

· 园艺 ·

DOI: 10.15886/j.cnki.rdswwb.20240117



主持人:朱国鹏

杧果超氧化物歧化酶基因家族鉴定与生物信息学分析

施绍璞^{1,2}, 周开兵^{1,2}

(1.海南大学 南繁学院/三亚南繁研究院,海南 三亚 572025; 2.海南大学 热带农林学院/农业农村学院/乡村振兴学院,海口 570228)

摘要:超氧化物歧化酶(SOD)是植物抗氧化系统中的一类重要酶,在植物生长发育中起着重要作用,为探究杧果SOD(*MiSOD*)的基因功能,在不同组织与增强UV-B照射下的表达模式。本研究基于杧果基因组,利用生物信息学方法,从蛋白质特性、系统进化关系、基因结构、启动子顺式作用元件等多个方面鉴定*MiSOD*基因家族成员,并通过转录组分析鉴定*MiSOD*基因家族成员的表达模式。杧果中共鉴定得到10个SOD基因,*MiSOD*蛋白大多属于稳定蛋白与酸性蛋白。多物种SOD蛋白系统发育分析表明,SOD按照蛋白类型被聚类为三个亚组。基因结构分析显示,SOD基因含有5~8个内含子,同一进化分支的基因,结构更为相似,其蛋白的保守基序与保守结构域也相同。10个*MiSOD*分布于7条染色体与1条碎片片段上,包含3对片段复制基因。顺式作用元件分析表明,*MiSOD*成员启动子中包含生长发育元件、激素响应元件和逆境响应相关元件。*MiSOD*基因在“Alphonso”杧果不同组织中表达模式不同,*MiCu/Zn-SOD3*、*MiFe-SOD1*、2、3在不同组织中表达量均较低,果肉、叶片、树皮和果皮中*MiCSD4*表达量最高,种子中*MiMSD1*表达量最高,根与花中,*MiCSD1*表达量最高;在增强UV-B照射的“台农一号”杧果果肉中,与对照相比,*MiSOD*基因没有显著差异。综上所述,*MiSOD*基因家族成员可能通过感受不同种类的信号而行使不同的功能,从而形成不同的表达模式;在“台农一号”杧果响应UV-B胁迫中,SOD可能不起关键作用。本研究为进一步研究*MiSOD*基因对不同信号的响应机制奠定基础。

关键词:杧果;超氧化物歧化酶(SOD);基因家族;表达模式

中图分类号:S667.7 **文献标志码:**A **文章编号:**1674-7054(2024)06-0718-10

施绍璞,周开兵.杧果超氧化物歧化酶基因家族鉴定与生物信息学分析[J].热带生物学报,2024,15(6):718-727. doi:10.15886/j.cnki.rdswwb.20240117

自然环境中,植物容易受极端温度、水分、盐、重金属等胁迫影响,严重阻碍植物的生长发育^[1],植物在遭受非生物胁迫的过程中,会导致植株中活性氧(ROS)平衡被打破,导致ROS的快速积累^[2-3],使氨基酸、蛋白质等生物大分子受损,并导致膜脂过氧化加剧,进一步损伤细胞膜结构,影响细胞的正常生理功能,最后导致细胞死亡^[4-5]。植物为了抵抗ROS的负面作用,构建了一套复杂的抗氧化系统,其中包括了抗氧化酶与抗氧化物质^[6]。

超氧化物歧化酶(Superoxide dismutases)存在

广泛,是抵抗氧化应激的第一道防线,绝大多数生物生活在氧气存在下的生物体都至少表达一种SOD^[7]。根据金属辅基的不同种类,将SOD分为Cu/ZnSOD(CSD)、MnSOD(MSD)、FeSOD(FSD)和NiSOD^[8],其中NiSOD主要存在于原核生物中^[9],Cu/ZnSOD通常是分布最广的SOD,在叶绿体,线粒体和细胞质中出现,FeSOD可以在叶绿体中找到,MnSOD是通常存在于线粒体中^[8]。

大量的研究表明,SOD参与了植物不同类型的胁迫响应中。干旱胁迫中,不同品种菜豆(*Phaseolus vulgaris* L.)的Cu/Zn-SOD呈现上调表达,且Cu/

收稿日期:2024-07-17

修回日期:2024-09-23

基金项目:海南省自然科学基金(321RC465)资助

第一作者:施绍璞(1999-),男,海南大学热带农林学院2022级硕士研究生。E-mail: ssp@hainanu.edu.cn

通信作者:周开兵(1969-),男,教授,博士生导师。研究方向:热带果树生理与栽培。E-mail: zkb@hainanu.edu.cn

*Zn-SOD*表达量上调更高的菜豆品种对干旱胁迫有更好的响应^[10]。同样,不同品种的梭梭[*Haloxylon ammodendron* (C. A. Mey.) Bunge]SOD酶活性随干旱胁迫的处理时间不断提高,且酶活性较高的品种表现出更好的抗旱能力^[11]。在转基因拟南芥[*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.]中,过表达*Cu/Zn-SOD*基因的植株在干旱胁迫下,相比于对照植株,细胞膜损伤量更低,有较好的抗旱能力^[12]。有较好抗旱能力的木薯(*Manihot esculenta* Crantz),其SOD酶活性高于其他品种,使其在干旱胁迫下仅表现出轻微的膜损伤和氧化应激反应^[13]。在低温胁迫中,葡萄(*Vitis vinifera* L.)SOD酶活性上升,外施水杨酸后,SOD酶活性显著提高,调高了葡萄的抗寒能力^[14]。在番茄(*Solanum lycopersicum* L.)中,低温胁迫下,通过硫化氢处理,SOD酶活性也显著上调,降低膜脂过氧化损伤,提高了抗寒能力^[15]。冷驯化后的柑橘(*Citrus reticulata* Blanco)幼苗与普通幼苗相比,SOD表达量上升,酶活性也显著提高,抗寒性得到提高^[16]。盐胁迫下,过表达*SikCSD3*的转基因棉花相较于野生型,有较高的成活率与生长情况^[17],高表达CSD的转基因李子(*Prunus salicina* Lindl.)也呈现出盐胁迫的较高耐受性^[18],在过表达*PaSOD*的转基因拟南芥中也呈现相同的表型^[19]。

