

甘薯 *IbGATA16* 基因的克隆与表达分析

王 崇^{1,2}, 王连军^{2*}, 雷 剑², 靳晓杰², 柴沙沙², 邹语嫣², 杨新笋²,
程贤亮², 焦春海^{2**}, 田小海^{1**}

1. 长江大学农学院, 湖北荆州 434025; 2. 湖北省农业科学院粮食作物研究所, 湖北武汉 430064

摘 要: GATA 类转录因子在调控植物响应非生物胁迫中发挥重要作用。本研究从甘薯中克隆出 1 个 *IbGATA16* 基因, 对其进行生物信息学分析, 并对 *IbGATA16* 基因在甘薯干旱和盐胁迫处理中的表达模式进行分析。结果表明: 甘薯 *IbGATA16* 基因 CDS 序列全长 420 bp, 编码 139 个氨基酸, 蛋白分子量为 15.39 kDa, 等电点为 9.97; *IbGATA16* 基因组全长为 582 bp, 包含 3 个外显子和 2 个内含子; *IbGATA16* 为不稳定的亲水性脂溶蛋白, 亚细胞定位预测显示该蛋白定位于细胞核, 具有 C-X₂-C-X₁₇-C-X₂-C 结构域, 属于典型的 GATA 类转录因子。*IbGATA16* 基因上游 1382 bp 的启动子序列存在多种顺式作用元件, 如 MYB、ABRE、GARE-motif 等。多重序列比对和系统进化树分析结果显示, *IbGATA16* 蛋白与三裂叶薯 *ItGATA16* 的亲缘关系最近, N 端的锌指结构域序列高度一致, 表明二者可能具有相似的功能。实时荧光定量结果表明, *IbGATA16* 在甘薯根、茎、叶片等组织中均有表达, 在叶中的表达量显著高于茎与根的表达量。*IbGATA16* 对干旱和盐胁迫显著诱导表达, 在干旱和盐胁迫处理 0、1、3、6、12、24 h 后, *IbGATA16* 的表达量均显著高于 0 h。干旱胁迫下, *IbGATA16* 的表达量在 1 h 时达到峰值; 在盐胁迫下, *IbGATA16* 的表达量在 3 h 时达到最大值。以上结果表明, *IbGATA16* 基因参与了甘薯对干旱和盐胁迫的应答响应, 在根、茎和叶中的调控存在差异。本研究为进一步揭示 *IbGATA16* 在甘薯中抵御逆境胁迫的机理提供参考。

关键词: 甘薯; 转录因子; *IbGATA16*; 非生物胁迫; 表达模式

中图分类号: S531 文献标识码: A

Cloning and Expression Analysis of *IbGATA16* in Sweet Potato

WANG Chong^{1,2}, WANG Lianjun^{2*}, LEI Jian², JIN Xiaojie², CHAI Shasha², ZOU Yuyan², YANG Xinsun²,
CHENG Xianliang², JIAO Chunhai^{2**}, TIAN Xiaohai^{1**}

1. College of Agriculture, Yangtze University, Jingzhou, Hubei 434025, China; 2. Institute of Food Corps, Hubei Academy of Agricultural Sciences, Wuhan, Hubei 430064, China

Abstract: GATA transcription factors play an important role in regulating plant response to abiotic stress. In this study, an *IbGATA16* gene was cloned from sweet potato and analyzed by bioinformatics. The expression pattern of *IbGATA16* gene in sweet potato under drought and salt stress was analyzed. Experimental results show that the full length of *IbGATA16* CDS sequence is 420 bp, and it encodes 139 amino acids. The molecular weight of *IbGATA16* was 15.39 kDa, isoelectric point was 9.97. The full length of the genome is 582 bp, including 3 exons and 2 introns. *IbGATA16* is an unstable hydrophilic lipid-soluble protein, and its subcellular localization predicts that the protein is located in the nucleus. It has the C-X₂-C-X₁₇-C-X₂-C domain and belongs to the typical GATA class of transcription factors. There are many *cis*-acting elements in the 1382 bp upstream promoter sequence of *IbGATA16* gene, such as MYB, ABRE, and GARE-motif. The results of multiple sequence alignment and phylogenetic tree analysis showed that *IbGATA16* protein

收稿日期 2022-10-18; 修回日期 2022-11-22

基金项目 国家重点研发计划项目 (No. 2019YFD1001305); 国家现代甘薯产业技术体系建设项目 (No. CARS-10); 湖北省支持种业高质量发展资金项目 (No. HBZY2023B002-4)。

作者简介 王 崇 (1994—), 男, 博士, 助理研究员, 研究方向: 作物遗传育种; *同等贡献作者: 王连军 (1982—), 男, 博士, 副研究员, 研究方向: 作物遗传育种。 **通信作者 (Corresponding author): 焦春海 (JIAO Chunhai), E-mail: jiaoch@hotmail.com; 田小海 (TIAN Xiaohai), E-mail: xiaohait@sina.com。

was closely related to *ItGATA16*. The sequence of the N-terminal zinc finger domain is highly consistent, suggesting a possible similar function. The results of real-time fluorescence quantification showed that *IbGATA16* was expressed in root, stem and leaf tissues of sweet potato, and the expression level of *IbGATA16* in leaves was significantly higher than that in stem and root tissues. *IbGATA16* was significantly induced by drought and salt stress, and after 0, 1, 3, 6, 12 and 24 h of drought and salt stress, the expression of *IbGATA16* was significantly higher than that of 0 h. Under drought stress, the expression of *IbGATA16* reached its peak at 1 h, and under salt stress, the expression of *IbGATA16* reached the maximum at 3 h. *IbGATA16* positively responds to drought and salt stress in sweet potato. These results indicated that *IbGATA16* gene was involved in the response of sweet potato to drought and salt stress, and the regulation of *IbGATA16* gene was different in roots, stems and leaves. This study provides a reference for further research on the biological function of *IbGATA16* and its mechanism in response to stress in sweet potato.

