



## 木薯JAZ基因的鉴定和对不同胁迫的响应模式

林晨俞, 郭鑫, 于晓惠, 赵平娟

引用本文:

林晨俞, 郭鑫, 于晓惠, 等. 木薯JAZ基因的鉴定和对不同胁迫的响应模式[J]. 热带亚热带植物学报, 2025, 33(2): 187–196.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11926/jtsb.4868>

---

### 您可能感兴趣的其他文章

#### Articles you may be interested in

##### 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>

##### 铁皮石斛WOX转录因子的鉴定和分析

Identification and Analysis of WOX Transcription Factor in *Dendrobium officinale*

热带亚热带植物学报. 2021, 29(3): 301–310 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4294>

##### 三裂叶薯NBS-LRR类抗病基因的筛选鉴定与结构分析

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

热带亚热带植物学报. 2020, 28(5): 495–504 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4184>

##### 铁皮石斛DoSMT2基因的克隆与表达分析

Cloning and Expression Analysis of DoSMT2 Gene in *Dendrobium officinale*

热带亚热带植物学报. 2020, 28(6): 591–598 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4234>

##### 青花菜BoSCL3基因的克隆和渍水胁迫下的表达特征分析

Cloning BoSCL3 Gene from *Brassica oleracea* var. *italica* and Expression Analysis under Waterlogging Stress

热带亚热带植物学报. 2021, 29(2): 195–200 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4263>

向下翻页, 浏览PDF全文

# 木薯 *JAZ* 基因的鉴定和对不同胁迫的响应模式

林晨俞<sup>1,2</sup>, 郭鑫<sup>1,2\*</sup>, 于晓惠<sup>1\*\*</sup>, 赵平娟<sup>2\*\*</sup>

(1. 海南大学热带农林学院, 海口 570228; 2. 中国热带农业科学院热带生物技术研究所, 热带作物生物学与遗传资源重点实验室, 海口 571101)

**摘要:** JAZ (jasmonate ZIM-domain)蛋白在植物响应生物与非生物胁迫方面具有重要作用。该研究利用生物信息学在木薯 (*Manihot esculenta*)中鉴定到 16 个 *JAZ* 基因, 不均匀分布在 11 条染色体上。16 个 *JAZ* 基因中有 7 对呈共线性关系, 全为片段重复基因, 其中 4 对相似度高的共线性基因的 *Ka/Ks* 小于 1, 表明木薯 *JAZ* 家族基因在进化中受到纯化选择。13 个 *JAZ* 蛋白包含 ZIM、Jas 和 NT 结构域, 3 个蛋白 NT 结构域缺失。13 个 *JAZ* 基因包含完整的 UTR、内含子和外显子序列, 其余缺失 UTR 区或者内含子。*JAZ* 家族基因启动子区存在多个响应胁迫、脱落酸和水杨酸的顺式作用元件。组织特异性表达分析结果表明花和块根中有较多高表达 *JAZ* 基因(如 *MeJAZ2/MeJAZ4/MeJAZ6/MeJAZ9/MeJAZ13*), 其次为茎秆。同时大多数 *MeJAZ* 基因响应多种非生物胁迫, 如干旱诱导较多 *MeJAZ* 基因的表达, *MeJAZ16* 基因被水杨酸显著诱导, 这为木薯遗传改良筛选优质基因提供参考。

**关键词:** 木薯; *JAZ* 家族基因; 组织特异性表达; 非生物胁迫

doi: 10.11926/jtsb.4868

CSTR:32235.14.jtsb.4868

## Identification of *Manihot esculenta* *JAZ* Genes and Their Response Pattern to Different Stresses

LIN Chenyu<sup>1,2</sup>, GUO Xin<sup>1,2\*</sup>, YU Xiaohui<sup>1\*\*</sup>, ZHAO Pingjuan<sup>2\*\*</sup>

(1. School of Tropical Agriculture and Forestry, Hainan University, Haikou 570228, China; 2. Key Laboratory of Tropical Crop Biology and Genetic Resources, Institute of Tropical Biotechnology, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 571101, China)

**Abstract:** Jasmonate ZIM-domain (JAZ) proteins play an important role in plant response to biological and abiotic stresses. There were 16 *MeJAZ* genes identified in *Manihot esculenta* by bioinformatics, which were unevenly distributed on 11 chromosomes. Among the 16 *MeJAZ* genes, 7 pairs of gene showed collinear relationship, all of which were fragment repeat genes, and the *Ka/Ks* of the 4 collinear genes with high similarity were less than 1, indicating that the *JAZ* family genes were selected for purification in evolution. Thirteen *MeJAZ* proteins contained ZIM, Jas and NT domains, and the other 3 *MeJAZ* proteins were missing NT domains. Thirteen *MeJAZ* genes contained complete UTR, intron and exon sequences, the other genes lacked the UTR region or intron sequences. The promoter region of *MeJAZs* contained multiple *cis*-acting elements responding to abiotic stresses, ABA and SA. There were more *MeJAZs* with high expression in root tuber and flower, such as *MeJAZ2/MeJAZ4/MeJAZ6/MeJAZ9/MeJAZ13*, followed by stems. At the same time, most of *MeJAZ* genes responded to multiple abiotic stresses, drought induced the expression of more *MeJAZ* genes, and the *MeJAZ16* gene was significantly induced by SA. Therefore, these would provide a reference for genetic improvement and selection of high-quality genes in *Manihot esculenta*.

收稿日期: 2023-11-01

接受日期: 2024-03-26

**基金项目:** 国家自然科学基金项目(3236045); 国家现代农业产业技术体系项目(CARS-11-HNSHY); 海南省自然科学基金项目(321RC1095)资助  
This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No. 3236045), the Project for Modern Agriculture Industrial Technology System of China (Grant No. CARS-11-HNSHY), and the Project for Natural Science in Hainan (Grant No. 321RC1095).

作者简介: 林晨俞(1995年生), 女, 硕士研究生, 研究方向为作物抗逆机理。E-mail: lcy1179456412@163.com

\* 共同第一作者

\*\* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: zhaopingjuan@itbb.org.cn; xiaohuiyu@hainanu.edu.cn

**Key words:** *Manihot esculenta*; JAZ family gene; Tissue specific expression; Abiotic stress

木薯(*Manihot esculenta*)源于亚马逊流域, 具有高光效、耐贫瘠等特点, 是世界三大薯类作物之一<sup>[1]</sup>。木薯广泛分布于非洲、拉丁美洲和亚洲等发展中国家, 为世界上 10 亿人口提供主粮, 是重要的粮食作物<sup>[2]</sup>。木薯在肥沃的土地产量高于其它块根作物, 在其它作物不能生长的贫瘠地区, 也能收获一定的产量, 是全球粮食安全的重要保障, 特别是在热带发展中国家和地区<sup>[3]</sup>。在中国, 木薯已有近 200 年的栽培历史, 主要在华南地区种植, 是中国传统的粮食储备作物。目前, 中国木薯大多用于饲料、工业原料和生物能源的开发, 是重要的经济和能源作物<sup>[4]</sup>。中国热区面积不足, 木薯产能严重不足, 导致中国木薯加工产业原料主要依靠进口, 中国已成为世界第一大木薯进口国, 而且, 中国木薯进口量远大于其他各类热带农产品, 占热带农产品进口总量的比重相对较大, 在 2015 年占比 77%, 2017—2022 年占比一直高于 50%<sup>[5]</sup>。近几年, 世界木薯种植面积呈现增加趋势<sup>[6]</sup>, 中国要满足国内市场对木薯的需求, 需要继续扩大木薯种植面积, 提高木薯单株产量。

