

刘凌云,王东泽,才 满,等. 美洲黑杨 JAZ 基因家族鉴定及其对害虫取食的表达响应[J]. 江苏农业科学,2025,53(4):73-82.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2025.04.009

美洲黑杨 JAZ 基因家族鉴定及其对害虫取食的表达响应

刘凌云^{1,2}, 王东泽^{1,2}, 才 满^{1,2}, 李中强³, 顾丽姣^{1,2}

(1. 河北农业大学林学院, 河北保定 071000; 2. 河北省林木种质资源与森林保护重点实验室, 河北保定 071000;

3. 河北华测检测服务有限公司, 河北石家庄 050000)

摘要: JAZ(jasmonate ZIM-domain, JAZ)作为植物特有的基因家族,参与植物生长发育、生物胁迫、非生物胁迫、激素调控等多个途径。为了探究美洲黑杨(*Populus deltoides*)JAZ 基因家族的特征并预测其功能,本研究对美洲黑杨 JAZ 基因家族进行了全基因组鉴定和分析。结果表明:在美洲黑杨基因组中共鉴定出 13 个 PdJAZ 家族蛋白,划分为 3 个亚组。所有 PdJAZ 蛋白都具有 ZIM 和 Jas 结构域,并且除 PdJAZ8 存在于细胞膜和细胞核中其余均位于细胞核中。对筛选出的 13 个 PdJAZ 基因对应的蛋白进行理化性质、二(三)级结构分析发现,该家族成员理化性质上具有差异,它们的氨基酸个数在 134~475 个不等,分子量在 1.5~4.1 ku 之间, PdJAZ 等电点均大于 7 且不超过 10。13 个基因的二级结构以 α -螺旋和无规则卷曲为主, β -转角占比极小。物种内共线性分析显示, PdJAZ 基因家族存在 7 个共线性基因对, PdJAZ9 基因不存在共线性关系。motif 和基因结构分析显示,同一分支上的 motif 组成和内含子外显子结构相似,不同分支上的差异较大,说明 PdJAZ 蛋白在功能上应该具有一定的多样性和保守性。启动子顺式作用元件分析显示,启动子区域含有多种植物激素和非生物响应元件,其中脱落酸是数量最多的元件。此外,美洲黑杨 PdJAZ 基因在虫害胁迫下根据取食量的不同表现出不同的表达模式,这表明 PdJAZ 可能在不同程度上参与调控美洲黑杨的抗虫性。

关键词: 美洲黑杨; PdJAZ 基因家族; 生信分析; 生物胁迫

中图分类号: S792.110.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2025)04-0073-10

JAZ 蛋白(jasmonate ZIM-domain proteins)属于 TIFY 家族成员,存在于所有陆生植物中,从低等的苔藓植物到高等的双子叶植物。值得注意的是, JAZ 家族可能起源于陆生植物^[1]。JAZ 蛋白最初从拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中分离鉴定, Bai 等通过构建的系统发育树发现,拟南芥中的 12 个 JAZ 基因与其他被子植物中的 JAZ 基因一起聚集成 5 个组^[2]。JAZ 蛋白亚家族属于 TIFY 家族, TIFY 蛋白家族根据保守序列结构域分为 4 个亚家族,包含 TIFY、ZIM-like(ZML)、PEAPOD(PPD)和 JAZ 蛋白亚家族^[3]。JAZ 蛋白具有 1 个保守的 TIFY(也称为 ZIM)结构域,该结构域包含 28 个氨基酸,并在其靠

近 N 端一侧含有 TIF[F/Y]XG 保守序列,因此也称 TIFY 结构域^[4]。ZIM 结构域作为 1 个蛋白-蛋白相互作用的结构域,介导了 JAZ 蛋白质之间的同源或异源相互作用、与其他蛋白间的相互作用以及与 NINJA (novel interactor of JAZ)和 TPL (TOPELESS)共抑制子的相互作用^[5]。Jas 结构域位于 JAZ 蛋白 C 末端,具有高度保守的核心序列 SLX2FX2KRX2RX5PY,该结构域以 SCFCOI1 依赖的方式控制 JAZ 蛋白应答 JA(茉莉酸)信号的稳定性,并且是 JA-Ile/coronatine 与 COI1 相互作用的关键^[6]。在茉莉酸信号转导过程中, TIFY 结构域可介导 JAZ 蛋白与 NINJA (novel interactor of JAZ, NIN-JA)互作抑制 JA 信号转导,而 Jas 结构域可与 MYC2 (myelocytomatosis proteins, MYC)转录因子结合抑制其转录活性,进而抑制 JA 应答基因表达^[7]。

植物激素在调节植物生长、发育和繁殖中具有关键作用^[8], JAZ 在调节植物基因表达以响应生物/非生物胁迫以及生长发育方面中起主导作用。例如,棉花根中一些 JAZ 同源基因在盐胁迫处理后被上调^[9]。冷胁迫应答的核心转录因子 CBF/DREB1

收稿日期:2024-09-05

基金项目:河北省自然科学基金(编号:C2022204047、C2022204115);
国家自然科学基金(编号:32201578);河北省重点研发计划(编号:22326318D)。

作者简介:刘凌云(2000—),女,贵州遵义人,硕士研究生,研究方向为林木遗传育种。E-mail:1609425419@qq.com。

通信作者:顾丽姣,博士,讲师,研究方向为林木遗传育种。E-mail: gulijiao1990@126.com。

(INDUCER OF CBF EXPRESSION - C - REPEAT BINDING FACTOR/DRE BINDING FACTOR1) 的活性通过与 JAZ 蛋白的直接互作被 JAZ 蛋白(JAZ1 和 JAZ4)抑制。与之一致的是 JAZ1 和 JAZ4 的过表达株对冷冻反应不敏感^[10]。上述试验证据表明 JA 通过 JAZ 蛋白调节 ICE - CBF/DREB1 信号通路从而正向调节拟南芥的抗冻性。JAZ 蛋白还可以通过与 MYC2 的互作,抑制 ERF1 对其下游 GCC - box、DRE - box 及 DRE/C - repeat genes 的转录激活活性,从而影响植株对干旱、高盐以及高温胁迫的耐受^[11]。此外,Fu 等研究发现,*OsJAZ1* 通过调节水稻中的 JA 和 ABA(脱落酸)信号传导降低水稻抗旱性^[12]。水稻 *OsJAZ9*,通过 TIFY 家族的系统命名法也称为 *OsTIFY11a*,可以调节水稻的耐盐性,其通过茉莉酸信号传导提高对盐胁迫的抵抗能力^[13]。最新研究报道,*OsJAZ9* 还能与 *OsMYB30* 互作,正向调控水稻对冷胁迫的抗性^[14]。JAZ 蛋白可以通过负向调节 MYC2,使得 MYC2 对 RD22 的转录激活被抑制,水稻表现为干旱敏感的表型^[15-16]。已有研究发现,JAZ1 蛋白可以抑制 EIN3/EIL1 转录因子的活性。而当茉莉酸存在时,JAZ 蛋白发生降解,同时激活 EIN3/EIL1 转录因子的活性,进而促进乙烯响应因子 ERF 表达,最终促进果实成熟^[17]。JAZ1、JAZ3、JAZ4、JAZ9 蛋白通过与抑制开花有关的 TOE1/TOE2 转录因子互作,调节植物的开花^[18-19]。

