

doi:10.11733/j.issn.1007-0435.2026.07.004

引用格式:奚舒燕,张瑞琦,王贤志,等.狗牙根AKR基因家族鉴定及盐胁迫下的表达分析[J].草地学报,2026,34(7):2377—2392

XI Shu-yan, ZHANG Rui-qi, WANG Xian-zhi, et al. Identification of the AKR Gene Family in Bermudagrass and Expression Analysis under Salt Stress[J]. Acta Agrestia Sinica, 2026, 34(7):2377—2392

狗牙根AKR基因家族鉴定及盐胁迫下的表达分析

奚舒燕¹, 张瑞琦¹, 王贤志¹, 胡哲玮^{1,2}, 郭海林¹, 陈荣荣^{1*}, 陈静波^{1*}

(1. 江苏省中国科学院植物研究所(南京中山植物园)/江苏省植物资源研究与利用重点实验室, 江苏 南京 210014;

2. 河南科技大学园艺与植物保护学院, 河南 洛阳 471000)

摘要:醛酮还原酶(Aldo-keto reductase, AKR)广泛存在于不同生物中,在生长发育、胁迫响应等过程中发挥着关键作用。狗牙根(*Cynodon dactylon* (L.) Pers.)生长快,综合抗逆性强,在园林绿化、运动场草坪、生态修复和牧草生产中得到广泛应用。本研究从狗牙根基因组中鉴定到了88个AKR基因家族成员,可分为7个亚家族,其不均匀地分布在狗牙根30条染色体上。狗牙根AKR基因家族成员启动子区域均存在数量不等的光响应、激素和逆境响应等顺式作用元件,表明其可能参与多种生长发育及逆境响应过程。不同AKR基因家族成员在不同盐处理时间及不同器官下的表达模式具有差异,根中基因的整体表达响应强度普遍高于叶片,上调表达的基因数量较多,而叶片中多数基因表达下调,其中*CdAKR15*, *CdAKR30*, *CdAKR43*, *CdAKR48*, *CdAKR72*和*CdAKR80*基因在不同盐胁迫时间下的表达量差异显著。本研究为进一步探究狗牙根AKR基因响应盐胁迫奠定了基础。

关键词:狗牙根;AKR基因家族;盐胁迫;生物信息学分析;表达量分析

中图分类号:S688.4

文献标识码:A

文章编号:1007-0435(2026)07-2377-16

Identification of the AKR Gene Family in Bermudagrass and Expression Analysis under Salt Stress

XI Shu-yan¹, ZHANG Rui-qi¹, WANG Xian-zhi¹, HU Zhe-wei^{1,2}, GUO Hai-lin¹,

CHEN Rong-rong^{1*}, CHEN Jing-bo^{1*}

(1. Jiangsu Key Laboratory for the Research and Utilization of Plant Resources, Institute of Botany, Jiangsu Province and Chinese Academy of Sciences (Nanjing Botanical Garden Mem. Sun Yat-Sen), Nanjing, Jiangsu Province 210014, China; 2. College of Horticulture and Plant Protection, Henan University of Science and Technology, Luoyang, Henan Province 471000, China)

Abstract: Aldo-keto reductase (AKR) is widely present in various organisms and plays key roles in plant growth, development and stress responses. Bermudagrass (*Cynodon dactylon* (L.) Pers.) exhibits rapid growth and strong comprehensive stress tolerance, making it widely utilized in landscaping, turfgrass for sports fields, ecological restoration and forage production. In this study, a total of 88 members of AKR gene family were identified from the bermudagrass genome, which were clustered into 7 subfamilies and unevenly distributed across the 30 chromosomes of bermudagrass. Analysis of *cis*-acting elements in the promoter regions indicated that all the members contain varying numbers of light-responsive, hormone-responsive and stress-responsive elements, suggesting that this gene family may be involved in multiple growth, developmental, and stress response processes. Different AKR gene members exhibited distinct expression patterns under different salt treatment durations and in different organs. The overall expression response intensity of genes in roots was generally higher than that in leaves, with a greater number of genes being upregulated, whereas most genes in leaves were downregulated. Among them, *CdAKR15*, *CdAKR30*, *CdAKR43*, *CdAKR48*, *CdAKR72*, and

收稿日期:2025-12-31;修回日期:2026-02-10

基金项目:江苏省社会发展项目(BE2023849);国家自然科学基金面上项目(32271758)资助

作者简介:奚舒燕(2001-),女,汉族,江苏盐城人,硕士研究生,主要从事草类植物耐盐胁迫方面研究,E-mail:18352025320@163.com;

*通信作者 Author for correspondence, E-mail:670702crr@163.com;chenjb19@163.com

CdAKR80 showed significant differences in expression levels under different salt stress durations. This study lays a foundation for further investigation of the response of bermudagrass *AKR* genes to salt stress.

Key words: *Cynodon dactylon*; Aldo-keto reductase genes; Bioinformatics analysis; Salt stress; Expression analysis

根据联合国教科文组织和粮农组织的不完全统计,全世界盐碱地的面积约为954.38万 km^2 ,其中我国占9.913万 km^2 ,目前仍有80%的盐碱地尚未得到有效开发利用^[1-2]。土地盐碱化严重抑制植物生长,并对环境、经济和社会的可持续发展带来诸多负面影响。在此背景下,提高盐碱地的植被覆盖率,已成为生态恢复及增加固碳量的重要途径之一。

狗牙根($2n=4x=36$,四倍体)(*Cynodon dactylon* (L.) Pers.)作为一种分布广泛的多年生禾本科植物,具有耐旱性、耐践踏与耐盐性等特性,能在高盐度的土壤中保持良好长势,因此在盐碱地的综合治理中受到广泛关注^[3]。研究表明,狗牙根在应对盐胁迫时,通过多种生理与分子途径增强耐盐性,主要包括离子调控、渗透调节物质的积累、抗氧化系统的激活、植物激素信号的调控以及根际微生物的协同作用等^[4-7]。在抗氧化防御方面,狗牙根通常依赖酶促与非酶促两类系统协同作用:酶促防御系统包括超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(Catalase, CAT)和抗坏血酸过氧化物酶(Ascorbate peroxidase, APX)等关键抗氧化酶;非酶促系统则主要依赖抗坏血酸、谷胱甘肽、脯氨酸、类黄酮和酚类等具有抗氧化功能的小分子物质^[6,8-9]。两类系统共同维持活性氧代谢平衡,缓解氧胁迫引起的损伤。研究狗牙根耐盐机制,有利于促进耐盐育种的开展。

醛酮还原酶(Aldo-keto reductase, AKR)作为氧化还原酶家族的重要成员,广泛存在于动植物及微生物中^[10]。AKR能够催化有毒或过量的醛酮类物质还原为相应的毒性更低的伯醇或仲醇物质,凭借其广泛代谢多种羰基化合物的能力,在生物体内发挥至关重要的作用,包括活性羰基化合物的清除(如丙二醛、甲基乙二醛等)、代谢通路的调控、氧化应激的响应以及渗透平衡的调节等多个重要生理过程^[11-14]。

目前有关AKR基因的研究多集中于动物与人。在动物及人类医学研究中,AKRs的功能多聚焦于其在癌细胞增殖与迁移等病理过程中的作用^[15-16]。AKR基因在植物中的研究仍相对有限,但

一些研究表明其在植物抗逆过程中发挥着重要作用^[13]。在植物中,AKR基因家族的研究最早可追溯至大麦(*Hordeum vulgare*),研究发现其在胚胎发育过程中受脱落酸诱导表达,并通过催化合成山梨醇等渗透调节物质,显著增强植株在干旱胁迫下的渗透保护能力,进而增强其耐旱性^[17]。随后,在水稻(*Oryza sativa*)、拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)、绿豆(*Vigna radiata*)等研究中也发现AKRs能显著降低胁迫条件下活性羰基化合物和活性氧的积累,减轻氧化损伤,提高植株对胁迫的整体耐受^[18-20]。此外,在苜蓿(*Medicago sativa*)中鉴定的AKR基因,其表达受干旱胁迫显著诱导,在转基因烟草中异源表达该基因能显著缓解由百草枯和重金属引发的氧化损伤^[21];在盐生草(*Halogeton glomeratus*)中鉴定到23个AKRs基因,其中H_gAKR42639基因可以显著提高盐生草根系盐胁迫耐受性,并增强转基因拟南芥的耐盐能力^[22]。

狗牙根基因组中AKR基因的特征及与耐盐的关系仍然未知。因此,本研究拟在全基因组范围内鉴定国审耐盐优质品种‘阳江’狗牙根AKR基因家族,明确其系统进化、保守基序、染色体分布及启动子元件等特征,在此基础上,进行不同器官在不同盐处理时间下的转录组分析,进一步探究该家族成员在盐胁迫下的表达动态,并对显著差异表达的基因进行qRT-PCR验证,筛选可能参与盐胁迫响应的关键AKR基因。上述研究,旨在初步揭示狗牙根AKR基因家族的特征以及其在狗牙根耐盐性形成中的潜在功能,为其耐盐分子育种提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料种植与处理

以自主选育的国审耐盐优质品种‘阳江’狗牙根为试验材料^[23],剪取其匍匐茎插入泡沫板的小孔中,置于营养液中进行水培以诱导生根。培养约4周后,从水培植株上获取生长一致的新生的匍匐茎,再次插入泡沫板孔中继续水培。待继续培养约2周后,进行盐胁迫处理。在200 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl处

理条件下,分别于0(对照)、2和24 h三个时间点取根系和叶片,每个处理设置3个生物学重复。取样后立即用液氮速冻,并保存于-80℃超低温冰箱中备用,用于下一步的转录组测序和qRT-PCR分析。

1.2 AKR 基因家族鉴定

狗牙根基因组数据来源于 Zhang 等^[24]。通过 Pfam 数据库(<http://pfam.xfam.org/>)中该基因家族的 HMM 模型(Pfam ID: PF00248),对狗牙根基因组最长蛋白序列进行搜索,识别包含目标结构域的候选基因^[25]。同时使用 BLASTP 程序(<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>),将拟南芥中已知的该基因家族蛋白序列与狗牙根最长蛋白序列进行比对,识别同源基因。将 HMMER 和 BLAST 结果合并,去除冗余后得到初步候选基因集^[26]。然后,通过 hmmscan 程序(HMMER 3.4 版)对初步候选基因进行保守结构域验证,从而最终确定基因家族成员。随后,利用 pepstats 工具(<http://emboss.sourceforge.net>)统计各成员的氨基酸数目、分子量与等电点等基本特征信息。

1.3 AKR 基因家族结构分析

基于基因组注释 GFF 文件,提取基因家族成员的外显子-内含子结构信息。使用 R 语言 gggenes (<https://wilcox.org/gggenes/>)绘制结构图,直观比较不同成员的结构特征,并绘制保守结构域图,展示每个成员包含的结构域。

1.4 AKR 基因家族系统进化分析

构建狗牙根、拟南芥和水稻三个物种该基因家族成员的系统进化树。使用 Muscle (<https://www.drive5.com/muscle/>)进行多序列比对,Trimal (<http://trimal.cgenomics.org>)修剪比对结果以去除低质量区域。使用 RAxML 软件(<https://cme.hits.or-g/exelixis/web/software/raxml/>),构建系统发育树,比对结果通过 iqtree (v2.3.6) (<http://www.iqtree.org/>)基于最大似然法、VT+R5 模型,使用参数“-m MF -bb 1000 -alrt 1000 -nt AUTO”完成系统进化树的构建,并通过 ggtree (v4.1.1) (<https://guangchuangyu.github.io/software/ggtree/>)实现可视化。