干旱、低温等非生物胁迫、病虫害等生物胁迫常常导致木薯产量显著下降, 甚至绝收<sup>[7]</sup>。利用分子生物学手段培育高产抗逆的新种质一直是木薯育种的重点工作<sup>[4]</sup>, 通过全基因组关联分析、转录组和蛋白质组测序等筛选到多个木薯抗逆基因<sup>[8-9]</sup>; 通过木薯转基因技术对目标基因的表型进行了研究, *MeHII.2* 基因过表达影响木薯根系发育<sup>[10]</sup>、*CRIR1* 过表达转基因木薯株系通过增加总蛋白量对低温胁迫的抗性增强<sup>[11]</sup>、*MeGRXC3* 负调控干旱和脱落酸诱导的气孔关闭<sup>[12]</sup>, 这说明筛选优良基因和通过转基因技术提高木薯抗逆性的方法是可行的, 因此, 筛选木薯逆境应答基因, 仍然是培育抗逆高产木薯新种质的重要前提。

前期研究表明, *MeSPL9* 通过茉莉酸(Jasmonic Acid, JA)信号负调控干旱<sup>[13]</sup>。JA 是一种存在于高等植物体内的内源生长调节激素, 参与植物生命周期的各方面, 而 JAZ (jasmonate ZIM-domain)蛋白是 JA 信号通路的抑制子, 在植物发育和非生物胁迫中发挥重要作用<sup>[14]</sup>。JAZ 家族蛋白一般由 3 个结构域组成, 分别为 ZIM、Jas (jasmonates)和 NT (N terminal)结构域, 其中 ZIM 和 Jas 有较强的保守性, NT 为

弱保守结构域<sup>[15]</sup>。对拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)、水稻(*Oryza sativa*)、番茄(*Lycopersicon esculentum*)、玉米(*Zea mays*)、油松(*Pinus tabulaeformis*)等植物的研究表明 JAZ 家族基因对多种生物和非生物胁迫都有响应<sup>[16-18]</sup>。但是, 关于木薯 JAZ 家族基因响应逆境胁迫的研究较少, 本研究将鉴定木薯 JAZ 家族蛋白、研究其进化模式、分析保守结构域并采用 qRT-PCR 方法分析 JAZ 家族基因的组织表达特异性和在不同非生物胁迫处理下的表达模式, 研究结果筛选出响应不同非生物胁迫的优势 JAZ 基因, 为进一步利用 JAZ 家族基因创制优良木薯种质奠定基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 JAZ 蛋白家族成员鉴定与理化性质分析

木薯基因组序列和注释来自 EnsemblPlants (<http://plants.ensembl.org/index.html>)。木薯基因组中的 JAZ 家族成员用 2 种方法筛选。首先, 9 个拟南芥 JAZ 序列被用于木薯基因组文库的 blastp 搜索,  $e \leq 10^{-5}$ 。其次, ZIM 结构域(PF06200)、Jas 结构域(PF09425)的 HMM 文件被从 Pfam 中获得(<http://pfam.xfam.org/>), 并用于 HMM 3.3.1 蛋白质筛选(<http://hmmmer.org/>,  $e \leq 0.01$ )。2 组候选蛋白被集中起来, 去除冗余蛋白, 建立 Pfam 数据库, 用于根据保守结构域筛选候选蛋白。JAZ 蛋白的分子量(MW)、等电性(PI 点)的预测使用 ExPASy (<http://au.expasy.org/tools/pitool.html>)。使用 PRABI 在线工具对木薯 JAZ 蛋白的结构进行分析(<http://www.prabi.fr/>)。

### 1.2 JAZ 家族蛋白同源性与共线性分析

分别从木薯、拟南芥、水稻基因组中得到 MeJAZ、AtJAZ、OsJAZ 的序列信息, 使用 MCScanX 软件分析 MeJAZ 家族成员的种内和种间同源性关系和共线性关系, 并用 Circos 软件进行结果可视化展示。

### 1.3 JAZ 家族蛋白基序保守性、功能结构域和基因结构分析

使用 Motif Elimination (<http://meme-suite.org/>)鉴定全长 JAZ 氨基酸序列中的保守结构域。通过 CDD (<http://smart.embl-heidelberg.de/>)检索木薯 JAZ 家族基因获得功能结构域。

## 1.4 启动子顺式作用元件分析

从 Phytozome V13.0 数据库(<https://phytozome.jgi.doe.gov/pz/portal.html>)获取 *MeJAZ* 基因翻译起始位点至上游 1 500 bp 的序列。利用 PlantCARE 数据库分析序列内包含的顺式作用元件(<https://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>)。

## 1.5 木薯材料

采集大田 1 a 生‘华南 124’木薯(*Manihot esculenta* ‘SC124’)的根、茎、叶、花、果实、种子和块根用于目标基因的组织特异性表达分析。将含有 2 个以上腋芽的 20~30 cm 的茎段扦插在装有混合基质(细砂:蛭石=3:1)的塑料花盆(直径 16 cm×高 14 cm)中,于温室(光照 16 h:黑暗 8 h, 28 °C, 相对湿度 70%)中培养 50 d。干旱胁迫试验: 停止浇水, 以停止浇水后第 14、18 天、复水 24 h 和正常浇水的材料分别作为干旱早期(DZ)、干旱后期(DL)、复水(RW)和对照, 分别采集植株由顶叶向下的第 2、3、4 片叶为样品, 设 3 个生物学重复。低温胁迫试验: 上述盆栽苗在 4 °C 和 25 °C 下处理 0.5、1、3、12 h 后采

集第 3、4 片叶作为样品, 设 3 个生物学重复。非生物胁迫试验: 采集木薯功能叶片, 分别用 300 mmol/L 甘露醇、5 mmol/L 水杨酸和 10 mmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 溶液浸泡, 空白对照用水浸泡, 分别于 1、3、6、12 h 采样, 设 3 个重复。

## 1.6 RNA 样品及其 qRT-PCR

所有样品采集后立刻置于液氮中保存。根据序列特异性设计引物(表 1)。RNA 提取使用 RNA prep Pure Plant Plus Kit 试剂盒(DP441)。利用试剂盒 Fastking gDNA dispelling RT SuperMix (KP118)得到 cDNA 用于 qRT-PCR。在 StepOne™ Real-Time PCR 系统(Applied Biosystems)上使用 SYBR®Premix Ex Taq™II Kit 试剂盒(FP202-02), 按照试剂盒说明书完成 PCR。上述所有试剂盒购于天根生化科技(北京)有限公司。

## 1.7 数据处理

每个 qRT-PCR 的样品设置 3 个技术重复, 基因相对表达量采用  $2^{-\Delta\Delta C_T}$  方法计算, 不同处理样品与对照间采用单因素方差分析。

表 1 木薯 JAZ 家族基因 qRT-PCR 引物信息

Table 1 qRT-PCR primer information of the JAZ family genes in *Manihot esculenta*

