

油茶 ANXs 基因的序列分析及其表达特征研究

王艺颖¹, 武鑫玉^{2*}, 周俊琴², 袁 军², 张铸三³, 何书奋¹, 唐 宪^{1**}

1. 三亚市林业科学研究院, 海南三亚 572029; 2. 中南林业科技大学林学院, 湖南长沙 410000; 3. 海南省抱龙森林发展有限公司, 海南三亚 572029

摘 要: 植物膜联蛋白 (ANX) 是一种保守的钙离子依赖性磷脂结合蛋白, 参与植物生长、发育和抗逆性的调控。油茶中 ANX 基因家族的序列特征与表达模式尚不清楚, 为此, 本研究旨在探究该基因家族在油茶抗逆反应中的表达调控机制。从油茶全基因组筛选出 3 个 ANX 基因, 并对其进行理化特征、进化关系、基因结构、保守序列、染色体定位、不同组织部位的表达水平以及外界胁迫下膜联蛋白的含量变化分析。进化关系分析显示, 15 个不同科的 ANX 聚为 5 组, 其中来自山茶科的茶树 CsANX 与油茶 CoANX1/2 聚为一大支, 具有相似的基序模式。在 CoANX 基因的启动子区域中鉴定出许多参与光响应和植物激素响应的顺式元件。染色体定位显示, 这 3 个 CoANX 基因分布在油茶的 3 条染色体 (A_chr 09/13/14) 上。表达模式分析表明, CoANX 基因在不同的生长阶段和组织中表现出组织特异性模式。此外, 胁迫分析显示, 在干旱条件下油茶 CoANX3 表现出高表达趋势, 喷施了油菜素内酯的 CoANX3 表达量降低; 在磷铝胁迫下, 油茶 CoANX 的表达量显著提高, 表明 CoANX 可能在油茶的抗逆反应中发挥关键作用。本研究为阐明 ANXs 在调控植物生长发育过程中的分子机制奠定研究基础。

关键词: 油茶; ANX 基因; 膜联蛋白; 非生物胁迫

中图分类号: S794.4 文献标志码: A

Sequence Analysis and Expression Characteristics of ANXs in *Camellia oleifera*

WANG Yiyi¹, WU Xinyu^{2*}, ZHOU Junqin², YUAN Jun², ZHANG Zhushan³, HE Shufen¹, TANG Xian^{1**}

1. Sanya Academy of Forestry, Sanya, Hainan 572029, China; 2. College of Forestry, Central South University of Forestry & Technology, Changsha, Hunan 410000, China; 3. Hainan Baolong Forest Development Co., Ltd., Sanya, Hainan 572029, China

Abstract: Plant annexin is a conserved calcium-dependent phospholipid binding protein involved in plant growth, development and stress resistance. The sequence characteristics and expression patterns of the ANX gene family in *C. oleifera* remain unclear. For this reason, the present study aims to investigate the expression regulatory mechanisms of this gene family in the stress resistance responses of *C. oleifera*. Three ANX genes were identified from the whole genome of *C. oleifera*, and the physical and chemical characteristics, evolutionary relationship, gene structure, conserved sequence, chromosome location, expression level in different tissues and the content of annexin under drought stress were analyzed in the study. Phylogenetic analysis showed that 15 different families were clustered into 5 groups, among which CsANX and CoANX1/2 from *Camellia* were clustered into a large branch with similar motif patterns. Many cis-elements involved in light response and plant hormone response were identified in the promoter region of CoANX. Chromosome localization showed that the three CoANX genes were distributed on three chromosomes (A_chr 09/13/14) of *C. oleifera*. The expression pattern analysis showed that CoANX showed tissue-specific patterns in different growth stages and tissues. In addition, stress analysis showed that CoANX3 showed a high expression trend under drought conditions, while the expression of CoANX3 in the treatment group sprayed with brassinolide decreased. Under phosphorus and aluminum stress, the expression of ANX in *C. oleifera* increased significantly. The above results indicate that CoANX may play a key role in the stress resistance of *C. oleifera*. This study would lay a

收稿日期 2025-07-24; 接受日期 2025-11-07

基金项目 海南省科技专项 (No. ZDYF2024XDNY255); 2025 年三亚市财政项目: 三亚油茶品种筛选及区域生态适应性研究。

作者简介 王艺颖 (1999—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 经济林栽培育种; *同等贡献作者: 武鑫玉 (2004—), 女, 本科生, 研究方向: 经济林栽培育种。**通信作者 (Corresponding author): 唐 宪 (TANG Xian), E-mail: 53944293@qq.com。

foundation for elucidating the molecular mechanism of ANXs in regulating the biological processes of plant growth and development.

Keywords: *Camellia oleifera*; ANX gene; annexin; abiotic stress

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2026.02.005

油茶 (*Camellia oleifera* Abel) 是山茶科 (Theaceae) 山茶属 (*Camellia*) 的常绿小乔木, 为我国特有的木本油料树种, 与大豆 [*Glycine max* (L.) Merr.]、油菜 (*Brassica rapa* var. *oleifera* DC.)、花生 (*Arachis hypogaea* L.) 并列为我国四大大宗油料作物^[1]。从油茶籽提取出的茶油, 被称为“东方橄榄油”, 在食用、药用、保健等方面具有重要功效^[2]。膜联蛋白 (annexin, ANX) 是一类多功能钙依赖性磷脂结合蛋白家族, 具有高度保守的进化特征^[3]。目前, 关于膜联蛋白的研究大多聚焦于动物领域, 而针对植物的研究相对薄弱^[4]。1978 年, 首个动物 ANX 基因在肾上腺髓质嗜铬细胞中被鉴定; 1989 年, 第一个植物 ANX 基因在番茄 (*Solanum lycopersicum* L.) 中被鉴定^[5-6]。植物 ANX 具有保守的 C 端和可变的 N 端: 前者包含膜联蛋白的核心结构 (即 4 个同源结构域), 每个结构域由 5 个 α 螺旋组成弯曲的紧密圆盘结构 (凸面靠近质膜, 凹面朝向细胞质基质), 但通常仅第 1 和第 4 个结构域的凸面上具有 Ca^{2+} 结合位点并介导膜结合特性^[3, 7-11]; 后者较短, 能够调节膜联蛋白活性, 影响其性质与功能^[12]。植物界不同物种的膜联蛋白家族正被迅速鉴定, 它们在植物生长发育、胁迫响应及防御机制中发挥重要作用, 但其在不同细胞中的生物学功能及调控机制仍有待完善^[13]。