1.5 AKR 基因家族共线性分析

对基因家族成员使用 BLASTP 进行自身比对,

设置 E 值 $1e^{-10}$,使用 circos 软件(0.69~9)绘制物种内共线性圈图。使用 TBtools (v2.311) (<https://github.com/CJ-Chen/TBtools>)中 MCScanX 实现拟南芥-狗牙根、狗牙根-水稻两组之间的共线性分析,并通过 TBtools 中“Text Merge for MCScanX”合并两组共线性结果,使用“Multiple synteny plot”模式可视化三个物种间的共线性。

1.6 AKR 基因家族顺式作用元件分析

提取基因家族成员转录起始位点上游 2000 bp 序列作为启动子区域,使用 Plant CARE (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>)数据库预测顺式作用元件,过滤掉没有命名和没有功能注释的顺式作用元件,使用 R 语言对各类顺式作用元件的出现数量。

1.7 转录组测序与富集分析

对所取样品进行 RNA 提取、反转录 cDNA 以及文库构建和测序。测序片段被高通量测序仪测得的图像数据经 CASAVA 碱基识别转化为序列数据 (reads),文件为 fastq 格式。为了保证数据分析的质量及可靠性,需要对原始数据进行过滤。主要包括去除带接头(adapter)的 reads、去除含 N(N 表示无法确定碱基信息)的 reads、去除低质量 reads (Qphred ≤ 20 的碱基数占整个 read 长度的 50% 以上的 reads)。同时,直接从基因组网站下载参考基因组和基因模型注释文件。使用 HISAT2 v2.0.5 (<https://daehwankimlab.github.io/hisat2/>)构建参考基因组的索引,并使用 HISAT2 v2.0.5 将配对末端 clean reads 与参考基因组比对。

使用 DESeq2 软件进行两个比较组合之间的差异表达分析,并使用 Benjamin 和 Hochberg 的方法来调整所得 P 值以控制错误发现率,调整后 $P < 0.05$ 的基因被鉴定为差异表达的^[27]。基于 $\log_2$ FoldChange = $\log_2$ (同一器官处理组表达量/同一器官对照组表达量)来绘制相应的表达量热图,作图使用优达星穹分析平台 (<https://mc.solargenomics.com/home/index.html>)。对显著差异表达的基因使用 KOBAS 进行 KEGG 通路富集分析,基于狗牙根基因组 (<https://figshare.com/s/4afb40bda6b43e6e37a4>)使用 eggNOG-mapper (v2.0.1) 完成功能注释,以 KEGG 数据库中所注释的 Pathway 为单位,应用超几何检验,通过 clusterProfiler (v4.12.6)对目标基因

与整个基因组背景相比,设置参数“-q 0.05 -p 0.05”,得到目标基因显著富集的 Pathway,最终通过富集结果中的 Rich factor、p-adjust 值绘制 KEGG 富集程度的散点图^[28-29]。

1.8 qRT-PCR

使用 RNApure Fast Plant Kit(康为, CW05985)试剂盒提取 RNA,方法参考试剂盒内附方法步骤,并使用 HiScript III 1st Strand cDNA Synthesis Kit (+gDNA wiper)(诺唯赞, R212)进行反转录,方法参考试剂盒内附方法步骤。

使用 Primer5 设计 qRT-PCR 引物, *CdActin* 为内参基因(表 1)。反应程序根据 ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix(诺唯赞, Q711)进行 qRT-PCR 检测。反应总体积 20 μL , 具体为: 2 $\times$ ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix 10 μL 、正反向引物($10\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)各 0.4 μL 、cDNA 模板($100\text{ ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$) 1 μL 、RNase-free dd H_2O 8.2 μL ; 反应程序采用两步法: 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 3 min, 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 10 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s, 40 个循环; 基因的相对表达量使用 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 公式计算, 设置 3 次生物学重复, 每个生物学重复设置 3 个技术重复^[30]。

表 1 实时荧光定量引物

Table 1 Primers used in qRT-PCR

引物名称 Name of primer	引物序列(5'-3') Sequence of primer (5'-3')	引物序列(3'-5') Sequence of primer (3'-5')
<i>CdActin</i>	GCTCAACCCCAAGGCTAAC	GTAGATGCTCCCTATGCGAGA
<i>CdAKR15</i>	CTACTGGGCAAATGGAAC	TCTGTGCCGACGAGTTAT
<i>CdAKR30</i>	GGGGCAGCGACTCTGTGAT	GACCTGTAGCACCTGACCC
<i>CdAKR43</i>	GGGGTGGCTGGAGCTTAT	CGTAGTTTCCTTCCCGTCCT
<i>CdAKR48</i>	TCATCCACTCTGCCATTCTG	CTTCTTCAACGCTGACCTA
<i>CdAKR72</i>	CATACACTCCCGAGTTTCTCA	GACTTGACCGACTGGACG
<i>CdAKR80</i>	TCGACACCGCCGCCATAT	AGGAAGGGGAGGCACTCTGG

1.9 数据统计分析

本研究所有数据均使用 Microsoft Excel 2021 进行整理与预处理。统计分析在 SPSS Statistics 27.0 软件中完成, 组间比较采用一般线性模型中的单变量分析, 差异水平为 $P<0.05$, 组内比较采用单样本 T 检验。所有图表均使用 GraphPad Prism 10.0 绘制。数据结果以均值 $\pm$ 标准差表示。

2 结果与分析

2.1 狗牙根 AKR 基因家族的鉴定和理化性质

通过拟南芥 AKRs 家族比对以及 Pfam 等对结构域进行筛查, 最终得到 88 个狗牙根 AKR 基因。根据染色体位置分布, 将其依次命名为 *CdAKR1*~*88*(图 1, 表 2)。

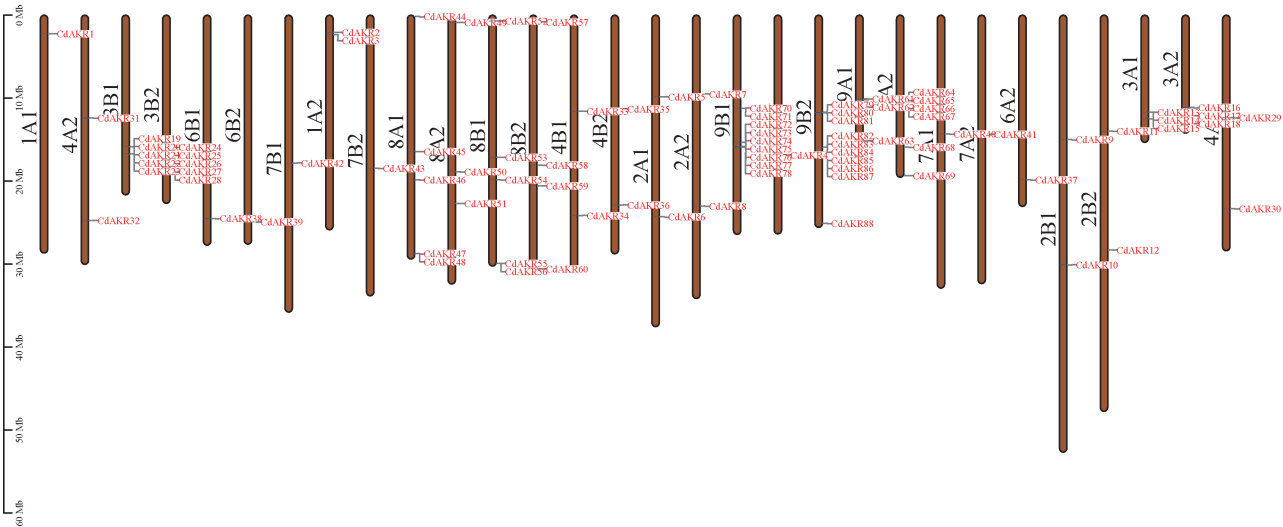


图 1 狗牙根 AKR 基因家族的染色体分布

Fig. 1 Chromosomal localization of AKR gene family in bermudagrass

分析 88 个狗牙根 AKR 基因家族成员的理化性质(表 2), 编码的氨基酸数为 184~784, 其中

CdAKR72 编码的氨基酸数最少(184 个), *CdAKR7* 编码的氨基酸数最多(784 个); 蛋白质分子量为

19.67~87.06 kDa;等电点为 4.77~9.56,其中 53 个是酸性蛋白,其余 35 个是碱性蛋白,*CdAKR41* 的等电点最高,*CdAKR80* 的等电点最低;绝大部分家族成员的蛋白亲水性都小于 0,属于亲水性蛋白,但 *CdAKR9*,*CdAKR12*,*CdAKR54* 和 *CdAKR56* 这 4 个的蛋白亲水性大于 0,是疏水蛋白;蛋白质脂族指

数在 76.24 到 102.76 之间,其中 *CdAKR23* 指数最低而 *CdAKR56* 指数最高;不稳定系数为 25.05~61.14;总正电荷残基为 19~98,总负电荷残基为 21~99,其中 53 个成员的总负电荷残基大于总正电荷残基,35 个成员的总正电荷残基大于总负电荷残基,与等电点结果一致。

