

木薯 C3H 基因鉴定及应答菜豆黄单胞菌侵染表达模式分析

李 敏, 魏炳峥, 贾素行, 陈银华, 李春霞*

海南大学热带农林学院/海南省热带生物资源可持续利用重点实验室, 海南海口 570228

摘 要: 木薯是世界三大薯类作物之一, 同时也是热带、亚热带地区的重要粮食作物。木薯在生长发育过程中易遭受病虫害影响, 其中细菌性枯萎病 (cassava bacterial blight, CBB) 是为害木薯的重要病害。CCCH (C3H) 型锌指蛋白广泛存在于各种生物体内, 不仅参与植物生长发育、激素调控, 同时也响应生物及非生物胁迫。在拟南芥、水稻、大豆、小麦、矮牵牛、棉花等植物中, 部分 C3H 基因的功能已有报道, 但木薯 C3H 基因功能还鲜有研究。本研究利用生物信息学工具分析木薯 MeC3H 基因家族成员的系统进化特征、染色体位置、基因结构、启动子顺式作用元件和共线性等, 并利用转录组和实时荧光定量 PCR (qPCR) 技术研究木薯受病原菌 (*Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis*, *Xpm*) 侵染后, MeC3H 基因的表达模式。结果表明: 木薯共有 89 个 MeC3H 基因, 命名为 MeC3H01~MeC3H89, 分布在 18 条不同的染色体上; 系统进化树显示, 这 89 个 MeC3H 蛋白分为 4 个亚家族; MeC3H 基因启动子含有逆境、植物激素以及植物生长发育响应元件; 共线性分析发现, 有 39 对木薯 C3H 基因具有同源关系, 表明在进化过程中可能通过复制扩增基因家族成员; 通过转录组和实时荧光定量 PCR 分析发现, 在 *Xpm* 处理后, 部分 C3H 基因表达发生显著变化, 其中 MeC3H49、MeC3H42、MeC3H68 的表达量显著上调, MeC3H35、MeC3H77、MeC3H36、MeC3H31、MeC3H86 的表达量显著下调。本研究结果为进一步分析 MeC3H 基因的功能提供参考。

关键词: 木薯; C3H 基因家族; 基因表达; 抗病响应; 细菌性枯萎病

中图分类号: S533 文献标志码: A

Identification of Cassava C3H Genes and Analysis of the Expression Pattern in Response to *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis*

LI Min, WEI Bingzheng, JIA Suhang, CHEN Yinhua, LI Chunxia*

School of Tropical Agriculture and Forestry, Hainan University / Key Laboratory of Sustainable Utilization of Tropical Biological Resources, Haikou, Hainan 570228, China

Abstract: Cassava is one of the three major tuber crops in the world, and is also an important food crop in tropical and subtropical regions. Bacterial blight (CBB) is an important disease for cassava. CCCH (C3H)-type zinc finger proteins are widely present in most of organisms, not only involved in plant growth and development, hormone regulation, but also in response to biotic and abiotic stresses. Although the function of some C3H genes in other plants has been reported, but that in cassava has not been reported. In this study, we analyzed the phylogenetic characteristics, chromosome location, gene structure, promoter cis-acting elements and collinearity of cassava C3H genes. A total of 89 C3H genes (MeC3H01–MeC3H89) were identified in cassava, which were distributed on 18 chromosomes. The phylogenetic tree showed that 89 MeC3H proteins were classified into 4 subfamilies. The C3H gene promoters contains multiple stress, hormones, plant growth and development response elements. 39 pairs of cassava C3H genes had homologous relationships, indicating that these genes may be amplified by replication during evolution. We also analyzed the response expression pattern of C3H genes after cassava was infected by *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis* (*Xpm*) by transcriptome and real-time quantitative PCR (qPCR) experiments. The expression levels of MeC3H49, MeC3H42 and MeC3H68 were significantly up-regulated, and those of MeC3H35, MeC3H77, MeC3H36, MeC3H31 and MeC3H86

收稿日期 2025-03-25; 接受日期 2025-04-17

基金项目 海南省研究生创新课题 (No. Qhys2023-250)。

作者简介 李 敏 (1998—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 植物抗病机制。*通信作者 (Corresponding author): 李春霞 (LI Chunxia), E-mail: chun_xia_li@126.com。

were significantly down-regulated. In summary, we identified the cassava C3H gene family members and their expression patterns in response to *Xpm* infection, which lays a foundation for further analysis of the function of *MeC3Hs*.

Keywords: cassava; C3H gene family; gene expression; disease resistance response; bacterial blight

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2025.08.002

锌指蛋白家族是真核生物中最大的转录因子家族之一,其中 CCCH (C3H) 型锌指蛋白是一类在生物体中广泛存在的超家族蛋白,通过与 DNA、RNA 或蛋白质相互作用,调控植物的生长发育、激素响应及生物胁迫^[1]。C3H 锌指转录因子 (zinc finger, Znf) 由 1~6 个 CCCH 类型的锌指基序组成,该基序由 3 个半胱氨酸和 1 个组氨酸组成^[1]。拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 中有 68 个 C3H 家族成员,主要参与植物对盐、干旱等胁迫以及激素、光的响应,同时也调控花的发育^[2]。例如,拟南芥 HUA1 是一种与花发育相关的 RNA 结合蛋白^[3],而 AtTZF1 可以在细胞核和细胞质间穿梭,与 DNA、RNA 均有结合活性,参与盐、激素等响应^[4]。谷子 (*Setaria italica*) SiC3H49 是与干旱有关的锌指蛋白,可能通过调控气孔开放,在耐旱性中发挥关键作用^[5];棉花 (*Gossypium hirsutum*) GhZFP1 与 GZIRD21A、GZIPR5 蛋白相互作用介导植物的抗逆性^[6]。在烟草 (*Nicotiana tabacum*) 中过表达 GhZFP1 可显著增加其耐盐性和抗病性^[6]。水稻 (*Oryza sativa*) C3H 蛋白 OsDOS 可调控茉莉酸信号转导,过表达可延缓叶片衰老^[7];OsLOL2 通过调节赤霉素 (gibberellins, GAs) 生物合成、调控水稻生长^[8]。此外,C3H 还参与植物的抗病响应。例如,水稻 C3H 基因 OsBIRF 转入烟草后可增强烟草对花叶病毒、野火病毒和烟草粉虱的抗性^[9];拟南芥 AtC3H18 正调控水杨酸 (salicylic acid, SA) 和茉莉酸 (jasmonic acid, JA) 信号通路,从而增强对丁香假单胞菌 (*Pseudomonas syringae*) 的抗性^[10];甘蔗 (*Saccharum officinarum*) C3H 基因 Sc-zf 受黑穗病菌诱导表达,可能调控植物黑穗病抗性^[11]。目前已在拟南芥、大豆 (*Glycine max*)、水稻、小麦 (*Triticum aestivum*)、棉花等植物中分析和鉴定出 C3H 基因家族成员^[6],但在木薯中还未有详细报道。

木薯 (*Manihot esculenta*) 是世界三大薯类作物之一,也是热带、亚热带地区重要的粮食和经济作物,有“地下粮仓”的誉称^[12]。木薯起源于热带美洲,迄今已有 4000 多年的栽培历史,具有耐干旱、耐贫瘠、生长快、产量高、用途广等特

点^[12]。木薯的块根是其主要的营养器官,块根中富含大量的淀粉,是理想的工业原料,常用于生物燃料、造纸以及纺织业等。自 19 世纪 20 年代引种以来,木薯已成为我国第六大热带作物^[13]。华南地区木薯已经有 200 多年的栽培历史,随着我国经济发展以及对生物能源、粮食生产等方面的需求,木薯已成为我国华南地区一种重要的旱地经济作物^[12],同时我国是世界上最大的木薯进口国。