植物膜联蛋白具有 Ca^{2+} 通道调节活性、过氧化物酶活性、ATP 酶活性及 GTP 酶活性, 广泛参与植物生长发育调控及非生物环境胁迫响应等过程^[14-16]。例如, 在拟南芥 [*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.] 中, *AtAnn1* 与 *AtAnn4* 相互作用, 并以光依赖性方式调节植株对盐胁迫和干旱诱导胁迫的耐受性^[17]; 在干旱胁迫下, *OsANN1* 过表达的水稻 (*Oryza sativa* L.) 植株在幼苗期表现出更强的热胁迫耐受性, 且 *OsANN3* 的相对表达量显著提高^[18-19]; 耐寒型小麦 (*Triticum aestivum* L.) 经低温处理 24 h 后, Annexin P39 和 P22.5 的表达水平迅速升高并达到峰值, 表明其可能参与低温信号转导途径^[20]; 在转基因番茄中, 过表达的 *AnnSp2* 通过合成脱落酸和清除活性氧, 增强植株的耐盐性和耐旱性^[21]; 玉米 (*Zea mays* L.) 膜联蛋白基

因的启动子包含不同的逆境响应顺式元件, 表明这些基因在玉米适应各类环境胁迫中发挥重要作用^[22]。在干旱条件下, 异位表达 *STANN1* 的转基因马铃薯 (*Solanum tuberosum* L.) 植株根系耐旱性更强, 能在绿色组织中保留更多水分, 并维持叶绿体功能^[23]。大量研究表明, 膜联蛋白基因的表达对植物胁迫耐受性具有积极影响, 但驱动该过程的分子机制尚不完整, 亟待系统研究^[24]。

油茶是世界四大木本油料树种之一, 但受季节性干旱、自交不亲和特性及严重病虫害等因素影响, 油茶产量低于其他大宗油料作物。膜联蛋白是一类广泛存在于真核生物中的钙离子依赖性磷脂结合蛋白, 在植物发育、胁迫响应及防御机制中发挥重要作用。因此, 本研究基于油茶全基因组筛选并鉴定油茶 ANX 基因家族, 结合转录组数据库开展油茶 ANX 基因表达特征研究, 旨在为后续深入解析油茶 ANX 蛋白家族成员的功能及其应用提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

油茶 (*Camellia oleifera*) 基因组数据来源于中南林业科技大学经济林重点实验室油茶课题组; 其他植物基因组数据均下载自美国国家生物技术信息中心 (NCBI) 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)。

1.2 方法

1.2.1 CoANX 基因的筛选与蛋白理化性质分析
基于油茶基因组数据, 筛选油茶 ANX (Annexin) 家族成员。利用 ExPASy (<https://web.expasy.org/protparam>) 在线工具预测 CoANX 蛋白的理化性质; 利用 TMHMM Server v 2.0 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM>) 在线工具预测其跨膜结构; 利用 SignalP 6.0 (<https://services.healthtech.dtu.dk/services/SignalP-6.0>) 在线工具预测信号肽; 利用 SOPMA (https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=npsa_sopma.html) 在线工具分析其二级结构; 利用 PHYRE2 (<https://www.sbg.bio.ic.ac.uk/phyre2/html/page.cgi?id=index>) 在线工具预测其三级结构。

1.2.2 CoANX 蛋白的系统进化分析 将筛选获得的 3 条油茶 ANX 蛋白序列提交至 NCBI 网站进行 Blastp 比对, 筛选出序列相似度较高的同源蛋白, 最终选取来自 15 个不同科属的 34 条 ANX 蛋白序列。采用 MEGA 11 软件的 ClustalW 程序对这 37 条蛋白序列进行多序列比对, 并采用邻接法 (neighbor-joining, NJ) 构建系统进化树, 设置 Bootstrap 重复次数为 1000 次, 其余参数保持默认, 分析这 37 条 ANX 蛋白间的进化关系。

1.2.3 CoANX 蛋白保守结构域与 Motif 分析 利用 MEME (<https://meme-suite.org/meme/tools/meme>) 在线工具的 Motif Discovery 功能, 对 37 条 ANX 蛋白序列进行 Motif 预测, 设定 Motif 查找数目为 7 个, 其余参数保持默认。同时, 利用 NCBI CDD (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>) 数据库预测各序列的保守结构域。利用 TBtools 软件将 Motif 预测结果与保守结构域信息进行可视化整合。

1.2.4 CoANX 基因结构、顺式作用元件分析 基于上述系统进化树分析结果, 油茶与茶树 (*Camellia sinensis*) 亲缘关系最近, 因此从 NCBI 数据库中获取茶树的基因结构注释文件, 采用 TBtools 软件的 GeneStructureView 功能对油茶与茶树的 ANX 基因结构进行可视化分析。进一步提取目标基因上游 2000 bp 的启动子序列, 利用 PlantCARE (<https://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html>) 在线工具预测其顺式作用元件。采用通过 TBtools 软件对预测结果进行可视化处理, 并将数据导入 Excel 进行筛选与分类, 最终利用 TBtools 绘制可视化图表。

1.2.5 CoANX 基因的染色体定位分析 基于基因结构注释文件及基因 ID 信息, 查找分析油茶和茶树的相关定位信息, 利用 TBtools 软件的 Gene location visualize from GTF/GFF 功能预测 4 条基因在染色体上的分布位置, 并绘制染色体定位图。

1.2.6 CoANX 基因在不同组织部位的表达分析 基于课题组前期研究数据, 分析油茶不同组织部

位[包括花粉 (HF)、花瓣 (HB)、花丝 (HS)、花药 (HY)、花柱 (HZ)、子房 (ZF)、嫩茎 (NJ)、嫩叶 (NY) 和根 (G)]中 CoANX 基因的表达情况, 并利用 TBtools 软件的 Heatmap 功能对结果进行可视化分析。

1.2.7 CoANX 基因在干旱胁迫下的表达分析 基于油茶 CoANX 基因的转录组数据, 分析盆栽油茶老叶在不同处理条件下的表达量变化^[25]。设置 3 个处理组: 对照组 (正常浇水)、干旱组 (干旱胁迫)、实验组 [干旱胁迫+喷施 1.0 mg/L 油菜素内酯 (brassinosteroids, BRs)], 每个处理 3 次重复, 分别检测处理后第 1、3、5 天各组老叶中 CoANX 基因的表达量。

1.2.8 CoANX 基因在磷铝胁迫下的表达分析 基于油茶转录组数据, 分析不同磷铝梯度处理下油茶根系 CoANX 基因的表达量变化^[26]。设置 4 个处理组: 高磷低铝 (+P-Al)、低磷低铝 (-P-Al)、高磷高铝 (+P+Al)、低磷高铝 (-P+Al), 每组 5 株苗, 处理 30 d 后采集根系样品, 检测 CoANX 基因的表达量。

2 结果与分析

2.1 CoANX 基因的理化性质分析

通过油茶基因组数据库中筛选鉴定得到的 3 条油茶 ANX 基因 (B_chr13_02728、A_chr14_01011、C_chr09_00119), 将其分别命名为 CoANX1、CoANX2、CoANX3。

