

白化菠萝蜜幼苗光合作用相关基因表达分析

郭雨彤¹, 董俊娜^{1*}, 张 西¹, 瞿 倩¹, 于旭东¹, 罗佳佳², 蔡泽坪^{1**}

1. 海南大学热带农林学院/热带特色林木花卉遗传与种质创新教育部重点实验室, 海南海口 570228; 2. 中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所, 海南儋州 571737

摘 要: 光合色素缺失的白化植株是研究光合作用的理想材料。本研究在前期考察时发现白化菠萝蜜幼苗 (albino *Artocarpus heterophyllus* seedlings, AAS)。AAS 的叶片较大, 存活时间较长, 且表型性状稳定, 是不可多得的本本白化植物。通过转录组测序分析 AAS 光合作用相关基因的表达, 发现 AAS 叶光合色素合成、光合作用-天线蛋白、光反应和碳固定反应通路中诸多基因的发生下调表达, 质体-核信号通路中关键调控因子 heat shock protein 70 (HSP70)、heat shock protein 90 (HSP90) 和 HSP70-HSP90-organizing protein 3 (HOP3) 的编码基因发生上调表达。本研究从光合色素合成途径讨论了 AAS 的成因, 以及从质体-核信号方面探讨了其光合作用相关基因的表达, 为该逆行信号通路的探索提供参考。

关键词: 菠萝蜜; 白化苗; 光合色素; 光合作用; 基因表达

中图分类号: S667.8 文献标志码: A

Expression Analysis of Genes Related to Photosynthesis in Albino *Artocarpus heterophyllus* Seedlings

GUO Yutong¹, DONG Junna^{1*}, ZHANG Xi¹, QU Qian¹, YU Xudong¹, LUO Jiajia², CAI Zeping^{1**}

1. School of Tropical Agriculture and Forestry, Hainan University / Key Laboratory of Genetics and Germplasm Innovation of Tropical Special Forest Trees and Ornamental Plants, Ministry of Education, Haikou, Hainan 570228, China; 2. Institute of Tropical Crops Genetic Resources, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Danzhou, Hainan 571737, China

Abstract: Albino plants lacking photosynthetic pigments are ideal materials for studying photosynthesis. In this study, albino *Artocarpus heterophyllus* seedlings (AAS) were found during the preliminary investigation. AAS have larger leaves, longer survival time and stable phenotypic traits, so it is a rare woody plant albino material. The expression of photosynthesis-related genes were analyzed through transcriptome sequencing technology and found that the expression of many genes in photosynthetic pigment synthesis, photosynthesis-antenna protein, photoreaction and carbon fixation reaction pathways were down-regulated in AAS leaf, also the expression of genes encoding heat shock protein 70 (HSP70), heat shock protein 90 (HSP90) and HSP70-HSP90-organizing protein 3 (HOP3), which are considered to be key regulators in the plastid-nuclear signaling pathway, were up-regulated. This study discussed the cause of AAS from the synthesis pathway of photosynthetic pigment, and also discussed the expression of photosynthesis-related genes from the aspect of plastid-nuclear signal, which can provide reference for the research of this retrograde signaling pathway.

Keywords: *Artocarpus heterophyllus*; albino seedlings; photosynthetic pigments; photosynthesis; gene expression

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2025.07.001

收稿日期 2025-03-08; 接受日期 2025-03-18

基金项目 海南省重大科技计划项目 (No. ZDKJ2021018); 2024 年海南大学国家级大学生创新创业训练计划项目 (No. 202410589053)。

作者简介 郭雨彤 (2004—), 女, 本科生, 研究方向: 植物学; *同等贡献作者: 董俊娜 (1999—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 植物学。 **通信作者 (Corresponding author): 蔡泽坪 (CAI Zeping), E-mail: 992995@hainanu.edu.cn。

光合作用是绿色植物生长发育的基础,为地球上几乎所有生物提供必需的能量;对维持大气中氧气和二氧化碳的相对稳定起重要作用^[1-3]。光能的捕获和吸收主要由光合色素承担^[4]。在高等植物中,光合色素分为叶绿素和类胡萝卜素两大类。缺乏光合色素会导致植物叶色发生变异,产生白化、黄化等现象^[5]。

光合色素缺失的白化植物,是研究光合作用的理想材料^[6-7]。目前白化植物的研究大多在草本植物中开展,如拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*)^[8]、水稻 (*Oryza sativa*)^[9-10]、番茄 (*Solanum lycopersicum*)^[11]等。这些植物的生长周期较短,白化突变体较易得到,然而其种子体积普遍较小,白化幼苗的寿命较短。相比而言,木本植物具有较长的生长周期,但相关的突变体较难得到,所开展的研究较少^[12]。

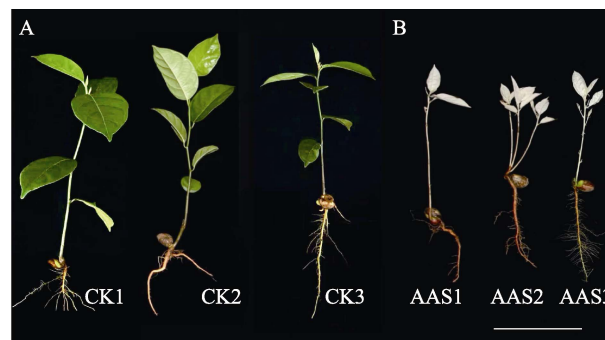
菠萝蜜 (*Artocarpus heterophyllus*) 为多年生常绿乔木^[13-14]。在前期考察时发现白化菠萝蜜幼苗 (AAS),其母株具有隐性白化遗传病^[12]。付影等^[12]和周丹等^[15]研究得出 AAS 叶片内的叶绿素 a、叶绿素 b 和总叶绿素含量接近 0,显著低于正常菠萝蜜幼苗叶片的结果 ($P<0.05$)。此外,张水仙等^[16]对 AAS 的叶片长度、宽度和面积进行观测发现 AAS 叶片发育至 17 d 时达到最大,分别是 CK 的 43.13%、36.06%和 20.81%。董俊娜等^[17]研究发现 AAS 生长发育先在 1~15 d 快速生长,后在 16~40 d 缓慢生长的趋势。说明 AAS 叶较大,存活时间较长,是不可多得的研究材料。本研究通过转录组测序对 AAS 叶光合作用相关基因的表达进行了分析,从光合色素合成途径讨论 AAS 的成因,从质体-核信号方面探讨光合作用相关基因的表达,为该逆行信号通路的探索提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

采用张水仙等^[16]的方法选择带有隐性白化遗传病的杂合体菠萝蜜植株作为母株,从母株的成熟果实中剥离出种子,挑选饱满的种粒,栽种于含有营养土 ($V_{\text{腐殖质土}}:V_{\text{蛭石}}=3:1$,搅拌均匀后,于 121 °C 下处理 20 min) 的花盆中,并培养于日照环境下。待种子萌发后,从子代幼苗中分离出白化菠萝蜜幼苗 (albino *Artocarpus heterophyllus* seedlings, AAS) 和正常菠萝蜜幼苗,继续进行培养。当萌发至 25 d 时,选择 3 株不同

的 AAS 作为试验材料,编号为 AAS1、AAS2 和 AAS3;同时在子代幼苗中选择 3 株不同的正常菠萝蜜幼苗作为对照 (CK),编号为 CK1、CK2 和 CK3 (图 1)。



A: 正常菠萝蜜幼苗; B: 白化菠萝蜜幼苗。比例尺为 10 cm。
A: CK seedlings; B: AAS; The scale is 10 cm.

图 1 CK 与 AAS 对比

Fig. 1 Comparison of CK and AAS

1.2 方法

1.2.1 RNA 提取、文库构建和转录组测序 采用 CTAB 法^[18]提取成熟叶片的 total RNA,用带有 Oligo(dT) 的磁珠富集 mRNA。将富集到的 mRNA 片段化,以片段化的 mRNA 为模板进行反转录,合成 cDNA 并构建文库。使用 BGISEQ-500 平台进行转录组测序。文库构建和测序均委托深圳华大基因股份有限公司进行。

1.2.2 数据过滤、KEGG 注释与分析 将原始数据去除低质量、接头污染以及未知碱基 N 含量大于 5% 的 reads 后得到 clean reads,进行 de novo 组装,并得到最终的 unigenes。将长度超过 200 nt 的 unigenes 比对到 KEGG 数据库中进行注释。序列相似度大于 70% 的 unigenes 被归为同一 cluster 并且以 CL 开头进行命名。选取光合作用相关通路的 clusters,并将其中各 unigenes 的表达量进行加和得到 clusters 表达量,去除低丰度的 clusters (AAS 和 CK 中平均表达量均小于 0.5),然后使用 t 值检验法挑选具有显著差异 ($P<0.05$) 的 clusters 绘制热图。