近年来,病害一直是制约木薯产量的重要因素。由菜豆黄单胞菌木薯萎蔫致病变种 (*Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis*, *Xpm*) 引起的细菌性枯萎病 (cassava bacterial blight, CBB) 是木薯的重要病害,病原菌侵染后通过堵塞维管束、诱发叶片坏死和系统性萎蔫^[14],会造成叶片光合效率降低 50% 以上,严重时可使木薯减产 20%~70%^[15]。当前抗 CBB 木薯品种极度匮乏,抗病种质资源也很少,传统育种已很难满足产业需求,急需获得新的抗病种质或通过现代遗传技术创制抗病种质。了解木薯响应病原菌的防御机制,对抗病品种培育有重要作用。本研究首先运用生物信息学方法分析鉴定木薯 MeC3H 基因家族,从系统进化、染色体分布、Motif 分析、启动子顺式作用元件、蛋白质理化性质等方面分析木薯 MeC3H 蛋白家族成员的特性,利用转录组和实时荧光定量 PCR 等技术分析 C3H 基因响应病原菌侵染下的表达模式,为木薯 C3H 基因的功能解析及木薯抗病育种提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为华南 8 号 (South China 8, SC8) 木薯,菜豆黄单胞菌木薯萎蔫致病变种 (*Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis*, *Xpm*) CHN11 由本实验室分离和保存。

1.2 方法

1.2.1 MeC3H 家族成员筛选与鉴定 从 Phytozome (<https://phytozome.jgi.doe.gov/>) 数据库获取木薯 SC8 参考基因组以及拟南芥 TAIR10 基因组数据;从 Pfam (<http://pfam.xfam.org/>) 数据库

下载 *C3H* 蛋白的结构域模型 PF00642, 使用 HMMER 软件从木薯数据库中搜索 *C3H* 蛋白 ($E\text{-value} < 10^{-5}$), 初步筛选出木薯 MeC3H 家族成员, 再通过 NCBI-CDD (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/cdd/>)、SMART (<https://smart.embl.de/>) 等数据库验证候选蛋白。

1.2.2 *MeC3H* 蛋白亚细胞定位预测 通过 Wolf Post II (<https://www.genscript.com>) 在线软件预测木薯 *C3H* 蛋白的亚细胞定位^[2]。

1.2.3 *MeC3H* 家族系统进化分析 通过 MEGA 11.0 软件^[16] (Pennsylvania State University, 美国) 中的 Muscle 功能对木薯和拟南芥 *C3H* 蛋白进行序列比对分析, 并且采用临近-连接法 (Neighbor-Joining algorithm, NJ) 构建系统进化树, Bootstrap 重复值为 1000, 用 p-distance 方法进行计算。对 *MeC3H* 家族成员进行亚家族分类, 使用 Evolview (<https://www.evolgenius.info/evolview-v2>) 在线网站美化。

1.2.4 *MeC3H* 基因结构及蛋白保守基序分析 根据木薯基因组注释文件中 *MeC3H* 家族成员结构信息, 使用 TB tools v2.152^[17] 软件进行结构可视化分析。通过 MEME 软件预测 *C3H* 蛋白的保守基序 (motif 数为 15, 其他参数使用默认值), 使用 TB tools v2.152^[17] 软件可视化 motif 结果。

1.2.5 *MeC3H* 基因启动子顺式作用元件预测 通过 TB tools 从木薯基因组序列中提取 *MeC3H* 家族成员转录起始位点上游 2000 bp 的序列, 利用 PlantCARE (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>) 在线软件预测启动子区域的顺式作用元件^[18]。

1.2.6 *MeC3H* 基因的染色体定位及共线性分析 从木薯基因组注释文件中获取 *MeC3H* 基因家族成员信息, 使用 TB tools v 2.152^[17] 软件将木薯 *C3H* 基因定位在染色体上。采用 TB tools 软件的 MCScanX 工具分析木薯与拟南芥、木薯与烟草 *C3H* 基因的共线性。

1.2.7 *MeC3H* 基因的表达模式分析 为了解 *MeC3H* 家族基因受 *Xpm* 侵染的诱导表达模式, 利用课题组前期获得的 RNA-seq 数据, 获得病原菌侵染不同时间点 *MeC3H* 家族成员的转录本 FPKM (fragments per kilobase of exon per million reads mapped) 值, 并利用 TBtools v2.152 软件对 *MeC3H* 基因表达水平进行聚类分析以及热图绘制, 挑选 16 个表达趋势显著的 *MeC3H* 基因进行

qPCR 验证。将生长 30 d 左右的 SC8 木薯叶片接种 *Xpm* CHN11 菌株^[19], 对照组 (CK) 用灭菌 ddH₂O 替代病原菌悬浮液, 其他步骤与试验组相同, 在不同时间点 (8、24、50 h) 取样, 使用 SteadyPure 植物 RNA 快速提取试剂盒 (艾科瑞, AG21040) 提取总 RNA。使用 NanoDrop 2000 分光光度计以及琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 样品的完整性、浓度。利用 EvoM-MLV 反转录试剂盒 (艾科瑞, AG11728) 合成 cDNA。在 qTower3 实时荧光定量 PCR 仪 (耶拿, 美国) 上进行 PCR。所用引物序列见表 1, 反应程序为预变性 (95 °C, 30 s); 变性 (95 °C, 10 s)、退火延伸 (60 °C, 30 s), 40 个循环。采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算基因相对表达水平^[8]。利用 GraphPad Prism 9 软件 (GraphPad Software, 美国) 绘图, 并使用 *t* 检验比较数据间的差异。本试验包含 3 个生物学重复和 3 个技术重复。

2 结果与分析

2.1 *MeC3H* 蛋白亚细胞定位预测

通过全基因组分析发现, 在木薯中共有 89 个 *MeC3H* 家族成员, 根据其在染色体上的位置将其命名为 *MeC3H01~MeC3H89*。据预测, *MeC3H30*、*MeC3H43*、*MeC3H60*、*MeC3H72* 等 4 个蛋白定位于细胞质; *MeC3H01*、*MeC3H08*、*MeC3H18*、*MeC3H20*、*MeC3H31*、*MeC3H39*、*MeC3H44*、*MeC3H50*、*MeC3H58* 等 9 个蛋白定位于叶绿体; 其余 76 个蛋白定位于细胞核。亚细胞定位预测结果表明, 大部分 *MeC3H* 家族成员可能在细胞核中发挥作用。

2.2 *MeC3H* 基因的染色体定位分析

89 个 *MeC3H* 基因分布在 18 条染色体和 1 条 Scaffold 上, 主要分布于 Chr2 (8 个)、Chr1 (7 个)、Chr6 (7 个)、Chr8 (7 个)、Chr14 (7 个)、Chr3 (6 个)、Chr10 (6 个)、Chr11 (6 个)、Chr12 (5 个)、Chr9 (4 个)、Chr15 (4 个)、Chr16 (4 个), 其余 6 条染色体上 *C3H* 基因数量为 2~3 个 (图 1)。除 Chr1、Chr2、Chr6、Chr8、Chr14 染色体上的 *C3H* 基因分布比较集中外, 其余染色体上 *C3H* 基因分布比较分散。