杧果(*Mangifera indica* L.)为漆树科(Anacardiaceae R. Br.)杧果属(*Mangifera* L.)果树,是世界上最重要的水果之一,在热带和亚热带地区具有重要的商业价值^[20]。但干旱、低温等非生物胁迫严重影响了杧果的产量与品质^[21-23],目前,尚未报道杧果SOD基因,所以本研究利用生物信息学方法从杧果全基因组中鉴定杧果SOD基因家族成员,对该家族成员从系统进化关系、基因结构、启动子顺式作用元件和表达模式等多个方面进行分析,为杧果抗逆生理机制与抗逆品种选育等研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料 实验地点为海南省三亚市海棠区升昌村芒果园,年平均降水量约1 700 mm,年平均气温约25 °C,花园土壤为砖砂土。选择10棵生长稳定茁壮的16年生成熟“台农1号”杧果树作为试验材料。5棵作为实验组,于距树冠30 cm高度处均匀交叉安装4个40 W的UV-B灯,平行于树冠,人工

模拟光照强度为96 J·m⁻²·d⁻¹的增强UV-B照射处理,对照组为自然光照射;于花后30 d(2023年11月6日)开始照射,日出开放,日落关闭,雨天停止辐照处理,这与太阳自然辐射持续时间严格一致,照射处理持续至花后90 d(2024年1月6日)。选择2023年花后30 d,50 d,91 d进行取样,在每棵树的中部外围四周选择5个大小一致且适中的果实作为取样果,取完样后及时放入液氮中速冻带回实验室于超低温冰箱(-80 °C)中保存备用。

杧果基因族及注释数据下载于NCBI数据中心(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/taxonomy/29780/>),拟南芥[*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.]SOD(*AtSOD*)、大豆[*Glycine max* (L.) Merr.]基因家族序列下载于NCBI数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)。

1.2 方法

1.2.1 杧果SOD基因家族成员鉴定 以*AtSOD*基因家族成员蛋白序列作为参考,利用TBtools软件,运行本地Blast,与杧果蛋白序列进行,得到11条蛋白序列,作为杧果过氧化物酶(MiSOD)候选序列。登录NCBI,利用在线工具NCBI blastp (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>),以Swiss-Prot数据库(<http://www.gpmaw.com/html/swissprot.html>)作为参考,对MiSOD候选序列进行比对,去除多余基因;

利用InterPro (<https://www.ebi.ac.uk/interpro/>)与已知SOD保守结构域(PF 00080、PF 00081和PF 02777),结合在线分析工具NCBI batch wab CD-search tool (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/bwrpsb/bwrpsb.cgi>),剔除保守结构域不相符的基因,从而获得确定的MiSOD基因家族成员,完成后对已筛选出的基因进行重命名。

1.2.2 蛋白质特性分析 利用在线工具ProtParam (<http://web.expasy.org/protparam/>)预测MiSOD蛋白特性,包括氨基酸数、分子量(MW)、等电点(pI)等,利用WoLF PSORT (<https://wolfsort.hgc.jp/>)进行亚细胞定位预测。

1.2.3 杧果SOD家族基因结构和保守结构域分析 将筛选后MiSOD蛋白序列提交到NCBI batch wab CD-search tool (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/bwrpsb/bwrpsb.cgi>)进行保守结构域分析,在再将蛋白文件提交到MEME (<https://meme-suite>).

org/meme/tools/meme), 设置分析 motif 数值为 6, 分析 MiSOD 蛋白的保守基序; 利用 ttools 软件进行可视化处理。

1.2.4 MiSOD 蛋白系统发育树的构建 使用 MEGA 11, 以 neighbor-joining(NJ)方法, 将 Bootstrap 值设为 1 000, 创建 MiSOD 蛋白序列的系统发育树, 并利用 GmSOD、AtSOD、MiSOD 构建多物种进化树。

1.2.5 MiSOD 基因家族启动子顺式作用元件分析及功能预测 根据芒果基因族序列信息, 利用 TBtools 提取 MiSOD 基因家族序列上游长度为 2 000 bp 的启动子序列, 并将其上传到 PlantCARE (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>) 进行预测分析, 通过 TBtools 进行可视化。

1.2.6 染色体分布和物种内共线性、选择压分析 使用 TBtools 进行芒果物种内共线性分析。利用芒果全基因组注释信息获取所有基因密度信息和 MiSOD 成员在染色体上的位置, 使用基因组全序列文件, 计算染色体 GC 值与 gap 位置, 使用自然梯度 (natural gradient descent, NG) 法计算同源基因对的 Ka 和 Ks 值, 进行选择压分析。

1.2.7 MiSOD 家族成员的表达模式分析 根据实验组委托武汉迈维代谢科技股份有限公司所测的芒果增强 UV-B 照射转录组, 该转录组提取处理与对照花后 30 d、50 d、91 d 果肉的 RNA 进行转

录组测序, 每个时期各 3 个生物学重复。RNA 经纯化并检验合格后由建立 cDNA 文库, 库检合格后, 不同文库按照目标下机数据量进行 pooling, 用 Illumina 平台进行测序。将测序后的原始数据 Raw Data 过滤后得到 Clean reads, 与参考基因组对比后, 进行基因表达定量分析; 差异基因的筛选条件为 \log_2 Fold Change ≥ 1 , 且 FDR < 0.05 。从中提取 MiSOD 基因的 FPKM (Fragments Per Kilobase of exon model per Million mapped fragments) 值, 利用 TB-tools 绘制基因在不同组织中的表达热图。

下载已公开发表的“Alphonso”芒果转录组, 转录组包括了“Alphonso”芒果成熟叶片、成熟树皮、种子、根、花、成熟果皮和成熟果肉的表达量数据, NCBI 登记号为 PRJNA487154, 使用 Salmon 软件组装后计算 TPM (transcripts per kilobase million) 值, 用于表达分析。

2 结果与分析

2.1 MiSOD 基因家族成员鉴定及系统进化分析 利用 AtSOD 基因家族的氨基酸序列在芒果蛋白全序列中初步筛选出 11 条候选序列, 通过 NCBI 数据库进行 Blastp 分析, 结合保守结构域分析, 去除不含 PF00080、PF00081、PF02777 结构域的序列后, 最终获得 10 个 MiSOD 基因家族成员, 命名为 MiCSD1-5、MiFSD1-3、MiMSD1-2 (表 1)。

