



三裂叶薯NBS-LRR类抗病基因的筛选鉴定与结构分析

胡韵卓, 石媛媛, 黄小芳, 毕楚韵, 周丽香, 梁才晓, 黄碧芳, 许明, 林世强, 陈选阳

引用本文:

胡韵卓, 石媛媛, 黄小芳, 等. 三裂叶薯NBS-LRR类抗病基因的筛选鉴定与结构分析[J]. 热带亚热带植物学报, 2020, 28(5): 495-504.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11926/jtsb.4184>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

蔓花生PEPC基因家族的生物信息学分析

Bioinformatics Analysis of PEPC Gene Family in *Arachis duranensis*

热带亚热带植物学报. 2018, 26(2): 107-115 <https://doi.org/10.11926/jtsb.3804>

毛竹APX家族基因鉴定和表达分析

Identification and Expression Analysis of the APX Gene Family in *Phyllostachys edulis*

热带亚热带植物学报. 2020, 28(3): 255-264 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4155>

巨桉SuSy基因家族的生物信息学分析

Bioinformatics Analysis of SuSy Gene Family in *Eucalyptus grandis*

热带亚热带植物学报. 2018, 26(6): 580-588 <https://doi.org/10.11926/jtsb.3929>

de novo转录组学分析华南地区入侵植物五爪金龙代谢特征

Metabolic Characteristics of Invasive Plant *Ipomoea cairica* in South China by de novo Transcriptomics

热带亚热带植物学报. 2016, 24(2): 128-142 <https://doi.org/10.11926/j.issn.1005-3395.2016.02.002>

巨桉AGO基因家族的生物信息学分析

Bioinformatics Analysis of AGO Gene Family in *Eucalyptus grandis* Genome

热带亚热带植物学报. 2015(4): 361-369 <https://doi.org/10.11926/j.issn.1005-3395.2015.04.001>

三裂叶薯 *NBS-LRR* 类抗病基因的筛选鉴定与结构分析

胡韵卓^{a,b}, 石媛媛^c, 黄小芳^{a,c}, 毕楚韵^{a,c}, 周丽香^d, 梁才晓^d, 黄碧芳^d, 许明^c, 林世强^{a,d*}, 陈选阳^{a,c*}

(福建农林大学, a. 作物生物技术福建省高校重点实验室; b. 植物保护学院; c. 农学院; d. 生命科学学院, 福州 350002)

摘要: 为发掘甘薯近缘野生种三裂叶薯(*Ipomoea triloba*)的 *NBS-LRR* 类抗病基因, 从基因数据库中对三裂叶薯基因组序列进行了筛选、鉴定和分析。结果表明, 从三裂叶薯的 98 025 个基因中, 筛选到 282 个编码 *NBS-LRR* 类蛋白的基因, 其中 N 型 80 个, NL 型 83 个, CN 型 28 个, CNL 型 57 个, TN 型 10 个, TNL 型 23 个, RN 型 1 个。三裂叶薯的 16 条染色体上均含有 *NBS-LRR* 家族基因, 数量最多的染色体含有 65 个, 最少的只有 1 个。三裂叶薯基因组共有 55 个基因簇, 包含了 63.5% 的 *NBS-LRR* 家族基因。在 *NBS-LRR* 抗病基因家族中, CNL 和 TNL 亚家族分别对应到 7 和 11 个保守结构域。这为三裂叶薯抗性资源的利用提供了科学参考。

关键词: 三裂叶薯; *NBS-LRR*; *R* 基因; 结构域; 染色体定位; 进化树

doi: 10.11926/jtsb.4184

Screening and Identification and Structural Analysis of *NBS-LRR* Family Genes in *Ipomoea triloba*

HU Yun-zhuo^{a,b}, SHI Yuan-yuan^c, HUANG Xiao-fang^{a,c}, BI Chu-yun^{a,c}, ZHOU Li-xiang^d, LIANG Cai-xiao^d, HUANG Bi-fang^d, XU Ming^c, LIN Shi-qiang^{a,d*}, CHEN Xuan-yang^{a,c*}

(a. Key Laboratory of Crop Biotechnology, Fujian Agriculture and Forestry University; b. College of Plant Protection; c. College of Agriculture; d. College of Life Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

Abstract: In order to exploit the *NBS-LRR* resistance genes of *Ipomoea triloba*, a close wild relative of *I. batatas*, the genome sequence was screened, identified and analyzed by using pertinent software. The results showed that among the 98 025 genes identified from *I. triloba*, there are 282 genes encoding *NBS-LRR* proteins, including 80 N type, 83 NL type, 28 CN type, 57 CNL type, 10 TN type, 23 TNL and 1 RN type. *NBS-LRR* family genes were located in all of 16 chromosomes, each containing 1 to 65 genes. There were 55 gene clusters in genome of *I. triloba*, containing 63.5% of the *NBS-LRR* family genes. There were 7 and 11 conservative domains in CNL and TNL subfamilies, respectively. Therefore, these would provide a scientific reference for utilization of resistance resource in *I. triloba*.

Key words: *Ipomoea triloba*; *NBS-LRR*; *R* gene; Domain; Chromosomal location; Phylogenetic tree

Flor 提出“基因对基因”假说, 认为对于病原的每个无毒基因(*Avr*), 宿主都有 1 个相应的抗性基因 (*R* 基因), 这 2 个基因产物互作激活宿主的防御反应, 如超敏反应(hypersensitive response, HR)^[1]。根

收稿日期: 2019-12-12 接受日期: 2020-03-09

基金项目: 福建省科技重大专项(2017NZ0002-2, 闽农种函[2019]478 号); 福建农林大学科技创新平台项目(PTJH12015)资助

This work was supported by the Special Projects for Major Science and Technology in Fujian (Grant No. 2017NZ0002-2, [2019]478); and the Innovation Platform Program for Science & Technology Development of Fujian Agriculture and Forestry University (Grant No. PTJH12015).