2.3 *MeC3H* 家族基因系统进化分析

根据拟南芥 (*AtC3Hs*, 68 个) 和木薯 (*MeC3Hs*, 89 个) *C3H* 蛋白序列构建系统进化树 (图 2)。2 个物种 *C3H* 蛋白可归为 I、II、III、IV 4 个组。I 组包含 34 个 *MeC3H*, 28 个 *AtC3H*; II 组包含

表 1 qRT-PCR 所用引物序列
Tab. 1 Primer sequences for qRT-PCR

引物名称 Primer name	正向引物 (5'-3') Forward primer (5'-3')	反向引物 (5'-3') Reverse primer (5'-3')
MeTubulin	ATGCGGTTCTTGATGTTGTTC	TCGGTGAAGGGAATACAGAGA
MeC3H01	CCAAATCTTTTGAACCGGCCA	CAGCAACAACACCCCTAATCG
MeC3H03	TGGCAGTCTTGTGCTTTGTG	GCTACATATGTGCCATCCGCA
MeC3H06	CTCAGGAGTACAGCCAGAATA	AACCTTCTTGGAAGCCAGCA
MeC3H07	GAGTCCTTACTCGGCACCTG	TGAGAGGCCAGCAACAGAAG
MeC3H31	TGCCAGTCTGGTCAGTGTC	TGCCTTAACAACATTGCGCAC
MeC3H36	ACCTTCAGCTCACACCTTCAT	ACCACTGCACATACCCTAATTCTAT
MeC3H39	TTGTTACGGTTTCGCGCTTC	GTTGATAAGGAGTCCATTTCTTGCT
MeC3H42	TGGTAGTCTTTCTCAAGCGAT	CAGACCTAACCCCAATCCACA
MeC3H46	ATCAGCGTGCCAAAGTAGCA	TAGCTCACGGCCACTCATTC
MeC3H49	CAGCAGCAAGACAAAACGACA	CGATACTCACATTCACTTCCCTTTT
MeC3H58	GGAGTTCTAGGTCTCTGGCG	TTTTCCATGCGCAAACCTGGC
MeC3H68	FGCAAATCGTCTTCTCTGATTTGTGT	CTGCCTCAACTGTACCATTGTAT
MeC3H71	GCAAGTTCAATCACCTGCTAC	ACCGGAGTTTTGGCTCTTGA
MeC3H77	CGAGGCTGCTCTGAATGGAA	AGGGCACCCAGAAGTACTGA
MeC3H86	CTTTGTCAGGTAAGGCTGTTC	TGGTTGGCAGAAAGACCTTCA

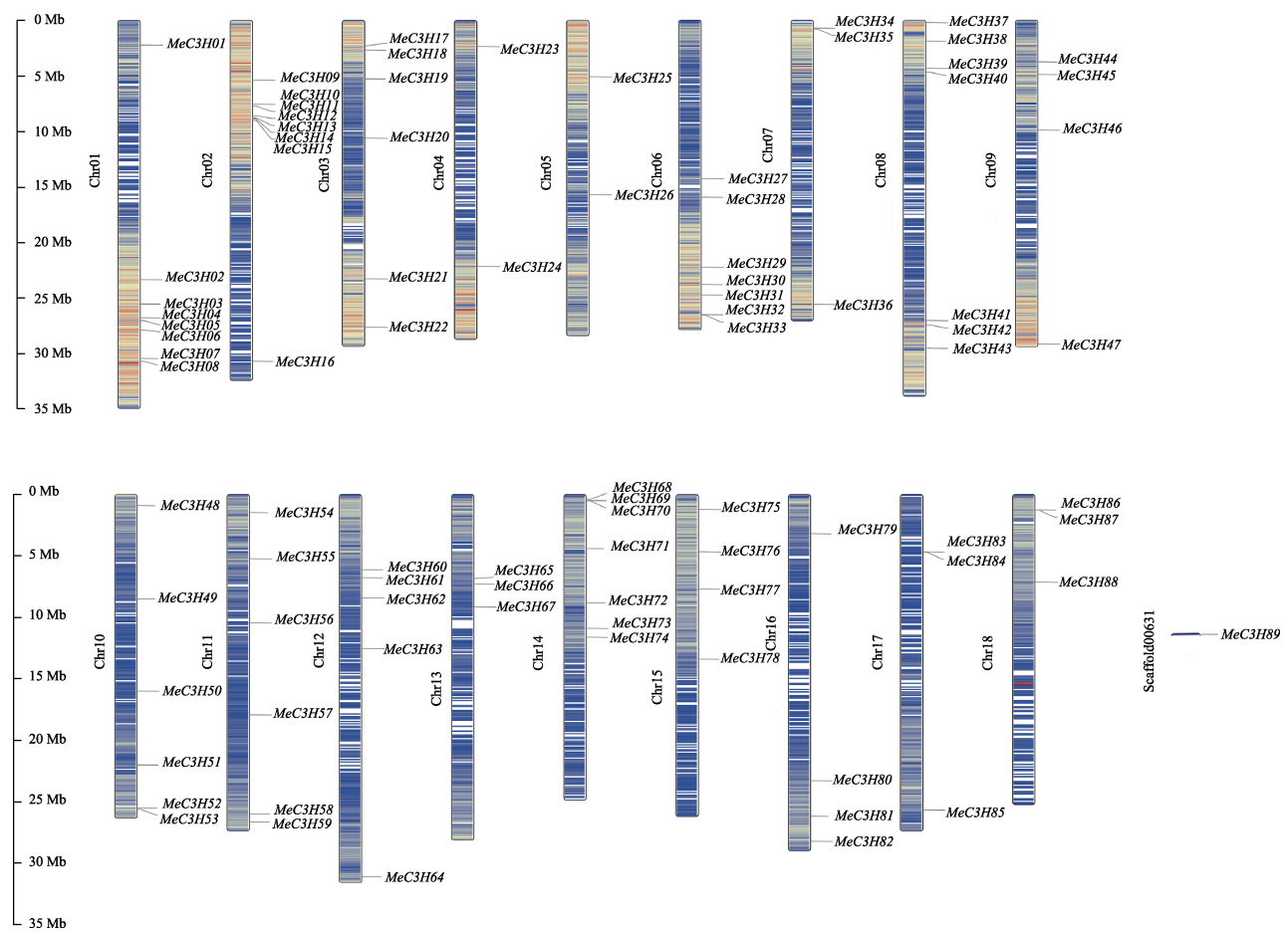
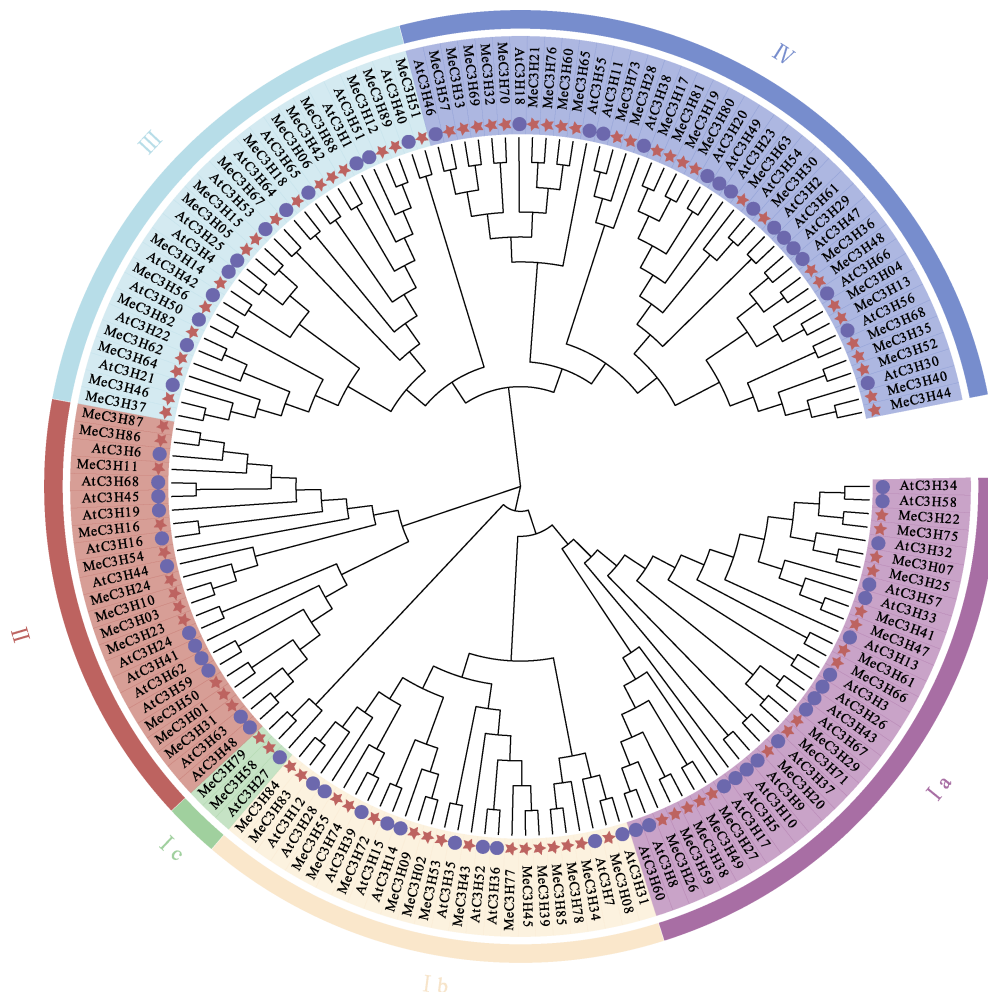