美洲黑杨 (*Populus deltoides*) 是杨柳科杨属植物,树干高大,枝叶繁茂,速生丰产,适应性强。因其生长迅速,易进行无性繁殖,遗传变异范围广,适合种间和种内杂交,再生周期短,已成为遗传改良和树木遗传研究的合适试验材料。JAZ 基因家族广泛参与了植物对生物胁迫和非生物胁迫的应答反应,前期对毛果杨 JAZ 基因家族进行了鉴定和分析^[20],然而美洲黑杨中的 JAZ 基因家族未鉴定。本研究以美洲黑杨全基因组为基础,通过生物信息学的分析方法,鉴定出美洲黑杨中存在的 JAZ 基因家族成员,分析各成员的理化性质、亚细胞定位、染色体定位、保守基序、顺式作用元件、进化关系以及虫害胁迫下表达模式,以期将来解析美洲黑杨 JAZ 基因家族功能奠定研究基础。

1 材料与方法

1.1 美洲黑杨 *PdJAZ* 基因家族成员的鉴定

从 Phytozome 数据库 (<https://phytozome.jgi.doe.gov/>) 下载美洲黑杨 (*Populus deltoides* WV94 v2.1) 基因组数据。利用 12 个拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*)、15 个水稻 (*Oryza sativa*)、6 个玉米 (*Zea mays*)、17 个核桃 (*Juglans regia*) 和 13 个北美云杉 (*Picea sitchensis*) 的 JAZ 蛋白序列在美洲黑杨的基因组中进行 BLAST 比对,鉴定候选 *PdJAZ* 基因,获取 *PdJAZ* 的蛋白序列^[20]。去除重复和冗余后,使用 Pfam 工具 (<https://pfam.xfam.org/>) 以及 CD - search (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>) 进行 TIFY (也称为 ZIM,PF06200) 和 JAZ (也称为 CCT_2,PF09425) 结构域验证,以明确美洲黑杨中的 *PdJAZ* 蛋白,并按照其在染色体上的排列顺序进行命名。

1.2 *PdJAZ* 蛋白序列分析

使用 ExPasy (<https://web.expasy.org/protparam/>) 分析 *PdJAZ* 蛋白的相对分子量、等电点、稳定系数、亲水性和疏水性。使用 Plant - mPLOC 进行蛋白亚细胞定位预测 (<http://www.csbio.sjtu.edu.cn/bioinf/plant-multi/>)。使用 SignalP - 5.0 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP>) 预测信号肽。TMHMM - 2.0 (<https://services.healthtech.dtu.dk/services/TMHMM-2.0/>) 分析蛋白质的跨膜区。使用 SOPMA 在线软件 (https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=/NPSA/npsa_sopma.html) 进行蛋白质二级结构预测。使用 SWISS - MODEL (<https://swissmodel.expasy.org/interactive>) 进行蛋白质同源建模,绘制蛋白三维结构模型。

1.2 *PdJAZ* 蛋白序列分析

1.3 多序列比对和系统发育进化树构建

将美洲黑杨 *PdJAZ* 的蛋白序列提交至 DNAMAN 软件进行多序列比对。将 13 个 *PdJAZ*、12 个 *AtJAZ*、15 个 *OsJAZ*、6 个 *ZmJAZ*、17 个 *JrJAZ* 和 13 个 *PsJAZ* 蛋白序列提交到 MEGA 5.05 软件,首先进行蛋白序列比对 (Align by ClustalW),将比对结果保存为 MEGA 格式文件,然后使用邻接法 (neighbor - joining method),重复数 1 000,构建进化树。使用 Adobe illustrator 和 Adobe Photoshop 软件对进化树进行亚家族的标注。

1.3 多序列比对和系统发育进化树构建

1.4 染色体定位和共线性分析

使用 TBtools 软件中的 Gene Location Visualize from GTF/GFF,利用美洲黑杨的 GFF 文件和 *PdJAZ* 的基因号绘制 *PdJAZ* 基因在染色体上的分布图。使用 DNAMAN 软件计算相似性。使用 TBtools 对美

1.4 染色体定位和共线性分析

使用 TBtools 软件中的 Gene Location Visualize from GTF/GFF,利用美洲黑杨的 GFF 文件和 *PdJAZ* 的基因号绘制 *PdJAZ* 基因在染色体上的分布图。使用 DNAMAN 软件计算相似性。使用 TBtools 对美

洲黑杨基因组进行自身比对,利用 Advanced Circos 绘制物种内共线性 Circos 图。

1.5 美洲黑杨 PdJAZ 蛋白 motif 和基因结构

使用 MEME 在线软件 (<https://meme-suite.org/meme/tools/meme>) 预测 PdJAZ 蛋白 motif,保存 MAST. xml 文件。将美洲黑杨的 GFF 文件和 MAST. xml 共同提交至 TTools 工具中的 Gene Structure View(Advanced),从而绘制 PdJAZ 蛋白的 motif 分布图和内含子外显子结构图。

1.6 启动子顺式作用元件分析

利用 Ttools 软件中的 Gtf/Gff3 Sequences Extract 和 Fasta Extract or Filter(Quick)调取美洲黑杨 PdJAZ 基因上游 2 000 bp 启动子序列,提交至 PlantCARE (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>) 在线网站预测顺式作用元件,筛选其中的胁迫、激素响应等顺式作用元件进行统计分析。

1.7 PdJAZ 基因虫害胁迫表达分析

以河北农业大学林木遗传育种实验室保存的欧美杨为材料,在 2018 年开展美国白蛾(*Hyphantria cunea*)幼虫取食欧美杨叶片的转录组测序,即河北农业大学温室培养欧美杨无性系组培苗,移栽至温室,以美国白蛾 3 龄幼虫为测试昆虫,对 3 月生的欧美杨植株顶端 6 张叶片套网纱进行饲虫处理,2 h 后分别对叶面积损失 1/4、叶面积损失 1/8 以及未饲虫处理的对照组(CK)进行取样,用于转录组测序和基因表达分析^[21]。本研究从表达谱数据中筛选

PdJAZ 基因家族的表达信息,使用 Heatmap 绘制热图分析表达模式。

2 结果与分析

2.1 美洲黑杨 PdJAZ 基因家族的鉴定和基本特征分析

使用美洲黑杨的基因组数据初步筛选获得 PdJAZ 的蛋白序列,经去除冗余和查找,对 TIFY 和 Jaz 结构域进行验证,筛选出 13 个 PdJAZ 蛋白序列,按照其在染色体上的排列顺序命名为 PdJAZ1 ~ PdJAZ13。对这 13 个基因的基因号、染色体定位、编码序列(CDS)长度、氨基酸数量、相对分子量、等电点、亚细胞定位、内含子、外显子、信号肽、跨膜数量、不稳定系数、亲水性进行了统计(表 1),13 个 PdJAZ 基因的编码序列(CDS)长度在 405 ~ 1 179 bp 之间,氨基酸数量在 134 ~ 475 个不等,蛋白质分子量在 1.5 ~ 4.1 ku 之间,氨基酸数量和蛋白质分子量的平均值分别为 279.3 个、2.9 ku,PdJAZ1 ~ PdJAZ13 的等电点均大于 7,介于 7.54 ~ 9.96 之间,外显子个数在 2 ~ 9 个之间,内含子个数在 1 ~ 8 个之间,信号肽和跨膜数量都为 0,即该蛋白序列不存在跨膜,不稳定系数都在 45 以上,其中 PdJAZ13 最大,值为 77.64,亲水性预测均为负值,表明美洲黑杨中的 13 个 JAZ 基因编码的蛋白都是疏水性蛋白质。亚细胞定位预测结果显示,除 PdJAZ8 在细胞膜和细胞核中都有分布外,其余均在细胞核。

