

西番莲 HSF 基因家族的全基因组鉴定及成花期对高温胁迫的响应

吴艳艳^{1*}, 刘洁云¹, 周俊妞¹, 田青兰¹, 黄伟华¹, 朱陈利², 牟海飞^{1*}

1. 广西壮族自治区农业科学院生物技术研究所, 广西南宁 530007; 2. 广西壮族自治区农业科学院, 广西南宁 530007

摘要: 热激转录因子 (heat shock transcription factor, HSF) 是重要的调节因子, 在植物响应高温胁迫中发挥重要作用。高温胁迫对西番莲成花造成了严重的负面影响, 因此研究 HSF 调控西番莲耐热性的意义重大。本研究利用生物信息学技术在西番莲基因组上鉴定了 26 个热激转录因子基因, 分别命名为 *PeHSF1*~*PeHSF26*。西番莲 HSF 基因编码蛋白长度为 100~1589 个氨基酸, 分子量为 11 544.9~177 157.8 g/mol, 理论等电点为 4.25~10.80。西番莲 26 个 HSF 基因分布在第 1、4、5、6、7、8 和 9 染色体上, 分为 10 个亚群。西番莲全基因组复制事件分析结果表明, *ZX01G0033270*、*ZX01G0052790* 和 *ZX01G0052980* 等 5 个 HSF 基因位于重复片段内。西番莲 HSF 基因有 1~12 个内含子和 2~13 个外显子, 都包含 HSF-DNA 结合结构域。利用 RNA-seq 分析黄果原生种与金陵紫果 HSF 基因对高温环境的响应, 发现 *ZX01G0002530*、*ZX01G0052790* 和 *ZX01G0121040* 等基因在花蕾中表达量差异显著, 并通过 RT-qPCR 验证候选 HSF 基因表达水平。综合分析, 推测西番莲响应高温胁迫的最理想的候选 HSF 基因为 *ZX01G0121040*。这些结果有助于了解 HSF 在西番莲成花期响应高温胁迫过程中的功能, 为西番莲耐高温的遗传改良提供重要基因资源和理论依据。

关键词: 西番莲; 高温胁迫; 热激转录因子; 同源基因; 成花; 转录组测序; 候选基因

中图分类号: Q945.78; S667.9

文献标志码: A

Genome-wide Identification of HSF Gene Family and Their Response to Hot Ambient Temperature During Flower Development in Passion Fruit (*Passiflora edulis*)

WU Yanyan^{1*}, LIU Jieyun¹, ZHOU Junniu¹, TIAN Qinglan¹, HUANG Weihua¹, ZHU Chenli², MOU Haifei^{1*}

1. Biotechnology Research Institute, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning, Guangxi 530007, China; 2. Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning, Guangxi 530007, China

Abstract: Heat shock transcription factor (HSF) is an important regulatory factor that plays a crucial role in plant response to hot ambient temperature (HAT). High temperature stress has a serious negative impact on the flowering of passion fruit, therefore, studying the regulation of heat tolerance by HSF in passion fruit is of great significance. In this study, we identified 26 HSF genes on the genome of passion fruit using bioinformatics technology, named *PeHSF1*~*PeHSF26*. The genes could encode proteins of 100–1589 amino acids, with molecular weight 11 544.9–177 157.8 g/mol, and a theoretical isoelectric point of 4.25–10.80. The 26 genes were distributed on chromosomes 1, 4, 5, 6, 7, 8 and 9, and were divided into 10 subpopulations. The analysis of the whole genome replication event showed that *ZX01G0033270*, *ZX01G0052790* and *ZX01G0052980* were located within the genome duplications. The genes contained 1–12 introns and 2–13 exons, all contained HSF-DNA binding domains. RNA-seq analysis of Huangguo original species and Jinlingzigu HSF genes to HAT revealed that there were significant differences in the expression levels of genes,

收稿日期 2024-11-29; 接受日期 2024-12-19

基金项目 国家自然科学基金项目 (No. 32260740, No. 32060660); 广西自然科学基金项目 (No. 2023GXNSFAA026301)。

作者简介 吴艳艳 (1984—), 女, 硕士, 副研究员, 研究方向: 西番莲等特色果树种质资源收集与创新利用。*通信作者 (Corresponding author): 牟海飞 (MOU Haifei), E-mail: mhf@gxaas.net; 吴艳艳 (WU Yanyan), E-mail: wuyanyan@gxaas.net。

including ZX01G0002530, ZX01G0052790 and ZX01G0121040 in flower buds. The expression levels of candidate HSF genes were validated by RT-qPCR. Based on comprehensive analysis, it is supposed that the most ideal candidate HSF gene for passion flower response to high temperature stress was ZX01G0121040. The results would contribute to understand the function of HSF in response to high temperature stress during the flowering of passion fruit, and provide important genetic resources and theoretical basis for genetic improvement of passion fruit.

Keywords: passion fruit; hot ambient temperature; heat shock factor; orthologous gene; flowering; RNA sequencing; candidate gene

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2025.04.004

栽培种西番莲（又名百香果）为草质藤本植物，其果实具有芳香气味，且富含糖类、维生素及钙、铁、锌等矿物质元素，营养价值极高，深受消费者青睐。温度是影响植物生长、发育的重要外界因素之一。NAVE 等^[1]研究表明在长日照条件下西番莲品种 Passion Dream（黄果西番莲与紫果西番莲的杂交种）成花最佳温度为 22℃/16℃（日/夜），温度高于 28℃环境下任何光周期改变都不会观察到西番莲成花。这表明西番莲成花期对高温环境的耐受性较差，从而造成减产，是影响西番莲生产的重要问题。

热激转录因子（heat shock transcription factor, HSF）是一类调控植物热激反应的转录因子。热激转录因子基因序列由 5 个部分组成：（i）DNA 结合区域 DBD；（ii）寡聚化结构域 OD；（iii）核定位信号 NLS；（iv）核输出信号 NES；（v）C 末端激活结构域 AHA^[2]，其中 DBD 是所有结构域中最保守的区域，能够识别热反应基因启动子的顺式元件^[3]。PELHAM 等^[4]首次在酵母中鉴定了热激转录因子。随着多个物种高质量参考基因组公布，研究人员已经在拟南芥（21）、水稻（25）、番茄（26）、甘蓝（52）、辣椒（25）、胡萝卜（35）、葡萄（19）、柑橘（18）、苹果（23）、草莓（17）、杨树（31）、大豆（52）、高粱（24）、玉米（22）、小麦（61）、芝麻（30）、木薯（32）等鉴定了 HSF 基因^[2, 5]。最近，YU 等^[5]利用 111 种植物全基因组，共鉴定了 2950 个 HSF 基因，构建了植物 HSF 基因数据库（<http://hsfdb.bio2db.com/>），这为人们研究植物 HSF 基因功能提供了便利。前人研究表明，热激蛋白及热激转录因子在植物成花过程中起着重要调节作用。在拟南芥中，热激蛋白 HSP90 与关键开花调节因子 LFY、SOC1 和 AGL24 相互作用，促进开花^[6]。热激转录因子 HSFA2 与拟南芥对高温的传代记忆，促使植物提前开花^[7]。在番茄中，热激转录因子调控花蕾对

高温的响应^[8]。因此，利用西番莲基因组鉴定热激转录因子，揭示在高温胁迫环境中其对成花的影响十分必要。

2021 年，MA 等^[9]成功组装了高质量西番莲基因组，本研究利用生物信息学方法从西番莲基因组中鉴定了 HSF 家族成员，构建了模式植物及重要耐热植物的 HSF 系统进化树，分析了西番莲 HSF 基因在花蕾、叶片等组织部位的表达模式，推测可能影响西番莲成花期耐热性基因，本研究将促进人们对西番莲适应高温环境机制的认知，为西番莲耐高温育种提供重要基因资源和理论基础。

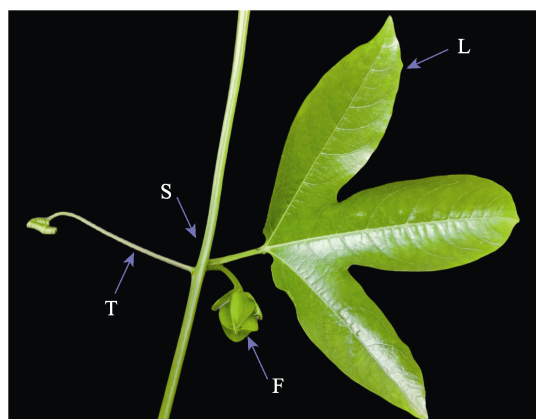
1 材料与方法

1.1 材料

2022 年 4 月 2 日，高温耐受西番莲品种金陵紫果（ZG）和敏感品种黄果原生种（HG）种植于广西南宁市美丽南方试验地高温处理设施内。

1.2 方法

1.2.1 高温处理 用钢管制成长（10.0 m）×宽（2.0 m）×高（4.0 m）的生长棚框架，固定于沟面，于高温处理开始时通过在生长棚框架四周覆盖塑料薄膜（透光率 95%以上）进行升温，大棚两侧上部各均匀留出 20 cm 高的空隙，用于气体交换。高温处理结束后将薄膜升起，后期管理及田间小气候与对照一致。热处理前将增温棚处于全部打开状态，与对照处于同一自然环境条件，于植株二级蔓抽出开始高温热胁迫处理，将增温棚顶部和侧面膜放下，并实时监测棚内温度，直至达到高温设定值，即热胁迫处理日最高温度 38~45℃，日平均温度 30~31℃，日温度≥35℃持续时间 4~6 h；自然对照日最高温度<37℃，日平均温度<28.5℃，日温度≥35℃持续时间<2 h。40 d 后结束热处理。处理结束后，在中午 12:00 取样，包括花蕾、卷须、叶片和茎（图 1）。



F: 花蕾; T: 卷须; L: 叶片; S: 茎秆。

F: Flower; T: Tendril; L: Leaf; S: Stem.