Keywords: sweet potato; transcription factors; *IbGATA16*; abiotic stress; expression pattern

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2023.12.013

甘薯 [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] 是重要的粮食、饲料、工业原料和新能源作物, 是世界第七大粮食作物, 中国第五大粮食作物^[1]。我国甘薯产业规模大, 种植面积和年产量均位居世界首位^[2]。干旱和盐胁迫是影响甘薯生长发育的主要环境因素, 干旱会导致甘薯生长缓慢、发育迟缓, 盐胁迫对甘薯的根长、株高有显著影响, 严重情况下造成甘薯死亡^[3]。挖掘并克隆抗旱和耐盐相关基因、培育抗旱和耐盐作物新品种是解决因土壤干旱和高盐导致作物减产的有效途径之一。

随着科学技术的发展, 越来越多与植物抗逆相关的转录因子被鉴定, 包括 GATA 类^[4]、MYB 类^[5]、NAC 类^[6]、WRKY 类^[7]、AP2/ERF 类^[8]等。GATA 转录因子家族能够识别 GATA 基序, 可以特异性地结合 WGATAR 序列 (W 为 T 或 A, R 为 G 或 A), 因此, 被命名为 GATA 转录因子。GATA 类转录因子首次发现于鸡的珠蛋白基因启动子上, 参与鸡的造血过程^[9-10]。随后又研究鉴定出 *GATA-1*、*GATA-2*、*GATA-3*、*GATA-4*、*GATA-5* 和 *GATA-6* 等基因, 由此形成了 GATA 转录因子家族^[11]。除了分布于动物之中, GATA 类转录因子还广泛地存在于植物、真菌等生物中。真菌中的 GATA 转录因子大部分只含有 1 个锌指结构域, 分为 2 类: C-X₂-C-X₁₇-C-X₂-C 和 C-X₂-C-X₁₈-C-X₂-C, 在光形态建成、昼夜节律、结合型转换和氮循环等多种生物学过程中发挥重要作用^[12]。与真菌 GATA 转录因子功能相似, 植物 GATA 转录因子在植物光响应调控、叶绿素合成、细胞分裂素响应以及碳、氮代谢和响应逆境胁迫等生物学过程中发挥重要作用^[4]。植物中大部分 GATA 转录因子含有 C-X₂-C-X₁₈-C-X₂-C 和 C-X₂-C-X₂₀-C-X₂-C 锌指结构^[13], 植物中首个 GATA 转录因子

NTL1 在烟草中鉴定出来, 并对其功能进行了分析研究^[14]。目前, GATA 转录因子在多种植物中都有深入研究, 如拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*)^[13]、水稻 (*Oryza sativa*)^[15]、番茄 (*Lycopersicon esculentum*)^[16]、辣椒 (*Capsicum annuum*)^[17] 和棉花 (*Gossypium* genus)^[18]等。GATA 转录因子在植物响应逆境胁迫中发挥着重要作用, 在干旱胁迫下, 高粱 (*Sorghum bicolor*) 的 *SbGATA11* 和 *SbGATA26* 的表达量显著上调, 在高粱响应干旱胁迫时发挥重要作用^[19]。

甘薯是我国重要的粮食作物之一, 在我国粮食生产领域有着十分重要的地位。甘薯在我国主要种植于干旱或者盐碱地带, 随着频发的干旱和高温等非生物逆境危害严重制约我国甘薯产业的发展。通过对甘薯响应逆境胁迫的研究, 克隆相关基因, 创制抗旱耐盐新品种, 可有效减轻干旱和盐胁迫对甘薯产量和品质的影响, 对保障我国粮食安全和促进生物质能发展具有重大意义。目前, GATA 转录因子家族在甘薯逆境胁迫响应中的研究报道较少。本研究以甘薯品种鄂薯 11 为材料, 克隆得到 1 个 GATA 类转录因子基因 *IbGATA16*, 对该基因进行生物信息学分析, 并对不同逆境 (干旱和盐胁迫) 处理下的基因表达模式进行分析, 旨在探究 *IbGATA16* 基因在逆境胁迫中的表达特性, 为甘薯抗旱耐盐育种提供有参考价值的基因资源, 并为揭示甘薯抗旱耐盐机理研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为鄂薯 11 甘薯品种, 由湖北省农业科学院粮食作物研究所选育, 种植于湖北省农业

科学院鄂州试验基地。

1.2 方法

1.2.1 甘薯总 RNA 提取及 cDNA 合成 使用 *FastPure*[®] Universal Plant Total RNA Isolation Kit (Vazyme, Wuhan) 提取鄂薯 11 叶片的总 RNA。用微量分光光度计检测总 RNA 的质量和浓度。使用 *TransScript*[®] All-in-One First-Strand cDNA Synthesis SuperMix for qPCR (One-Step gDNA Removal) (Trans, Wuhan) 反转录合成 cDNA 第一链, 反应体系为: Total RNA 1 μg , 5 \times *TransScript*[®] SuperMix 4 μL , gDNA Remover 1 μL , 使用 RNase-free water 补充至总体积为 20 μL ; 反应程序为: 42 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 15 min, 85 $^{\circ}\text{C}$ 加热 5 s。反转录得到的 cDNA 于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