表 1 美洲黑杨 PdJAZ 基因基本信息

基因名称	基因号	染色体定位	CDS 长度 (bp)	氨基酸数量 (个)	相对分子量 (ku)	等电点	亚细胞定位	内含子 (个)	外显子 (个)	信号肽 (个)	跨膜数量 (个)	不稳定系数	亲水性
PdJAZ1	Podel.01G068400.1	Chr01	666	221	2.5	9.89	细胞核	5	6	0	0	56.32	-0.646
PdJAZ2	Podel.01G177300.1	Chr01	810	269	2.9	8.77	细胞核	4	5	0	0	46.64	-0.530
PdJAZ3	Podel.02G051000.1	Chr02	1 128	475	4.1	7.54	细胞核	8	9	0	0	59.01	-0.671
PdJAZ4	Podel.03G071100.1	Chr03	804	267	2.9	8.80	细胞核	4	5	0	0	49.28	-0.639
PdJAZ5	Podel.03G176900.1	Chr03	606	201	2.2	9.96	细胞核	5	6	0	0	54.33	-0.591
PdJAZ6	Podel.06G152900.1	Chr06	825	274	3.0	9.10	细胞核	4	5	0	0	61.99	-0.447
PdJAZ7	Podel.08G154600.1	Chr08	987	328	3.5	9.15	细胞核	6	7	0	0	45.42	-0.356
PdJAZ8	Podel.10G106700.1	Chr10	1 017	338	3.5	8.81	细胞膜、细胞核	6	7	0	0	53.06	-0.258
PdJAZ9	Podel.11G083800.1	Chr11	453	150	1.7	9.66	细胞核	1	2	0	0	73.03	-0.745
PdJAZ10	Podel.12G047200.1	Chr12	1 179	392	4.1	9.50	细胞核	6	7	0	0	51.28	-0.340
PdJAZ11	Podel.15G038300.1	Chr15	1 098	365	3.8	9.71	细胞核	5	6	0	0	52.18	-0.274
PdJAZ12	Podel.18G046200.1	Chr18	654	217	2.4	8.94	细胞核	4	5	0	0	54.17	-0.558
PdJAZ13	Podel.T301700.1	—	405	134	1.5	9.66	细胞核	1	2	0	0	77.64	-0.651

由表 2 可知,利用 SOPMA 对 13 个美洲黑杨 PdJAZ 蛋白二级结构进行分析。美洲黑杨 PdJAZ 蛋白的二级结构主要为 α -折叠和无规则卷曲。其中 PdJAZ1 的 α -折叠占比最高,达到了 27.15%,占比

最低的是 PdJAZ10,为 6.89%;而 PdJAZ10 的无规则卷曲占比最高,达到 88.27%,最低的是 PdJAZ1,为 65.16%; β -转角只有 PdJAZ1 存在氨基酸,占比为 1.81%,其余的 12 个蛋白占比都为 0。

表 2 美洲黑杨 PdJAZ 蛋白质二级结构解析

蛋白名称	α -折叠		延伸链		β -转角		无规则卷曲	
	氨基酸数量(个)	占比(%)	氨基酸数量(个)	占比(%)	氨基酸数量(个)	占比(%)	氨基酸数量(个)	占比(%)
PdJAZ1	60	27.15	13	5.88	4	1.81	144	65.16
PdJAZ2	36	13.38	9	3.35	0	0	224	83.27
PdJAZ3	88	23.47	17	4.53	0	0	270	72.00
PdJAZ4	42	15.73	14	5.24	0	0	211	79.03
PdJAZ5	37	18.41	19	9.45	0	0	145	72.14
PdJAZ6	31	11.31	13	4.74	0	0	230	83.94
PdJAZ7	23	7.01	20	6.10	0	0	285	86.89
PdJAZ8	41	12.13	20	5.92	0	0	277	81.95
PdJAZ9	27	18.00	14	9.33	0	0	109	72.67
PdJAZ10	27	6.89	19	4.85	0	0	346	88.27
PdJAZ11	31	8.49	13	3.56	0	0	321	87.95
PdJAZ12	26	11.98	10	4.61	0	0	181	83.41
PdJAZ13	26	19.40	14	10.45	0	0	94	70.00

2.2 PdJAZ 蛋白多序列比对和系统进化树分析

对美洲黑杨中的 13 个候选基因进行了序列比对,发现了这 13 个候选基因均具有 JAZ 基因保守的 ZIM 和 Jas 结构域(图 1)。为了进一步分析 PdJAZ 蛋白的进化特点,使用邻接法对美洲黑杨、拟南芥、水稻、玉米、核桃和北美云杉中的 JAZ 蛋白进行系

统进化分析(图 2),所有 JAZ 被划分成 3 个不同的亚家族,美洲黑杨的 13 个 PdJAZ 在 3 个亚家族中均有分布。其中组 I 中含有 3 个 PdJAZ,组 II 和组 III 均为 5 个,并且组 I、组 II、组 III 中均有美洲黑杨、拟南芥、水稻、核桃和北美云杉的 JAZ 分布,这表明该家族在进化过程中具有较高的保守性。

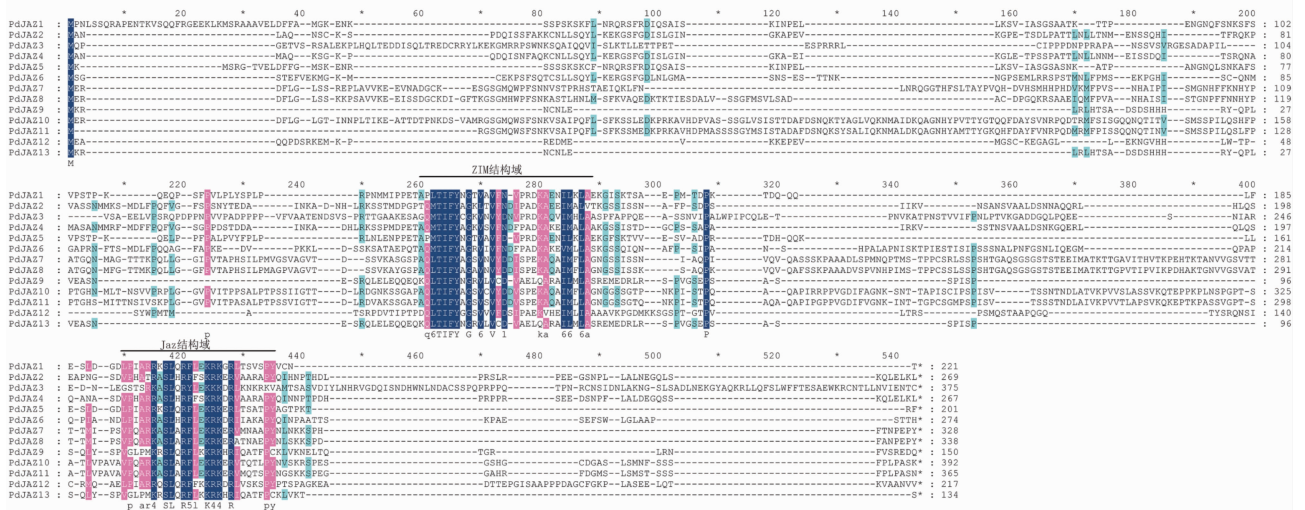


图 1 美洲黑杨 JAZ 基因家族多序列比对

2.3 PdJAZ 基因染色体定位和物种内共线性分析

染色体定位结果(图 3)显示,12 个基因共定位在 10 条染色体上,PdJAZ13 未定位在染色体上,其中,第 1 和第 3 条染色体上分布基因较多,均分布有

2 个基因,其余染色体均具有 1 个基因(图 3)。利用 TBtools 分析了 PdJAZ 在美洲黑杨中的线性关系,PdJAZ1 和 PdJAZ5、PdJAZ2 和 PdJAZ6、PdJAZ2 和 PdJAZ4、PdJAZ4 和 PdJAZ6、PdJAZ7 和 PdJAZ8、