图1 西番莲成熟节点的结构

Fig. 1 Structure of mature nodes in passion fruit

1.2.2 西番莲 HSF 家族成员鉴定 基于热激转录因子的特异氨基酸序列 (Pfam: PF00447), 在紫果西番莲基因组数据库 (<https://db.cngb.org/search/assembly/CNA0017758/>) 下载蛋白序列, 使用 PfamScan 软件将西番莲的蛋白序列在 Pfam 数据库中进行检索, 鉴定西番莲 HSF 家族成员。采用相同方法, 在水稻 (*Oryza sativa* L. *japonica*, <http://rice.uga.edu/>)、拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*, <https://www.arabidopsis.org/index.jsp>)、番茄 (*Solanum lycopersicum*, http://plants.ensembl.org/Solanum_lycopersicum/Info/Index)、单瓣茉莉花 (*Jasminum sambac*, <https://ngdc.cncb.ac.cn/gwh/Assembly/22882/show>)、木薯 (*Manihot esculenta*, https://cbi.gxu.edu.cn/yxguo/DockingDB/download_files/data/)、玉米 (*Zea mays*, http://plants.ensembl.org/Zea_mays/Info/Index) 数据库中鉴定 6 个物种的 HSF 家族成员。

1.2.3 西番莲 HSF 理化性质预测 使用在线软件 ProtParam (<https://web.expasy.org/protparam/>) 预测西番莲 HSF 蛋白的长度、分子量和等电点。

1.2.4 西番莲与 6 个物种的 HSF 系统进化树分析 将西番莲、水稻、拟南芥、番茄、单瓣茉莉花、木薯 (单倍型 A 和 B 基因组) 和玉米的 HSF 成员的蛋白序列合并输入到 MUSCLE 进行全局比对, 比对结果使用 MEGA 7 程序构建 maximal likelihood 似然树, 设置 bootstrap 重复次数为 1000 次, 最后输入 iTOL 在线软件 (<https://itol.embl.de/>) 进行美化。

1.2.5 西番莲 HSF 基因结构与共线性分析 基因结构: 从 GFF 文件中提取 HSF 基因的外显子、

内含子位置信息, 从 Pfam 注释结果中提取 motif 信息, 使用 GSDS 程序绘制如下基因结构及 motif 分布图。共线性分析: 首先 BLAST 比对所有蛋白序列, 设定阈值 $E < 1e-5$, 最小覆盖度大于 40%。比对结果输入 MCScanX 程序, 参数默认, 输出全基因组范围内的共线性区块, 并标注位于这些共线性区块内的目标基因家族。最后, 用 Circos 在线软件 (<https://circos.ca/intro/tabularvisualization/>) 绘图。

1.2.6 mRNA 提取 利用 TRIzol[®] Reagent 试剂盒提取 total RNA (Invitrogen, USA), 具体流程按照说明书操作。OligodT 富集 mRNA, 片段化 mRNA, 反转合成 cDNA 和连接 adaptor 参照前期发表文献的试验操作进行^[10]。

1.2.7 转录组测序 采用 Illumina NovaSeq6000 测序平台完成转录组测序, 构建 Illumina PE 文库进行 2×150 bp 测序, 通过 fastp 软件对获得的测序数据进行质量控制, 包括: (1) 碱基错误率分布统计; (2) 碱基含量分布统计。将质控后的原始数据, 即 clean data (reads), 利用 Hisat2 软件与参考基因组比对, 参考基因组来自 <https://db.cngb.org/search/assembly/CNA0017758/>。随后, 获得 mapped reads, 同时利用 RSeQC-2.3.6 软件对转录组测序的比对结果进行质量评估, 主要包括测序饱和度、基因覆盖度、reads 在参考基因组不同区域分布以及 reads 在不同染色体分布分析。使用 StringTie 软件对每个样本进行拼接, 最终合并在一起。

1.2.8 转录数据分析 使用 RSEM 软件 (<http://deweylab.github.io/RSEM/>) 分别对基因/转录本的整体表达水平进行定量分析, 以便后续分析不同样本间基因/转录本的差异表达情况, 定量指标为 TPM (transcripts per million reads)。基因表达量分析获得基因/转录本的 read counts 数量后, 采用 DESeq2 对多样本项目进行样本间或组间基因/转录本差异表达分析, 鉴定出差异表达的基因/转录本, 设置参数: $P \text{ adjust} < 0.05$ 并且 $|\log_2FC| \geq 1$ 。

利用聚类热图在线软件 (<https://cloud.oebiotech.cn/task/detail/heatmap/>) 展示西番莲 HSF 基因的表达量及相关性, 数据归一化方式为 row。

1.2.9 RT-qPCR 分析 采用 Trizol 法提取金陵紫果和黄果原生种花蕾的总 RNA, 利用 HiScript II Q RT SuperMix for qPCR (+gDNA wiper) 试剂盒

进行反转录。实时荧光定量 PCR 反应采用 Universal SYBR qPCR Master 法，反应体系（20 μL）：10 μL Universal SYBR qPCR Master Mix，0.5 μL 上游引物，0.5 μL 下游引物，1 μL

cDNA，8 μL ddH₂O。反应条件为 94 ℃预变性 3 min；94 ℃变性 15 s，58 ℃退火 15 s，72 ℃延伸 20 s，40 个循环；设置 3 个重复。荧光定量 PCR 相关引物见表 1。

表 1 RT-qPCR 相关基因及引物信息
Tab. 1 Information of gene and primers using for RT-qPCR

基因名称 Gene name	正向引物序列（5'-3'） Forward primer sequence (5'-3')	反向引物序列（5'-3'） Reverse primer sequence (5'-3')	产物大小 Product size/bp
<i>EF1</i>	GGCTGAGCGTGAACGTGGTA	CGGCACAATCAGCCTGGGAA	146
<i>ZX01G0002530</i>	TGGAACCTCTTCTTCGCAGTC	CGTTGTCCTTCTTCAGCCTCT	146
<i>ZX01G0052790</i>	AAGCGGAGATAGGAACGAACAT	AGCAGCAGAGAAGAGAAGAAGG	122
<i>ZX01G0121040</i>	ATCAGTGCGATGCGTCAGT	TGTCGTAAGTCTTGCTCAGGAA	114
<i>ZX04G0012630</i>	TCCAACACCAACAGCAACAC	GTATTCAACTGCCTAACGAAGC	188
<i>ZX05G0014510</i>	GAAGTCAAGAATCCATAGCAAGCAT	GAAGAGGAGAAGAGCAGTCAAGAA	150
<i>ZX06G0002180</i>	TTGGCAGTGATAGTTGTTGGTT	GAGTCCGTGGAAGCATCGT	156
<i>ZX06G0012300</i>	TTAGTTGGAAGAAGGTGAAGGTGAA	GAAGTTGTTGTGCTTGAAGTATCTG	147
<i>ZX07G0010660</i>	CGCAGGAACATCATCGGTCAA	TGGTGTGGCATGGATCTCTG	179
<i>ZX08G0002060</i>	CATTGCGTTGAAGTTGGAAGGT	CCTCGTCATCTGCTGTTGCT	183

2 结果与分析

2.1 西番莲及 6 种植物的 HSF 基因家族成员鉴定

基于 HSF 保守结构域（PF00447）氨基酸序列信息，利用 PfamScan 软件在西番莲、拟南芥、水稻、番茄、单瓣茉莉花、木薯和玉米中分别检测到 26、24、25、26、23、63 个（单倍型 A 基因组 32 个，单倍型 B 基因组 31 个）、玉米 26 个。西番莲 HSF 基因分布在第 1、4、5、6、7、8、9 染色体上，其中第 1 染色体上的 HSF 基因数量最多，为 9 个，而第 2 和 3 染色体上未鉴定出 HSF 基因，说明 HSF 基因在西番莲基因组上分布不均匀。西番莲的 26 个 HSF 基因平均长度为 3062 bp，其中 *ZX06G0012300* 长度最小，为 1073 bp；*ZX01G0121040* 的长度最大，为 12 613 bp；13 个 HSF 基因分布在正义链上，13 个在反义链上（表 2）。依据西番莲 26 个 HSF 基因在基因组上的位置，将其命名为 *PeHSF1~PeHSF26*。理化性质分析结果显示，西番莲 HSF 基因编码的氨基酸数量为 100~1589，分子量为 11 544.9~177 157.8 g/mol，预测等电点为 4.25~10.80（表 2）。

