网络出版时间:2025-11-26 DOI:10.13207/j.cnki.jnwafu.2026.05.001

苹果*SDH*基因家族的鉴定及对非生物胁迫的响应

胡欢欢,曹雪璟,杜成龙,豆志琦,邵云,李文芳,陈佰鸿,马宗桓
(甘肃农业大学 园艺学院,甘肃 兰州 730070)

[摘 要] 【目的】对苹果山梨醇脱氢酶(sorbitol dehydrogenase,*SDH*)基因家族进行鉴定,并分析了*SDH*基因对非生物胁迫的响应,以探明*SDH*基因功能,为提高苹果抗逆性提供参考。【方法】首先利用苹果基因组数据库和EMBL-EBI网站进行筛选,确定最终的*SDH*基因序列,之后对苹果*SDH*基因编码蛋白家族成员的理化性质以及二级结构进行预测;然后分析了苹果*SDH*基因家族的系统进化关系、顺式作用元件、保守结构域以及在不同组织中的表达情况;最后采用实时荧光定量PCR(RT-qPCR),以正常生长的苹果试管苗为对照,分析了干旱胁迫(10% PEG)、盐胁迫(200 mmol/L NaCl)和低温胁迫(4 ℃)下*SDH*基因表达水平的变化。【结果】从苹果中鉴定到30个山梨醇脱氢酶(*SDH*)基因,并根据其在染色体上的位置命名为*MdSDH01*~*MdSDH*30,这些基因编码的蛋白质具有324~430个氨基酸,等电点为5.61~8.27,分子质量为34 647.76~46 931.21 ku;30个*SDH*基因分布在9条染色体上,二级结构主要以无规则卷曲和α-螺旋为主;SDH蛋白分布在A、C、D、E和F 5个组中。30个*SDH*基因序列中存在10个保守结构域,启动子区域分布有与激素、防御与应激和逆境胁迫等有关的响应元件。*MdSDH*05、*MdSDH*07、*MdSDH*10、*MdSDH*14、*MdSDH*21、*MdSDH*26和*MdSDH*28在不同组织中均有表达,其余23个*SDH*基因未表达。RT-qPCR结果表明,与对照相比,干旱胁迫处理后,30个*SDH*基因的表达均上调;盐胁迫处理后,*MdSDH*04、*MdSDH*05、*MdSDH*07和*MdSDH*23的相对表达量增幅较高;低温胁迫处理后,*MdSDH*30的表达量极显著上调。【结论】*SDH*家族成员具有明显的保守性,在苹果不同组织中的表达模式存在显著差异,苹果*SDH*基因家族在响应多种逆境胁迫时发挥着重要作用。

[关键词] 苹果;*SDH*基因家族;生物信息学;基因表达分析
[中图分类号] S661.1;Q789 [文献标志码] A [文章编号] 1671-9387(2026)05-0001-12

Identification of the *SDH* gene family in apple and its response to different abiotic stresses

HU Huanhuan, CAO Xuejing, DU Chenglong, DOU Zhiqi, SHAO Yun,
LI Wenfang, CHEN Baihong, MA Zonghuan
(*College of Horticulture, Gansu Agricultural University, Lanzhou, Gausu* 730070, *China*)

Abstract: 【Objective】 The study aims to identify the sorbitol dehydrogenase (*SDH*) gene family in apples and analyze the response of *SDH* genes to abiotic stress, in order to elucidate the functions of *SDH* genes and provide references for improving apple stress resistance. 【Method】 The *SDH* gene sequences were initially screened using the apple genome database and the EMBL-EBI website. Subsequently, the physicochemical prop-

[收稿日期] 2025-02-13 [修回日期] 2025-03-24
[基金项目] 甘肃农业大学"大学生科研训练计划(SRTP)"项目(202112010);甘肃省高校青年博士基金项目(2025QB-045);甘肃省重大科技专项(22ZD6NA045);国家自然科学基金项目(32460745)
[作者简介] 胡欢欢(2000—),女,甘肃定西人,在读硕士,主要从事果树生物技术与抗逆分子机理研究。E-mail:hhh000105@126.com
[通信作者] 马宗桓(1988—),男,甘肃会宁人,副教授,博士,主要从事果树逆境生理与生长调控研究。E-mail:mazohu@163.com

erties and secondary structures of the encoded proteins of the apple SDH gene family were predicted. The phylogenetic relationships, cis-acting elements, conserved domains, and expression patterns in different tissues of the apple *SDH* gene family were then analyzed. Finally, real-time quantitative PCR (RT-qPCR) was used to compare the expression levels of *SDH* genes under drought stress (10% PEG), salt stress (200 mmol/L NaCl), and low-temperature stress (4 ℃) using normally grown apple plantlets as controls.【Result】Thirty sorbitol dehydrogenase (*SDH*) genes were identified in apples and named *MdSDH01* to *MdSDH30* based on their chromosomal locations. The proteins encoded by these genes consisted of 324 to 430 amino acids, with isoelectric points ranging from 5.61 to 8.27 and molecular weights ranging from 34 647.76－46 931.21 ku. 30 *SDH* genes were distributed across 9 chromosomes, and their secondary structures were primarily composed of random coils and α-helices. SDH were grouped into five subgroups: A, C, D, E and F. Ten conserved domains were found in the 30 *SDH* gene sequences, and the promoter regions contained response elements related to hormones, defense and stress, and adversity stress adaptability, and stress induction. *MdSDH*05, *MdSDH*07, *MdSDH*10, *MdSDH*14, *MdSDH*21, *MdSDH*26 and *MdSDH*28 were expressed in various tissues, while the remaining 23 *SDH* genes were not expressed. RT-qPCR results showed that, compared to the control, the expression of all 30 *SDH* genes was upregulated under drought stress. Under salt stress, the expression levels of *MdSDH*04, *MdSDH*05, *MdSDH*07 and *MdSDH*23 increased significantly. Under low-temperature stress, the expression of *MdSDH*30 was significantly upregulated.【Conclusion】SDH family members are obviously conservative, and their expression patterns in different tissues of apple are significantly different. Apple *SDH* gene family plays an important role in response to various stress conditions.