ProtParam 网站预测结果 (表 1) 显示, 3 条基因的分子式分别为 C₄₂₈₁H₆₅₈₈N₁₁₅₂O₁₃₁₇S₃₀、C₄₂₉₅H₆₆₄₁N₁₁₄₃O₁₃₂₇S₃₀、C₄₂₄₉H₆₅₈₆N₁₁₃₈O₁₂₈₆S₂₇; 总原子数分别为 13 368、13 436、13 286; 正电荷残基数分别为 82、82、73, 负电荷残基数分别为 94、98、82; 分子质量介于 95.05~96.48 kDa 之间; 理论等电点均小于 7, 说明油茶 ANX 蛋白为酸性; 不稳定系数均小于 40, 表明该蛋白均为稳定蛋白; 总平均亲水性均小于 0, 说明它们均为亲水蛋白。

表 1 油茶 CoANX 的理化性质
Tab. 1 Physicochemical properties of CoANX in *C. oleifera*

基因名称 Gene name	基因长度 Gene length/bp	氨基酸数 Number of amino acids/aa	理论等电点 Isoelectric point	分子质量 Molecular weight/kDa	不稳定系数 Instability index	脂肪系数 Aliphatic index	总平均亲水性 Hydropathy index
CoANX1	2607	868	5.99	96.22	38.49	75.84	-0.344
CoANX2	2610	869	5.62	96.48	33.90	79.56	-0.309
CoANX3	2592	863	6.18	95.05	38.11	85.16	-0.137

利用 TMHMM Server v 2.0 和 SignalP 6.0 软件对 CoANX 蛋白跨膜结构和信号肽进行预测, 结果(表 2 和图 1)显示, 3 条蛋白均有跨膜结构和信号肽, 且均只有 1 个跨膜区; 跨膜区中氨基酸的数量介于 25~32 之间, 其中 CoANX1 和 CoANX2 的数量相同; CoANX1、CoANX2、CoANX3 前 60 个氨基酸在跨膜区中的数量分别为 1、2、3; N 端在细胞质一侧的概率分别为 0.23%、0.55%、0.16%。

CoANX 蛋白的二级结构预测结果(图 2)显示, 其二级结构中无规则卷曲占比最多, 其次为 α -螺旋, 无 β -转角。CoANX1 蛋白的无规则卷曲占比为 57.60%, α -螺旋占比为 24.31%, 延伸链占比为 18.09%; CoANX2 蛋白的无规则卷曲占比为 57.88%, α -螺旋占比为 24.48%, 延伸链占比为 18.64%; CoANX3 蛋白的无规则卷曲占比为 57.01%, α -螺旋占比为 22.94%, 延伸链占比为 20.05%。同时, 利用 PHYRE2 网站对油茶

表 2 CoANX 蛋白的跨膜结构预测
Tab. 2 Prediction of CoANX protein transmembrane structure

蛋白名称 Protein name	跨膜结构域数量 Number of predicted TMHs	跨膜区中氨基酸数量 Exp number of AAs in TMHs	前 60 个氨基酸在跨膜区的数量 Exp number, first 60 AAs	N 端在细胞质一侧的概率 Total prob of N-in/%
CoANX1	1	25	1	0.23
CoANX2	1	25	2	0.55
CoANX3	1	32	3	0.16

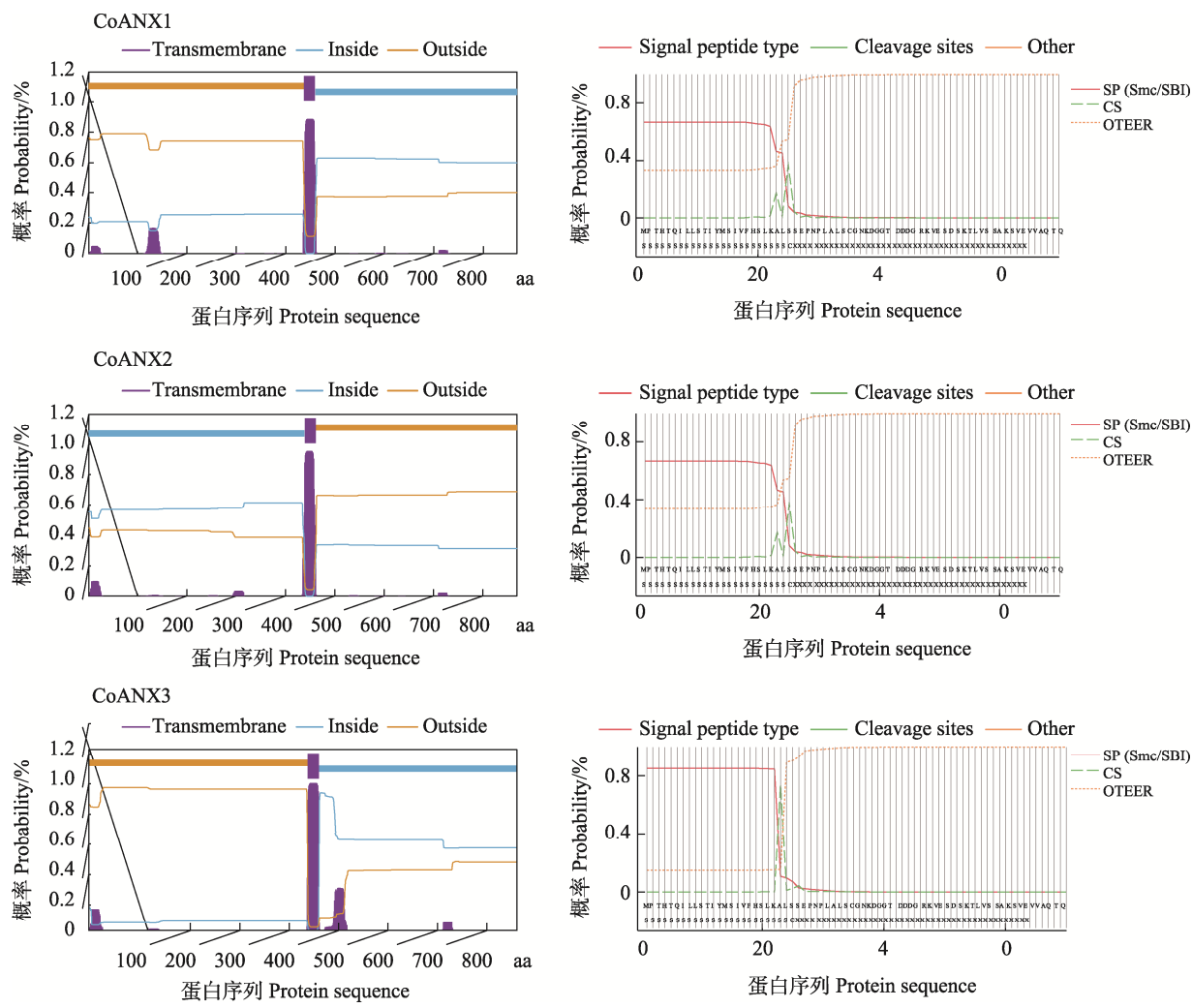


图 1 CoANX 蛋白的跨膜结构(左)和信号肽预测(右)
Fig. 1 Prediction of transmembrane structure (left) and signal peptide (right) of CoANX proteins

