

赵 双, 尤伟忠, 汪 溢, 等. 基于转录组分析枇杷响应干旱胁迫的分子机制[J]. 江苏农业科学, 2024, 52(17): 27–34.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2024.17.004

# 基于转录组分析枇杷响应干旱胁迫的分子机制

赵 双<sup>1,2</sup>, 尤伟忠<sup>2</sup>, 汪 溢<sup>1</sup>, 郝红丽<sup>2,3</sup>

(1. 苏州农业职业技术学院, 江苏苏州 215008; 2. 江苏省太湖常绿果树技术推广中心, 江苏苏州 215107;

3. 江苏省农业种质资源保护与利用平台, 江苏南京 210014)

**摘要:**为了探索枇杷对于干旱胁迫响应和耐受性的分子机制, 鉴定可用于培育抗旱枇杷新品种的关键基因, 为枇杷抗旱机制提供理论依据, 以白玉枇杷为试验材料, 通过转录组测序(RNA-Seq)筛选响应干旱胁迫的差异表达基因。以正常供水为对照, 进行短期干旱胁迫处理, RNA-Seq 筛选差异表达基因(DEG), 并对差异表达基因进行 GO 和 KEGG 功能富集分析。结果表明, RNA-Seq 共鉴定出 3 270 个 DEG, 其中上调 1 810 个, 下调 1 460 个。GO 富集分析表明, 一些胁迫响应基因在干旱处理后显著上调。KEGG 富集分析表明, 植物 MAPK 信号通路、植物激素信号转导、类胡萝卜素生物合成等相关 DEG 在响应胁迫中发挥关键作用。对 DEG 深入分析发现, 干旱胁迫后, 抗氧化酶基因、脱落酸(ABA)生物合成基因 *NCED*、ABA 信号通路基因显著上调。此外, 通过分析转录因子, 发现枇杷主要通过调控 bHLH、bZIP、AP2/ERF、GRAS、HD-Zip、MYB、MYB\_related、NAC、WRKY 这 9 个家族转录因子的表达来响应干旱。

**关键词:**枇杷; 干旱胁迫; 转录组分析; 差异基因表达

**中图分类号:**S667.301 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2024)17-0027-07

枇杷(*Eriobotrya japonica*)原产于我国, 是典型的亚热带常绿果树。枇杷果实于夏初成熟, 味酸甜, 皮薄多汁, 营养丰富, 深受人们喜爱; 白肉枇杷是枇杷中的极品, 已被江苏省列为重点发展的应时鲜果之一<sup>[1-2]</sup>。枇杷根系分布浅, 须根稀少, 对水分要求较高; 我国枇杷果园大多建在灌溉条件差的山坡上, 特别容易受干旱胁迫影响<sup>[3-5]</sup>。季节性干旱严重影响枇杷树体的生长发育及其果实的产量与品质<sup>[6-7]</sup>。江苏省苏州市是我国枇杷传统种植四大产区之一。近年来高温、干旱等极端天气时有发生, 严重影响苏州市枇杷产业的发展。目前有关枇杷耐旱性的研究仍相对较少, 亟待进行探索枇杷对干旱胁迫响应和耐受性的分子机制、鉴定可用于培

育抗旱枇杷新品种关键基因等相关研究。

RNA-Seq 技术是识别新转录本和分析基因表达谱的有力方法。近年来, 研究人员利用 RNA-Seq 技术对枇杷特定生物学性状的转录组进行分析, 并成功鉴定出大量候选基因或转录本<sup>[8-12]</sup>。本研究对白玉枇杷品种进行干旱胁迫处理, 利用 RNA-Seq 技术进行转录组分析以探索枇杷响应干旱胁迫的分子机制, 以期探索参与枇杷抗旱响应的基因表达模式和信号通路提供新思路, 也为枇杷的抗旱基因工程育种提供理论基础和技术支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料与处理方法

本研究于 2023 年 3—6 月在江苏省常绿果树工程研究中心进行。选择长势一致、健康且种植于营养质量相同基质的 2 年生白玉枇杷植株, 在苏州农业职业技术学院东山校区(120°40'E, 31°08'N)温室中进行干旱处理。将白玉枇杷植株浇透水后计为 0 d, 并收集枇杷叶片样品; 而后停止供水, 使其遭受干旱胁迫, 并于干旱处理 9 d 时收集枇杷叶片样品。干旱处理 0 d 设为对照组, 干旱处理 9 d 设为处理组。所有样品立即使用液氮速冻, 在 -80 ℃ 超低温冰箱中保存, 以便用于后续 RNA-Seq 和实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)分析。

收稿日期: 2023-09-26

基金项目: 江苏省高等学校基础科学(自然科学)研究面上项目(编号: 22KJD210003); 江苏省珍稀树种白沙枇杷种质资源保护与培育长期科研基地项目(编号: LYKJ[2020]28); 江苏省现代农业(特色果树)产业技术体系建设专项(编号: JATS[2021]395); 苏州农业职业技术学院博士提升计划科研启动基金(编号: BS[2022]01)。

作者简介: 赵 双(1990—), 女, 山东聊城人, 博士, 讲师, 主要从事果树生理生态和分子育种研究。E-mail: zhsh812972738@126.com。