1.2.2 *IbGATA16* 基因克隆 基于前期的转录组数据筛选到 *GATA16* 基因, 利用转录组中的基因序列与六倍体甘薯参考基因组数据库 (<https://ipomoea-genome.org/>) 进行比对, 获得 *IbGATA16* 的 CDS 序列。使用 Primer Premier 5 软件基于 CDS 序列设计特异性引物 (*IbGATA16*-F: 5'-ATGGA-TCTGAATGAGCAAATGA-3'; *IbGATA16*-R: 5'-CT-AGGCGTAAACAGAGCCGT-3')。使用 *IbGATA16*-F/R 引物对 cDNA 进行 PCR 扩增, 反应体系为 cDNA 2 μL , 10 \times LA PCR Buffer 5 μL , LA *Taq* 0.5 μL , dNTP Mix 8 μL , *IbGATA16*-F/R 引物各 1 μL , ddH₂O 32.5 μL 。反应程序为: 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min; 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s, 55 $^{\circ}\text{C}$ 复性 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 1.5 min, 35 个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min, 10 $^{\circ}\text{C}$ 保存。扩增产物在 1% 的琼脂糖凝胶上进行检测, 使用 *EasyPure*[®] Qcick Gel Extraction Kit (Trans, Wuhan) 回收扩增产物, 纯化后的 DNA 连接到 pMD 19-T 载体 (TaKaRa, Beijing), 转化到 DH-5 α 大肠杆菌感受态细胞 (Trans, Wuhan), 挑选单克隆进行测序及分析, 获得 *IbGATA16* 的 CDS 序列。根据 *IbGATA16* 基因起始密码子上游 1400 bp 左右启动子序列设计特异性引物 (*IbGATA16*-ProF: 5'-CATCGACAGGTACCCAAGGT-3'; *IbGATA16*-ProR: 5'-GGTGGTGTGACAATCACTGC-3'), 以鄂薯 11 的叶片基因组 DNA 为模板, 扩增得到 *IbGATA16* 基因的启动子序列。使用引物 *IbGATA16*-F/R 扩增鄂薯 11 的叶片基因组 DNA, 得到 *IbGATA16* 的基因组 DNA 序列。

1.2.3 *IbGATA16* 基因序列的生物信息学分析 使用 Primer Premier 5 软件推导出 *IbGATA16* 基因编码的氨基酸序列, 并在 NCBI ([https://www.ncbi.](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/)

[nlm.nih.gov/](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/)) 的 BlastP 程序中查找同源氨基酸序列; 使用 DNAMAN 8.0 软件进行多序列比对, 采用 MEGA 7.0 软件的 Neighbor-joining 法构建 *IbGATA16* 的同源序列进化树。参考刘意等^[20]的方法, 对 *IbGATA16* 基因进行生物信息学分析。使用 PlantCARE (<https://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>) 在线工具分析启动子顺式作用元件。

1.2.4 *IbGATA16* 基因表达模式分析 提取鄂薯 11 甘薯生长 3 个月大田苗的叶片、茎、根的总 RNA, 反转录成 cDNA, 对 *IbGATA16* 在甘薯不同组织中的表达进行分析。田间剪取鄂薯 11 材料, 放入 1/2 霍格兰溶液中驯化 7 d, 然后分别培养在含有 200 mmol/L NaCl、20% PEG-6000 的 1/2 霍格兰溶液中, 处理 0、1、3、6、12、24 h 后取样, 提取叶片总 RNA 并反转录成 cDNA, 对 *IbGATA16* 基因在不同逆境处理后的表达量进行分析。根据 *IbGATA16* 的 ORF 序列, 以甘薯 β 肌动蛋白基因作为内参基因, 使用 Primer Premier 5 设计荧光定量特异性引物 (*IbGATA16*-QF: 5'-T-GCGGGATCAAGTACAACAA-3', *IbGATA16*-QR: 5'-TCCTCCTCTCGCAACTGACT-3'。 β -Actin- F: 5'-AGCAGCATGAAGATTAAGGTTGTAGCAC-3', β -Actin-R: 5'-TGGAAAATTAGAAGCACTTCCTGTGAAC-3'), 参考刘意等^[20]的方法进行实时荧光定量反应。

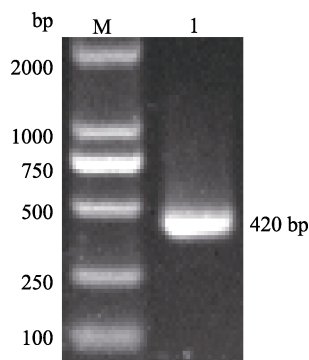
1.3 数据处理

使用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 计算 *IbGATA16* 基因的相对表达量, 数据表示为 3 个独立重复的平均值 \pm 标准误差, 使用 SPSS 26.0 软件进行单因素方差分析和显著性检验。

2 结果与分析

2.1 *IbGATA16* 基因的特性分析

以鄂薯 11 甘薯的 cDNA 作为模板, 扩增得到的 PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测后, 得到大小约 450 bp 的单一一条带, 与预期大小一致 (图 1)。回收测序后, 分析得知 *IbGATA16* 基因的 CDS 全长为 420 bp, 编码 139 个氨基酸。Pfam 在线分析结果显示, *IbGATA16* 在 21~77 aa 包含 1 个 ZnF-GATA (C-X₂-C-X₁₇-C-X₂-C) 结构域, 属于典型的 GATA 类转录因子。同时扩增得到 582 bp 的 *IbGATA16* 基因组全长序列, 包含 3 个外显子和 2 个内含子 (图 2)。



M: DL 2000 DNA marker.