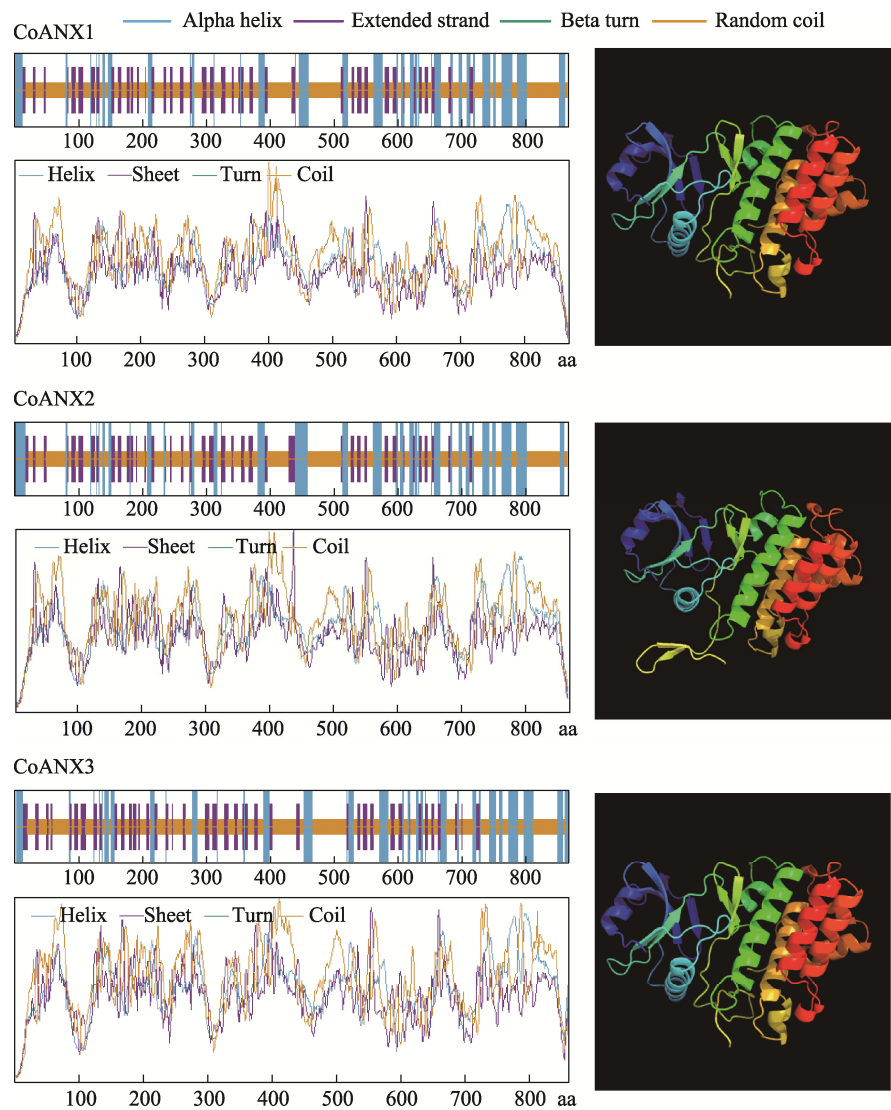


图 2 CoANX 蛋白的二级结构（左）和三级结构（右）
Fig. 2 Prediction of secondary structure (left) and tertiary structure (right) of CoANX proteins

CoANX1/2/3 蛋白的三级结构进行预测，发现 3 条蛋白的主要结构为无规则卷曲和 α 螺旋，与上述二级结构预测结果相符，且 3 条蛋白的三级结构都比较相似，可能存在功能重复。

2.2 CoANX 蛋白系统进化树的构建

在 NCBI 网站中筛选得到 34 条不同科属的蛋白序列，包括冬青科、杜鹃花科、壳斗科、猕猴桃科、木犀科、泡桐科、葡萄科、茜草科、蔷薇科、茄科、伞形科、山茶科、鼠刺科、杨梅科、皂皮树科共 15 科，将 3 条 CoANX 蛋白和这 34 条亲缘关系相近的蛋白构建系统进化树（图 3）。结果显示，进化树分为五大支，其中 CoANX3 与木犀科、泡桐科、茜草科和茄科的 ANX 蛋白聚为一支，CoANX1、CoANX2 与茶树、猕猴桃科、杜鹃花科的 ANX 蛋白聚为一支，与油茶 ANX 蛋

白亲缘关系最近的是同为山茶科的茶树。

2.3 CoANX 的保守结构域和 Motif 分析

对 37 条 ANX 蛋白序列进行保守基序分析(图 4)发现,不同科属的 ANX 蛋白均包含 Motif 1~7,且除葡萄科的葡萄和圆叶葡萄外,其他 14 个科物种的 Motif 均具有相似的数量和排列。而葡萄科的 ANX 蛋白在 Motif 5 和 Motif 7 的中间位置多出一个 Motif 1。由此说明,亲缘关系相近的基因具有相同的基序结构,较为保守。所有蛋白序列均具有 STKc_IRAK 和 Malectin_like superfamily 两个结构域(图 4)。比较保守基序和结构域图可知,STKc_IRAK 结构域主要由 Motif 5 和 Motif 7 组成,属于 IRAK 亚家族;而 Malectin_like superfamily 结构域主要由 Motif 3、Motif 1、Motif 2、Motif 4 构成,属于凝聚素超家族。

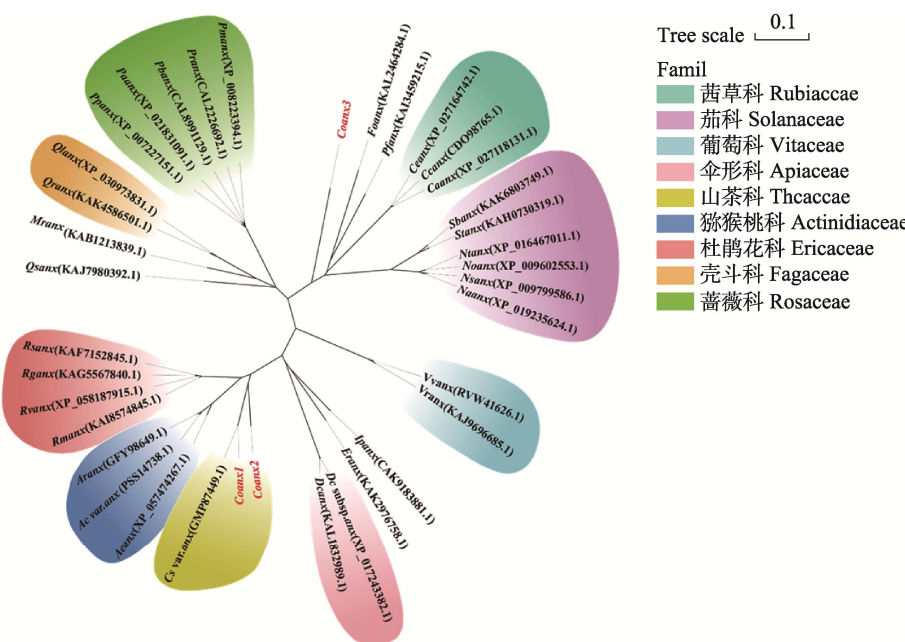


图 3 不同科属植物 ANX 蛋白的系统进化树
Fig. 3 Phylogenetic tree of ANX proteins in plants of different families