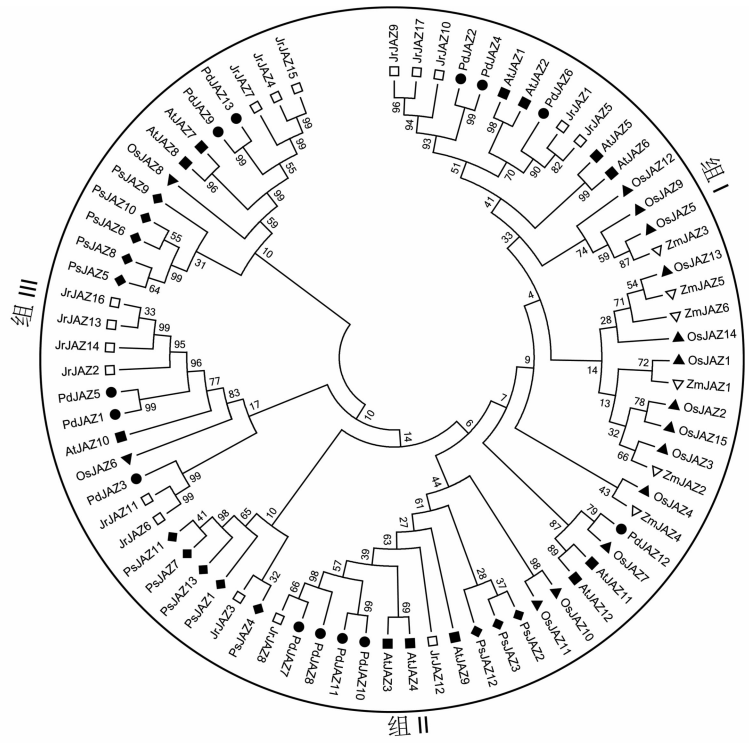


图2 美洲黑杨、拟南芥、水稻、玉米、核桃和北美云杉 JAZ 蛋白的系统进化分析

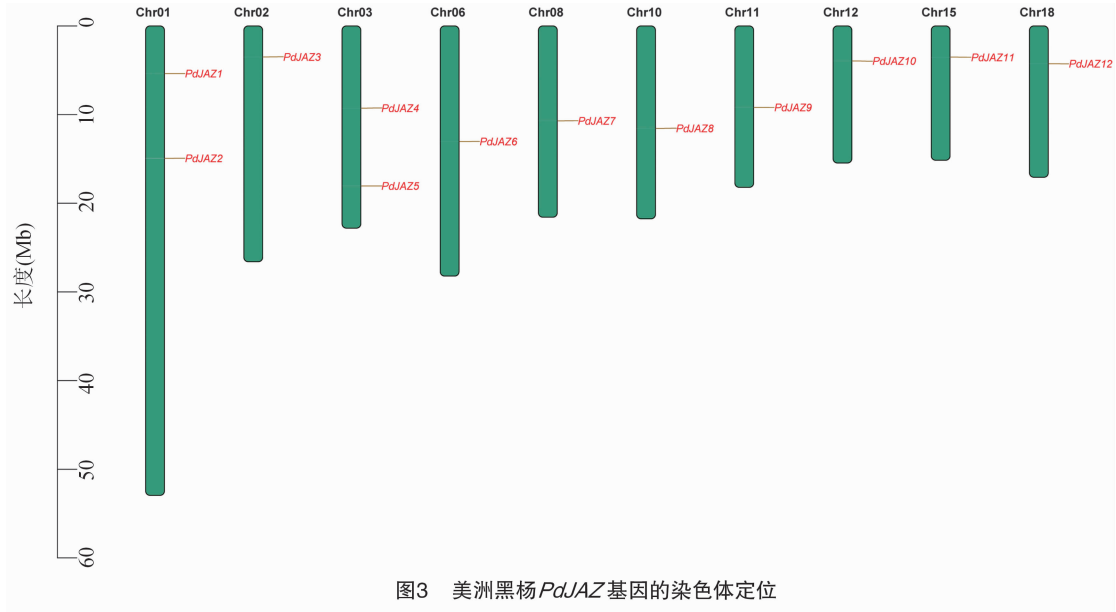


图3 美洲黑杨 *PdJAZ* 基因的染色体定位

PdJAZ8 和 *PdJAZ10*、*PdJAZ10* 和 *PdJAZ11* 共 7 对基因存在共线性关系, *PdJAZ9* 不存在线性关系(图 4)。

2.4 氨基酸序列相似性分析

利用在线 ClustalW 工具对筛选出的 13 个美洲黑杨的 *PdJAZ* 蛋白进行多重序列比对编制成表 3, 发现它们彼此的氨基酸相似性在 7.40% ~ 88.00% 之间。其中, *PdJAZ8* 和 *PdJAZ13* 的氨基酸相似性最低, 仅为 7.40%。而 *PdJAZ9* 和 *PdJAZ13* 的氨基酸相似性最高, 高达 88.00%。

2.5 美洲黑杨 *PdJAZ* 蛋白三维结构分析

通过美洲黑杨 *PdJAZ* 蛋白三维结构(图 5)可以发现, 具有结构相似度的基因和系统进化树中的基因分布相同, 组 I 中 *PdJAZ2*、*PdJAZ4*、*PdJAZ6* 结构都不具备相似性; 组 II 中 *PdJAZ10* 和 *PdJAZ11* 蛋白的三级结构相似, 而其余 *PdJAZ7*、*PdJAZ8* 和 *PdJAZ12* 三级结构则不具备相似性; 组 III 中只有 *PdJAZ3* 不具备相似性, *PdJAZ1* 和 *PdJAZ5* 相似, *PdJAZ9* 和 *PdJAZ13* 相似。