图 1 *IbGATA16* 基因克隆

Fig. 1 Cloning of *IbGATA16* gene

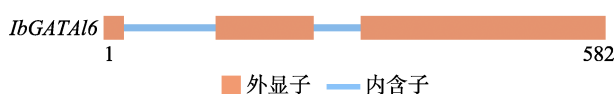
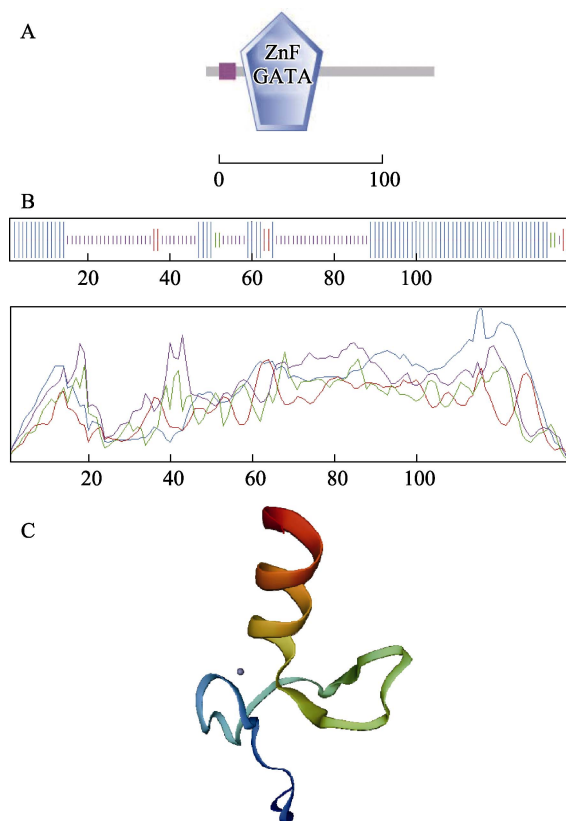


图 2 甘薯 *IbGATA16* 基因结构图

Fig. 2 Structure of *IbGATA16* gene

2.2 *IbGATA16* 基因的生物信息学分析

经 ProtParam 在线软件分析, *IbGATA16* 分子式为 $C_{643}H_{1077}N_{213}O_{205}S_{10}$, 预测蛋白分子量为 15.39 kDa, 等电点 (pI) 为 9.97, 为碱性蛋白。该蛋白带 16 个负电荷 (Asp+Glu) 和 28 个正电荷 (Arg+Lys) 残基, 不稳定系数 86.08, 为不稳定蛋白。利用 ProtScale 分析 *IbGATA16* 的亲水性, *IbGATA16* 蛋白的亲水性总平均值 (GRAVY) 为 -0.971, 脂溶指数为 57.63, 结果表明该蛋白为亲水性脂溶蛋白。TMHMM 在线软件 (<https://services.healthtech.dtu.dk/services/TMHMM-2.0/>) 预测显示 *IbGATA16* 蛋白不包含跨膜结构域。SignalP (<https://services.healthtech.dtu.dk/services/SignalP-6.0/>) 在线预测发现 *IbGATA16* 不存在信号肽结构, 表明该蛋白不属于分泌蛋白。使用在线软件 Cell-Ploc (<http://www.csbio.sjtu.edu.cn/bioinf/Cell-Ploc-2/>) 和 PSORT II (<https://wolfsort.hgc.jp/>) 进行亚细胞定位分析, 结果显示 *IbGATA16* 转录因子定位于细胞核。对 *IbGATA16* 蛋白的二级结构和三级结构进行预测, *IbGATA16* 蛋白二级结构包含 48.92% 的 α -螺旋结构、5.04% 的延伸结构、2.88% 的 β -转角结构和 43.17% 的无规则卷曲结构。使用 SWISSMODEL (<https://swissmodel.expasy.org/>) 网站对 *IbGATA16* 蛋白进行同源建模, 结果显示其三级结构模型与二级结构预测结果一致, 具有较多的 α -螺旋和无规则卷曲结构 (图 3)。



A: *IbGATA16* 蛋白保守结构域预测; B: *IbGATA16* 蛋白的二级结构; C: *IbGATA16* 蛋白的三级结构预测。

A: Prediction of conservative domain of *IbGATA16* protein; B: Prediction of secondary structure of *IbGATA16* protein; C: Prediction of tertiary structure of *IbGATA16* protein.

图 3 *IbGATA16* 蛋白结构预测

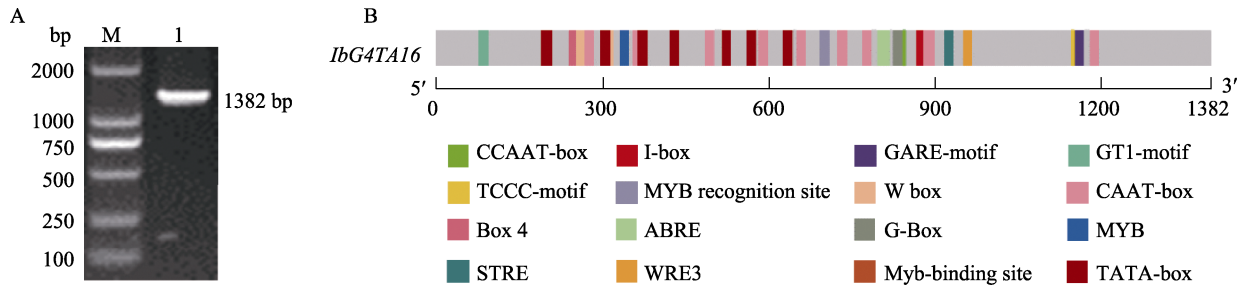
Fig. 3 Prediction structure of *IbGATA16* protein