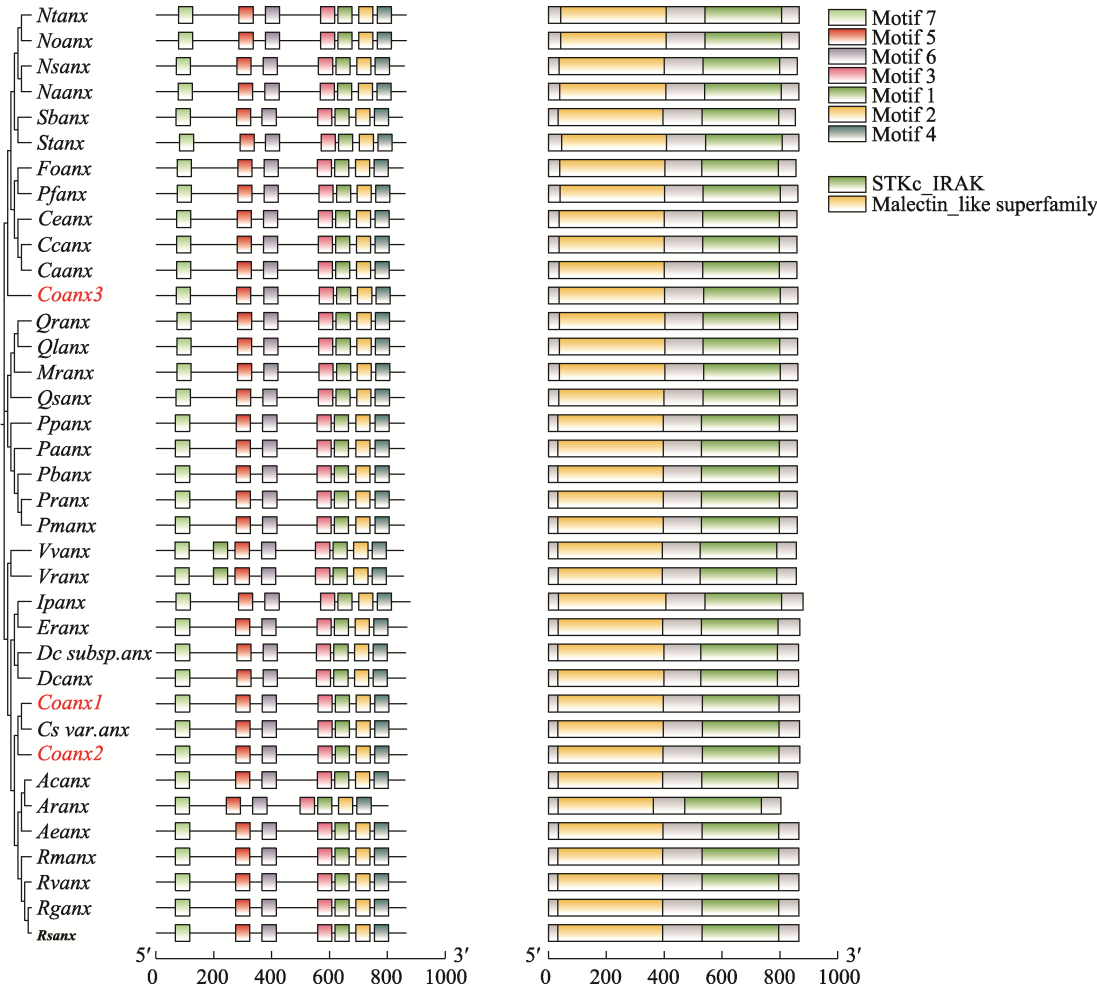


图 4 不同科植物 ANX 蛋白保守结构域 (右) 和 Motif (左)
Fig. 4 Conserved domains (right) and motifs (left) of ANX proteins in plants of different families

2.4 CoANX 的基因结构及其顺势作用元件分析

为了解 CoANX 基因结构变化和功能作用,将油茶及其亲缘关系最近的茶树基因结构注释文件放入 TBtools 中绘制基因结构图,其中 CoANX1/2/3 输入的是 CDS 序列。如图 5 所示,CoANX1/2/3 和 CsANX 的 CDS 区域所占位置长度相似,其中 CoANX3 基因的 CDS 区域所占位置最短。

对油茶和茶树的 ANX 基因的顺势作用元件分

析结果(图 6)显示,发现 4 条基因均具有光响应、植物激素响应、抗逆响应、厌氧诱导响应相关元件,其中 CoANX3 上的顺势作用元件数量最多,且 CoANX2/3 上还具有植物生长发育相关元件,说明 CoANX2/3 可能参与到油茶生长发育的调控。光响应相关元件的数量和种类最多,其次是植物激素相关的元件,由此推测,油茶 ANX 基因可能参与光合作用、抗逆反应、调节植物激素和生长发育。

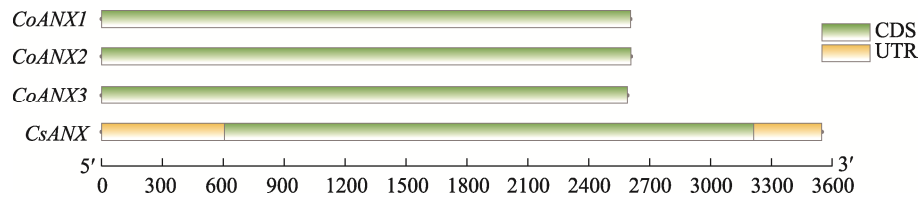


图 5 油茶和茶树 ANX 基因的结构
Fig. 5 Gene structure of ANX genes in *C. oleifera* and *C. sinensis* var. *sinensis*