作者简介: 胡韵卓(1999~), 女, 主要从事植物保护、生物信息学的研究。E-mail: 290655835@qq.com

* 通信作者 Corresponding author. E-mail: linshiqiang@fafu.edu.cn; cxy@fafu.edu.cn

据结构域基序, *R* 基因的编码产物 *R* 蛋白分为 5 类^[2], 第一类含有丝氨酸-苏氨酸激酶结构域和十四烷基化结构域; 第二类包含 LRR (leucine-rich repeat) 结构域、NBS (nucleotide-binding site) 结构域和位于 N 端的亮氨酸拉链(leucine zipper)或卷曲螺旋(coiled coil)序列; 第三类和第二类相似, 但 N 端序列为 TIR (toll and Interleukin 1 receptor) 结构域; 第四类具有跨膜结构域和胞外 LRR 结构域, 但是缺失 NBS; 第五类含有跨膜结构域、胞外 LRR 结构域和丝氨酸-苏氨酸激酶结构域。在这些结构域中, NBS 结构域是这类蛋白家族的关键结构域, 可能通过与核苷酸结合或水解来影响 *R* 蛋白的功能。

三裂叶薯 (*Ipomoea triloba*) 是栽培甘薯 (*I. batatas*) 的二倍体近缘野生种, 主要分布于我国台湾、广东和美洲热带等地, 具有抗旱、抗病等优良性状^[3-4]。研究表明^[5-6], 野生种三裂叶薯可作为克服种间杂交不亲和性, 通过胚胎培养获得杂种的重要材料。三裂叶薯基因组测序于 2018 年完成^[7], 本研究基于测序结果对其进行 CDS (coding domain sequence) 区域预测, 检索其中的 NBS-ARC 家族基因并进行结构分析、染色体定位、保守结构域分析和进化树构建, 为三裂叶薯的抗病研究及甘薯的抗性育种提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料

三裂叶薯 (*Ipomoea triloba*) 全基因组序列从 [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=Ipomoea triloba](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=Ipomoea%20triloba) L. 下载, 共 16 条染色体的 DNA 序列。

1.2 基因注释

通过 snap 程序应用拟南芥 (*At.hmm*)、线虫 (*Ce.hmm*) 和水稻 (*Os.hmm*) 的 HMM 模型对三裂叶薯全基因组序列 CDS 区域进行检索, 所得作为训练三裂叶薯特异 HMM 模型的文件 (*Itl.hmm*), 后以 *Itl.hmm* 作为检索工具预测属于三裂叶薯基因组的 CDS 区域, 并得到其全基因组蛋白质序列。

1.3 基因预测

通过 pfam 下载含有 NB-ARC 家族序列信息的 HMM 文件 (PF00931), 作为检索序列对三裂叶薯的全基因组蛋白质序列进行 NB-ARC 结构域搜索。

从中选取可用序列 ($E\text{-value} \leq 1E-60$), 用 Sam-tools 构建三裂叶薯的 NB-ARC 蛋白本地数据文件, 同时, 用 Clustal Omega 进行比对并用 hmmbuild 建立三裂叶薯特异 HMM 模型, 并再次检索全基因组蛋白序列预测 NB-ARC 结构域, 得到三裂叶薯高特异的 NB-ARC 序列信息。最后导入 NCBI Conserved Domains Tool 和 Interproscan 进行筛选, 剔除结构域缺失严重序列, 得到三裂叶薯 NB-ARC 基因家族蛋白质序列数据库。

1.4 保守结构域分类

从 Pfam 中下载 TIR HMMs、RPW8 HMMs 和 LRR HMMs 模型, 合并后用 hmmpress 程序建立 TRL.hmm 模型, 随后通过 hmmscan 对三裂叶薯的 NBS-LRR 家族基因信息库进行结构域预测, 并结合 Interproscan 查看结果对 TIR/RPW8/LRR 结构域进行类型分类和统计。运用 Pepcoil 与 Paircoil2 对三裂叶薯 NBS-LRR 家族基因编码的蛋白质序列中的 CC 结构域进行预测和检测。

1.5 染色体定位

对三裂叶薯 16 条染色体上的 NBS-LRR 家族基因位置信息进行统计, 根据其在染色体上的位置分成上、中、下 3 个部分, 每个部分按照 N、NL、CN、CNL、TN、TNL 和 RN 共 7 个类型进行分类统计。

1.6 基序分析

将三裂叶薯 NBS-LRR 家族基因进行分类整理后, 从中筛选出 CC-NBS-LRR、TIR-NBS-LRR 和 RPW8-NBS 共 3 种 NBS 亚家族类型的氨基酸序列。保守基序的分析与识别通过 MEME 进行, 并将运行后得到的.xml 文件利用 TBtools 进行处理。

1.7 进化树构建

将筛选得到的 3 种 NBS-LRR 亚家族类型编码的 CC-NBS-LRR、TIR-NBS-LRR 和 RPW8-NBS 氨基酸序列利用 Clustal Omega 程序进行多序列比对, 随后使用 Gblocks 提取保守序列, 进一步用 Jalview 手动矫正。以比对结果为基础, 应用 MEGA X 软件, Maximum Likelihood 法模式为 WAG with Freqs. (+F) model, 校验参数 Bootstrap=500 运行生成三裂叶薯 NBS-LRR 基因家族系统进化树。

2 结果和分析

2.1 *NB-ARC* 基因鉴别及其分类

采用 snap 程序对三裂叶薯全基因组序列进行 CDS 区域识别预测, 经筛选后获得 282 个 *NB-ARC* 家族基因, 占全基因组基因数(98025)的 0.288%。根据 TIR/RPW8/LRR 结构域和 CC 结构域, 这些基因可进一步分为 N (NBS)、NL (NBS-LRR)、CN (CC-NBS)、CNL (CC-NBS-LRR)、TN (TNL-LRR)、TNL

(TNL-NBS-LRR)和 RN (RPW8-NBS)共 7 个亚家族类型(表 1), 分别有 80、83、28、57、10、23 和 1 个基因。不同基因的 NBS/LRR 结构域重复数不同, 在染色体中的分布位置也存在差异。此外, 还含有马铃薯抗 X 病毒和类似蛋白的 RX-CC_like 结构域(coiled coil domain of the potato virus X resistance protein and similar proteins), 即 Cx 结构域, 与 Pepcoil 程序得到的 CC 结构域不同。根据基因结构域的特点和差异, 将 NBS/LRR 基因类型进一步分为 40 个小类(表 1)。

