

铁皮石斛 SWEET 基因家族鉴定及表达模式分析

刘 雯^{1#}, 李雨欣¹, 张婷婷^{1,2}, 戴 军^{3,4}, 周 扬^{1*}

(1. 海南大学 热带农林学院(农业农村学院、乡村振兴学院)/海南省热带园艺作物品质调控重点实验室, 海南 海口 570228 中国; 2. 襄阳市农业科学院, 湖北 襄阳 441057 中国; 3. 海南胜嵘生物科技有限公司, 海南 海口 571157 中国; 4. 皖西学院 生物与制药工程学院, 安徽 六安 237012 中国)

摘 要: 糖转运蛋白 SWEET(sugars will eventually be exported transporter)在植物响应生物和非生物胁迫中起重要作用。为探讨铁皮石斛(*Dendrobium catenatum*) SWEET 基因的功能, 基于铁皮石斛基因组数据, 利用生物信息学方法对 SWEET 基因家族进行鉴定, 并对其在干旱胁迫下的表达模式进行分析。结果显示, 铁皮石斛中共有 27 个 *DcSWEET* 基因, 理化性质分析表明, *DcSWEET* 蛋白质分子质量为 22.44 ~ 33.11 kDa, 等电点为 8.47 ~ 9.63。系统发育分析表明, *DcSWEET* 蛋白可以划分为 4 个亚群, 每个亚群具有保守的基序组成和基因结构。顺式作用元件分析表明, 大量的生长发育相关元件、激素响应元件以及胁迫响应元件存在于 *DcSWEET* 基因启动子序列上。RNA-seq 分析发现, 17 个 *DcSWEET* 基因受干旱胁迫诱导上调表达。共表达网络分析显示, *DcSWEET4*、*DcSWEET11*、*DcSWEET13*、*DcSWEET18*、*DcSWEET27* 可能在铁皮石斛响应干旱胁迫中起主要作用。实时荧光定量 PCR 结果表明, 茎和叶中的 *DcSWEET11*、*DcSWEET13*, 以及叶中的 *DcSWEET18* 基因受干旱胁迫显著上调表达, 可作为铁皮石斛耐旱性的候选基因。本研究分析了铁皮石斛中响应干旱胁迫的关键 *DcSWEET* 基因, 为将来提高铁皮石斛耐旱性提供分子依据。

关键词: 铁皮石斛; SWEET 基因家族; 干旱胁迫; 表达分析

中图分类号: S567.239; Q786 文献标志码: A 文章编号: 1674-7054(2026)04-0566-12

刘雯, 李雨欣, 张婷婷, 等. 铁皮石斛 SWEET 基因家族鉴定及表达模式分析[J]. 热带生物学报 (中英文), 2026, 17(4): 566–577. DOI: 10.15886/j.cnki.rdswwb.20250025 CSTR: 32425.14.j.cnki.rdswwb.20250025



糖为生命体活动提供能源物质和碳来源, 参与调节植物生理过程, 如种子萌发、光合作用、开花等诸多生理过程^[1-2]。糖能影响渗透势, 在植物响应生物和非生物胁迫中发挥作用^[3-4]。在环境压力中, 干旱胁迫是植物生长和生产力最不利的因素之一^[5]。根系中可溶性糖的运输和积累促进了根冠比的增加, 从而增强了抗旱性^[6]。糖在细胞间的转运是由转运蛋白介导的。到目前为止, 已经确定了 3 种糖转运蛋白, 包括单糖转运体 MST(monosaccharide transporter)、蔗糖转运体 SUT(sucrose transporter)和糖外排转运体 SWEET(sugars will eventually be exported transporter)^[7]。

SWEET 蛋白可以顺浓度梯度介导细胞蔗

糖的摄取和流出, 具有双向跨膜运输的功能^[8]。真核生物 SWEET 蛋白包含 2 个保守的 MtN3/saliva 跨膜结构域, 包含 7 个 α -螺旋跨膜结构域(transmembrane, TMs), 由 3 个结构域多肽按 3+1+3 构型融合而成^[9-10]。水稻 OsSWEET2b 的低温电镜结构显示, N 端以 TM1-TM3-TM2 的形式构成三螺旋束(triple-helix bundles), C 端 THB 由 TM5-TM7-TM6 组成^[11]。其中, 3-TM 结构域携带高度保守的脯氨酸(P)和谷氨酰胺基序(Q), SWEET 也因此被称为 PQ 环家族转运蛋白^[12]。SWEET 成员可划为 4 个分枝(Clade I、II、III、IV), 属于同一分支的基因具有相似的结构和功能^[13]。其中, Clade III 的 SWEET 成员参与蔗糖运输, Clade I、

© CC BY 4.0 收稿日期: 2025-01-24

修回日期: 2025-03-14

基金项目: 海南省自然科学基金项目(319MS009); 海南大学横向课题(HD-KYH-2023093); 海南省普通高等学校研究生创新科研课题(Qhys2023-259)

*第一作者: 刘雯(1998—), 女, 海南大学热带农林学院 2022 级硕士研究生。E-mail: liuwen@hainanu.edu.cn

*通信作者: 周扬(1988—), 男, 副教授, 硕士生导师。研究方向: 植物抗逆分子遗传调控。E-mail: zhouyang@hainanu.edu.cn

II 和 IV 的 SWEET 成员主要运输己糖^[14]。此外, 研究发现 Clade IV SWEET 定位于液泡膜上, 在拟南芥中特异性输出果糖^[15]。SWEET 基因于 2010 年首次在拟南芥中被发现^[16]。此后在多种植物中均鉴定出 SWEET 基因, 如草莓(*Fragaria × ananassa*)^[17]、大麦(*Hordeum vulgare*)^[18]、辣椒(*Capsicum annuum*)^[19]等。当植物暴露于低温、干旱、盐分等各种非生物胁迫时, 其生长发育过程会受到严重影响^[20]。茶树 CsLHY 具有转录激活因子的作用, 结合 CsSWEET17 的启动子正向调控茶树的抗寒性^[21]。CsSWEET16 促使糖在液泡中的区室化来提高抗寒性^[22]。在干旱胁迫下, 拟南芥 SWEET17 突变体表现出侧根生长减少, 侧根发育相关转录因子的表达量降低, 导致 SWEET17 突变体的耐旱性受损^[23]。

铁皮石斛(*Dendrobium catenatum*)作为中国传统名贵中药材, 具有保护心脏、保护胃肠道、抗肿瘤、免疫调节、抗菌、抗氧化和抗疲劳等作用^[24]。野生铁皮石斛主要分布于岩石和树皮上, 经常遇到恶劣的环境, 已被列为稀有濒危植物。在生产中, 常以模拟野生种植模式在石头、树桩和林下种植, 时常受到周期性干旱胁迫影响^[25]。但目前关于铁皮石斛在干旱环境下的生存机制的研究, 尤其是铁皮石斛 SWEET 基因家族在干旱胁迫下的功能研究还未见报道。因此, 本研究在基因组水平上对 DcSWEET 基因家族成员进行鉴定, 利用生物信息学方法对 DcSWEET 基因的系统发育树、保守基序、基因结构、顺式作用元件等进行综合分析。利用公共数据库中的转录组数据分析了 DcSWEET 基因在干旱胁迫下的相对表达水平, 并利用 RT-qPCR 进行验证。研究结果可为铁皮石斛抗旱分子育种和提高铁皮石斛对干旱胁迫的耐受性提供参考。

1 材料与方法

1.1 铁皮石斛 SWEET 蛋白鉴定和系统发育分析 从 NCBI GenBank 数据库下载铁皮石斛基因组注释文件(PRJNA262478)^[26]。从 Pfam 数据库(<http://pfam.xfam.org/>, v35.0)查询 MtN3/saliva 结构域(PF03083)的隐马尔可夫模型, 利用 Hmmersearch 进行搜索, 保留 $E \leq 1 \times 10^{-10}$ 的序列。通过 Bio-linux bioinformatics documentation system 查询 *D. catena-*

tum 蛋白数据库, 初步获得 DcSWEET 候选蛋白。最后, 提交至 SMART(<http://smart.embl.de/smart/batch.pl>)和 NCBI 数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)的 CDD 在线工具来确定是否具有 MtN3/saliva 和 PQ-loop 保守结构域^[27]。使用 ExPASy(<https://www.expasy.org/>)分析 DcSWEET 蛋白的氨基酸数、分子质量、理论 pI。使用 PSORT 工具预测 DcSWEET 蛋白的亚细胞定位。