表 1 MiSOD 蛋白基本信息
Tab. 1 Basic information of MiSOD proteins

基因 Gene	基因编号 Gene ID	氨基酸数量 Number of amino acids	分子量 Mw/Da	等电点 pI	不稳定系数 Instability index	脂肪系数 Aliphatic index	平均亲水 系数 GRAVY	亚细胞定位 Subcellular localization
MiCSD1	LOC123209764.3	153	15334.96	5.47	14.73	75.75	-0.194	cyto
MiCSD2	LOC123196601.1	222	22645.51	5.95	30.2	90.99	0.049	chlo
MiCSD3	LOC123209427.1	163	16622.62	7.19	12.8	87.36	-0.21	cyto
MiCSD4	LOC123220973.4	152	15451.23	5.61	15.71	79.47	-0.207	cyto
MiCSD5	LOC123224726.1	222	22631.65	6.02	25.22	94.41	0.118	chlo
MiFSD1	LOC123214561.6	270	31106.51	8.27	34.82	76.19	-0.415	chlo
MiFSD2	LOC123207201.1	304	34764.17	5.24	44.13	69.97	-0.653	chlo
MiFSD3	LOC123222383.1	304	34764.17	5.24	44.13	69.97	-0.653	chlo
MiMSD1	LOC123228203.1	230	25743.33	6.3	33.02	89.87	-0.363	mito
MiMSD2	LOC123193421.1	230	25913.63	7.19	30.81	88.57	-0.362	mito

理化性质分析表明(表1), *MiSOD* 的蛋白长度、分子量、等电点、不稳定系数和脂肪系数分别在 152 ~ 304 个氨基酸、15 451.23 ~ 34 764.17 Da、5.24 ~ 8.27、12.8 ~ 44.13、69.97 ~ 90.99 的范围内; 杧果 SOD 除 *MiCSD3*、*MiFSD1* 和 *MiMSD2* 外, 均为酸性蛋白; *MiFSD2*、*3* 蛋白为不稳定蛋白, 其余成员均为稳定蛋白; 家族成员中除 *MiCSD2* 均为亲水蛋白, *MiMSD* 蛋白均定位于线粒体, *MiFSD* 蛋白均定位于叶绿体, *MiCSD* 蛋白中, *MiCSD2*、*5* 定位于叶绿体, *MiCSD1*、*3*、*4* 定位于细胞质。

基于 NJ 法构建了 *AtSOD* (8 个)、*GmSOD* (13 个)、

MiSOD (10 个) 的蛋白系统发育关系(图1), 系统发育关系表明, SOD 蛋白被分为了 A (Cu/Zn-SOD)、B (Fe-SOD)、C (Cu/Zn-SOD) 三个亚组, A 组由 6 个 SOD 蛋白成员 (2 个 *AtMSD*、2 个 *MiMSD*、2 个 *GmMSD*) 组成, B 组由 11 个蛋白成员 (3 个 *AtFSD*、3 个 *MiFSD*、5 个 *GmFSD*) 组成, C 组由 14 个成员组成 (3 个 *AtCSD*、5 个 *MiCSD*、6 个 *GmCSD*); MSD 类型的蛋白中, 杧果蛋白与拟南芥的系统发育关系更为密切, FSD 中, *MiFSD1* 与 *GmFSD4* 系统发育关系较为密切, 其余 *MiFSD* 成员与 *AtFSD2* 系统发育关系较为密切, CSD 类型中, *MiCSD* 成员与 *GmCSD* 成员发育关系更为密切。

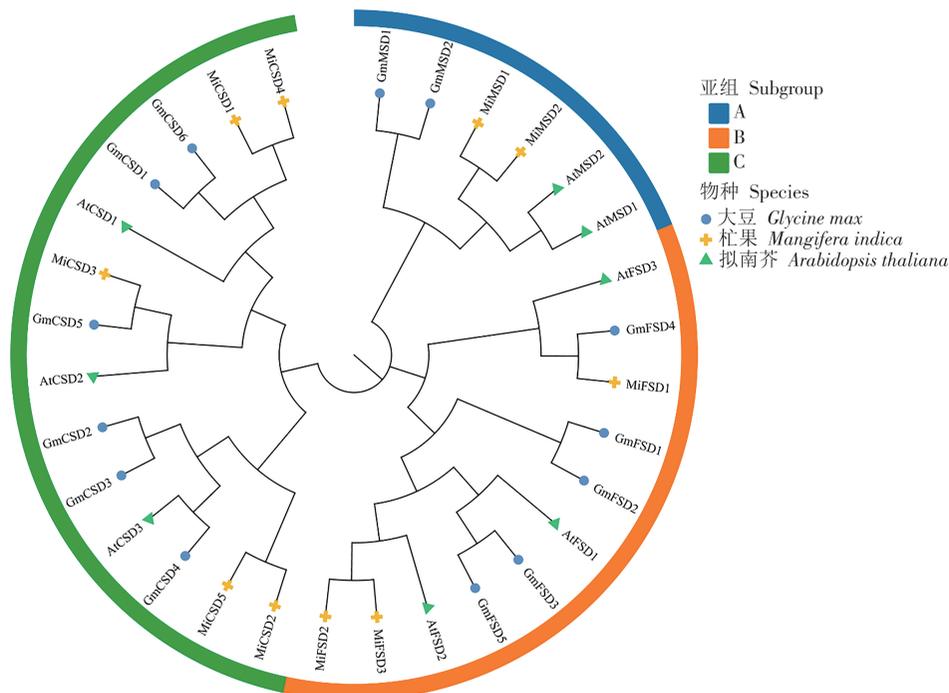


图1 杧果 SOD 基因家族系统发育树

Fig. 1 Phylogenetic tree of *Mangifera indica* L. SOD gene family

综上, 相同类型的 SOD 蛋白在理化性质方面相似性较高, 且系统发育关系较为密切的蛋白间理化性状更为相似, 例如 *MiMSD1*、*2*, *MiFSD2*、*3*, *MiCSD2*、*5*, *MiCSD1*、*4*, 其中, *MiFSD2*、*3* 理化性质完全相同。

2.2 *MiSOD* 基因结构、保守基序及保守结构域分析 为进一步探究 *MiSOD* 基因家族成员的进化关系, 使用 *MiSOD* 蛋白构建了一个系统发育树并结合保守基序、保守结构域和基因结构共同分析(图2-A)。结果表明, 系统发育关系较密切的 SOD 有相同的内含子外显子模式, *MiCSD* 成员中, 仅

MiCSD3 含有 6 内含子、7 外显子, 其余成员均为 7 内含子、8 外显子; *MiMSD* 成员均为 5 内含子、6 外显子, *MiFSD* 成员均为 8 内含子、9 外显子的结构。