表 1 三裂叶薯 *NBS-LRR* 基因的数量和分类

Table 1 Number and type of *NBS-LRR* genes of *Ipomoea triloba*

类型 Type	预测结构域 Predicted domain	代码 Code	数目 Number
N	NB	N	79
	NB NB	NN	1
NL	LRR NB	LN	1
	NB LRR	NL	58
	NB LRR LRR	NLL	14
	NB LRR LRR LRR	NLLL	2
	NB LRR LRR LRR LRR LRR LRR LRR LRR LRR LRR LRR	NLLLLLLLLLLLL	1
	NB LRR NB	NLN	2
	NB LRR NB LRR	NLNL	1
	NB NB LRR	NNL	1
	NB NB LRR NB LRR LRR	NNLNLL	1
	NB NB LRR NB NB	NNLNN	1
	NB NB NB LRR LRR	NNNLL	1
CN	CC NB	CN	16
		CxN	12
CNL	CC CC NB	CxCN	2
	CC CC NB LRR	CCNL	2
		CxCNL	1
	CC CC CC NB LRR	CCxCNL	1
	CC CC NB NB LRR	CCxNNL	1
	CC NB LRR	CNL	6
		CxNL	27
	CC NB LRR LRR	CNLL	1
		CxNLL	5
	CC NB NB LRR	CxNNL	3
	CC NB CC NB LRR	CxNCxNL	1
	CC NB LRR LRR LRR	CNLLL	1
		CxNLLL	2
	LRR CC NB	LCN	1
	NB LRR CC CC NB LRR LRR	NLCCNLL	1
NB LRR CC NB	NLCN	1	
NB LRR NB LRR CC NB NB LRR CC NB NB LRR	NLNLCxNNLCxNNL	1	
TN	TIR NB	TN	9
	TIR NB TIR TIR TIR NB	TNTTTN	1
TNL	NB LRR TIR NB LRR	NLTNL	1
	TIR NB LRR	TNL	6
	TIR NB LRR LRR	TNLL	5
	TIR NB LRR LRR LRR	TNLLL	5
	TIR NB LRR LRR LRR LRR LRR	TNLLLLL	1

续表(Continued)

类型 Type	预测结构域 Predicted domain	代码 Code	数目 Number
	TIR NB LRR LRR LRR LRR LRR LRR LRR LRR LRR LRR	TNLLLLLLLLLLLL	1
	TIR NB LRR LRR TIR NB LRR LRR LRR	TNLLTNLLL	1
	TIR NB LRR NB LRR	TNLNL	1
	TIR NB LRR NB LRR LRR LRR	TNLNLLL	1
	TIR NB TIR NB LRR LRR LRR	TNTNLLL	1
RN	RPW8 NB	RN	1

2.2 NBS-LRR 家族基因的染色体分布

NBS-LRR 家族基因在三裂叶薯 16 条染色体上的分布差异明显(表 2), 不同的亚家族类型, CN 型、CNL 型、N 型、NL 型、TN 型、TNL 型和 RN 型在各染色体上的数量和位置较不均匀。在第 16 号

染色体仅有 1 个 NBS-LRR 家族基因, 而在第 15 号染色体多达 65 个。NBS-LRR 家族基因在染色体的位置也有差异, 第 4、13 和 14 号染色体的 NBS-LRR 家族基因主要位于染色体的中部和上部, 而在第 7、11 和 15 号染色体则以中部和下部居多(表 2)。

表 2 三裂叶薯 NBS-LRR 家族基因在染色体上的分布

Table 2 Chromosomal location of NBS-LRR family genes of *Ipomoea triloba*

位置 Position	类型 Type	染色体 Chromosome																
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	
上部 Upper	N	2			7		1	1			2		10	6				
	NL		1		6	1		5			1		6	16				
	CN	1			3						5		3	1				
	CNL	2	1		6		1	3			1	1	1	2	1			
	TN	1																
	TNL								5									
中部 Middle	N			1	1	1		2	1	1	3		3	2	10			
	NL			2	1	2	4	2			1		1		8			
	CN			1	2		3							1		1		
	CNL			4	1		2				1		1		1			
	TN		1						1				1					
	TNL					1	1											
下部 Lower	N					1		3	1	2		3	1		15			
	NL				2			2	1			2	2		20			
	CN							1		1		4			3			
	CNL			2	1			6		2		10			5			
	TN				1			2					2		1			
	TNL				1			11							1			
RN	1																	

NBS-LRR 家族基因在各染色体上分布形式也存在明显不同, 有些是以单基因分布于染色体, 而有些则以基因簇的形式存在。三裂叶薯每条染色体上的基因簇数量也存在较大差异, 如第 15 号染色体的基因簇最多, 有 10 个; 第 16 号染色体则没有基因簇(表 3)。所有染色体总共有 55 个基因簇, 包含了 179 个 NBS-LRR 基因, 占 NBS-LRR 家族基因总基因数(282)的 63.5%。

2.3 基序分析

分别将三裂叶薯 NBS-LRR 蛋白家族中 CNL 和 TNL 亚家族氨基酸序列信息利用 MEME 程序检测, 得到 15 个相似度较高的结构域。CNL 亚家族氨基酸序列(共 57 条)结构域的分布(图 1)有以下规律: motif 9-motif 10-motif 1 (P-loop)-motif 4 (RNBS-A)-motif 2 (kinase 2)-motif 15 (RNBS-C)-motif 6 (GLPL)-motif 8-motif 3 (RNBS-D)-motif 12-motif

表 3 三裂叶薯 *NBS-LRR* 基因家族基因簇统计表

Table 3 Statistics of *NBS-LRR* family gene clusters in *Ipomoea triloba*

染色体 Chromosome	基因 Gene	基因簇 / 基因数目 Gene cluster / Gene number	最大基因簇 Maxim gene cluster	%
1	7	2/4	2	57.1
2	3	1/2	2	66.7
3	10	4/9	3	90.0
4	32	8/22	4	68.8
5	6	0/0	0	0.0
6	12	2/5	3	41.7
7	44	7/33	14	75.0
8	3	0/0	0	0.0
9	7	1/2	2	28.6
10	13	2/4	2	31.8
11	21	5/17	5	81.0
12	4	2/4	2	100.0
13	26	6/17	6	65.4
14	28	5/20	5	71.4
15	65	10/40	7	85.7
16	1	0/0	0	0.0
小计 Sum	282	55/179		63.5