使用 Clustalw v2.0 程序对拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)、水稻(*Oryza sativa*)以及铁皮石斛 SWEET 蛋白序列进行多重序列比对, 将比对结果导入 MEGA v11, 使用泊松模型的最大似然法构建 SWEET 蛋白的系统发育树, 用在线网站 Evolview(<https://evolgenius.info/evolview-v2>)美化。

1.2 DcSWEET 蛋白保守基序、基因结构和启动子顺式作用元件分析 采用 TBtools 以及 MEME 在线工具(<http://meme-suite.org/tools/meme>)分析 27 个 DcSWEET 蛋白序列的保守基序。利用 TBtools 软件^[28]从铁皮石斛基因组 gff 注释文件中提取 DcSWEET 基因结构文件, 提取 DcSWEET 各基因起始密码子(ATG)上游 2000 bp 序列作为启动子序列, 并利用 PlantCARE 分析顺式作用元件。利用 TBtools 对 27 个 DcSWEET 保守基序、基因结构和顺式元件进行可视化分析。

1.3 基因转录组数据的 DcSWEET 基因的表达模式 基于 SRA 数据库中的 RNA-seq 数据(SRP132541)分析干旱胁迫下 DcSWEET 基因的表达模式。该数据包含基质不同含水量(0、10%~15%和 30%~35%)下的基因表达量, 根据基因 ID 筛选 DcSWEET 基因的表达数据, 并使用 TPM 值构建 TBtools 热图。根据 RNA-seq 数据的 TPM 值, 使用 Origin 2022b 软件分析 DcSWEET 基因共表达关系^[29], 根据相关系数, 使用 Cytoscape v3.8.1 进行共表达网络分析, 以鉴定核心基因。用于相关性分析的数据是 4 次重复的平均值。

1.4 实时荧光定量 PCR 利用实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)技术分析响应干旱胁迫的核心 DcSWEET 基因的表达模式。以实验室保存的 20% PEG8000(质量分数)干旱胁迫下的 cDNA 为模板^[30], 分析 DcSWEET 基因在干旱处理 3、6、9、12、24、48 h 后的基因表达情况。引物序列如表 1 所示, 引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合

成。使用 ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix 试剂(诺唯赞生物科技有限公司, 南京)进行 PCR 扩增。RT-qPCR 扩增条件为: 95 ℃ 初始变性 5 min; 95 ℃ 变性 30 sec, 60 ℃ 退火延伸 45 s,

40 个循环。结束后读取荧光信号: 95 ℃ 15 s, 60 ℃ 15 s, 95 ℃ 15 s, 进行熔解曲线分析。实验设置 3 次生物学重复。以铁皮石斛 *Actin* 基因作为内参基因, 采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法计算基因的相对表达量^[25]。

表 1 本试验中实时荧光定量 PCR 引物序列

Tab. 1 Primer sequences of quantitative real time PCR in this experiment

基因ID Gene ID	上游引物(5'—3') Forward primers (5'—3')	下游引物(5'—3') Reversed primers (5'—3')
<i>DcSWEET1</i>	TGGTGAAGACAAAAAGTGTGGAG	AGAGCACTCCCACAACCATTT
<i>DcSWEET2</i>	GTCTTCCCTACTTGTATTCCCTTCT	CATTCCACACATTTTGAGTTTCTTA
<i>DcSWEET4</i>	ATTTCTCTCTCTTGCTTCCTTCTTT	CGATCTCTGTGGTCTTTTACGT
<i>DcSWEET5</i>	TGGAGAAAGAAGGCAGTAGAACA	GATAAGCACCTCAAGCACATA
<i>DcSWEET7</i>	CGGTGGGTCATAGTCACGAGA	GCATACGCCATTGAGAAAGCT
<i>DcSWEET9</i>	CCGAATGTATTGGGTTTCCTGT	ATCTTATCTTTCACCTGGTTTGTC
<i>DcSWEET11</i>	GGTGATGGGATCTTTGTGTGC	CTCTCTATGTCTGTTTCCTTGGCT
<i>DcSWEET12</i>	GCCCCAAAGAAGGTCAAGATAC	GCGAAGACGCAAACAGAGAAG
<i>DcSWEET13</i>	TAGGATTCACATTGGGGCG	TCATACAGGGCTCATCTCATTTT
<i>DcSWEET14</i>	ATCATGTATCTCCTCTATGCCCC	AGAAAGCAACGCAAATCCAAC
<i>DcSWEET15</i>	GTGTTACCTTCTCTGTGAGCGTCT	GAGTCCGCAAGTATTATTTGAGTCA
<i>DcSWEET16</i>	ACTGCCGAATGCTAAACCAAC	AACTCATCTCCAGCCGAAAAA
<i>DcSWEET17</i>	GGATTGGAGCATCTACTCTGTG	CTCTCTATGTCTGTTTCCTTGGC
<i>DcSWEET18</i>	GTGTCGCCAATACCAACTTTTAGA	CCAAAAATACACCATAGGAGACACA
<i>DcSWEET21</i>	GTGTCGCCAATACCAACTTTTAGA	CCAAAAATACACCATAGGAGACACA
<i>DcSWEET26</i>	ACTTCTCATCACAGACATCACCTTC	CACACTCTTTGTTCTTATCACCTT
<i>DcSWEET27</i>	TTGTGTTGGATTCTGGTGATGGTGT	TTTCCCGTTCTGCTGTTGTTGTGAA
<i>DcActin</i>	TTGTGTTGGATTCTGGTGATGGTGT	TTTCCCGTTCTGCTGTTGTTGTGAA

2 结果与分析

2.1 铁皮石斛 *DcSWEET* 基因家族鉴定和理化性质分析 本研究中从铁皮石斛中共鉴定到 27 个 *DcSWEET* 基因, 根据 *DcSWEET* 家族成员与水稻和拟南芥 *SWEET* 蛋白的关系, 将其命名为 *DcSWEET1* ~ *DcSWEET27*。 *DcSWEET* 基因编码的蛋白氨基酸数为 201(*DcSWEET5*) ~ 296 (*DcSWEET11*), 分子质量为 22.44(*DcSWEET5*) ~ 33.11(*DcSWEET11*)kDa, 理论等电点 pI 为 8.47 (*DcSWEET25*) ~ 9.91(*DcSWEET16*)。 *DcSWEET5* 是编码氨基酸最少、分子质量最小的蛋白,

DcSWEET11 编码氨基酸最多, *DcSWEET3* 分子质量最大。 27 个 *DcSWEET* 蛋白的等电点都在 7 以上。 亚细胞定位预测到 24 个(89%)*DcSWEET* 蛋白定位于细胞质膜上, 3 个(11%)*DcSWEET* 蛋白定位在叶绿体上(表 2)。

2.2 *DcSWEET* 蛋白的系统发育分析 利用铁皮石斛(*Dc*)、拟南芥(*At*)和水稻(*Os*)的 *SWEET* 家族蛋白序列构建系统发育树(图 1), 铁皮石斛、拟南芥和水稻的 *SWEET* 蛋白均可分为 4 个亚组。 铁皮石斛家族成员在四个亚组中的成员数分别为 5、13、6 和 3, 所占比例分别为 19%(Clade I)、48%(Clade II)、22%(Clade III)和 11%(Clade