保守结构域作为蛋白质三级结构的基本结构单位, 作为蛋白功能的重要单元, 每一类型 SOD 的特殊保守结构域决定了不同类型蛋白的功能, 保守结构域分析表明(图2-B), *MiCSD* 蛋白均含有保守结构域 PF00080, *MiMSD*、*MiFSD* 蛋白均含有 PF02777, *MiMSD* 含有特殊结构域 PF00081, *MiFSD* 含有特殊结构域 cl02809, 系统发育关系越密切, 保守结构域位点越相近。

根据保守基序分析(图2-C),MiSOD蛋白中共鉴定出8个保守基序,motif 3、2广泛存在于所有的MiSOD蛋白中,表明motif 2、3在杧果SOD蛋白的进化过程中相对保守,MiCSD蛋白中特异性包含motif 1、5、9,与motif 2、3共同参与了结构域

PF00080的构成,MiFSD蛋白特异性包含了motif 10,motif 10与motif 4、5共同参与结构域cI02809构成,MiMSD蛋白中motif 4、7与结构域PF00081构成有关;MiMSD与MiFSD的5'端都包含motif 2、8、3,参与结构域PF02777构成。

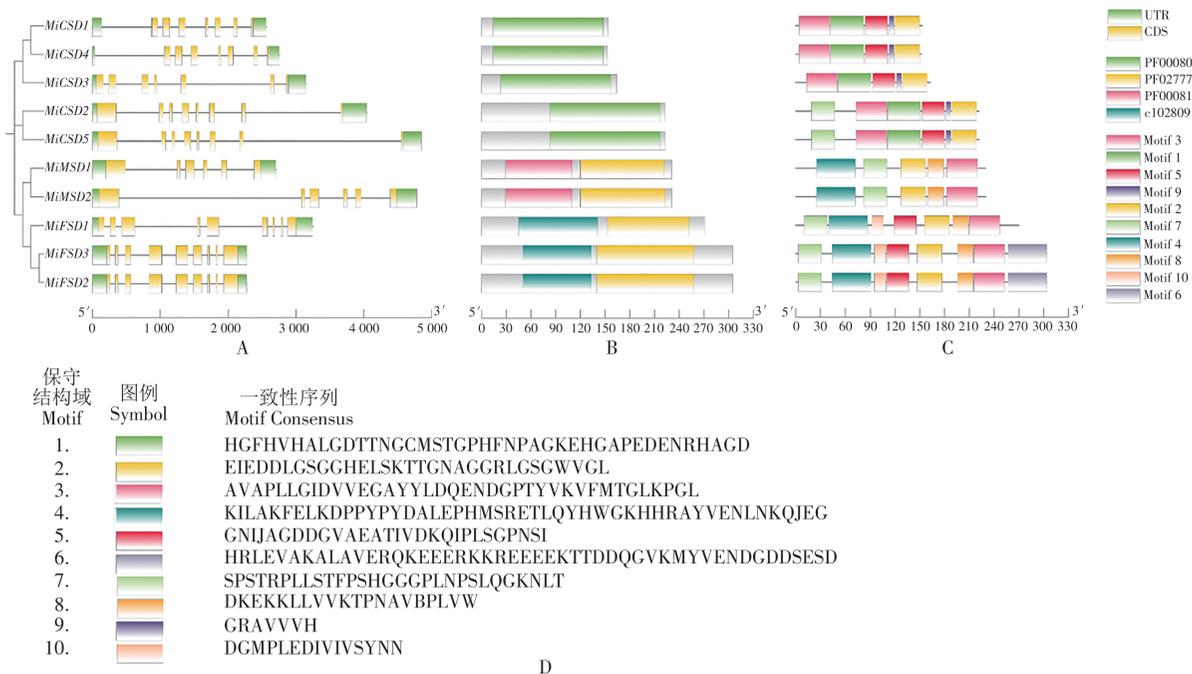


图2 杧果SOD基因结构分析

Fig. 2 Analysis of SOD gene structure in *Mangifera indica* L.

2.3 MiSOD家族染色体分布、物种内共线性和选择压分析 MiSOD基因染色体定位分析结果表明(图3),MiSOD分布在7条不同染色体与1条碎片片段上;MiSOD家族成员在染色体上的分布并不均匀,Chr 3分布3个家族成员,而在Chr 8、9、10、12、NW_57中都仅包含1个家族成员;共线性分析结果表明,无家族成员参与了串联复制;6个基因(60%)间共发现了3对同源关系,这些基因分布于5条染色体与1条碎片片段上,说明片段复制是MiSOD进化扩张的主要驱动力。如表2所示,同源基因间的Ka/Ks值均远小于1,说明进化过程中主要受到纯化选择压力的影响。

2.5 顺式作用元件分析 对MiSOD基因家族成员启动子中有关光、植物激素和逆境胁迫的顺式作

用元件进行可视化分析,结果如图4所示。

结果表明,每一个MiSOD家族成员启动子区域都含有不同数量的光响应元件(TCCC-motif、TCT-motif、GATA-motif、GA-motif、AE-box、chs-CMA1a、GT1-motif、I-box、Box 4、G-Box、AAAC-motif、chs-CMA2b、L-box、MRE、ATCT-motif、Box II、chs-CMA2a、3-AF1 binding site、CAG-motif、AT1-moti)。

MiCSD2、3、4、5, MiFSD2、3, MiMSD 1启动子序列上存在脱落酸响应元件(ABRE), MiMSD1启动子序列上存在生长素响应元件(TGA-element), MiCSD1, MiFSD1、2、3, MiMSD2启动子序列上存在赤霉素响应元件(GARE-motif、P-box、TATC-box), MiCSD2, MiFSD1、2、3, MiMSD1、2启动子序列上存在茉莉酸甲酯响应元件(CGTCA-motif、TGACG-

表2 杧果SOD复制基因对的Ka、Ks分析

Tab. 2 Ka and Ks analysis of SOD replication gene pairs in *Mangifera indica* L.