Key words: apple; *SDH* gene family; bioinformatics; gene expression analysis

山梨醇与植物的生长、发育和逆境响应密切相关,例如干旱、盐渍、低温胁迫[1]和生物胁迫[2-3],其在蔷薇科植物的叶片中生成,通过韧皮部运输至库器官,用于储存或进一步利用[4]。尽管韧皮部中运输的山梨醇占比较高,但大多数蔷薇科植物的果实并不积累山梨醇[5-6]。这是因为进入果实的大部分山梨醇在山梨醇脱氢酶(sorbitol dehydrogenase, SDH)和山梨醇氧化酶(Sorbitol oxidase, SOX)的催化作用下,被转化为果糖和葡萄糖[7]。其中SDH除了是参与山梨醇代谢的关键酶[8],也是一种多羟基多元醇,是碳水化合物从叶片运输到其他器官的主要形式[7],其已被证明在果实的糖代谢、生长发育以及逆境响应中发挥着重要作用[5]。

YAMADA等[9]首次克隆了苹果果实中的烟酰胺腺嘌呤二核苷酸-依赖性山梨醇脱氢酶(NAD^+-dependent sorbitol dehydrogenase, NAD-SDH)基因,并验证了该基因编码蛋白的活性。迄今为止,已有NAD-SDH基因被发现存在于苹果[10]、梨[11]、桃[12]及枇杷[13]中。WANG等[14]发现,山梨醇脱氢酶基因*MdSDH2*启动子变异后会影响转录因子MdABI3的调控功能,进而影响不同苹果果实中的果糖含量。研究发现,山梨醇脱氢酶基因*MdSDH1*沉默后会抑制苹果的生长[15];苹果中存在多个*SDH*基因家族成员,其在叶片和果实的不同生长时期表达模式不同[16]。

作为蔷薇科落叶果树[17],苹果因具有重要的经济价值和营养价值在全球范围内广泛栽培[18-20],但其生长和产量常受到干旱、盐胁迫和低温等非生物胁迫的严重影响[21]。前人研究发现,*SDH*基因可以提高苹果树对非生物胁迫的抗性[10],进而参与调控苹果品质。因此,挖掘苹果抗逆基因对提高苹果的产量和品质至关重要。然而,目前关于苹果*SDH*基因家族的研究相对较少,尤其是其在不同非生物胁迫下的表达模式尚未探明。为此,本试验对苹果*SDH*基因家族成员进行鉴定,并对其理化性质、基因结构、保守基序、系统进化关系、顺式作用元件等进行分析,同时分析*SDH*基因在不同非生物胁迫下的表达水平,以期筛选和明确各成员在提高抗逆性方面的潜在功能,为进一步深入研究*SDH*基因功能奠定基础。

1 材料与方法

1.1 苹果*SDH*基因家族成员的鉴定

通过苹果基因组数据(https://iris.angers.inra.fr/gddh13/)获得*SDH*家族基因的蛋白质序列,之后利用EMBL-EBI网站(https://www.ebi.ac.uk/

Tools/hmmer/）进行第二次筛选，确定最终的*SDH*序列中只含有PF08240、PF00107结构域。

1.2　苹果*SDH*基因家族成员的序列和结构特征分析

利用ProtParam网站（https://web.expasy.org/protparam/）预测苹果SDH家族成员理化性质（氨基酸数、分子质量、等电点、不稳定系数和亲水指数）。在GenScript网站（https://www.genscript.com/wolf-psort.html）进行亚细胞定位。使用Prabi网站（https://npsa-prabi.ibcp.fr/）对苹果*SDH*基因编码蛋白家族成员的二级结构（α-螺旋、延长链、β-转角、不规则卷曲）进行分析。从NCBI（https://www.ncbi.nlm.nih.gov/）中获取苹果*SDH*基因所在的染色体位置信息，并在NCBI中查找苹果*SDH*基因所在染色体的大小，最后利用TBtools绘制染色体定位图。使用搜索程序MEME（http://meme.nbcr.ne-t/meme/cgi-bin/meme.cgi）对苹果*SDH*基因编码的蛋白保守结构域进行分析。在GSDS（http://gsds.cbi.pku.edu.cn/）在线软件中将基因全长序列输入，分析苹果*SDH*基因的编码序列（CDS）、非编码区（5′UTR和3′UTR）及内含子。

1.3　苹果*SDH*基因的进化关系分析

为了研究苹果*SDH*基因的进化关系，从TAIR（https://www.arabidopsis.org）获得13个拟南芥SDH蛋白序列，在Ensembl Plants（http://plants.ensembl.org/index.html）网站分别获得41个葡萄SDH蛋白序列和29个水稻的SDH蛋白序列，采用MEGA 7软件对以上蛋白质序列进行了多级比对，采用邻接法构建苹果与其他作物SDH蛋白序列系统进化树。

1.4　苹果*SDH*基因的顺式作用元件分析

从Phytozome网站（https://phytozome-next.jgi.doe.gov/）下载苹果的基因组序列文件和基因结构注释信息文件，在TBtools上使用gff3工具提取苹果*SDH*基因起始密码子上游2 000 bp的序列，之后将其提交至PlantCARE（http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/）数据库，进行基因顺式作用元件（启动子）分析，并使用TBtools进行可视化分析。

1.5　苹果*SDH*基因的共线性分析

首先，从EnsemblPlants数据库（http://plants.ensembl.org/info/website/ftp/index.html）下载水稻和拟南芥的*SDH*基因组序列文件和基因结构注释文件；然后，利用TBtools软件，分别比较水稻与苹果、拟南芥与苹果、葡萄与苹果的*SDH*基因，获得三者之间的共线性关系。

1.6　苹果*SDH*基因在不同组织中表达情况分析

从美国国立生物技术信息中心（National Center for Biotechnology Information，NCBI）GEO数据库获取苹果*SDH*基因在不同组织（幼苗、种子、茎、根、叶片、果实、花）中表达的数据[22]，通过Excel软件对所获得的数据进行进一步的整理，利用TBtools软件对*SDH*在不同组织中的表达水平进行分析。

1.7　非生物胁迫下苹果*SDH*基因的实时荧光定量PCR（RT-qPCR）表达分析

1.7.1　植物材料及处理　供试材料为“嘎啦”苹果试管苗，保存于甘肃农业大学园艺学院组培室。前期以单芽茎段为材料进行接种，基本培养基为MS液体培养基＋30 g/L蔗糖＋1.0 mg/L 6-BA＋0.05 mg/L IAA，pH 5.8～6.0。培养温度25 ℃/20 ℃（光照/黑暗），光周期16 h/8 h（光照/黑暗）。培养30 d后，挑选生长状况一致且无污染的苹果试管苗作为材料，分别进行干旱胁迫处理（加入50 mL含10% PEG4000的MS液体培养基，PEG）、盐胁迫处理（加入50 mL 200 mmol/L NaCl的MS液体培养基，NaCl））、低温处理（加入50 mL MS液体培养基后于4 ℃处理，4 ℃），以正常生长的植株作为对照（CK）。每个处理设置3组生物学重复，处理时间均为24 h。

1.7.2　RNA提取及RT-qPCR分析　采用植物提取试剂盒RNA plantRTR2303（中科瑞泰生物技术有限公司，北京）提取干旱、盐胁迫、低温以及CK苹果试管苗RNA。采用PrimeScript RT reagent Kit（Perfect Real Time）试剂盒（TaKaRa）并参照说明书进行cDNA合成。以*GAPDH*基因作为内参基因，进行苹果*SDH*基因RT-qPCR扩增反应，RT-qPCR引物见表1，引物设计及后期引物合成均由上海生工生物工程技术服务有限公司完成。RT-qPCR反应总体积为20 μL，包括上下游引物各1 μL，cDNA 1.5 μL，ddH_2O 6.5 μL，TB Green-Ⅱ 10 μL。RT-qPCR反应程序为：95 ℃变性30 s；95 ℃变性10 s，60 ℃退火30 s，72 ℃延伸30 s，共40个循环。试验进行3次生物学重复。采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法[22]计算苹果*SDH*基因的相对表达量。