表 2 铁皮石斛 DcSWEET 蛋白的理化性质

Tab. 2 Physiochemical properties of *D. catenatum* SWEET proteins

蛋白名 Protein Name	位置 Locus	长度 Length	分子质量/kDa MW	等电点 pI	亚细胞定位 Subcellular localization	组 Group
DcSWEET1	NW_021319548.1; 92365...96183	211	23.20	8.95	plasma membrane	I
DcSWEET2	NW_021320155.1; 178296..180115	237	26.62	8.87	plasma membrane	I
DcSWEET3	NW_021319455.1; 1525477..1538903	277	30.99	9.25	plasma membrane	I
DcSWEET4	NW_021319579.1; 2296589..2300708	248	27.45	9.63	plasma membrane	II
DcSWEET5	NW_021320057.1; 1532934..1534265	201	22.44	9.34	plasma membrane	II
DcSWEET6	NW_021318787.1; 354097..355486	235	26.27	9.03	plasma membrane	II
DcSWEET7	NW_021318787.1; 348952..350461	236	26.37	9.14	plasma membrane	II
DcSWEET8	NW_021320141.1; 81668..104479	283	31.65	9.39	plasma membrane	II
DcSWEET9	NW_021319221.1; 10426..13058	262	29.22	9.49	plasma membrane	III
DcSWEET10	NW_021319083.1; 1983587..1985446	271	30.50	9.25	plasma membrane	III
DcSWEET11	NW_021415225.1; 997761..1000664	296	33.11	9.52	chloroplast	IV
DcSWEET12	NW_021319195.1; 493114..496184	266	29.94	8.87	plasma membrane	III
DcSWEET13	NW_021318711.1; 2482437..2484846	265	29.55	9.27	plasma membrane	III
DcSWEET14	NW_021318711.1; 2495228..2496861	265	29.63	9.00	plasma membrane	III
DcSWEET15	NW_021319091.1; 54815..57648	249	27.59	9.13	plasma membrane	III
DcSWEET16	NW_021415225.1; 997761..1000664	254	28.71	9.91	chloroplast	IV
DcSWEET17	NW_021415225.1; 997761..1000664	283	31.54	9.50	chloroplast	IV
DcSWEET18	NW_021320019.1; 9075754..9077812	237	26.58	8.99	plasma membrane	I
DcSWEET19	NW_021320141.1; 137711..138871	259	28.92	8.99	plasma membrane	II
DcSWEET20	NW_021320141.1; 73730..79633	285	32.00	9.24	plasma membrane	II
DcSWEET21	NW_021320019.1; 9075754..9077812	223	25.50	9.30	plasma membrane	I
DcSWEET22	NW_021319959.1; 1593464..1596798	237	26.78	9.18	plasma membrane	II
DcSWEET23	NW_021594465.1; 9716..14348	237	26.51	8.92	plasma membrane	II
DcSWEET24	NW_021320141.1; 124587..125761	259	28.72	9.11	plasma membrane	II
DcSWEET25	NW_021320141.1; 170130..171297	259	28.93	8.47	plasma membrane	II
DcSWEET26	NW_021319959.1; 1778270..1781665	237	26.59	9.32	plasma membrane	II
DcSWEET27	NW_021319959.1; 1514664..1518903	295	33.08	8.53	plasma membrane	II

IV)。而拟南芥 AtSWEET 家族成员在 4 个亚组中的数量分别为 3 个(18%)、5 个(29%)、7 个(41%)和 2 个(12%), 水稻 OsSWEET 家族成员分别为 6 个(29%)、9 个(43%)、5 个(24%)和 1 个(4%)。可以看出, 不同植物中 *SWEET* 基因在不同亚组中的分布具有相似性。

2.3 DcSWEET 蛋白保守基序和基因结构分析
共鉴定得到 20 个基序(图 2), DcSWEET 蛋白几乎所有成员都包含 motif 1、2、3、4, 表明这些基序在 DcSWEET 转运体中是高度保守的。除了 DcSWEET5 和 DcSWEET16 外, DcSWEET 成员都含有 motif 4, 这表明 DcSWEET5 和 DcSWEET16

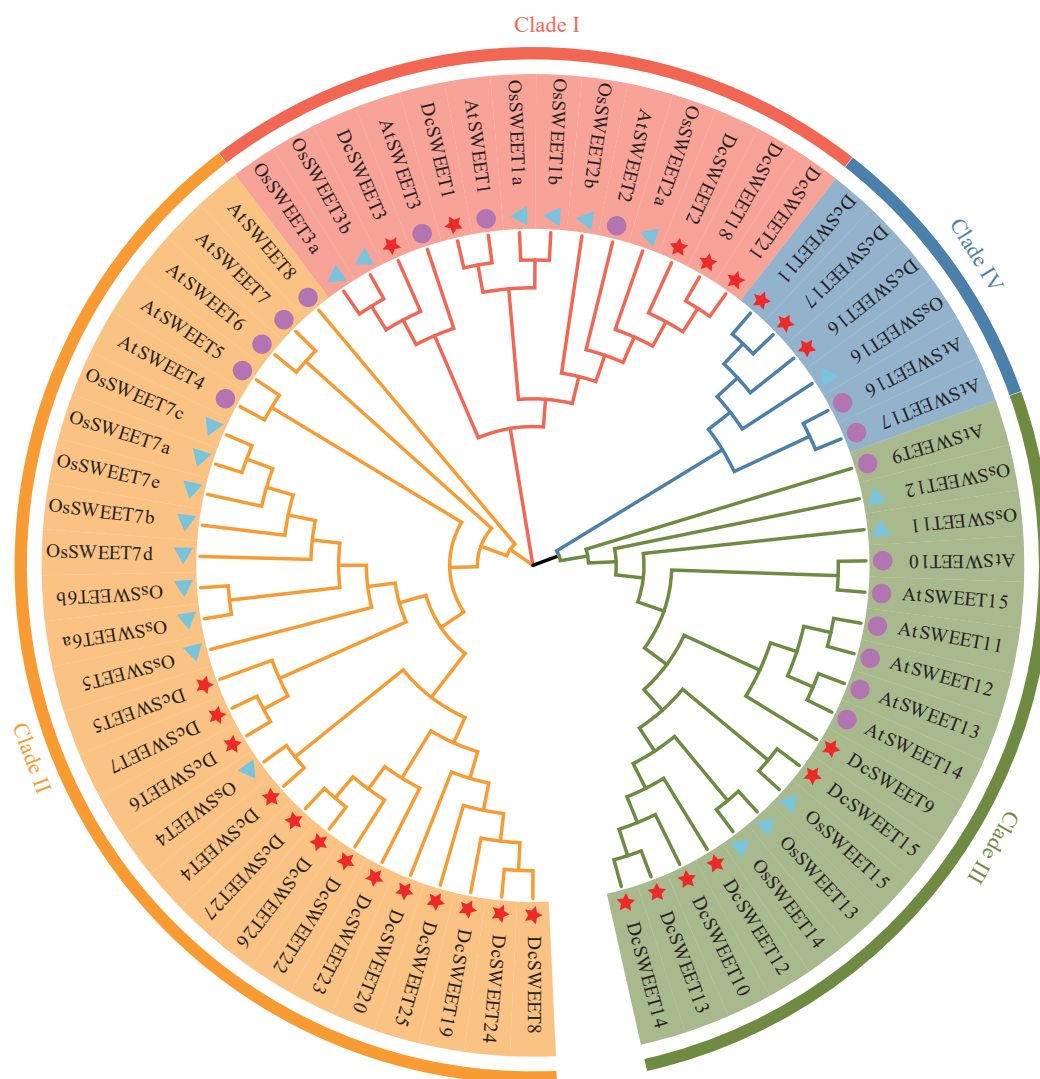
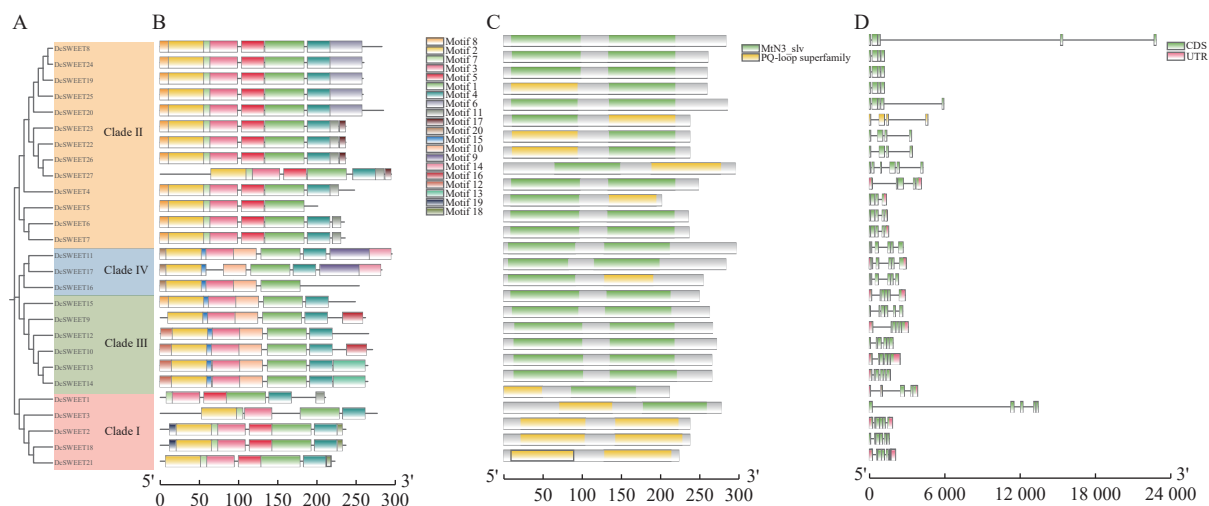