图 1 木薯 *MeC3H* 基因的染色体定位
Fig. 1 Chromosomal localization of *MeC3H* genes

图 2 *C3H* 蛋白的系统进化关系Fig. 2 Phylogenetic relationships of *C3H* proteins

12 个 *MeC3H*, 12 个 *AtC3H*; III 组包含 17 个 *MeC3H*, 12 个 *AtC3H*; IV 组包含 26 个 *MeC3H*, 16 个 *AtC3H*; 其中 I 组还可划分为 Ia、Ib、Ic 3 个亚类, 分别包含 16、16、2 个 *MeC3H* 家族成员。大多数 *MeC3H* 分布在 I 组和 IV 组。

2.4 *MeC3H* 基因结构及蛋白保守基序分析

为进一步预测 *MeC3H* 蛋白的功能, 运用 MEME 软件进行保守基序预测。结果显示, 15 个保守基序的长度范围为 15 (第 9 个基序)~50 个 (第 1、4、7、8、13、15 个基序) 氨基酸 (图 3)。木薯 *MeC3H* 基因的内含子数为 0~27, 其中有 12 个基因 (*MeC3H35*、*MeC3H52*、*MeC3H40*、*MeC3H44*、*MeC3H68*、*MeC3H04*、*MeC3H13*、*MeC3H36*、*MeC3H48*、*MeC3H28*、*MeC3H02*、*MeC3H09*) 含有 1 个内含子, 7 个基因不含内含子 (*MeC3H63*、*MeC3H30*、*MeC3H17*、*MeC3H81*、*MeC3H19*、*MeC3H80*、*MeC3H43*)。

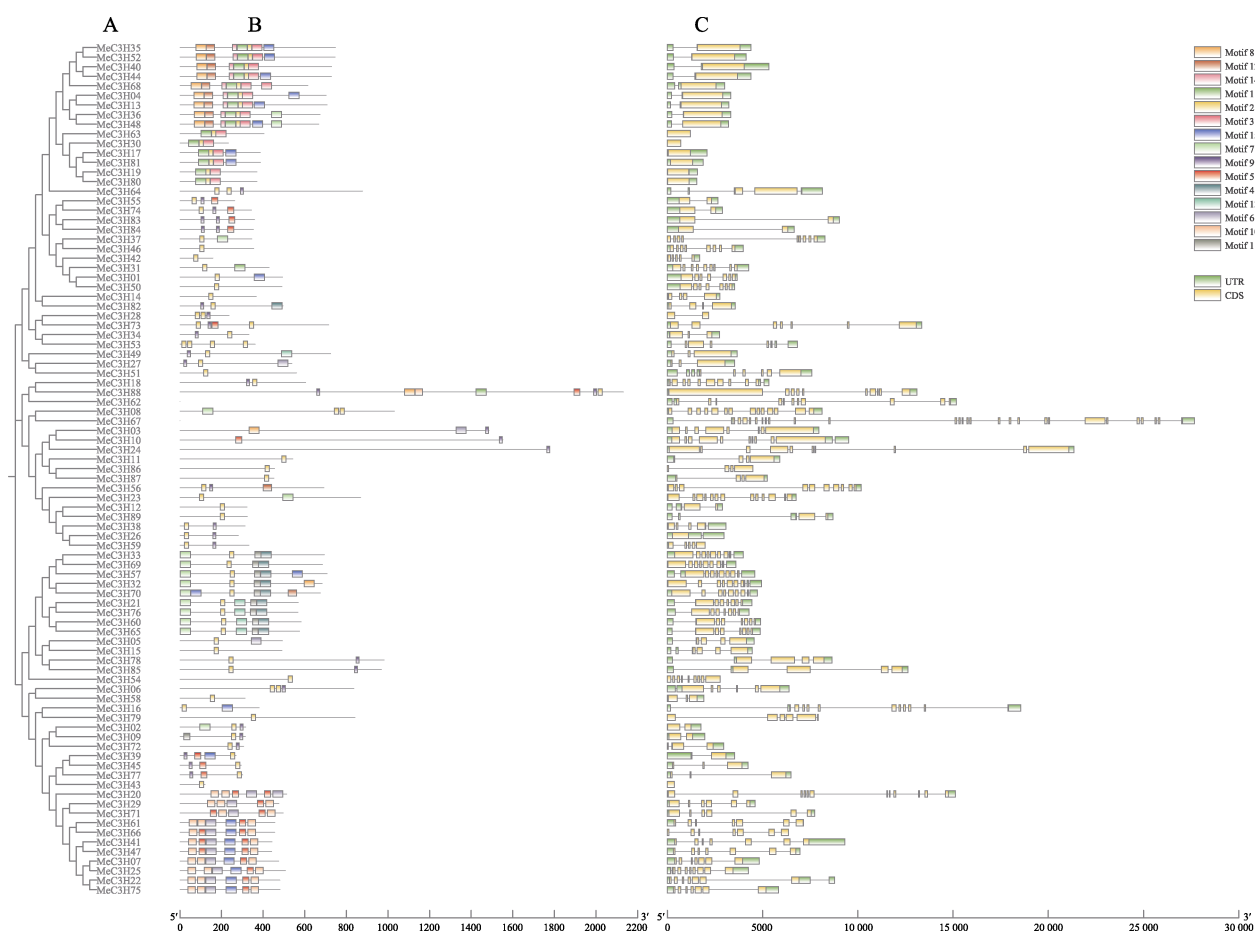
2.5 *MeC3H* 基因共线性分析

39 对 *MeC3H* 基因具有共线性关系, 如 *MeC3H02* 与 *MeC3H09*、*MeC3H03* 与 *MeC3H10*、*MeC3H04* 与 *MeC3H13*、*MeC3H05* 与 *MeC3H15*、*MeC3H07* 与 *MeC3H22*, 其余成员间不存在共线性关系 (图 4)。因此, *MeC3H* 基因家族存在基因复制的现象, 在进化过程中可能复制扩增 *C3H* 家族成员。