表 2 狗牙根 AKR 基因家族的变异分析

Table 2 Variation analysis of AKR gene family in bermudagrass

基因登录号 Gene ID	名称 Name	蛋白长度 Protein length/aa	分子量 Molecular weight/kDa	等电点 Protein isoelectric point	蛋白亲水性 Protein hydrophilicity	蛋白质脂族指数 Protein aliphatic index	不稳定系数 Protein instability index	总正电荷 残基 Total positive residues	总负电荷 残基 Total nega- tive residues
Cd1A1G000970.1	<i>CdAKR1</i>	439	48.22	7.80	-0.39	77.43	61.14	47	46
Cd1A2G001240.1	<i>CdAKR2</i>	262	29.48	7.65	-0.28	86.79	39.01	29	28
Cd1A2G001350.4	<i>CdAKR3</i>	262	29.31	6.75	-0.26	89.81	45.70	28	29
Cd1B1G004960.1	<i>CdAKR4</i>	341	38.02	5.82	-0.19	82.08	29.10	37	43
Cd2A1G011330.5	<i>CdAKR5</i>	437	48.74	9.07	-0.27	94.14	41.20	65	55
Cd2A1G022250.1	<i>CdAKR6</i>	316	34.29	5.40	-0.02	97.50	30.81	30	40
Cd2A2G011650.6	<i>CdAKR7</i>	784	87.06	7.09	-0.21	94.64	37.19	98	99
Cd2A2G022750.1	<i>CdAKR8</i>	316	34.29	5.40	-0.02	97.50	30.81	30	40
Cd2B1G016680.6	<i>CdAKR9</i>	387	42.54	6.67	0.02	96.02	41.77	40	42
Cd2B1G027420.1	<i>CdAKR10</i>	676	73.97	6.29	-0.15	87.34	39.05	71	78
Cd2B2G016710.5	<i>CdAKR11</i>	319	35.69	6.43	-0.45	82.19	30.14	41	44
Cd2B2G027330.1	<i>CdAKR12</i>	387	42.48	6.54	0.02	95.27	43.65	39	42
Cd3A1G007920.2	<i>CdAKR13</i>	351	38.53	5.78	-0.12	90.34	30.62	40	47
Cd3A1G007930.1	<i>CdAKR14</i>	319	35.71	6.43	-0.43	83.42	30.14	41	44
Cd3A1G008880.1	<i>CdAKR15</i>	404	45.81	8.50	-0.46	82.52	41.54	52	49
Cd3A2G007630.3	<i>CdAKR16</i>	322	36.23	7.66	-0.30	86.93	44.24	43	42
Cd3A2G007640.6	<i>CdAKR17</i>	404	45.69	8.45	-0.43	82.52	40.68	51	48
Cd3A2G008560.1	<i>CdAKR18</i>	322	36.20	7.66	-0.30	86.93	43.23	43	42
Cd3B1G010140.1	<i>CdAKR19</i>	350	38.44	8.89	-0.26	86.11	52.67	38	33
Cd3B1G010150.1	<i>CdAKR20</i>	352	39.21	5.68	-0.15	93.10	43.10	37	44
Cd3B1G010160.1	<i>CdAKR21</i>	321	35.09	6.26	-0.08	94.77	38.89	34	37
Cd3B1G010170.5	<i>CdAKR22</i>	566	62.01	7.33	-0.10	96.40	37.80	64	64
Cd3B1G011080.1	<i>CdAKR23</i>	189	21.39	5.57	-0.57	76.24	39.01	24	30
Cd3B2G010670.2	<i>CdAKR24</i>	350	38.44	9.02	-0.25	86.11	51.91	39	33
Cd3B2G010680.2	<i>CdAKR25</i>	352	39.20	5.86	-0.13	94.49	43.21	38	43
Cd3B2G010690.1	<i>CdAKR26</i>	300	33.09	6.19	-0.02	99.07	41.45	32	35
Cd3B2G010710.7	<i>CdAKR27</i>	544	59.13	6.38	-0.07	95.83	36.25	56	61
Cd3B2G011680.1	<i>CdAKR28</i>	317	35.55	6.28	-0.43	83.94	31.75	40	44
Cd4A1G012470.1	<i>CdAKR29</i>	446	48.58	9.23	-0.42	80.36	33.98	57	48
Cd4A1G021230.1	<i>CdAKR30</i>	446	48.57	9.37	-0.44	80.13	35.07	58	47
Cd4A2G012050.2	<i>CdAKR31</i>	508	55.44	8.95	-0.19	85.30	42.08	61	52
Cd4A2G021110.1	<i>CdAKR32</i>	508	55.44	8.95	-0.19	85.30	42.08	61	52
Cd4B1G011280.3	<i>CdAKR33</i>	363	40.15	8.72	-0.34	85.95	41.10	41	37
Cd4B1G020980.1	<i>CdAKR34</i>	336	37.26	6.38	-0.22	82.74	31.28	38	41
Cd4B2G011510.1	<i>CdAKR35</i>	372	40.46	9.14	-0.05	92.37	43.66	38	29
Cd4B2G020500.1	<i>CdAKR36</i>	316	35.24	6.13	-0.19	91.99	32.27	35	40
Cd6A2G013950.1	<i>CdAKR37</i>	273	30.02	5.82	-0.19	84.29	45.36	26	34
Cd6B1G015940.1	<i>CdAKR38</i>	364	40.31	8.71	-0.34	85.71	39.38	42	38
Cd6B2G015690.1	<i>CdAKR39</i>	336	37.18	6.22	-0.21	82.74	32.22	37	41
Cd7A1G013060.1	<i>CdAKR40</i>	365	39.70	9.18	-0.09	90.63	37.49	38	29
Cd7A2G012570.1	<i>CdAKR41</i>	369	41.51	9.56	-0.43	85.58	40.06	50	37

续表 2

基因登录号 Gene ID	名称 Name	蛋白长度 Protein length/aa	分子量 Molecular weight/kDa	等电点 Protein isoelectric point	蛋白亲水性 Protein hydrophilicity	蛋白质脂族指数 Protein aliphatic index	不稳定系数 Protein instability index	总正电荷 残基 Total positive residues	总负电荷 残基 Total nega- tive residues
Cd7B1G018290.1	<i>CdAKR42</i>	341	37.55	6.48	-0.20	93.17	30.38	42	44
Cd7B2G018000.1	<i>CdAKR43</i>	395	42.87	9.14	-0.09	91.92	45.58	39	30
Cd8A1G000150.1	<i>CdAKR44</i>	316	35.25	6.46	-0.19	90.44	35.98	35	38
Cd8A1G015120.1	<i>CdAKR45</i>	310	34.35	5.57	-0.20	83.68	42.01	29	41
Cd8A1G018020.1	<i>CdAKR46</i>	367	40.97	9.20	-0.39	84.99	40.44	45	37
Cd8A1G026710.1	<i>CdAKR47</i>	341	37.56	6.48	-0.20	93.46	30.75	42	44
Cd8A1G026720.2	<i>CdAKR48</i>	395	42.92	9.06	-0.09	90.68	47.00	40	32
Cd8A2G001200.1	<i>CdAKR49</i>	349	38.88	6.74	-0.30	86.65	30.42	41	43
Cd8A2G016310.1	<i>CdAKR50</i>	377	42.40	7.09	-0.30	86.90	38.61	44	44
Cd8A2G019280.2	<i>CdAKR51</i>	322	36.23	8.16	-0.32	86.34	43.73	44	42
Cd8B1G001090.1	<i>CdAKR52</i>	405	45.77	8.79	-0.40	82.57	39.75	51	46
Cd8B1G017950.1	<i>CdAKR53</i>	321	36.16	8.16	-0.32	86.60	43.18	44	42
Cd8B1G020040.2	<i>CdAKR54</i>	366	40.76	5.61	0.01	102.21	41.65	41	49
Cd8B1G029220.1	<i>CdAKR55</i>	316	34.29	5.24	-0.03	97.50	35.45	31	41
Cd8B1G029230.2	<i>CdAKR56</i>	366	40.63	5.51	0.04	102.76	42.20	40	49
Cd8B2G001150.1	<i>CdAKR57</i>	316	34.29	5.33	-0.03	97.50	34.06	31	40
Cd8B2G018250.1	<i>CdAKR58</i>	312	34.79	4.97	-0.14	92.21	48.62	32	44
Cd8B2G020320.1	<i>CdAKR59</i>	738	80.87	6.79	-0.21	89.19	48.51	82	84
Cd8B2G029350.1	<i>CdAKR60</i>	513	56.34	8.95	-0.18	88.48	36.64	53	47
Cd9A1G010960.2	<i>CdAKR61</i>	346	38.07	6.77	-0.24	90.78	30.63	40	41
Cd9A1G011010.2	<i>CdAKR62</i>	347	38.01	5.97	-0.23	87.12	37.02	38	43
Cd9A1G014180.1	<i>CdAKR63</i>	348	38.13	5.97	-0.29	83.76	30.31	38	44
Cd9A2G011010.1	<i>CdAKR64</i>	357	38.58	5.63	-0.14	91.82	32.84	35	44
Cd9A2G011020.1	<i>CdAKR65</i>	346	37.79	6.23	-0.22	86.59	38.19	36	40
Cd9A2G011040.6	<i>CdAKR66</i>	345	37.74	6.38	-0.19	89.65	37.05	37	40
Cd9A2G011060.1	<i>CdAKR67</i>	675	73.58	5.72	-0.07	93.47	47.16	69	78
Cd9A2G014070.1	<i>CdAKR68</i>	328	36.39	5.96	-0.16	94.21	44.40	38	41
Cd9A2G015200.1	<i>CdAKR69</i>	283	31.30	8.15	-0.09	91.31	48.73	29	27
Cd9B1G013410.1	<i>CdAKR70</i>	512	56.17	9.05	-0.17	88.65	35.89	53	46
Cd9B1G013420.8	<i>CdAKR71</i>	264	28.82	5.59	-0.09	93.83	25.05	30	36
Cd9B1G017080.3	<i>CdAKR72</i>	184	19.67	6.20	-0.03	92.77	31.20	19	21
Cd9B1G017270.1	<i>CdAKR73</i>	347	38.11	5.91	-0.24	87.12	36.49	38	44
Cd9B1G017280.1	<i>CdAKR74</i>	387	42.26	6.51	-0.25	82.71	38.06	38	41
Cd9B1G017290.1	<i>CdAKR75</i>	195	21.87	5.89	-0.41	87.03	40.65	25	28
Cd9B1G017300.1	<i>CdAKR76</i>	362	40.26	5.96	-0.24	77.60	38.15	40	46
Cd9B1G017310.1	<i>CdAKR77</i>	323	35.96	6.14	-0.14	94.52	45.36	35	38
Cd9B1G017320.1	<i>CdAKR78</i>	357	40.00	8.34	-0.12	95.83	53.19	42	39
Cd9B2G013480.2	<i>CdAKR79</i>	327	35.33	6.27	-0.07	85.35	41.22	35	38
Cd9B2G013520.1	<i>CdAKR80</i>	312	35.02	4.77	-0.16	93.14	48.11	30	46
Cd9B2G013530.1	<i>CdAKR81</i>	323	35.96	6.14	-0.14	94.52	45.36	35	38
Cd9B2G017160.1	<i>CdAKR82</i>	405	44.56	7.66	-0.21	84.57	46.03	43	42
Cd9B2G017410.2	<i>CdAKR83</i>	357	40.01	7.66	-0.15	96.11	52.70	41	40
Cd9B2G017420.1	<i>CdAKR84</i>	327	35.46	6.02	-0.08	87.43	43.48	36	40
Cd9B2G017450.1	<i>CdAKR85</i>	329	36.24	6.46	-0.29	77.69	37.72	39	41
Cd9B2G017470.1	<i>CdAKR86</i>	384	42.38	8.55	-0.25	86.12	41.60	46	43
Cd9B2G017480.1	<i>CdAKR87</i>	505	55.15	9.09	-0.16	85.80	42.64	62	51
Cd9B2G020770.1	<i>CdAKR88</i>	446	48.33	9.23	-0.42	79.71	35.54	56	47

2.2 狗牙根AKR基因家族成员系统进化和共线性分析

对狗牙根、拟南芥和水稻AKR家族基因构建系统

发育树(图2),通过构建聚类树将其分为8个亚族,狗牙根聚集在其中的7个亚族之中,其中Group 1和Group 2

各含有1个家族成员,Group 3含有6个家族成员,Group 5中含有3个狗牙根成员,Group 6中有9个,Group 7中则有2个,而Group 8所含的狗牙根AKR基因家族成员数量最多,共66个。此外,Group 6、Group 7与Group 8位于同一分支,表明这3个亚族的成员间进化关系较近。在水稻与狗牙根的AKR家族成员分布上,两者呈现交叉排列的模式;而拟南芥的AKR家

族成员则主要集中在Group 7和Group 8中。

通过物种间共线性关系分析(图3),拟南芥、水稻和狗牙根3个物种之间存在复制现象,与拟南芥相比,狗牙根与水稻基因组间呈现出更好的共线性关系,这一结果与物种间的进化亲缘关系一致:狗牙根与水稻同属单子叶植物的禾本科,而拟南芥属于双子叶植物的十字花科。