图 1 拟南芥、水稻和铁皮石斛 SWEET 蛋白的系统发育分析

Fig. 1 Phylogenetic analyses of SWEET proteins from *D. catenatum*, *A. thaliana* and *O. sativa*



A. DcSWEET 蛋白的系统发育树; B. DcSWEET 蛋白的保守基序; C. DcSWEET 蛋白的保守结构域; D. *DcSWEET* 基因的外显子/内含子结构。

A. Phylogenetic tree of DcSWEET protein; B. Conserved motifs of DcSWEET proteins; C. Conserved domains of DcSWEET proteins; D. Exon/intron structures of *DcSWEET* genes.

图 2 DcSWEET 家族成员的基序、结构及系统发育关系

Fig. 2 Motifs, structures and phylogenetic relationships of DcSWEET family members

可能在与其他成员共同进化的过程中丢失了 motif 4(图 2-B)。通过 NCBI-CDD 分析 DcSWEET 蛋白的保守结构域,发现所有的 DcSWEETs 都含有两个 MtN3/saliva 或 PQ-loop superfamily(图 2-C)。内含子-外显子结构分析表明, *DcSWEET* 基因的内含子-外显子数量高度保守。27 个成员中的内含子数量为 3 到 5 个之间。14 个(52%) *DcSWEETs* 基因含有 5 个内含子, 6 个(22%)成员包含 4 个内含子, 7 个(26%)成员包含 3 个内含子(图 2-D)。

2.4 *DcSWEET* 基因启动子的顺式元件分析

在 *DcSWEET* 启动子存在植物激素响应元件(脱落酸、水杨酸、赤霉素、生长素), 逆境胁迫相关元件

(低温、干旱、胁迫和防御响应元件)、植物生长发育相关元件(昼夜调控、分生组织、种子特异性调控、玉米蛋白代谢调控)、光响应元件(图 3)。其中, 在 10 个(37%) *DcSWEET* 基因启动子中检测到参与低温响应的顺式作用元件, 在 11 个(41%) *DcSWEET* 基因启动子中检测到参与干旱诱导的 MYB 结合位点, 在 5 个(19%) *DcSWEET* 基因启动子中存在防御响应元件。说明大多数 *DcSWEET* 基因参与对非生物胁迫的响应。

2.5 *DcSWEET* 基因在干旱胁迫下的表达模式

利用 SRA 数据库中的 RNA-seq 数据(SRP132541), 筛选出 17 个 *DcSWEET* 基因参与响应干旱胁迫(图 4-A)。根据基因表达量的趋势分析, 可将这些

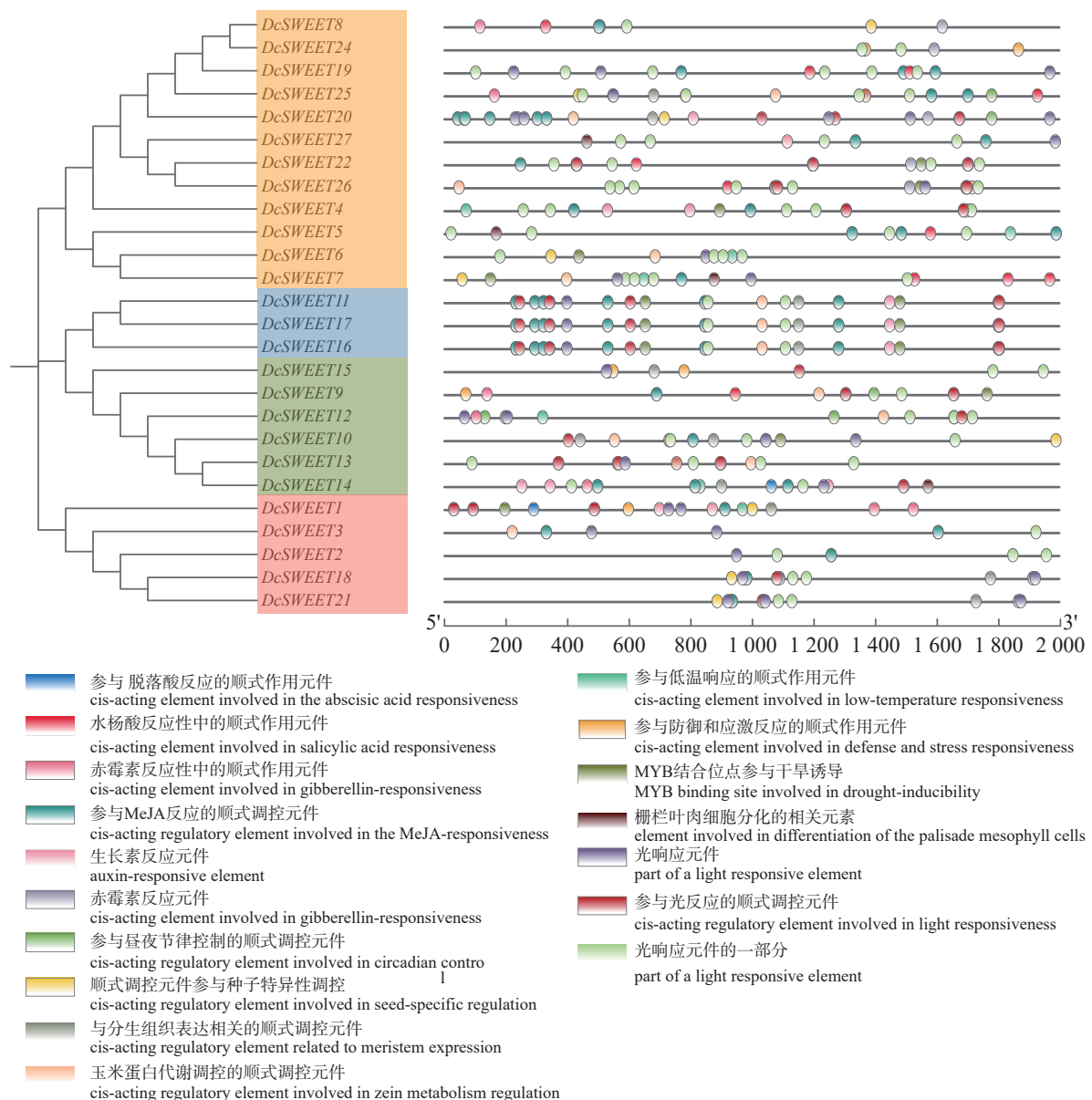
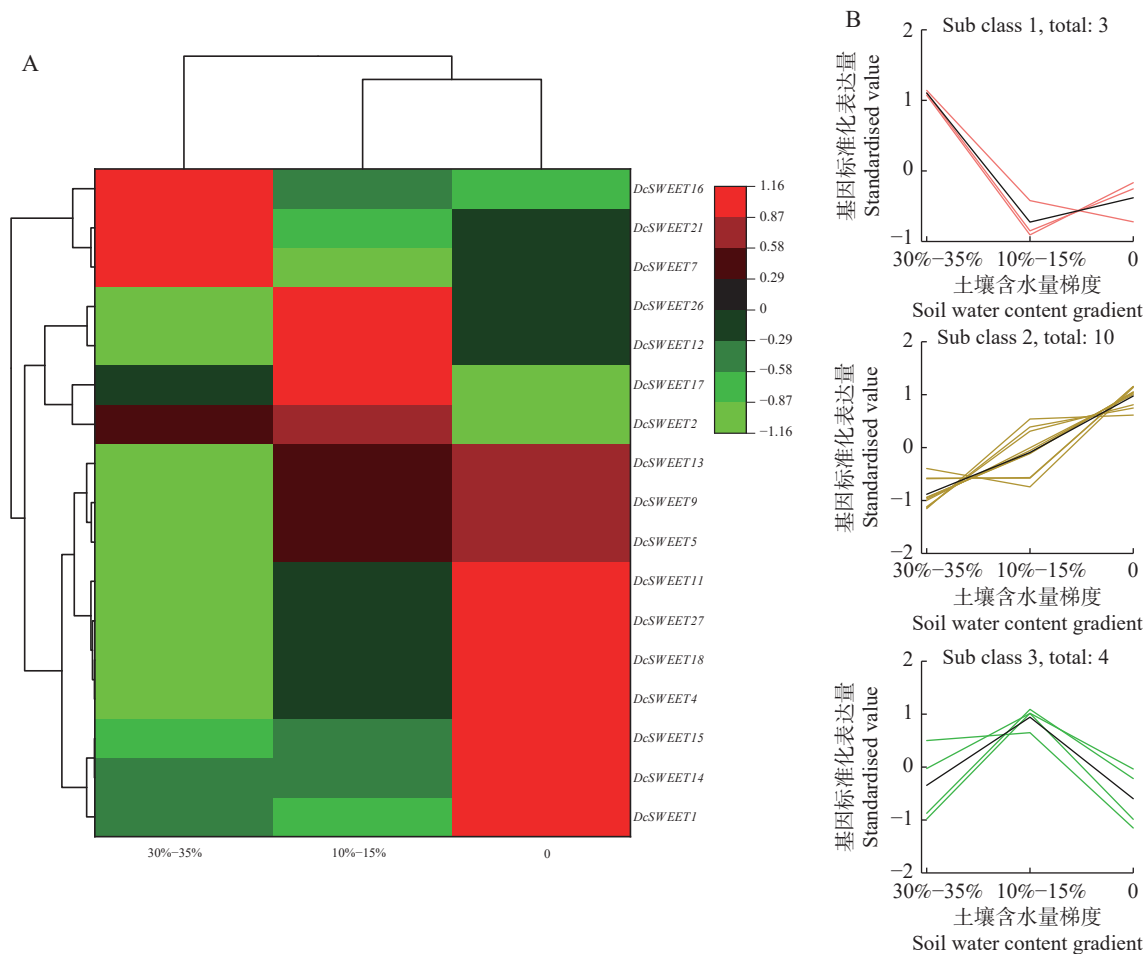