为进一步探索 *MeC3H* 基因家族成员之间的进化关系, 研究木薯与拟南芥、水稻的 *C3H* 家族之间的共线性, 构建了两两物种之间的关系图 (图 5)。木薯与拟南芥、水稻中存在同源基因对, 其中木薯与拟南芥之间的同源基因对数量远多于木薯与水稻之间的同源基因对。因此, 相较于木薯与水稻, 木薯与拟南芥的 *C3H* 基因家族具有更相近的同源进化关系。

2.6 *MeC3H* 基因启动子顺式作用元件预测

通过对木薯 *C3H* 家族成员转录起始位点上游



A: *MeC3H* 基因家族进化树; B: *MeC3H* 的 15 个保守基序分布, 不同颜色代表不同的基序; C: 木薯 *C3H* 基因结构。

A: Phylogenetic tree of cassava *MeC3H* family; B: The distribution of 15 conserved motifs in *MeC3H* proteins, different colors represent different motifs; C: *MeC3H* genes structure.

图 3 *MeC3H* 蛋白序列的结构特征

Fig. 3 The structural characteristics of *MeC3H* proteins sequence

对 2000 bp 左右启动子区域的分析发现, 其启动子区域包含多种类型的顺式作用元件, 除常见的 TATA-box、CAAT 等主要的顺式作用元件外, 还包含了具有响应功能的顺式作用元件。按照功能分为光响应元件 (G-Box、Box 4、GT1-motif、TCT-motif、GATA-motif)、逆境响应元件 (ABRE、ARE、MBS、LTR、CGTCA-motif、TCA-element、TGACG-motif) 和生长发育元件 (CAT-box、TGA-element) (图 6)。绝大多数 *MeC3H* 基因的启动子含有与光响应相关的顺式作用元件, 光响应元件在全部 89 个 *MeC3H* 基因中存在数量最多, 有 1052 个; 其次是非生物胁迫响应元件有 784 个, 其中脱落酸响应元件 269 个, 占非生物胁迫响应元件的 34%, 抗氧化反应元件有 259 个, 占非生物胁迫响应元件的 33%; 数量最少的顺式作用元件是植物生长发育响应元件 (157 个)。这表明 *MeC3H* 可能与光响应有关, 同时在植物生

长发育、生物胁迫以及非生物胁迫中也发挥重要作用。

2.7 *MeC3H* 基因响应 *Xpm* 的表达模式分析

为了解 *MeC3H* 基因受 *Xpm* 侵染后的表达模式, 将生长 30 d 左右的 SC8 木薯苗接种 *Xpm* CHN11 菌株。本研究根据本实验室转录组数据分析结果 (图 7), 挑选 16 个表达趋势显著的基因 (*MeC3H01*、*MeC3H03*、*MeC3H06*、*MeC3H07*、*MeC3H31*、*MeC3H36*、*MeC3H39*、*MeC3H42*、*MeC3H46*、*MeC3H49*、*MeC3H58*、*MeC3H68*、*MeC3H71*、*MeC3H77*、*MeC3H86*) 作为检测对象, 进一步利用 qPCR 技术分析 *MeC3Hs* 基因的表达模式。结果表明, *MeC3H49*、*MeC3H03*、*MeC3H42*、*MeC3H68*、*MeC3H01*、*MeC3H35*、*MeC3H36*、*MeC3H71*、*MeC3H31*、*MeC3H86* 基因的表达量均与 RNA-seq 结果一致, *MeC3H58*、*MeC3H39*、*MeC3H77*、*MeC3H07*、*MeC3H06*、*MeC3H46* 这 6

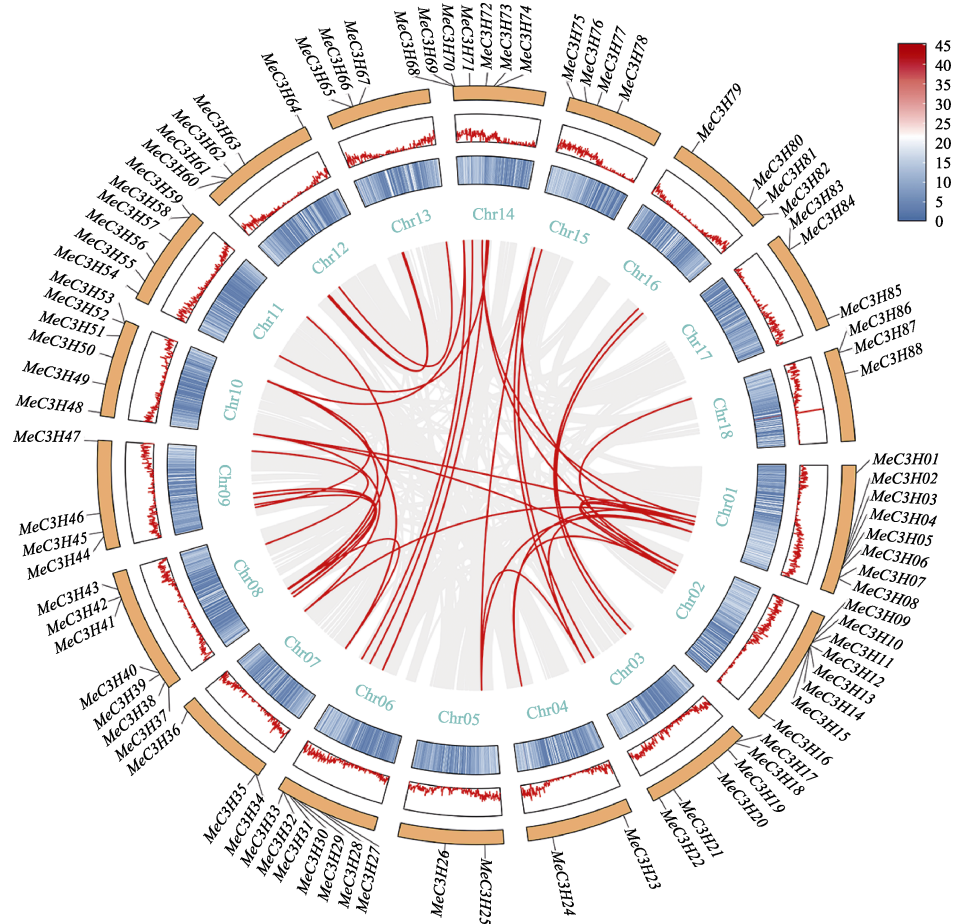


图 4 MeC3H 家族基因的物种内共线性分析

Fig. 4 Intra-species collinearity analysis of the MeC3H family genes in cassava

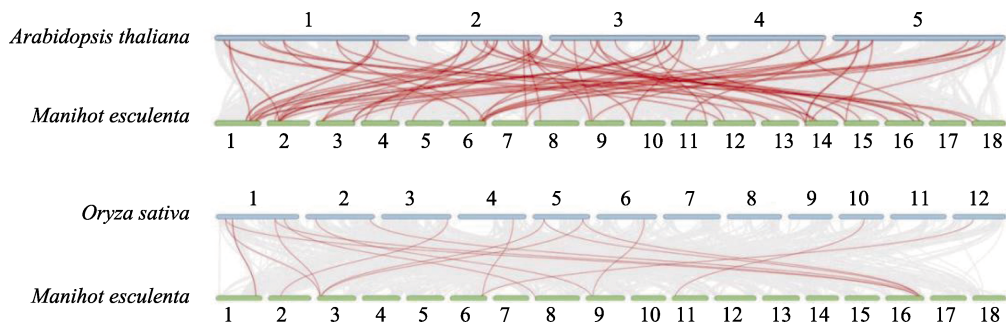


图5 木薯和拟南芥、水稻间的 *C3H* 基因共线性分析

Fig. 5 Syntenic relationship of C3H genes in *Arabidopsis thaliana*, *Oryza sativa* and *Manihot esculenta*