通信作者: 郝红丽, 硕士, 高级农艺师, 研究方向为常绿果树种质资源收集与评价。E-mail: 75864268@qq.com。

1.2 白玉枇杷叶片总 RNA 提取和 cDNA 合成

根据制造商的试剂盒说明书,使用植物 RNA 分离试剂盒提取白玉枇杷叶片的总 RNA[ Wolact, 威邦生命科学(香港)有限公司]。根据制造商的试剂盒说明书,使用 PrimeScript 第一链 cDNA 合成试剂盒(TaKaRa 公司,日本)反转录合成单链 cDNA。

1.3 白玉枇杷叶片转录组测序

白玉枇杷叶片的 RNA 样品质检、cDNA 文库构建等 RNA - Seq 与分析工作委托上海美吉生物医药科技有限公司完成。根据 Zhou 等的方法<sup>[13]</sup>进行转录组分析。

1.4 转录组结果验证

随机选取转录组结果中给出的差异表达基因,使用在线软件 Primer3 ([https://primer3. ut. ee/](https://primer3.ut.ee/)) 设计 qRT - PCR 引物(表 1),以白玉枇杷干旱与对照处理的 cDNA 为模板,使用 Bio - Rad CFX Opus 96 (Bio - Rad) 荧光定量 PCR 仪进行表达分析,荧光定量 PCR 的程序按照荧光实时定量染料的说明书进行设定。选用枇杷 *EjActin* 为内参基因<sup>[14]</sup>。通过 2<sup>ΔΔC<sub>t</sub></sup>方法计算基因的相对表达量<sup>[15]</sup>。使用熔解曲线确定扩增片段的特异性。

表 1 实时荧光定量引物

基因名称	登录号	上游引物(5'→3')	下游引物(5'→3')
<i>ARF9</i>	EVM0026620	AAAGAAACACAGGGCAAGCAAGG	AGTCCACAGCAGACCAACAG
<i>bHLH14</i>	EVM0016173	ACTCACACTTCAACGCCTCCAG	CCCAGCCCACGACAAATATACTAGG
<i>GBF3</i>	EVM0026328	AAGTCCTACCAGTATTCCGCAATCC	GTCTCAGCCTGCTTCCTCAACC
<i>ERF61</i>	EVM0001550	GTATCCTCGCCATCGTCTCTCATC	CCATTCCCAACTCCGCCATCC
<i>ERF110</i>	EVM0022452	CGCCGCCGTATCAACAACAAG	GACACCATCGCCGACATCTCC
<i>HAT14</i>	EVM0026858	ACACTGACGGAAGAGAACAGAAGG	GTGGCTGGTGATTGCTTGTAGAAC
<i>MYB73</i>	EVM0034540	GAGCATGAGAGTCTGAAAGCAAACG	CCTGACCGTGTTCCTCCTCTC
<i>MYB62</i>	EVM0036819	CCACTCCCAACTTCTCCACCTG	TTTGCGGCACCTGTGAAATAAGAG
<i>RD26</i>	EVM0001934	CTCCTCGTCATCGTGCTCTTCTC	CTTGCTGTCTCTCTGTGCTG
<i>NAC72</i>	EVM0027654	TTGTCCCTTCAATCCCATCTCTCTG	TCTGTGGATGAATCCCGAGTTG
<i>PIP2B</i>	EVM0001049	GCGGTGTGGGTGGGTGAAG	CTGAGAAGACGGTCTAGACAAGAAC
<i>WRKY27</i>	EVM0025626	CGAGTTAGCCGATCCGTGTGTTT	CGTTGTTGGTGGTGGTGGTG
<i>FER</i>	EVM0005539	AAGGTTTCGGATTTTCGGGATGTC	GCTGCTGGCGTCTGTAGTATTC
<i>MRLK12</i>	EVM0017860	GCCTGGATATGTTTCATTGAGATTGC	CGCCACTGTACACCACCAATTAC
<i>HB16</i>	EVM0008013	CAGCATCCTCAAAGCCGACTATG	CTTCCTTCACAGAACCATTCTCTC
<i>HAT5</i>	EVM0021510	AGATTCTGAAACTGTGACCAAAGGG	CGGCTCTAAACACGCTGAATGG
<i>Actin</i>	JN004223	GGATTGCTGCTGATGATGC	CCGTGCTCAATGGGATACTT

1.5 试验数据处理

使用 SPSS Statistics 17.0 软件中的单因素方差分析(one - way analysis of variance,ANOVA)进行统计分析。进行双变量分析以测试 2 个因素之间的相互作用,不同字母表示存在显著性差异( $P < 0.05$ )。试验数据表示为平均值 ± 标准差,并使用 Office Excel 作柱状图。

2 结果与分析

2.1 白玉枇杷叶片响应干旱胁迫的转录组分析

为探索干旱条件下枇杷品种响应干旱的分子遗传机制,对干旱胁迫 9 d(处理组)和对照样品进行 RNA - Seq 分析。分析结果(表 2)显示,6 个枇杷

干旱与对照样品共获得了 277.3 Mbp clean reads,经过原始数据过滤,测序错误率检查和 GC 含量分布检查后,每个样品平均获得 46.2 Mbp clean reads,与枇杷基因组的匹配率约为 91%。