1.8　数据统计与分析

使用Excel整理试验数据，并用Origin 9.0绘图，采用SPSS 20统计分析单因素ANOVA的Dun-

can's比较不同处理差异的显著水平。

表1 供试的实时荧光定量PCR引物序列

Table 1 Primer sequences for the real-time fluorescence quantitative PCR used in the test

基因 Gene	上游引物(5′—3′) Forward primer	下游引物(5′—3′) Forward primer
GADPH	TTCTCGTTGAGGGCTATTCCA	CCACAGACTTCATCGGTGACA
*MdSDH*01	GTCCACCCTCTATTGCCCTTGATTG	TGCCACTCCCAGCTACTATCTTCC
*MdSDH*02	AATGTGTGAGCCCTTGAGTGTTGG	CAGCACCGAAACCAGACCGATG
*MdSDH*03	TAGTCCGTATCCCAGAAACCCTTCC	CCTAAACCCACCACACCCACATG
*MdSDH*04	GCTCACAGACGAGTAGTGTCAATGG	GGGTAAACTTGTACGGCGAGAGAAC
*MdSDH*05	GTTGACGAATGGAGGAGTGGACAG	GAACAGCAACAACCCAACCATCATG
*MdSDH*06	TCCGTATCCCAGACAACCTTCCC	CCTAAACCCACCACACCCACATG
*MdSDH*07	CCTGTTCATGGTTCATTGGCGAATC	ACACTCAAGGGCTCACACATTGC
*MdSDH*08	CCACTCAGACCTTCACCTTGCTAAG	CCCAACCTTTGTCACTTCGCCTAC
*MdSDH*09	GTCCACCCTCTATTGCCCTTGATTG	TGCCACTCCCAGCTACTATCTTCC
*MdSDH*10	GAGGTTAAAGAGCCGATGGTGATGG	CTGACACCGTGAGCAACTGATACC
*MdSDH*11	TGATGGTTGGAGCACAAGAGAAGC	GCTTGGCTGCGAAATCAATCATCTC
*MdSDH*12	GACTAACAGGCAGGCAAGTTGGAG	AATGGAAGCAGGAACAGGCACAG
*MdSDH*13	GACTAACAGGCAGGCAAGTTGGAG	AATGGAAGCAGGAACAGGCACAG
*MdSDH*14	GCAGGAGACGTGGTTGGAGTTG	TGCCATCGGTGTAAGTGTCGTTG
*MdSDH*15	GGAGCAATGTGTGAGCCCTTGAG	GAGCACGGAAACCAGCCCAATC
*MdSDH*16	ATGACCAGCGAAGCGACAAAGG	GAACCCACCATGCACCCAACTC
*MdSDH*17	GAGCAGGAGATGTGGTTGGAGTTG	TTGGCCGTCGGTGTAAGTATCATTG
*MdSDH*18	ATGCCAGAATGTGGAGAATGCGTAG	GTGAATCGGCTAGTCTCGTGTCTTG
*MdSDH*19	TCGTGGGAAGGAAGATAGTGGCTAG	GCTGTTATGTTGTGCTTGGATGCG
*MdSDH*20	CTCTCTTTGCCACACCGATGTCTAC	GTTACGCCCTCACCTACGCTTTC
*MdSDH*21	TCTTGCCACTCTTGCGACAGTTG	ATGTTATGGTGCCGTCAAGGTTCC
*MdSDH*22	TTTGCCACTCAGACCTTCACTTAGC	ACCAACCTTTGTCACTTGCCCTAC
*MdSDH*23	GGCTGCTGACTCCTTGGATTACATC	GCCGTCAAGTTTCAACAAAGAGAGG
*MdSDH*24	GGTCTCGAATGTTCTGGAACCGTAG	GGAACAGCCACCTTCTCAGCATAC
*MdSDH*25	AGGTGATTGCTGAGCTGACGAATG	GACGGCTTCTTTGTGTGGTACTCC
*MdSDH*26	AGGCTGTCGGCATTTGTGGAAG	CACCTCGCTCCCAACTTTGTCTAC
*MdSDH*27	TCCTGAACAAGAACACCCGAAGAAG	CGTCTTTCTCGCCAGTTACCCTTC
*MdSDH*28	TGTGGCTGTGCTTGTTGGAGTTC	AGGAAGGTCTGTCCGAGGTTTGTAG
*MdSDH*29	GGTGACACTGGCATGGTAACTACTG	ATAGCGACCCCTTCAATGTTCTTCC
*MdSDH*30	TGAATGACGAGCGTTTGTTGATTGC	CACAGTCGAAGGTTACATCCACTCC

2 结果与分析

2.1 苹果*SDH*基因家族成员的鉴定与分析

利用生物信息学方法,从苹果中鉴定到30个山梨醇脱氢酶(*SDH*)基因,并根据其在染色体上的位置命名为*MdSDH*01~*MdSDH*30,其编码蛋白的基本特性见表2。表2显示,苹果*SDH*基因编码的蛋白质具有324~430个氨基酸,等电点为5.61~8.27,分子质量为34 647.76~46 931.21 ku。除*MdSDH*25和*MdSDH*26外(不稳定系数>40),其余*SDH*基因编码的蛋白质均稳定。亚细胞定位分析表明,*MdSDH*基因主要分布在细胞质、细胞核、质膜和叶绿体中。

表2 苹果*SDH*基因编码蛋白的基本特性

Table 2 Basic characteristics of the protein encoded by the apple *SDH* gene

基因名称 Gene name	基因登录号 Gene accession No.	氨基酸数 Number of amino acids	分子质量/ku Molecular weight	等电点 Isoelectric point	不稳定系数 Instability index	亲水指数 Hydropathy index	亚细胞定位 Subcellular localization
*MdSDH*01	MD00G1005700	368	39 520.21	7.49	25.98	0.093	细胞质 Cytoplasm
*MdSDH*02	MD01G1041700	363	39 297.53	6.17	30.92	0.074	细胞质 Cytoplasm
*MdSDH*03	MD01G1042300	328	35 968.34	5.84	35.39	−0.149	细胞质 Cytoplasm
*MdSDH*04	MD01G1042500	362	39 185.46	6.06	23.28	0.106	细胞质 Cytoplasm

表 2（续） Table 2(continued)