2.2 西番莲及 6 种植物的 HSF 基因家族成员的系统进化树

基于西番莲的 26 个 HSF 蛋白的氨基酸序列，利用 MUSCLE 软件进行全局比对，比对结果输入

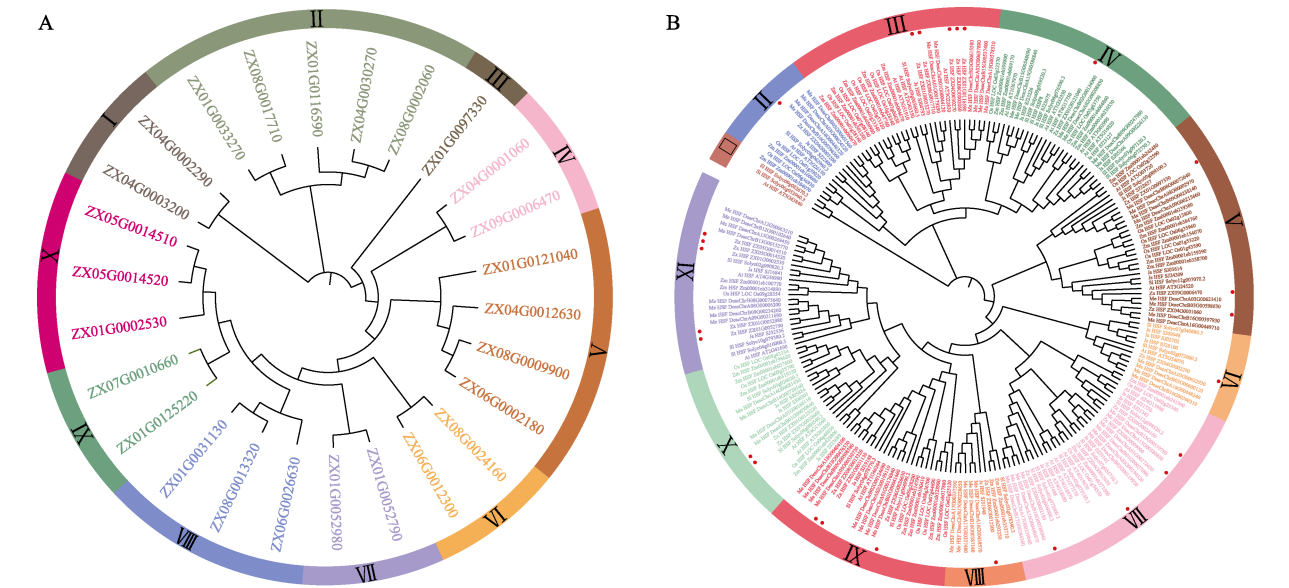
MEGA 7 构建最大似然树。根据进化关系，将 26 个 HSF 基因分为 10 个亚群体，其中亚群 II 包含 5 个 HSF 基因，亚群 III 仅有 1 个 HSF 基因（图 2A）。为了解不同物种间 HSF 基因的进化关系，基于西番莲等 7 个物种 213 个 HSF 蛋白构建了进化树，共分为 11 个亚群（图 2B）。木薯是热带地区广泛种植的作物，其基因组大小为 687 Mb^[11]，包含 32 个 HSF 基因。单瓣茉莉花是一种常绿植物，在夏季 38 ℃以上的高温也可开花^[12]，因此，了解茉莉花耐高温胁迫分子机有助于预测西番莲 HSF 基因的功能。

2.3 西番莲基因组复制事件分析

利用 26 个 HSF 基因分析片段重复事件，结果表明有 4 个大的基因组重复区，包含 5 个 HSF 基因，分别为 *ZX01G0033270*、*ZX01G0052790*、*ZX01G0052980*、*ZX01G0116590* 和 *ZX08G0017710*。具体信息是：(i) 第 1 染色体上 37 846 331~37 847 969 bp 对应第 1 染色体上 222 639 747~222 641 414 bp；(ii) 第 1 染色体上 52 338 517~52 340 350 bp 对应第 1 染色体上 52 437 222~52 439 067 bp；(iii) 第 1 染色体上 37 846 331~37 847 969 bp 对应第 8 染色体上 47 243 875~47 247 554 bp；(iv) 第 1 染色体上 222 639 747~222 641 414 bp 对应第 8 染色体上 47 243 875~47 247 554 bp（表 3，图 3）。

表 2 西番莲基因组 26 个 HSF 基因家族成员基本信息
Tab. 2 Information of 26 HSF gene family members in passion fruit genome

基因 ID Gene ID	基因名称 Gene name	染色体 Chromosome	起始位置 Start/bp	终止位置 End/bp	DAN 链 DNA strand	氨基酸数目 Number of amino acids	分子量 Molecular weight/ (g·mol ⁻¹)	等电点 Isoelectric point
ZX01G0002530	PeHSF1	1	8 125 264	8 127 385	—	278	30 453.2	5.50
ZX01G0031130	PeHSF2	1	36 650 915	36 652 352	—	363	40 377.0	8.36
ZX01G0033270	PeHSF3	1	37 846 331	37 847 969	—	214	25 155.0	10.80
ZX01G0052790	PeHSF4	1	52 338 517	52 340 350	—	231	26 844.2	7.92
ZX01G0052980	PeHSF5	1	52 437 222	52 439 067	+	231	26 870.2	8.22
ZX01G0097330	PeHSF6	1	196 488 976	196 493 029	+	538	60 346.7	4.43
ZX01G0116590	PeHSF7	1	222 639 747	222 641 414	—	337	38 773.4	5.84
ZX01G0121040	PeHSF8	1	226 501 965	226 514 578	+	1589	177 157.8	7.64
ZX01G0125220	PeHSF9	1	232 190 295	232 193 763	+	378	41 574.7	4.25
ZX04G0001060	PeHSF10	4	2 286 217	2 288 157	—	315	35 432.8	5.52
ZX04G0002290	PeHSF11	4	4 010 975	4 016 322	+	866	95 458.4	5.24
ZX04G0003200	PeHSF12	4	4 837 417	4 840 450	—	450	50 342.3	4.50
ZX04G0012630	PeHSF13	4	40 722 041	40 725 557	+	100	11 544.9	9.55
ZX04G0030270	PeHSF14	4	111 116 250	111 118 797	+	359	41 637.4	4.68
ZX05G0014510	PeHSF15	5	98 957 274	98 960 197	—	291	31 652.7	6.30
ZX05G0014520	PeHSF16	5	98 984 937	98 991 511	—	637	70 341.3	6.22
ZX06G0002180	PeHSF17	6	10 474 728	10 478 166	—	401	45 808.5	4.74
ZX06G0012300	PeHSF18	6	67 773 172	67 774 245	+	215	25 004.7	9.83
ZX06G0026630	PeHSF19	6	110 588 691	110 591 996	—	274	31 588.4	8.46
ZX07G0010660	PeHSF20	7	76 909 182	76 910 613	+	394	43 079.7	6.52
ZX08G0002060	PeHSF21	8	9 063 848	9 066 494	+	359	41 530.3	4.77
ZX08G0009900	PeHSF22	8	35 548 388	35 550 721	+	375	42 371.8	5.27
ZX08G0013320	PeHSF23	8	41 453 911	41 455 248	+	341	38 597.1	9.94
ZX08G0017710	PeHSF24	8	47 243 875	47 247 554	—	394	44 973.4	5.38
ZX08G0024160	PeHSF25	8	53 331 981	53 334 283	+	484	54 373.6	5.11
ZX09G0006470	PeHSF26	9	32 699 617	32 701 137	—	318	35 592.3	6.80