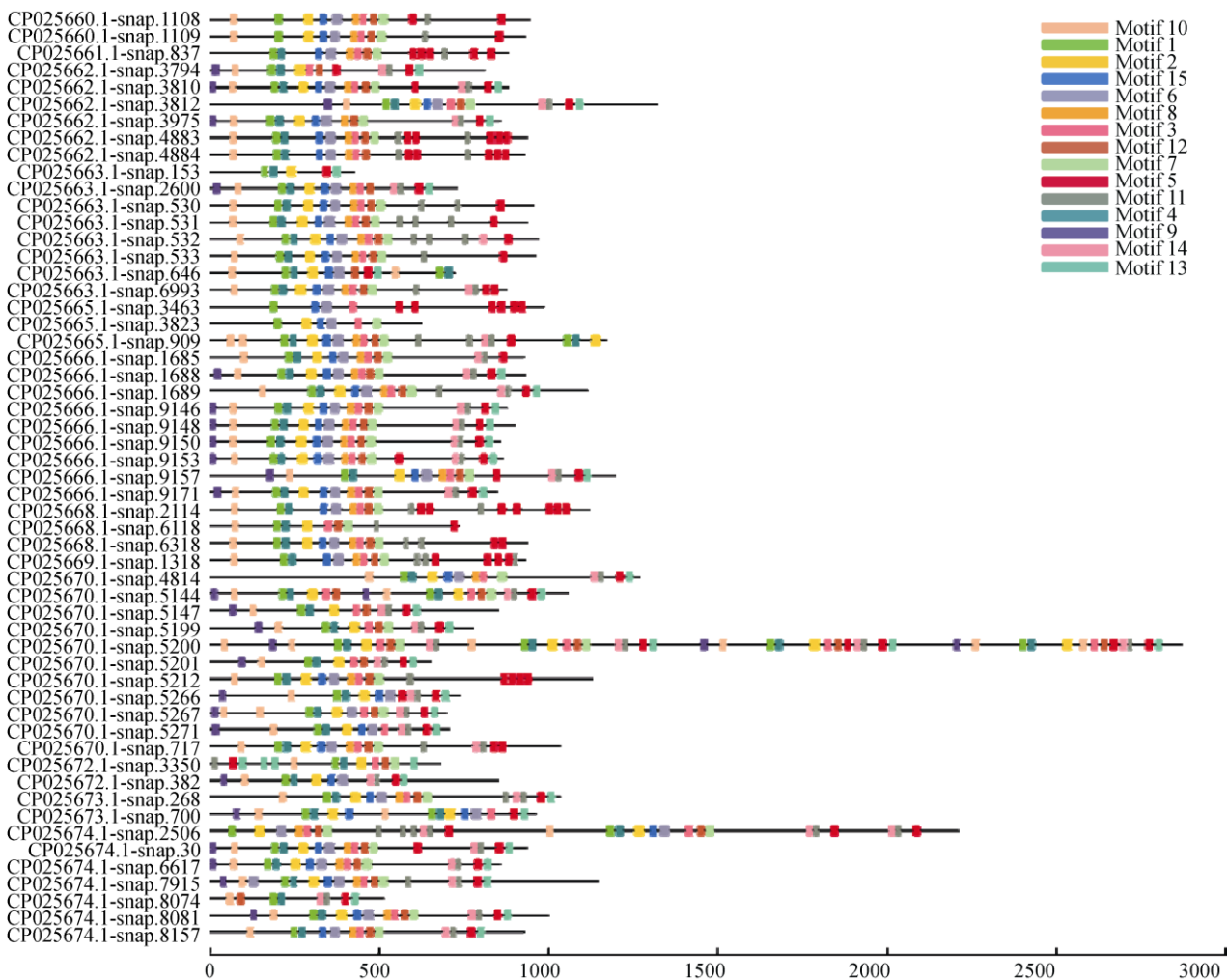


图 1 三裂叶薯 *NBS-LRR* 基因家族中 CNL 亚家族蛋白保守结构域分布

Fig. 1 Distribution of conservative domains of CNL subfamily proteins in *NBS-LRR* gene family of *Ipomoea triloba*

7-motif 11-motif 14-motif 11-motif 5-motif 13。TNL 亚家族氨基酸序列(共 22 条)结构域的分布有以下规律(图 2): motif 11 (TIR-1)-motif 3 (TIR-2)-motif 1 (TIR-3)-motif 13 (TIR-4)-motif 5 (P-loop)-motif 10-motif 2 (kinase 2)-motif 9 (RNBS-B)-motif 4 (RNBS-C)-motif 14 (GLPL)-motif 6-motif 8 (RNBS-D)-motif 7 (MHDV)-motif 12-motif 15-motif 12-motif 15。

2.4 结构域保守性分析

在植物的 NBS-LRR 蛋白家族中 NB-ARC 区域相对保守,通常有 8 个保守基序^[8]: P-loop、RNBS-A、Kinase2、RNBS-B、RNBS-C、GLPL、RNBS-D 和 MHDV。对三裂叶薯 NBS-LRR 家族氨基酸序列利用 Clustal Omega 筛选出 20 条序列进行多重比对,结果表明,具有 5 个保守性较高的结构域^[9-11](图 3),分别为 P-loop (Kinase 1)、Kinase 2、RNBS-B、GLPL 和 MHDV。其中 P-loop、Kinase 2、RNBS-B、GLPL、MHDV 最保守的氨基酸序列分别为 SIV GMGGI GKTT+AR++F (下划线为氨基酸保守性较强序列)、R+LLVLDDV、GS+I+LTTR++++L、AGGLPLAL+V+G、GKMHDLV++MG。

根据 MEME 结构域搜索结果,对 CNL 和 TNL 亚家族基因结构域进行基因识别和定位^[12]。从表 4 可见, TNL 和 CNL 亚家族中分别有 11 和 7 个保守

结构域,其中 TNL 亚家族 NB-ARC 结构域中保守基序分别为 P-loop、Kinase 2、RNBS-B、RNBS-C、GLPL、RNBS-D 和 MHDV,缺失 RNBS-A 保守基序。CNL 亚家族 NB-ARC 结构域保守基序分别为 P-loop、RNBS-A、Kinase 2、RNBS-C、GLPL、RNBS-D 和 MHDV,缺失 RNBS-B 保守基序。TNL 和 CNL 亚家族中共有的保守基序分别为 P-loop (Kinase 1)、Kinase 2、RNBS-C、GLPL、RNBS-D 和 MHDV。此外,在 TNL 亚家族中 TIR 结构域检测到 4 个保守基序(TIR 1~TIR 4)^[13]。