图3 *DcSWEET* 基因启动子区域的顺式作用元件分析

Fig. 3 Analysis of cis-elements in the *DcSWEET* gene promoter regions



A. 采用 RNA-seq 分析 *DcSWEET* 基因的表达模式; B. K-means 均值分析。
A. Expression patterns of *DcSWEET* genes analyzed by RNA-seq; B. K-means analysis of *DcSWEET* genes.

图 4 *DcSWEET* 基因在干旱胁迫下的表达模式

Fig. 4 Expressions of *DcSWEET* genes under drought stress

基因按表达量变化分为三组(图 4-B)。*DcSWEET1*、*DcSWEET4*、*DcSWEET5*、*DcSWEET9*、*DcSWEET11*、*DcSWEET13*、*DcSWEET14*、*DcSWEET15*、*DcSWEET18* 共 9 个基因的表达量随着干旱胁迫的加重而升高, *DcSWEET7*、*DcSWEET16*、*DcSWEET21* 在 30%~35% 的基质含水量条件下表达量最高, 表明这 3 个基因可能响应较轻的干旱胁迫。*DcSWEET2*、*DcSWEET12*、*DcSWEET17*、*DcSWEET26* 在 10%~15% 的基质含水量条件下表达量上调, 在完全干旱时(基质含水量为 0)处理时迅速下降, 表明这 4 个 *DcSWEET* 基因可能对中度干旱胁迫(10%~15% 的基质含水量)起响应作用。

2.6 干旱胁迫下 *DcSWEET* 基因的相关性分析及核心基因筛选 使用 Origin 软件对干旱胁迫处理下的 17 个 *DcSWEET* 基因 TPM 值进行相关性分析, 选用皮尔逊系数大于 0.8 的数据, 探讨它们之间可能存在的关系。结果表明, 80 对基因表现

为正相关, 60 对基因表现为负相关(图 5-A)。根据皮尔逊相关系数使用 Cytoscape 软件绘制共表达网络, 共鉴定出 5 个枢纽基因, 分别为 *DcSWEET4*、*DcSWEET11*、*DcSWEET13*、*DcSWEET18*、*DcSWEET27* (图 5-B)。

2.7 核心 *DcSWEET* 基因的 RT-qPCR 验证 为了进一步探讨它们对干旱胁迫的响应, 采用 RT-qPCR 分析了 4 个核心 *DcSWEET* 基因在 20% PEG8000 下的表达水平。结果(图 6)表明, 这些基因在干旱胁迫下均有不同程度的上调。在根中, 处理 24 h 后 *DcSWEET4* 基因的表达达到最高值。在叶片中, *DcSWEET11*、*DcSWEET13* 在干旱处理 9 h 后达到最高值, *DcSWEET18* 在处理 24 h 后达到最大值, 其中 *DcSWEET11* 上调 28 倍, *DcSWEET18* 在处理 24 h 后上调 19 倍。在茎中, *DcSWEET11* 和 *DcSWEET13* 处理 24 h 后达到颠峰值, 其中 *DcSWEET11* 表达量是 0 h 表达量的 40 倍。

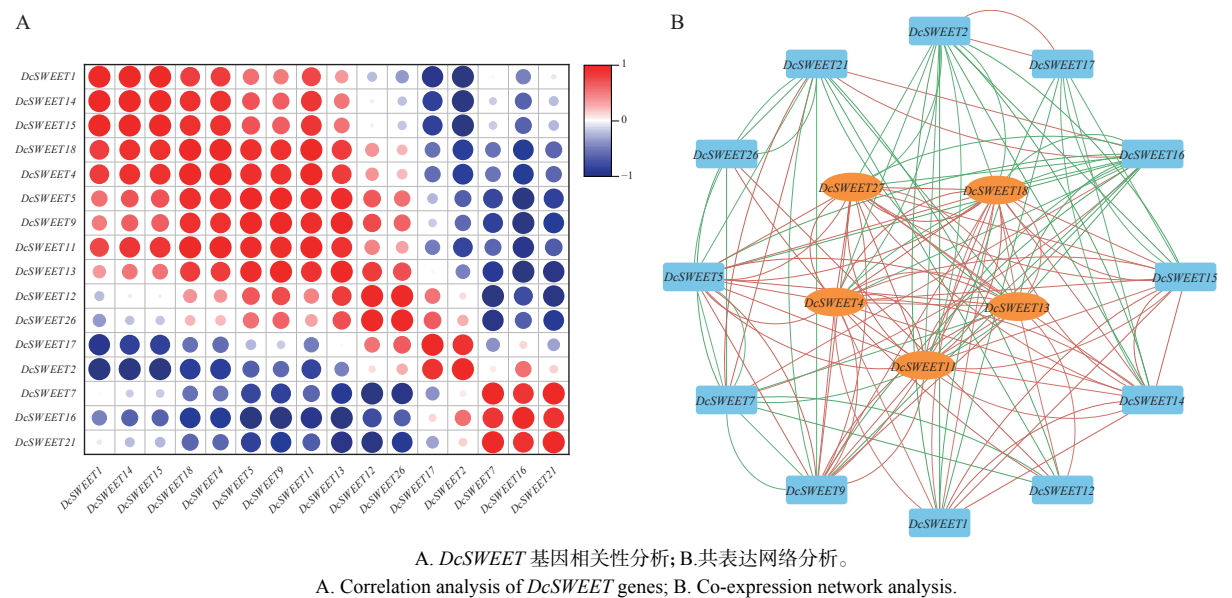


图 5 干旱相关 *DcSWEET* 基因的综合分析
Fig. 5 Comprehensive analysis of drought-related *DcSWEET* genes