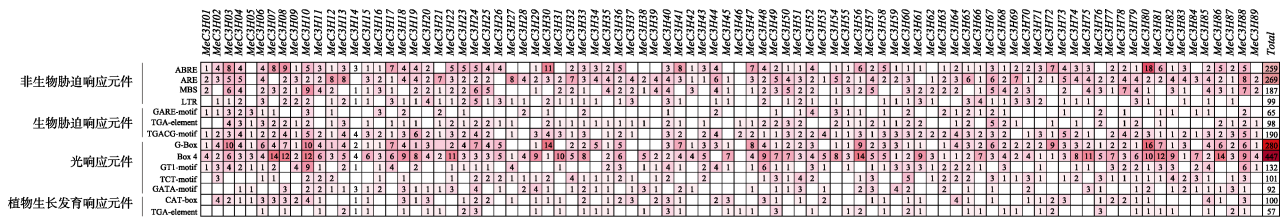


图 6 *MeC3Hs* 基因启动子的顺式作用元件

Fig. 6 The homeopathic elements in the promoters of *MeC3H* genes

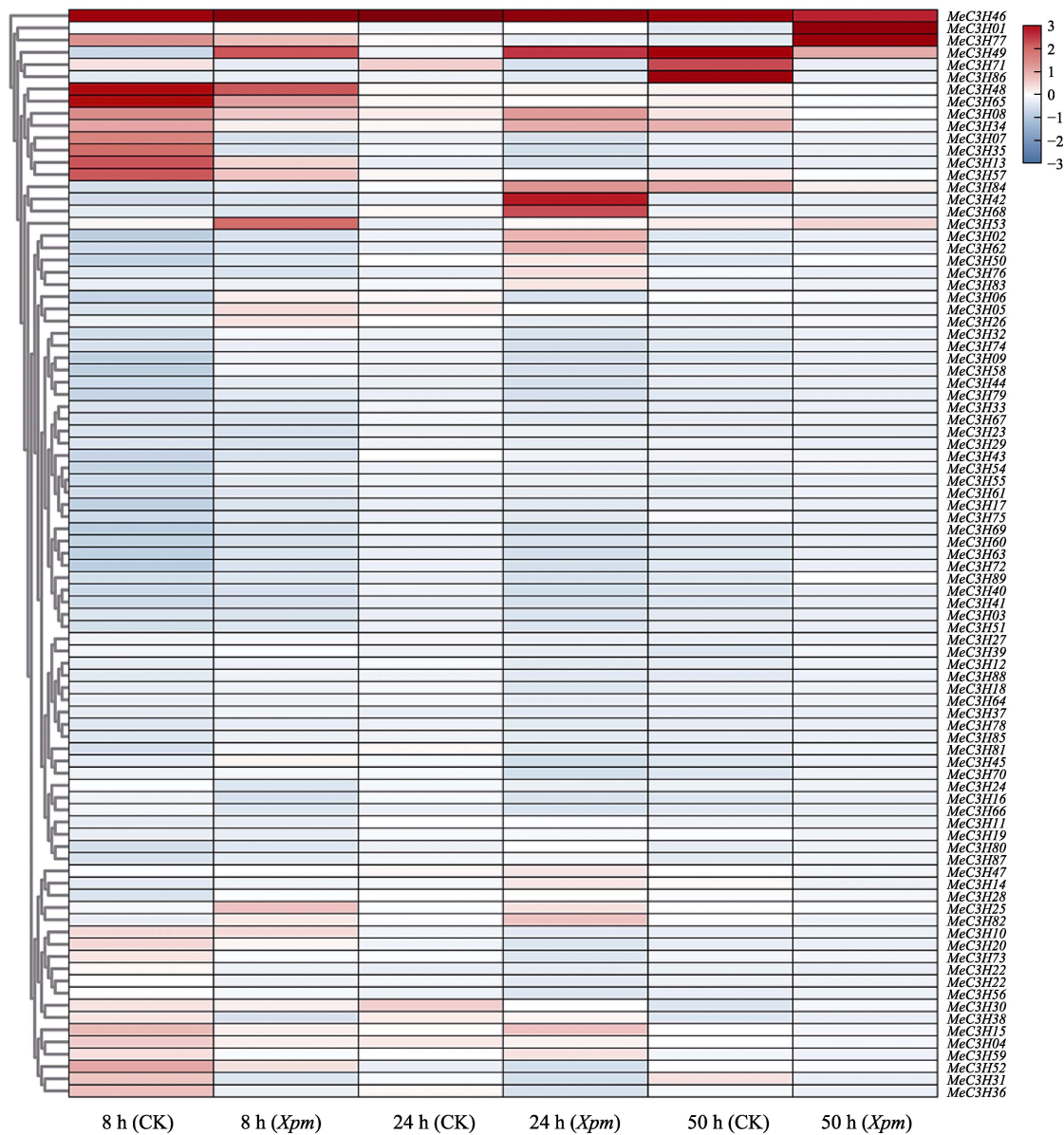


图 7 *MeC3H* 基因在 *Xpm* 感染后的表达模式

Fig. 7 Expression levels of *MeC3H* genes upon *Xpm* infection

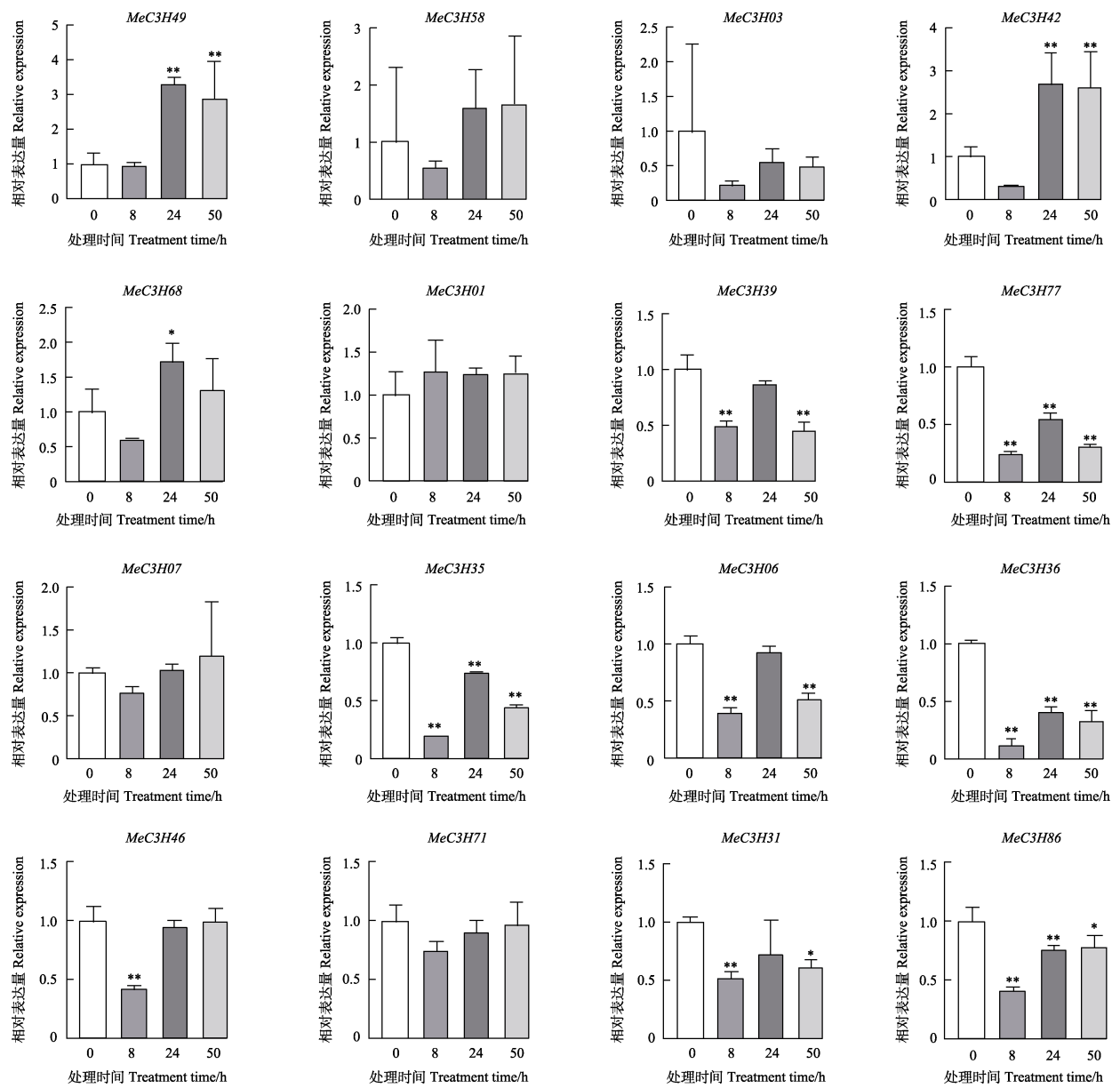
个基因的 qPCR 与 RNA-seq 表达模式不一致。可能是 2 种技术检测范围和灵敏度不一致造成的。*MeC3H49*、*MeC3H42*、*MeC3H68* 的表达量显著上调,*MeC3H35*、*MeC3H77*、*MeC3H36*、*MeC3H31*、*MeC3H86* 的表达量显著下调 (图 8)。以上结果表明部分 *MeC3H* 基因可能在木薯抗病响应中有比较重要的作用。

3 讨论

C3H 基因广泛存在于多种真核生物中, 如酵母、植物和哺乳动物等^[20], 在植物的生长发育、生物胁迫以及非生物胁迫等方面具有重要的调控

作用。尽管 *C3H* 基因家族在拟南芥、水稻、杨树、番茄等植物中已有较深入的研究, 但关于木薯 *C3H* 基因家族的研究还鲜有报道。

本研究从木薯基因组中成功鉴定到 89 个 *MeC3H* 基因家族成员, 它们定位在 18 条染色体上和 1 条 Scaffold 上。除 Chr1、Chr2、Chr6、Chr8、Chr14 染色体上的 *C3H* 基因分布比较集中外, 其余染色体上 *C3H* 基因分布比较分散。基于 89 个木薯 *C3H* 蛋白和 68 个拟南芥 *C3H* 蛋白的系统发育进化树结果, 可将 *C3H* 蛋白划分为 I、II、III、IV 4 个亚族, 同一个亚族内 *MeC3H* 基因家族成员关系较近, 有较高的同源性, 同源基因发生复制时



*表示差异显著 ($P<0.05$) ; **表示差异极显著 ($P<0.01$) 。
* indicates significant difference ($P<0.05$), ** indicates extremely significant difference ($P<0.01$).