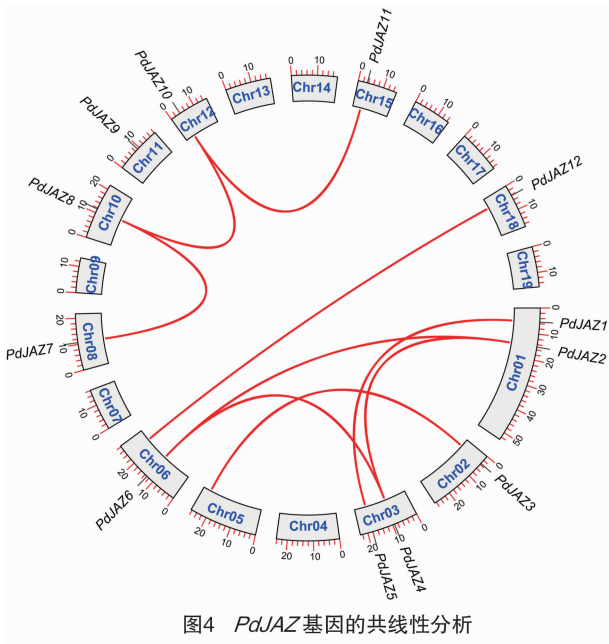


图4 PdJAZ基因的共线性分析

2.6 美洲黑杨 PdJAZ 蛋白基因结构和 motif 分析

为了更深入解析 PdJAZ 之间的进化关系,对 PdJAZ 蛋白进行了基因结构和 motif 的分析(图 6),基因的结构比较复杂,13 个基因中具有 5 个外显子和 4 个内含子的基因有 4 个,具有 7 个外显子和 6 个内含子的基因有 3 个,具有 6 个外显子和 5 个内含子的基因有 3 个,具有 2 个外显子和 1 个内含子的基因有 2 个,而含有 9 个外显子和 8 个内含子的基因只有 1 个。利用 MEME 网站对基因编码蛋白进行 motif 分析(图 6),PdJAZ 蛋白的保守基序具有一定的多样性。所有蛋白的保守基序数目为 3~8 个不等,大多数 PdJAZ 蛋白含有 4~8 个保守基序。其中,PdJAZ12 仅含有 3 个保守基序,有 6 个蛋白含有 4 个保守基序,这说明 PdJAZ 蛋白在功能上应该具有一定的多样性。此外,处于同一进化分支上的 PdJAZ 基因结构和 motif 组成高度相似。

表 3 美洲黑杨 PdJAZ 蛋白氨基酸相似性分析

蛋白名称	相似性(%)												
	JAZ1	JAZ2	JAZ3	JAZ4	JAZ5	JAZ6	JAZ7	JAZ8	JAZ9	JAZ10	JAZ11	JAZ12	JAZ13
JAZ1	100.00	18.84	13.60	21.01	68.14	14.96	13.94	18.34	14.17	12.24	15.57	8.89	15.18
JAZ2		100.00	13.33	73.33	21.11	34.26	17.07	14.46	13.01	17.63	14.48	16.91	11.90
JAZ3			100.00	18.40	16.53	17.02	12.89	13.64	10.13	13.12	10.61	14.13	9.87
JAZ4				100.00	22.85	39.10	17.07	17.46	14.23	19.14	14.44	18.77	13.48
JAZ5					100.00	23.83	17.68	15.38	15.81	14.29	15.34	15.42	16.92
JAZ6						100.00	23.75	20.12	14.96	18.37	21.10	17.87	14.23
JAZ7							100.00	71.30	9.15	37.25	37.80	12.50	7.93
JAZ8								100.00	8.88	36.09	31.82	11.83	7.40
JAZ9									100.00	12.50	12.05	20.28	88.00
JAZ10										100.00	75.51	11.70	11.99
JAZ11											100.00	13.70	10.96
JAZ12												100.00	18.89
JAZ13													100.00

2.7 美洲黑杨 PdJAZ 启动子顺式作用元件分析

为了分析 PdJAZ 参与的生物学过程,对美洲黑杨 PdJAZ 上游 2 000 bp 区域的启动子序列进行了分析(图 7),共获得 133 个顺式作用元件,包括植物激素及植物生长调节剂响应元件、非生物胁迫响应元件等,其中,植物激素响应元件的数量最多,有 106 个。美洲黑杨的 PdJAZ 启动子含有多种植物激素及植物生长调节剂响应元件,包括脱落酸(ABA)、赤霉素(GA)、茉莉酸(MeJA)、水杨酸(SA)、生长素(IAA)等,其中脱落酸是数量最多的响应元件。该基因家族的启动子中也含有干旱响

应元件、应激和防御响应元件以及低温响应元件等非生物胁迫响应元件。这些结果表明,美洲黑杨 PdJAZ 基因家族成员与激素信号转导途径与响应环境胁迫密切相关。

2.8 PdJAZ 在美国白蛾幼虫取食杨树叶片的表达模式分析

为研究美洲黑杨 PdJAZ 基因在虫害胁迫下的特异性表达情况,对欧美杨植株进行 2 h 饲虫处理后,转录组数据分析结果发现(图 8),未经历饲虫处理的对照组中 PdJAZ10 基因的表达量为对照组中最高,而 PdJAZ13 的表达量则为 0;在啃食面积达 1/4