基因 Gene	正向引物 Forward prime (5'~3')	反向引物 Reverse primer (5'~3')
<i>MeJAZ1</i>	AACCCAGAAATCCATCAGTTCA	TTGCAGTGATCCTATCTTTCTCTT
<i>MeJAZ2</i>	TAGCTCCAAGCCTGAGTCAATG	AGCGAAGGAGACCTGGTAAGAA
<i>MeJAZ3</i>	CAAATCCCATCCAAGACTCCA	CAGCAGGAAAATCATCGTAAGC
<i>MeJAZ4</i>	GTAAACCAGTTGGAGCATTAGTGTC	GTATGGCAATGTATTATCACCCCT
<i>MeJAZ5</i>	TCATCGGTCAATCTAACATCAGTCT	TGAATCATCACCCGTCTGCTCTT
<i>MeJAZ6</i>	TCTGTCATTGCCTCTGGTTCTG	ATCGTCAAAGGAGCAGTTTCAGT
<i>MeJAZ7</i>	ATTGAACAAAGCAGAAGTGGGAA	GGAAAGCATAATAGAAAGCAACCC
<i>MeJAZ8</i>	ATCCCTCCAATAACAATGCTCC	TCATCAGGTGTAGGACGAGCAG
<i>MeJAZ9</i>	AGGTTACGGTGAAAAAGGAGGTAG	GACAAAACTGAGGAATGGCAGA
<i>MeJAZ10</i>	AACTCAAGTGGATCTTCGTCTTCC	CGTCGGTTAATGTTGTAGGGGT
<i>MeJAZ11</i>	TTTCTACAATGGAACGGTTTTC	GAATTTTCTTGGACCCTATGCTTC
<i>MeJAZ12</i>	GATTCTTGTCATCTCAACTGCTG	AAAATGACTCCCCTTTGCGCTG
<i>MeJAZ13</i>	AAATGGCTGAAACCACAAAACC	AAAACATCATCTTCCCAGCACA
<i>MeJAZ14</i>	CAATAACTTGATTCAGGAGCGTGT	TGCACCTTGACGTGATCCTGTCT
<i>MeJAZ15</i>	AATCCACCCTCCTCTTATTCTT	GTTTGAGGATGGCTGTGGTCTT
<i>MeJAZ16</i>	ATTTAGCAAAGGTTTCAGGGGTA	TGAGTCCCCTTTGCTATCG

## 2 结果和分析

### 2.1 JAZ 家族成员的鉴定和特征

通过查找 PF06200 和 PF09425 序列最后共鉴定到 16 个木薯 JAZ, 分别命名为 MeJAZ1~MeJAZ16。MeJAZs 的氨基酸数目为 131 (MeJAZ11)~407 aa

(MeJAZ12), 相对分子质量为 14 952.8 (MeJAZ11)~43 550.9 Da (MeJAZ12), 蛋白理论等电点为 8.31 (MeJAZ13)~10.39 (MeJAZ7) (表 2)。16 个 JAZ 基因随机分布在 18 条染色体(Chr)中的 11 条上, Chr15 上分布 3 个基因, 数量最多, Chr3、Chr16 和 Chr17 上分布 2 个基因, Chr4、Chr6、Chr7、Chr8、Chr9、

Chr11 和 Chr14 上均只有 1 个基因(表 2)。各有 8 个 *JAZ* 基因在染色体上正向和反向分布。

## 2.2 *JAZ* 家族成员的共线性及复制基因的选择压力分析

在木薯中共检测到 7 对 *JAZ* 共线性基因, 分别为 *MeJAZ1* 和 *MeJAZ14*、*MeJAZ2* 和 *MeJAZ13*、*MeJAZ6* 和 *MeJAZ7*、*MeJAZ12* 和 *MeJAZ16*、*MeJAZ3* 基因与 3 个基因(*MeJAZ1/MeJAZ8/MeJAZ14*)存在共

线性关系, 表明基因复制促进了木薯基因组中 *JAZ* 基因的扩增。7 对共线性基因不在同一条染色体上, 因此, 片段复制事件在木薯 *JAZ* 基因家族进化过程中起主要作用。为了更好地理解木薯 *JAZ* 基因家族的进化, 计算 4 对相似度高的 *JAZ* 基因对的 *Ka/Ks*, 所有 *Ka/Ks* 均 < 1, 表明木薯 *JAZ* 基因家族在进化过程中可能经历了较强的纯化选择。4 对基因对的分离发生于 1.50~1.89 亿年间(表 3)。

表 2 木薯 *JAZ* 家族蛋白的信息

Table 2 Information of the *JAZ* family proteins in *Manihot esculenta*

蛋白 Protein	ID	mRNA ID	长度 Length	分子量 MW (Da)	等电点 PI	开始 Start	结束 End	方向 Strand
MeJAZ1	Manes.03G042500	OAY54025	274	29 565.2	9.90	3 445 136	3 447 311	+
MeJAZ2	Manes.03G055200	OAY54187	217	23 038.0	9.12	5 008 717	5 013 332	+
MeJAZ3	Manes.04G147900	OAY53245	249	26 910.9	9.93	27 237 175	27 238 773	+
MeJAZ4	Manes.06G004000	OAY46488	390	41 311.2	9.84	834 410	839 821	+
MeJAZ5	Manes.07G023500	OAY44998	270	30 126.1	9.49	2 162 496	2 165 845	-
MeJAZ6	Manes.08G102800	OAY43846	193	21 744.5	9.18	26 741 754	26 744 476	-
MeJAZ7	Manes.09G186200	OAY42517	201	22 521.6	10.39	29 218 249	29 220 649	+
MeJAZ8	Manes.11G016700	OAY36379	264	28 409.2	9.06	1 525 676	1 527 215	-
MeJAZ9	Manes.14G172400	OAY32172	247	26 236.6	10.24	24 063 323	24 067 450	-
MeJAZ10	Manes.15G122700	OAY29164	137	15 826.6	9.22	9 303 332	9 303 975	+
MeJAZ11	Manes.15G122900	OAY29166	131	14 952.8	8.65	9 316 008	9 318 151	+
MeJAZ12	Manes.15G133000	OAY29283	407	43 550.9	9.59	10 162 863	10 166 183	-
MeJAZ13	Manes.16G088300	OAY26955	229	23 817.8	8.31	24 512 728	24 515 823	-
MeJAZ14	Manes.16G093500	OAY27023	276	29 435.9	9.19	25 002 627	25 004 952	-
MeJAZ15	Manes.17G071600	OAY25161	152	17 364.4	9.94	21 094 394	21 095 584	+
MeJAZ16	Manes.17G082100	OAY25287	375	39 874.4	8.59	22 223 553	22 227 360	-

表 3 木薯 *JAZ* 复制基因选择压力分析

Table 3 Selective pressure analysis of *JAZ* genes in *Manihot esculenta*

基因对 Gene pair	非同义突变 Non-synonymous mutation ( <i>Ka</i> )	同义突变 Synonymous mutation ( <i>Ks</i> )	<i>Ka/Ks</i>	<i>P</i>	长度 Length	分离时间 (MYA) Disengaging time
<i>MeJAZ6</i> & <i>MeJAZ7</i>	0.105 22	0.366 216	0.287 32	3.02E-09	573	1.831 080
<i>MeJAZ2</i> & <i>MeJAZ13</i>	0.127 35	0.301 045	0.423 02	9.30E-06	630	1.505 225
<i>MeJAZ1</i> & <i>MeJAZ14</i>	0.112 70	0.378 565	0.297 71	8.46E-12	783	1.892 825
<i>MeJAZ16</i> & <i>MeJAZ12</i>	0.131 51	0.314 944	0.417 57	1.77E-09	1 116	1.574 720

物种间的共线性分析可研究同源基因在不同物种中的分布情况。将木薯 *JAZ* 基因与单子叶植物拟南芥和双子叶植物水稻进行共线性分析, 表明木薯与水稻、拟南芥分别存在 8 和 12 对共线性基因(图 1)。*MeJAZ1/MeJAZ3/MeJAZ8/MeJAZ16* 在拟南芥和水稻中都存在共线性基因, 说明这些基因在单双子叶分离前就形成。*MeJAZ14* 基因仅在水稻中存在 2 个共线性基因, *MeJAZ4/MeJAZ7/MeJAZ11/MeJAZ15* 仅在拟南芥中存在共线性基因, 说明这些基因在单