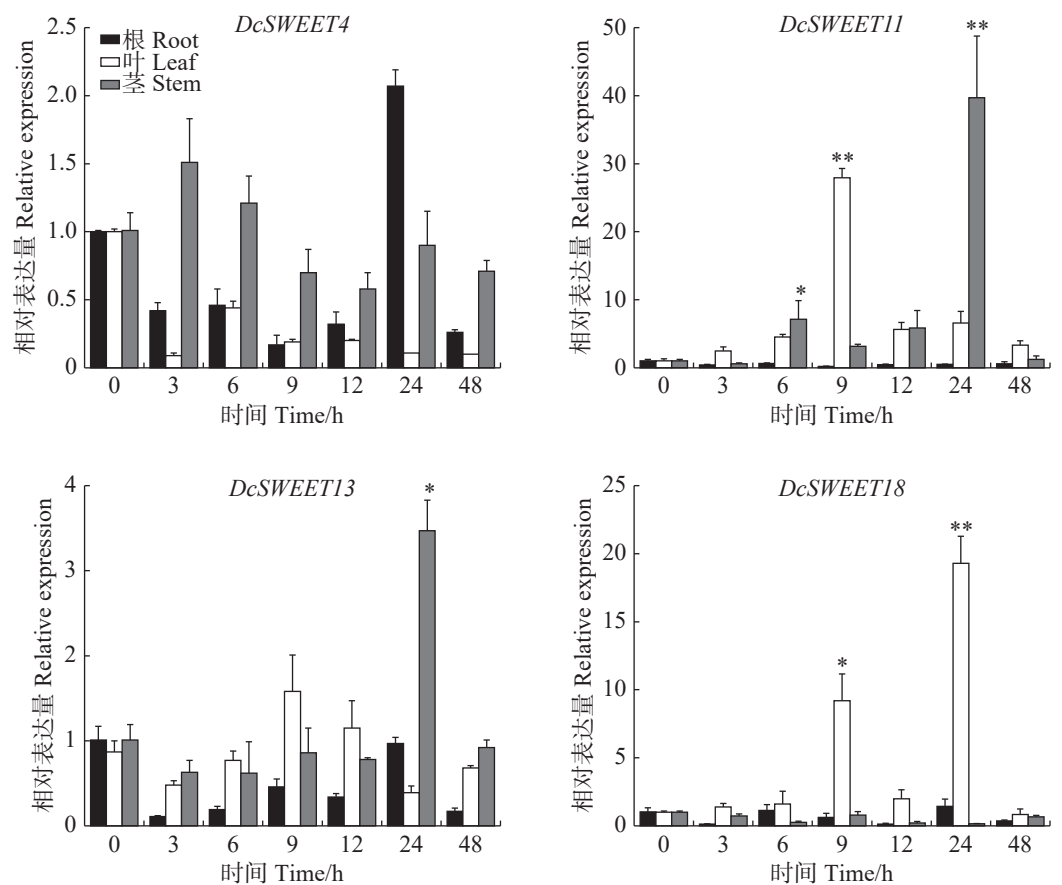


图 6 干旱胁迫下核心 *DcSWEET* 基因的 RT-PCR 分析
Fig. 6 RT-PCR analysis of the hub *DcSWEET* genes under drought stress
注(Note): *, $P<0.05$; **, $P<0.01$ 。

3 讨 论

SWEET 蛋白是存在于细菌、真菌、植物和人类中的主要转运蛋白之一,用于促进糖跨细胞膜

运输^[31]。在高等植物中,已报道的 *SWEET* 基因数量从 17~108 个不等,如在黄瓜中鉴定出 17 个 *SWEET* 基因^[32]、小麦 108 个^[33]、高粱 23 个^[34]、番茄 29 个^[35]。本研究鉴定的 27 个 *SWEET* 基因家

族成员,编码蛋白长度在 201~296 个 aa。在其他植物中也发现类似的研究结果,如杨桃中的 SWEET 蛋白的氨基酸数目在 229~300^[36],葡萄中有 201~289^[37],菜豆中有 195~304^[38]。不同植物中的 SWEET 蛋白的氨基酸数目相似,说明不同 SWEET 在进化中具有较高的保守性。根据拟南芥系统发育树的分类方法^[39],27 个 DcSWEETs 被划分为 4 个亚群。在大多数植物中,SWEET 基因家族中以 Clade II 和 Clade III 为主^[40]。本研究发现铁皮石斛 SWEET 蛋白中 Clade II 成员数占比 48%,Clade III 中的成员数占比 22%,表明铁皮石斛中 Clade II 和 Clade III 也是主要类群。

基因结构分析显示,52% 的 *DcSWEET* 成员含有 5 个内含子,22% 的成员含有 4 个内含子,26% 的成员含有 3 个内含子。可以推测,*SWEET* 基因的祖先是 6 个外显子和 5 个内含子组成的基因基本模型。*DcSWEET* 中有近一半成员中内含子数少于 5 个,可能是其在进化时发生了内含子的丢失或外显子的融合^[41]。MtN3_slv 亚家族参与葡萄糖转运,而 PQ-loop 亚家族参与氨基酸转运^[42]。保守结构域分析表明,Clade III 家族成员包含两个 MtN3_slv 超家族结构域,Clade II 家族 7 个成员包含两个 MtN3_slv 超家族结构域,6 个成员包含 1 个 MtN3_slv 超家族结构域和 1 个 PQ-loop 超家族结构域。从系统发育、启动子数量和基因结构分析可以看出,铁皮石斛 SWEET 蛋白家族在进化上是相对保守的。顺式调控元件是位于基因转录起始区的一类 DNA 序列,相应的转录因子识别顺式作用元件来调节目标基因的 mRNA 丰度,在非生物胁迫响应中起着至关重要的作用^[43]。本研究中,在 21 个 *DcSWEET* 基因启动子中发现茉莉酸甲酯顺式作用元件,部分 *DcSWEET* 基因启动子中发现与赤霉素、水杨酸、脱落酸和生长素信号相关的顺式作用元件,在 10、11 和 5 个 *DcSWEET* 基因启动子中分别发现了低温响应元件、干旱诱导元件、防御和胁迫响应元件等非生物胁迫响应元件。这些数据表明,*DcSWEET* 可能通过多种机制参与环境胁迫。

糖不仅充当满足组织代谢需求的能量和信号分子,而且还充当渗透剂,以应对干旱胁迫。在小麦中,*SWEET* 基因在干旱和盐胁迫下的上调率高于热胁迫和热联合干旱胁迫^[44]。在脱水和干旱胁迫

下,*OsSWEET15* 的表达诱导最为显著,其次是 *OsSWEET13*,*OsSWEET12* 还显示出干旱胁迫的中等诱导作用^[45]。研究发现,大豆叶片中的 *GmSUC2* 转录水平在干旱胁迫第 15 天显著增加(平均 2.18 倍),并上调了种子中 *GmSUC2*、*GmSWEET12* 和 *GmSWEET21* 的转录水平^[46]。根据茶树干旱胁迫的 RNA-seq,7 个基因在 PEG 胁迫下上调^[47]。本研究发现,11 个含有干旱诱导元件的 *DcSWEET* 基因中,*DcSWEET1*、*DcSWEET4*、*DcSWEET5*、*DcSWEET9*、*DcSWEET11*、*DcSWEET13*、*DcSWEET14*、*DcSWEET15*、*DcSWEET18* 在基质含水量 0% 时被诱导,*DcSWEET2*、*DcSWEET12*、*DcSWEET17*、*DcSWEET26* 在基质含水量 10%~15% 时被诱导,*DcSWEET7*、*DcSWEET16*、*DcSWEET21* 在基质含水量 30%~35% 时被诱导表达,说明这些基因在不同程度的干旱胁迫下受到胁迫表达,可能参与干旱胁迫的响应。通过共表达网络分析筛选出 5 个核心基因。RT-qPCR 分析进一步表明,*DcSWEET11* 在 PEG 处理 9 h 的叶中上调 28 倍,在处理 24 h 的茎中表达上调 40 倍。*DcSWEET13* 在茎和叶中也有不同程度的上调。*DcSWEET18* 在叶中被高度诱导表达,分别在处理 9 h 和 24 h 时上调 9 倍和 19 倍。*DcSWEET4* 在处理 24 h 的根中上调 2 倍。结果显示 *DcSWEET* 基因在不同组织中应对干旱胁迫的模式不同,可能参与铁皮石斛不同组织部位应对干旱胁迫,但其功能验证仍需进一步开展。