2.5 NBS-LRR 亚家族系统进化树分析

将三裂叶薯的 NBS-LRR 家族蛋白中 CC/TIR/RPW8/NBS/LRR 结构域序列分别提取,使用 MEGA X 构建进化树(图 4),可见有 3 个明显的分支,分别为 CNL 型(蓝色)、TNL 型(紫色)和 RN 型(黄色)。进化树分支中有些基因分支路径很长,如 CP025666.1-snap.8798、CP025670.1-snap.5147 等,推测这类基因的“祖先”基因在较早时即已发生分化,相应的基因序列也发生了较大的变化。有些基因序列的分支距离较近,如 CP025666.1-snap.1140 和 CP025666.1-snap.1141、CP025663.1-snap.531 和 CP025663.1-snap.532,说明这些变化发生的时间较晚。

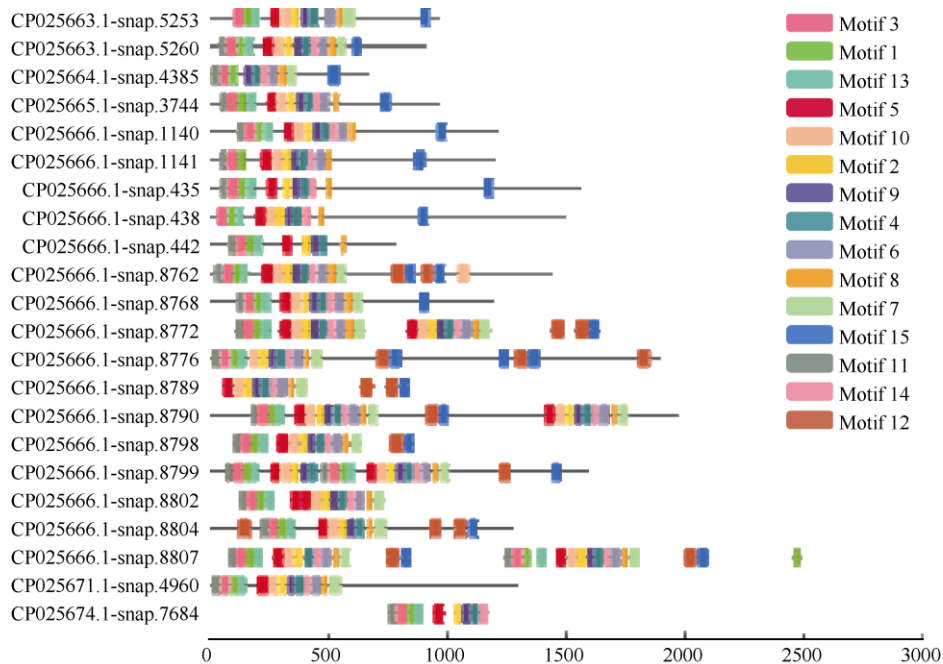


图 2 三裂叶薯 TNL 亚家族蛋白保守结构域分布

Fig. 2 Distribution of conservative domain of TNL subfamily proteins in *Ipomoea triloba*