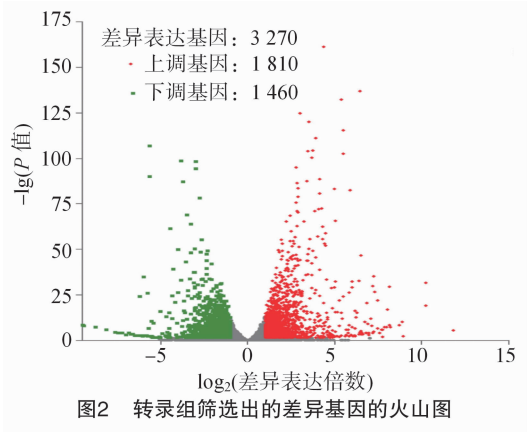
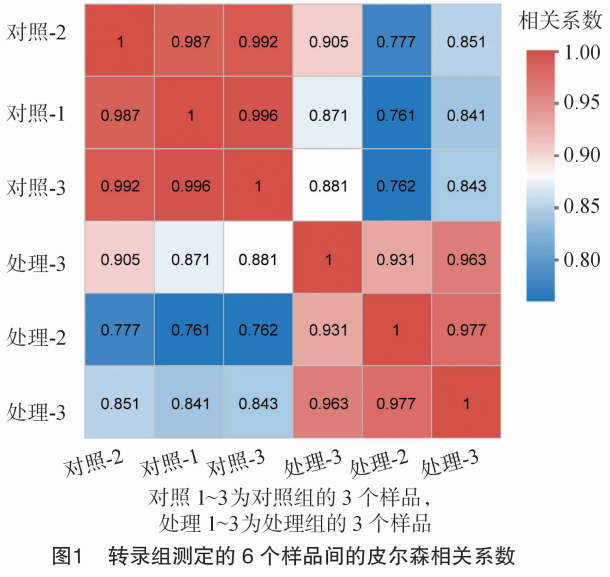
基于基因的 FPKM 值( fragments per kilobase of transcript per million mapped reads),通过皮尔森相关系数计算干旱处理组与对照组各 3 个生物学重复之间的相关性。由图 1 可知,对照组和干旱处理组的 3 个生物学重复之间的相关性均高于 0.9,重复性好,可用于进一步分析。

由图 2 可见,在干旱处理 9 d 后,共检测到 3 270 个差异表达基因(差异表达倍数 > 2,  $P < 0.05$ ),其中上调基因为 1 810 个,下调基因为 1 460 个。

表 2 Reads 与参考基因组比对情况一览表

样品	总读长 (bp)	总比对 (bp)	多重比对 (bp)	唯一比对 (bp)
对照 1	48 039 190	46 150 115 (96.07%)	1 918 540 (3.99%)	4 4231 575 (92.07%)
对照 2	48 076 968	45 912 807 (95.5%)	1 828 796 (3.8%)	44 084 011 (91.69%)
对照 3	44 160 236	42 245 194 (95.66%)	1 646 150 (3.73%)	40 599 044 (91.94%)
处理 1	42 616 144	40 674 168 (95.44%)	2 176 432 (5.11%)	38 497 736 (90.34%)
处理 2	45 942 738	43 951 158 (95.67%)	1 991 054 (4.33%)	41 960 104 (91.33%)
处理 3	48 507 082	46 439 675 (95.74%)	2 046 128 (4.22%)	44 393 547 (91.52%)

注:总读长为测序序列经过测序数据过滤后的数量统计,即 clean reads;总比对为能定位到基因组上的 clean reads 数目;多重比对为在参考序列上有多个比对位置的 clean reads 数目;唯一比对为在参考序列上有唯一比对位置的 clean reads 数目。



2.2 转录组测序结果的验证

为了进一步验证转录组结果的准确性,从转录组数据中选取 16 个差异表达基因(表 3)进行 qRT-PCR 验证。由图 3 可见,16 个基因的表达变

表 3 干旱胁迫前后白玉枇杷叶片中差异表达基因的功能注释

基因名称	登录号	基因描述信息
ARF9	EVM0026620	编码生长素响应因子 9( ARF9)
bHLH14	EVM0016173	转录因子 bHLH14
GBF3	EVM0026328	编码 1 个表达受 ABA 诱导的 bZIP G-box 结合蛋白
ERF61	EVM0001550	编码 ERF/AP2 转录因子家族中 DREB 亚家族 A-6 的 1 个成员
ERF110	EVM0022452	编码乙烯响应因子(ERF)亚家族 B-4
HAT14	EVM0026858	同源盒-亮氨酸拉链蛋白
MYB73	EVM0034540	R2R3 基因家族成员
MYB62	EVM0036819	R2R3-MYB 转录因子
RD26	EVM0001934	编码 1 个在干旱胁迫下诱导的 NAC 转录因子
NAC72	EVM0027654	编码 1 个在干旱胁迫下诱导的 NAC 转录因子
HB16	EVM0008013	编码 1 个同源结构域亮氨酸拉链 I 类蛋白
HAT5	EVM0021510	编码 1 个同源结构域亮氨酸拉链 I 类蛋白
MRLK12	EVM0017860	编码 1 个类似受体的蛋白激酶 FERONIA
FER	EVM0005539	编码 1 个类似受体的蛋白激酶 FERONIA
WRKY27	EVM0025626	编码 1 个 WRKY 转录因子 WRK Y27
PIP2B	EVM0001049	编码质膜内在蛋白亚家族 PIP2 的 1 个成员