2.3 *IbGATA16* 启动子顺式作用元件分析

以鄂薯 11 甘薯的基因组 DNA 为模板, 通过 PCR 扩增得到大小约 1400 bp 的片段, 与预期一致 (图 4A), 测序结果显示该序列长度 1382 bp。使用 PlantCARE 在线网站对 *IbGATA16* 基因上游启动子序列区域的序列进行分析, 该区域不仅包含启动子的基本作用元件、光应答相关元件, 还存在多个与抗逆相关的顺式作用元件, 包括 2 个脱落酸应答元件 (ABRE)、1 个赤霉素应答元件 (GARE-motif)、1 个 MYB 识别位点和 1 个 MYB 结合域等, 说明该基因可能与甘薯的逆境胁迫响应相关 (图 4B, 表 1)。

2.4 *IbGATA16* 蛋白进化分析

将 *IbGATA16* 编码的氨基酸序列在 NCBI 数据库中进行 Blast, 下载不同物种的同源氨基酸序列。使用 DNAMAN 8.0 软件将 *IbGATA16* 与不同植物的 *GATA16* 氨基酸序列进行多重序列比对, 发现 10 个 *GATA16* 蛋白具有 *GATA* 类转录因子的共



A: 甘薯 *IbGATA16* 基因启动子克隆, M: DL 2000 DNA marker, 1: *IbGATA16* 基因的启动子;

B: *IbGATA16* 基因启动子顺式作用元件分布。

A: Cloning of *IbGATA16* gene promoter in sweet potato, M: DL 2000 DNA marker; 1: Promoter of *IbGATA16* gene;

B: Distributi on of cis-acting elements in the *IbGATA16* promoter.

图 4 甘薯 *IbGATA16* 基因启动子

Fig. 4 Promoter of *IbGATA16* gene in sweet potato

表 1 *IbGATA16* 基因启动子抗逆相关顺式作用元件

Tab. 1 *Cis*-acting elements related to stress tolerance of *IbGATA16* promoter

顺式作用元件 <i>Cis</i> -acting elements	序列 Sequence	数量 Number	功能 Function
CCAAT-box	CAACGG	1	MYBHv1 binding site
TCCC-motif	TCTCCCT	1	part of a light responsive element
Box 4	ATTAAT	1	part of a conserved DNA module involved in light responsiveness
STRE	AGGGG	1	
I-box	gGATAAGGTG	1	part of a light responsive element
MYB recognition site	CCGTTG	1	
ABRE	ACGTG	2	<i>cis</i> -acting element involved in the abscisic acid responsiveness
WRE3	CCACCT	1	
GARE-motif	TCTGTTG	1	gibberellin-responsive element
W box	TTGACC	2	
G-Box	CACGTT	1	<i>cis</i> -acting regulatory element involved in light responsiveness
Myb-binding site	CAACAG	1	
GT1-motif	GGTTAA	1	light responsive element
CAAT-box	CAAAT/CAAT/CCAAT	10	common <i>cis</i> -acting element in promoter and enhancer regions
MYB	CAACAG	1	
TATA-box	ATATAA/TATA	8	core promoter element around -30 of transcription start

有特点, N 端氨基酸相对保守, 包含 C-X₂-C-X₁₇-C-X₂-C 结构域, C 端氨基酸序列则更加多样化(图 5)。推测 *IbGATA16* 与 *ItGATA16*、*ShGATA16* 等 GATA 类转录因子具有相似的生物学功能。使用 MEGA 7.0 软件的 Neighbor-joining 法构建 22 个不同物种中 GATA16 同源蛋白的进化树, 22 个 GATA16 蛋白被归为两大类 (I, II), *IbGATA16* 与三裂叶薯 *ItGATA16* 亲缘关系密切, 被归类到 I 类, 与杨梅 *MrGATA16*、葡萄 *VrGATA16*、欧洲油菜 *BnGATA16* 等亲缘关系较远(图 6)。

2.5 *IbGATA16* 基因的表达特性分析

采集 3 个月大小的鄂薯 11 甘薯大田苗的叶

片、茎和根进行 qRT-PCR 分析, 探究 *IbGATA16* 在甘薯不同组织中的表达情况。结果显示, *IbGATA16* 在根、茎和叶中均有不同程度的表达, 在叶中的表达量显著高于茎和根, 分别是茎和根中表达量的 3.16 倍和 7.57 倍(图 7A), 推测 *IbGATA16* 基因在甘薯叶片的形成中起到重要调控作用。

对甘薯在 20% PEG-6000、200 mmol/L NaCl 处理后叶片中的 *IbGATA16* 表达量进行分析。结果显示, 在 20% PEG-6000 胁迫处理 0~24 h 期间, 叶片中的 *IbGATA16* 表达量显著呈上调趋势, 在 1 h 时达到最大值, 表达量为 0 h 的 5.05 倍(图 7B)。