4 结 论

本研究中,共鉴定了 27 个 *DcSWEET* 基因,同一亚组中的基因结构和保守基序具有相似性。在 *DcSWEETs* 启动子的上游序列中发现了 4 种类别的顺式作用元件。利用公开的铁皮石斛干旱胁迫下的 RNA-seq 数据,根据表达模式将 *DcSWEET* 基因划分为 3 个簇,结合 RT-qPCR 实验,发现 *DcSWEET11*、*DcSWEET13*、*DcSWEET18* 基因可作为铁皮石斛耐旱性潜在候选基因。本研究为进一步阐明 *DcSWEETs* 基因在干旱胁迫中的作用奠定了基础。

参考文献:

- [1] Lastdrager J, Hanson J, Smeeckens S. Sugar signals and

- the control of plant growth and development[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2014, 65(3): 799–807. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert474>
- [2] Rolland F, Baena-gonzalez E, Sheen J. Sugar sensing and signaling in plants: conserved and novel mechanisms[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2006, 57: 675–709. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.57.032905.105441>
 - [3] Gibson S I. Control of plant development and gene expression by sugar signaling[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2005, 8(1): 93–102. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2004.11.003>
 - [4] Lukaszuk E, Rys M, Możdżeń K, et al. Photosynthesis and sucrose metabolism in leaves of *Arabidopsis thaliana* *aos*, *ein4* and *rcd1* mutants as affected by wounding[J]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2017, 39(1): 17. <https://doi.org/10.1007/s11738-016-2309-1>
 - [5] Huang H, Jiao Y X, Tong Y, et al. Comparative analysis of drought-responsive biochemical and transcriptomic mechanisms in two *Dendrobium officinale* genotypes[J]. *Industrial Crops and Products*, 2023, 199: 116766. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2023.116766>
 - [6] Khan M I R, Palakolanu S R, Chopra P, et al. Improving drought tolerance in rice: ensuring food security through multi-dimensional approaches[J]. *Physiologia Plantarum*, 2021, 172(2): 645–668. <https://doi.org/10.1111/ppl.13223>
 - [7] Eom J S, Chen L Q, Sosso D, et al. SWEETs, transporters for intracellular and intercellular sugar translocation[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2015, 25: 53–62. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2015.04.005>
 - [8] Xuan Y H, Hu Y B, Chen L Q, et al. Functional role of oligomerization for bacterial and plant SWEET sugar transporter family[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2013, 110(39): E3685–E3694. <https://doi.org/10.1073/pnas.1311244110>
 - [9] Frank Baker R, Leach K A, Braun D M. SWEET as sugar: new sucrose effluxers in plants[J]. *Molecular Plant*, 2012, 5(4): 766–768. <https://doi.org/10.1093/mp/SSS054>
 - [10] Lee Y, Nishizawa T, Yamashita K, et al. Structural basis for the facilitative diffusion mechanism by Semi-SWEET transporter[J]. *Nature Communications*, 2015, 6(1): 6112. <https://doi.org/10.1038/ncomms7112>
 - [11] Schneider A, Godin C, Boudon F, et al. Light regulation of axillary bud outgrowth along plant axes: an overview of the roles of sugars and hormones[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2019, 10: 1296. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01296>
 - [12] Anjali A, Fatima U, Manu M S, et al. Structure and regulation of SWEET transporters in plants: an update[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2020, 156: 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.08.043>
 - [13] Ji J L, Yang L M, Fang Z Y, et al. Plant SWEET family of sugar transporters: structure, evolution and biological functions[J]. *Biomolecules*, 2022, 12(2): 205. <https://doi.org/10.3390/biom12020205>
 - [14] Ninan A S, Grant J, Song J C, et al. Expression of genes related to sugar and amino acid transport and cytokinin metabolism during leaf development and senescence in *Pisum sativum* L.[J]. *Plants*, 2019, 8(3): 76. <https://doi.org/10.3390/plants8030076>
 - [15] Klemens P A W, Patzke K, Deitmer J, et al. Overexpression of the vacuolar sugar carrier *AtSWEET16* modifies germination, growth, and stress tolerance in *Arabidopsis*[J]. *Plant Physiology*, 2013, 163(3): 1338–1352. <https://doi.org/10.1104/pp.113.224972>
 - [16] Iqbal J, Zhang W H, Fan Y D, et al. Genome-wide bioinformatics analysis of *SWEET* gene family and expression verification of candidate *PaSWEET* genes in *Potentilla anserina*[J]. *Plants*, 2024, 13(3): 406. <https://doi.org/10.3390/plants13030406>
 - [17] Tian R R, Xu J Y, Xu Z C, et al. Genome-wide identification and expression analysis of *SWEET* gene family in strawberry[J]. *Horticulturae*, 2024, 10(2): 191. <https://doi.org/10.3390/horticulturae10020191>
 - [18] Yue W H, Cai K F, Xia X, et al. Genome-wide identification, expression pattern and genetic variation analysis of *SWEET* gene family in barley reveal the artificial selection of *HvSWEET1a* during domestication and improvement[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2023, 14: 1137434. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1137434>
 - [19] Han X W, Han S, Zhu Y X, et al. Genome-wide identification and expression analysis of the *SWEET* gene family in *Capsicum annuum* L.[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(24): 17408. <https://doi.org/10.3390/ijms242417408>
 - [20] Cao L H, Wang J Y, Wang L X, et al. Genome-wide analysis of the *SWEET* gene family in *Hemerocallis citrina* and functional characterization of HcSWEET4a in response to salt stress[J]. *BMC Plant Biology*, 2024, 24(1): 661. <https://doi.org/10.1186/s12870-024-05376-y>
 - [21] Wu Y D, Di T M, Wu Z J, et al. CsLHY positively regulates cold tolerance by activating *CsSWEET17* in tea plants[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2024, 207: 108341. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2024.108341>
 - [22] Wang L, Yao L N, Hao X Y, et al. Tea plant *SWEET* transporters: expression profiling, sugar transport, and the involvement of *CsSWEET16* in modifying cold tolerance in *Arabidopsis*[J]. *Plant Molecular Biology*, 2018, 96(6): 577–592. <https://doi.org/10.1007/s11103-018-0716-y>
 - [23] Valifard M, Le Hir R, Müller J, et al. Vacuolar fructose transporter *SWEET17* is critical for root development and drought tolerance[J]. *Plant Physiology*, 2021, 187(4): 2716–2730. <https://doi.org/10.1093/plphys/kiab436>