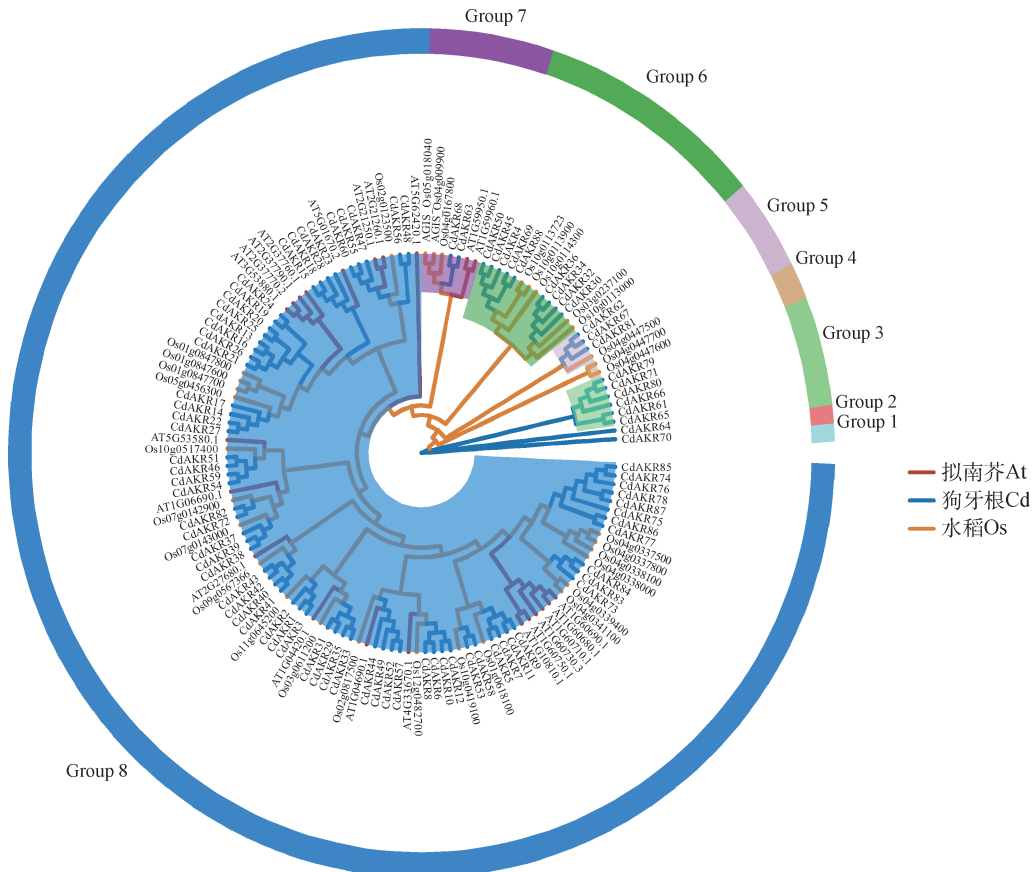


图2 拟南芥、狗牙根和水稻AKR基因家族系统进化树

Fig. 2 Phylogenetic tree of the AKR gene family in *A. thaliana*, *C. dactylon* and *O. sativa*

注:At(红色)代表拟南芥,Cd(蓝色)代表狗牙根,Os(橙色)代表水稻

Note: At (red) represents *A. thaliana*, Cd (blue) represents *C. dactylon*, and Os (orange) represents *O. sativa*

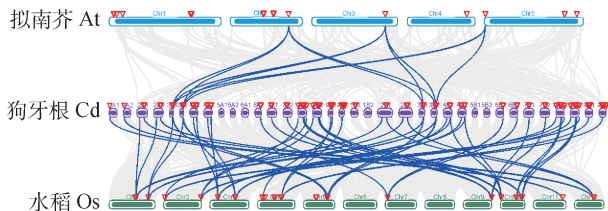


图3 狗牙根与拟南芥或水稻的AKR基因组间共线性分析

Fig. 3 Collinear analysis of the AKR gene family between

C. dactylon and *A. thaliana* or *O. sativa*

注:背景中的灰色线代表两种基因组之间的同源模块,蓝色线代表同源基因对

Note: The gray lines in the background represent syntenic blocks between genomes, and the blue lines indicate homologous gene pairs

染色体位置分布显示(图1),在狗牙根36条染色体中,AKR基因分布于其中的30条上,且呈现非均匀分布特征,1B1,6A1及5号染色体的全部4条同源染色体上均未检测到AKR基因。在存在AKR基因分布的染色体中,8号和9号染色体的四条同源染色体上基因数量最多;1,3,7号染色体的同源染色体上基因数量处于中等水平;其余染色体上的基因分布则相对较少。此外,共线性图谱清晰显示(图4),绝大多数AKR基因均位于显著的片段复制区块内,即这些基因成对或成簇地分布于不同的染色体或相距较远的同源区段,这为该基因家族的扩张提供了直接的基因组学证据。

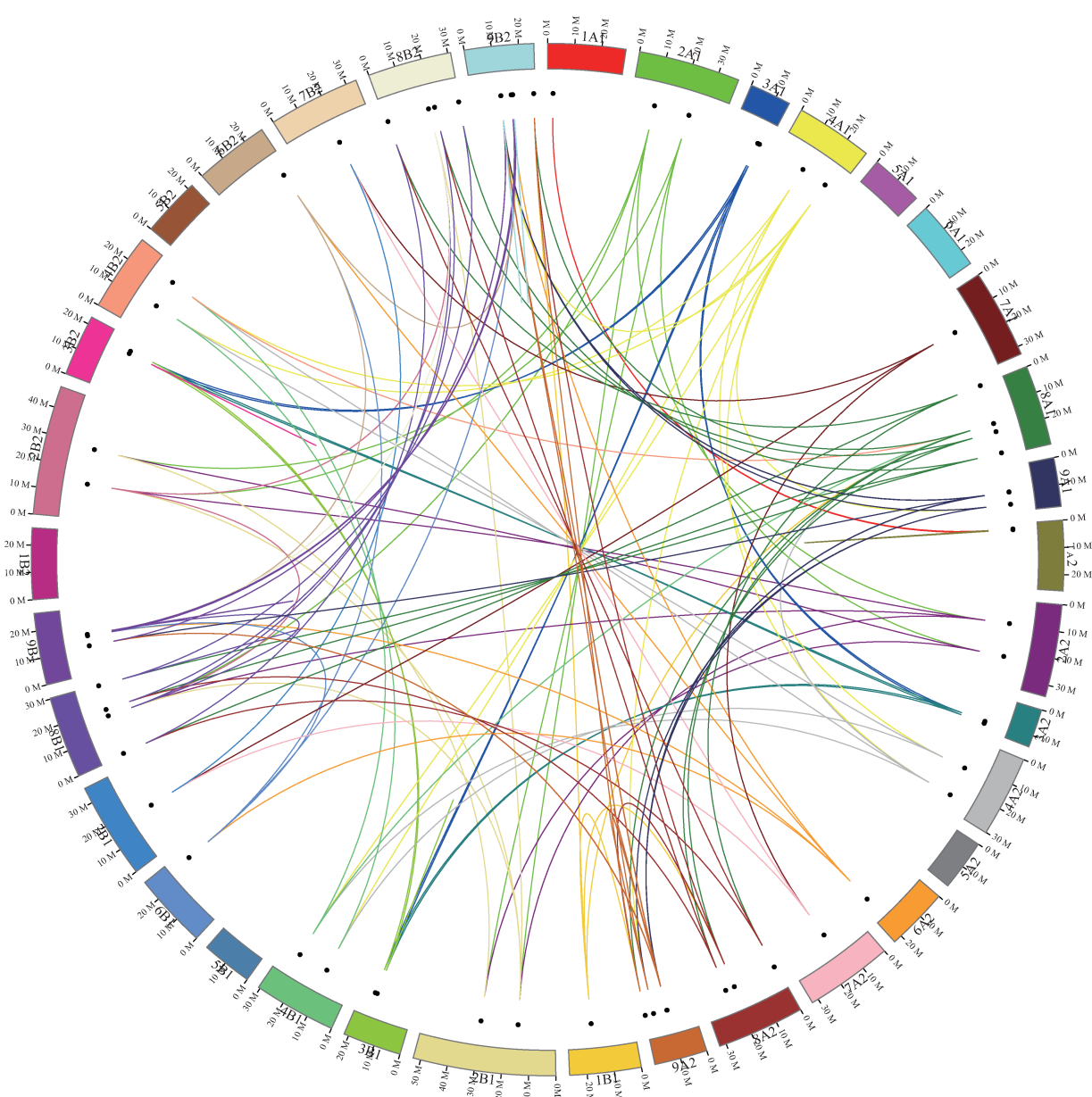


图4 狗牙根AKR基因组内共线性分析

Fig. 4 Intragenomic collinearity analysis of AKR genes in bermudagrass

2.3 狗牙根AKR基因家族保守基序(Motif)分析

在狗牙根AKR基因家族中共鉴定出10个motif,长度为15~29个氨基酸残基(图5)。motif 3和motif 1出现频率最高(分别为87和86次),构成该家族保守核心;motif 2、7和9出现频率最低(各43次),其中motif 2和7特异分布于Group 9。不同成员的motif组成模式差异显著(图5)。仅*CdAKR87*含3个motif(1,3,10),*CdAKR84*含4个motif(1,4,9,10)。含5个motif的5个基因可分为三类不同组合,*CdAKR2*和*CdAKR3*具有相同的motif组合(motif 1,3,5,8和10);*CdAKR23*含有motif 1,2,3,5和7;*CdAKR72*和*CdAKR82*则共享另一套组合

(motif 1,3,4,6和9)。12个基因含6个motif,覆盖全部10种类型。多数基因含7~8个motif(26个含7个motif,38个含8个motif),均涵盖所有motif类型。5个基因含9个motif,但其组成存在差异:*CdAKR14*,*CdAKR22*和*CdAKR69*缺失motif 9,*CdAKR62*和*CdAKR67*缺失motif 8。综上,该家族所有基因均含有3个及以上motif,但无一包含全部10个,表现出明显的保守结构域组成多样性与模块化特征。

此外,各亚家族内成员的motif组成模式高度保守。Group 3中所有成员均含有motif 1~4,6,7和10。Group 5的所有成员均含有motif 1~4,7,9和