Seq_1	Seq_2	Ka	Ks	Ka_Ks
MiCSD2	MiCSD5	0.063 619 894	0.233 922 248	0.271 970 258
MiMSD1	MiMSD2	0.038 402 245	0.314 402 023	0.122 143 759
MiFSD3	MiFSD2	0	0	

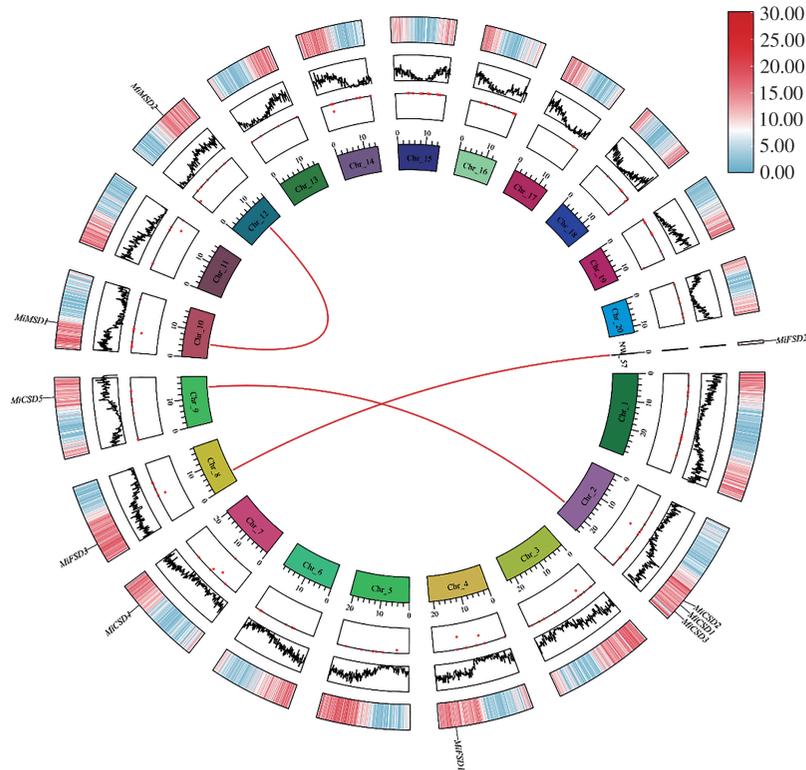


图3 杧果SOD的共线性分析

Fig. 3 Collinearity analysis of SOD in *Mangifera indica* L.

motif), *MiCSD 1*, *MiFSD2*, *3* 启动子序列上存在水杨酸响应元件(TCA-element)。

MiCSD1, *2*, *MiMSD1* 启动子序列上存在厌氧诱导的类增强子元件(GC-motif), 除 *MiCSD5* 外其余家族成员启动子序列上存在抗氧化反应元件(ARE), *MiCSD3*, *5*, *MiFSD2*, *3*, *MiMSD1* 启动子序列上存在防御与逆境应答元件(TC-rich repeats), *MiCSD1*, *3*, *5*, *MiFSD1*, *2*, *3*, *MiMSD2* 启动子序列上

存在干旱胁迫应答元件(MBS), *MiCSD1*, *3*, *4*, *MiFSD2*, *3*, *MiMSD2* 启动子序列上存在冷胁迫应答元件(LTR)。

综上, 不同类型的 *MiSOD* 基因家族成员启动子区域所含的顺式作用元件类型差异较小, 除 *MiCSD5* 都包含抗氧化反应元件, 且抗氧化反应元件(ARE)数量最多, 共有 26 个, 推测 *MiSOD* 基因家族成员参与了植物氧化应激响应。

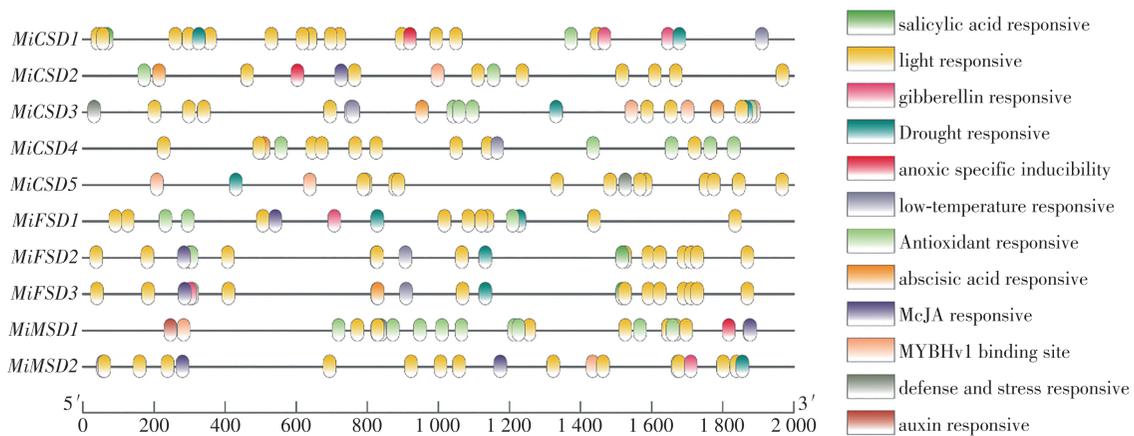


图4 杧果SOD启动子顺式作用元件分析

Fig. 4 Analysis of cis acting elements of *Mangifera indica* L. SOD promoter

2.6 表达模式分析 通过对“Alphonso”杧果不同组织中 *MiSOD* 表达量分析发现(图5), *MiFSD* 基因

与 *MiCSD3* 在不同的组织中均呈现较低的表达量 (TPM<20), 果肉、叶片、树皮和果皮中 *MiCSD4* 表

达量最高,种子中MiMSD1表达量最高,根与花中,MiCSD1表达量最高。

对增强UV-B照射下的杧果果肉MiSOD表达量发现(图6),与在“Alphonso”杧果果肉中的表达模式相同,MiFSD基因与MiCSD3表达量较低,MiCSD4在花后50 d表达量最高;MiSOD在UV-B胁迫下的实验组果肉与对照组果肉中并未出现显著的表达差异,推测MiSOD可能在杧果响应UV-B胁迫中未起关键作用。

3 讨论

本研究从杧果基因组中共鉴定到10个MiSOD基因家族成员,其中Cu/ZnSOD亚家族有5个,FeSOD亚家族只有3个,MnSOD亚家族有2个;不同亚组MiSOD基因家族成员蛋白序列长度和分子量相对稳定,大部分MiSOD蛋白为稳定亲水蛋白;与前人研究结果相比,杧果SOD基因家族成员数量与橡胶树(9个)^[24]、苜蓿(7个)^[25]、番茄(9个)^[26]、胡萝卜(9个)^[27]、茶树(10个)^[28]相似,远少于油菜(31个)^[29],但都呈现出Cu/ZnSOD基因数量最多,FeSOD与MnSOD基因数量相似。从进化关系上看,本研究多物种SOD成员被聚类到Cu/Zn-SOD、Fe-SOD和Mn-SOD 3个亚组中,与在橡胶树、