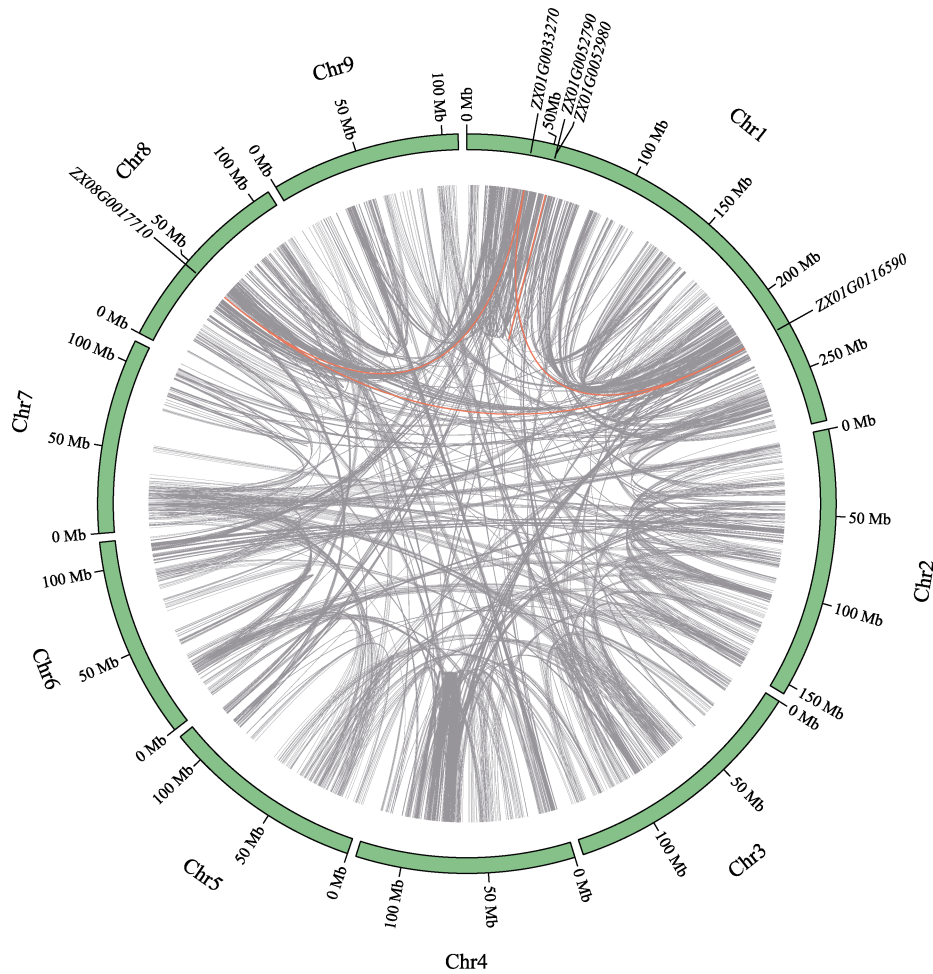


A: 西番莲 HSF 系统进化树; B: 西番莲、拟南芥、水稻、番茄、单瓣茉莉花、木薯和玉米的 HSF 系统进化树。
A: Phylogenetic tree of HSF in passion fruit; B: Phylogenetic trees of HSF in *Passiflora edulis*, *Arabidopsis thaliana*, *Oryza sativa*, *Solanum lycopersicum*, *Jasminum sambac*, *Manihot esculenta* and *Zea mays*.

图 2 西番莲与 6 个物种的 HSF 系统进化树
Fig. 2 Phylogenetic tree of HSF in passion fruit and six species

表 3 西番莲 HSF 基因在重复片段区域的分布
Tab. 3 Distribution of passion fruit HSF gene in duplicate regions

重复区 Duplicate region	重复 1 Duplication 1			重复 2 Duplication 2		
	染色体 Chromosome	位置 Position/bp	基因 Gene	染色体 Chromosome	位置 Position/bp	基因 Gene
1	Chr1	37 846 331~37 847 969	ZX01G0033270	Chr1	222 639 747~222 641 414	ZX01G0116590
2	Chr1	52 338 517~52 340 350	ZX01G0052790	Chr1	52 437 222~52 439 067	ZX01G0052980
3	Chr1	37 846 331~37 847 969	ZX01G0033270	Chr8	47 243 875~47 247 554	ZX08G0017710
4	Chr1	222 639 747~222 641 414	ZX01G0116590	Chr8	47 243 875~47 247 554	ZX08G0017710



橙色线条表示 HSF 基因共线性区域
The orange lines represent the collinearity region of the HSF gene.

图 3 西番莲 HSF 基因的共线性

Fig. 3 Collinearity of HSF gene in passion fruit

由于西番莲基因组共线性区域的 HSF 仅有 5 个，无法推测全基因组复制（whole genome duplication, WGD）事件，因此使用 MCScanX 软件鉴定处于基因组共线性区块内 4 对同源基因，计算每个同源基因对的 K_a 、 K_s 、 K_a/K_s 值， K_s 值越高表明基因组复制速度越快。一般认为 $K_s=1.5$ 处为双子叶植物共同经历的六倍化事件（距今约 110 百万年），随后西番莲经过 2 次独立的全基因组复制事件 WGD-1 和 WGD-2（图 4）。

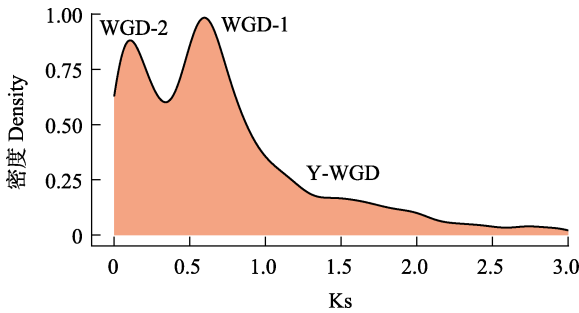


图 4 西番莲 WGD 事件和 K_s 密度图

Fig. 4 WGD events and K_s density of passion fruit

2.4 西番莲 HSF 基因的结构及保守基序

通过基因结构分析可以了解西番莲 HSF 基因家族成员的进化关系。本研究对 26 个 HSF 基因进行基因结构分析，从内含子-外显子组成来看, *PeHSF* 基因有 1~12 个内含子和 2~13 个外显子（图 5）。26 个西番莲 HSF 基因均含有 DNA 结合保守结构域，这与前人研究结果一致^[3]。ZX01G0121040 除了含有 DNA 结合保守结构域之外，还有 SNARE、Syntaxin 2、PPR、PPR1、PPR2

结构域，ZX05G0014520 还含有 RCCR 结构域，ZX04G0002290 含有 SurE 结构域。

2.5 西番莲 HSF 基因在成花期对高温的反应

由于高温敏感品种黄果原生种和高温耐受品种金陵紫果在夏天高温环境中成花差异（图 6），因此，可以 2 个品种的叶片（leaf, L）、卷须（tendril, T）、花蕾（flower, F）和茎（stem, S）进行转录组分析，找出影响西番莲耐热差异的基因。

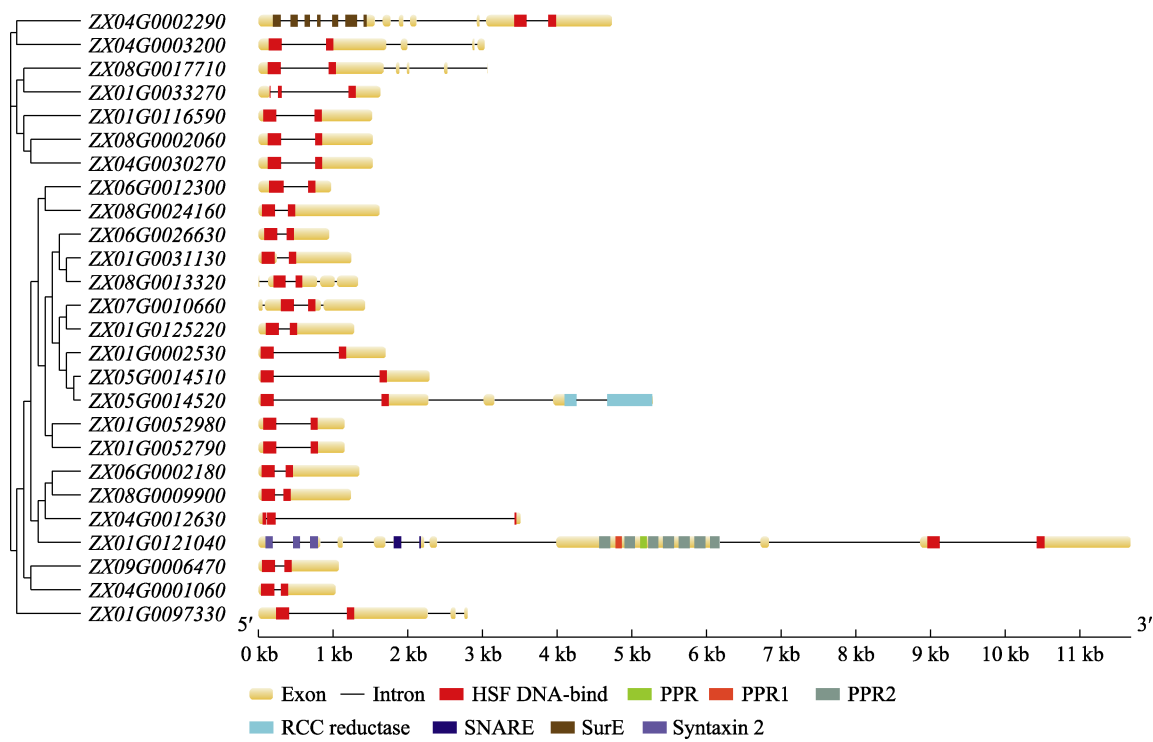
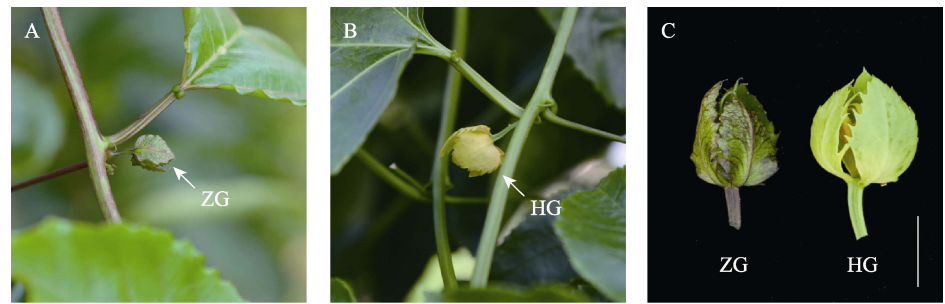