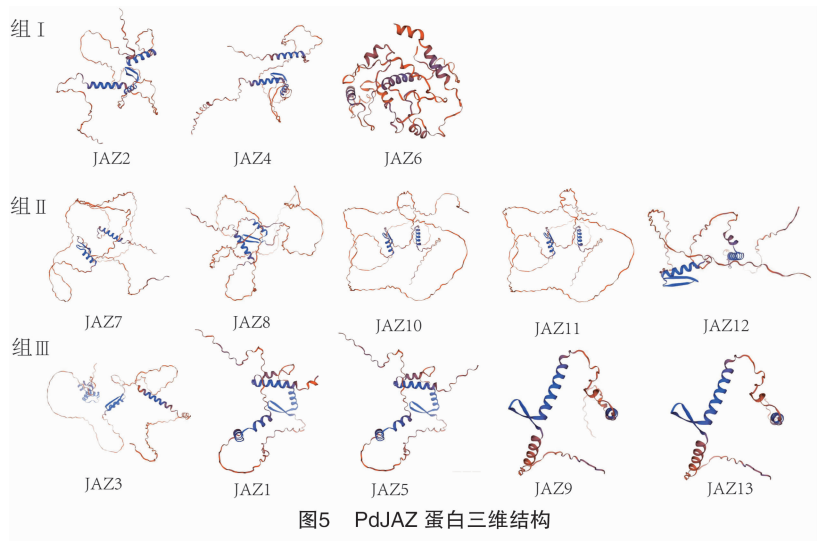


图5 PdJAZ 蛋白三维结构

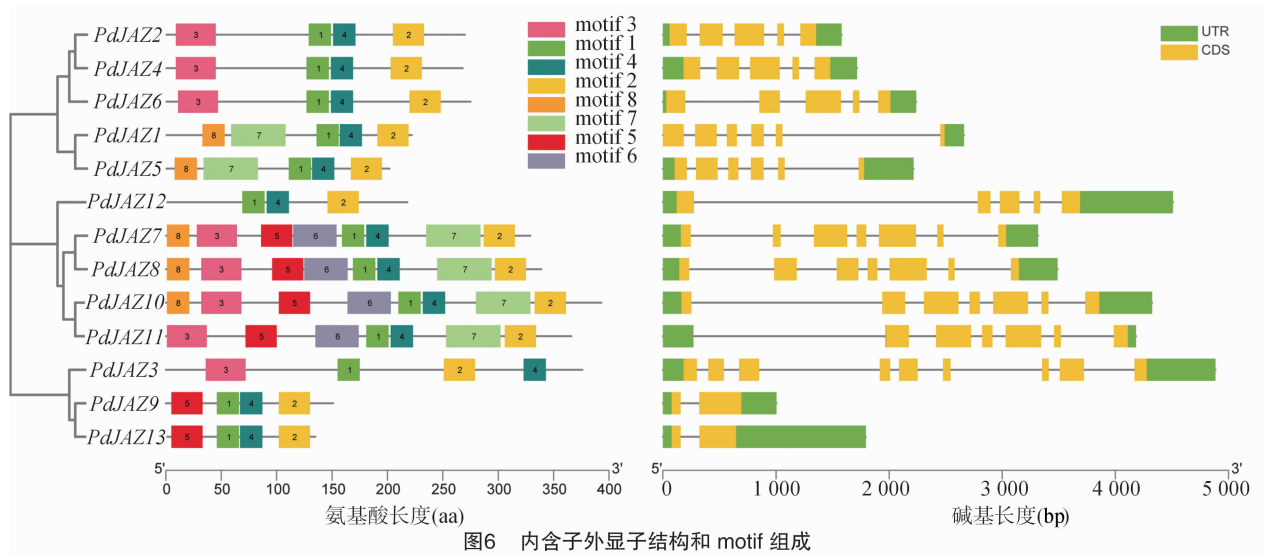


图6 内含子外显子结构和 motif 组成

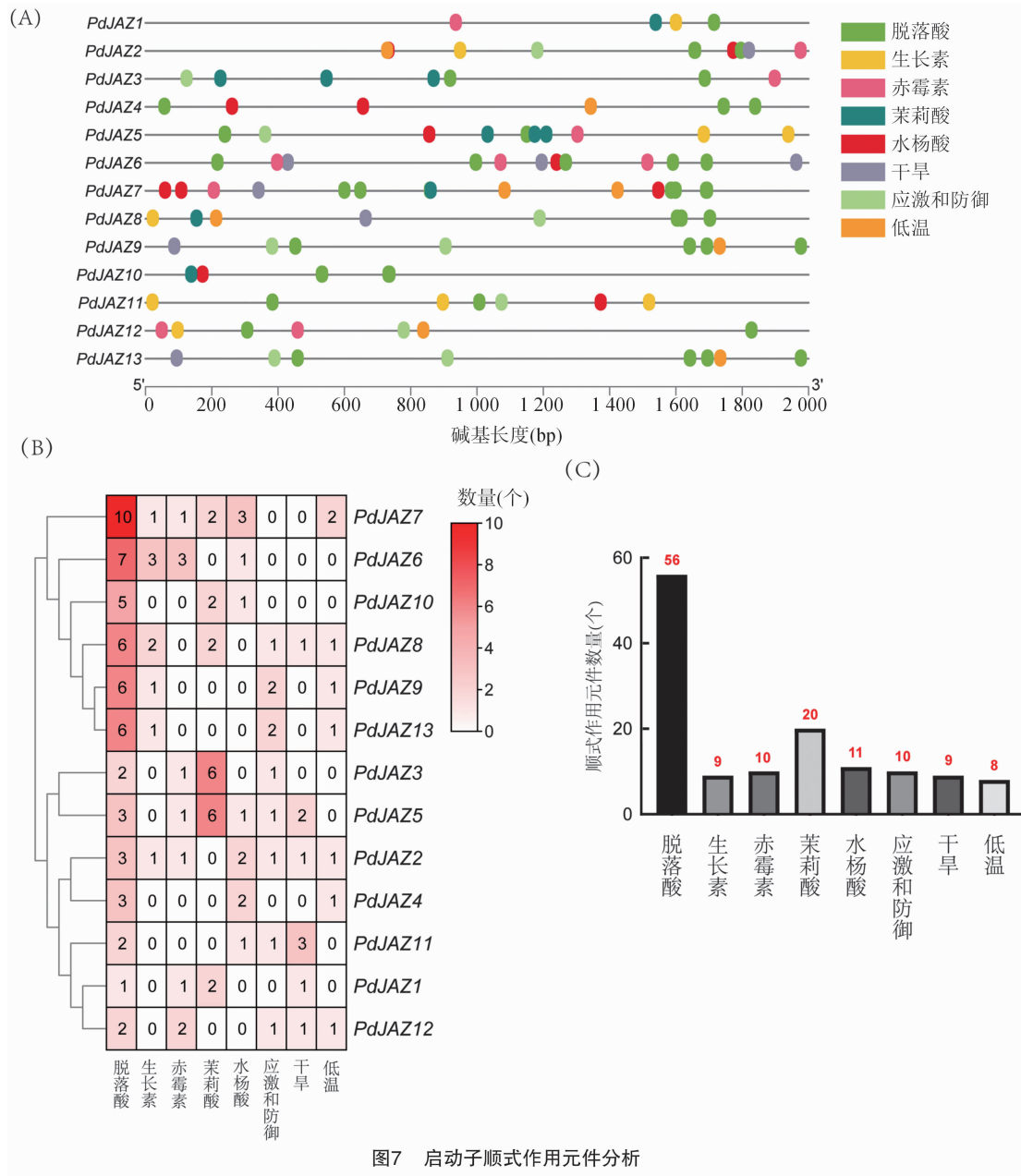
的叶片中,*PdJAZ6* 基因的表达量为全组最高,接近 900;*PdJAZ4* 和 *PdJAZ5* 的表达量在 2 个啃食面积中均较高,而 *PdJAZ13* 则均为最低。*PdJAZ3*、*PdJAZ9* 和 *PdJAZ13* 虫害胁迫下表达量变化不明显。相较于对照组,当叶片遭受啃食后,*PdJAZ10*、*PdJAZ3* 呈现下调表达模式,而其余基因均呈现上调表达趋势。在上调表达基因中,除 *PdJAZ13* 外,与对照相比,1/4 叶片损失条件下基因上调表达值是对照的 1.84 ~ 1 221.58,1/8 叶片损失条件下基因上调表达值是对照的 1.16 ~ 729.04,上调倍数前 5 的 *PdJAZ* 基因为 *PdJAZ2*、*PdJAZ9*、*PdJAZ1*、*PdJAZ5* 和 *PdJAZ4*,表明它们在虫害胁迫响应中发挥着重要作用。

3 讨论

JAZ 基因家族在不同物种中的成员数量不尽相同。例如,拟南芥中有 12 个 *JAZ* 基因,水稻中有 15

个,玉米中有 6 个,核桃中有 17 个,北美云杉中有 13 个^[20]。研究表明,*JAZ* 作为茉莉酸信号途径的抑制子,通过抑制茉莉酸响应转录因子的表达,从而调控相关的生理活动过程,包括花青素积累、植物防御反应、开花时间调控、雄蕊发育、低温胁迫响应等^[22]。虽然前人对 *JAZ* 基因家族进行了大量研究,但还未对杨树中的 *JAZ* 家族成员进行全面的鉴定和分析,本研究以美洲黑杨的全基因组序列为背景,开展 *JAZ* 基因家族全基因组鉴定以及虫害胁迫下表达模式分析。

在对美洲黑杨、拟南芥、水稻、玉米、核桃和北美云杉的进化树分析中,*JAZ* 基因被划分为 3 个亚组。美洲黑杨 *JAZ* 基因比较均匀的分布在 3 个亚组中,单子叶植物中的玉米 *JAZ* 只分布在了组 I 这 1 个亚组之中,而水稻 *JAZ* 在 3 个亚组中均有分布,只是在组 I 中分布较多,这可能是由于双子叶植物和