茶树、油菜SOD基因家族研究相同^[24,28-29],进一步分析发现,MiCSD蛋白与GmCSD蛋白发育关系更为密切,MiMSD、大部分MiFSD与拟南芥相同亚组蛋白进化关系更为密切。

基因家族的进化中,内含子和外显子的结构和数量是重要的衡量指标^[30],MiSOD基因家族成员的内含子和外显子的结构和数量高度保守,MiCSD成员中,仅MiCSD3含有6内含子、7外显子,其余成员均为7内含子、8外显子;MiMSD成员均为5内含子、6外显子,MiFSD成员均为8内含子、9外显子的结构,前人对被子植物SOD基因结构的研究中表明,编码胞质的Cu/ZnSOD的基因有7个内含子,编码叶绿体的有8个内含子,与本实验中的结果并不一致,MiCSD2、3、5缺失了1个内含子与1个外显子,推测MiCSD2、3、5在进化过程中可能出现了外显子和内含子的丢失^[31]。蛋白结构分析表明,不同类型的MiSOD均含有特有的保守结构域,系统发育关系越密切,保守结构域与保守基序位点越相近。

基因家族的扩展通常由基因复制事件造成,MiSOD基因家族中,6个基因(60%)间共发现了3对同源关系,推测MiSOD基因家族扩张由片段复

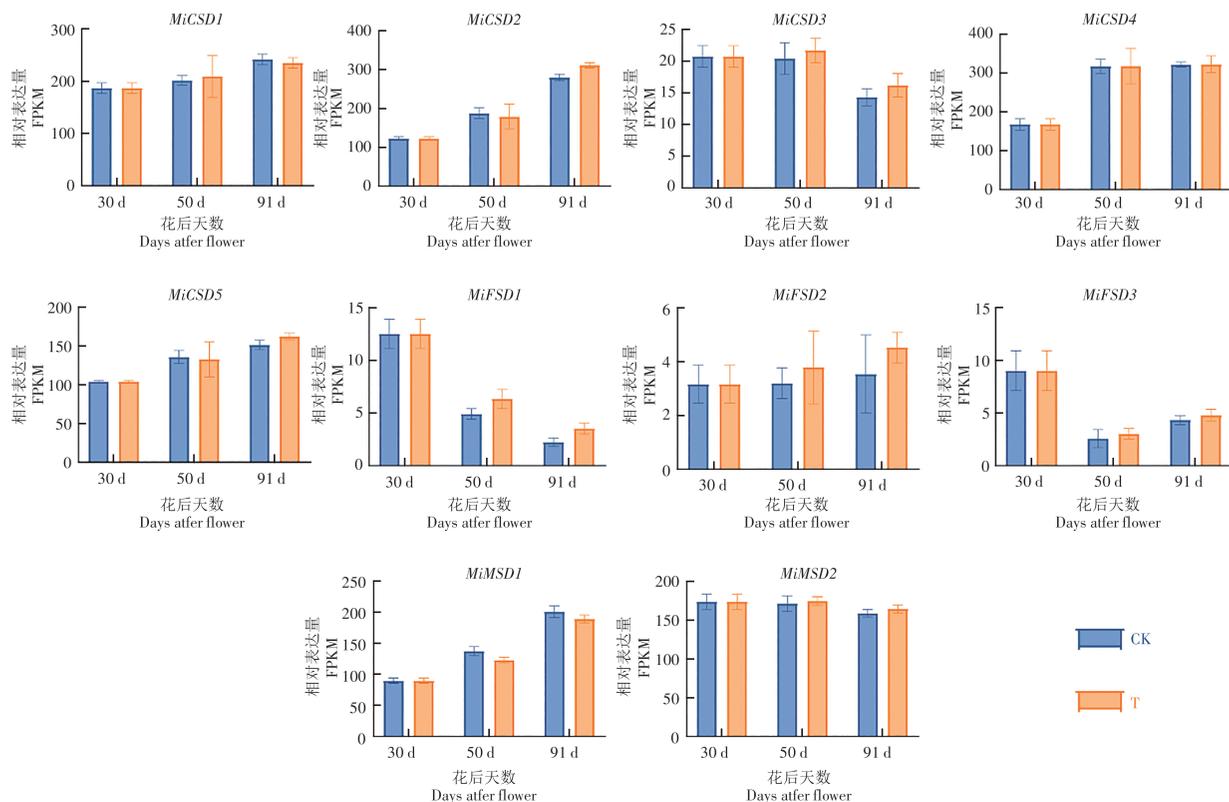


图6 杧果SOD基因在增强UV-B照射下的表达模式

Fig. 6 Expression patterns of SOD genes in *Mangifera indica* L. under enhanced UV-B irradiation