图 5 西番莲 HSF 基因结构及聚类
Fig. 5 Gene structure and clustering of HSF in passion fruit



A: 金陵紫果 (ZG), 花蕾正常; B: 黄果原生种 (HG), 花蕾败育; C: 紫果与黄果原生种花蕾的比较。标尺=1 cm。
A: Ziguo (ZG), normal flower buds; B: Huangguo (HG), abnormal flower buds; C: Comparison of flower buds between Ziguo and Huangguo. Scale bars=1 cm.

图 6 高温环境对西番莲金陵紫果和黄果原生种成花的影响

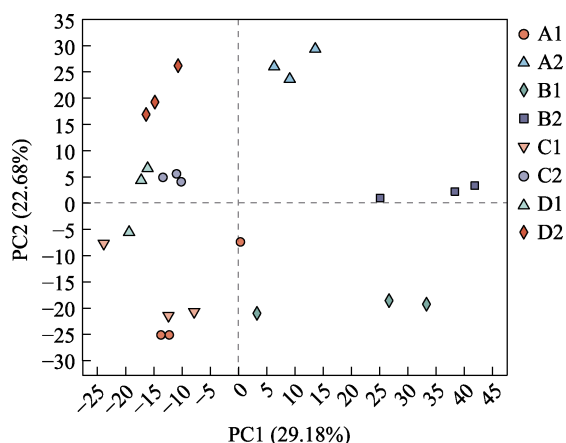
Fig. 6 Effect of flower development in passion fruit under hot ambient temperature

将高温处理后采集的 24 个样品测序，测序数据质量控制后有效读长（clean reads）数为 41 725 898~52 997 150 条，有效碱基数为 6 058 511 181~7

620 631 463 bp，测序碱基正确率在 99.9%（Q₃₀）以上的碱基占总碱基的百分比为 92.34%~93.70%（附表 1）。

将质控后有效读长与西番莲参考基因组比对 (<https://db.cngb.org/search/assembly/CNA0017758/>), 能定位到基因组上的有效读长数为 30 464 977~41 566 866, 比率为 72.47%~78.63%, 平均比率为 76.72%; 在参考序列上有多个比对位置的有效读长数为 1 706 379~3 969 640, 比率为 3.75%~9.31%; 在参考序列上有唯一比对位置的 clean reads 数目为 28 682 624~37 830 849, 比率为 67.86%~72.20% (附表 2)。

利用 RSEM 软件分别对基因和新转录本的表达水平进行定量分析, 定量指标为 TPM (transcripts per million), 24 个样品的基因表达量见附表 3。基于基因表达量, 分析 24 个样本间的相关系数, 结果显示样本生物学重复性好。通过 PCA 分析发现, 生物学重复间的样本间相似性高 (图 7)。

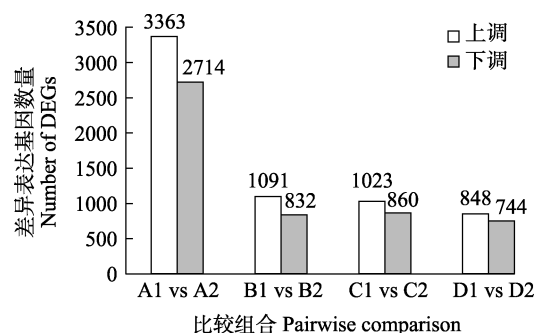


A1: HG 花蕾, A2: ZG 花蕾; B1: HG 卷须, B2: ZG 卷须;
C1: HG 茎, C2: ZG 茎; D1: HG 叶片, D2: ZG 叶片。
A1: HG flower, A2: ZG flower; B1: HG tendril, B2: ZG tendril;
C1: HG stem, C2: ZG stem; D1: HG leaf, D2: ZG leaf.

图 7 西番莲成花期 24 个样品的主成分分析

Fig. 7 Principal component analysis of 24 samples during flowering of passion fruit

采用 DESeq2 软件进行组间基因表达量差异分析, 获得 2 组间发生差异表达的基因 (DEGs)。在接种 0 h 时, HG 与 ZG 的花蕾间的差异表达基因共有 6077 个, 其中 3363 个上调基因, 2714 个下调基因; 卷须间的差异表达基因共有 1923 个, 其中 1091 个上调基因, 832 个下调基因; 茎秆间的差异表达基因共有 1833 个, 其中 1023 个上调基因, 860 个下调基因; 叶片间的差异表达基因共有 1592 个, 其中 848 个上调基因, 744 个下调基因 (图 8, 附表 4)。



A1: HG 花蕾, A2: ZG 花蕾; B1: HG 卷须, B2: ZG 卷须;
C1: HG 茎, C2: ZG 茎; D1: HG 叶片, D2: ZG 叶片。
A1: HG flower bud, A2: ZG flower bud; B1: HG tendril, B2: ZG tendril;
C1: HG stem, C2: ZG stem; D1: HG leaf, D2: ZG leaf.

图 8 西番莲成花期 24 个样品的基因表达量差异

Fig. 8 DEGs of 24 samples during flowering of passion fruit

分析 26 个 HSF 基因在紫果和黄果原生种中的表达量 (TPM), 结果表明 ZX01G0002530、ZX01G0052790、ZX01G0052980、ZX01G0121040、ZX05G0014510、ZX05G0014520、ZX06G0002180、ZX07G0010660 在花蕾的表达量差异显著 (表 4, 图 9)。与黄果原生种相比, ZX05G0014520、ZX08G0002060、ZX01G0002530 在金陵紫果的叶片、卷须和茎秆中表达量上调; 虽然 ZX07G0010660、ZX01G0121040 和 ZX01G0052790 在叶片、花蕾和茎秆中表达量下调, 但是仅在花蕾中达到显著性差异, 且 ZX01G0121040 基因的表达水平高 (表 4)。

由于 ZX01G0052980 和 ZX01G0055790 之间以及 ZX05G0014510 和 ZX05G0014520 之间的序列高度相似, 不利于设计引物, 本研究利用 RT-qPCR 技术检测 ZX01G0002530、ZX01G0052790、ZX01G0121040、ZX04G0012630、ZX05G0104150、ZX06G0002180、ZX09G0012300、ZX07G0010660、ZX08G0002060 和 ZX08G0024160 在黄果原生种和金陵紫果花蕾的表达量 (图 10)。RT-qPCR 分析结果表明, 10 个 HSF 基因在黄果原生种与金陵紫果的表达水平与 RNA-seq 分析的结果一致。值得注意的是, 仅有 ZX06G0012300 在金陵紫果的表达水平高于黄果原生种。

3 讨论

热应激转录因子是植物热胁迫防御响应中的中心调节子。目前, 研究人员在水稻、拟南芥和番茄中发现 HSF 基因参与调控高温环境响应。GUO 等^[13]在拟南芥和水稻基因组中分别鉴定出

表 4 12 个 HSF 基因在西番莲中的表达水平及差异
Tab. 4 Expression levels and differences of 12 HSF genes in passion fruit