双子叶分离后形成。

## 2.3 *JAZ* 家族蛋白的进化关系、保守基序和基因结构分析

通过 MEME/MAST 软件对 16 个 *JAZ* 蛋白的进化关系和保守基序进行分析(图 2: A), 结果表明 *MeJAZ8* 和 *MeJAZ2*、*MeJAZ1* 和 *MeJAZ14*、*MeJAZ2* 和 *MeJAZ14* 具有较近的进化关系。16 个 *JAZ* 氨基酸序列中包含 10 个 motifs, 每个 *MeJAZ* 含 2~5 个, 聚类到同一个亚类的 *JAZ* 蛋白的 motifs 具有高度保

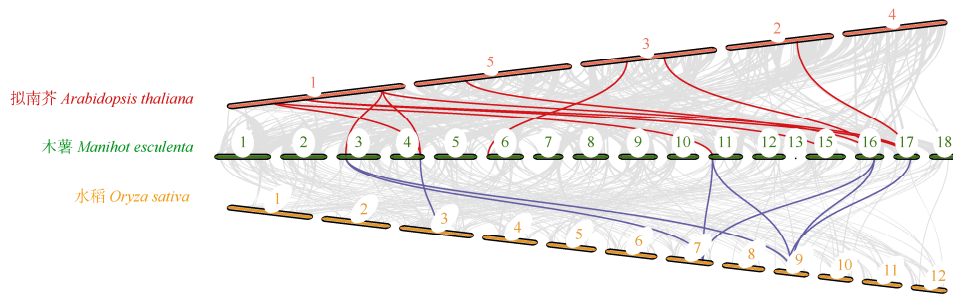


图 1 木薯 JAZ 家族基因和拟南芥、水稻的共线性关系。红色色块: 拟南芥染色体; 绿色色块: 木薯染色体; 黄色色块: 水稻染色体; 红色线条和蓝色线条分别表示木薯与拟南芥、水稻的共线基因对。

Fig. 1 Collinearity relationship of JAZs family gene among *Manihot esculenta*, *Arabidopsis* and *Oryza sativa*. Red block: Chromosome of *A. thaliana*; Green block: Chromosome of *M. esculenta*; Yellow block: Chromosome of *O. sativa*; Red and blue lines represent collinear gene pairs of *M. esculenta* with *A. thaliana*, and *O. sativa*, respectively.

守性(图 2: B), MeJAZ11/MeJAZ15/MeJAZ10 各含 2 个, motif 1 和 motif 2; MeJAZ2/MeJAZ13/MeJAZ10 各含 3 个, motif 1、motif 2 和 motif 4; MeJAZ6/MeJAZ7 各含 3 个, motif 1、motif 2 和 motif 9; MeJAZ12/MeJAZ16/MeJAZ4 各含 5 个, motif 1、motif 2、motif 4、motif 8 和 motif 10。Motif 1 和 motif 2 分别为 ZIM 和 Jaz 保守结构域, Motif 4 为 NT 结构

域。MeJAZs 蛋白的 10 个基序长度为 15~100 氨基酸。通过比对编码序列得到 MeJAZ 基因的结构(图 2: C), 除 MeJAZ15 和 MeJAZ10 无内含子外, MeJAZ16 两端无 UTR 区, MeJAZ 家族中的大部分基因序列基本完整, 均含 3~7 个外显子和 2~6 个内含子, MeJAZ12 含 7 个外显子和 6 个内含子, MeJAZ11 含 3 个外显子和 2 个内含子。

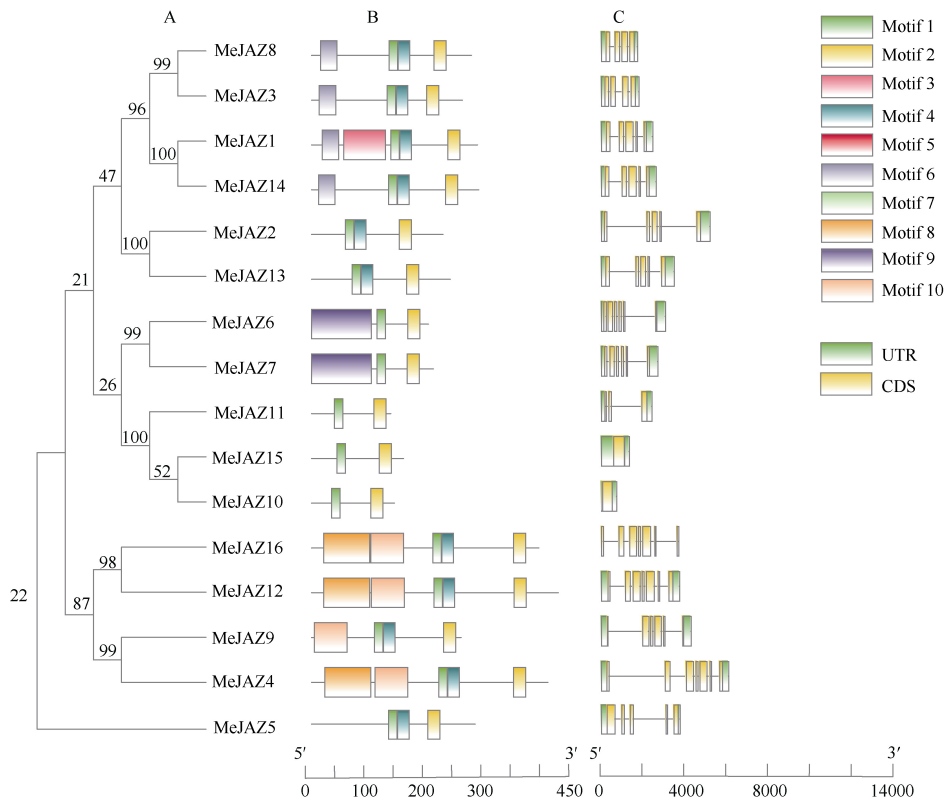


图 2 木薯 JAZ 家族的系统进化(A)、基序(B)和基因结构分析(C)。绿色: 非翻译区(UTR); 黄色: 外显子; 黑线: 内含子。

Fig. 2 Phylogenetic (A), motif (B), gene structure (C) analysis of JAZ members in *Manihot esculenta*. Green: Untranslated region (UTR); Yellow: Exon; Black line: Intron.

## 2.4 JAZ 家族基因成员的启动子顺式作用元件分析

通过分析启动子序列可以预测基因的功能, 采用 Plant CARE 数据库预测 JAZ 基因启动子的顺式作用调控元件。从数据库中提取 *MeJAZs* 开放阅读框上游 1 500 bp 的序列, 分析 *MeJAZ* 启动子区的顺式作用元件。结果表明, 每个 *MeJAZ* 基因启动子区包含许多非生物胁迫相关的顺式作用元件, 如 CAT-box、HD-Zip、MYB、MYC。除 *MeJAZ5/MeJAZ6/MeJAZ15* 启动子区没有响应脱落酸的 ABRE 元件外, 其余 13 个 *MeJAZs* 基因启动子区含有 1 个或多个 ABRE 元件(图 3)。8 个 *MeJAZs* 基因启动子区含有响应水杨酸的 as-1 作用元件, 这说明木薯 JAZ 家族基因可能参与激素和非生物胁迫的应答过程。