基因名称 Gene name	基因登录号 Gene accession No.	氨基酸数 Number of amino acids	分子质量/ku Molecular weight	等电点 Isoelectric point	不稳定系数 Instability index	亲水指数 Hydropathy index	亚细胞定位 Subcellular localization
*MdSDH*05	MD01G1042600	354	38 452.55	6.59	26.51	0.052	细胞质 Cytoplasm
*MdSDH*06	MD01G1042800	343	36 866.60	5.66	24.06	0.072	细胞质 Cytoplasm
*MdSDH*07	MD01G1042900	354	38 510.59	6.42	27.05	0.037	细胞质 Cytoplasm
*MdSDH*08	MD01G1110100	371	40 231.65	6.47	25.79	0.005	细胞质 Cytoplasm
*MdSDH*09	MD01G1194600	358	38 377.75	6.75	29.11	0.111	质膜/细胞核 Plasma membrane/nucleus
*MdSDH*10	MD01G1195200	368	39 341.92	7.51	24.96	0.105	细胞质 Cytoplasm
*MdSDH*11	MD01G1195300	368	39 524.26	7.50	25.04	0.072	细胞质 Cytoplasm
*MdSDH*12	MD05G1089900	430	46 931.21	5.97	33.44	−0.010	叶绿体 Chloroplast
*MdSDH*13	MD05G1179800	380	41 161.44	5.79	31.57	0.007	叶绿体 Chloroplast
*MdSDH*14	MD06G1241000	393	42 205.33	5.61	37.79	0.033	细胞质 Cytoplasm
*MdSDH*15	MD07G1250800	324	34 647.76	5.94	36.09	0.060	细胞质 Cytoplasm
*MdSDH*16	MD07G1251000	326	34 812.87	6.01	33.82	0.045	细胞质 Cytoplasm
*MdSDH*17	MD07G1261900	368	39 466.94	6.46	23.21	0.085	细胞质 Cytoplasm
*MdSDH*18	MD10G1013800	372	40 372.39	5.83	32.59	−0.028	细胞质 Cytoplasm
*MdSDH*19	MD10G1013900	380	41 432.73	6.68	30.50	−0.031	细胞质 Cytoplasm
*MdSDH*20	MD10G1014500	379	41 138.16	6.03	37.88	−0.095	细胞质 Cytoplasm
*MdSDH*21	MD10G1097200	355	38 529.30	5.83	24.45	−0.053	细胞质 Cytoplasm
*MdSDH*22	MD10G1097500	356	38 587.50	5.88	27.16	0.002	细胞质 Cytoplasm
*MdSDH*23	MD10G1155000	359	38 874.01	6.60	30.38	0.009	细胞质 Cytoplasm
*MdSDH*24	MD10G1155400	332	35 917.60	6.75	32.14	0.046	细胞质 Cytoplasm
*MdSDH*25	MD12G1074500	325	34 789.37	7.59	44.81	0.149	细胞质 Cytoplasm
*MdSDH*26	MD15G1004100	391	42 522.17	6.04	40.62	0.057	叶绿体 Chloroplast
*MdSDH*27	MD15G1308800	361	39 080.53	6.39	28.94	0.106	细胞质 Cytoplasm
*MdSDH*28	MD15G1308900	361	38 873.14	8.27	28.62	−0.003	细胞质 Cytoplasm
*MdSDH*29	MD15G1309000	353	38 139.10	5.74	28.87	0.062	细胞质 Cytoplasm
*MdSDH*30	MD17G1119800	386	41 920.29	6.41	30.63	0.122	细胞质 Cytoplasm

2.2　苹果*SDH*基因家族成员的结构特征分析

图 1 显示，30 个苹果*SDH*基因分布在 9 条上染色体上。其中 1 号染色体（Chr01）上分布了 10 个*SDH*基因，占总基因的 33.33%；其次是 10 号染色体（Chr10），包括 7 个该家族成员；其余染色体上分布的*SDH*基因均较少。

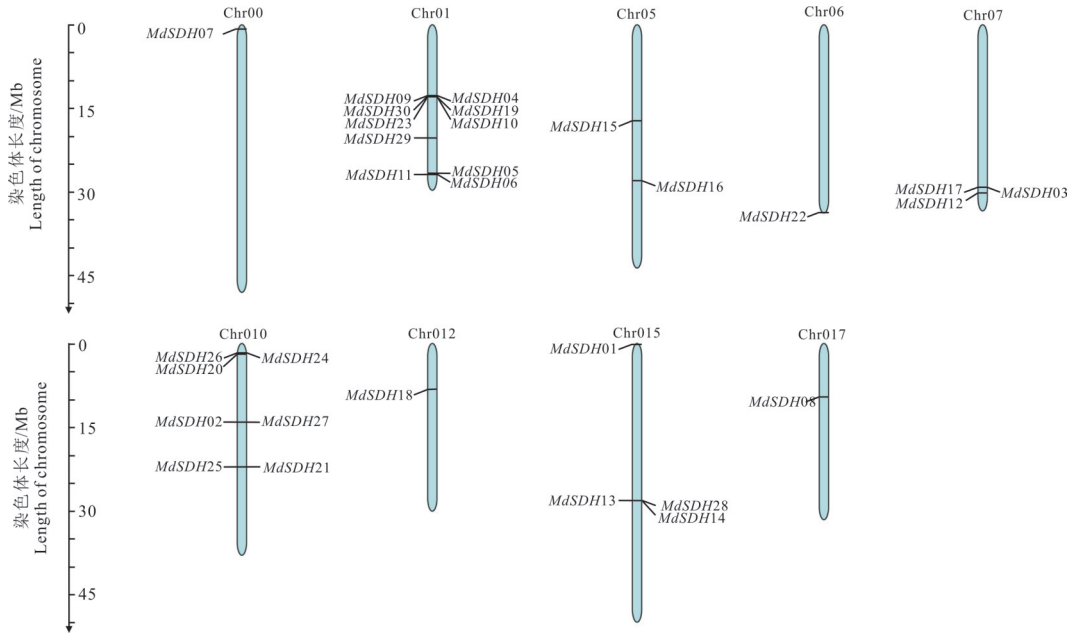


图 1　苹果*SDH*基因的染色体定位

Fig. 1　Chromosome mapping of the apple *SDH* gene

表3显示,苹果SDH蛋白的二级结构主要由α-螺旋、β-转角、不规则卷曲和延长链组成,其中不规则卷曲占比最高,为33.14%～48.80%,其次是α-螺旋(19.77%～39.69%)、延长链(17.23%～27.25%)和β-转角(5.12%～11.07%)。

表3 苹果*SDH*基因编码蛋白的二级结构分析

Table 3 Secondary structure analysis of the protein encoded by the apple *SDH* gene