基因 Gene	组织 Tissue	表达水平 (TPM) Expression level (TPM)		Log ₂ FC	P adjust	显著性 Significance	调控作用 Regulation
		金陵紫果	黄果原生种				
		Jinlingziguo	Huangguo original species				
ZX05G0014520	茎秆	3.337	1.883	0.900	0.005	no	up
	花蕾	5.073	23.683	-1.900	7.53E-10	yes	down
	叶片	8.977	4.117	1.272	0.094	no	up
	卷须	5.807	3.347	0.801	0.166	no	up
ZX08G0002060	茎秆	0.030	0.010	1.528	1.000	no	up
	花蕾	0.133	0.207	-0.355	0.787	no	down
	叶片	0.107	0.040	1.537	0.811	no	up
	卷须	0.117	0.080	0.603	0.865	no	up
ZX08G0024160	茎秆	7.110	6.940	0.107	0.821	no	up
	花蕾	6.607	9.343	-0.198	0.571	no	down
	叶片	5.343	5.843	0.015	0.994	no	up
	卷须	8.200	8.683	-0.046	0.943	no	down
ZX01G0002530	茎秆	3.517	2.190	0.726	0.463	no	up
	花蕾	8.783	37.660	-1.751	0.014	yes	down
	叶片	2.887	1.657	0.936	0.092	no	up
	卷须	22.533	15.807	0.516	0.627	no	up
ZX07G0010660	茎秆	3.333	4.397	-0.282	0.642	no	down
	花蕾	3.870	10.893	-1.269	1.80E-05	yes	down
	叶片	2.693	3.880	-0.218	0.855	no	down
	卷须	6.623	9.480	-0.466	0.324	no	down
ZX01G0121040	茎秆	56.827	82.173	-0.443	0.011	no	down
	花蕾	46.123	116.893	-1.028	1.17E-11	yes	down
	叶片	45.007	97.533	-0.879	5.10E-10	no	down
	卷须	78.453	133.823	-0.728	0.018	no	down
ZX04G0012630	茎秆	2.033	1.627	0.388	0.498	no	up
	花蕾	2.097	5.103	-0.982	0.005	no	down
	叶片	2.030	2.687	-0.268	0.824	no	down
	卷须	2.960	3.217	-0.072	0.945	no	down
ZX06G0002180	茎秆	5.277	5.577	0.047	0.939	no	up
	花蕾	5.570	16.490	-1.314	3.84E-05	yes	down
	叶片	6.967	7.087	0.126	0.941	no	up
	卷须	6.140	7.933	-0.267	0.744	no	down
ZX01G0052790	茎秆	0.033	0.230	-2.801	0.343	no	down
	花蕾	0.110	3.650	-4.673	3.89E-07	yes	down
	叶片	0.000	0.123	-3.610	1.000	no	down
	卷须	0.217	0.923	-1.988	0.238	no	down
ZX05G0014510	茎秆	0.060	0.737	-3.620	0.010	yes	down
	花蕾	0.133	22.727	-7.128	1.95E-33	yes	down
	叶片	0.017	0.507	-4.843	0.026	yes	down
	卷须	0.207	1.967	-3.036	0.042	yes	down
ZX01G0052980	茎秆	0.113	0.000	3.688	1.000	no	up
	花蕾	0.683	0.000	6.377	0.001	yes	up
	叶片	0.000	0.000	0.000	1.000	no test	no test
	卷须	0.483	0.000	5.555	0.011	yes	up
ZX06G0012300	茎秆	0.073	0.040	0.892	1.000	no	up
	花蕾	0.593	0.080	3.109	0.128	no	up
	叶片	0.073	0.040	0.934	1.000	no	up
	卷须	0.423	0.047	3.211	0.325	no	up

注：P adjust 表示调整后的 P 值；no 表示不显著，yes 表示显著；up 表示正调控，down 表示负调控，no test 表示未表达或表达量极低。
Note: P adjust represents the adjusted P value; no represents non-significance, yes represents significance; up represents positive regulation, down represents negative regulation, no test shows no expression or extremely low expression level.

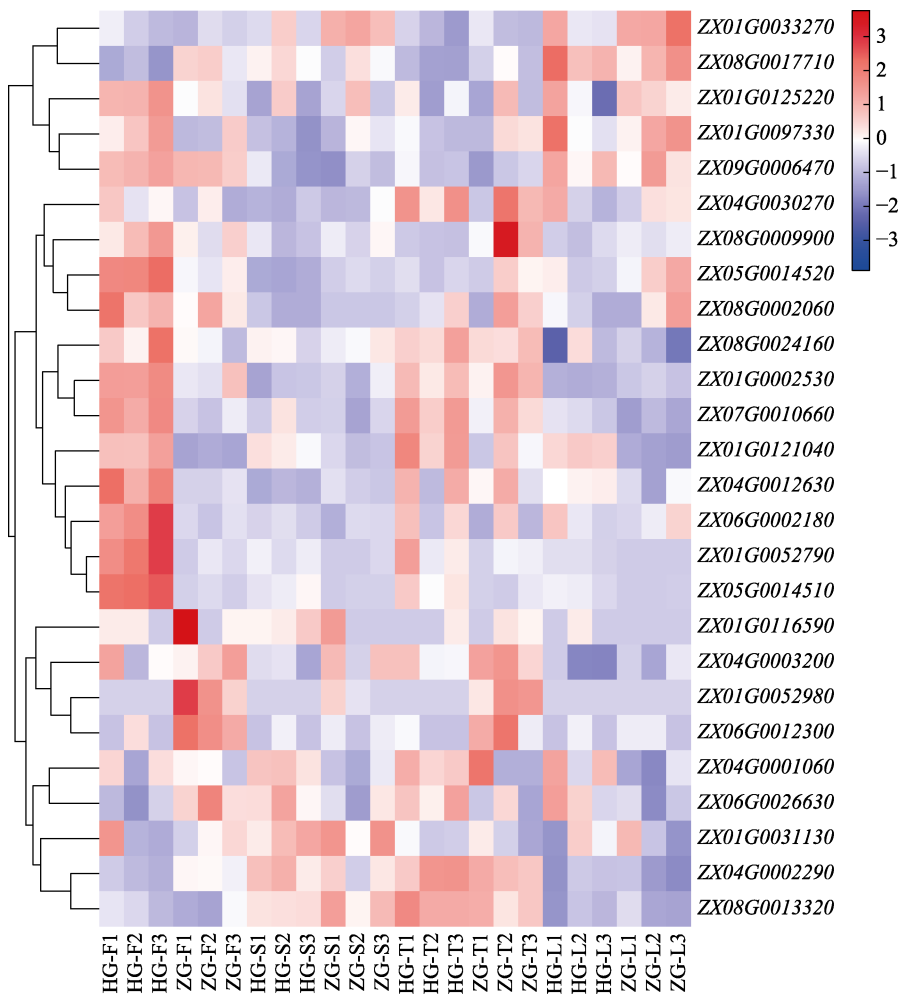
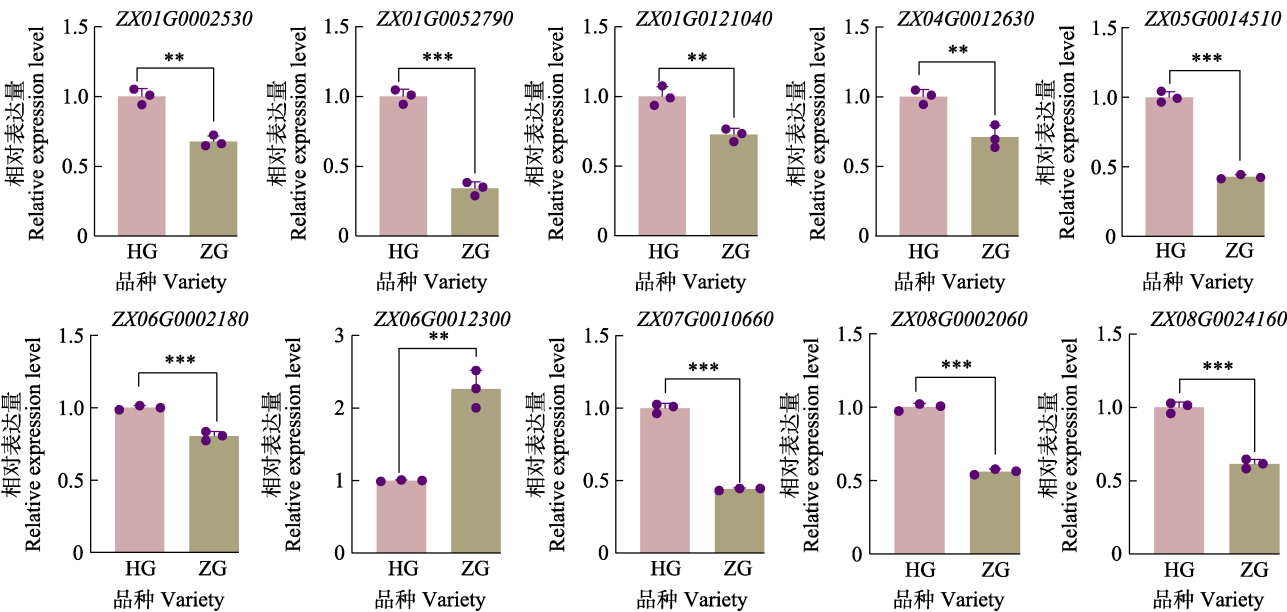


图 9 西番莲 HSF 基因表达模式及聚类

Fig. 9 Expression patterns and clustering of HSF genes in passion fruit



表示差异极显著 ($P < 0.01$), *表示差异极显著 ($P < 0.0001$)。

** indicates extremely significant difference ($P < 0.01$), *** indicates extremely significant difference ($P < 0.0001$).