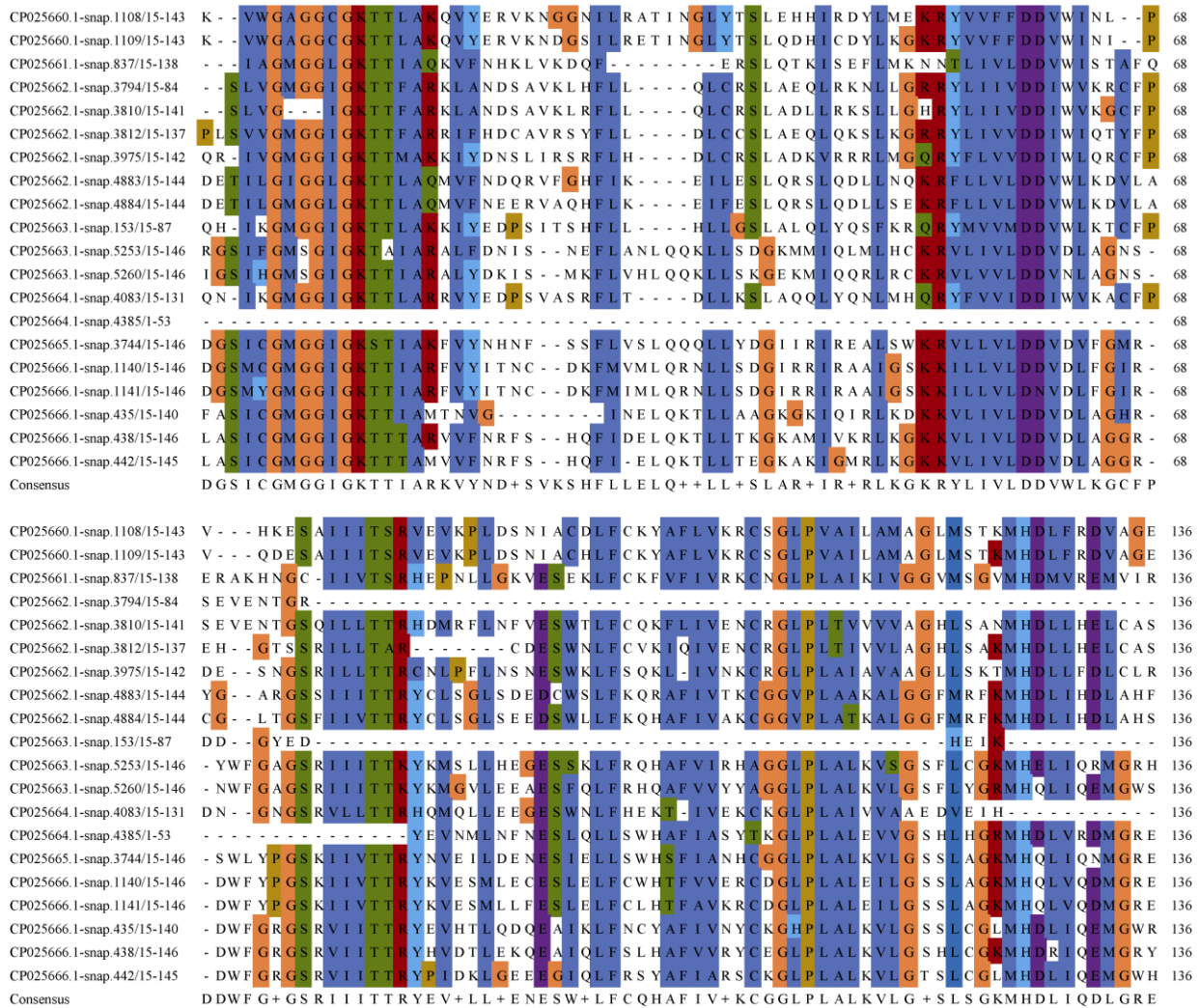


图 3 三裂叶薯 CNL 和 TNL 亚家族 NB-ARC 保守性分析

Fig. 3 Conservation analysis of the NB-ARC in CNL and TNL subfamilies in *Ipomoea triloba*

表 4 三裂叶薯 NBS-LRR 家族蛋白保守结构域和氨基酸保守性分析

Table 4 Conservative domains and amino acids of NBS-LRR family proteins in *Ipomoea triloba*

基序 Motif	TNL 型 TNL type	CNL 型 CNL type
TIR-1	ETRSFTDHLIEDLRQAGINTFI	
TIR-2	NISDELLKAIEGSKISIVFSKTYAQRWCLDELVKILECK	
TIR-3	QMVLPIFYNVDPSEVRKQTGEFGKALTQH	
TIR-4	RQRFDQKVDDEWQKVALTTVADLSGWDLQTMNG	
P-loop	KMLGIFGMGGVGGKTLAKAIYNLSFQKFEGSCFIANIRSQV	VISIVGMGGIGKTTLAKKVVYED
RNBS-A		TSHFDVRAWVTVSQEFNVRQML
Kinase 2	DDIDDTSQLESAGQRND	RYLIVLDDIWSSTAADDIKRCFPDDNNGS
RNBS-B	WFGSGSTIIITRDVQLLS	
RNBS-C	AHEKYMVETLSHNSLQLLSWHAFGVPIIP	IHEMKNLNPESWDLFCKKVF
GLPL	EYIELSKRIASVTGGLPLALTVIGSHLRGKSVQEW	LEEIGRQIVKCKGGLPLAIVVAVAGLLSKK
RNBS-D	DDAEKLGIPHDDVQKILKISYDSLDDDT	FPEDHEIKVKKLIRLWIAEGF
MHDV	MHDLVRDMGREIVRKESPREP	GKIKTCRMHDLLEHFCVREAQKENL

3 结论和讨论

植物 *R* 基因在长期的抗病过程中监控识别病原微生物产生的无毒基因(*Avr*), 从而引发植物细胞过

敏性坏死, 产生免疫反应。*R* 基因与 *Avr* 基因间互作模式包括直接作用、间接作用和转录调控^[14]。通过克隆植物体内相关的抗病 *R* 基因, 研究其与病原物的互作模式与机制, 将其遗传转化到目标作物