1.2.3 qRT-PCR 分析 挑选 15 个基因进行 qRT-PCR 验证^[19]。引物由 ABI 公司的 Primer Express Software v2.0 设计。反应在 ABI ViiA 7 PCR 仪上进行,每个样品做 3 次平行试验。以 CL11555 (*AhUBIQUITIN*) 作为内参基因,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法, $\Delta\Delta Ct=[Ct(P210)-Ct(CL11555)]_{\text{sample}}-[Ct(P210)-Ct(CL11555)]_{K562}$ 进行相对定量^[20]。

2 结果与分析

2.1 转录组测序质量评估

为了探究 AAS 光合作用相关基因的表达情况,对 AAS 和 CK 的叶片进行转录组测序。测序共产生 437×10^6 个 raw reads, 过滤后得到 414.63×10^6 个 clean reads, 经组装、聚类去冗余最后得到 148 440 个 unigenes。unigenes 长度范围从 200 nt 到大于 3000 nt, 总长、平均长度和 N_{50} 长度分别为 241 624 864、1627、2429 nt, GC 含量为 41.25% (表 1)。

根据 unigenes 表达量数据,对样品进行聚类和相关性分析。结果表明 AAS 与 CK 的 3 个生物学重复各聚为 1 支 (图 2)。各组内样品间的 Pearson 相关系数均大于 0.86 (图 3A)。主成分分析结果显示:AAS 与 CK 在第一主成分 (principal component analysis 1, PCA1) 上分离 (图 3B)。综上, 测序样品质量高、测序数据可靠, 可进行后续分析。

表 1 菠萝蜜叶转录组数据汇总
Tab. 1 Summary of transcriptome data for *A. heterophyllus* leaves

指标 Index	数值 Number	百分比 Percentage/%
原始读取	437×10^6	
有效读取	414.63×10^6	
总 unigenes	148 440	
unigenes (200~500 nt)	37 046	24.96
unigenes (500~1500 nt)	41 957	28.27
unigenes (1500~3000 nt)	49 010	33.02
unigenes (≥ 3000 nt)	20 427	13.76
总 unigenes 的长度/nt	241 624 864	
平均长度/nt	1627	
N_{50} 长度/nt	2429	
GC/%		41.25

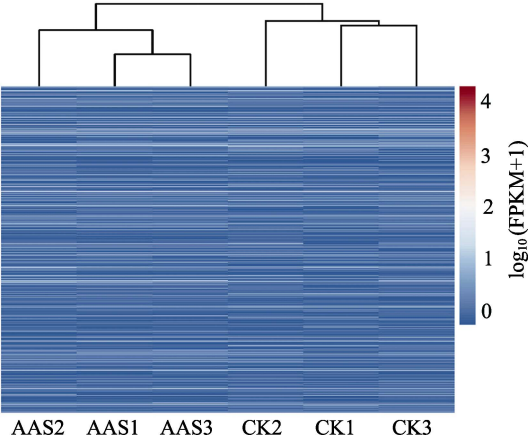


图 2 AAS 和 CK 叶片样品的聚类分析

Fig. 2 Cluster analysis of samples from AAS and CK leaves

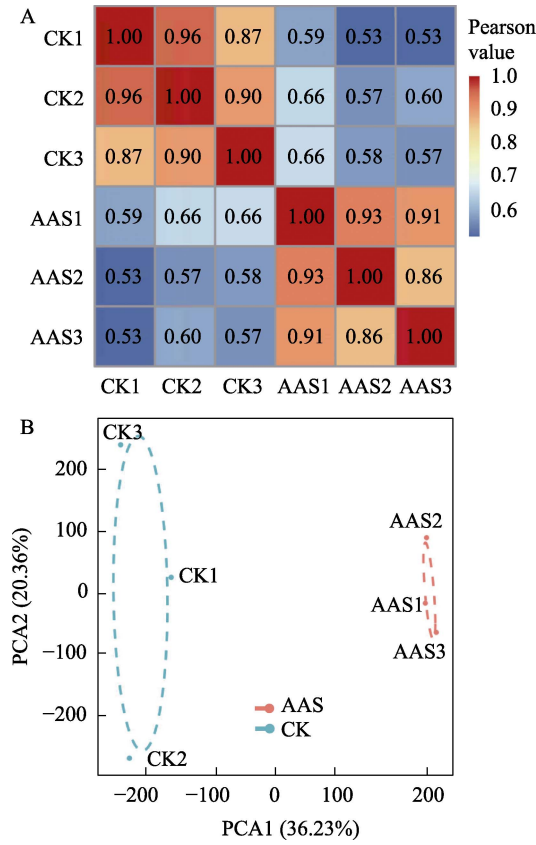


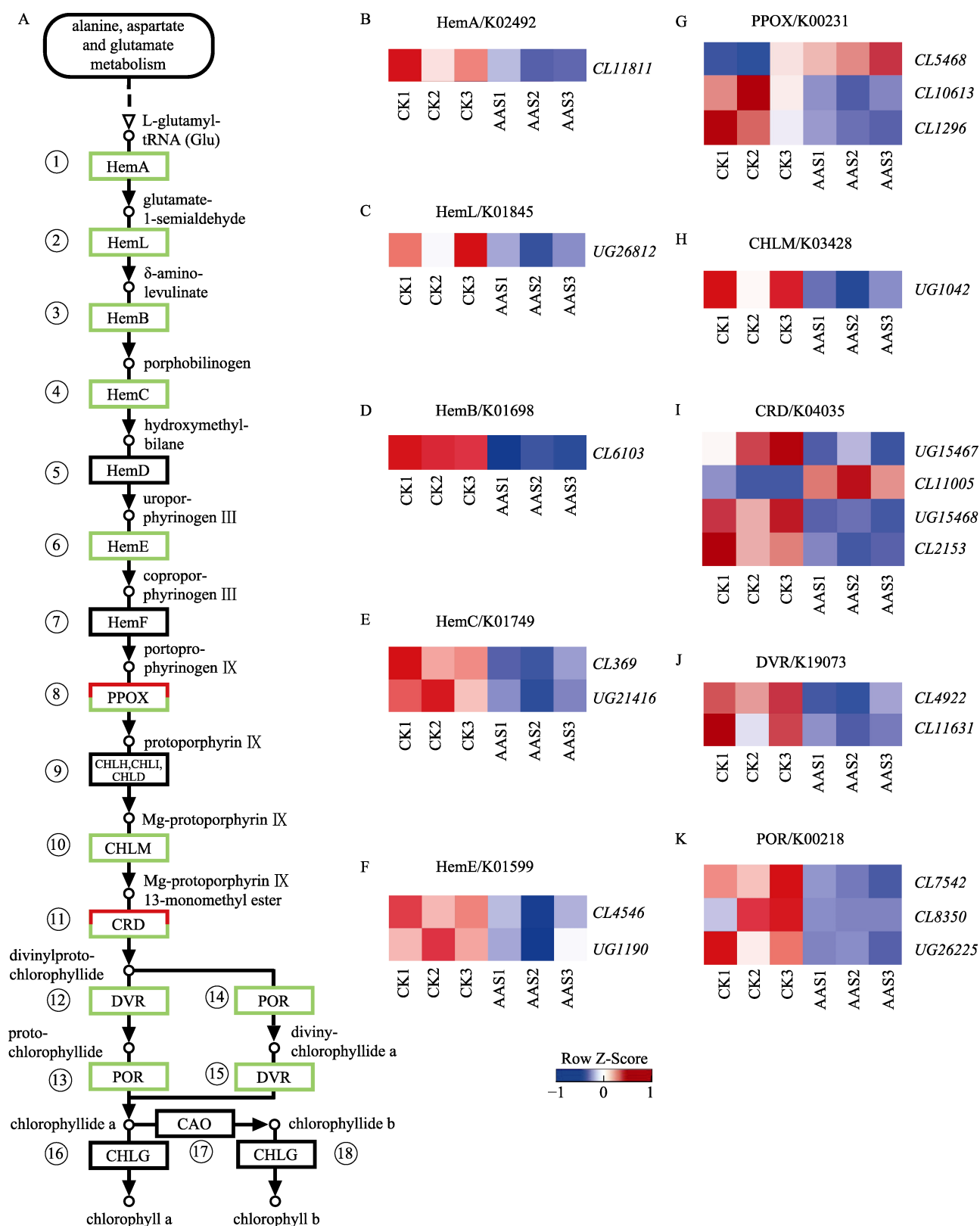
图 3 AAS 和 CK 叶片 RNA-seq 样本的皮尔逊相关性分析 (A) 和主成分分析 (B)

Fig. 3 Analysis of Pearson correlation coefficient (A) and principal component (B) of RNA-seq samples from CK and AAS leaves

2.2 叶绿素和类胡萝卜素合成酶基因表达分析

从谷氨酰-tRNA (glutamyl-tRNA) 到叶绿素 a 和叶绿素 b 的合成共涉及 18 个步骤, 其中关键酶有 glutamyl tRNA reductase (Hema) 和 8-vinyl reductase (DVR) 2 种^[21-22], 这 2 种关键酶在 AAS 中均呈下调表达。此外, AAS 中下调表达的基因还有 glutamate-1-semialdehyde-2,1-aminomutase (HemL)、porphobilinogen synthase (HemB)、porphobilinogen deaminase (HemC)、uroporphyrinogen III decarboxylase (HemE)、magnesium protoporphyrin IX methyltransferase (CHLM) 和 protochlorophyllide oxidoreductase (POR)。可见, 在叶绿素合成的 18 个步骤中, 有 10 个步骤的酶在 AAS 中下调表达 (图 4)。