图 10 利用 RT-qPCR 检测 10 个 HSF 基因在金陵紫果和黄果原生种花蕾的表达水平

Fig. 10 Relative expression of 10 HSF genes in Jinlingziguo and Huangguoyuanshengzhong flower bud using RT-qPCR

21 个和 25 个 HSF 基因, YANG 等^[14]在番茄 (*Solanum lycopersicum*) 中鉴定出 26 个 HSF 基因。本研究中, 在拟南芥、水稻和番茄基因组中分别鉴定到 24、25、26 个 HSF 基因, 与 GUO 等^[13]鉴定的拟南芥 HSF 基因数量有差异。YU 等^[5]构建了 111 种植物 HSF 耐热基因数据库, 其中拟南芥基因组含有 24 个 HSF 基因, 这与本研究结果一致。根据 Ensembl Plants 数据库收录的信息, 水稻、拟南芥和番茄基因组大小分别为 373.8、119.7、827.4 Mb。虽然番茄基因组大小是拟南芥的 6.9 倍, 但它们的 HSF 基因数量仅相差 2 个, 这表明 HSF 基因可能在植物适应高温环境中功能保守。因此, 借鉴水稻、拟南芥和番茄的 HSF 基因功能, 推测西番莲 HSF 基因作用。

在拟南芥中, 热激转录因子基因 *HsfA1a* (*At4g17750*) 是响应热胁迫的主要调控因子^[15-16]。在本研究中, 进化树分析结果表明西番莲 ZX01G0121040 与 *HsfA1a* 亲缘关系较近, 属于亚群 IV。此外, 该亚群还包括拟南芥其他 4 个 HSF 基因, 分别为 *At1g67970*、*At1g32330*、*At3g02990* 和 *At5g16820*。*At1g32330* (*HSFA1d*) 和 *At5g16820* (*HSFA1b*) 属于 *HSFA1s* 亚家族, 它们是拟南芥热形态建成所必需的^[17], 而 *AT3G02990* (*HSFA1e*) 似乎对热响应不那么重要^[16]。此外, *LOC_Os03g12370* (*OsHsfA9*) 和 *LOC_Os03g63750* (*OsHsfA1a*) 也属于亚群 IV, 在水稻热胁迫时表达量显著上调^[18]。

我们发现西番莲经历 3 次全基因组复制事件, 这与 ZHENG 等^[19]的研究结果一致。在西番莲基因组中, 有 5 个 HSF 基因位于基因组复制区域, 其中 ZX01G0033270、ZX01G0116590 和 ZX08G0017710 聚类在亚群 III。亚群 III 含有拟南芥 HSF 基因: *At3g51910* (*HSFA7a*)、*At3g63350* (*HSFA7b*) 和 *At3g22830*, 研究表明 NAC019 结合 *HSFA1b*、*HSFA6b*、*HSFA7a* 和 *HSFC1* 的启动子而增强了拟南芥耐热性^[20]。*HSFA7b* 通过调节拟南芥中乙烯的生物合成和信号传导来控制茎尖分生组织的温度变化^[21]。此外, 亚群 III 还包含水稻 HSF 基因 *LOC_Os03g58160*、*LOC_Os07g08140*、*LOC_Os03g53320*、*LOC_Os03g53340*、*LOC_Os10g28340*、*LOC_Os03g06630* (*HTG3*), 其中 *HTG3* 通过调节 JAZ 参与水稻的耐热性^[22]。ZX01G0052790 和 ZX01G0052980 聚类在一起, 属于亚群 XI, 该亚群包含有 2 个拟南芥基因: *At2g41690* (*HSFB3*) 和

At4g36990 (*HsfB1*)。研究表明, RCF3 正调控 *HSFA1e*、*HSFA3*、*HSFA9*、*HSFB3* 和 *DREB2C* 的表达增加拟南芥的耐热性^[23]。虽然 *HsfB1* 和 *HsfB2b* 抑制 *HsfA2*、*HsfA7a*、*HsfB1* 和 *HsfB2b* 表达, 但是正调控拟南芥的耐热性^[24]。

利用 RNA-seq 分析发现有 12 个 HSF 基因在黄果原生种和金陵紫果花蕾的表达量差异显著, 进化树分析表明 ZX01G0121040 与拟南芥的 *HsfA1a* 基因亲缘关系较近, *HsfA1a* 正调控热胁迫^[15-16]。ZX01G0002530、ZX01G0052790、ZX01G0052980、ZX05G0014510 和 ZX05G0014520 属于亚群 XI, 且 ZX01G0052790 和 ZX05G0014510 表达模式相似。虽然 ZX01G0052790 和 ZX01G0052980 基因序列具有共线性, 但是它们在西番莲花蕾响应高温时的表达量趋势相反。*HSFB3* 和 *HsfB1* 位于亚群 XI 内, 均与拟南芥的耐热性相关^[23-24]。ZX04G0012630、ZX06G0002180 和 ZX08G0024160 属于亚群 VII, 该亚群中 *At4g18870* 参与调控拟南芥的耐热性^[25]。在系统进化树上, ZX06G0002180 与 *At4g18870* 的亲缘关系更近。ZX07G0010660 属于亚群 X, 同源基因 *At4g11660* (*HsfB2b*) 正调控拟南芥的耐热性^[24]。ZX08G0002060 属于亚群 IV, 其同源基因 *At3g22830* (*HSFA6b*) 参与 ABA 介导的耐热性^[26], 另一同源基因 *HSFA7A* 可能参与了拟南芥对高温的适应^[20, 24]。

本研究发现, 西番莲 HSF 基因除了含有 DNA 结合结构域外, ZX01G0121040 还包含有 PPR、Syntaxin 2 和 SNARE 等结构域。PPR (pentatricopeptide repeat) 是一种三角状五肽重复蛋白, 属于植物中最大的核编码蛋白家族。PPR 蛋白参与植物生长发育和响应胁迫反应^[27-28]。Qa-SNARE 最早在哺乳动物基因组中发现, 命名为突触融合蛋白 (syntaxin), 其在与植物体生长发育、抗病反应和非生物胁迫中起着重要功能^[29-30]。此外, ZX05G0014520 还含有 RCCR 结构域, RCCR 是催化叶绿素降解代谢反应的主要酶类^[31]。这些研究结果表明, 西番莲 HSF 基因可能在植物生长发育和逆境胁迫中也具有重要功能。

4 结论

高温胁迫严重影响了西番莲的成花, 鉴定耐热基因是提高西番莲适应极端温度的一个有效方法。在本研究中, 我们在西番莲基因组中鉴定了 26 个 HSF 基因, 并分析了 HSF 成员的理化性质、

进化树、基因结构、共线性和全基因组复制事件。利用 RNA-seq 分析发现 ZX01G0002530、ZX01G0052790、ZX01G0052980、ZX01G0121040、ZX04G0012630、ZX05G0014510、ZX05G0014520、ZX06G0002180、ZX06G0012300、ZX07G0010660、ZX08G0002060、ZX08G0024160 在金陵紫果与黄果原生种花蕾的表达量差异显著, RT-qPCR 分析结果验证了 RNA-seq 的结果, 并推测 ZX01G0121040 是西番莲成花期响应高温胁迫的重要基因。本研究结果将为西番莲成花耐热性的遗传改良提供重要的基因资源和理论技术支撑。