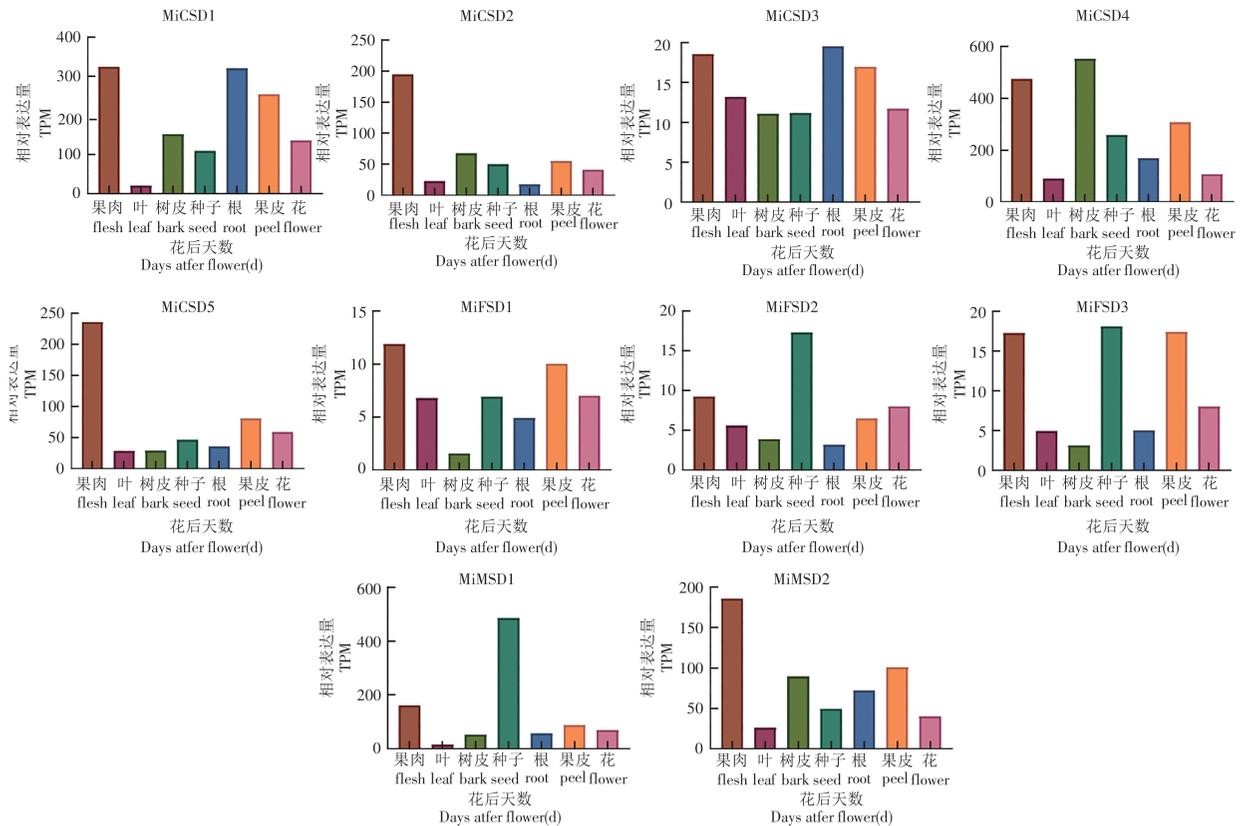


图5 杧果SOD基因在不同组织的表达模式

Fig. 5 Expression patterns of SOD genes in *Mangifera indica* L. at different tissues

制促进, *MiSOD* 的同源基因对之间 Ka/Ks 值小于 1, 说明进化过程中主要受到纯化选择压力的影响。

基因表达受启动子区域中的顺式元件和转录因子的调控。 *MiSOD* 基因启动子序列包含大量的光信号诱导、激素和胁迫相关的元件, 推测 *MiSOD* 在杧果的生长发育、响应外界刺激等过程中发挥主要作用, 也说明 *MiSOD* 存在多因素的调控模式。

杧果树不同组织中, *MiSOD* 表达具有偏好性, *MiFSD* 基因与 *MiCSD3* 在不同的组织中均呈现较低的表达量, 果肉、叶片、树皮和果皮中 *MiCSD4* 表达量最高, 种子中 *MiMSD1* 表达量最高, 根与花中, *MiCSD1* 表达量最高; 在 UV-B 胁迫下, 有对照组相比, 杧果果肉 *MiSOD* 并未出现显著性差异, *MiSOD* 可能并不参与果肉中的 UV-B 胁迫响应。

4 结论

本研究在杧果基因组中鉴定了 10 个 SOD 基因, 包含 *Cu/Zn-SOD*、*Fe-SOD* 和 *Mn-SOD*。其序列存在保守性与进化性, 片段复制与内含子减少可能为主要的进化途径, *MiSOD* 基因在杧果不同组织具有偏好性表达, 大多数成员含有激素与逆境响应元

件, 推测在胁迫和激素响应中发挥调控作用。研究结果为进一步研究 *MiSOD* 基因在杧果生长发育和非生物胁迫响应中的生物学功能提供了依据。

参考文献:

- [1] CRAMER G R, URANO K, DELROT S, et al. Effects of abiotic stress on plants: a systems biology perspective[J]. *BMC plant biology*, 2011, 11: 163.
- [2] KOPECKÁ R, KAMENIAROVÁ M, ČERNÝ M, et al. Abiotic stress in crop production[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(7): 6603.
- [3] MANSOOR S, ALI WANI O, LONE J K, et al. Reactive oxygen species in plants: from source to sink[J]. *Antioxidants*, 2022, 11(2): 225.
- [4] ZULFIQAR F, ASHRAF M. Antioxidants as modulators of arsenic-induced oxidative stress tolerance in plants: an overview[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 427: 127891.
- [5] GECHEV T S, VAN BREUSEGEM F, STONE J M, et al. Reactive oxygen species as signals that modulate plant stress responses and programmed cell death[J]. *BioEssays: News and Reviews in Molecular, Cellular and Developmental Biology*, 2006, 28(11): 1091-1101.
- [6] KERCHEV P I, VAN BREUSEGEM F. Improving oxidative stress resilience in plants[J]. *The Plant Journal: for*