## 2.5 JAZ 家族基因的组织特异性表达分析

为研究 JAZ 家族基因在木薯组织中的表达模式, 采用 qRT-PCR 技术检测 JAZ 家族基因在根、茎、叶、花、果实、种子和块根中的表达。结果表明, 除 *MeJAZ7/MeJAZ16* 基因在种子中有较高的表达外, 其

余 14 个 *MeJAZs* 基因均低表达。*MeJAZ7/MeJAZ15* 和 *MeJAZ4/MeJAZ6/MeJAZ8/MeJAZ12* 在叶中分别有高和较高的表达, 其余 *MeJAZs* 基因均低表达。茎秆中 *MeJAZ3/MeJAZ7/MeJAZ10/MeJAZ11/MeJAZ15* 高表达, 而 *MeJAZ2/MeJAZ12* 有较高的表达量, 其余 *MeJAZs* 基因均低表达。*MeJAZ13* 和 *MeJAZ2/MeJAZ12* 分别在果实中有高和较高的表达, *MeJAZ1/MeJAZ5/MeJAZ14* 和 *MeJAZ3/MeJAZ6/MeJAZ7/MeJAZ8* 在根中有高和较高的表达, 其余 *MeJAZs* 基因在果实和根中都低表达。*MeJAZ3/MeJAZ8/MeJAZ10/MeJAZ11/MeJAZ12/MeJAZ14/MeJAZ16* 和 *MeJAZ6/MeJAZ15* 分别在花中有高和较高的表达, 而块根中高表达的为 *MeJAZ2/MeJAZ4/MeJAZ6/MeJAZ9/MeJAZ13* 基因。可见, *MeJAZ2/MeJAZ13* 的组织表达模式完全相同, *MeJAZ1/MeJAZ14*、*MeJAZ12/MeJAZ16* 的组织表达模式相似、*MeJAZ6/MeJAZ7* 组织表达模式明显不同(图 4), 这说明大多数基因对进化保守、结构稳定、功能一致, 极少数可能分化出新的功能。

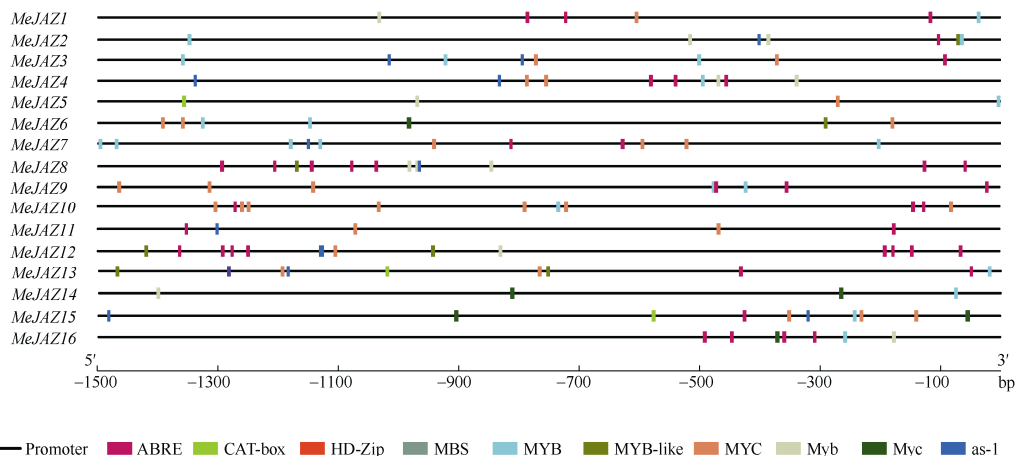


图 3 木薯 JAZ 基因启动子顺式作用元件分析

Fig. 3 *cis*-Acting element analysis of JAZs gene promoter in *Manihot esculenta*

## 2.6 JAZ 家族基因对胁迫的响应模式

水杨酸(SA)处理 1~12 h, *MeJAZ11/MeJAZ13* 基因表达先下调后上调, *MeJAZ16* 是唯一被诱导表达的基因, 其余 *MeJAZs* 基因表达被抑制, 其中, *MeJAZ3/MeJAZ7/MeJAZ10/MeJAZ12* 表达量显著降低(图 5: A)。在甘露醇处理 1~6 h, *MeJAZ11* 基因表达高于对照, 处理 12 h 则低于对照, *MeJAZ16* 是唯一被诱导表达的基因, 其余 *MeJAZs* 基因被抑制表达, 其中, *MeJAZ1/MeJAZ2/MeJAZ3/MeJAZ7/MeJAZ10/MeJAZ12/MeJAZ15* 的表达量显著降低(图 5: B)。干旱

胁迫下, 在所有样品中没有检测到 *MeJAZ3*; *MeJAZ10* 基因的表达量在对照与处理间无差异; *MeJAZ1/MeJAZ2/MeJAZ8/MeJAZ12/MeJAZ14/MeJAZ16* 在干旱早期、后期显著低于对照, *MeJAZ5/MeJAZ11* 基因在对照中有表达, 而干旱早、后期均没有表达; *MeJAZ9* 则相反, 在对照中没表达, 干旱后期有表达; 其余基因对干旱没有响应; *MeJAZ1/MeJAZ2/MeJAZ4/MeJAZ6/MeJAZ7/MeJAZ8/MeJAZ11/MeJAZ12/MeJAZ13/MeJAZ15/MeJAZ16* 和 *MeJAZ5/MeJAZ9* 分别在复水样品中被抑制和诱导表达(图 6)。所有

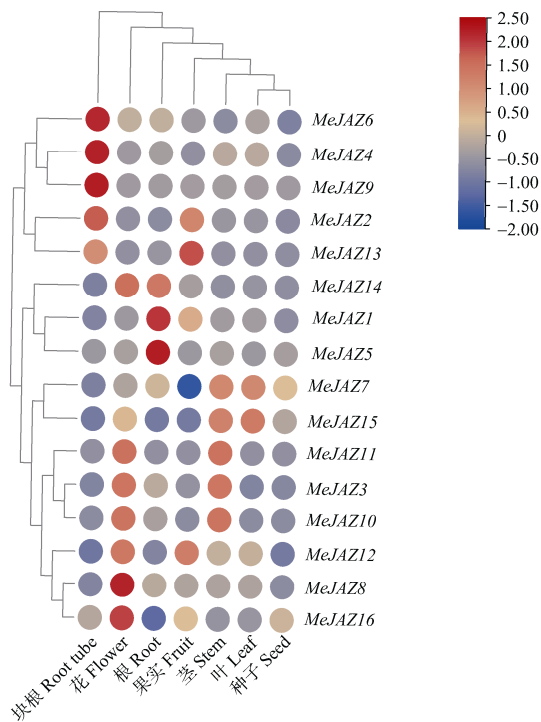


图 4 木薯 *JAZ* 基因在组织中的表达谱

Fig. 4 Expression profile of *JAZs* gene in different tissues of *Manihot esculenta*

*JAZs* 基因对 4 °C 低温和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 都有响应, *MeJAZ10* 在低温处理 6 h 显著下调, 12 h 显著上调; 而 *MeJAZ13/MeJAZ16* 的表达受氧化胁迫时先上调后下调, 其余基因在低温和氧化胁迫 1~12 h 内的某个点或者全部被抑制表达(图 7: A, B)。