参考文献

- NAVE N, KATZ E, CHAYUT N, GAZIT S, SAMACH A. Flower development in the passion fruit *Passiflora edulis* requires a photoperiod-induced systemic graft-transmissible signal[J]. *Plant Cell Environ*, 2010, 33(12): 2065-2083.
- 田尉婧, 殷学仁, 李鲜, 陈昆松. 热激转录因子调控植物逆境响应研究进展[J]. *园艺学报*, 2017, 44(1): 179-192.
TIAN Y J, YIN X R, LI X, CHEN K S. Regulation of stress responses by heat stress transcription factors (Hsfs) in plants[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2017, 44(1): 179-192. (in Chinese)
- GOMEZ-PASTOR R, BURCHFIEL E T, THIELE D J. Regulation of heat shock transcription factors and their roles in physiology and disease[J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2018, 19(1): 4-19.
- PELHAM H R, SORGER P K. Yeast heat shock factor is an essential DNA-binding protein that exhibits temperature-dependent phosphorylation[J]. *Cell*, 1988, 54(6): 855-864.
- YU T, BAI Y, LIU Z, WANG Z Y, YANG Q H, WU T, FENG S Y, ZHANG Y, SHEN S Q, LI Q, GU L Q, SONG X M. Large-scale analyses of heat shock transcription factors and database construction based on whole-genome genes in horticultural and representative plants[J]. *Horticulture Research*, 2022, 9: uhac035.
- MARGARITOPOULOU T, KRYOVRYSANAKI N, MEGKOULA P, PRASSINOS C, SAMAKOVLIS D, MILIONI D, HATZOPOULOS P. HSP90 canonical content organizes a molecular scaffold mechanism to progress flowering[J]. *The Plant Journal*, 2016, 87(2): 174-187.
- LIU J Z, FENG L F, GU X T, DENG X, QIU Q, LI Q, ZHANG Y Y, WANG M Y, DENG Y W, WANG E T, HE Y K, BÄURLE I, LI J M, CAO X F, HE Z H. An H3K27me3 demethylase-HSFA2 regulatory loop orchestrates transgenerational thermomemory in *Arabidopsis*[J]. *Cell Research*, 2019, 29(5): 379-390.
- LI H W, LIU Y, LI Y Y, YANG Q Q, YANG T L, ZHOU Z, LI Y F, ZHANG N, LYU Y Q, ZHU Y F, LIN T. Heat shock transcription factors regulate thermotolerance gene networks in tomato (*Solanum lycopersicum*) flower buds[J]. *Horticultural Plant Journal*, 2025, 11(1): 199-210.
- MA D N, DONG S S, ZHANG S C, WEI X Q, XIE Q J, DING Q S, XIA R, ZHANG X T. Chromosome-level reference genome assembly provides insights into aroma biosynthesis in passion fruit (*Passiflora edulis*)[J]. *Molecular Ecology Resources*, 2021, 21(3): 955-968.
- WU Y Y, HUANG W H, TIAN Q L, LIU J Y, XIA X Z, YANG X H, MOU H F. Comparative transcriptomic analysis reveals the cold acclimation during chilling stress in sensitive and resistant passion fruit (*Passiflora edulis*) cultivars[J]. *PeerJ*, 2021, 9: e10977.
- XU X D, ZHAO R P, XIAO L, LU L, GAO M, LUO Y H, ZHOU Z W, YE S Y, QIAN Y Q, FAN B L, SHANG X, SHI P, ZENG W, CAO S, WU Z, YAN H, CHEN L L, SONG J M. Telomere-to-telomere assembly of cassava genome reveals the evolution of cassava and divergence of allelic expression[J]. *Horticulture Research*, 2023, 10(11): uhad200.
- QI X Y, WANG H D, CHEN S S, FENG J, CHEN H J, QIN Z, BLILOU I, DENG Y M. The genome of single-petal jasmine (*Jasminum sambac*) provides insights into heat stress tolerance and aroma compound biosynthesis[J]. *Front Plant Science*, 2022, 13: 1045194.
- GUO J K, WU J, JI Q, WANG C, LUO L, YUAN Y, WANG Y H, WANG J. Genome-wide analysis of heat shock transcription factor families in rice and *Arabidopsis*[J]. *Journal of Genetics and Genomics*, 2008, 35(2): 105-118.
- YANG X D, ZHU W M, ZHANG H, LIU N, TIAN S B. Heat shock factors in tomatoes: genome-wide identification, phylogenetic analysis and expression profiling under development and heat stress[J]. *PeerJ*, 2016, 4: e1961.
- YOSHIDA T, OHAMA N, NAKAJIMA J, KIDOKORO S, MIZOI J, NAKASHIMA K, MARUYAMA K, KIM J M, SEKI M, TODAKA D, OSAKABE Y, SAKUMA Y, SCHÖFFL F, SHINOZAKI K, YAMAGUCHI-SHINOZAKI K. *Arabidopsis* HsfA1 transcription factors function as the main positive regulators in heat shock-responsive gene expression[J]. *Molecular Genetics and Genomics*, 2011, 286(5/6): 321-332.
- LIU H C, LIAO H T, CHARNG Y Y. The role of class A1 heat shock factors (HSFA1s) in response to heat and other stresses in *Arabidopsis*[J]. *Plant, Cell & Environment*, 2011, 34(5): 738-751.

- [17] TAN W R, CHEN J H, YUE X L, CHAI S L, LIU W, LI C L, YANG F, GAO Y F, GUTIÉRREZ RODRÍGUEZ L, RESCO D V, ZHANG D W, YAO Y N. The heat response regulators HSFA1s promote *Arabidopsis* thermomorphogenesis via stabilizing PIF4 during the day[J]. *Science Advances*, 2023, 9(44): eadh1738.
- [18] MITTAL D, CHAKRABARTI S, SARKAR A, SINGH A, GROVER A. Heat shock factor gene family in rice: genomic organization and transcript expression profiling in response to high temperature, low temperature and oxidative stresses[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2009, 47(9): 785-795.
- [19] ZHENG Y Y, CHEN L H, FAN B L, XU Z, WANG Q, ZHAO B Y, GAO M, YUAN M H, TAHIR U M, JIANG Y, YANG L, WANG L, LI W, CAI W, MA C, LU L, SONG J M, CHEN L L. Integrative multi-omics profiling of passion fruit reveals the genetic basis for fruit color and aroma[J]. *Plant Physiology*, 2024, 194(4): 2491-2510.
- [20] GUAN Q M, YUE X L, ZENG H T, ZHU J H. The protein phosphatase RCF2 and its interacting partner NAC019 are critical for heat stress-responsive gene regulation and thermotolerance in *Arabidopsis*[J]. *Plant Cell*, 2014, 26(1): 438-453.
- [21] JOHN S, APELT F, KUMAR A, ACOSTA I F, BENTS D, ANNUNZIATA M G, FICHTNER F, GUTJAHR C, MUELLER-ROEBER B, OLAS J J. The transcription factor HSFA7b controls thermomemory at the shoot apical meristem by regulating ethylene biosynthesis and signaling in *Arabidopsis*[J]. *Plant Communications*, 2024, 5(3): 100743.
- [22] RICE A I. A mite variation-associated heat-inducible isoform of a heat-shock factor confers heat tolerance through regulation of jasmonate ZIM-domain genes in rice[J]. *New Phytologist*, 2022, 234(4): 1315-1331.
- [23] GUAN M Q, WEN C L, ZENG H T, ZHU J H. A KH domain-containing putative RNA-binding protein is critical for heat stress-responsive gene regulation and thermotolerance in *Arabidopsis*[J]. *Molecular Plant*, 2013, 6(2): 386-395.
- [24] IKEDA M, MITSUDA N, OHME-TAKAGI M. *Arabidopsis* HsfB1 and HsfB2b act as repressors of the expression of heat-inducible Hsfs but positively regulate the acquired thermotolerance[J]. *Plant Physiology*, 2011, 157(3): 1243-1254.
- [25] ANDRÁSI N, RIGÓ G, ZSIGMOND L, PÉREZ-SALAMÓ I, PAPDI C, KLEMENT E, PETTKÓ-SZANDTNER A, Baba A I, AYAYDIN F, DASARI R Á C, SZABADOS L. The mitogen-activated protein kinase 4-phosphorylated heat shock factor A4A regulates responses to combined salt and heat stresses[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2019, 70(18): 4903-4918.
- [26] HUANG Y C, NIU C Y, YANG C R, JINN T L. The heat stress factor HSFA6b connects ABA signaling and ABA-mediated heat responses[J]. *Plant Physiology*, 2016, 172(2): 1182-1199.
- [27] 李程, 路凯, 王才林, 张亚东. PPR 蛋白响应植物非生物胁迫的研究进展[J]. *中国农业科学*, 2023, 56(24): 4801-4813.
- LI C, LU K, WANG C L, ZHANG Y D. Research progress of PPR protein in plant abiotic stress response[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2023, 56(24): 4801-4813. (in Chinese)
- [28] 王婉珍, 任育军, 缪颖. PPR 蛋白在植物生长发育中的作用[J]. *热带亚热带植物学报*, 2019, 27(2): 225-234.
- WANG W Z, REN Y J, MIAO Y. Roles of PPR proteins in plant growth and development[J]. *Journal of Tropical and Subtropical Botany*, 2019, 27(2): 225-234. (in Chinese)
- [29] KUZUYA M, HOSOYA K, YASHIRO K, TOMITA K, EZURA H. Powdery mildew (*Sphaerotheca fuliginea*) resistance in melon is selectable at the haploid level[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2003, 54(384): 1069-1074.
- [30] HAMAJI K, NAGIRA M, YOSHIDA K, OHNISHI M, ODA Y, UEMURA T, GOH T, SATO M H, MORITA M T, TASAKA M, HASEZAWA S, NAKANO A, HARA-NISHIMURA I, MAESHIMA M, FUKAKI H, MIMURA T. Dynamic aspects of ion accumulation by vesicle traffic under salt stress in *Arabidopsis*[J]. *Plant and Cell Physiology*, 2009, 50(12): 2023-2033.
- [31] WEI Y, JIN J T, XU Y X, LIU W T, YANG G X, BU H D, LI T, WANG A D. Ethylene-activated MdPUB24 mediates ubiquitination of MdBEL7 to promote chlorophyll degradation in apple fruit[J]. *The Plant Journal*, 2021, 108(1): 169-182.