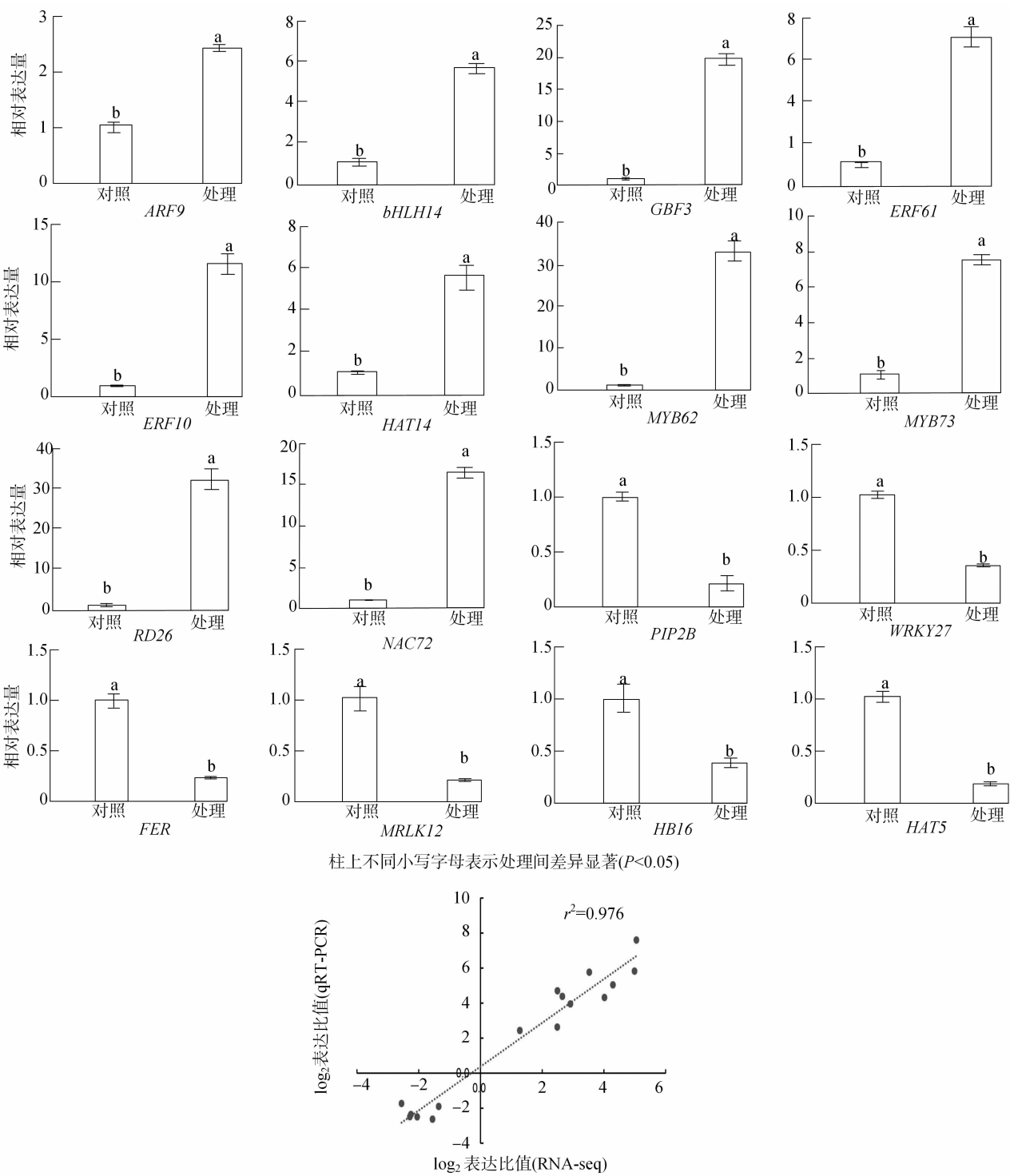


图3 干旱胁迫下枇杷叶片测序结果的 RT-PCR 验证和二者相关性分析

化趋势与转录组的结果一致。且转录组和 qRT - PCR 结果呈显著正相关 ( $r^2 = 0.976$ ),表明转录组的测序结果是可靠的。

2.3 转录组差异表达基因的 GO 富集分析

为了进一步了解白玉枇杷对干旱胁迫反应的潜在机制,对干旱胁迫下白玉枇杷叶片的差异表达

基因进行 GO 富集分析。GO 分析结果表明,一些与胁迫途径相关的基因在干旱处理后显著上调,包括对缺水的响应、气孔运动的调节、对氧化应激的响应、对活性氧的响应;另外,部分与转录调控、蛋白质磷酸化、信号转导等相关的基因在干旱处理后上调(图 4 - a)。而大量与生长素激活信号通路、生长