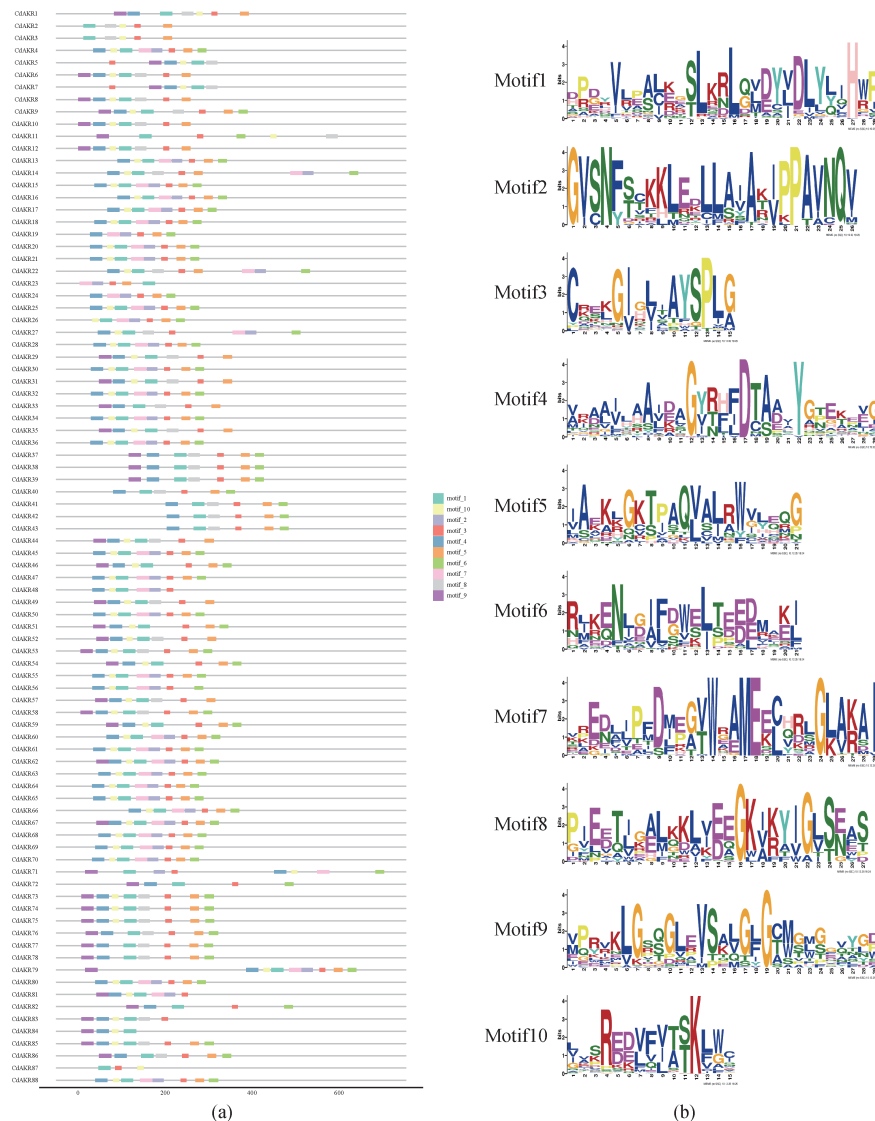


图5 狗牙根AKR基因家族 motif 分析

Fig. 5 Motif analysis of the AKR gene family in bermudagrass

10。Group 6 与 Group 7 的所有成员具有完全相同的基序组成,均包含 motif 1~motif 7 和 10。Group 8 则分为三种情况,一部分家族成员共同含有 motif 2、3 和 7,一部分家族成员共同含有 motif 1、4、6 和 9,剩余成员则共同含有 motif 1、3、8 和 10。

2.4 狗牙根AKR基因家族顺式作用元件分析

狗牙根AKR基因家族顺式作用元件预测结果显示(图6),在AKR基因家族中共发现67种顺式作用元件,除核心启动子元件外,还鉴定出大量与生长发育调控、逆境响应及信号转导密切相关的功能元件。其主要包括光响应元件(ACE, G-Box, AT1-motif, AE-box 和 GT1-motif 等);器官特异性元件(CAT-box, GCN4_motif 和 NON-box 等);激素响

应元件,如脱落酸响应元件(ABRE)、生长素响应元件(AuxRR, TGA-box 和 TGA-element)、赤霉素响应元件(TATC-box 和 GARE-motif)、茉莉酸甲酯响应元件(CGTCA-motif, TGACG-motif)、水杨酸响应元件(TCA-element);胁迫响应元件,如厌氧响应元件(ARE, GC-motif)、低温胁迫响应元件(LTR)、干旱胁迫响应元件(MBS)、盐胁迫响应元件(HD-Zip 1 和 HD-Zip 3)和创伤响应元件(WUN-motif)等;此外,还包含特定代谢途径相关的调控元件(如参与类黄酮生物合成的MBSI)、细胞周期响应元件(MSA-like)和昼夜节律响应元件(circadian)等。上述结果表明,狗牙根AKR基因家族可能广泛参与光信号转导、器官发育、激素调控与胁迫应答等多种生物学过程。

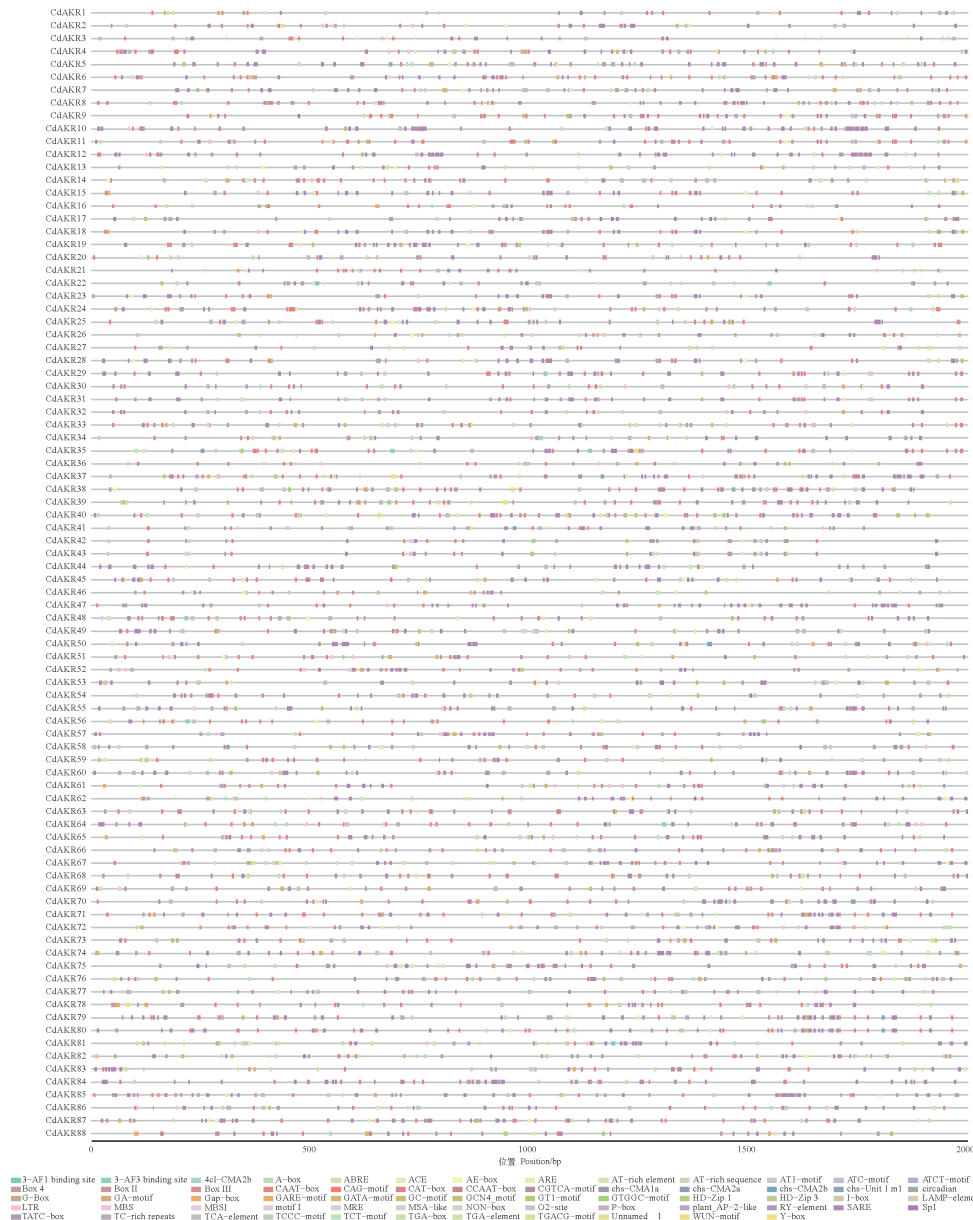


图 6 狗牙根 *AKR* 基因家族启动子顺式作用元件分析

Fig. 6 Analysis of *cis*-acting elements in the promoters of the *AKR* gene family in bermudagrass

2.5 狗牙根 *AKR* 基因家族的表达模式与富集分析

对狗牙根进行转录组测定分析,基于 $\log_2$ Fold-Change(LFC)绘制的基因相对表达谱(图 7),清晰展示了不同盐处理条件下狗牙根叶片与根部基因的表达变化。不同基因家族成员在不同盐处理时间及不同器官间的表达模式具有差异。在盐胁迫处理 2 h 和 24 h 后,叶片中 *CdAKR57* 的表达上调最高,其 LFC 值分别为 5.45 和 1.46,而根部中 *CdAKR18* 的表达上调幅度最大,LFC 值分别为 8.69 和 8.07。比较不同器官的相对表达差异,发现根中基因的整体表达响应强度普遍高于叶片。进一步比较不同器官的上下调基因,发现在盐处理 2 h

和 24 h 后,叶片中分别仅有 32 和 36 个基因的 LFC 值为正,表明多数基因在叶片中表现为下调表达。相比之下,根部在相同处理时间下,分别有 52 和 59 个基因的 LFC 值为正,说明根部中上调表达的基因数量更多。当然也有少部分基因在不同处理时间、不同器官间的表达趋势一致,其中全部表现为上调趋势的基因有 *CdAKR24*, *CdAKR52*, *CdAKR57*, *CdAKR62*, *CdAKR63* 和 *CdAKR68* 等共计 6 个基因,全部表现为下调趋势的基因有 *CdAKR3*, *CdAKR42*, *CdAKR53* 和 *CdAKR59*。

通过分析共鉴定出 23 个在盐胁迫下于特定器官(根或叶)中显著差异表达的基因。其中,大部分基

因的表达响应表现出明显的器官特异性,其差异表达信号仅存在于单一器官(即仅在根或叶中响应胁迫)。值得注意的是,*CdAKR18*和*CdAKR70*在根与叶中均显著表达,且变化趋势相反;而*CdAKR44*和*CdAKR49*在两种器官中均呈上调表达模式。对上述 23 个显著差异表达基因进行 KEGG 通路富集分析(图 8)。结果显示,最显著富集的通路包括“己内酰胺降解”“抗坏血酸和醛糖酸代谢”“戊糖和葡萄糖醛酸相互转化”“植物次生代谢物生物合成”“甘油酯代谢”“丙酮酸代谢”以及“糖酵解/糖异生”。上述每条通路均富集到 12 个基因,且富集基因高度重叠,表明该核心基因集在多条代谢通路中共同发挥调控作用。其余“叶酸生物合成”“果糖和甘露糖代谢”以

及“半乳糖代谢”通路则富集到的基因较少。

根据基因表达差异的显著性、基因启动子区顺式作用元件的功能,并剔除了基因序列高度相似的冗余成员后。最终挑选出*CdAKR15*,*CdAKR30*,*CdAKR43*,*CdAKR48*,*CdAKR72*和*CdAKR80*这 6 个基因进行后续的荧光定量 PCR 实验。同时结合之前的分析,发现这 6 个基因大部分集中在 Group 8 (图 2),且启动子区域都含有调控茉莉酸和脱落酸的 MYC 和 TGACG-motif,控制水杨酸的 TCA、控制类黄酮生物合成的 MBS 和控制脱落酸的 ABRE 顺式作用元件。