除了叶绿素, 类胡萝卜素在光合作用中也发挥着重要的作用^[23]。以 geranylgeranyl diphosphate (GGPP) 为起点合成类胡萝卜素 (carotene)、叶黄素 (lutein)、玉米黄素 (zeaxanthin) 和苜蓿黄素 (violaxanthin) 的过程涉及 16 个步骤。前 3



红、绿和黑色方框分别表示基因在 AAS 叶片中表达上调、下调和无显著差异。绘制热图的基因均为表达量具有显著差异 ($P < 0.05$) 的 cluster, 使用 Z-score 进行数据归一化处理。

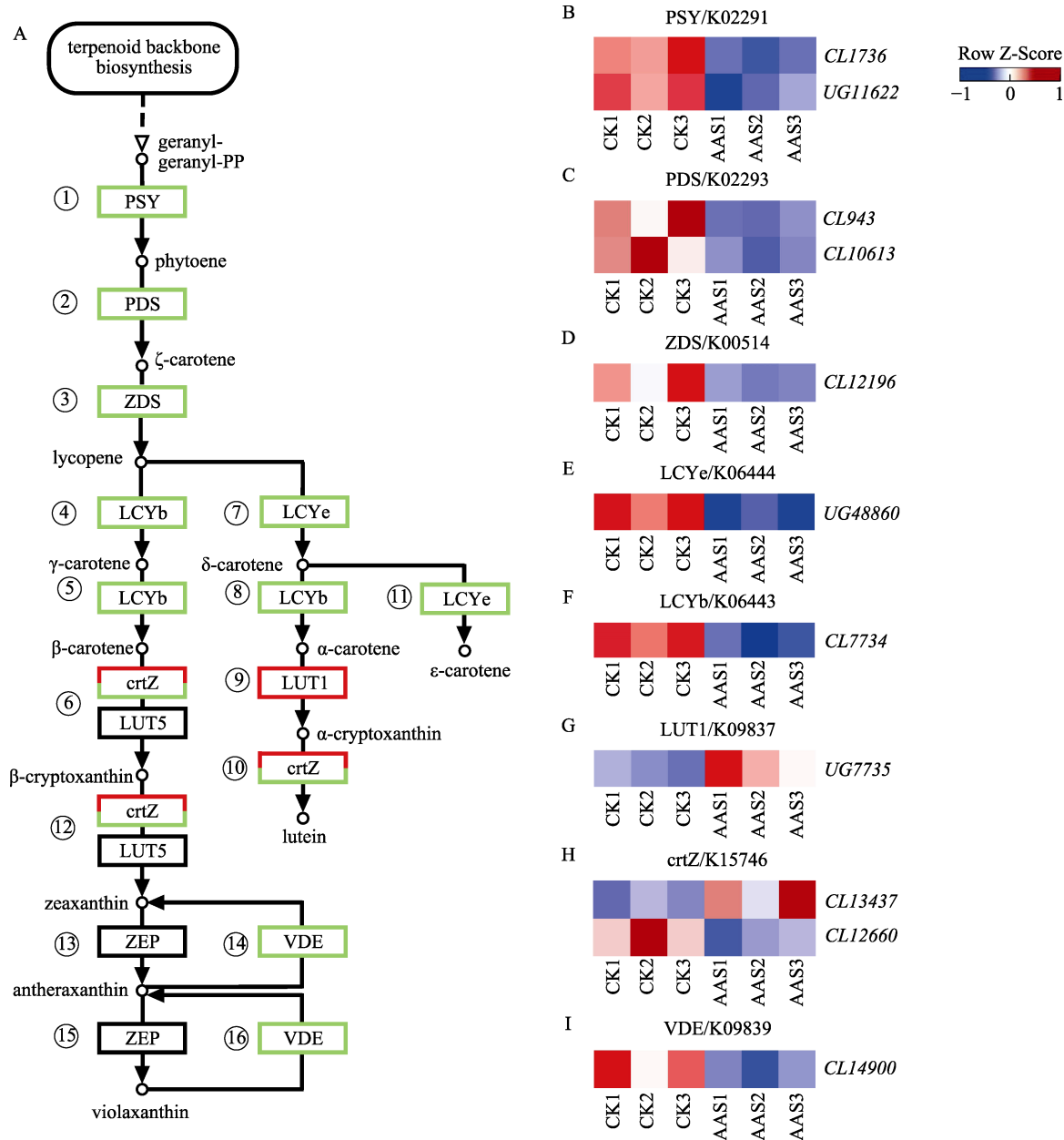
The red, green, black boxes indicated that the enzyme gene expression was up-regulated, down-regulated, no significant difference. The genes for drawing the heatmaps are all clusters with significant difference in expression ($P < 0.05$), Z-score was used to normalize data.

图 4 叶绿素生物合成途径及酶基因的表达

Fig. 4 Chlorophyll biosynthesis pathway and expression heatmap of enzyme genes

个步骤中，GGPP 依次经过 phytoene synthase (PSY)、phytoene desaturase (PDS) 和 ζ -carotene desaturase (ZDS) 的作用合成番茄红素 (lycopene)^[24]。这 3 种酶的编码基因均为关键基因^[23, 25-26]，并且其在 AAS 中均呈下调表达。番茄红素在 lycopene β -cyclase (LCYb) 和 lycopene ϵ -cyclase (LCYe) 的作用下，分别生成 γ -胡萝卜素 (γ -carotene)、 δ -胡萝卜素 (δ -carotene)、 α -胡萝卜素 (α -carotene)、 β -

胡萝卜素 (β -carotene) 和 ϵ -胡萝卜素 (ϵ -carotene)。而后在 carotenoid ϵ -cyclohydroxylase (LUT1)、 β -carotene 3-hydroxylase (crtZ) 和 violaxanthin de-epoxidase (VDE) 等酶的作用下分别生成叶黄素、玉米黄素和莖菜黄素等。在 AAS 中 LUT1 的表达上调，LCYb、LCYe 和 VDE 的表达下调。可见，类胡萝卜素生物合成的 16 个步骤中，有 9 个步骤的酶基因在 AAS 中出现下调表达 (图 5)。



红、绿和黑色方框分别表示基因在 AAS 叶片中表达上调、下调和无显著差异。绘制热图的基因均为表达量具有显著差异 ($P<0.05$) 的 cluster，使用 Z-score 进行数据归一化处理。

The red, green, black boxes indicated that the enzyme gene expression was up-regulated, down-regulated, no significant difference. The genes for drawing the heatmaps are all clusters with significant difference in expression ($P<0.05$), Z-score was used to normalize data.

图 5 类胡萝卜素生物合成途径及酶基因的表达

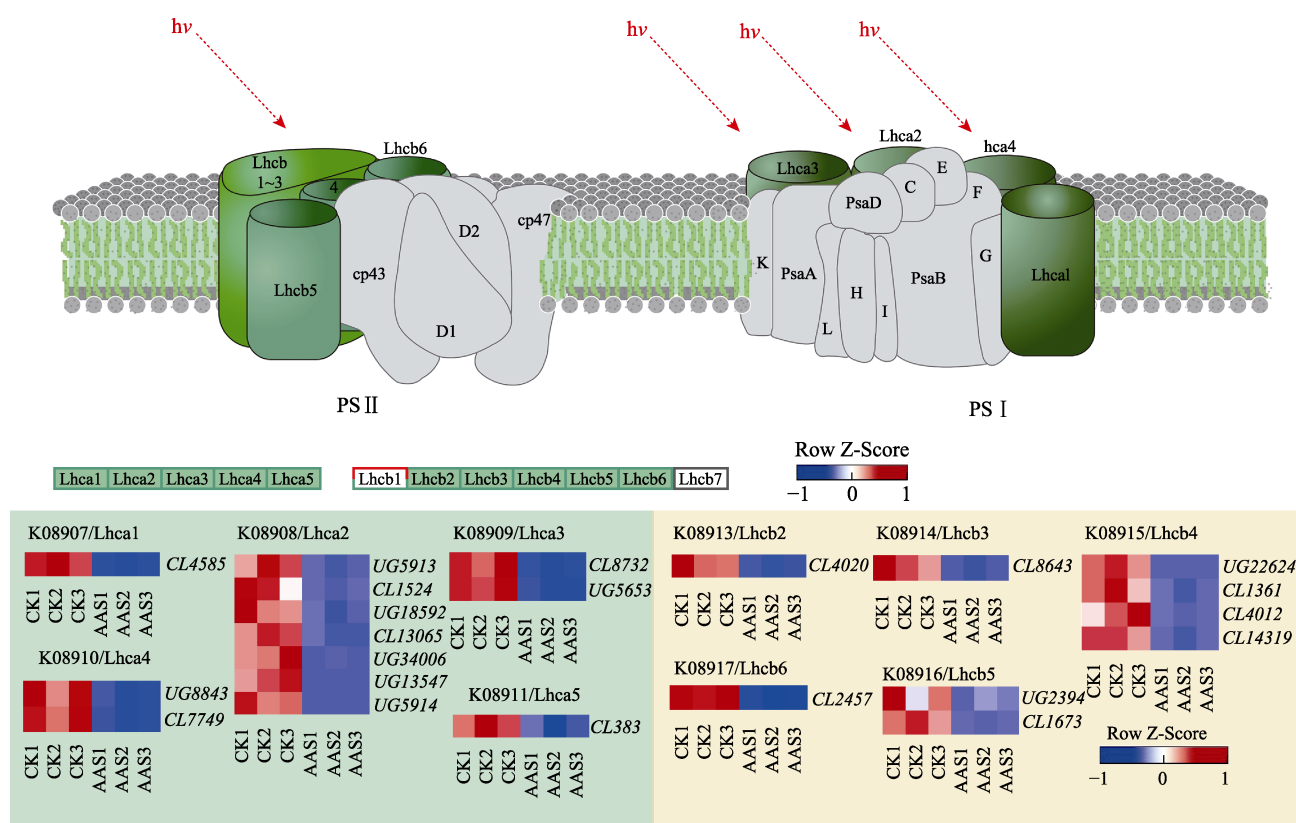
Fig. 5 Carotenoid biosynthesis pathway and expression heatmap of enzyme genes