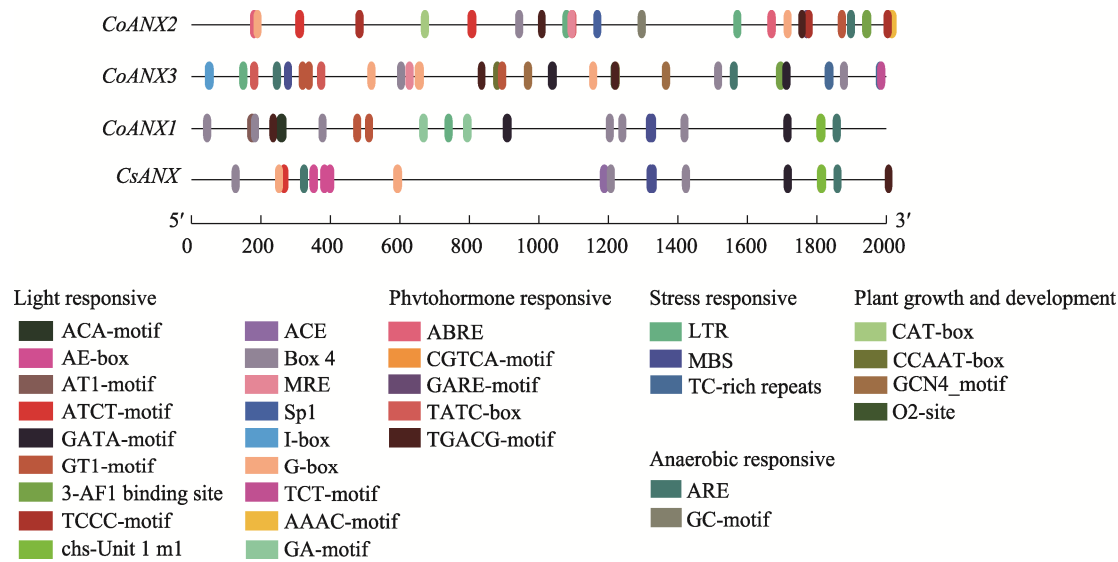


图 6 油茶和茶树 ANX 基因的顺势作用元件
Fig. 6 Homeopathic elements of ANX genes in *C. oleifera* and *C. sinensis* var. *sinensis*

2.5 CoANX 基因的染色体定位分析

为进一步探究油茶 CoANX 基因在染色体上的分布,本研究利用油茶和茶树的基因结构注释文件在 TBtools 软件中绘制油茶 CoANX1/2/3 和茶树 CsANX 基因的染色体定位图并进行可视化分析。由图 7 可知,每个基因均匀分布在不同染色体上,CsANX、CoANX2 和 CoANX3 分别定位在染色体 BTIW01000011.1、A_chr14 和 C_chr09 的上端位置,而 CoANX1 定位在染色体 B_chr13 的下端位置,其中 CsANX 和 CoANX3 在染色体上的位置最为接近。

2.6 CoANX 基因在油茶不同组织部位的表达分析

利用油茶基因组数据,对 CoANX1/2/3 基因在不同组织部位的表达水平进行可视化作图并结合数据分析。由图 8 可知,CoANX1 在花丝、花药和根中表达量最多,而在花粉和花柱中却鲜少表达;CoANX2 只在花瓣和花药中表达,其他部位几乎不表达;CoANX3 在花瓣、花丝、花柱、子房、嫩茎、嫩叶中的表达水平较高,在其余 3 处组织中的表达量极低。这说明 ANX 基因的表达具有组织特异性,表达量越高,对该组织生长发育

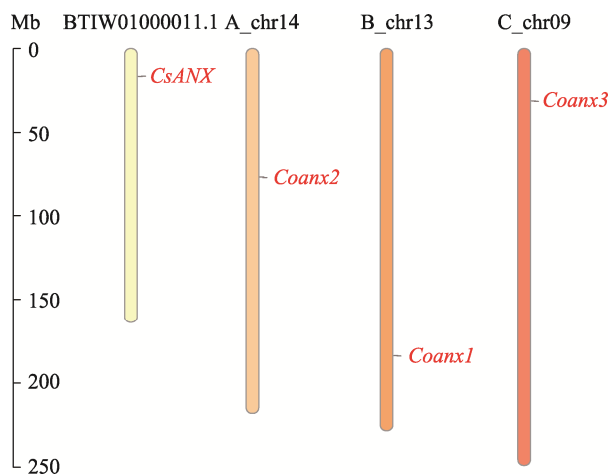


图 7 油茶和茶树 ANX 基因的染色体定位

Fig. 7 Chromosome location of ANX genes in *C. oleifera* and *C. sinensis* var. *sinensis*

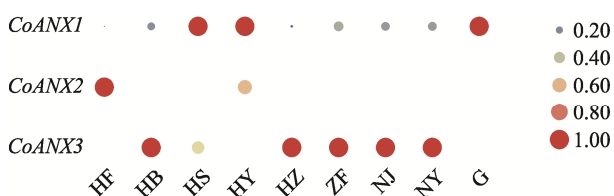


图 8 CoANX 基因在不同组织部位的表达量

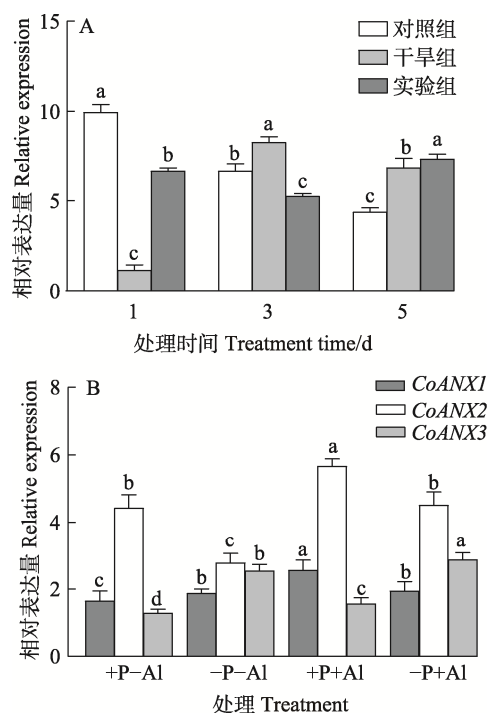
Fig. 8 Expression analysis of CoANX genes in different tissue parts

发挥的调控作用可能越重要。例如, *CoANX1* 和 *CoANX2* 可能参与花药的生理生化活动, 而 *CoANX3* 对花瓣、花柱、子房、嫩茎、嫩叶的生长可能具有重要影响。

2.7 CoANX 基因在干旱胁迫和磷铝胁迫下的表达分析

分析油茶基因的转录组数据, 发现 *CoANX3* 基因的表达最为明显 (图 9A)。比较油茶对照组和干旱组 *CoANX3* 基因的表达量, 发现对照组的表达量呈下降趋势, 而干旱组的表达量总体呈上升趋势, 说明干旱胁迫对油茶中 *CoANX3* 的表达有一定影响。与其他两组相比, 实验组先下降后上升, 整体表现为上升态势, 但上升速率远低于干旱组。而有研究发现油菜素内酯对于缓解植物干旱胁迫起到重要作用^[27], 说明 *CoANX3* 可能参与了油茶对不良环境的抗逆反应。

根据油茶在磷铝胁迫下的转录组数据, 分析 *CoANX* 基因的差异表达情况。结果 (图 9B) 表明, 低磷高铝组均比低磷低铝组的 *CoANX* 基因表达量高, 其中 *CoANX2* 在铝毒害下的表达量提升了 1.4 倍; 与高磷低铝组相比, *CoANX* 基因在低



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 9 CoANX3 基因在不同处理组的表达量 (A) 和 CoANX 基因在不同磷铝梯度下的表达量 (B) 分析

Fig. 9 Expression analysis of CoANX3 genes in different treatment groups (A) and expression of CoANX3 in different phosphorus-aluminum gradients (B)