图 8 *MeC3H* 基因在 *Xpm* 侵染后的表达模式

Fig. 8 The expression patterns of cassava *C3H* genes upon *Xpm* infection

可能来自同一个祖先，推测其具有相似的功能。

基因启动子区域的顺式作用元件可以为后续该基因功能研究提供重要的方向指引。本研究鉴定到 *MeC3H* 基因启动子区域有大量光响应元件、逆境响应元件、激素响应元件，推测其成员广泛参与木薯抗逆和生长发育等重要途径^[21]。内含子是高等生物基因组的重要特征，在调控基因转录、表达和可变剪接等方面有重要作用。如在拟南芥部分 *SAPs* 基因中内含子缺失可增强转录效率^[22]。基因在进化过程中会出现内含子增加或缺

失的现象^[23]。在 *MeC3H* 基因家族有 7 个成员不含内含子，可能与更快合成应激相关蛋白，调控应激响应有关。通过对 *MeC3H* 家族成员的基因结构进行分析发现，同一亚家族成员的外显子-内含子数量、保守基序特征相似，可能与同一亚族成员的生物学功能相似有关。木薯共有 39 对 *MeC3H* 同源基因之间存在共线性关系，表明在进化过程中基因可能通过复制方式扩增 *C3H* 家族成员。

通过 SC8 木薯在病原菌 *Xpm* 侵染下转录组数

据以及实时荧光定量 qPCR 分析表明, 部分 *MeC3H* 基因如 *MeC3H07*、*MeC3H68*、*MeC3H77* 等在 *Xpm* 侵染后快速表达, 而 *MeC3H06*、*MeC3H31*、*MeC3H36*、*MeC3H71*、*MeC3H86* 等的表达则被 *Xpm* 抑制。说明这些转录调节因子可能在木薯抵御细菌性枯萎病菌侵染中发挥重要的作用。已有研究发现 *C3H* 基因参与调控植物的抗病响应, 如 *OsBIRF*、*OsLOL2*、*OsDOS* 等调控水稻的抗病力, *AtC3H18* 调控拟南芥抗细菌病害的能力以及 *Sc-zf* 调控甘蔗抗病力等^[8-11]。综上推测, *C3H* 基因可能参与广泛参与木薯的抗病响应, 调控木薯与病原菌的互作。

本研究通过对 *MeC3H* 基因家族进行生物信息学分析和对部分 *MeC3H* 基因在病原菌侵染下的调控机制分析, 为进一步研究 *C3H* 基因在木薯抗细菌性枯萎病方面的功能奠定基础。