素介导的信号通路调控、生长素极性运输的生物通路相关的基因在干旱条件下下调;此外,光合作用、

生长调节、氨基酸转运、对水杨酸的反应等生物途径相关基因在干旱处理后下调(图 4 - b)。

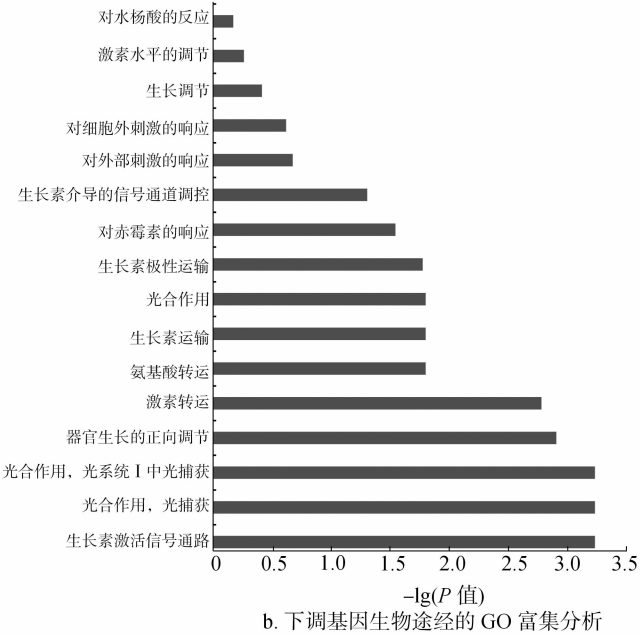
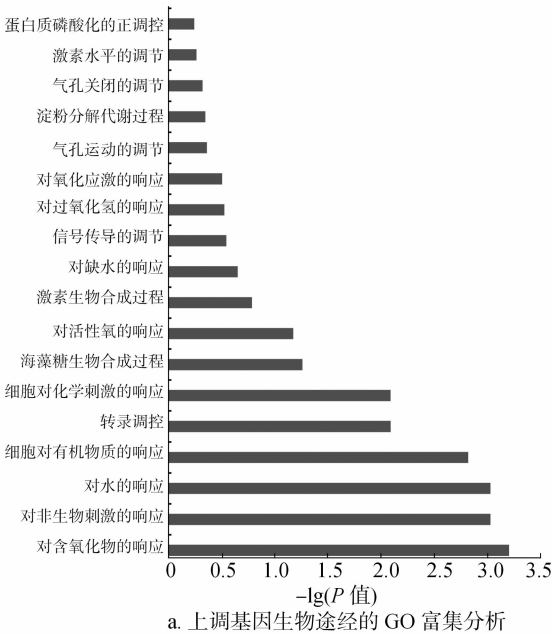


图4 干旱胁迫下枇杷叶片中差异表达基因的 GO 分类

多种非生物胁迫能够导致活性氧水平的增加,而活性氧累积可以引起氧化胁迫,进而对植物细胞和细胞器造成损害。由表 4 转录组分析结果可知,干旱条件下,2 个过氧化物酶(POD)、1 个抗坏血酸过氧化物酶(APX)、2 个谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)显著上调,这些酶参与植物体内活性氧的清除。

表 4 干旱胁迫下枇杷叶片植物激素信号转导相关差异表达基因		
基因登录号	基因家族	与对照相比,处理组的 log <sub>2</sub> (差异表达倍数)
EVM0025214	POD	4.17
EVM0008294	POD	3.58
EVM0034471	APX	2.98
EVM0031361	GPX	1.06
EVM0000489	GPX	1.39

2.4 转录组差异表达基因的 KEGG 富集分析

为了确定白玉枇杷干旱响应的代谢途径,对差异表达基因进行 KEGG 富集分析,并评估了 20 条富集最明显的途径。由图 5 可见,富集程度最高的途径包括植物 MAPK 信号通路、植物激素信号转导、光合作用 - 天线蛋白、类胡萝卜素生物合成、淀粉和蔗糖代谢。

2.5 干旱胁迫下枇杷叶片植物激素信号转导途径相关的差异表达基因分析

通过 KEGG 富集分析发现,植物激素信号转导在响应干旱胁迫中至关重要。转录组分析结果(表 5)显示,干旱处理后,脱落酸(abscisic acid,ABA)信号通路中的多个 ABRE 结合因子(abscisic acid responsive elements - binding factor,ABF)、蔗糖非酵解型蛋白激酶 2(SnRK2)、3 个 ABA 生物合成基因 9 - 顺式 - 环氧类胡萝卜素双加氧酶(NCED)的表达水平显著上调;生长素信号通路中,多个生长素/吲哚 - 3 - 乙酸(Aux/IAA)家族成员呈上调趋势。

2.6 干旱下枇杷叶片中发现的差异表达转录因子

转录因子通过调控一系列下游目标基因,在非生物胁迫响应等多个生物过程中发挥重要作用。为挖掘枇杷叶片中响应干旱胁迫的转录因子,本研究筛选出转录组数据中有差异表达的所有转录因子。RNA - Seq 结果共鉴定出 255 个转录因子,其中 bHLH、bZIP、AP2/ERF、GRAS、HD - Zip、MYB、MYB\_related、NAC、WRKY 这 9 个转录因子家族的成员在差异表达转录因子中数量较多(图 6)。差异表达转录因子中,大多数 bHLH、GRAS 家族成员在干旱处理后转录水平下调,而差异表达转录因子中 bZIP、AP2/ERF、NAC、HD - Zip 家族的多数成员在干旱处理后转录水平上调。