磷低铝组的表达水平有所上升, 其中 *CoANX3* 在低磷胁迫时的表达量上升了近 2 倍, 但 *CoANX2* 在低磷胁迫时被抑制。综上说明, 磷铝胁迫会上调油茶根系中 *CoANX* 基因的表达量。

3 讨论

油茶 *CoANX* 蛋白的系统进化树分析表明, 其基因结构与功能在山茶科内高度保守。*CoANX1/2* 与茶树 *CsANX*、猕猴桃科、杜鹃花科 *ANX* 基因聚为一支, 说明其 *ANX* 基因可能存在功能冗余; 而 *CoANX3* 与 *CoANX1/2* 不在同一支上, 说明基因序列存在较大差异, 可能参与调控多个生命活动。此外, 所有 *CoANX* 蛋白均含有保守的 STKc_IRAK (IRAK 亚家族) 和 Malectin_like (凝集素超家族) 结构域。植物信号传导研究^[28]表明, 一大类受体样激酶可以用作壁传感器, 部分原因是它们的细胞外结构域 (Malectin_like) 与马凝集素 (一种来自动物细胞内质网的二葡萄糖结合蛋白) 具有同源性, 所以对植物细胞间信号传导和胁迫响应具有重要作用。

油茶 *CoANX* 基因的基因结构呈现显著的组织特异性表达特征。顺式作用元件分析显示, 光响应元件在 *CoANX* 基因启动子中显著富集, 与 *CoANX3* 在嫩茎、嫩叶等营养器官中的高表达一致, 这表明 *ANX* 基因可能通过光信号调控参与油茶叶片发育或光合作用。

干旱胁迫下, *CoANX3* 的表达量显著上调, 与拟南芥 *AtAnn1/4*^[17]、水稻 *OsANN1*^[18] 等的抗旱功能高度吻合。实验组表达模式呈先降后升的趋势, 可能与胁迫初期细胞膜受损引发的适应性修复有关。在低磷和高铝胁迫下, 油茶 *CoANX* 基因的表达水平均有不同程度的上升。结合 *CoANX* 的三级结构预测, 其无规则卷曲为主的构象可能赋予蛋白较强的构象可塑性, 使其在膜动态重组或信号复合体组装中发挥关键作用。

分析油茶不同组织部位 *CoANX* 基因的表达, 发现花粉和花药中 *CoANX* 的表达量较高, 而在叶片和根系等营养器官中的表达水平相对较低, 推测其可能在花器官中发挥重要作用, 参与授粉受精等关键生殖发育过程。研究^[29-30]表明, *ANX* 蛋白参与维持花粉膜的完整性和通透性, 影响花粉管的萌发, 对花粉和胚胎的形成至关重要。然而, 受限于实验周期, 本研究尚未系统解析 *CoANX* 基因在花发育各阶段的动态表达模式, 后续研究需重点关注生殖器官中该基因的表达谱。

4 结论

本研究通过全基因组筛选鉴定出油茶 *ANX* 基因家族的3个成员 *CoANX1*、*CoANX2*、*CoANX3*, 系统解析了其序列特征、进化关系及表达模式。*CoANX1/2/3* 与其他物种中相似度较高的24条蛋白序列一起构建系统发育树, 发现27条蛋白被分为5个不同的组, 组内具有相似的基序模式, 表明科内基因功能保守, 而 *CoANX1/2* 与山茶科茶树 *CsANX* 亲缘关系最近, 具有高度同源性。本研究在启动子区检测到许多参与光反应、抗逆反应的顺式元件, 这表明油茶 *CoANX* 基因参与植物光合作用和胁迫反应。此外, *CoANX* 基因表现出组织特异性表达模式, 如 *CoANX2* 只在花期官中表达, 在营养器官中几乎不表达, 而 *CoANX1/3* 既在花期官中表达也在营养器官中大量出现。*CoANX* 还受到非生物胁迫的差异调节, 干旱处理下, 油茶 *CoANX3* 基因的过表达表明其可能在油茶的热应激响应中起到关键作用; 与低磷低铝相

比, 低磷高铝胁迫下油茶 *ANX* 基因表达显著提高, 说明 *ANX* 可能参与油茶抗逆反应。

本研究系统解析了油茶 *ANX* 基因的进化特征与表达模式, 揭示了 *ANX* 作为潜在抗逆调控基因的可能性。未来可通过基因编辑技术验证其功能, 并结合代谢组学分析其在胁迫响应中的分子机制, 为油茶抗逆分子育种提供理论依据。

参考文献

- [1] 陈永忠, 邓绍宏, 陈隆升, 马力, 何宏, 王湘南, 彭邵锋, 刘彩霞, 王瑞, 许彦明, 张震. 油茶产业发展新论[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2020, 44(1): 1-10.
CHEN Y Z, DENG S H, CHEN L S, MA L, HE H, WANG X N, PENG S F, LIU C X, WANG R, XU Y M, ZHANG Z. A new view on the development of oil tea *Camellia* industry[J]. Journal of Nanjing Forestry University (Natural Sciences Edition), 2020, 44(1): 1-10. (in Chinese)
- [2] 高伟, 幸伟年, 龚春, 徐林初. 茶油的营养价值和开发前景[J]. 江西林业科技, 2013(4): 52-55.
GAO W, XING W N, GONG C, XU L C. Nutritional value and development prospects of *Camellia* oil[J]. Jiangxi Forestry Science and Technology, 2013(4): 52-55. (in Chinese)
- [3] GERKE V, MOSS S E. Annexins: from structure to function[J]. Physiological Reviews, 2002, 82(2): 331-371.
- [4] 李瑞梅, 王雨晴, 张帆, 袁帅, 耿梦婷, 姚远, 刘姣, 段瑞军, 符少萍, 胡新文, 郭建春. 植物膜联蛋白(Annexin)的研究进展[J]. 基因组学与应用生物学, 2017, 36(5): 2128-2136.
LI R M, WANG Y Q, ZHANG F, YUAN S, GENG M T, YAO Y, LIU J, DUAN R J, FU S P, HU X W, GUO J C. Research progress on plant annexin[J]. Genomics and Applied Biology, 2017, 36(5): 2128-2136. (in Chinese)
- [5] CREUTZ C E, PAZOLES C J, POLLARD H B. Identification and purification of an adrenal medullary protein (synexin) that causes calcium-dependent aggregation of isolated chromaffin granules[J]. Journal of Biological Chemistry, 1978, 253(8): 2858-2866.
- [6] BOUSTEAD C M, SMALLWOOD M, SMALL H, BOWLES D J, WALKER J H. Identification of calcium-dependent phospholipid-binding proteins in higher plant cells[J]. Febs Letters, 1989, 244: 456-460.
- [7] MORTIMER J C, LAOHAVISIT A, MACPHERSON N, WEBB A, BROWNLEE C, BATTEY N H, DAVIES J M. Annexins: multifunctional components of growth and adaptation[J]. Journal of Experimental Botany, 2008, 59(3): 533-544.
- [8] GERKE V, CREUTZ C E, MOSS S E. Annexins: linking