### 3 讨论和结论

#### 3.1 木薯 *JAZ* 家族基因的进化特征

通过全基因组分析鉴定出 16 个木薯 *JAZ* 基因, 这与已研究的木薯 TIFY 家族蛋白数量相同, 根据其在染色体上的位置命名也相同<sup>[19]</sup>。16 个 *JAZ* 基因不均分布在 18 条染色体中的 11 条, 15 号染色体上分布的 *JAZ* 基因最多。通常, 复制基因为新基因的产生提供了原料, 而新基因又逐渐进化出了新功能, 片段复制、串联复制和转位事件被认为代表了基因复制的 3 种主要的进化模式, 在这些模式中, 片段复制和串联复制最为重要<sup>[20]</sup>。通过木薯种内和种间(拟南芥和水稻) *JAZ* 基因共线性分析, 表明木薯 *JAZ* 家族基因内存在 7 对共线性基因, 全为片段复制基因, 因此, 片段复制在木薯 *JAZ* 家族基因扩张中占主导地位。木薯与拟南芥和水稻的 *JAZ* 基因

分别存在 8 和 12 对共线性基因, 木薯与水稻 *JAZ* 基因的亲缘关系更近。

木薯 16 个 *JAZ* 蛋白共包含 10 个不同的 motifs, 其中 11 个包含 ZIM、Jaz 和 NT 3 个主要的 motifs, 有 5 个蛋白不含 NT motif, NT motif 不是 *JAZ* 家族蛋白必须的结构域, 这与前人<sup>[15]</sup>的报道类似。16 个 *JAZ* 基因中 15 个结构完整, 仅 *MeJAZ16* 两端缺失 UTR 区。除 *MeJAZ10/MeJAZ15* 不含内含子外, 其余 *MeJAZ* 基因均含 3~7 个不等的外显子和 2~6 个内含子。顺式作用元件是控制各种生物和发育过程的基因活性动态网络的重要分子开关, 参与转录调控<sup>[21]</sup>。所有 *MeJAZ* 基因启动子区包含 CAT-box、HD-Zip、MYB、MYC 等非生物胁迫相关的顺式作用元件, 13 个含有 1 个或多个 ABRE 元件, 仅有 8 个含有 AS 元件, 这与研究报道 *JAZ* 蛋白作为 JA 信号的抑制子, 参与多种非生物胁迫和脱落酸、水杨酸等多种植物激素的生物合成和信号转导的结果一致<sup>[15]</sup>。

#### 3.2 木薯 *JAZ* 家族基因对胁迫的响应模式

*MeJAZ2/MeJAZ13* 和 *MeJAZ3/MeJAZ10* 基因各自在木薯根、茎、叶、花、果实、种子和块根中有相似的表达模式, 其余 *JAZ* 家族基因的表达模式有差异。没有一个木薯 *JAZ* 基因在所有组织中的表达相似, 也没有一个组织中所有木薯 *JAZ* 基因表达相似, 每个组织都有表达量高的 *JAZ* 基因, 这说明 *JAZ* 家族基因分化出众多的功能。在拟南芥中不同的 *JAZ* 基因功能有较大差异, 过表达 *AtJAZ7* 可显著提高抗旱性<sup>[22]</sup>, 过表达 *AtJAZ9* 可降解 DELLA 蛋白, 激活 GA 通路, 促进植物生长<sup>[23]</sup>。筛选响应不同胁迫的木薯基因是通过转基因方法培育高产高质木薯的基础。本研究通过 qPCR 分析表明所有木薯 *JAZ* 基因对水杨酸和甘露醇有响应, 两者同时显著抑制了除 *MeJAZ6/MeJAZ11/MeJAZ13/MeJAZ16* 外的其余 *JAZ* 基因的表达, *MeJAZ16* 是唯一被诱导表达的基因。响应干旱的木薯 *JAZ* 基因有 12 个, *MeJAZ1/MeJAZ2/MeJAZ4/MeJAZ5/MeJAZ8/MeJAZ10/MeJAZ11/MeJAZ12/MeJAZ14/MeJAZ16* 被干旱抑制, 而 *MeJAZ9/MeJAZ15* 被极显著诱导。低温和氧化胁迫抑制了大多数木薯 *JAZ* 基因的表达, 其中 *MeJAZ1/MeJAZ2/MeJAZ4/MeJAZ7/MeJAZ8/MeJAZ12/MeJAZ13/MeJAZ15* 基因的差异最为显著。

综上, 本研究通过生物信息学鉴定得到 16 个



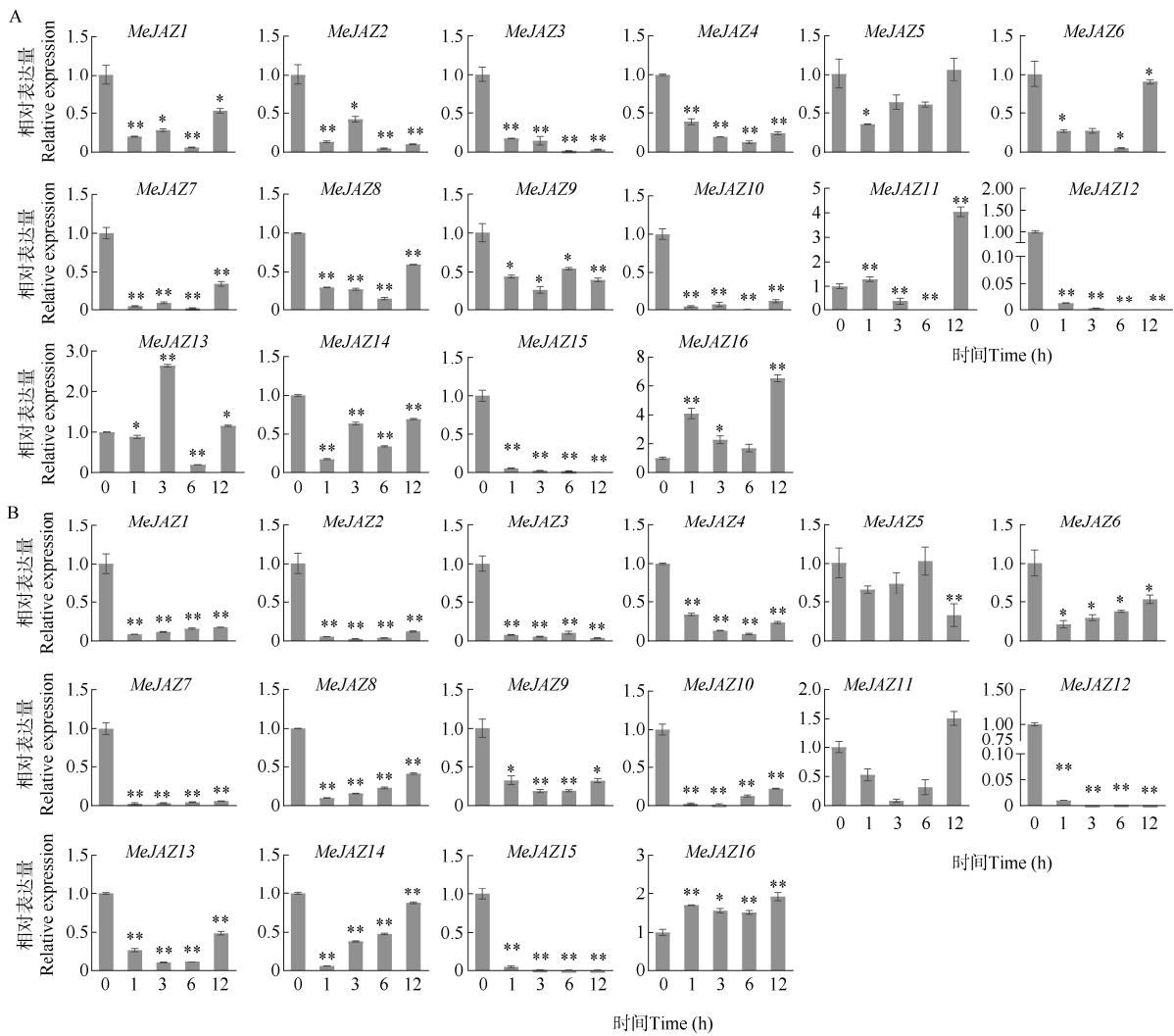


图 5 木薯 *MeJAZ* 基因在 SA (A)和渗透(B)胁迫下的响应模式。\*:  $P < 0.05$ ; \*\*:  $P < 0.01$ 。下同

Fig. 5 Expression pattern of *MeJAZs* gene in *Manihot esculenta* leaves under SA (A) and osmotic (B) stresses. \*:  $P < 0.05$ ; \*\*:  $P < 0.01$ . The same below