单子叶植物在进化过程中表现出来的区别。目前已知的 JAZ 蛋白具有 2 个保守的 ZIM 和 Jas 结构域,本课题组前期结果发现 13 个 *PtJAZ* 中也均有 TIFY、JAZ 结构域,基因成员筛选方式以及验证都相同,与本研究 *PdJAZ* 数目一致。所以具有 ZIM 和 Jas 这 2 个结构域是鉴定 JAZ 蛋白的基础,这也表示出这些亚家族中蛋白质的保守和特异性功能,与之前的研究^[23]一致。

启动子顺式元件的分析可以为基因的组织特异性表达和应激反应模式提供思路,本研究在美洲黑杨 JAZ 基因家族中发现多个激素响应元件,*PdJAZ* 的启动子中含有丰富的 ABA 和 MeJA 响应

元件,本课题组前期研究发现 *PtJAZ* 基因启动子顺式作用元件中包含 ABA 响应元件和 MeJA 响应元件,这表明美洲黑杨 *PdJAZ* 可能是整合 ABA 和 JA 信号通路的关键基因,而这一猜想在白桦中得到证实,研究者发现 MeJA 和 ABA 处理后 JAZ 基因上调,同时 JA 和 ABA 具有相同的基因表达调控系统^[24]。此外,白桦中 JAZ 基因启动子区富含光响应元件,说明 JAZ 基因与白桦的生长发育密切相关^[25],Song 等在香椿 JAZ 家族中检测到 50 个顺式启动子元件,这些元件与环境胁迫、激素反应、光反应、启动子、位点结合和其他功能有关^[26],基因 *PdJAZ1* ~ *PdJAZ13* 之间的各元件含量及种类均不

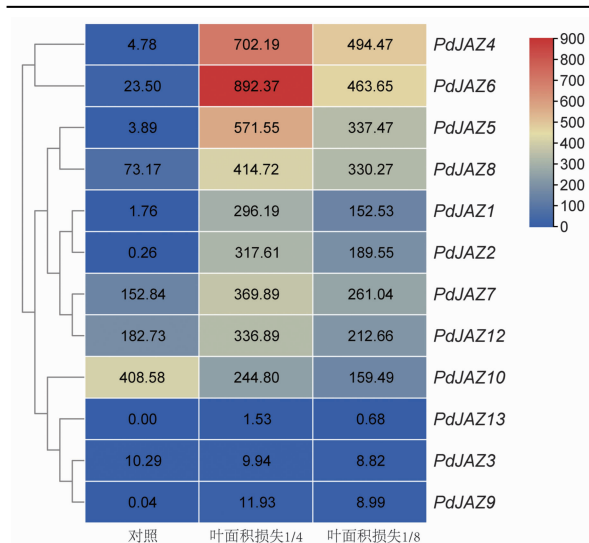


图8 PdJAZ 基因在虫害胁迫下的表达模式

相同,而且部分基因的差异较为明显,表明美洲黑杨 JAZ 基因家族不同成员能够对不同激素发生响应且响应程度不同,从而造成不同基因的功能分化。在基因结构方面,尽管内含子的数量和长度存在差异,但所有美洲黑杨 JAZ 家族基因都至少含有 1 个内含子,而缺乏内含子的 JAZ 基因仅在玉米^[4]、水稻^[27]和小麦^[28]中发现,这可能反映了单子叶植物和双子叶植物之间的进化差异。功能研究表明, JAZ 家族基因能够广泛参与植物生长发育, JAZ 蛋白是调节 JA 和其他激素之间串扰的重要枢纽蛋白,是多种激素信号通路,因而在植物生长发育动态调节中以及在应对环境胁迫中具有重要作用^[22]。GhJAZ10 基因在棉花的器官和纤维中有较高表达,能够参与植物花器官和纤维的发育以及对干旱胁迫的响应^[29],Huang 等发现在大多数 JAZ 中存在一些非生物响应元件,例如干旱响应元件以及低温响应元件,结果表明,lbJAZs 可能参与了甘薯 (*Ipomoea batatas*) 生长发育和非生物胁迫响应的调控^[20]。而美洲黑杨 PdJAZ 基因对干旱胁迫的响应元件较少,这可能说明 PdJAZ 基因对杨树干旱胁迫影响较小或者说在不同程度上参与了干旱胁迫的响应。

表达分析表明, PdJAZ 基因参与了虫害胁迫的响应,但对于林木中 JAZ 抗虫相关的研究较少,更多是在农学植物,例如,香椿 (*Toona sinensis*) 中 TciJAZ1/3/11 在叶片和嫩茎中的表达显著上调,可能具有抗虫功能^[26];研究发现,转基因棉 (*Gossypium hirsutum*) 的不育表型及其抗虫性状都是因 GhJAZ24 蛋白过表达引起的,而 GhJAZ24 为棉的天然蛋白^[30];褐飞虱危害会导致水稻赤霉素的代谢途径被

激活从而显著抑制水稻的生长,而 2 个 GA 代谢酶 GA2ox3 和 GA2ox7 可以把有活性的 GA 转变成没有活性的 GA,并参与褐飞虱危害诱导的水稻生长抑制,研究发现 JA 正调控 GA2ox3 和 GA2ox7 介导的生长抑制,该研究为培育高产又抗虫的水稻品种提供了重要理论基础^[31]。除此以外 Mao 等发现通过阻碍 JAZ3 蛋白的降解会导致 JA 信号与抗虫反应衰减,同时具有抗虫作用的次生代谢化合物硫代葡萄糖苷却随着植物的生长而积累,在某种程度上提高了植物的组成型抗虫能力^[32]。以上 JAZ 对植物抗虫的影响与本文研究结果一致,本研究 PdJAZ 基因参与美洲黑杨对虫害胁迫的响应,发现 PdJAZ13 没有表现出很好的抗虫表达情况,而 PdJAZ4 和 PdJAZ6 表现出很好的抗虫表达情况。在杨树 PtJAZ 基因家族中, PtJAZ6 基因在虫害胁迫下表达模式较好,可能参与调控抗虫性^[20]。这些研究结果说明 JAZ 可能是调控抗虫性的重要基因。

这些研究结果将有助于深入了解美洲黑杨中 PdJAZ 基因的生物学功能,为进一步鉴定其在生物胁迫的功能提供了理论依据,同时为了解美洲黑杨 JAZ 基因家族提供了一定的理论指导,为进一步解析 PdJAZ 基因的功能提供了基础。

4 结论

本研究从美洲黑杨基因组中共鉴定出 13 个 PdJAZ 基因家族成员,亚细胞定位表明 13 个 PdJAZ 基因除 PdJAZ8 在细胞膜和细胞核中均有分布,其余都定位于细胞核中,并且均不存在跨膜,信号肽数量为 0; PdJAZ 家族成员的二级结构以 α -螺旋和无规则卷曲为主,且均具有 ZIM 和 Jas 保守结构域;系统进化树分析表明,美洲黑杨与其他植物 JAZ 基因可分为 3 个亚组, PdJAZ 基因在 3 个亚组中均有分布;启动子顺式作用元件分析说明美洲黑杨 JAZ 基因参与植物激素调控;虫害表达分析结果显示 PdJAZ 基因的确可以响应生物胁迫,其中 PdJAZ2、PdJAZ9、PdJAZ1、PdJAZ5 和 PdJAZ4 可能是响应虫害胁迫的重要基因。研究结果为后续进行 PdJAZ 基因的功能验证奠定了基础。

参考文献:

- [1] Zheng Y C, Chen X J, Wang P J, et al. Genome - wide and expression pattern analysis of JAZ family involved in stress responses and postharvest processing treatments in *Camellia sinensis* [J]. Scientific Reports, 2020, 10(1): 2792.