基因名称 Gene name	α-螺旋 α-helix	延长链 Extended chain	β-转角 β-turn	不规则卷曲 Irregular crimp
*MdSDH*01	30.43	23.10	7.61	38.86
*MdSDH*02	28.37	23.69	6.61	41.32
*MdSDH*03	27.44	25.00	8.23	39.33
*MdSDH*04	21.61	26.32	6.93	45.15
*MdSDH*05	25.42	24.01	7.63	42.94
*MdSDH*06	26.56	25.17	11.07	37.21
*MdSDH*07	23.45	23.45	7.91	45.20
*MdSDH*08	31.00	23.72	7.82	37.47
*MdSDH*09	30.73	22.91	7.82	38.55
*MdSDH*10	30.43	23.91	7.07	38.59
*MdSDH*11	30.43	23.91	7.88	37.77
*MdSDH*12	19.77	26.28	6.98	46.98
*MdSDH*13	24.47	25.26	8.95	41.32
*MdSDH*14	21.88	26.46	10.43	41.22
*MdSDH*15	36.73	20.68	9.26	33.33
*MdSDH*16	35.28	21.47	10.12	33.13
*MdSDH*17	29.35	23.37	7.88	39.40
*MdSDH*18	25.27	25.00	10.22	39.52
*MdSDH*19	25.79	25.79	8.42	40.00
*MdSDH*20	24.54	25.86	9.76	39.84
*MdSDH*21	21.97	26.20	8.17	43.66
*MdSDH*22	22.19	27.25	7.58	42.98
*MdSDH*23	23.40	23.40	8.36	44.85
*MdSDH*24	24.40	21.69	5.12	48.80
*MdSDH*25	39.69	17.23	9.54	33.54
*MdSDH*26	26.09	22.76	9.72	41.43
*MdSDH*27	23.82	25.21	8.86	42.11
*MdSDH*28	26.59	24.10	6.37	42.94
*MdSDH*29	27.48	22.95	8.50	41.08
*MdSDH*30	26.68	24.87	8.03	40.41

对苹果*SDH*基因编码蛋白的保守结构域进行分析,结果(图2)显示,家族成员中存在10个保守结构域,命名为Motif 1～Motif 10,这些保守结构域的组成模式呈现出较高的多样性。其中Motif 3存在于所有苹果*SDH*成员中,表明其在家族进化过程中具有保守性;此外,Motif 1、Motif 2和Motif 4也存在于大多数*SDH*家族成员中,表明其在家族中具有保守的功能。

图3显示,30个*SDH*基因长度差异较大,其中*MdSDH*28最长,为12 kb;而*MdSDH*10最短,为1.5 kb。*SDH*家族成员均含有内含子。*MdSDH*10和*MdSDH*19基因只具有5′UTR,*MdSDH*11、*MdSDH*02和*MdSDH*17只具有3′UTR;除了*MdSDH*01、*MdSDH*04、*MdSDH*05、*MdSDH*06、*MdSDH*08、*MdSDH*09和*MdSDH*16,其余18个*SDH*基因均包含5′UTR和3′UTR。

2.3 苹果*SDH*基因的进化关系分析

为了揭示苹果(*Malus domestica*,Md)*SDH*基因的进化关系,构建了苹果与拟南芥(*Arabidopsis thaliana*,At)、葡萄(*Vitis vinifera*,Vv)和水稻(*Oryza sativa*,Os)SDH蛋白的系统发育进化树,其中苹果、拟南芥、葡萄和水稻的SDH蛋白数量分别为30,13,41和29个,结果(图4)显示,113个SDH蛋白分为7个组(A～G)。苹果SDH蛋白分布在A、C、D、E和F 5个组中,其中F组中包含的苹果SDH蛋白数量最多(14个);A和D组次之,均包含6个苹果SDH蛋白。C组中包含3个苹果SDH蛋白;而E组中仅包含1个苹果SDH蛋白;在B和G组中均未发现苹果SDH蛋白。