- Cell and Molecular Biology, 2022, 109(2): 359–372.
- [7] WANG Y, BRANICKY R, NOË A, et al. Superoxide dismutases: Dual roles in controlling ROS damage and regulating ROS signaling[J]. The Journal of Cell Biology, 2018, 217(6): 1915–1928.
- [8] ABREU I A, CABELLI D E. Superoxide dismutases-a review of the metal-associated mechanistic variations[J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2010, 1804(2): 263–274.
- [9] SUTHERLAND K M, WARD L M, COLOMBERO C R, et al. Inter-domain horizontal gene transfer of nickel-binding superoxide dismutase[J]. Geobiology, 2021, 19(5): 450–459.
- [10] MOHAMMADI M, TAVAKOLI A, POURYOUSEF M, et al. Study the effect of 24-epibrassinolide application on the Cu/Zn-SOD expression and tolerance to drought stress in common bean[J]. Physiology and Molecular Biology of Plants, 2020, 26(3): 459–474.
- [11] ARABZADEH N, KHAVARI-NEJAD R A. Effect of drought stress on superoxide dismutase activity in two species of *Haloxylon aphyllum* and *Haloxylon persicum* [J]. Pakistan Journal of Biological Sciences: PJBS, 2013, 16(8): 351–361.
- [12] FAIZE M, BURGOS L, FAIZE L, et al. Involvement of cytosolic ascorbate peroxidase and Cu/Zn-superoxide dismutase for improved tolerance against drought stress[J]. Journal of Experimental Botany, 2011, 62(8): 2599–2613.
- [13] ZHU Y, LUO X, NAWAZ G, et al. Physiological and Biochemical Responses of four cassava cultivars to drought stress[J]. Scientific Reports, 2020, 10: 6968.
- [14] LI B, WANG W. Salicylic acid induces tolerance of *Vitis riparia* × *V. labrusca* to chilling stress by altered photosynthetic, antioxidant mechanisms and expression of cold stress responsive genes[J]. Plant Signaling & Behavior, 2021, 16(11): 1973711.
- [15] WU G, NIU X, CHEN J, et al. Hydrogen sulfide alleviates oxidative damage under chilling stress through mitogen-activated protein kinase in tomato[J]. Antioxidants, 2024, 13(3): 323.
- [16] XU C, WANG Y, YANG H, et al. Cold acclimation alleviates photosynthetic inhibition and oxidative damage induced by cold stress in citrus seedlings[J]. Plant Signaling & Behavior, 2023, 18(1): 2285169.
- [17] ZHANG L, TIAN W, HUANG G, et al. The *SikCuZn-SOD3* gene improves abiotic stress resistance in transgenic cotton[J]. Molecular Breeding, 2021, 41(3): 26.
- [18] DIAZ-VIVANCOS P, FAIZE M, BARBA-ESPIN G, et al. Ectopic expression of cytosolic superoxide dismutase and ascorbate peroxidase leads to salt stress tolerance in transgenic plums[J]. Plant Biotechnology Journal, 2013, 11(8): 976–985.
- [19] SHAFI A, GILL T, SREENIVASULU Y, et al. Improved callus induction, shoot regeneration, and salt stress tolerance in *Arabidopsis* overexpressing superoxide dismutase from *Potentilla atrosanguinea* [J]. Protoplasma, 2015, 252(1): 41–51.
- [20] WARSCHEFSKY E J, VON WETTBERG E J B. Population genomic analysis of mango (*Mangifera indica*) suggests a complex history of domestication[J]. The New Phytologist, 2019, 222(4): 2023–2037.
- [21] ANSARI M W, BAINS G, SHUKLA A, et al. Low temperature stress ethylene and not Fusarium, might be responsible for mango malformation[J]. Plant Physiology and Biochemistry: PPB, 2013, 69: 34–38.
- [22] LIU X, XIAO Y, ZI J, et al. Differential effects of low and high temperature stress on pollen germination and tube length of mango (*Mangifera indica* L.) genotypes[J]. Scientific Reports, 2023, 13: 611.
- [23] HELALY M N, EL-HOSEINY H, EL-SHEERY N I, et al. Regulation and physiological role of silicon in alleviating drought stress of mango[J]. Plant Physiology and Biochemistry: PPB, 2017, 118: 31–44.
- [24] YU W, KONG G, CHAO J, et al. Genome-wide identification of the rubber tree superoxide dismutase (*SOD*) gene family and analysis of its expression under abiotic stress[J]. PeerJ, 2022, 10: e14251.
- [25] SONG J, ZENG L, CHEN R, et al. In silico identification and expression analysis of superoxide dismutase (*SOD*) gene family in *Medicago truncatula*[J]. 3 Biotech, 2018, 8(8): 348.
- [26] FENG K, YU J, CHENG Y, et al. The *SOD* gene family in tomato: identification, phylogenetic relationships, and expression patterns[J]. Frontiers in Plant Science, 2016, 7: 1279.
- [27] ZAMEER R, FATIMA K, AZEEM F, et al. Genome-wide characterization of superoxide dismutase (*SOD*) genes in *daucus carota*: novel insights into structure, expression, and binding interaction with hydrogen peroxide (H_2O_2) under abiotic stress condition[J]. Frontiers in Plant Science, 2022, 13: 870241.
- [28] ZHOU C, ZHU C, FU H, et al. Genome-wide investigation of superoxide dismutase (*SOD*) gene family and their regulatory miRNAs reveal the involvement in abiotic stress and hormone response in tea plant (*Camellia sinensis*) [J]. PLoS One, 2019, 14(10): e0223609.
- [29] SU W, RAZA A, GAO A, et al. Genome-wide analysis and expression profile of superoxide dismutase (*SOD*) gene family in rapeseed (*Brassica napus* L.) under different hormones and abiotic stress conditions[J]. Antioxidants, 2021, 10(8): 1182.
- [30] ROGOZIN I B, SVERDLOV A V, BABENKO V N, et al. Analysis of evolution of exon-intron structure of eukaryotic genes[J]. Briefings in bioinformatics, 2005, 6(2): 118–134.
- [31] XU G, GUO C, SHAN H, et al. Divergence of duplicate genes in exon-intron structure[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2012, 109(4): 1187–1192.

Identification and bioinformatics analysis of superoxide dismutase gene in *Mangifera indica*

SHI Shaopu^{1,2}, ZHOU Kaibing^{1,2}

(1. School of Breeding and Multiplication /Sanya Institute of Breeding and Multiplication, Hainan University, Sanya, Hainan 572025, China;

2. School of Tropical Agriculture and Forestry/SARA/SRR, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China)

Abstract: Superoxide dismutase (SOD) is an important enzyme in the plant antioxidant system, playing a crucial role in plant growth and development. An attempt was made to analyze the gene function of *MiSOD* and its expression patterns in different tissues and under enhanced UV-B irradiation. Members of the *MiSOD* gene family from multiple aspects such as protein characteristics, phylogenetic relationships, gene structure, and promoter cis acting elements were identified by using the mango genome and bioinformatics methods, and the expression patterns of *MiSOD* gene family members were identified by using the transcriptome analysis. A total of 10 SOD genes were identified in the mango fruit, and most of the *MiSOD* proteins belong to stable proteins and acidic proteins. The phylogenetic analysis of multiple species SOD proteins showed that SOD was clustered into three subgroups according to protein types. Gene structure analysis shows that the *SOD* gene contains 5 – 8 introns, and genes from the same evolutionary branch have more similar structures. The conserved motifs and domains of their proteins are also the same. Ten *MiSOD* are distributed on 7 chromosomes and 1 fragment, containing 3 segmental duplication genes. The analysis of cis acting elements showed that the promoters of *MiSOD* members contain growth and development elements, hormone response elements, and stress response related elements. The expression pattern of *MiSOD* genes varies in different tissues of ‘Alphonso’ mango. *MiCSD3*, *MiFSD1*, 2, 3 have low expression levels in different tissues; the expression level of *MiCSD4* is highest in the flesh, leaves, bark, and peel; the expression level of *MiMSD1* is highest in the seeds, and the expression level of *MiCSD1* is highest in the roots and flowers. Compared with the control, there was no significant difference in the *MiSOD* genes in the flesh of “Tainong-1” mango under enhanced UV-B irradiation. In summary, members of the *MiSOD* gene family may exert different functions by sensing different types of signals, thereby forming different expression patterns. SOD may not play a key role in the response of ‘Tainong-1’ mango to UV-B stress. This study lays the foundation for further investigating the response mechanism of *MiSOD* genes to different signals.

Keywords: mango; superoxide dismutase (SOD); gene family; expression pattern

(责任编辑:邹游兴)