L.) [J]. Plants, 2020, 9 (3) : 342.

[5] Vimolmangkang S, Zheng H Y, Peng Q, et al. Assessment of sugar components and genes involved in the regulation of sucrose accumulation in peach fruit [J]. Journal of Agricultural and Food

Chemistry, 2016, 64 (35) : 6723 - 6729.

[6] Koramutla M K, Ram C, Bhatt D, et al. Genome - wide identification and expression analysis of sucrose synthase genes in allotetraploid *Brassica juncea* [J]. Gene, 2019, 707 : 126 - 135.

[7] Cardini C E, Leloir L F, Chiriboga J. The biosynthesis of sucrose [J]. Journal of Biological Chemistry, 1955, 214 (1) : 149 - 155.

[8] Haigler C H, Ivanova - Datcheva M, Hogan P S, et al. Carbon partitioning to cellulose synthesis [J]. Plant Molecular Biology, 2001, 47 (1/2) : 29 - 51.

[9] Paul Barratt D H, Barber L, Kruger N J, et al. Multiple, distinct isoforms of sucrose synthase in pea [J]. Plant Physiology, 2001, 127 (2) : 655 - 664.

[10] Fujii S, Hayashi T, Mizuno K. Sucrose synthase is an integral component of the cellulose synthesis machinery [J]. Plant and Cell Physiology, 2010, 51 (2) : 294 - 301.

[11] Harada T, Satoh S, Yoshioka T, et al. Expression of sucrose synthase genes involved in enhanced elongation of pondweed (*Potamogeton distinctus*) turions under anoxia [J]. Annals of Botany, 2005, 96 (4) : 683 - 692.

[12] 陈 成, 王 依, 杨 勇, 等. 猕猴桃蔗糖合酶基因家族鉴定及果实发育过程表达分析 [J]. 分子植物育种, 2023, 21 (12) : 3866 - 3875.

[13] 王亚娜, 卢 闯, 杨云龙, 等. 柠檬蔗糖代谢关键酶基因家族鉴定及表达分析 [J]. 南方农业学报, 2023, 54 (5) : 1327 - 1340.

[14] 吕佳红, 王英珍, 程 瑞, 等. 梨蔗糖合成相关酶 SUS 和 SPS 基因家族的鉴定与表达分析 [J]. 园艺学报, 2018, 45 (3) : 421 - 435.

[15] 何锐杰, 方 庭, 余伟军, 等. 西番莲查尔酮合成酶 (CHS) 基因家族全基因组鉴定及表达模式 [J]. 应用与环境生物学报,

纪艺红,索梅芹,邵子莹,等. 马铃薯 *StNAC6* 基因克隆及干旱胁迫表达分析[J]. 江苏农业科学,2024,52(11):51-60.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2024.11.007

马铃薯 *StNAC6* 基因克隆及干旱胁迫表达分析

纪艺红,索梅芹,邵子莹,张 宁,王 磊

(河北北方学院,河北张家口 075000)

摘要: NAC 对植物种子发育、细胞分裂分化、侧根形成等都有直接影响,它与 DNA 元件相结合发挥作用,能够有效提高植物的抗逆性。通过 PCR 方法从马铃薯冀张薯 8 号中克隆获得了 1 个 *StNAC6* 基因,并对 *StNAC6* 基因进行生物信息学分析,包含序列比对、理化性质预测、进化分析等。使用冀张薯 8 号组培苗作为试验材料,用浓度为 10%、15% 和 20% 的聚乙二醇 6000 (PEG-6000) 处理 0、6、12、24 h 后,分析干旱胁迫下的表达模式,并在马铃薯开花期,采取不同的组织(花、根、茎、叶、块茎、匍匐茎)进行组织表达分析。结果表明,马铃薯 *NAC6* 基因全长为 876 bp,共编码 291 个氨基酸,包含 1 个 NAM 结构域;等电点为 7.04,相对分子量为 33.619 15 ku;*StNAC6* 蛋白均含有丝氨酸、苏氨酸和酪氨酸 3 种氨基酸磷酸化位点,属于不稳定亲水性蛋白;*StNAC6* 第 74、262 位氨基酸存在 N-糖基化位点;预测 *StNAC6* 定位于细胞核。荧光定性 PCR 结果显示,在不同含量 PEG 胁迫处理下,马铃薯 *StNAC6* 基因的相对表达量不相同,存在明显差异,说明该基因参与干旱应急响应;*StNAC6* 基因在马铃薯茎、花中的相对表达量最高,说明其可能参与马铃薯生长调控。研究结果可为今后深入探究马铃薯 *NAC6* 转录因子的功能和调控机制奠定基础。