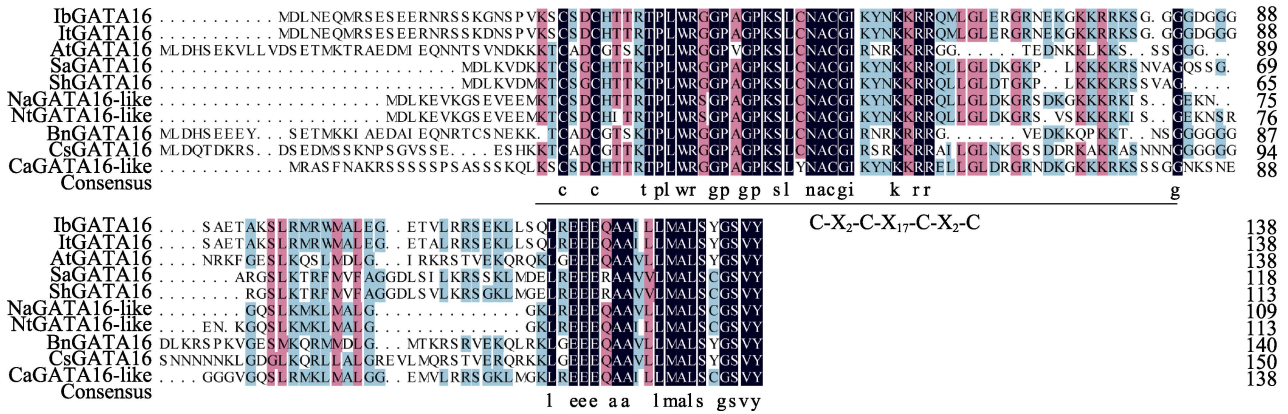


图 5 不同物种中 GATA16 (GATA16-like)同源蛋白序列的多重比较

Fig. 5 Multiple comparisons of GATA16 (GATA16-like) homologous protein sequences in different species

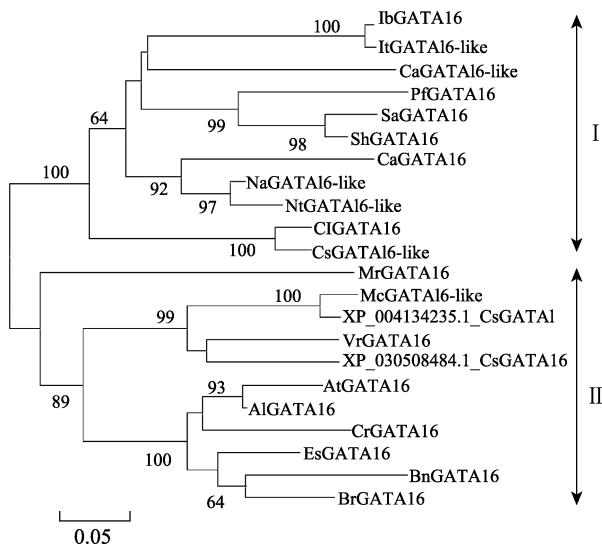


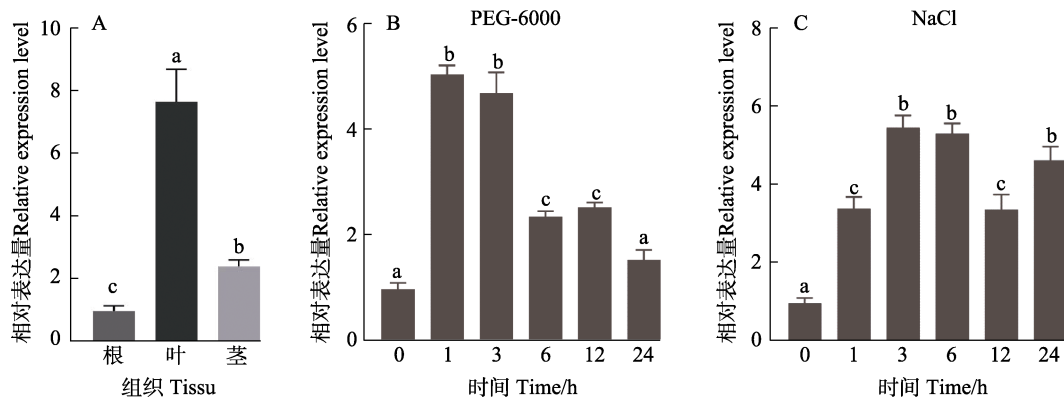
图 6 不同物种中 GATA16 (GATA16-like) 蛋白序列的同源进化树分析

Fig. 6 Homologous phylogenetic tree analysis of GATA16 (GATA16-like) protein sequences in different species

在 200 mmol/L NaCl 胁迫处理 0~24 h 期间, *IbGATA16* 均处于诱导上调状态, 其中 *IbGATA16* 在 3 h 达到峰值, 为 0 h 的 5.40 倍 (图 7C)。在非生物胁迫 (干旱、高盐) 处理下, *IbGATA16* 基因的表达量均表现出不同程度的上调, 推测 *IbGATA16* 参与了甘薯对干旱、高盐等胁迫信号的应答反应。

3 讨论

GATA 类转录因子是植物中广泛分布的转录因子家族之一, 在植物的生长发育和胁迫响应中发挥着重要的调控作用。杨树中过表达 GATA 类转录因子 *PdGNC*, 己糖激酶活性显著提高, 促进保卫细胞 NO 和 H₂O₂ 的产生, 降低气孔开度, 转基因杨树的抗旱能力得到提高^[21]。在拟南芥中过表达 *PdGATA13*, 促进气孔关闭, 转基因植株的抗旱能力显著提高^[22]。甘薯 GATA 类转录因子的



不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ($P < 0.05$).

图 7 *IbGATA16* 基因表达分析

Fig. 7 Expression analysis of *IbGATA16*

功能研究报道较少,通过分析甘薯 GATA 转录因子家族基因,可深入了解 GATA 转录因子家族基因在甘薯中发挥的作用,为甘薯的抗逆育种挖掘新的基因。

本研究从鄂薯 11 中克隆到 1 个 GATA 类转录因子基因 *IbGATA16*,与三裂叶薯 *ItGATA16* 的同源性最高。亚细胞预测其定位于细胞核,SMART 分析显示 *IbGATA16* 的 N 端包含 1 个保守结构域 C-X₂-C-X₁₇-C-X₂-C,属于典型的 GATA 类转录因子。预测 *IbGATA16* 为不稳定的亲水性脂溶蛋白,对于 *IbGATA16* 的序列特征和理化性质有进一步的了解。顺式调控元件能与转录因子特异性结合,在基因转录起始调控中起到重要调控作用^[23]。通过扩增得到 *IbGATA16* 基因的启动子序列,序列大小为 1382 bp,对 *IbGATA16* 基因启动子序列进行分析,结果显示该基因上游启动子区域含有多个激素应答和环境胁迫应答顺式调控元件,包括 MYB 结合域、ABRE 和 GARE-motif 等,表明 *IbGATA16* 基因可能参与甘薯响应逆境胁迫的调控。