- [2] Bai Y H, Meng Y J, Huang D L, et al. Origin and evolutionary analysis of the plant – specific TIFY transcription factor family[J]. Genomics, 2011, 98(2): 128 – 136.
- [3] Shrestha K, Huang Y H. Genome – wide characterization of the *Sorghum* JAZ gene family and their responses to phytohormone treatments and aphid infestation[J]. Scientific Reports, 2022, 12(1): 3238.
- [4] Han Y, Luthe D. Identification and evolution analysis of the JAZ gene family in maize[J]. BMC Genomics, 2021, 22(1): 256.
- [5] Xu D B, Ma Y N, Qin T F, et al. Transcriptome – wide identification and characterization of the JAZ gene family in *Mentha canadensis* L. [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(16): 8859.
- [6] 魏 昕, 刘雨恒, 刘宇阳, 等. 植物 JAZ 蛋白家族研究进展[J]. 植物生理学报, 2021, 57(5): 1039 – 1046.
- [7] 黄小芳, 毕楚韵, 陈其俊, 等. 甘薯基因组 JAZ 基因家族的鉴定与分析[J]. 基因组学与应用生物学, 2021, 40(11): 3685 – 3693.
- [8] Pieterse C M J, van der Does D, Zamioudis C, et al. Hormonal modulation of plant immunity [J]. Annual Review of Cell and Developmental Biology, 2012, 28: 489 – 521.
- [9] Yao D X, Zhang X Y, Zhao X H, et al. Transcriptome analysis reveals salt – stress – regulated biological processes and key pathways in roots of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) [J]. Genomics, 2011, 98(1): 47 – 55.
- [10] Hu Y R, Jiang L Q, Wang F, et al. Jasmonate regulates the INDUCER OF CBF EXPRESSION – C – REPEAT BINDING FACTOR/DRE BINDING FACTOR1 cascade and freezing tolerance in *Arabidopsis* [J]. Plant Cell, 2013, 25(8): 2907 – 2924.
- [11] Kazan K. Diverse roles of jasmonates and ethylene in abiotic stress tolerance[J]. Trends in Plant Science, 2015, 20(4): 219 – 229.
- [12] Fu J, Wu H, Ma S Q, et al. *OsJAZ1* attenuates drought resistance by regulating JA and ABA signaling in rice [J]. Frontiers in Plant Science, 2017, 8: 2108.
- [13] Wu H, Ye H Y, Yao R F, et al. *OsJAZ9* acts as a transcriptional regulator in jasmonate signaling and modulates salt stress tolerance in rice[J]. Plant Science, 2015, 232: 1 – 12.
- [14] Lv Y, Yang M, Hu D, et al. The OsMYB30 transcription factor suppresses cold tolerance by interacting with a JAZ protein and suppressing β – amylase expression[J]. Plant Physiology, 2017, 173(2): 1475 – 1491.
- [15] 曹碧婷. 白菜中 *miR398/CSD1* 调控抗热和油菜中 *JAZ5* 基因调控抗旱性状的机制[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2022: 54 – 68.
- [16] Ye H Y, Du H, Tang N, et al. Identification and expression profiling analysis of TIFY family genes involved in stress and phytohormone responses in rice[J]. Plant Molecular Biology, 2009, 71(3): 291 – 305.
- [17] Zhu Z Q, An F Y, Feng Y, et al. Derepression of ethylene – stabilized transcription factors (EIN3/EIL1) mediates jasmonate and ethylene signaling synergy in *Arabidopsis* [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2011, 108(30): 12539 – 12544.
- [18] 黄思源. 番茄 JAZ 家族基因生物信息学分析及 *SlJAZ2* 在抗病中的功能研究[D]. 海口: 海南大学, 2021: 27 – 44.
- [19] Zhai Q Z, Zhang X, Wu F M, et al. Transcriptional mechanism of jasmonate receptor COI1 – mediated delay of flowering time in *Arabidopsis* [J]. Plant Cell, 2015, 27(10): 2814 – 2828.
- [20] Yang G X, Wang S J, Long L X, et al. Genome – wide identification and expression analysis of PiJAZ gene family in poplar (*Populus trichocarpa*) [J]. BMC Genomic Data, 2023, 24(1): 55.
- [21] Yu X Y, Lu B, Dong Y, et al. Cloning and functional identification of *PeWRKY41* from *Populus x euramericana* [J]. Industrial Crops and Products, 2022, 175: 114279.
- [22] Kazan K, Manners J M. JAZ repressors and the orchestration of phytohormone crosstalk[J]. Trends in Plant Science, 2012, 17(1): 22 – 31.
- [23] Heidari P, Faraji S, Ahmadzadeh M, et al. New insights into structure and function of TIFY genes in *Zea mays* and *Solanum lycopersicum*; a genome – wide comprehensive analysis[J]. Frontiers in Genetics, 2021, 12: 657970.
- [24] Kim J A, Bhatnagar N, Kwon S J, et al. Transcriptome analysis of ABA/JA – dual responsive genes in rice shoot and root[J]. Current Genomics, 2018, 19(1): 4 – 11.
- [25] 薛 昭, 张捷睿, 曹孝双, 等. 白桦 JAZ 基因家族的全基因组鉴定及生物信息学分析[J]. 分子植物育种, 2023: 1 – 10 (2023 – 04 – 25) [2024 – 09 – 05]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.0230921.1827.008.html>.
- [26] Song H Y, Duan Z H, Wang Z, et al. Genome – wide identification, expression pattern and subcellular localization analysis of the JAZ gene family in *Toona ciliata* [J]. Industrial Crops and Products, 2022, 178: 114582.
- [27] Bisht N, Anshu A, Singh P C, et al. Comprehensive analysis of OsJAZ gene family deciphers rhizobacteria – mediated nutrient stress modulation in rice [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2023, 253(3): 126832.
- [28] Wang Y K, Qiao L Y, Bai J F, et al. Genome – wide characterization of JASMONATE – ZIM DOMAIN transcription repressors in wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. BMC Genomics, 2017, 18(1): 152.
- [29] 闫文庆, 倪云霞, 贾 敏, 等. 芝麻 JAZ 基因家族鉴定及分析[J]. 分子植物育种, 2024: 1 – 12 (2024 – 01 – 25) [2024 – 09 – 05]. <https://link.cnki.net/urlid/46.1068.S.20240124.1712.004>.
- [30] Mo H J, Chang H M, Zhao G, et al. iJAZ – based approach to engineer lepidopteran pest resistance in multiple crop species[J]. Nature Plants, 2024, 10(5): 771 – 784.
- [31] Jin G C, Qi J F, Zu H Y, et al. Jasmonate – mediated gibberellin catabolism constrains growth during herbivore attack in rice[J]. Plant Cell, 2023, 35(10): 3828 – 3844.
- [32] Mao Y B, Liu Y Q, Chen D Y, et al. Jasmonate response decay and defense metabolite accumulation contributes to age – regulated dynamics of plant insect resistance[J]. Nature Communications, 2017, 8: 13925.