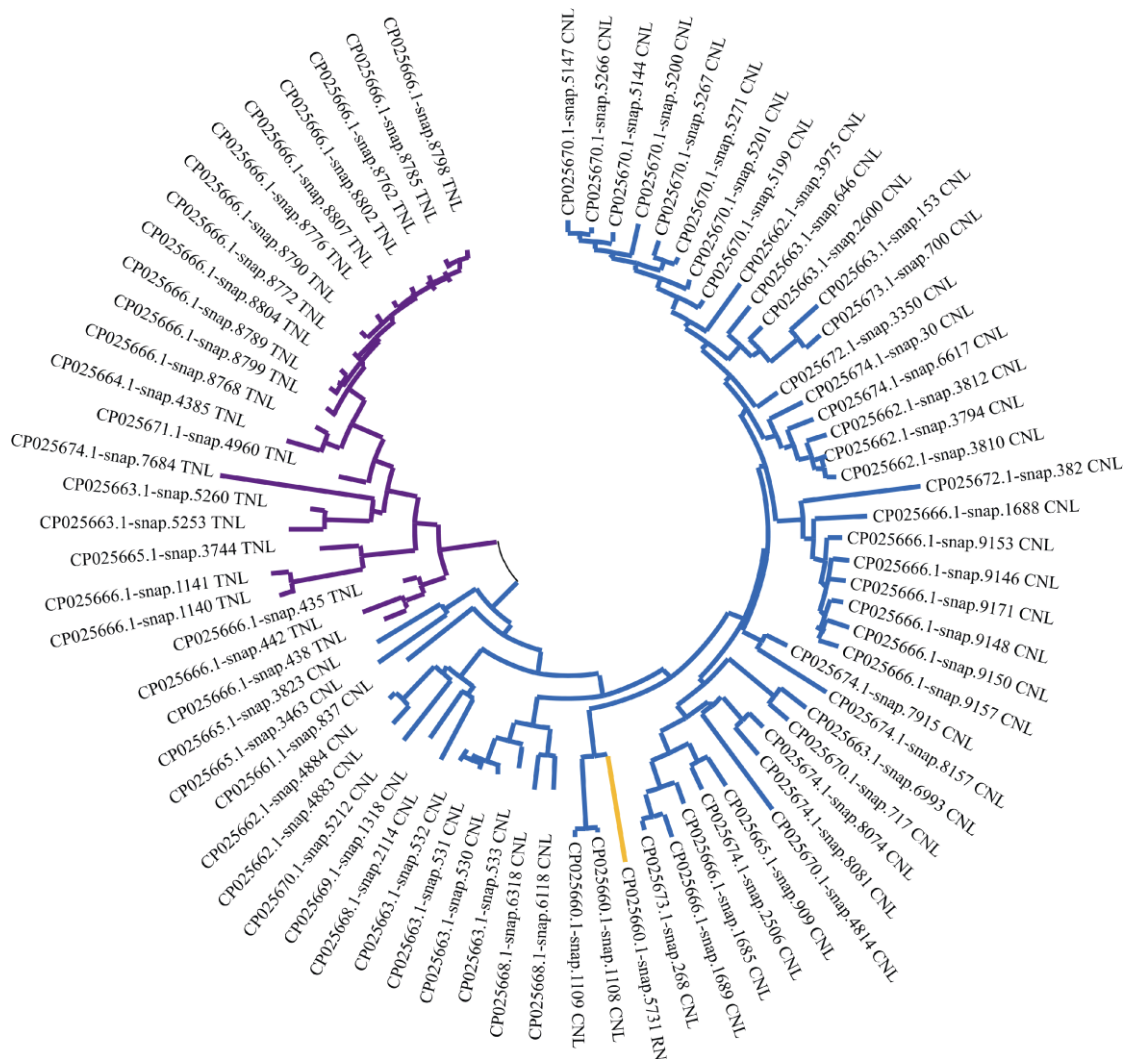


图 4 三裂叶薯 *NBS-LRR* 家族基因系统进化树

Fig. 4 Phylogenetic tree of *NBS-LRR* family genes in *Ipomoea triloba*

中, 增强作物的抗病能力, 有利于提高作物产量, 保障生产安全。

甘薯在生产上面临着许多病害的威胁, 如南方薯区的蔓割病、薯瘟病, 北方薯区的茎线虫病、黑斑病、根腐病等, 以及最近时有发生茎腐病等病害, 都严重影响甘薯生产的安全。甘薯抗性是产量和品质的坚实保证^[15], 因而抗性育种是甘薯育种的重要方向。甘薯种质资源是甘薯育种工作的基础^[16], 然而, 甘薯种质资源在新品种育种工作中存在利用率低、育成品种遗传背景狭窄、优秀资源筛选困难等问题^[17-18]。因此, 如何充分发掘、利用野生种质资源, 拓宽甘薯遗传背景, 对于选育具有突破性的甘薯新品种具有重要意义。研究表明, 甘薯与其近缘野生种三裂叶薯杂交不亲和, 无法直接利用其抗性基因, 但应用原生质体细胞融合法可以获得三裂

叶薯和甘薯的种间体细胞杂种植株, 或者可以通过克隆其抗性基因, 通过遗传转化提高栽培种甘薯的抗性水平, 以充分发挥三裂叶薯基因资源在甘薯育种中的巨大潜力^[5,19-20]。

值得注意的是, 甘薯栽培种为同源异源六倍体, 三裂野牵牛(*I. trifida*)存在二倍体、四倍体和六倍体, 一套染色体均为 15 条, 但数据库中三裂叶薯基因组的染色体数为 16, 本文即以三裂叶薯 16 条染色体的全基因组序列为研究对象开展了相关的研究, 研究结果有待于与甘薯和三裂野牵牛基因组进行进一步的比较, 分析它们之间的异同之处, 将有利于甘薯的进化研究和育种工作。

对作物全基因组 *NBS-LRR* 基因进行鉴定分析, 有利于其抗性资源的应用^[21], 本研究对三裂叶薯全基因组蛋白序列进行了预测, 并鉴定、筛选了 *NBS-*

LRR 类抗病基因, 获得 *NBS-LRR* 家族基因的数量、在染色体上定位与分布, 分析了基因结构域特点, 构建了进化树, 为进一步发掘其抗性基因资源, 研究甘薯抗病分子机制, 提高甘薯抗性育种水平提供了参考。