2.3 捕光复合物和光反应相关基因表达分析

高等植物光合作用中, 参与光能捕获的色素主要是叶绿素和各类胡萝卜素^[27]。这些色素结合在捕光复合物 (light-harvesting complexes, LHCs) 上, 而 LHCs 附着在光系统核心上, 分别形成 PS I~LHC I 超复合体和 PS II~LHC II 超复合体, 以增强其色素捕获光能的能力。色素在捕获光能后, 由 LHCs 将能量转移到光系统核心, 从而引发光化学反应^[28]。LHC I 由 lhca1~lhca5 共 5 种亚基构成, LHC II 由 lhcb1~lhcb7 共 7 种亚基构成。在这些亚基的编码基因中, 除了编码 Lhcb1、Lhcb7 外, 其余基因与 CK 相比在 AAS 中表达均发生下调 (图 6)。

由光驱动的光合电子传递链 (photosynthetic electron transport chain) 反应在类囊体膜中的光系统 I (photosystem I, PS I) 和光系统 II (photosystem II, PS II) 进行。首先, 光系统 II 利用光将 H₂O 氧化, 产生的电子通过质体醌和细胞色素 b₆/f 复合体 (cytochrome b₆/f complex, Cyt

b₆/f) 运输到光系统 I^[28]。AAS 中参与编码光系统 II 中相关亚基 PsbC、PsbO、PsbP、PsbQ、PsbR、PsbS、PsbW、PsbY 和 Psb27 的基因出现下调表达, Cyt b₆/f 中 PetC 亚基的编码基因在 AAS 中也表现出下调表达。随后, 接收到电子的光系统 I 将铁氧化还原蛋白还原^[29]。AAS 中参与光系统 I 相关亚基 PsaA、PsaB、PsaD、PsaE、PsaF、PsaG、PsaH、PsaK、PsaL、PsaN 和 PsaO 的编码基因都下调表达。然后, 三磷酸腺苷 (ATP) 合成酶 (adenosine triphosphate synthetase complex, ATP synthetase complex) 利用 Cyt b₆/f 形成的质子动力势驱动 ADP 和 Pi 合成 ATP^[30]。ATP 合成酶的构成亚基中 β 、 α 、 γ 、 δ 和 c 的编码基因在 AAS 中也显示出显著下调表达。最后, 由光系统 I 还原的铁氧化还原蛋白在铁氧化还原蛋白-NADP⁺还原酶 (ferredoxin-NADP⁺reductase, FNR) 上将 NADP⁺还原为 NADPH^[31], 此过程中相关亚基 PetE、PetH、PetJ 的编码基因在 AAS 中均出现下调表达 (图 7)。

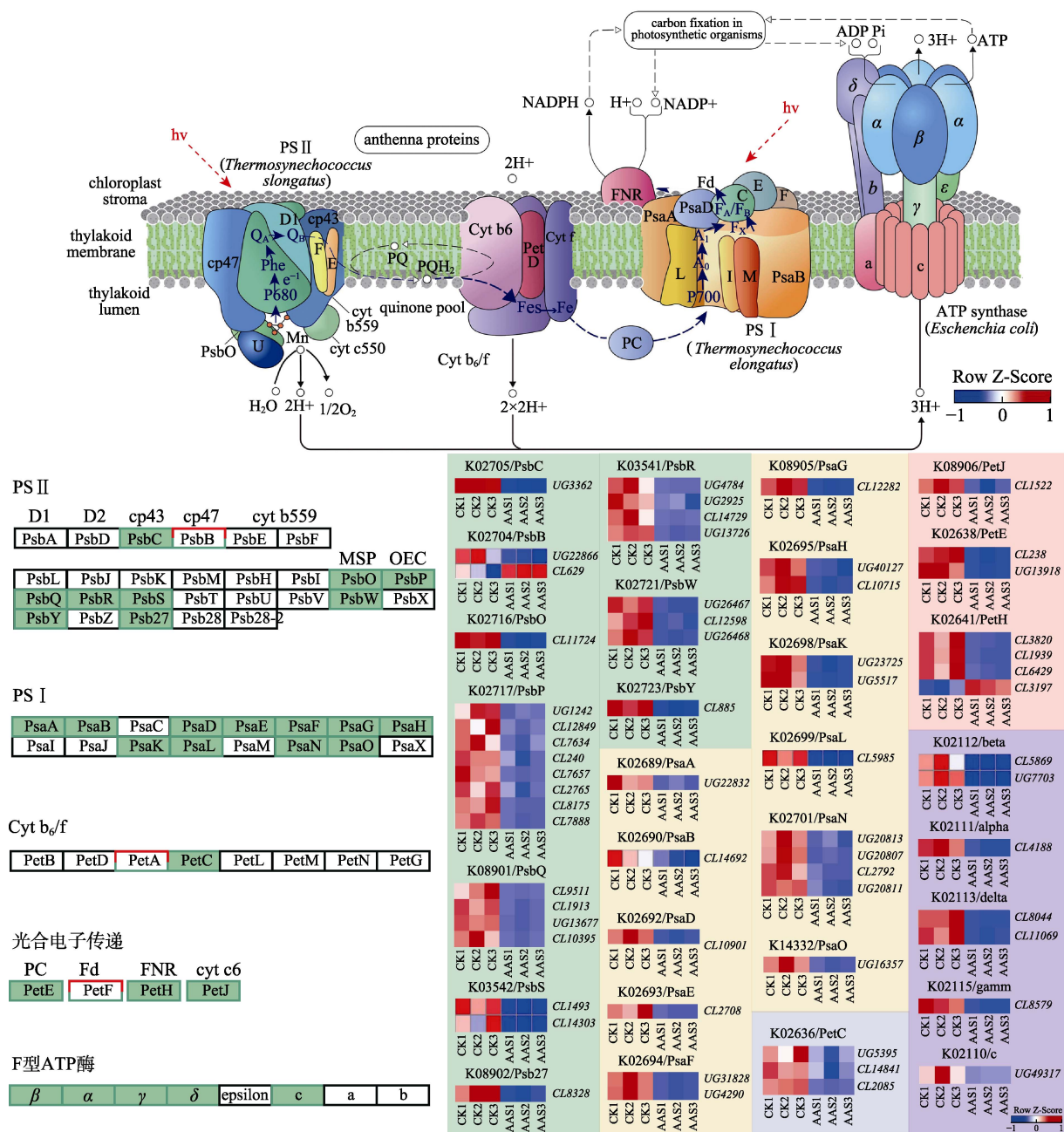


红、绿和黑色方框分别表示基因在 AAS 叶片中表达上调、下调和无显著差异。绘制热图的基因均为表达量具有显著差异 ($P < 0.05$) 的 cluster, 使用 Z-score 进行数据归一化处理。

The red, green, black boxes indicated that the enzyme gene expression was up-regulated, down-regulated, no significant difference. The genes for drawing the heatmaps are all clusters with significant difference in expression ($P < 0.05$), Z-score was used to normalize data.

图 6 光合作用-天线蛋白通路及相关基因表达热图

Fig. 6 Photosynthesis-antenna proteins pathway and heatmap of related genes expression



红、绿和黑色方框分别表示基因在 AAS 叶片中表达上调、下调和无显著差异。绘制热图的基因均为表达量具有显著差异 ($P<0.05$) 的 cluster, 使用 Z-score 进行数据归一化处理。
The red, green, black boxes indicated that the enzyme gene expression was up-regulated, down-regulated, no significant difference. The genes for drawing the heatmaps are all clusters with significant difference in expression ($P<0.05$), Z-score was used to normalize data.