植物中基因的时空表达模式具有特异性,与该基因的生物学功能有着密切联系。GATA 类转录因子在不同组织中的表达存在差异,马铃薯 *StGATA12* 基因在马铃薯根、叶、花和块茎中均有表达,在花和叶中的表达量高,在花器官发育起着重要作用^[24]。本研究发现,*IbGATA16* 基因在甘薯的根、叶和茎中均有表达,在叶中的表达量最高,揭示 *IbGATA16* 基因在不同部位的调控机制存在不同,推测 *IbGATA16* 在甘薯叶片响应干旱和盐胁迫等过程中发挥着重要作用。研究发现,不同 GATA 基因的表达模式也有不同,杨梅 *MrGATA1* 和 *MrGATA10* 基因在芽和小果实中表达量高;*MrGATA7* 在叶片中表达量高,在芽、小果实等组织中表达量低^[25]。表明不同 GATA 基因可能在不同组织部位参与不同的生理过程,通过克隆更多的甘薯 GATA 基因,对于该类基因的功能将会有更加全面了解。

干旱和盐胁迫是制约作物生长和产量形成的主要因素,寻找抗旱和耐盐基因对于提高植物的抗逆性具有重要意义。研究发现,过表达甘薯 *IbGATA24* 基因的转基因拟南芥植株的抗旱和耐盐能力显著提高^[26]。本研究中,2 种非生物胁迫(干旱、高盐)处理甘薯幼苗之后,*IbGATA16* 的表达量在 0~24 h 内均显著上调。在盐胁迫下,*IbGATA16* 的表达量在 3 h 达到最大值;在干旱胁迫

下,*IbGATA16* 的表达量在 1 h 达到峰值,*IbGATA16* 基因可能在甘薯响应干旱和盐胁迫过程中起到重要作用。

综上,本研究完成了甘薯 *IbGATA16* 基因的克隆、生物信息学分析和表达模式分析。本研究表明 *IbGATA16* 基因正响应干旱和盐胁迫,*IbGATA16* 基因可能在甘薯响应干旱和盐胁迫过程中起到重要作用,为甘薯的抗旱和耐盐品种改良提供重要参考,后续可使用转基因植株进一步验证 *IbGATA16* 基因的功能。

参考文献

- [1] 王欣,李强,曹清河,马代夫. 中国甘薯产业和种业发展现状与未来展望[J]. 中国农业科学, 2021, 54(3): 483-492. WANG X, LI Q, CAO Q H, MA D F. Current status and future prospective of sweetpotato production and seed industry in China[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2021, 54(3): 483-492. (in Chinese)
- [2] 谢一芝,郭小丁,贾赵东,马佩勇,边小峰,禹阳. 中国食用甘薯育种现状及展望[J]. 江苏农业学报, 2018, 34(6): 1419-1424. XIE Y Z, GUO X D, JIA Z D, MA P Y, BIAN X F, YU Y. Progresses and prospects on edible sweetpotato breeding in China[J]. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences, 2018, 34(6): 1419-1424. (in Chinese)
- [3] ZHANG H M, ZHU J H, GONG Z Z, ZHU J K. Abiotic stress responses in plants[J]. Nature Reviews Genetics, 2022, 23(2): 104-119.
- [4] SCHWECHHEIMER C, SCHRÖDER P M, BLABY-HAAS C E. Plant GATA factors: their biology, phylogeny, and phylogenomics[J]. Annual Review of Plant Biology, 2022, 73: 123-148.
- [5] CHEN X J, WANG P J, GU M Y, LIN X Y, HOU B H, ZHENG Y C, SUN Y, JIN S, YE N X. R2R3-MYB transcription factor family in tea plant (*Camellia sinensis*): genome-wide characterization, phylogeny, chromosome location, structure and expression patterns[J]. Genomics, 2021, 113(3): 1565-1578.
- [6] PODZIMSKA-SROKA D, O'SHEA C, GREGERSEN P L, SKRIVER K. NAC transcription factors in senescence: from molecular structure to function in crops[J]. Plants, 2015, 4(3): 412-448.
- [7] WANI S H, ANAND S, SINGH B, BOHRA A, JOSHI R. WRKY transcription factors and plant defense responses: latest discoveries and future prospects[J]. Plant Cell Reports, 2021, 40(7): 1071-1085.
- [8] FENG K, HOU X L, XING G M, LIU J X, DUAN A Q, XU