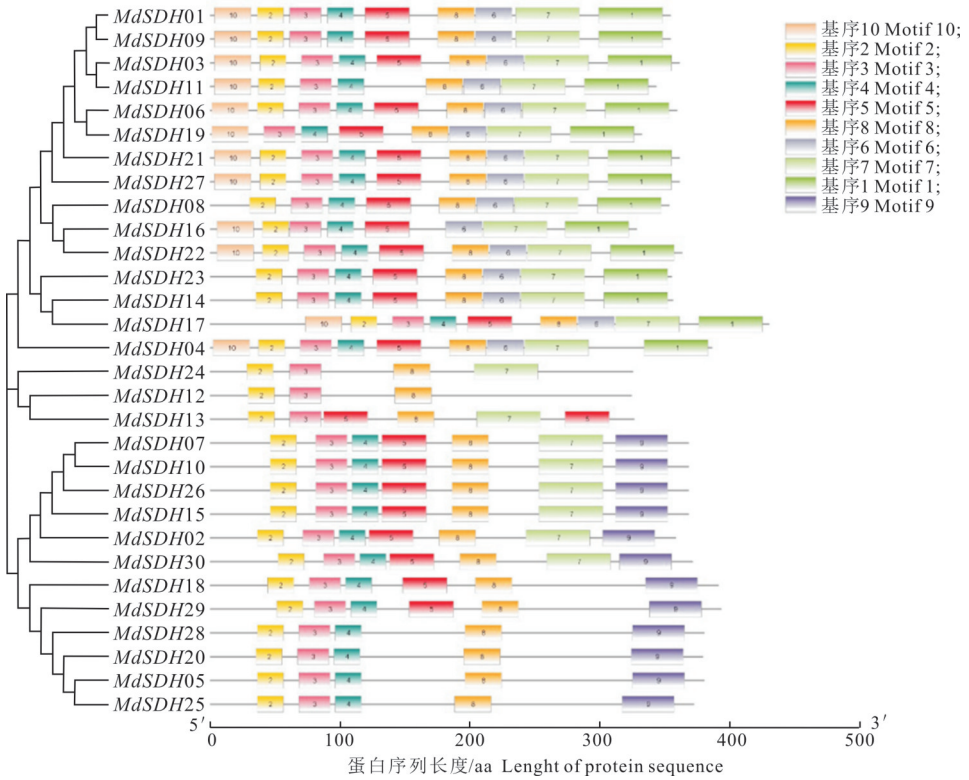


图 2　苹果 *SDH* 基因的保守结构域

Fig. 2　Conserved domains of the apple *SDH* gene

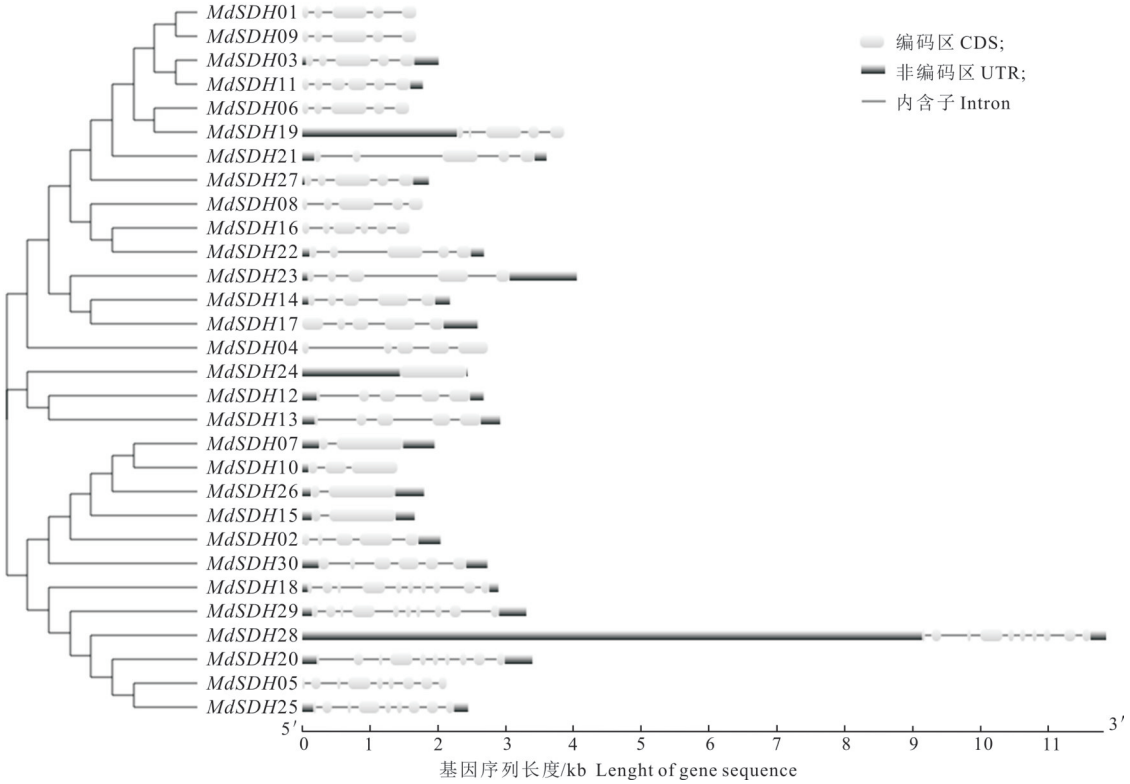


图 3　苹果 *SDH* 基因结构分析

Fig. 3　Analysis of apple *SDH* gene structure

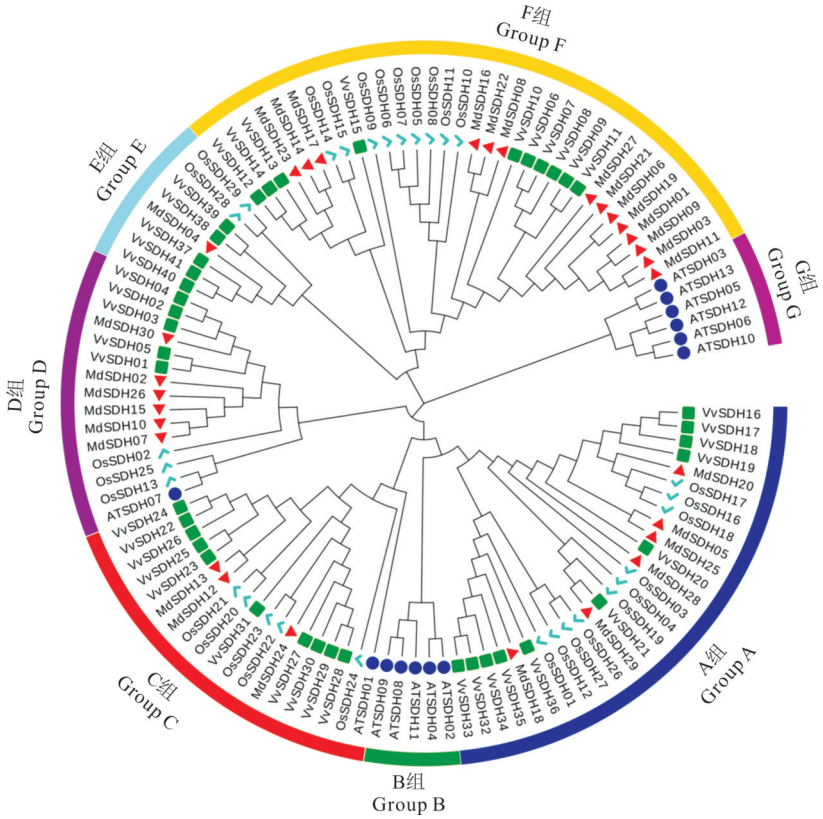


图 4 苹果与其他作物 SDH 蛋白的系统发育进化树

Fig. 4 Phylogenetic evolutionary tree of SDH proteins in apple and other crops

2.4 苹果 *SDH* 基因家族顺式作用元件分析

为了分析苹果 *SDH* 基因家族成员启动子区域中顺式作用元件的种类和数量,对起始密码子上游 2 000 bp 的序列进行分析,结果见图 5。

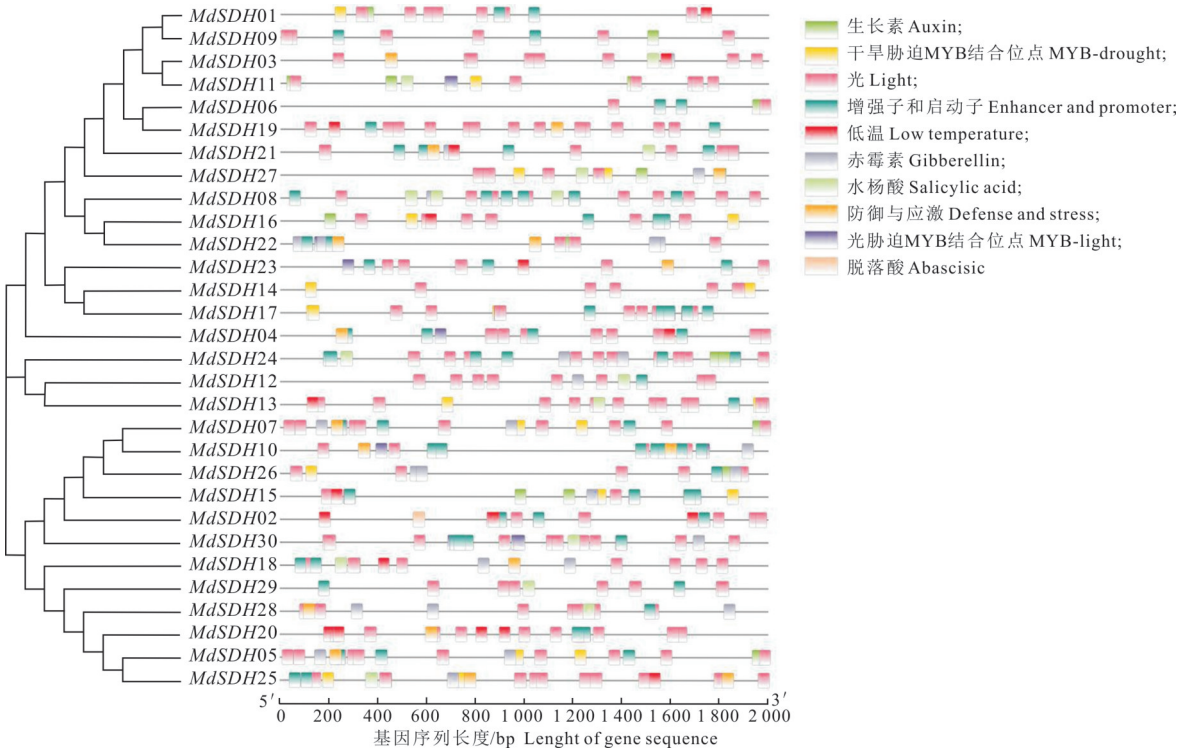


图 5 苹果 *SDH* 基因家族成员启动子区域中的顺式作用元件

Fig. 5 Cis-acting elements in the promoter region of apple *SDH* gene family members