图 7 光反应通路及相关基因表达热图

Fig. 7 Photoreaction pathway and heatmap of related genes expression

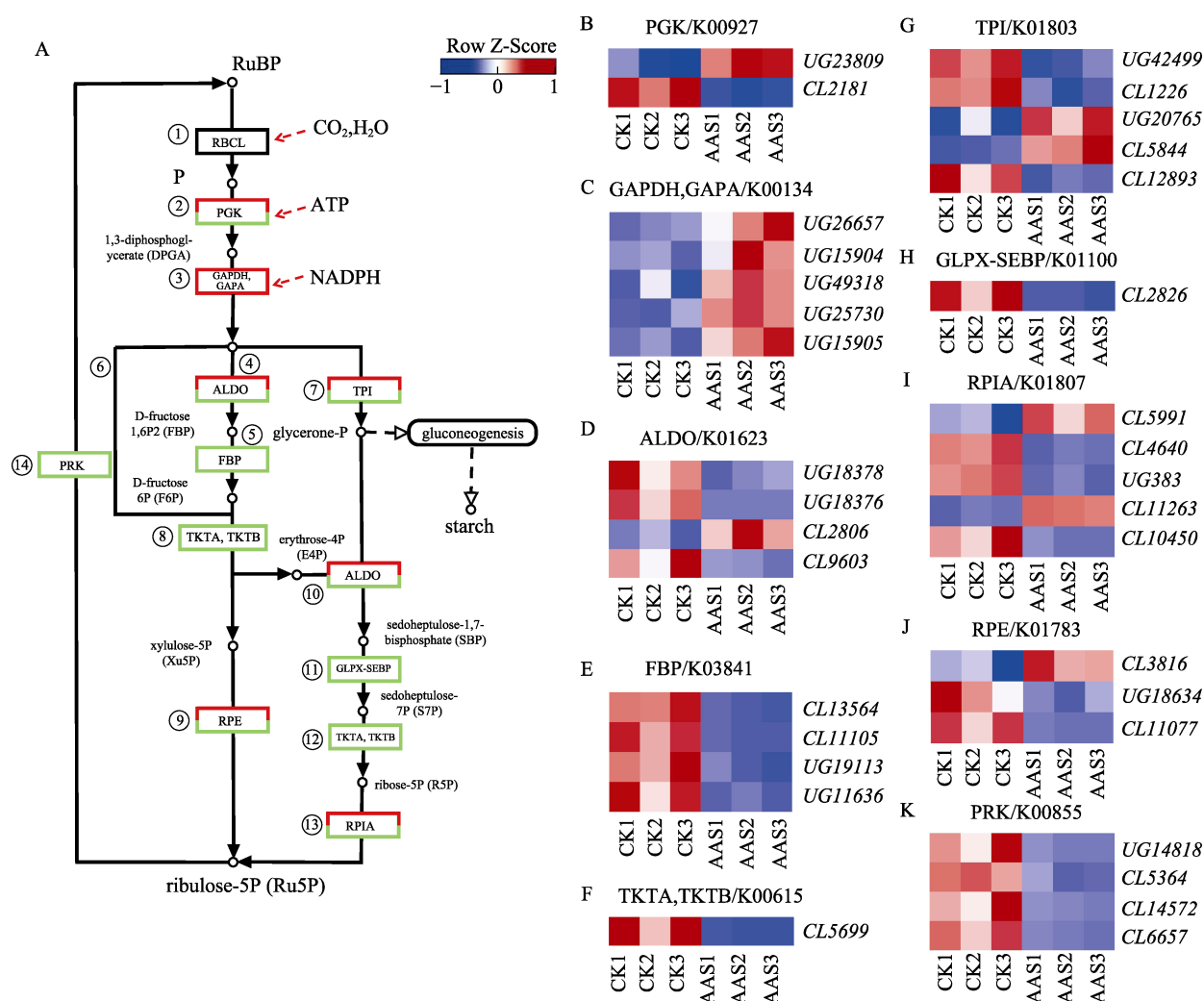
2.4 碳固定反应相关基因表达分析

卡尔文循环 (Calvin cycle) 是最普遍的碳固定反应, 分为羧化 (carboxylation)、还原 (reduction) 和再生 (regeneration) 3 个阶段^[32]。首先, 羧化阶段中 1,5-二磷酸核酮糖 (ribulose-1,5-bisphosphate, RuBP) 在核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶 (ribulose-1,5-biphosphate carboxylase, Rubisco/

RBCL) 的催化下, 与 CO_2 反应生成 3-磷酸甘油酸 (glycerate 3-phosphate, 3-PGA)^[33], 其中 RBCL 表达情况与 CK 相比无显著差异。在还原阶段, ATP 和 NADPH 推动 3-PGA 经过 phosphoglycerate kinase (PGK) 的激活和 glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH/GAPA) 的催化, 生成甘油醛-3-磷酸 (glyceraldehyde-3P, GAP)^[34]。

此过程中 GAPDH/GAPA 上调表达。再生阶段中, 其中 fructose 1,6-bisphosphatase (FBP)、transketolase A, B (TKTA、TKTB) 和 phos-

phoribulokinase (PRK) 等均下调表达。可见, 此过程的 14 个步骤中, 有 5 个步骤的酶在 AAS 中下调表达 (图 8)。



红、绿和黑色方框分别表示基因在 AAS 叶片中表达上调、下调和无显著差异。绘制热图的基因均为表达量具有显著差异 ($P < 0.05$) 的 cluster, 使用 Z-score 进行数据归一化处理。

The red, green, black boxes indicated that the enzyme gene expression was up-regulated, down-regulated, no significant difference. The genes for drawing the heatmaps are all clusters with significant difference in expression ($P < 0.05$), Z-score was used to normalize data.

图 8 碳固定反应中卡尔文循环及酶基因的表达

Fig. 8 Heatmap of Calvin cycle and enzyme genes expression in carbon fixation reaction

2.5 AAS 逆行信号关键蛋白编码基因表达分析

heat shock protein 70 (HSP70)、heat shock protein 90 (HSP90) 及 HSP70-HSP90-organizing protein 3 (HOP3) 在结构上高度保守, 应激条件下发挥作用。基于 AAS 叶光合色素合成酶基因与其他光合作用相关基因协同性下调 (图 4, 图 5), 本研究测定了质体-核信号通路中的关键调控因子 HSP70、HSP90 和 HOP3 的编码基因。结果显示, AAS 中 HSP70、HSP90 及 HOP3 的编码基因相较于 CK 有明显上调表达 (图 9)。

2.6 qRT-PCR 分析

为了验证 RNA-seq 数据的准确性, 选取 15 个基因进行 qRT-PCR 验证。这 15 个选定的基因包括 5 个参与光合作用-天线蛋白的基因、3 个参与光系统 II 的基因、2 个参与光系统 I 的基因、1 个参与细胞色素 b_6/f 复合体的基因、2 个参与光合电子传递链的基因和 2 个参与 ATP 合成酶的基因。结果显示: 上述 15 个基因的表达量变化趋势与 RNA-seq 数据相同 (图 10), 表明本研究中 RNA-seq 测序数据可靠。