- Z S, LI M Y, ZHUANG J, XIONG A S. Advances in AP2/ERF super-family transcription factors in plant[J]. *Critical Reviews in Biotechnology*, 2020, 40(6): 750-776.
- [9] EVANS T, REITMAN M, FELSENFELD G. An erythrocyte-specific DNA-binding factor recognizes a regulatory sequence common to all chicken globin genes[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1988, 85(16): 5976-5980.
- [10] OMICHINSKI J G, CLORE G M, SCHAAD O, FELSENFELD G, TRAINOR C, APPELLA E, STAHL S J, GRONENBORN A M. NMR structure of a specific DNA complex of Zn-containing DNA binding domain of GATA-1[J]. *Science*, 1993, 261(5120): 438-446.
- [11] 王娟, 兰海燕. GATA 转录因子对植物发育和胁迫响应调控的研究进展[J]. *植物生理学报*, 2016, 52(12): 1785-1794. WANG J, LAN H Y. Advances in regulation of GATA transcription factor to plant development and stress responses[J]. *Plant Physiology Journal*, 2016, 52(12): 1785-1794. (in Chinese)
- [12] SCAZZOCCHIO C. The fungal GATA factors[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2000, 3(2): 126-131.
- [13] REYES J C, MURO-PASTOR M I, FLORENCIO F J. The GATA family of transcription factors in *Arabidopsis* and rice[J]. *Plant Physiology*, 2004, 134(4): 1718-1732.
- [14] DANIEL-VEDELE F, CABOCHE M. A tobacco cDNA clone encoding a GATA-1 zinc finger protein homologous to regulators of nitrogen metabolism in fungi[J]. *Molecular and General Genetics*, 1993, 240(3): 365-373.
- [15] GUPTA P, NUTAN K K, SINGLA-PAREEK S L, PAREEK A. Abiotic stresses cause differential regulation of alternative splice forms of GATA transcription factor in rice[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8: 1944.
- [16] YUAN Q, ZHANG C L, ZHAO T T, YAO M, XU X. A genome-wide analysis of GATA transcription factor family in tomato and analysis of expression patterns[J]. *International Journal of Agriculture and Biology*, 2018, 20(6): 1274-1282.
- [17] YU C, LI N, YIN Y X, WANG F, GAO S, JIAO C, YAO M. Genome-wide identification and function characterization of GATA transcription factors during development and in response to abiotic stresses and hormone treatments in pepper[J]. *Journal of Applied Genetics*, 2021, 62(2): 265-280.
- [18] ZHANG Z, ZOU X Y, HUANG Z, FAN S, QUN G, LIU A, GONG J, LI J, GONG W, SHI Y, FAN L, ZHANG Z, LIU R, JIANG X, LEI K, SHANG H, XU A, YUAN Y. Genome-wide identification and analysis of the evolution and expression patterns of the GATA transcription factors in three species of *Gossypium* genus[J]. *Gene*, 2019, 680: 72-83.
- [19] 宋迎辉, 朱灿灿, 代书桃, 秦娜, 王春义, 张真, 李君霞, 平西栓. 高粱 GATA 基因家族的全基因组鉴定及表达分析[J]. *山东农业科学*, 2022, 54(8): 14-23. SONG Y H, ZHU C C, DAI S T, QIN N, WANG C Y, ZHANG Z, LI J X, PING X S. Genome-wide identification and expression of GATA gene family in *Sorghum bicolor*[J]. *Shandong Agricultural Sciences*, 2022, 54(8): 14-23. (in Chinese)
- [20] 刘意, 刘泓江, 陈培茹, 杨新笋, 雷剑, 王连军, 柴沙沙, 靳晓杰, 杨圆圆, 程贤亮, 焦春海, 张文英. 甘薯响应蔓割病病原菌侵染的 *IbWRKY7* 基因克隆与表达分析[J]. *中国农业大学学报*, 2022, 27(6): 91-99. LIU Y, LIU H J, CHEN P R, YANG X S, LEI J, WANG L J, CHAI S S, JIN X J, YANG Y Y, CHENG X L, JIAO C H, ZHANG W Y. Cloning and expression analysis of *IbWRKY7* gene in response to *Fusarium oxysporum* f. sp. *batatas* infection in sweet potato[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2022, 27(6): 91-99. (in Chinese)
- [21] SHEN C, ZHANG Y, LI Q, LIU S, HE F, AN Y, ZHOU Y, LIU C, YIN W, XIA X. *PdGNC* confers drought tolerance by mediating stomatal closure resulting from NO and H₂O₂ production via the direct regulation of *PdHXX1* expression in *Populus*[J]. *New Phytologist*, 2021, 230(5): 1868-1882.
- [22] 沈超. 杨树 *PdGATA19* 和 *PdGATA13* 在干旱和低氮胁迫下的功能研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2021. SHEN C. Functional analysis of poplar *PdGATA19* and *PdGATA13* in response to low-nitrogen and drought stress[D]. Beijing: Beijing Forestry University, 2021. (in Chinese)
- [23] SCHMITZ R J, GROTEWOLD E, STAM M. Cis-regulatory sequences in plants: their importance, discovery, and future challenges[J]. *Plant Cell*, 2022, 34(2): 718-741.
- [24] 甘晓燕, 巩楠, 张丽, 陈虞超, 聂峰杰, 宋玉霞. 马铃薯 *GATA12* 基因克隆及表达分析[J]. *分子植物育种*, 2021, 19(7): 2123-2128. GAN X Y, GONG L, ZHANG L, CHEN Y C, NIE F J, SONG Y X. Cloning and expression analysis of *GATA12* gene in potato (*Solanum tuberosum*)[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2021, 19(7): 2123-2128. (in Chinese)
- [25] 易雨瞳, 廖文海, 孙进, 朱哲宁, 程焱, 曹世江. 杨梅全基因组的 GATA 转录因子鉴定、功能及进化分析[J]. *福建农林大学学报(自然科学版)*, 2022, 51(5): 644-653. YI Y C, LIAO W H, SUN J, ZHU Z N, CHENG Y, CAO S J. Genome-wide identification, functional and evolutionary analysis of GATA transcription factor family in *Myrica rubra*[J]. *Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition)*, 2022, 51(5): 644-653. (in Chinese)
- [26] ZHU H, ZHAI H, HE S Z, ZHANG H, GAO S P, LIU Q C. A novel sweetpotato GATA transcription factor, *IbGATA24*, interacting with *IbCOP9-5a* positively regulates drought and salt tolerance[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2022, 194: 104735.