- Ca²⁺ signalling to membrane dynamics[J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2005, 6(6): 449-461.
- [9] MONASTYRSKAYA K, BABIYCHUK E B, DRAEGER A. The annexins: spatial and temporal coordination of signaling events during cellular stress[J]. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2009, 66(16): 2623-2642.
- [10] 何美敬, 穆国俊, 侯名语, 陈焕英, 崔顺立, 杨鑫雷, 刘立峰. 植物膜联蛋白的结构及功能研究进展[J]. *西北植物学报*, 2013, 33(12): 2567-2574.
HE M J, MU G J, HOU M Y, CHEN H Y, CUI S L, YANG X L, LIU L F. Advances in structure and function of plant annexins[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2013, 33(12): 2567-2574. (in Chinese)
- [11] 王立科, 张边江, 唐宁, 杨平, 周峰, 陈全战. 植物膜联蛋白基因研究进展[J]. *分子植物育种*, 2016, 14(8): 2060-2065.
WANG L K, ZHANG B J, TANG N, YANG P, ZHOU F, CHEN Q Z. Research advances of annexin genes in plants[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2016, 14(8): 2060-2065. (in Chinese)
- [12] HOFMANN A, PROUST J, DOROWSKI A, SCHANTZ R, HUBER R. Annexin 24 from *Capsicum annuum*. X-ray structure and biochemical characterization[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2000, 275(11): 8072-8082.
- [13] XIE C, ZHU M, SHI R, YANG A, WANG C. Annexins: central regulators of plant growth and stress signaling[J]. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica (Shanghai)*, 2025, 57(4): 507.
- [14] CLARK G B, MORGAN R O, FERNANDEZ M P, ROUX S J. Evolutionary adaptation of plant annexins has diversified their molecular structures, interactions and functional roles[J]. *New Phytologist*, 2012, 196(3): 695-712.
- [15] SAAD R B, BEN ROMDHANE W, BEN HSOUNA A, MIHOUBI W, HARBAOUI M, BRINI F. Insights into plant annexins function in abiotic and biotic stress tolerance[J]. *Plant Signaling Behavior*, 2020, 15(1): 1699264.
- [16] WU X, WANG Y, BIAN Y, REN Y, XU X, ZHOU F, DING H. A critical review on plant annexin: structure, function, and mechanism[J]. *Plant Physiol Biochem*, 2022, 190: 81-89.
- [17] HUH S M, NOH E K, KIM H G, JEON B W, BAE K, HU H C, KWAK J M, PARK O K. *Arabidopsis* annexins AnnAt1 and AnnAt4 interact with each other and regulate drought and salt stress responses[J]. *Plant Cell Physiology*, 2010, 51(9): 1499-1514.
- [18] QIAO B, ZHANG Q, LIU D L, WANG H Q, YIN J Y, WANG R, HE M L, CUI M, SHANG Z L, WANG D K, ZHU Z G. A calcium-binding protein, rice annexin OsANN1, enhances heat stress tolerance by modulating the production of H₂O₂[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2015, 66(19): 5853-5866.
- [19] LI X, ZHANG Q, YANG X, HAN J, ZHU Z. OsANN3, a calcium-dependent lipid binding annexin is a positive regulator of ABA-dependent stress tolerance in *Oryza sativa* (rice)[J]. *Plant Science*, 2019, 284: 212-220.
- [20] BRETON G, VAZQUEZ-TELLO A, DANYLUK J, SARHAN F. Two novel intrinsic annexins accumulate in *Triticum aestivum* (wheat) membranes in response to low temperature[J]. *Plant Cell Physiology*, 2000, 41(2): 177-184.
- [21] IJAZ R, EJAZ J, GAO S, LIU T, IMTIAZ M, YANG Z, WANG T. Overexpression of annexin gene AnnSp2, enhances drought and salt tolerance through modulation of ABA synthesis and scavenging ROS in *Solanum lycopersicum* (tomato)[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7(1): 12087.
- [22] ZHOU M L, YANG X B, ZHANG Q, ZHOU M, ZHAO E Z, TANG Y X, ZHU X M, SHAO J R, WU Y M. Induction of annexin by heavy metals and jasmonic acid in *Zea mays*[J]. *Function Integrative Genomics*, 2013, 13(2): 241-251.
- [23] SZALONEK M, SIERPIEN B, RYMASZEWSKI W, GIECZEWSKA K, GARSTKA M, LICHOCKA M, SASS L, PAUL K, VASS I, VANKOVA R, DOBREV P, SZCZESNY P, MARCZEWSKI W, KRUSIEWICZ D, STRZELCZYK-ZYTA D, HENNIG J, KONOPKA-POSTUPOLSKA D. Potato annexin STANN1 promotes drought tolerance and mitigates light stress in transgenic *Solanum tuberosum* L. plants[J]. *PloS One*, 2015, 10(7): e0132683.
- [24] KONOPKA-POSTUPOLSKA D, CLARK G, HOFMANN A. Structure, function and membrane interactions of plant annexins: an update[J]. *Plant Science*, 2011, 181(3): 230-241.
- [25] 姚亚轩. 油茶甾醇合成关键基因 *CoDWF5* 的鉴定与功能分析[D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2024.
YAO Y X. Identification and functional analysis of a key gene *CoDWF5* for sterol synthesis in *Camellia oleifera*[D]. Changsha: Central South University of Forestry and Technology, 2024. (in Chinese)
- [26] 王艺颖. 油茶 *CoPHR27* 应答磷铝耦合胁迫的功能研究[D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2024.
WANG Y Y. Study on the function of *CoPHR27* in response to phosphorus and aluminum coupling stress in *Camellia oleifera*[D]. Changsha: Central South University of Forestry and Technology, 2024. (in Chinese)
- [27] 许辰雨, 张倩, 杜利霞. 油菜素内酯对植物生长发育影响的研究进展[J]. *草学*, 2025(1): 17-21, 27.
XU C Y, ZHANG Q, DU L X. Research progress on the effect of brassinolide on plant growth and development[J].

- Journal of Grassland and Forage Science, 2025(1): 17-21, 27. (in Chinese)
- [28] YANG H, WANG D, GUO L, PAN H, YVON R, GARMAN S, WU H M, CHEUNG A Y. Malectin/Malectin-like domain-containing proteins: a repertoire of cell surface molecules with broad functional potential[J]. The Cell Surface, 2021, 7: 100056.
- [29] LICHOCKA M, KRZYMOWSKA M, GÓRECKA M, HENNIG J. *Arabidopsis* annexin 5 is involved in maintenance of pollen membrane integrity and permeability[J]. Journal of Experimental Botany, 2022, 73(1): 94-109.
- [30] LICHOCKA M, RYMASZEWSKI W, MORGIEWICZ K, BARYMOW-FILONIUK I, CHLEBOWSKI A, SOBCZAK M, SAMUEL M A, SCHMELZER E, KRZYMOWSKA M, HENNIG J. Nucleus- and plastid-targeted annexin 5 promotes reproductive development in *Arabidopsis* and is essential for pollen and embryo formation[J]. BMC Plant Biology, 2018, 18(1): 183.