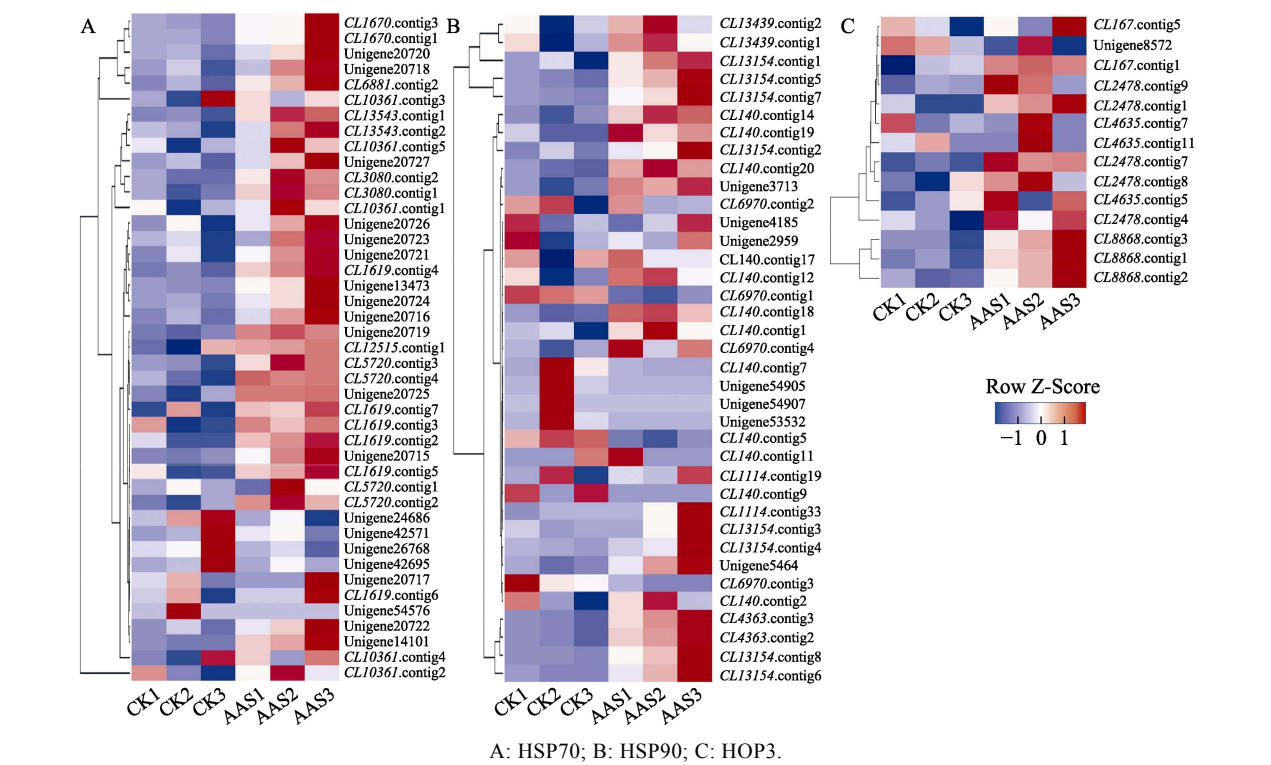
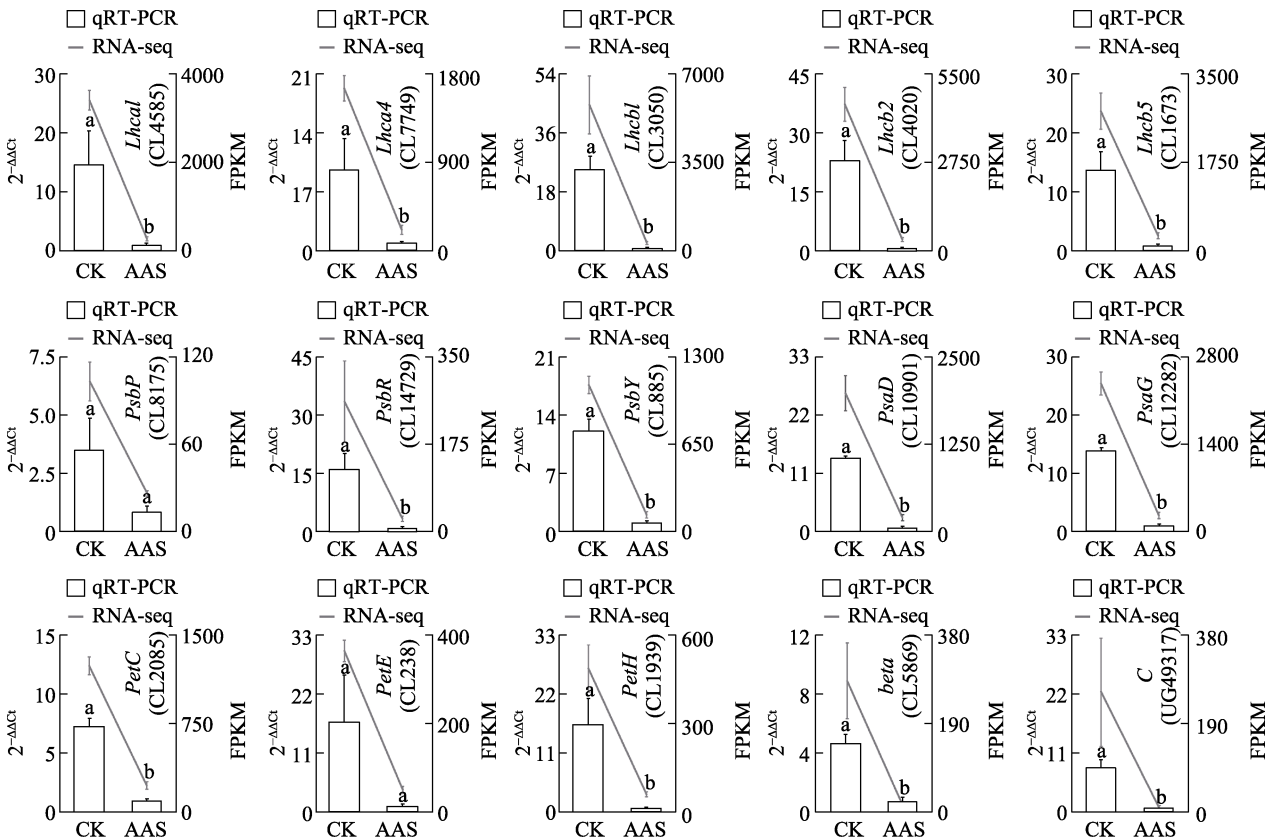


图 9 AAS 和 CK 逆行信号关键蛋白编码基因的表达量热图

Fig. 9 Heatmap of expression levels of key protein coding genes of retrograde signals in AAS and CK



Different lowercase letters indicate significant difference between CK and AAS ($P < 0.05$).

图 10 光合作用相关基因的 qRT-PCR 验证

Fig. 10 qRT-PCR verification of photosynthesis-related genes

3 讨论

目前,拟南芥、水稻、玉米 (*Zea mays*) 和烟草 (*Nicotiana tabacum*) 等的白化植株已被用于研究光合色素合成、叶绿体发育及核-质不相容原理等^[35-38]。此外,番茄和水稻等草本白化植株已被用作育种材料培育新品种^[11, 39]。木本白化植株安吉白茶 (*Camellia sinensis*) 叶片的氨基酸含量较高,茶叶的风味和品质更佳^[40]。因此,白化植株在科研、育种及品质改良等方面具有重要研究意义。

付影等^[12]对 39 棵子代幼苗进行统计表明 AAS(占比约 1/4)极可能为单基因隐性突变所致。然而 AAS 叶绿素和类胡萝卜素合成途径中均有多数基因表达发生下调,确切导致出现白化的突变基因还不明确。对于类胡萝卜素合成缺失的植株,叶绿素的合成也会受到抑制,这种抑制作用表现在两个方面:一方面叶绿素合成酶基因的表达发生下调。例如在拟南芥类胡萝卜素合成缺失突变体 *pds3* 中,叶绿素合成酶基因 *PPOX*、*POR* 和 *CAO* 等表达均发生下调^[41]。另一方面,缺乏类胡萝卜素的光保护作用,作为叶绿素合成场所的叶绿体将发生光损伤而破坏,导致叶绿素不能合成^[42]。例如水稻类胡萝卜素合成突变体 *pds* 和 *zds* 中,叶绿体形态异常,植株发生白化^[26]。此外,使用乙腈中氟草敏溶液 (norflurazon) 非竞争性地抑制类胡萝卜素合成过程中 PDS 的活性,导致类囊体膜发生光损伤,植株呈现光漂白的表型^[43]。通过透射电镜对 AAS 的叶绿体进行观察,发现其数量减少,类囊体形态严重异常;而将 AAS 从室外日光环境移入室内弱光环境后可转绿,叶绿体形态也有所恢复^[15]。结合 AAS 中 *PSY*、*PDS*、*ZDS*、*LCYe*、*LCYb* 和 *VDE* 编码基因的表达均显著下调,本研究进一步推测是由于 AAS 中类胡萝卜素合成缺失导致叶绿体发生光损伤,造成类囊体膜结构的破坏,导致叶绿素合成受到抑制,从而发生白化。

WU 等^[44]在水稻叶绿素缺失突变体中发现 *OsCHLG* 突变,导致叶绿素合成受阻,同时发现编码光系统 II 中光捕获 Chl *a/b* 结合蛋白基因的表达也受到严重抑制;WANG 等^[38]通过转录组分析发现,在 *alb1* 突变体,一个由玉米 *ZDS* 编码基因 *ALB1* 的敲除产生的白化植株中,许多编码光系统 I 和光系统 II 核心蛋白的光合作用相关基