6 个狗牙根 *CdAKR* 基因在盐胁迫下的表达变化如图 7 所示。结果显示,不同 *CdAKR* 基因的表

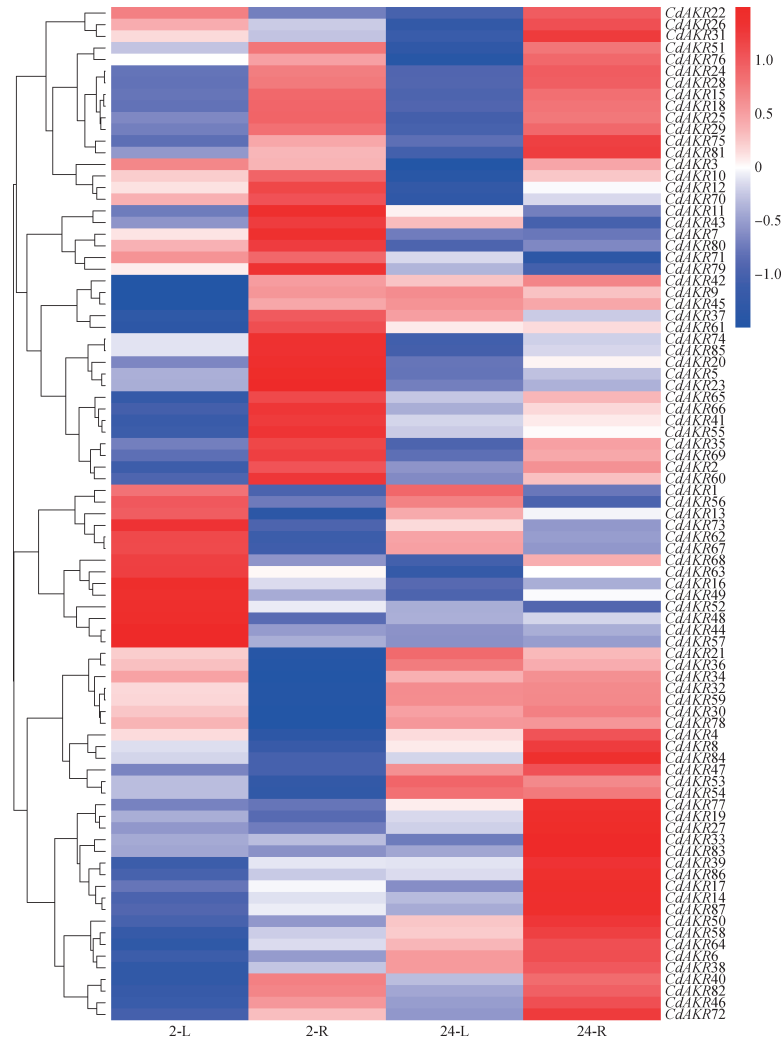


图 7 不同盐处理时间下狗牙根叶、根中 AKR 基因相对表达模式热图

Fig. 7 Heatmap of relative expression patterns of AKR genes in leaves and roots of bermudagrass under different salt treatments durations
注:2-L代表叶中盐处理 2 h 的 $\log_2$ FoldChange (LFC) 值,2-R 代表根中盐处理 2 h 的 LFC 值,24-L 代表叶中盐处理 24 h 的 LFC 值,24-R 代表根中盐处理 24 h 的 LFC 值

Note: 2-L represents the $\log_2$ FoldChange (LFC) value in leaves after 2 h of salt treatment, 2-R represents the LFC value in roots after 2 h of salt treatment, 24-L represents the LFC value in leaves after 24 h of salt treatment, and 24-R represents the LFC value in roots after 24 h of salt treatment

达模式具有明显的器官特异性和时间动态性。*CdAKR15*在不同盐胁迫时间下的叶中表达量均下调,而在根中均上调表达,且在盐胁迫 24 h 的表达量上调尤其显著;叶中 *CdAKR30* 只在 2 h 时表达量有所下调,而在根中 2 h 和 24 h 表达量均明显下调。*CdAKR43*在叶中的表达随胁迫时间延长先显著上调后略有回落,在根中则表现为持续下调。*CdAKR48*在叶中于各胁迫时间点均上调,其中 2 h

时上调幅度最大;在根中则仅在 24 h 时表达显著上调。叶中 *CdAKR72* 只在 2 h 胁迫下表达上调,根中则仅在 24 h 时表达上调,且根中的上调响应更为明显。*CdAKR80*在叶中随胁迫时间延长表达持续下调,在根中则仅在 24 h 胁迫下表达显著上调。qRT-PCR 分析结果与基于 LFC 绘制的基因相对表达谱基本一致,验证了数据的准确性,为进一步研究狗牙根 AKR 的功能提供参考。

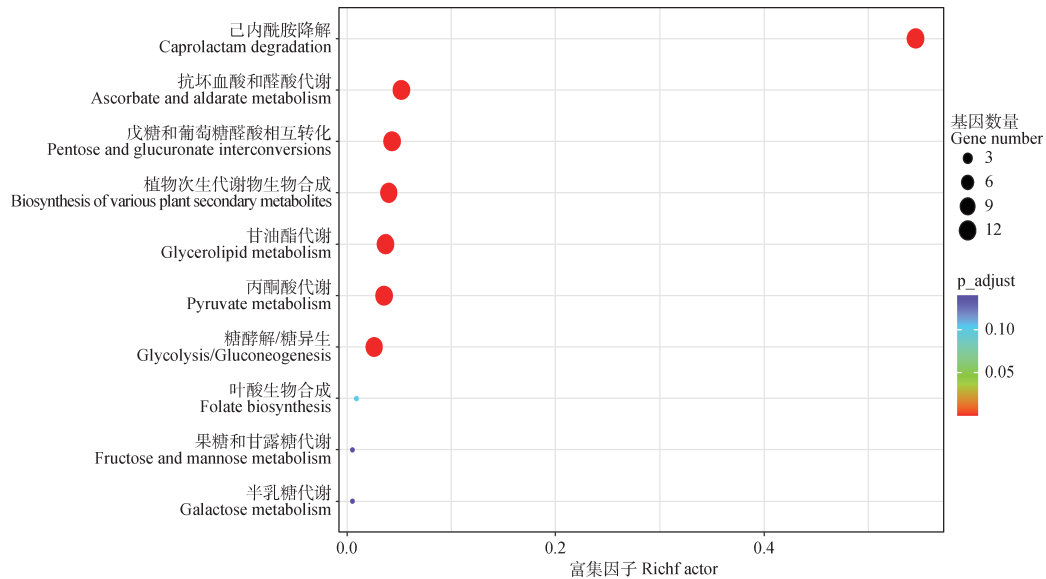


图 8 狗牙根 23 个差异表达 AKR 基因的 KEGG 通路富集分析

Fig. 8 KEGG pathway enrichment analysis of 23 AKR genes with differential expression in bermudagrass

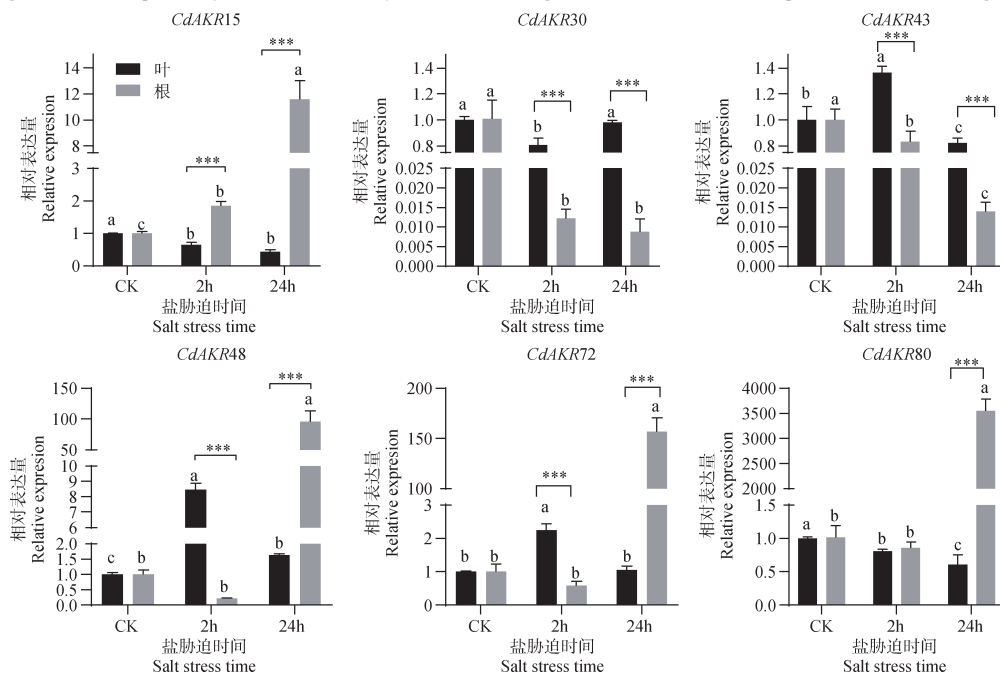


图 9 AKRs 在不同盐处理下狗牙根叶、根中的表达

Fig. 9 Expression of AKRs in the leaves and roots of bermudagrass under different salt treatments

注:***代表同一时间不同器官之间的差异($P < 0.001$),不同小写字母代表同一器官不同盐处理时间之间的差异($P < 0.05$)

Note: *** indicate significant between different organs within the same time ($P < 0.001$), while different lowercase letters indicate significant difference among different salt treatment times within the same organ ($P < 0.05$)

3 讨论

在干旱、盐碱与重金属等逆境胁迫下,植物通过诱导表达氧化还原酶基因家族来增强抗性,其中醛-酮还原酶(AKR)家族包含190多个成员,系统发育上可划分为4个组和14个亚族^[10]。其功能在拟南芥、水稻等模式植物中已有相关研究,但在狗牙根中的相关报道仍较为有限^[31-33]。

本研究在狗牙根中鉴定出88个AKR基因家族成员,而有研究报道在盐生草和大豆(*Glycine max*)中仅分别鉴定到23个和44个^[22,31],结合种内共线性分析结果,狗牙根AKR基因家族成员的显著扩张,可能与其四倍体亚基因组结构有关。生物信息学分析表明,该家族成员普遍具有较好的蛋白质稳定性和较宽的等电点分布范围,暗示其能在不同酸碱环境中维持功能活性。绝大多数成员为亲水蛋白的特征与已报道物种一致,支持了基因鉴定的可靠性^[14,18]。盐胁迫常伴随渗透压变化和离子毒性等,易导致蛋白错误折叠或失活,而狗牙根AKR基因家族预测的高稳定性(如低不稳定性系数、高脂脂族指数)意味着它们能在胁迫细胞环境中保持结构完整与催化功能,从而发挥清除因胁迫产生的有毒醛酮类代谢物的功能,维持细胞稳态^[13,34-35]。系统进化与保守基序分析将狗牙根AKR家族划分为7个亚群,成员间motif数量(3~9个)及组成的差异揭示了该家族在保持核心功能保守的同时,也存在显著的结构多样性。其中motif 1, motif 3和motif 4在后续6个代表性基因中普遍存在,且motif 1与拟南芥AKR基因家族中的motif 2高度相似, motif 3和motif 4与拟南芥AKR基因家族中的motif 5和motif 4高度相似,这些motif均存在于拟南芥AKR4C亚家族,该家族参与植物体内糖源活性羰基化合物的解毒过程^[36],上述结构保守性与功能关联性共同暗示狗牙根的这些基序可能在盐胁迫响应中具有重要作用^[37]。