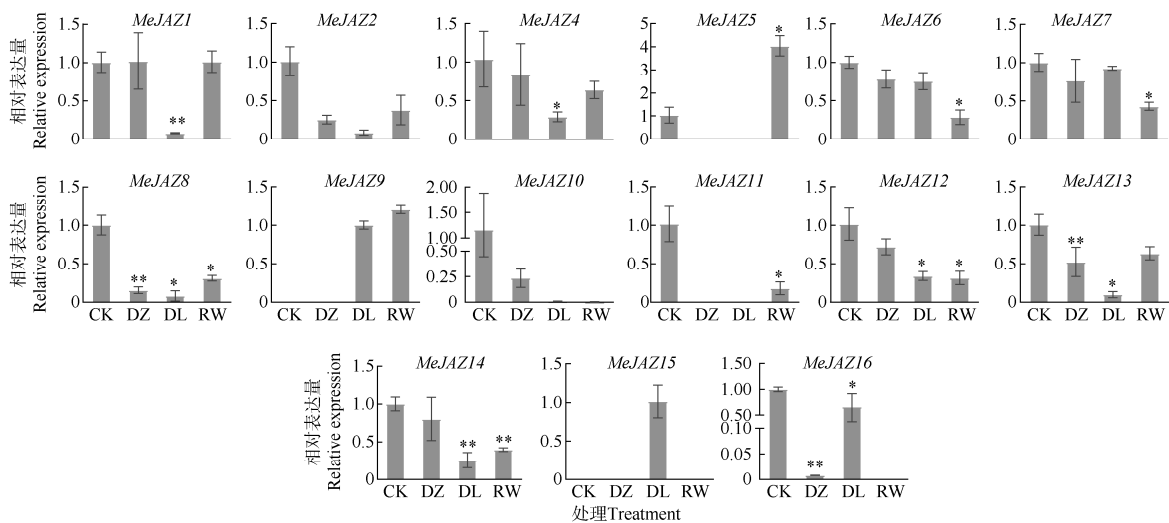


图 6 木薯 *MeJAZ* 基因在干旱胁迫下的响应模式。CK: 对照; DZ: 干旱早期; DL: 干旱后期; RW: 复水。

Fig. 6 Expression pattern of *MeJAZs* gene in *Manihot esculenta* leaves under drought stress. CK: Control; DZ: Early drought; DL: Late drought; RW: Rehydration.

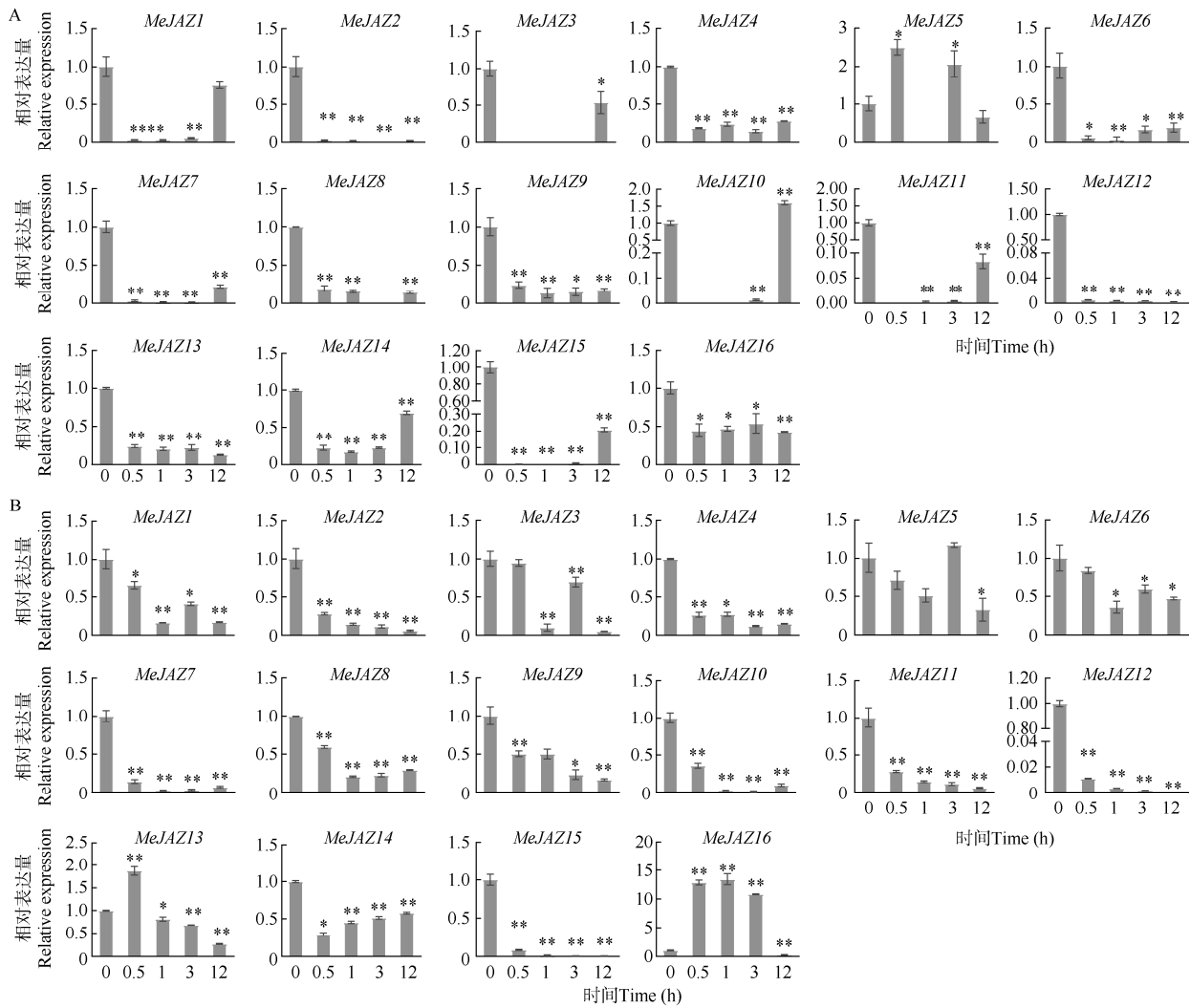


图 7 木薯 *MeJAZ* 基因在低温(A)和氧化(B)胁迫下的响应模式

Fig. 7 Expression pattern of *MeJAZs* gene in *Manihot esculenta* leaves under cold (A) and oxidation (B) stresses

木薯JAZ家族基因成员, 利用荧光定量PCR技术, 筛选得到在根和块根中高表达, 且响应多种非生物胁迫的*MeJAZ1/MeJAZ2/MeJAZ4*基因, 猜测*MeJAZ1/MeJAZ2/MeJAZ4*基因同时调控木薯产量和逆境, 是改良木薯种质的新基因, 为后续JAZ家族基因的生物学功能研究奠定基础。