参考文献

- [1] ZHENG X W, ZHAI W X, LI X B, et al. *NBS-LRR* resistance gene homologues in rice [J]. *Sci China (Ser C)*, 2001, 44(3): 253–262. doi: 10.1007/BF02879332.
郑先武, 翟文学, 李晓兵, 等. 水稻 *NBS-LRR* 类 *R* 基因同源序列 [J]. *中国科学(C 辑)*, 2001, 31(1): 43–51. doi: 10.1007/BF02879332.
- [2] MARTIN G B, BOGDANOVA A J, SESSA G. Understanding the functions of plant disease resistance proteins [J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2003, 54: 23–61. doi: 10.1146/annurev.arplant.54.031902.135035.
- [3] SONG X, SHEN Y D, HUANG Q Q, et al. Effect of aqueous extracts of 3 plants (*Ipomoea cairica*, *Ipomoea triloba* and *Ipomoea digitata*) on seed germination and seedling growth of radish, cabbage, mustard and asparagus lettuce [J]. *J Trop Biol*, 2013, 4(1): 50–55. doi: 10.3969/j.issn.1674-7054.2013.01.009.
宋鑫, 沈奕德, 黄乔乔, 等. 五爪金龙、三裂叶薯和七爪龙水浸液对 4 种作物种子萌发与幼苗生长的影响 [J]. *热带生物学报*, 2013, 4(1): 50–55. doi: 10.3969/j.issn.1674-7054.2013.01.009.
- [4] SHI X W, HE L H, JIAO J H, et al. Genome-wide characterization of MYB transcription factors and response to abiotic stresses in *Ipomoea triloba* [J]. *J Nucl Agric Sci*, 2018, 32(7): 1338–1348. doi: 10.11869/j.issn.100-8551.2018.07.1338.
石晓雯, 贺立恒, 焦晋华, 等. 甘薯二倍体近缘野生种三裂叶薯 MYB 转录因子全基因组分析及逆境胁迫响应 [J]. *核农学报*, 2018, 32(7): 1338–1348. doi: 10.11869/j.issn.100-8551.2018.07.1338.
- [5] WANG J X, LU S Y, ZHOU H Y, et al. The second report of studies on overcoming the interspecific incompatibility and hybrid abortion between series A and B in the section *Batalas* of the genus *Ipomoea* [J]. *Acta Agron Sin*, 1998, 24(2): 139–146.
王家旭, 陆漱韵, 周海鹰, 等. 克服甘薯组(section *Batalas*)种间杂交不亲和性研究再报 [J]. *作物学报*, 1998, 24(2): 139–146.
- [6] WANG J X, LU S Y. Primary report of studies on overcoming the interspecific incompatibility and hybrid abortion between series A and B in the section *Batatas* of genus *Ipomoea* [J]. *Acta Agron Sin*, 1993, 19(2): 111–118, 195.
王家旭, 陆漱韵. 克服甘薯组(section *Batatas*)种间杂交不亲和性研究初报 [J]. *作物学报*, 1993, 19(2): 111–118, 195.
- [7] WU S, LAU K H, CAO Q H, et al. Genome sequences of two diploid wild relatives of cultivated sweetpotato reveal targets for genetic improvement [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 4580. doi: 10.1038/s41467-018-06983-8.
- [8] LIU Z C, XIE J M, WANG H P, et al. Identification and expression profiling analysis of *NBS-LRR* genes involved in *Fusarium oxysporum* f.sp. *conglutinans* resistance in cabbage [J/OL]. *3 Biotechnol*, 2019, 9: 202. doi: 10.1007/s13205-019-1714-8.
- [9] MEYERS B C, KOZIK A, GRIEGO A, et al. Genome-wide analysis of *NBS-LRR*-encoding genes in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell*, 2003, 15(4): 809–834. doi: 10.1105/tpc.009308.
- [10] KOHLER A, RINALDI C, DUPLESSIS S, et al. Genome-wide identification of *NBS* resistance genes in *Populus trichocarpa* [J]. *Plant Mol Biol*, 2008, 66(6): 619–636. doi: 10.1007/s11103-008-9293-9.
- [11] LOZANO R, PONCE O, RAMIREZ M, et al. Genome-wide identification and mapping of *NBS*-encoding resistance genes in *Solanum tuberosum* group Phureja [J]. *PLoS One*, 2012, 7(4): e34775. doi: 10.1371/journal.pone.0034775.
- [12] LI T G, WANG B L, YIN C M, et al. The *Gossypium hirsutum* TIR-NBS-LRR gene *GhDSC1* mediates resistance against verticillium wilt [J]. *Mol Plant Pathol*, 2019, 20(6): 857–876. doi: 10.1111/mp.12797.
- [13] MEYERS B C, MORGANTE M, MICHELMORE R W. TIR-X and TIR-NBS proteins: Two new families related to disease resistance TIR-NBS-LRR proteins encoded in *Arabidopsis* and other plant genomes [J]. *Plant J*, 2002, 32(1): 77–92. doi: 10.1046/j.1365-313X.2002.01404.x.
- [14] HE F, WANG C C, WANG F Q, et al. Interaction mechanism between plant resistance gene and pathogen avirulence gene [J]. *Chin J Cell Biol*, 2011, 33(9): 1037–1044.
何锋, 王长春, 王锋青, 等. 植物抗病基因(*R*)与病原物无毒基因(*Avr*)相互作用机制的研究进展 [J]. *中国细胞生物学学报*, 2011, 33(9): 1037–1044.
- [15] CHEN G S, ZHOU Y F, Lin S, et al. Isolation and sequence analysis of *NBS*-type resistance gene analogues in sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) [J]. *J Trop Subtrop Bot*, 2006, 14(5): 359–365. doi: 10.3969/j.issn.1005-3395.2006.05.001.
陈观水, 周以飞, 林生, 等. 甘薯 *NBS* 类抗病基因类似物的分离与序列分析 [J]. *热带亚热带植物学报*, 2006, 14(5): 359–365. doi: 10.3969/j.issn.1005-3395.2006.05.001.
- [16] FAN F B, ZHANG X J, CHEN J Y, et al. The history and status of sweet potato germplasm research in China [J]. *Guangdong Agric Sci*, 2004(S1): 3–5. doi: 10.3969/j.issn.1004-874X.2004.z1.001.
房伯平, 张雄坚, 陈景益, 等. 我国甘薯种质资源研究的历史与现状 [J]. *广东农业科学*, 2004(S1): 3–5. doi: 10.3969/j.issn.1004-874X.

- 2004.z1.001
- [17] ZHAO D L, TANG J, CAO Q H, et al. Preliminary study on construction of core collection of sweet potato germplasms in China [J]. *Acta Agric Jiangxi*, 2012, 24(10): 36–39. doi: 10.3969/j.issn.1001-8581.2012.10.011.
赵冬兰, 唐君, 曹清河, 等. 中国甘薯种质资源核心种质构建初探 [J]. *江西农业学报*, 2012, 24(10): 36–39. doi: 10.3969/j.issn.1001-8581.2012.10.011.
- [18] ZHANG M S, LIU Z, QI J L, et al. Methods of comprehensive evaluation for drought resistance in sweet potato cultivars [J]. *J Trop Subtrop Bot*, 2005, 13(6): 469–474. doi: 10.3969/j.issn.1005-3395.2005.06.002.
张明生, 刘志, 戚金亮, 等. 甘薯品种抗旱适应性综合评价的方法研究 [J]. *热带亚热带植物学报*, 2005, 13(6): 469–474. doi: 10.3969/j.issn.1005-3395.2005.06.002.
- [19] ZHANG B Y, LIU Q C, ZHAI H, et al. Effective regeneration of interspecific somatic hybrid plants between sweet potato and its kindred species [J]. *Sci Agric Sin*, 1999, 32(6): 23–27. doi: 10.3321/j.issn:0578-1752.1999.06.004.
张冰玉, 刘庆昌, 翟红, 等. 甘薯及其近缘野生种种间体细胞杂种植株的有效再生 [J]. *中国农业科学*, 1999, 32(6): 23–27. doi: 10.3321/j.issn:0578-1752.1999.06.004.
- [20] WANG J S, LIU Q C, MENG X X, et al. Regeneration of interspecific somatic hybrid between sweetpotato and its wild relative *Ipomoea triloba* [J]. *J Agric Biotechnol*, 2003, 11(1): 40–43. doi: 10.3969/j.issn.1674-7968.2003.01.009.
王晶珊, 刘庆昌, 孟祥霞, 等. 甘薯和近缘野生种 *Ipomoea triloba* 的种间体细胞杂种植株再生 [J]. *农业生物技术学报*, 2003, 11(1): 40–43. doi: 10.3969/j.issn.1674-7968.2003.01.009.
- [21] LIU M Y, LI W M, WU W, et al. Identification and characterization of *NBS*-encoding disease resistance genes in *Musa acuminata* genome [J]. *J Trop Subtrop Bot*, 2014, 22(5): 486–494. doi: 10.3969/j.issn.1005-3395.2014.05.010.
刘梦雅, 李伟明, 吴伟, 等. 小果野蕉 (*Musa acuminata*) 全基因组 *NBS* 抗病基因的鉴定与分析 [J]. *热带亚热带植物学报*, 2014, 22(5): 486–494. doi: 10.3969/j.issn.1005-3395.2014.05.010.