因(9 个 *PSA*、7 个 *PSB* 和 5 个 *LHCB* 基因)受到明显抑制。结合本研究中 AAS 光合色素合成酶基因和光合作用相关基因均出现下调表达,进而提出一种可能的途径:光合色素合成酶基因与其他光合作用相关基因协同性的下调是通过叶绿体与细胞核之间的逆行信号通路实现的。叶绿体是植物细胞中一种特殊的细胞器,它自身携带遗传物质,并且它的生命活动离不开核基因组与叶绿体基因组的协调配合。非常有趣的是,在同样作为半自主性细胞器的线粒体中,这样的核质互作方式早已被发现^[45]。这表明在细胞生命活动的过程中,核-质互作很可能是一种关键性、普遍性的调节途径。在对拟南芥 *gun* 突变体的研究中发现,当叶绿素合成途径的下游受到阻碍时,其合成的中间产物能够作为叶绿体-核信号通路间的信号分子抑制一些核基因的表达^[43, 46-47]。进一步的研究发现, *HSP70*、*HSP90* 及 *HOP3* 是逆行信号通路的关键因子。在拟南芥 *gun1* 突变体中,当前体蛋白(例如叶绿体定位蛋白)在细胞质中过度积累时,会引起细胞质中的 *HSP70*、*HSP90* 及 *HOP3* 这些关键因子的积累,从而抑制光合作用相关核基因 (photosynthesis-associated nuclear gene, *PhANG*) 的表达,增强 *gun* 表现型^[48]。上述研究中,均是来自质体的信号调控了核基因的表达,且在与拟南芥叶绿体基因组进行对比后发现, AAS 叶绿素合成通路、类胡萝卜素合成通路、光合作用-天线蛋白通路以及碳固定反应中涉及到的下调基因在拟南芥中均由细胞核编码^[49]。此外, AAS 光系统 II、光系统 I、细胞色素 *b₆/f* 复合体和 ATP 合成酶相关亚基的编码基因中分别共有 10、11、1、5 个下调表达,其中有 2 个 (*AhPsbB* 和 *AhPsbC*)、2 个 (*AhPsaA* 和 *AhPsaB*) 和 3 个 (*Ahalpha*、*Ahdelta* 和 *Ahc*) 基因在拟南芥中是叶绿体基因,其余均为细胞核基因。这些结果表明, AAS 在白化过程中,相比叶绿体光合基因,核光合基因的表达和调控可能受到较大的影响。

因此本研究认为逆行信号通路是导致光合色素合成酶基因(叶绿素和类胡萝卜素合成酶基因)与其他光合作用相关基因(捕光复合物、光系统 II、光系统 I、细胞色素 *b₆/f* 复合体和 ATP 合成酶相关亚基的编码基因以及碳固定反应相关酶基因)协同性下调的可能原因。转录组数据中

HSP70、HSP90 及 HOP3 的编码基因相较于 CK 有明显上调表达, 这为提出的猜想提供了有力的支撑。而有关逆行信号通路的进一步探索有待后续的研究。

参考文献

- [1] FRICK G, SU Q X, APEL K, ARMSTRONG G A. An *Arabidopsis* *porB porC* double mutant lacking light-dependent NADPH: protochlorophyllide oxidoreductases B and C is highly chlorophyll-deficient and developmentally arrested[J]. *The Plant Journal*, 2003, 35(2): 141-153.
- [2] OUARGHI H E, PRAET E, JUPSIN H, VASEL J L. Comparison of oxygen and carbon dioxide balances in HRAP (high-rate algal ponds)[J]. *Water Science and Technology*, 2003, 48(2): 277-281.
- [3] FLOOD P J. Using natural variation to understand the evolutionary pressures on plant photosynthesis[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2019, 49: 68-73.
- [4] MIRKOVIC T, OSTROUMOV E E, ANNA J M, GRONDELLE R V, GOVINDJEE, SCHOLDS G D. Light absorption and energy transfer in the antenna complexes of photosynthetic organisms[J]. *Chemical Reviews*, 2017, 117(2): 249-293.
- [5] LIU X G, XU H, ZHANG J Y, LIANG G W, LIU Y T, GUO A G. Effect of low temperature on chlorophyll biosynthesis in albinism line of wheat (*Triticum aestivum*) FA85[J]. *Physiologia Plantarum*, 2012, 145(3): 384-394.
- [6] LIU R Y, DONG X C, GU W T, YU L X, JIN W J, QU Y, ZHANG F, LI W J. Variation in the phenotypic features and transcripts of thermo-sensitive leaf-color mutant induced by carbon ion beam in green wandering jew (*Tradescantia fluminensis*)[J]. *Scientia Horticulturae*, 2016, 213: 303-313.
- [7] 周夏雯, 石从广, 周芳伟, 徐梁, 杨少宗, 何秋伶. 植物叶色突变体分类、变异机制与应用的研究进展[J]. *浙江农林大学学报*, 2025, 42(2): 422-433.
ZHOU X W, SHI C G, ZHOU F W, XU L, YANG S Z, HE Q L. Research progress on classification, variation mechanism and application value of plant leaf color mutants[J]. *Journal of Zhejiang A&F University*, 2025, 42(2): 422-433. (in Chinese)
- [8] OZFIDAN-KONAKCI C, YILDIZTUGAY E, BAHTIYAR M, KUCUKODUK M. The humic acid-induced changes in the water status, chlorophyll fluorescence and antioxidant defense systems of wheat leaves with cadmium stress[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2018, 155: 66-75.
- [9] ZHENG H, WANG Z R, TIAN Y L, LIU L L, LYU F, KONG W Y, BAI W T, WANG P R, WANG C L, YU X W, LIU X, JIANG L, ZHAO Z G, WAN J M. Rice albino 1, encoding a glycyl-tRNA synthetase, is involved in chloroplast development and establishment of the plastidic ribosome system in rice[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2019, 139: 495-503.
- [10] NGUYEN M K, SHIH T H, LIN S H, HUANG W D, YANG C M. Transcription analysis of chlorophyll biosynthesis in wildtype and chlorophyll b-lacking rice (*Oryza sativa* L.)[J]. *Photosynthetica*, 2020, 58(3): 702-711.
- [11] GARCÍA-ALCÁZAR M, GIMENEZ E, PINEDA B, CAPEL C, GARCÍA-SOGO B, SÁNCHEZ S, YUSTE-LISBONA F J, ANGOSTO T, CAPEL J, MORENO V, LOZANO R. Albino T-DNA tomato mutant reveals a key function of 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate synthase (DXS1) in plant development and survival[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7(1/4): 45333.
- [12] 付影, 于旭东, 蔡泽坪, 吴繁花, 罗佳佳. 菠萝蜜白化突变体的性状研究[J]. *热带作物学报*, 2018, 39(6): 1081-1086.
FU Y, YU X D, CAI Z P, WU F H, LUO J J. Characters of albino mutant of *Artocarpus heterophyllus* Lam[J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2018, 39(6): 1081-1086. (in Chinese)
- [13] DAUD M N H, FATANAH D N, ABDULLAH N, AHMAD R. Evaluation of antioxidant potential of *Artocarpus heterophyllus* L. J33 variety fruit waste from different extraction methods and identification of phenolic constituents by LCMS[J]. *Food Chemistry*, 2017, 232: 621-632.
- [14] LIN X G, FENG C, LIN T, HARRIS A J, LI Y Z, KANG M. Jackfruit genome and population genomics provide insights into fruit evolution and domestication history in China[J]. *Horticulture Research*, 2022, 9: uhac173.
- [15] 周丹, 罗灿, 于旭东, 蔡泽坪, 吴繁花. 菠萝蜜叶片突变体叶绿素含量测定和超微结构观察[J]. *热带作物学报*, 2021, 42(10): 2935-2941.
ZHOU D, LUO C, YU X D, CAI Z P, WU F H. Determination of chlorophyll content and observation of ultrastructure in leaves of mutants of *Artocarpus heterophyllus*[J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2021, 42(10): 2935-2941. (in Chinese)
- [16] 张水仙, 董俊娜, 王月, 曹璐, 张西, 蔡泽坪, 李世东, 罗佳佳, 于旭东. 白化对菠萝蜜叶片生长及光合、呼吸特性的影响[J]. *福建农林大学学报(自然科学版)*, 2023, 52(2): 160-165.
ZHANG S X, DONG J N, WANG Y, CAO L, ZHANG X, CAI Z P, LI S D, LUO J J, YU X D. Effect of albinism on growth, photosynthetic and respiratory characteristics of *Artocarpus heterophyllus* leaves[J]. *Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition)*, 2023,