基因启动子中的顺式作用元件是一类具有转录调节功能的特异DNA序列,其通过与特定转录因子结合实现对下游基因的调控。对狗牙根AKR基因的顺式作用元件预测显示,其含有多种激素响应及胁迫响应元件,表明其可能广泛参与植物生长发育与环境胁迫应答过程,该结论在葡萄(*Vitis vinifera*)、苜蓿等相关研究中亦得到支持^[38-39]。研究同时发现,苜蓿中鉴定的AKR基因在高浓度盐

胁迫下对植物的非生物胁迫防御具有重要作用。具体而言,激素相关的作用元件,如脱落酸响应元件(ABRE),其通过调控ABA信号通路在耐盐等多种胁迫响应中发挥关键作用^[40];茉莉酸响应元件CGTCA-motif与TGACG-motif,二者常成对构成复合调控模块,参与激活抗氧化防御系统并减轻膜脂过氧化损伤,从而增强耐盐性^[41-42];以及水杨酸响应元件TCA-element,其可通过增强根系渗透调节与抗氧化能力缓解盐胁迫损伤^[43]。此外,HD-Zip I类转录因子结合位点(CAATNATTG)也被广泛发现,该元件主要响应ABA与非生物胁迫信号,能够激活下游胁迫适应相关基因的表达^[44]。KEGG富集分析结果中也关联到“植物次生代谢物生物合成”这一通路,且其启动子区存在的类黄酮生物合成相关顺式作用元件(如MBSI),表明狗牙根AKR基因可能通过参与类黄酮等抗氧化次级代谢产物的合成网络,在胁迫条件下协同增强细胞的氧化还原稳态与损伤修复能力^[37]。

AKR基因的表达状况受植物器官、外界胁迫等多种因素影响。本研究也发现该家族基因在根、叶两个器官以及不同盐胁迫时间下的响应程度有所差异。在叶中,不同盐处理时间下CdAKR15, CdAKR30和CdAKR80的表达量均下调, CdAKR48和CdAKR72的表达量均上调,而CdAKR43则随胁迫时间延长先上调后下调;在根中,不同盐处理时间下CdAKR15, CdAKR48, CdAKR72和CdAKR80的表达量均上调,而CdAKR30和CdAKR43的表达量均下调。该结果与葡萄AKR基因家族成员在盐胁迫下根、叶差异响应表现一致^[45]。从时间动态来看,随着盐胁迫时间的延长,叶片中各AKR基因的相对表达量变化较为平缓,而在根中表达波动更为显著,尤其体现在CdAKR48, CdAKR72和CdAKR80中。值得指出的是,盐生草根系盐胁迫响应基因HgAKR42639亦表现出较强的耐盐功能^[22],与本研究根系特异上调的AKR基因结果相互印证,且该研究中发现HgAKR42639主要是通过调控抗氧化系统以及渗透调节系统来增强耐盐性。

同源基因功能分析进一步支持上述结果的生物学意义。CdAKR15和CdAKR30的拟南芥同源基因AKR4C8和AKR4C9可能通过参与糖代谢源毒性羰基化合物的解毒,减轻羰基胁迫与氧化损伤,从而维持细胞稳态并增强整体耐盐性^[36];

*CdAKR43*的水稻同源基因 *OsAKR1* 能够还原多种有毒醛类,包括糖酵解途径产生的甲基乙二醛以及脂质过氧化来源的丙二醛(MDA),进而提高其抗逆性^[33]; *CdAKR48* 和 *CdAKR72* 的水稻同源基因 *OsAKR4-4* 和 *OsAKR4-1* 同属于 *OsAKR4* 亚家族,该家族已被证实可通过高效还原活性羰基化合物为相应的醇类,从而保护细胞免受氧化损伤^[33]。综上,盐胁迫调节下,AKR 基因一方面可能通过根系上调表达,参与离子调控稳态(Na^+ 的外排和 K^+ 的吸收)^[46],或通过调控细胞内甲基乙二醛等水平增强耐盐性等^[47];另一方面,部分基因的下调表达(如苜蓿中 *MtAKR1* 和 *MtAKR7* 的基因表达下调),可能参与抵抗渗透胁迫响应^[14]。这些结果共同表明狗牙根 AKR 基因在盐胁迫中可能具有复杂且器官特异性的调控功能。

从 AKR 基因家族的 KEGG 富集分析结果来看,“抗坏血酸与醛糖酸代谢”通路与耐盐高度相关。盐胁迫会诱导植物体内产生大量活性氧,而抗坏血酸是植物体内最主要的水相抗氧化剂,与谷胱甘肽循环共同构成清除 ROS 的第一道防线^[48]。AKR 基因在“抗坏血酸与醛糖酸代谢”通路显著富集表明该家族成员可能通过再生抗坏血酸前体或调控 NAD(P)H 或 NAD(P)⁺ 平衡,从而在分子层面构建起应对盐诱导氧化胁迫的防护机制^[49]。同时“丙酮酸代谢”通路中的副产物包含 MDA,而 AKR 基因能够直接还原 MDA 等毒性副产物,来帮助细胞维持代谢稳态^[50-51],从而增强对盐胁迫的适应能力。*CdAKR15* 和 *CdAKR48* 均富集于上述两条通路中,表明这两个基因可能在响应氧化应激与清除代谢毒性物质方面具有协同功能。而 *CdAKR30* 和 *CdAKR80* 则均富集于上述的“植物次生代谢物生物合成”通路,且其启动子区均包含 MBS 等调控类黄酮生物合成的顺式作用元件,表明其功能可能更侧重于参与类黄酮、生物碱等防御性次级代谢产物的合成,通过增强细胞的化学防御与系统抗氧化能力来应对盐胁迫压力。已有研究证实,狗牙根在盐胁迫下的抗氧化酶活性增高^[52],体内过氧化氢含量和膜脂过氧化水平保持相对稳定^[53],这些共同构成了其高效的抗氧化防御系统。

4 结论

综上所述,本研究从狗牙根基因组中共鉴定得

到 88 个 *CdAKRs* 基因,该基因家族可以聚为 7 个亚家族,不均匀地分布在狗牙根的 30 条染色体上,共鉴定得到 10 个 motif,每个 AKR 成员含有 3~9 个 motif,启动子区域共鉴定出 67 个与生长发育调控、逆境响应及信号转导等密切相关的顺式作用元件。转录组数据显示不同 AKR 基因家族成员在不同盐处理时间、不同器官间的表达模式具有差异,根中基因的整体表达响应强度普遍高于叶片,多数基因在根中上调表达,而在叶片中下调表达。qRT-PCR 结果显示,狗牙根 AKR 家族 *CdAKR15*, *CdAKR30*, *CdAKR43*, *CdAKR48*, *CdAKR72* 和 *CdAKR80* 基因在不同盐处理时间下的表达量上调或下调较为显著。本试验为进一步研究狗牙根 AKR 基因家族在盐胁迫下的功能提供了理论依据。

参考文献

- [1] 李岩,李永龙,翟晨元,等. 草坪草耐盐性研究进展[J]. 植物生理学报,2023,59(5):839-851
LI Y, LI Y L, ZHAO C Y, et al. Research advances in salt resistance of turfgrasses[J]. Plant Physiology Journal, 2023, 59(5): 839-851
- [2] 杨劲松,姚荣江,王相平,等. 中国盐渍土研究:历程、现状与展望[J]. 土壤学报,2022,59(1):10-27
YANG J S, YAO R J, WANG X P, et al. Research on salt-affected soils in China: history, status quo and prospect[J]. Acta Pedologica Sinica, 2022, 59(1): 10-27
- [3] HANNA W W, ANDERSON W F. Development and impact of vegetative propagation in forage and turf bermudagrasses[J]. Agronomy Journal, 2008, 100(S3): 103-107
- [4] 陈静波,牛佳伟,田海燕,等. NaCl 胁迫对杂交狗牙根品种‘苏植 2 号’和‘Tifgreen’生长及 Na^+ 和 K^+ 积累的影响[J]. 植物资源与环境学报,2014,23(3):45-51
CHEN J B, NIU J W, TIAN H Y, et al. Effect of NaCl stress on growth and Na^+ and K^+ accumulation of cultivars ‘Suzhi No. 2’ and ‘Tifgreen’ of hybrid bermudagrass (*Cynodon dactylon* $\times$ *C. transvaalensis*)[J]. Journal of Plant Resources and Environment, 2014, 23(3): 45-51
- [5] 赵欣桐,陈晓东,李子吉,等. 植物内生肠杆菌对狗牙根耐盐性的调控研究[J]. 草业学报,2021,30(9):127-136
ZHAO X T, CHEN X D, LI Z J, et al. An evaluation of the effects of the plant endophyte *Enterobacter* on the salt tolerance of bermudagrass[J]. Acta Prataculturae Sinica, 2021, 30(9): 127-136
- [6] LIU A, HU Z R, BI A Y, et al. Photosynthesis, antioxidant system and gene expression of bermudagrass in response to low temperature and salt stress[J]. Ecotoxicology, 2016, 25(8): 1445-1457
- [7] SHI H T, JIANG C, YE T T, et al. Comparative physiological, metabolomic, and transcriptomic analyses reveal mechanisms of improved abiotic stress resistance in bermudagrass