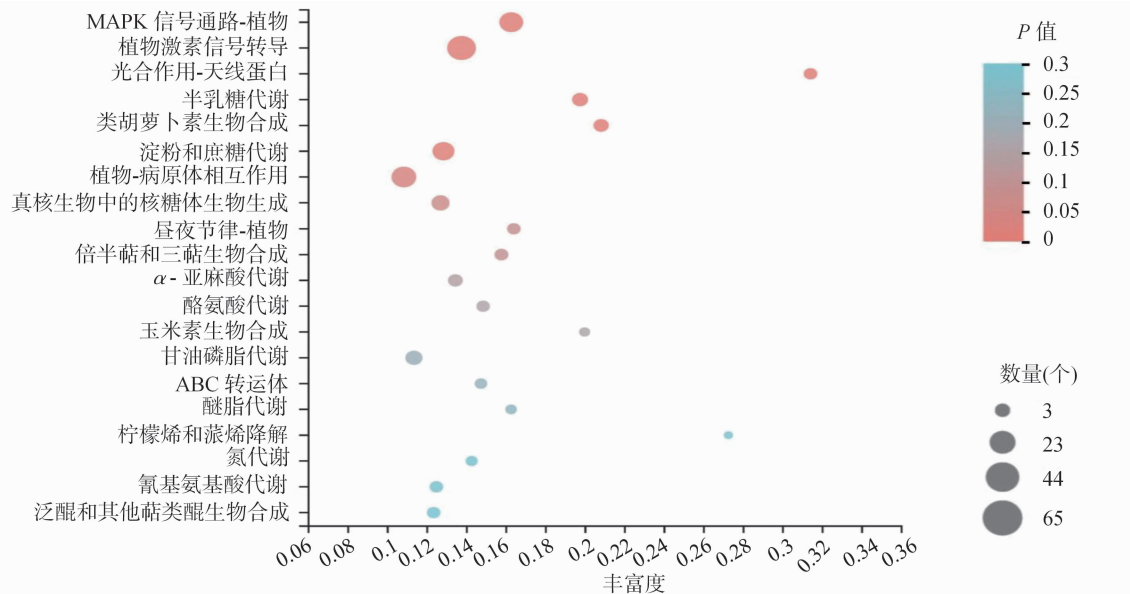


图5 白玉枇杷叶片响应干旱胁迫 20 条富集最明显的差异表达基因 KEGG 富集散点图

表 5 干旱胁迫下枇杷叶片植物激素信号转导相关差异表达基因

基因登录号	基因家族	与对照相比,处理组的 log <sub>2</sub> (差异表达倍数)
EVM0003122	ABF	1.55
EVM0008495	ABF	2.73
EVM0039326	ABF	2.32
EVM0039764	SnRK2	1.44
EVM0023324	SnRK2	3.45
EVM0007676	SnRK2	1.12
EVM0003865	SnRK2	1.48
EVM0036059	NCED	6.88
EVM0035456	NCED	6.54
EVM0040708	NCED	3.33
EVM0031624	IAA	1.67
EVM0019540	IAA	1.15
EVM0000647	IAA	1.99
EVM0016915	IAA	1.13

3 讨论与结论

干旱胁迫会导致植物细胞中活性氧过量累积,过量的 ROS 会引起氧化应激反应,破坏膜和其他重要的大分子,例如光合色素、蛋白质、DNA、脂质,进而造成氧化损伤<sup>[16-18]</sup>。研究表明,干旱胁迫下,植物通过触发酶抗氧化防御系统,清除活性氧,减轻急性细胞损伤,保持膜的完整性<sup>[19-20]</sup>。本研究表明,干旱处理后,与对氧化应激的响应、对活性氧的响应途径相关的基因显著上调,且编码抗氧化酶基因 *POD*、*APX*、*GPX* 显著上调。这些数据表明,干旱

胁迫下,枇杷通过调控抗氧化酶基因的表达,清除活性氧,降低氧化损伤,提高其耐旱性。

植物激素 ABA 是干旱胁迫响应的关键调节剂。干旱胁迫下,植物组织和叶片中的 ABA 含量增加,改变了许多离子通道的活性,触发气孔关闭<sup>[21-22]</sup>。研究表明,过表达 *AtNCED3* 提高了转基因拟南芥的内源 ABA 水平,过表达 *AtNCED3* 转基因植株的叶片蒸腾速率低于野生型,其耐旱性增强<sup>[23]</sup>。本研究中,干旱胁迫后,与气孔运动调节途径相关的基因显著上调,且 ABA 生物合成关键的限速酶 NCED 显著上调。ABA 主要通过信号通路来实现干旱胁迫响应的生物学功能。研究表明,ABA 信号途径中 SnRK2 通过磷酸化激活下游转录因子 ABF 等,进而调控下游基因的表达,在植物逆境胁迫响应中起着正调控作用<sup>[24-25]</sup>。本研究干旱处理后,3 个 ABF 和 SnRK2 显著上调。以上数据表明,干旱胁迫下,枇杷通过 ABA 合成基因的表达促进气孔关闭,减少水分散失,以及调控 ABA 信号通路基因的表达,响应干旱胁迫。

转录因子通过与干旱应答基因的启动子互动,来调控干旱应答相关基因的转录,对干旱胁迫响应发挥重要调节作用<sup>[8,26]</sup>。本研究从转录组中鉴定出 255 个转录因子。干旱胁迫下,一系列正调控抗旱的转录因子表达上调,包括 HD - Zip 家族的 *EVM0023669*、*EVM0026197*。*EVM0026197* 是苹果中 *MdHB-7* 的同源基因,苹果中 *MdHB-7* 通过促进干旱引起的内源性 ABA 积累,促进气孔关闭,清除活