- 52(2): 160-165. (in Chinese)
- [17] 董俊娜, 谢柳青, 楚文清, 于旭东, 蔡泽坪, 罗佳佳, 瞿倩. 菠萝蜜叶绿素缺失突变体幼苗茎的解剖结构[J]. 热带作物学报, 2021, 42(6): 1654-1660.
DONG J N, XIE L Q, CHU W Q, YU X D, CAI Z P, LUO J J, QU Q. Structural analysis of the stem of the chlorophyll deficient mutant from *Artocarpus heterophyllus* seedlings[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2021, 42(6): 1654-1660. (in Chinese)
- [18] ZHAO L, DING Q, ZENG J, WANG F R, ZHANG J, FAN S J, HE X Q. An improved CTAB-ammonium acetate method for total RNA isolation from cotton[J]. Phytochemical Analysis, 2012, 23(6): 647-650.
- [19] ZHOU Y H, RAJ V R, SIEGEL E, YU L P. Standardization of gene expression quantification by absolute real-time qRT-PCR system using a single standard for marker and reference genes[J]. Biomarker Insights, 2010, 5: 79-85.
- [20] 庾蕾, 刘建平, 庄志雄, 杨淋清, 张仁利, 叶小明, 程锦泉. 实时 RT-PCR 基因表达相对定量 REST^(C)软件分析与 2^(-ΔΔCT)法比较[J]. 热带医学杂志, 2007(10): 956-958.
YU L, LIU J P, ZHUANG Z X, YANG L Q, ZHANG R L, YE X M, CHENG J Q. Quantitative analysis of real-time PCR expression production by REST^(C) and 2^(-ΔΔCT)[J]. Journal of Tropical Medicine, 2007(10): 956-958. (in Chinese)
- [21] KUMAR A M, SÖLL D. Antisense *HEMA1* RNA expression inhibits heme and chlorophyll biosynthesis in *Arabidopsis*[J]. Plant Physiology, 2000, 122(1): 49-56.
- [22] NAGATA N, TANAKA R, SATOH S, TANAKA A. Identification of a vinyl reductase gene for chlorophyll synthesis in *Arabidopsis thaliana* and implications for the evolution of prochlorococcus species[J]. The Plant Cell, 2005, 17(1): 233-240.
- [23] MEIER S, TZFADIA O, VALLABHANENI R, GEHRING C, WURTZEL E T. A transcriptional analysis of carotenoid, chlorophyll and plastidial isoprenoid biosynthesis genes during development and osmotic stress responses in *Arabidopsis thaliana*[J]. BMC Systems Biology, 2011, 5(1): 77.
- [24] 董书琦, 陈达, 秦巧平, 吴国平, 张志国, 倪迪安. 高等植物叶绿素和类胡萝卜素代谢研究进展[J]. 植物生理学报, 2023, 59(5): 793-802.
DONG S Q, CHEN D, QIN Q P, WU G P, ZHANG Z G, NI D A. Advances in metabolism of chlorophylls and carotenoids in higher plants[J]. Plant Physiology Journal, 2023, 59(5): 793-802. (in Chinese)
- [25] DONG H L, DENG Y, MU J Y, LU Q T, WANG Y Q, XU Y Y, CHU C C, CHONG K, LU C M, ZUO J R. The *Arabidopsis Spontaneous Cell Death1* gene, encoding a ζ-carotene desaturase essential for carotenoid biosynthesis, is involved in chloroplast development, photoprotection and retrograde signalling[J]. Cell Research, 2007, 17(5): 458-470.
- [26] FANG J, CHAI C L, QIAN Q, LI C L, TANG J Y, SUN L, HUANG Z J, GUO X L, SUN C H, LIU M, ZHANG Y, LU Q T, WANG Y Q, LU C M, HAN B, CHEN F, ZHENG Z K, CHU C C. Mutations of genes in synthesis of the carotenoid precursors of ABA lead to pre-harvest sprouting and photo-oxidation in rice[J]. The Plant Journal, 2008, 54(2): 177-189.
- [27] KENNIS J T M, GOBETS B, STOKKUM I H M V, DEKKER J P, GRONDELLE R V, FLEMING G R. Light harvesting by chlorophylls and carotenoids in the photosystem I core complex of *Synechococcus elongatus*: a fluorescence upconversion study[J]. The Journal of Physical Chemistry B, 2001, 105(19): 4485-4494.
- [28] WANG W D, ZHAO S H, PI X, KUANG T Y, SUI S F, SHEN J R. Structural features of the diatom photosystem II-light-harvesting antenna complex[J]. The FEBS Journal, 2020, 287(11): 2191-2200.
- [29] HE L, LI M, QIU Z N, CHEN D D, ZHANG G H, WANG X Q, CHEN G, HU J, GAO Z Y, DONG G J, REN D Y, SHEN L, ZHANG Q, GUO L B, QIAN Q, ZENG D L, ZHU L. Primary leaf-type ferredoxin 1 participates in photosynthetic electron transport and carbon assimilation in rice[J]. The Plant Journal, 2020, 104(1): 44-58.
- [30] JUNGE W, SIELAFF H, ENGELBRECHT S. Torque generation and elastic power transmission in the rotary F₀F₁-ATPase[J]. Nature, 2009, 459(7245): 364-370.
- [31] MUSUMECI M A, CECCARELLI E A, CATALANO-DUPUY D L. The plant-type ferredoxin-NADP+reductases [A]. NAJAFPOUR M M. Advances in photosynthesis - fundamental aspects[C]. Iran: Iran Basic Sciences, 2012: 539-562.
- [32] 张洪渊. 生物化学原理[M]. 北京: 科学出版社, 2006.
ZHANG H Y. Principle of biochemistry[M]. Beijing: Science Press, 2006. (in Chinese)
- [33] FONG F K, BUTCHER K A. Non-cyclic photoreductive carbon fixation in photosynthesis. Light and dark transients of the glyceraldehyde-3-P special pair[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 1988, 150(1): 399-404.
- [34] TAKAGI D, INOUE H, ODAWARA M, SHIMAKAWA G, MIYAKE C. The calvin cycle inevitably produces sugar-derived reactive carbonyl methylglyoxal during photosynthesis: a potential cause of plant diabetes[J]. Plant and Cell Physiology, 2014, 55(2): 333-340.
- [35] SCHMITZ-LINNEWEBER C, KUSHNIR S, BABIYCHUK E, POLTNIGG P, HERRMANN R G, MAIER R M. Pigment deficiency in nightshade/tobacco hybrids is caused by

- the failure to edit the plastid ATPase alpha-subunit mRNA[J]. *The Plant Cell*, 2005, 17(6): 1815-1828.
- [36] SATOU M, ENOKI H, OIKAWA A, OHTA D, SAITO K, HACHIYA T, SAKAKIBARA H, KUSANO M, FUKUSHIMA A, SAITO K, KOBAYASHI M, NAGATA N, MYOUGA F, SHINOZAKI K, MOTOHASHI R. Integrated analysis of transcriptome and metabolome of *Arabidopsis albino* or pale green mutants with disrupted nuclear-encoded chloroplast proteins[J]. *Plant Molecular Biology*, 2014, 85(4/5): 411-428.
- [37] FANG Y X, HOU L L, ZHANG X Q, PAN J J, REN D Y, ZENG D L, GUO L B, QIAN Q, HU J, XUE D W. Disruption of ζ -carotene desaturase protein ALE1 leads to chloroplast developmental defects and seedling lethality[J]. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 2019, 67(42): 11607-11615.
- [38] WANG M P, ZHU X F, LI Y, XIA Z L. Transcriptome analysis of a new maize albino mutant reveals that zeta-carotene desaturase is involved in chloroplast development and retrograde signaling[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2020, 156: 407-419.
- [39] ABE T, MATSUYAMA T, SEKIDO S, YAMAGUCHI I, YOSHIDA S, KAMEYA T. Chlorophyll-deficient mutants of rice demonstrated the deletion of a DNA fragment by heavy-ion irradiation[J]. *Journal of Radiation Research*, 2002, 43(Suppl.): S157-S161.
- [40] MA C L, CHEN L, WANG X C, JIN J Q, MA J Q, YAO M Z, WANG Z L. Differential expression analysis of different albescent stages of 'Anji Baicha' (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) using cDNA microarray[J]. *Scientia Horticulturae*, 2012, 148: 246-254.
- [41] QIN G J, GU H Y, MA L G, PENG Y B, DENG X W, CHEN Z L, QU L J. Disruption of phytoene desaturase gene results in albino and dwarf phenotypes in *Arabidopsis* by impairing chlorophyll, carotenoid, and gibberellin biosynthesis[J]. *Cell Research*, 2007, 17(5): 471-482.
- [42] MAOKA T. Carotenoids as natural functional pigments[J]. *Journal of Natural Medicines*, 2020, 74(1): 1-16.
- [43] STRAND A, ASAMI T, ALONSO J, ECKER J R, CHORY J. Chloroplast to nucleus communication triggered by accumulation of Mg-protoporphyrin IX[J]. *Nature*, 2003, 421(6918): 79-83.
- [44] WU Z M, ZHANG X, HE B, DIAO L P, SHENG S L, WANG J L, GUO X P, SU N, WANG L F, JIANG L, WANG C M, ZHAI H Q, WAN J M. A chlorophyll-deficient rice mutant with impaired chlorophyllide esterification in chlorophyll biosynthesis[J]. *Plant Physiology*, 2007, 145(1): 29-40.
- [45] FORSBURG S L, GUARENTE L. Communication between mitochondria and the nucleus in regulation of cytochrome genes in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Annual Review of Cell And Developmental Biology*, 1989, 5: 153-180.
- [46] RODERMEL S. Pathways of plastid-to-nucleus signaling[J]. *Trends in Plant Science*, 2001, 6(10): 471-478.
- [47] SURPIN M, LARKIN R M, CHORY J. Signal transduction between the chloroplast and the nucleus[J]. *The Plant Cell*, 2002, 14(Suppl.): S327-S338.
- [48] WU G Z, MEYER E H, RICHTER A S, SCHUSTER M, LING Q H, SCHÖTTLER M A, WALTHER D, ZOSCHKE R, GRIMM B, JARVIS R P. Control of retrograde signalling by protein import and cytosolic folding stress[J]. *Nature Plants*, 2019, 5(5): 525-538.
- [49] SATO S, NAKAMURA Y, KANEKO T, ASAMIZU E, TABATA S. Complete structure of the chloroplast genome of *Arabidopsis thaliana*[J]. *DNA Research*, 1999, 6(5): 283-290.