图 5 显示，30 个苹果 *SDH* 成员所含的顺式作用元件种类主要包含 3 种，分别为逆境胁迫（低温、干旱、光胁迫）元件和激素（赤霉素、生长素、水杨酸、脱落酸）元件以及防御与应激元件。表明苹果 *SDH* 基因家族成员可响应非生物胁迫而参与果树生长发育的调控。

2.5　苹果 *SDH* 基因共线性分析

2.5.1　种间共线性分析　图 6～8 显示，苹果与拟南芥、葡萄关联性均较高，分别存在 9 对和 8 对同源基因对；而苹果与水稻之间的关联性不高，仅存在 2 对同源基因对，表明苹果与拟南芥、葡萄的 *SDH* 基因家族进化关系更紧密，而与水稻较远。

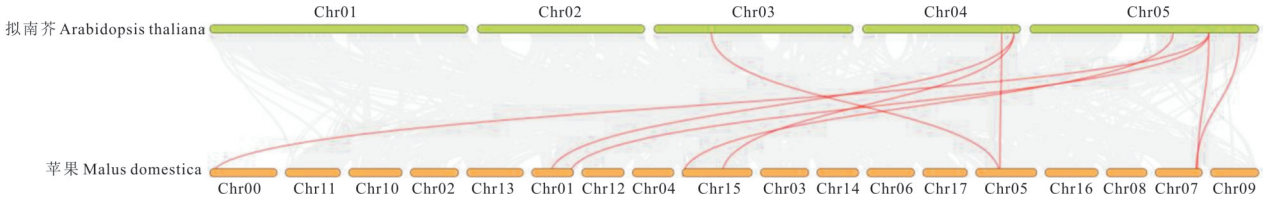


图 6　拟南芥与苹果 *SDH* 家族的种间共线性分析

Fig. 6　Interspecific collinearity analysis of *Arabidopsis thaliana* and apple *SDH* families

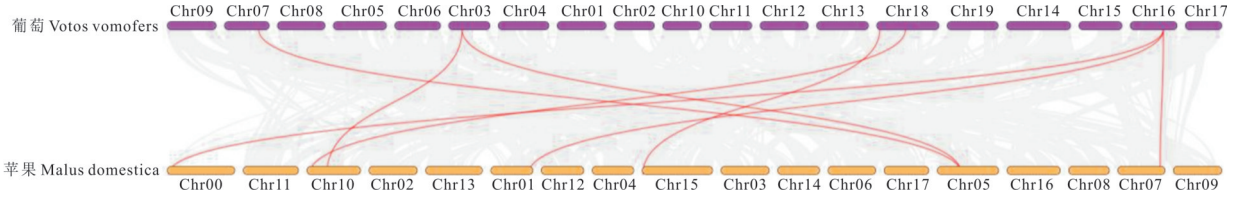


图 7　葡萄与苹果 *SDH* 家族的种间共线性分析

Fig. 7　Interspecific collinearity analysis of *SDH* family in grape and apple

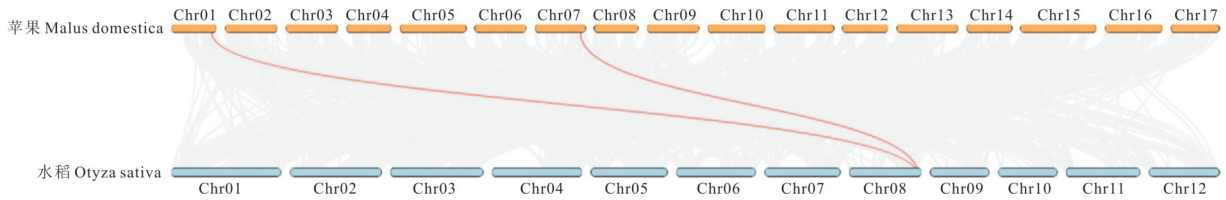


图 8　水稻与苹果 *SDH* 家族的种间共线性分析

Fig. 8　Interspecific collinearity analysis of *SDH* families in rice and apple

2.5.2　种内共线性分析　苹果 *SDH* 基因种内共线性分析见图 9。

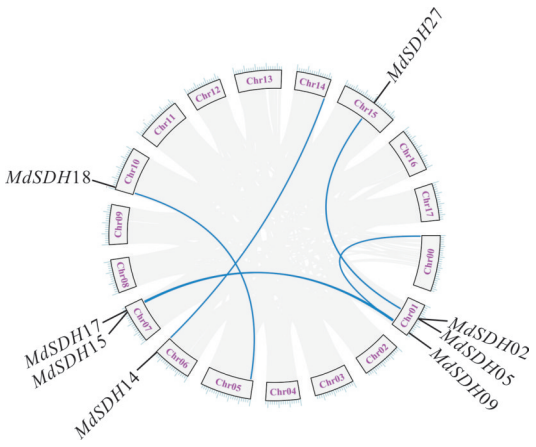


图 9　苹果 *SDH* 基因种内共线性分析

Fig. 9　Intraspecic collinearity analysis of apple *SDH* gene

图 9 显示，*MdSDH*02、*MSDH*05、*MdSDH*09、*MdSDH*14、*MdSDH*15、*MdSDH*17、*MdSDH*18 和 *MdSDH*27 之间存在共线性关系，并且有 4 对串联重复基因对，其他成员之间没有共线性关系。表明苹果 *SDH* 基因家族中有基因重复的现象，可以推测，在演化的过程中，*SDH* 基因可能会通过复制来对其家族成员进行扩增。

2.6　基于 GEO 的苹果 *SDH* 组织特异表达分析

在 GEO 中对 30 个 *SDH* 基因组织特异性表达情况进行检索，结果表明，只有 *MdSDH*05、*MdSDH*07、*MdSDH*10、*MdSDH*14、*MdSDH*21、*MdSDH*26 和 *MdSDH*28 在不同组织中表达水平差异显著，其余 23 个 *SDH* 基因未表达。其中 *MdSDH*21 在花、果实和根中的表达水平较高；*MdSDH*07、*MdSDH*10、*MdSDH*14 和 *MdSDH*26 在果实中表达水平较高；*MdSDH*26 在种子中的表达水平较低；*MdSDH*05、*MdSDH*28 在叶中表达水平较高（图 10）。