- [Cynodon dactylon (L). Pers.] by exogenous melatonin[J]. Journal of Experimental Botany, 2015, 66(3): 681-694
- [8] 宋鑫, 徐杉, 熊芹. 狗牙根抗逆研究进展[J]. 草学, 2021(6): 9-14
- SONG X, XU S, XIONG Q. Research progress on Bermuda grass[J]. Journal of Grassland and Forage Science, 2021(6): 9-14
- [9] SHI H T, WANG Y P, CHENG Z M, et al. Analysis of natural variation in bermudagrass (*Cynodon dactylon*) reveals physiological responses underlying drought tolerance[J]. PLoS One, 2012, 7(12): e53422
- [10] KRISHNAMURTHY P, POTHIRAJ R, SUTHANTHIRAM B, et al. Phylogenomic classification and synteny network analyses deciphered the evolutionary landscape of aldo-keto reductase (AKR) gene superfamily in the plant Kingdom[J]. Gene, 2022, 816: 146169
- [11] CHANG L L, LI Y K, ZHAO C X, et al. AKR1C1 connects autophagy and oxidative stress by interacting with SQSTM1 in a catalytic-independent manner [J]. Acta Pharmacologica Sinica, 2022, 43(3): 703-711
- [12] DESMOND J C, MOUNTFORD J C, DRAYSON M T, et al. The aldo-keto reductase AKR1C3 is a novel suppressor of cell differentiation that provides a plausible target for the non-cyclooxygenase-dependent antineoplastic actions of nonsteroidal anti-inflammatory drugs[J]. Cancer Research, 2003, 63(2): 505-512
- [13] PENNING T M. The aldo-keto reductases (AKRs): overview [J]. Chemico-Biological Interactions, 2015, 234: 236-246
- [14] YU J, SUN H, ZHANG J J, et al. Analysis of aldo - keto reductase gene family and their responses to salt, drought, and abscisic acid stresses in *Medicago truncatula* [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(3): 754
- [15] 齐磊, 华静怡, 冯秋菊, 等. 二甲双胍通过促进醛酮还原酶AKR1C3降解抑制肝细胞癌恶性进展的机制研究[J]. 中国药科大学学报, 2025, 56(5): 572-582
- QI L, HUA J Y, FENG Q J, et al. Mechanism of metformin inhibiting malignant progression of hepatocellular carcinoma by promoting degradation of aldo-keto reductase AKR1C3 [J]. Journal of China Pharmaceutical University, 2025, 56(5): 572-582
- [16] 杨斯茗, 许尹梅, 李建雄. AKR7A3在胃癌中的表达、细胞生物学影响及临床意义研究[J]. 解放军医学院学报, 2024, 45(8): 868-877, 885
- YANG S M, XU Y M, LI J X. AKR7A3 expression in gastric cancer, its biological function and clinical significance[J]. Academic Journal of Chinese PLA Medical School, 2024, 45(8): 868-877, 885
- [17] BARTELS D, ENGELHARDT K, RONCARATI R, et al. An ABA and GA modulated gene expressed in the barley embryo encodes an aldose reductase related protein [J]. The EMBO Journal, 1991, 10(5): 1037-1043
- [18] 吴萍民, 程斌, 冷艳, 等. 绿豆醛酮还原酶基因及其响应镉胁迫的分析[J]. 兰州交通大学学报, 2023, 42(1): 118-126
- WU P M, CHENG B, LENG Y, et al. Analysis of aldo-keto reductase genes in *Vigna radiata* and its response to cadmium stress [J]. Journal of Lanzhou Jiaotong University, 2023, 42(1): 118-126
- [19] ÉVA C, TÓTH G, OSZVALD M, et al. Overproduction of an *Arabidopsis* aldo - keto reductase increases barley tolerance to oxidative and cadmium stress by an *in vivo* reactive aldehyde detoxification[J]. Plant Growth Regulation, 2014, 74(1): 55-63
- [20] GUO R, ZHANG Q, CHEN C Z, et al. A novel aldo-keto reductase gene, *OsAKR1*, from rice confers higher tolerance to cadmium stress in rice by an *in vivo* reactive aldehyde detoxification[J]. Journal of Hazardous Materials, 2024, 470: 134212
- [21] OBERSCHALL A, DEÁK M, TÖRÖK K, et al. A novel aldose/aldehyde reductase protects transgenic plants against lipid peroxidation under chemical and drought stresses[J]. The Plant Journal, 2000, 24(4): 437-446
- [22] 张震欢, 姚立蓉, 汪军成, 等. 盐生草AKR基因家族成员的鉴定及根系盐胁迫响应基因*HgAKR42639*的耐盐分析[J]. 草业学报, 2024, 33(7): 68-83
- ZHANG Z H, YAO L R, WANG J C, et al. Identification of AKR gene family members in *Halogeton glomeratus* and salt tolerance analysis of the root salt stress response gene *HgAKR42639*[J]. Acta Prataculturae Sinica, 2024, 33(7): 68-83
- [23] 陈静波, 阎君, 姜燕琴, 等. 暖季型草坪草优良选系和品种抗盐性的初步评价[J]. 草业学报, 2009, 18(5): 107-114
- CHEN J B, YAN J, JIANG Y Q, et al. Preliminary evaluation on salinity tolerance of excellent selections and cultivars of warm season turfgrass[J]. Acta Prataculturae Sinica, 2009, 18(5): 107-114
- [24] ZHANG B, CHEN S, LIU J X, et al. A high-quality haplotype-resolved genome of common bermudagrass (*Cynodon dactylon* L.) provides insights into polyploid genome stability and prostrate growth[J]. Frontiers in Plant Science, 2022, 13: 890980
- [25] MISTRY J, CHUGURANSKY S, WILLIAMS L, et al. Pfam: the protein families database in 2021[J]. Nucleic Acids Research, 2021, 49(D1): 412-419
- [26] ALTSCHUL S F, GISH W, MILLER W, et al. Basic local alignment search tool[J]. Journal of Molecular Biology, 1990, 215(3): 403-410
- [27] BENJAMINI Y, HOCHBERG Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing [J]. Journal of the Royal Statistical Society Series B (Methodological), 1995, 57(1): 289-300
- [28] XIE C, MAO X Z, HUANG J J, et al. KOBAS 2.0: a web server for annotation and identification of enriched pathways and diseases [J]. Nucleic Acids Research, 2011, 39 (Web Server issue): W316-W322
- [29] YOUNG M D, WAKEFIELD M J, SMYTH G K, et al. Gene ontology analysis for RNA-seq: accounting for selection bias [J]. Genome Biology, 2010, 11(2): R14
- [30] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ Method[J]. Methods, 2001, 25(4): 402-408
- [31] 厉苏宁, 赵现伟, 孙丽萍, 等. 大豆醛酮还原酶超家族的鉴定

- 及表达分析[J]. 农业生物技术学报, 2022, 30(11): 2061-2076
- LI S N, ZHAO X W, SUN L P, et al. Identification and expression analysis of AKR superfamily in soybean (*Glycine max*) [J]. Journal of Agricultural Biotechnology, 2022, 30(11): 2061-2076
- [32] SIMPSON P J, TANTITADAPITAK C, REED A M, et al. Characterization of two novel aldo-keto reductases from *Arabidopsis*: expression patterns, broad substrate specificity, and an open active-site structure suggest a role in toxicant metabolism following stress [J]. Journal of Molecular Biology, 2009, 392(2): 465-480
- [33] TURÓCZY Z, KIS P, TÖRÖK K, et al. Overproduction of a rice aldo - keto reductase increases oxidative and heat stress tolerance by malondialdehyde and methylglyoxal detoxification [J]. Plant Molecular Biology, 2011, 75(4): 399-412
- [34] GURUPRASAD K, REDDY B V, PANDIT M W. Correlation between stability of a protein and its dipeptide composition: a novel approach for predicting *in vivo* stability of a protein from its primary sequence [J]. Protein Engineering, 1990, 4(2): 155-161
- [35] ZHU J K. Abiotic stress signaling and responses in plants [J]. Cell, 2016, 167(2): 313-324
- [36] SAITO R, SHIMAKAWA G, NISHI A, et al. Functional analysis of the AKR4C subfamily of *Arabidopsis thaliana*: model structures, substrate specificity, acrolein toxicity, and responses to light and [CO₂] [J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2013, 77(10): 2038-2045
- [37] AGATI G, AZZARELLO E, POLLASTRI S, et al. Flavonoids as antioxidants in plants: location and functional significance [J]. Plant Science, 2012, 196: 67-76
- [38] 于洁. 苜蓿盐胁迫响应醛酮还原酶基因(*MsAKR1*)克隆及功能分析[D]. 北京: 中国农业科学院, 2020: 11-14
- YU J. Cloning and functional analysis of aldehyde ketone reductase gene (*MsAKR1*) in response to salt stress in alfalfa [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2020: 11-14
- [39] 马亚男, 卢旭, 魏云春, 等. 葡萄AKR基因家族的鉴定和组织特异性表达分析[J]. 生物技术通报, 2021, 37(8): 141-151
- MA Y N, LU X, WEI Y C, et al. Identification and tissue specific expression analysis of AKR gene family in grape [J]. Biotechnology Bulletin, 2021, 37(8): 141-151
- [40] NAKASHIMA K, YAMAGUCHI-SHINOZAKI K. ABA signaling in stress-response and seed development [J]. Plant Cell Reports, 2013, 32(7): 959-970
- [41] 陈晨, 胡秋倩, 杨凯波, 等. 茉莉酸甲酯调控植物生长发育的研究进展[J]. 江苏农业科学, 2023, 51(12): 1-11
- CHEN C, HU Q Q, YANG K B, et al. Research progress on regulation of plant growth by methyl jasmonate [J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2023, 51(12): 1-11
- [42] MEMELINK J. Regulation of gene expression by jasmonate hormones [J]. Phytochemistry, 2009, 70(13-14): 1560-1570
- [43] 尹娟, 杨学军, 刘伯选, 等. 水杨酸对高盐胁迫下海滨木槿生理特性的缓解效应[J]. 山东农业科学, 2025, 57(2): 64-72
- YIN J, YANG X J, LIU B X, et al. Alleviating effects of salicylic acid on physiological characteristics of *Hibiscus syriacus* L. under high salt stress [J]. Shandong Agricultural Sciences, 2025, 57(2): 64-72
- [44] GONG S H, DING Y F, HU S S, et al. The role of HD-Zip class I transcription factors in plant response to abiotic stresses [J]. Physiologia Plantarum, 2019, 167(4): 516-525
- [45] 周雪婷, 梁国平, 卢世雄, 等. 葡萄糖醛还原酶(AKR)基因家族的鉴定与表达分析[J]. 西北植物学报, 2022, 42(11): 1851-1861
- ZHOU X T, LIANG G P, LU S X, et al. Identification and expression analysis of aldehyde ketone reductase (AKR) gene family in grape [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2022, 42(11): 1851-1861
- [46] 胡尚钦, 汪军成, 姚立蓉, 等. 盐生草根系基因 *HgAKR6C* 的克隆与初步功能分析[J]. 草业学报, 2024, 33(1): 61-74
- HU S Q, WANG J C, YAO L R, et al. Cloning and preliminary functional analysis of the root gene *HgAKR6C* of *Halogeton glomeratus* [J]. Acta Prataculturae Sinica, 2024, 33(1): 61-74
- [47] MUNDREE S G, WHITTAKER A, THOMSON J A, et al. An aldose reductase homolog from the resurrection plant *Xerophyta viscosa* Baker [J]. Planta, 2000, 211(5): 693-700
- [48] 张杰敏, 张金成, 李嘉俊, 等. 抗坏血酸引发对盐胁迫下燕麦幼苗线粒体抗氧化性能的影响[J]. 草地学报, 2025, 33(2): 481-488
- ZHANG J M, ZHANG J C, LI J J, et al. Effect of ascorbic acid priming on mitochondrial oxidation resistance of oat seedlings under salt stress [J]. Acta Agrestia Sinica, 2025, 33(2): 481-488
- [49] 陈卫芳, 袁伟玲, 刘志雄, 等. 植物抗坏血酸合成调控研究进展[J]. 植物生理学报, 2023, 59(3): 481-489
- CHEN W F, YUAN W L, LIU Z X, et al. Research progress on regulation of ascorbic acid synthesis in plant [J]. Plant Physiology Journal, 2023, 59(3): 481-489
- [50] VANDER JAGT D L, HUNSAKER L A. Methylglyoxal metabolism and diabetic complications: roles of aldose reductase, glyoxalase-I, betaine aldehyde dehydrogenase and 2-oxo-aldehyde dehydrogenase [J]. Chemico-Biological Interactions, 2003, 143: 341-351
- [51] KALAPOS M P. Methylglyoxal in living organisms Chemistry, biochemistry, toxicology and biological implications [J]. Toxicology Letters, 1999, 110(3): 145-175
- [52] 汤丽斯. 碱性盐胁迫下新疆狗牙根形态、生理及分子响应机制研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2024: 52-53
- TANG L S. Morphological, physiological, and molecular response mechanism of *Cynodon dactylon* in Xinjiang under alkaline salt stress [D]. Urumqi: Xinjiang Agricultural University, 2024: 52-53
- [53] ROY S, CHAKRABORTY U. Cross-generic studies with rice indicate that ion homeostasis and antioxidant defense is associated with superior salinity tolerance in *Cynodon dactylon* (L.) Pers [J]. Indian Journal of Plant Physiology, 2015, 20(1): 14-22