参考文献

[1] EL-SHARKAWY M A. Cassava biology and physiology [J]. *Plant Mol Biol*, 2004, 56(4): 481–501. doi: 10.1007/s11103-005-2270-7.  
 [2] CHETTY CC, ROSSIN CB, GRUISSEM W, VANDERSCHUREN H, REY ME. 2013. Empowering biotechnology in southern Africa: Establishment of a robust transformation platform for the production of transgenic industry-preferred cassava [J]. *New Biotechnol*, 2013, 30: 136–143.  
 [3] COCK J H, FRANKLIN D, SANDOVAL G, et al. The ideal cassava

plant for maximum yield [J]. *Crop Sci*, 1979, 19(2): 271–279. doi: 10.2135/cropsci1979.0011183X001900020025x.  
 [4] ZHANG P, YANG J, ZHOU W Z, et al. Progress and perspective of cassava molecular breeding for bioenergy development [J]. *Chin Bull Life Sci*, 2014, 26(5): 465–473. [张鹏, 杨俊, 周文智, 等. 能源木薯高淀粉抗逆分子育种研究进展与展望 [J]. *生命科学*, 2014, 26(5): 465–473. doi: 10.13376/j.cbls/2014069.]  
 [5] FU D D, HAN X R, WEN J S, et al. China’s tropical agricultural product imports: A Rotterdam model analysis [J]. *Chin J Agric Resour Reg Plann*, 2022, 43(11): 168–177. [付丹丹, 韩昕儒, 问锦尚, 等. 基于 Rotterdam 模型的中国热带农产品进口市场格局研究 [J]. *中国农业资源与区划*, 2022, 43(11): 168–177. doi: 10.7621/cjarrp.1005-9121.20221117.]  
 [6] CHEN Y S, ZHOU R, ZHANG T. Research on import substitution of feed grain in China [J]. *J Agrotechnol Econ*, 2022(7): 64–77. [陈雨生,

- 周睿, 张婷. 中国饲料粮进口替代研究 [J]. 农业技术经济, 2022(7): 64–77. doi: 10.13246/j.cnki.jae.2022.07.001.]
- [7] MUIRURI S K, NTUI V O, TRIPATHI L, et al. Mechanisms and approaches towards enhanced drought tolerance in cassava (*Manihot esculenta*) [J]. *Curr Plant Biol*, 2021, 28: 100227. doi: 10.1016/j.cpb.2021.100227.
- [8] ZHAO P J, LIU P, SHAO J F, et al. Analysis of different strategies adapted by two cassava cultivars in response to drought stress: Ensuring survival or continuing growth [J]. *J Exp Bot*, 2015, 66(5): 1477–1488. doi: 10.1093/jxb/eru507.
- [9] WANG B, GUO X, ZHAO P J, et al. Molecular diversity analysis, drought related marker-traits association mapping and discovery of excellent alleles for 100-day old plants by EST-SSRs in cassava germplasm (*Manihot esculenta* Cranz) [J]. *PLoS One*, 2017, 12(5): e0177456. doi: 10.1371/journal.pone.0177456.
- [10] ZHAO P J, GUO X, WANG B, et al. Overexpression of *MeHL1.2* gene inhibited plant growth and increased branch root differentiation in transgenic cassava [J]. *Crop Sci*, 2021, 61(4): 2639–2650. doi: 10.1002/csc2.20455.
- [11] LI S X, CHENG Z H, DONG S M, et al. Global identification of full-length cassava lncRNAs unveils the role of *cold-responsive intergenic lncRNA 1* in cold stress response [J]. *Plant Cell Environ*, 2022, 45(2): 412–426. doi: 10.1111/pce.14236.
- [12] GUO X, YU X L, XU Z Y, et al. CC-type glutaredoxin, MeGRXC3, associates with catalases and negatively regulates drought tolerance in cassava (*Manihot esculenta* Crantz) [J]. *Plant Biotechnol J*, 2022, 20(12): 2389–2405. doi: 10.1111/pbi.13920.
- [13] LI S X, CHENG Z H, LI Z B, et al. *MeSPL9* attenuates drought resistance by regulating JA signaling and protectant metabolite contents in cassava [J]. *Theor Appl Genet*, 2022, 135(3): 817–832. doi: 10.1007/s00122-021-04000-z.
- [14] WEI X, LIU Y H, LIU Y Y, et al. Advances of JAZ family in plants [J]. *Plant Physiol J*, 2021, 57(5): 1039–1046. [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. doi: 10.13592/j.cnki.ppj.2020.0532.]
- [15] KAZAN K, MANNERS J M. JAZ repressors and the orchestration of phytohormone crosstalk [J]. *Trends Plant Sci*, 2012, 17(1): 22–31. doi: 10.1016/j.tplants.2011.10.006.
- [16] CAO H Z, LI W, PANG X, et al. Interaction between transcription factor ZmMYC7 and *Arabidopsis* JAZ family genes [J]. *J Hebei Agric Univ*, 2019, 42(6): 77–82. [曹宏哲, 李薇, 庞茜, 等. 转录因子 ZmMYC7 与拟南芥 JAZ 家族基因的互作研究 [J]. *河北农业大学学报*, 2019, 42(6): 77–82. doi: 10.13320/j.cnki.jauh.2019.0125.]
- [17] PANG X, ZHANG K, YU L, et al. Expression pattern of JAZ family genes in *Zea mays* [J]. *J Hebei Agric Univ*, 2019, 42(2): 24–29. [庞茜, 张康, 于璐, 等. 玉米 JAZ 家族基因的表达规律分析 [J]. *河北农业大学学报*, 2019, 42(2): 24–29. doi: 10.13320/j.cnki.jauh.2019.0028.]
- [18] ZHANG J X, MA Y G, WANG H L, et al. Characteristics of JAZ gene family of *Pinus tabulaeformis* and identification of functional domain of its interaction with DELLA protein [J]. *J Beijing For Univ*, 2022, 44(12): 12–22. [张晶星, 马彦广, 王辉丽, 等. 油松 JAZ 基因家族特征及其与 DELLA 蛋白互作的功能域鉴定 [J]. *北京林业大学学报*, 2022, 44(12): 12–21. doi: 10.12171/j.1000-1522.20220027.]
- [19] ZHENG L L, WAN Q, WANG H G, et al. Genome-wide identification and expression of TIFY family in cassava (*Manihot esculenta* Crantz) [J]. *Front Plant Sci*, 2022, 13: 1017840. doi: 10.3389/fpls.2022.1017840.
- [20] FERRARI S, VAIRO D, AUSUBEL F M, et al. Tandemly duplicated *Arabidopsis* genes that encode polygalacturonase-inhibiting proteins are regulated coordinately by different signal transduction pathways in response to fungal infection [J]. *Plant Cell*, 2003, 15(1): 93–106. doi: 10.1105/tpc.005165.
- [21] YAMAGUCHI-SHINOZAKI K, SHINOZAKI K. Organization of *cis*-acting regulatory elements in osmotic- and cold-stress-responsive promoters [J]. *Trends Plant Sci*, 2005, 10(2): 88–94. doi: 10.1016/j.tplants.2004.12.012.
- [22] MENG L, ZHANG T, GENG S S, et al. Comparative proteomics and metabolomics of JAZ7-mediated drought tolerance in *Arabidopsis* [J]. *J Proteom*, 2019, 196: 81–91. doi: 10.1016/j.jprot.2019.02.001.
- [23] YANG D L, YAO J, MEI C S, et al. Plant hormone jasmonate prioritizes defense over growth by interfering with gibberellin signaling cascade [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(19): E1192–E1200. doi: 10.1073/pnas.1201616109.