参考文献

- [1] 郝冬梅, 朱东方. 植物 CCCH 型锌指蛋白研究进展[J]. 山东农业科学, 2012, 44(5): 20-22.
XI D M, ZHU D F. Advances in research of plant CCCH-type zinc finger protein[J]. Shandong Agricultural Sciences, 2012, 44(5): 20-22. (in Chinese)
- [2] 李贤国, 戴麒, 王泽鹏, 陈兆龙, 闫会转, 李宁. 番茄 CCCH 类锌指蛋白家族的鉴定及其表达分析[J]. 中国农业科技导报, 2025, 27(1): 80-95.
LI X G, DAI Q, WANG Z P, CHEN Z L, YAN H Z, LI N. Identification and phylogenetic analysis of tomato CCCH-like zinc finger protein family[J]. Journal of Agricultural Science and Technology, 2025, 27(1): 80-95. (in Chinese)
- [3] CHENG Y, KATO N, WANG W, LI J, CHEN X. Two RNA binding proteins, HEN4 and HUA1, act in the processing of *AGAMOUS* pre-mRNA in *Arabidopsis thaliana*[J]. Developmental Cell, 2003, 4(1): 53-66
- [4] POMERANZ M C, HAH C, LIN P C, KANG S G, FINER J J, BLACKSHEAR P J, JANG J C. The *Arabidopsis* tandem zinc finger protein AtTZF1 traffics between the nucleus and cytoplasmic foci and binds both DNA and RNA[J]. Plant Physiology, 2010, 152(1): 151-165.
- [5] 尹泽群, 耿菁, 刘莹, 潘婷婷, 吴柏辰, 徐明丽, 苗兴芬. 谷子 CCCH 全基因家族鉴定及非生物胁迫下的表达分析[J]. 分子植物育种, 2023, 22(3): 1-13.
YIN Z Q, GENG J, LIU Y, PAN T T, WU B C, XU M L, MIAO X F. Genome-wide identification of CCCH and expression analysis under abiotic stress in foxtail millet[J]. Molecular Plant Breeding, 2023, 22(3): 1-13. (in Chinese)
- [6] GUO Y H, YU Y P, WANG D, WU C A, YANG G D, HUANG J G, ZHENG C C. GhZFP1, a novel CCCH-type zinc finger protein from cotton, enhances salt stress tolerance and fungal disease resistance in transgenic tobacco by interacting with GZIRD21A and GZIPR5[J]. New Phytologist, 2009, 183: 62-75.
- [7] KONG Z S, LI M N, YANG W Q, XU W Y, XUE Y B. A novel nuclear-localized CCCH-type zinc finger protein, OsDOS, is involved in delaying leaf senescence in rice[J]. Plant Physiology, 2006, 141(4): 1376-1388.
- [8] XU C X, HE C Z. The rice *OsLOL2* gene encodes a zinc finger protein involved in rice growth and disease resistance[J]. Molecular Genetics and Genomics, 2007, 278(1): 85-94.
- [9] LIU H Z, ZHANG H J, YANG Y Y, LI G J, YANG Y X, WANG X E, BASNAYAKE B M, LI D Y, SONG F M. Functional analysis reveals pleiotropic effects of rice RING-H2 finger protein gene *OsBIRF1* on regulation of growth and defense responses against abiotic and biotic stresses[J]. Plant Molecular Biology, 2008, 68(2): 17-30.
- [10] WANG D, GUO Y H, WU C G, YANG G D, LI Y Y, ZHANG C C. Genome-wide analysis of CCCH zinc finger family in *Arabidopsis* and rice[J]. BMC Genomics, 2008, 9(1): 44.
- [11] 刘金仙, 阙友雄, 郑益风, 许莉萍, 陈如凯. 甘蔗锌指蛋白基因的克隆和表达分析[J]. 农业生物技术学报, 2009, 17(4): 707-712.
LIU J X, QUE Y X, ZHENG Y F, XU L P, CHEN R K. Molecular cloning of sugarcane zinc finger protein gene and its expression analysis[J]. Journal of Agricultural Biotechnology, 2009, 17(4): 707-712. (in Chinese)
- [12] 李开绵, 林雄, 黄洁. 国内外木薯科研发展概况[J]. 热带农业科学, 2001, 21(1): 56-60.
LI K M, LIN X, HUANG J. Overview of cassava research and development at home and abroad[J]. Chinese Journal of Tropical Agriculture, 2001, 21(1): 56-60. (in Chinese)
- [13] 黄洁, 李开绵, 叶剑秋, 覃汉林, 邵乃凡, 陈明育. 我国的木薯优势区域概述[J]. 广西农业科学, 2008, 39(1): 104-108.
HUANG J, LI K M, YE J Q, QIN H L, SHAO N F, CHEN M Y. A summary review of dominant regions of cassava growing in China[J]. Guangxi Agricultural Sciences, 2008, 39(1): 104-108. (in Chinese)
- [14] BART R, COHN M, KASSEN A, MCCALLUM E J, SHYBUT M, PETRIELLO A, KRASILEVA K, DAHLBECK D, MEDINA C, ALICAI T, KUMAR L, MOREIRA L M, RODRIGUES NETO J, VERDIER V, SANTANA M A, KOSITCHAROENKUL N, VANDERSCHUREN H,

- GRUISSEM W, BERNAL A, STASKAWICZ B J. High-throughput genomic sequencing of cassava bacterial blight strains identifies conserved effectors to target for durable resistance[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2012, 109(28): E1972-E1979.
- [15] ZÁRATE-CHAVES C A, GÓMEZ DE LA CRUZ D, VERDIER V, LÓPEZ C E, BERNAL A, SZUREK B. Cassava diseases caused by *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis* and *Xanthomonas cassavae*[J]. Molecular Plant Pathology, 2021, 22(12): 1520-1537.
- [16] TAMURA K, STECHER G, KUMAR S. MEGA11: Molecular evolutionary genetics analysis version 11[J]. Molecular Biology and Evolution, 2021, 38(7): 3022-3027.
- [17] CHEN C J, WU Y, LI J W, WANG X, ZENG Z H, XU J, LIU Y L, FENG J T, CHEN H, HE Y H, XIA R. TBtools-II: a “one for all, all for one” bioinformatics platform for biological big-data mining[J]. Molecular Plant, 2023, 16(11): 1733-1742.
- [18] 唐春闰, 邓兆龙, 刘琼, 金维环, 向世鹏, 谢鹏飞, 郭红祥, 刘卫群. 普通烟草 CCCH 类锌指蛋白家族的全基因组鉴定和表达分析[J]. 河南农业科学, 2022, 51(4): 48-58.
- TANG C G, DENG Z L, LIU Q, JIN W H, XIANG S P, XIE P F, GUO H X, LIU W Q. Genome-wide identification and expression analysis of the CCCH-type zinc finger gene family in *Nicotiana tabacum*[J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2022, 51(4): 48-58. (in Chinese)
- [19] ZHU S S, PAN Y Y, LI K, FAN R C, XIANG L, HUANG S Y, JIA S H, NIU X L, LI C X, CHEN Y H. Complete genome sequence of *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis* strain CHN01, the causal agent of cassava bacterial blight[J]. Plant Disease, 2022, 106(3): 1039-1041.
- [20] JIANG A L, XU Z S, ZHAO G Y, CUI X Y, CHEN M, LI L C, MA Y Z. Genome-wide analysis of the C3H zinc finger transcription factor family and drought responses of members in *Aegilops tauschii*[J]. Plant Molecular Biology Reporter, 2014, 32(6): 1241-1256.
- [21] 姚馨怡, 赵佳莹, 胡素影, 李娴, 庞群群, 俞振明. 铁皮石斛 SAPK 基因家族鉴定及表达模式分析[J]. 生物工程学报, 2024, 40(4): 1195-1210.
- YAO X Y, ZHAO J Y, HU S Y, LI Y, PANG Q Q, YU Z M. Identification and expression profiling of SAPK gene family members in *Dendrobium officinale*[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2024, 40(4): 1195-1210. (in Chinese)
- [22] GIRI J, DANSANA P K, KOTHARI K S, SHARMA G, VIJ S, TYAGI A K. SAPs as novel regulators of abiotic stress response in plants[J]. BioEssays, 2013, 35(7): 639-648.
- [23] 凡超, 杨杰, 陈蓉, 刘伟, 向旭. 荔枝 HSP70 家族鉴定及其响应非生物胁迫的表达[J]. 生物工程学报, 2024, 40(4): 1102-1119.
- FAN C, YANG J, CHEN R, LIU W, XIANG X. Identification and expression analysis of the HSP70 gene family under abiotic stresses in *Litchi chinensis*[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2024, 40(4): 1102-1119. (in Chinese)