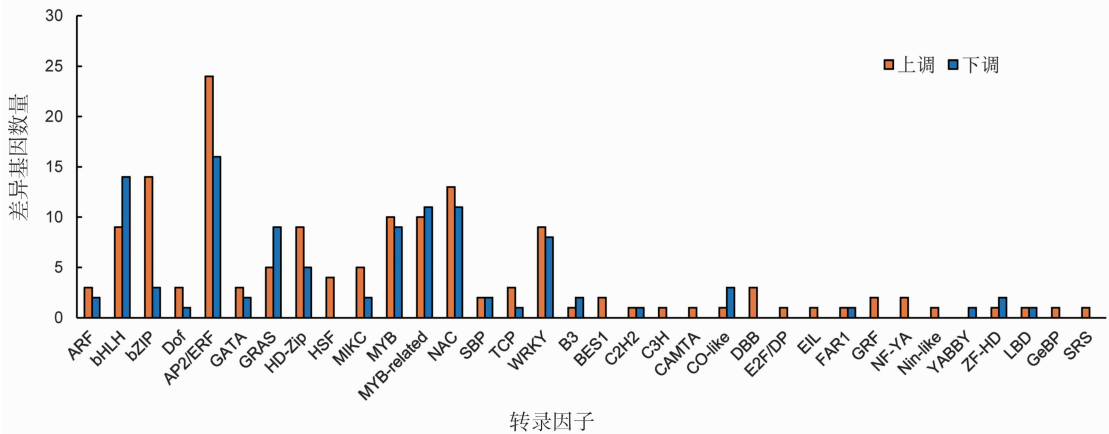


图6 短期干旱下白玉枇杷转录组中的差异表达转录因子

性氧, 进而提高转基因植株的耐旱性<sup>[18]</sup>。*EVM0023669* 是 *MdHB7-like* 的同源基因, 在苹果中过表达 *MdHB7-like* 可增强苹果的耐旱性, 而 *MdHB7-like* 的干扰植株则对干旱更敏感<sup>[27]</sup>。NAC 家族中 *EVM0001934* 是拟南芥中 *NAC072/RD26* 的同源基因, 在拟南芥中 *NAC072/RD26* 的过表达可提高转基因植株对干旱胁迫耐受性<sup>[28]</sup>, *NAC072RD26* 基因的同源烟草基因 *NtabNAC087* 通过影响叶片的生理结构, 增加抗氧化酶活性和渗透调节物质含量, 进而提高转基因植物对干旱胁迫的耐受性<sup>[20]</sup>。

综上所述, RNA-Seq 鉴定的差异表达基因在一定程度上解释了枇杷响应干旱胁迫的分子机制, 期待可为今后枇杷干旱育种提供基因资源和理论基础。

#### 参考文献:

- [1] 蒋际谋, 陈秀萍, 邓朝军, 等. 我国枇杷产业优劣势分析与发展对策[J]. 中国园艺文摘, 2018, 34(4): 46-48, 68.
- [2] 王化坤, 陆爱华, 高志红, 等. 江苏枇杷产业发展现状及展望[J]. 中国果树, 2018(2): 94-98.
- [3] 罗华建, 刘星辉. 干旱对枇杷生长的影响[J]. 中国南方果树, 2004, 33(3): 26-27.
- [4] 王剑毛, 郭亚端, 刘进平, 等. 干旱胁迫对“早钟6号”枇杷幼苗生长及生理特性的影响[J]. 中国南方果树, 2018, 47(6): 34-38, 44.
- [5] Ballester C, Buesa I, Soler E, et al. Postharvest regulated deficit irrigation in early- and intermediate- maturing loquat trees[J]. Agricultural Water Management, 2018, 205: 1-8.
- [6] Gugliuzza G, Talluto G, Martinelli F, et al. Water deficit affects the growth and leaf metabolite composition of young loquat plants[J]. Plants, 2020, 9(2): 274.
- [7] Zhang Y, Yao Q, Li J, et al. Contributions of an arbuscular mycorrhizal fungus to growth and physiology of loquat (*Eriobotrya japonica*) plants subjected to drought stress[J]. Mycological Progress, 2015, 14(10): 84.
- [8] 王丹, 龚荣高. 干旱胁迫下枇杷叶片的转录组分析[J]. 华北

农学报, 2017, 32(1): 60-67.

- [9] Lou X M, Wang H K, Ni X P, et al. Integrating proteomic and transcriptomic analyses of loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) in response to cold stress[J]. Gene, 2018, 677: 57-65.
- [10] Wang D, Chen Q Y, Chen W W, et al. Physiological and transcription analyses reveal the regulatory mechanism of melatonin in inducing drought resistance in loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) seedlings[J]. Environmental and Experimental Botany, 2021, 181: 104291.
- [11] Zhang J Y, An H S, Zhang X Y, et al. Transcriptomic analysis reveals potential gene regulatory networks under cold stress of loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.)[J]. Frontiers in Plant Science, 2022, 13: 944269.
- [12] 常晓晓, 彭程, 陈慧琼, 等. 枇杷果实采前皱缩的转录组分析[J]. 果树学报, 2023, 40(7): 1342-1353.
- [13] Zhou K, Hu L Y, Li Y, et al. MdUGT88F1-mediated phloridzin biosynthesis regulates apple development and *Valsa* canker resistance[J]. Plant Physiology, 2019, 180(4): 2290-2305.
- [14] 李晓颖, 徐红霞, 陈俊伟. 枇杷 WRKY 转录因子鉴定与表达分析[J]. 园艺学报, 2019, 46(5): 939-954.
- [15] 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.
- [16] Sairam R K, Srivastava G C, Agarwal S, et al. Differences in antioxidant activity in response to salinity stress in tolerant and susceptible wheat genotypes[J]. Biologia Plantarum, 2005, 49(1): 85-91.
- [17] Hasanuzzaman M, Bhuyan M H M B, Anee T I, et al. Regulation of ascorbate-glutathione pathway in mitigating oxidative damage in plants under abiotic stress[J]. Antioxidants, 2019, 8(9): 384.
- [18] Zhao S, Gao H B, Jia X M, et al. The HD-Zip I transcription factor MdHB-7 regulates drought tolerance in transgenic apple (*Malus domestica*) [J]. Environmental and Experimental Botany, 2020, 180: 104246.
- [19] Gupta A, Rico-Medina A, Caño-Delgado A I. The physiology of plant responses to drought[J]. Science, 2020, 368(6488): 266-269.