- [24] Xu X Y, Zhang C, Wang N, et al. Bioactivities and mechanism of actions of *Dendrobium officinale*: a comprehensive review[J]. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2022, 2022(1): 6293355. <https://doi.org/10.1155/2022/6293355>
- [25] Li Y X, Zhang T T, Xing W T, et al. Comprehensive genomic characterization of the NAC transcription factors and their response to drought stress in *Dendrobium catenatum*[J]. *Agronomy*, 2022, 12(11): 2753. <https://doi.org/10.3390/agronomy12112753>
- [26] Zhang G Q, Xu Q, Bian C, et al. The *Dendrobium catenatum* Lindl. genome sequence provides insights into polysaccharide synthase, floral development and adaptive evolution[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6(1): 19029. <https://doi.org/10.1038/srep19029>
- [27] Hao L, Shi X, Qin S W, et al. Genome-wide identification, characterization and transcriptional profile of the SWEET gene family in *Dendrobium officinale*[J]. *BMC Genomics*, 2023, 24(1): 378. <https://doi.org/10.1186/s12864-023-09419-w>
- [28] Chen C J, Wu Y, Li J W, et al. TBtools- II : a “one for all, all for one” bioinformatics platform for biological big-data mining[J]. *Molecular Plant*, 2023, 16(11): 1733–1742. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2023.09.010>
- [29] Shannon P, Markiel A, Ozier O, et al. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks[J]. *Genome Research*, 2003, 13(11): 2498–2504. <https://doi.org/10.1101/gr.1239303>
- [30] Zhang T T, Cui Z, Li Y X, et al. Genome-wide identification and expression analysis of MYB transcription factor superfamily in *Dendrobium catenatum*[J]. *Frontiers in Genetics*, 2021, 12: 714696. <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.714696>
- [31] Jeena G S, Kumar S, Shukla R K. Structure, evolution and diverse physiological roles of SWEET sugar transporters in plants[J]. *Plant Molecular Biology*, 2019, 100(4/5): 351–365. <https://doi.org/10.1007/s11103-019-00872-4>
- [32] Hu L P, Zhang F, Song S H. Genome-wide identification, characterization, and expression analysis of the SWEET gene family in cucumber[J]. *Journal of Integrative Agriculture*, 2017, 16(7): 1486–1501.
- [33] Gautam T, Saripalli G, Gahlaut V, et al. Further studies on sugar transporter (SWEET) genes in wheat (*Triticum aestivum* L.)[J]. *Molecular Biology Reports*, 2019, 46(2): 2327–2353. <https://doi.org/10.1007/s11033-019-04691-0>
- [34] Mizuno H, Kasuga S, Kawahigashi H. The sorghum SWEET gene family: stem sucrose accumulation as revealed through transcriptome profiling[J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2016, 9(1): 127. <https://doi.org/10.1186/s13068-016-0546-6>
- [35] Feng C Y, Han J X, Han X X, et al. Genome-wide identification, phylogeny, and expression analysis of the SWEET gene family in tomato[J]. *Gene*, 2015, 573(2): 261–272. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2015.07.055>
- [36] Lin Q H, Zhong Q Z, Zhang Z H. Identification and functional analysis of SWEET gene family in *Averrhoa carambola* L. fruits during ripening[J]. *PeerJ*, 2021, 9: e11404. <https://doi.org/10.7717/peerj.11404>
- [37] Zhong L J, Xu S Y, Song C C, et al. Genome-wide identification, characterization, and expression profile of SWEETs gene family in grapevine (*Vitis vinifera* L.)[J]. *Horticulturae*, 2024, 10(5): 428. <https://doi.org/10.3390/horticulturae10050428>
- [38] Du Y L, Li W J, Geng J, et al. Genome-wide identification of the SWEET gene family in *Phaseolus vulgaris* L. and their patterns of expression under abiotic stress [J]. *Journal of Plant Interactions*, 2022, 17(1): 390–403. <https://doi.org/10.1080/17429145.2022.2044079>
- [39] Chen L Q, Hou B H, Lalonde S, et al. Sugar transporters for intercellular exchange and nutrition of pathogens[J]. *Nature*, 2010, 468(7323): 527–532. <https://doi.org/10.1038/nature09606>
- [40] Sui J L, Xiao X H, Qi J Y, et al. The SWEET gene family in *Hevea brasiliensis*—its evolution and expression compared with four other plant species[J]. *FEBS Open Bio*, 2017, 7(12): 1943–1959. <https://doi.org/10.1002/2211-5463.12332>
- [41] Hu W C, Hua X T, Zhang Q, et al. New insights into the evolution and functional divergence of the SWEET family in *Saccharum* based on comparative genomics[J]. *BMC Plant Biology*, 2018, 18(1): 270. <https://doi.org/10.1186/s12870-018-1495-y>
- [42] Liu B, Du H W, Rutkowski R, et al. LAAT-1 is the lysosomal lysine/arginine transporter that maintains amino acid homeostasis[J]. *Science*, 2012, 337(6092): 351–354. <https://doi.org/10.1126/science.1220281>
- [43] Liu J H, Peng T, Dai W S. Critical cis-acting elements and interacting transcription factors: key players associated with abiotic stress responses in plants[J]. *Plant Molecular Biology Reporter*, 2014, 32(2): 303–317. <https://doi.org/10.1007/s11105-013-0667-z>
- [44] Qin J X, Jiang Y J, Lu Y Z, et al. Genome-wide identification and transcriptome profiling reveal great expansion of SWEET gene family and their wide-spread responses to abiotic stress in wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. *Journal of Integrative Agriculture*, 2020, 19(7): 1704–1720. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(19\)62761-9](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(19)62761-9)
- [45] Mathan J, Singh A, Ranjan A. Sucrose transport in response to drought and salt stress involves ABA-mediated induction of *OsSWEET13* and *OsSWEET15* in rice[J]. *Physiologia Plantarum*, 2021, 171(4): 620–637. <https://doi.org/10.1111/ppl.13210>
- [46] Du Y L, Zhao Q, Chen L R, et al. Effect of drought stress during soybean R2-R6 growth stages on sucrose

metabolism in leaf and seed[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(2): 618. <https://doi.org/10.3390/ijms21020618>

[47] Jiang L, Song C, Zhu X, et al. SWEET transporters and

the potential functions of these sequences in tea (*Camellia sinensis*)[J]. *Frontiers in Genetics*, 2021, 12: 655843. <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.655843>

Identification and expression pattern analysis of SWEET gene family from *Dendrobium catenatum*

Liu Wen^{1#}, Li Yuxin¹, Zhang Tingting^{1,2}, Dai Jun^{3,4}, Zhou Yang^{1*}

(1. Key Laboratory for Quality Regulation of Tropical Horticultural Crops of Hainan Province/School of Tropical Agriculture and Forestry (School of Agricultural and Rural Affairs, School of Rural Revitalization), Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China; 2. Xiangyang Academy of Agricultural Sciences, Xiangyang, Hubei 441057, China; 3. Hainan Sheng Rong Biotechnology Co., Ltd., Haikou, Hainan 571157, China; 4. College of Biological and Pharmaceutical Engineering, West Anhui University, Lu'an, Anhui 237012, China)

Abstract: The sugar transporter SWEET (Sugars Will Eventually be Exported Transporter) plays a crucial role in plant responses to both biotic and abiotic stresses. To elucidate the function of the SWEET gene family in *Dendrobium catenatum*, 27 *DcSWEET* genes were identified and characterized from *D. catenatum* by using whole-genome data, and their expression patterns under drought stress were analyzed. The molecular weight of the *DcSWEET* proteins were found to range from 22.44 to 39.10 kDa, with their isoelectric points being between 8.47 and 9.63. Phylogenetic analysis revealed that the *DcSWEET* proteins could be classified into four subgroups, each characterized by conserved motif compositions and gene structures. *Cis*-acting element analysis indicated that the promoters of *DcSWEET* genes contain various elements associated with hormone signaling, plant growth and development, light responsiveness, and stress response. RNA-seq analysis demonstrated that 17 *DcSWEET* genes were up-regulated under drought stress. Coexpression network analysis suggested that *DcSWEET4*, *DcSWEET11*, *DcSWEET13*, *DcSWEET18*, and *DcSWEET27* may play pivotal roles in response to drought stress in *D. catenatum*. RT-qPCR confirmed that *DcSWEET11*, *DcSWEET13*, and *DcSWEET18* were significantly up-regulated in stems and leaves under drought conditions, making them potential candidate genes for enhancing drought tolerance in *D. catenatum*. This study provides a comprehensive analysis of key SWEET genes involved in drought stress responses in *D. catenatum*, offering a molecular foundation for future efforts to improve its drought resistance.

Keywords: *Dendrobium catenatum*; SWEET gene family; drought stress; expression pattern

(责任编辑: 钟云芳)