关键词: 马铃薯; *NAC6*; 基因克隆; 干旱胁迫; *NAC* 转录因子

中图分类号: S532.034 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2024)11-0051-10

马铃薯是茄科茄属草本植物,在国内外广泛种植,目前已成为世界上仅次于玉米、水稻和小麦的

第四大粮食作物。目前,由于马铃薯在农业生产发展中具有重要地位,我国正在大力推进马铃薯主食化^[1]。但马铃薯在种植和生产过程中经常遭受干旱等逆境胁迫,造成大面积减产,带来严重的经济损失。因此,培育抗逆马铃薯新品种成为农业生产和农业研究的重要方向^[2-4]。NAC 转录因子是植物中独特的调节蛋白,NAC 来源于矮牵牛的 NAM 基因、拟南芥中克隆出来的 *ATAF1/ATAF2*、*CUC1/CUC2* 基因,名称来自三者的首字母^[5-6]。

收稿日期:2023-08-16

基金项目:河北省高等学校科学技术研究项目(编号:QN2021011);

河北北方学院自然科学面上项目(编号:XJ2023020)。

作者简介:纪艺红(1990—),女,河北张家口人,博士研究生,助理研究员,研究方向为分子抗逆育种。E-mail:281030822@qq.com。

通信作者:王 磊,博士,讲师,研究方向为马铃薯种质资源创新。

E-mail:wanglei@hebeinu.edu.cn。

2022,28(4):1066-1075.

[16] Liang J X, Fang Y Y, An C, et al. Genome-wide identification and expression analysis of the bHLH gene family in passion fruit (*Passiflora edulis*) and its response to abiotic stress [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2023, 225: 389-403.

[17] Baud S, Vaultier M, Rochat C. Structure and expression profile of the sucrose synthase multigene family in *Arabidopsis* [J]. Journal of Experimental Botany, 2004, 55(396): 397-409.

[18] Munhoz C F, Santos A A, Arenhart R A, et al. Analysis of plant gene expression during passion fruit - *Xanthomonas axonopodis* interaction implicates lipoxygenase 2 in host defence [J]. Annals of Applied Biology, 2015, 167(1): 135-155.

[19] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C_t}$ method [J].

Methods, 2001, 25(4): 402-408.

[20] Hirose T, Scofield G N, Terao T. An expression analysis profile for the entire sucrose synthase gene family in rice [J]. Plant Science, 2008, 174(5): 534-543.

[21] 魏华伟, 柴松琳, 胡克玲, 等. 辣椒属蔗糖合酶基因家族的鉴定及表达 [J]. 分子植物育种, 2019, 17(14): 4537-4544.

[22] 邓舒雅, 麦贻婷, 陈惠萍, 等. 无籽蜜柚蔗糖合成酶(SUS)和蔗糖转化酶(INV)基因家族生物信息学及表达分析 [J]. 植物生理学报, 2018, 54(10): 1576-1586.

[23] 张 伟, 余方伟, 李建斌, 等. 甘蓝蔗糖合成酶基因家族鉴定及响应低温胁迫表达模式分析 [J]. 江苏农业科学, 2021, 49(2): 24-32.

[24] 李晓旭, 丁苗苗, 刘 阳, 等. 干旱胁迫下发菜蔗糖合成酶基因 *Sus2* 克隆与差异表达 [J]. 分子植物育种, 2018, 16(20): 6662-6669.