那日松,杨莹,王孟豪,等. 番茄 CYP450 基因家族鉴定及病原菌胁迫相关成员的生物信息学分析[J]. 江苏农业科学,2024,52(17):34-46.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2024.17.005

# 番茄 CYP450 基因家族鉴定及病原菌胁迫相关成员的生物信息学分析

那日松,杨莹,王孟豪,关皓文,马心如,曹亚男

(河南农业大学植物保护学院,河南郑州 450046)

**摘要:**细胞色素 P450(cytochrome P450,CYP450)酶是陆地植物中最大的酶蛋白基因家族,具广泛催化活性,参与植物多种初生代谢和次生代谢产物的生物合成。分析番茄(*Solanum lycopersicum* L.)CYP450 基因家族成员的数量、序列特点、系统演化关系、在病原菌诱导下的表达模式和互作网络,为阐明番茄 CYP450 基因的生物学功能奠定基础。通过 HMM 检索和 BLAST 比对 2 种方法在番茄中得到 328 条 CYP450 序列,归属于 9 个家族簇;理化性质分析结果显示番茄 CYP450 蛋白大多为亲水性蛋白质,包含丰富的碱性氨基酸,主要定位于叶绿体和质膜;番茄叶霉病菌(*Cladosporium fulvum*)诱导条件下的 59 个差异表达基因分属 7 个家族簇,相同家族簇成员具相似蛋白保守基序和基因结构;16 个与聚炔类合成关键基因有相似表达模式的基因均来自 CYP71 和 CYP72 家族簇,它们可能在聚炔类合成通路的下游发挥重要作用,但其功能还需进一步验证。

**关键词:**番茄;聚炔类化合物;CYP450 基因家族;番茄叶霉菌;生物信息学分析

**中图分类号:**S641.201 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2024)17-0034-13

CYP450 酶是一类广泛存在于微生物、动植物及人体中与内质网膜结合的血红素单加氧酶,是陆

生植物中最大的酶蛋白基因家族,约占植物基因组编码基因的 1%,在植物的各个器官都有分布<sup>[1]</sup>。CYP450 具有广泛催化活性,参与植物多种初生代谢和次生代谢产物的生物合成,如萜类、生物碱、甾醇、脂肪酸、氰胺、植物激素、色素等<sup>[2]</sup>。陆地植物 CYP450 基因可归为 11 个家族簇(clan):CYP51、CYP74、CYP97、CYP710、CYP711、CYP727、CYP746 为单家族簇;CYP71、CYP72、CYP85、CYP86 为多家族簇<sup>[3-4]</sup>。CYP71 家族簇包括超过 50% 的植物

收稿日期:2023-10-03

基金项目:国家自然科学基金(编号:31800179);河南省杰出青年科学基金(编号:232300421008)。

作者简介:那日松(1981—),男,内蒙古呼和浩特人,博士,副教授,硕士生导师,主要从事天然脂肪酸代谢产物全合成与药物活性机制研究。E-mail:nrs@henau.edu.cn。

通信作者:曹亚男,博士,讲师,主要从事药用植物分子系统学研究。E-mail:caoyan47@163.com。

[20]王世泽,刘杰,杨志晓,等. 过表达和敲除 *NtabNAC087* 基因对烟草响应干旱胁迫的影响[J]. 核农学报,2023,37(7):1307-1314.

[21]Lee S C, Lim C W, Lan W Z, et al. ABA signaling in guard cells entails a dynamic protein-protein interaction relay from the PYL-RCAR family receptors to ion channels[J]. Molecular Plant, 2013, 6(2):528-538.

[22]Jiang Q, Yang J, Wang Q, et al. Overexpression of *MdEPF2* improves water use efficiency and reduces oxidative stress in tomato[J]. Environmental and Experimental Botany, 2019, 162:321-332.

[23]Iuchi S, Kobayashi M, Taji T, et al. Regulation of drought tolerance by gene manipulation of 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase, a key enzyme in abscisic acid biosynthesis in *Arabidopsis*[J]. The Plant Journal:for Cell and Molecular Biology, 2001, 27(4):325-333.

[24]陈虎,管荣,刘长英,等. 脱落酸信号调控植物干旱胁迫响

应的研究进展[J]. 成都大学学报(自然科学版),2023,42(1):23-27,39.

[25]郭树娟,孙月,郑昊元,等. 小麦 ABF/AREB/ABI5 基因家族全基因组鉴定与表达分析[J]. 农业生物技术学报,2023,31(4):667-681.

[26]张军,赖铭,陈佳,等. 转录组学在植物响应干旱胁迫中的研究进展[J]. 现代农业科技,2023,12:14-22.

[27]Zhao S, Gao H B, Jia X M, et al. MdHB7-like confers drought tolerance and improves water-use efficiency through modulating stomatal density in apple (*Malus domestica*) [J]. Scientia Horticulturae, 2022, 294:110758.

[28]Tran L S P, Nakashima K, Sakuma Y, et al. Isolation and functional analysis of *Arabidopsis* stress-inducible NAC transcription factors that bind to a drought-responsive cis-element in the early responsive to dehydration stress 1 promoter[J]. The Plant Cell, 2004, 16(9):2481-2498.