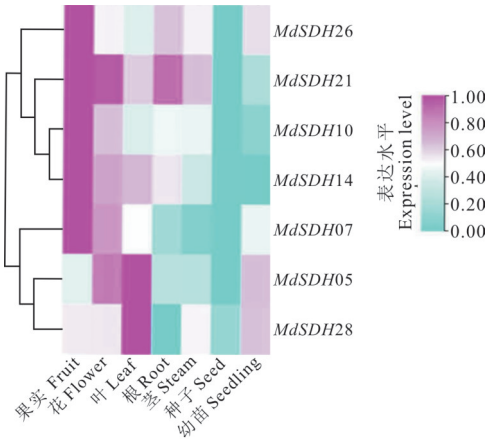


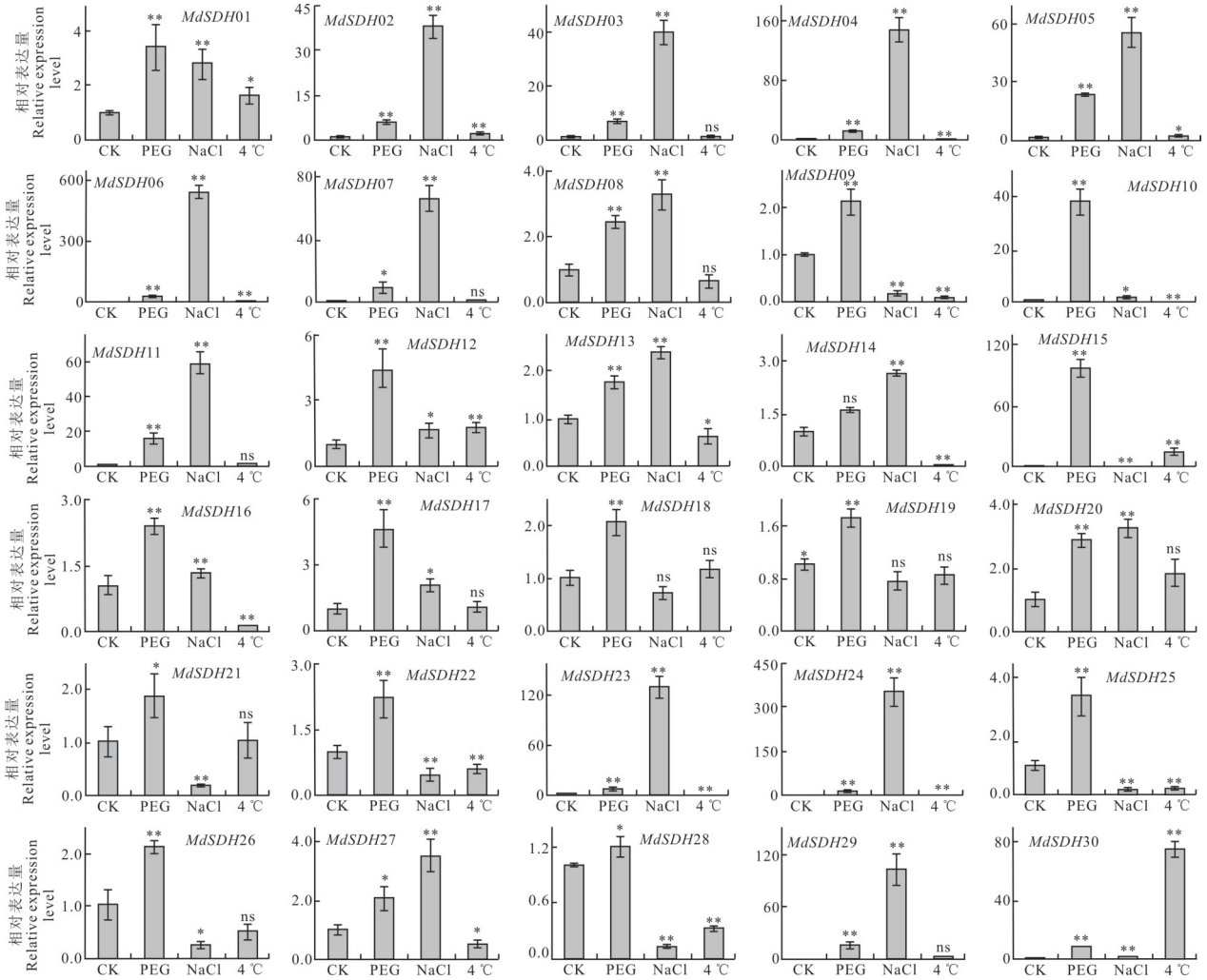
图 10 苹果 *SDH* 基因的组织特异性表达分析

Fig. 10 Tissue-specific expression analysis of *SDH* gene in apple

2.7 逆境下苹果 *SDH* 基因的 RT-qPCR 表达分析

图 11 表明,不同苹果 *SDH* 对不同非生物胁迫的响应有明显差异,干旱胁迫处理后,30 个 *MdSDH* 基因表达均上调,其中 *MdSDH*05、*MdSDH*10 和 *MdSDH*15 的相对表达量增幅均较高,分别是对照(CK)的 20,40 和 100 倍,这些成员可能在苹果对干旱胁迫的响应中发挥着重要作用。

盐胁迫处理后,20 个苹果 *SDH* 基因表达量出现上调,其中 *MdSDH*04、*MdSDH*05、*MdSDH*07 和 *MdSDH*23 的相对表达量增幅均较高,分别是对照的 160,60,70 和 140 倍;其余 *SDH* 基因相对表达量明显下调。表明苹果 *SDH* 家族基因各成员对盐胁迫的响应存在差异(图 11)。



CK. 正常生长植株;PEG. 干旱胁迫处理;NaCl. 盐胁迫处理;4 ℃. 低温胁迫处理。图柱上标*和**分别表示与 CK 之间差异达显著($P<0.05$)或极显著水平($P<0.01$),ns 表示与 CK 之间无显著差异。

CK. Normal growth plants; PEG. Drought stress treatment; NaCl. Salt stress treatment; 4 ℃. Low-temperature stress treatment. * and ** above the bars indicate significant ($P<0.05$) and extremely significant ($P<0.01$) differences compared with CK, respectively, ns indicates no significant difference compared with CK.

图 11 苹果 *SDH* 基因对不同逆境胁迫的响应

Fig. 11 Response of apple *SDH* gene to different stress

经过低温胁迫处理后，与CK相比，*MdSDH*01、*MdSDH*12、*MdSDH*15、*MdSDH*18和*MdSDH*30的相对表达量明显上调，其中*MdSDH*30表达水平的增幅明显高于其他基因，是一个极显著响应低温胁迫的基因（图11）。

30个*SDH*基因中，*MdSDH*01、*MdSDH*12和*MdSDH*20表达水平在干旱、盐和低温胁迫均表现出明显上调，表明这些基因可能在苹果对多种逆境胁迫的耐受中发挥着重要作用（图11）。

3　讨　论

山梨醇作为一种渗透调节物质参与植物对各种生物胁迫和非生物胁迫的抵御[23]。本研究在苹果全基因组范围中鉴定获得了30个*SDH*成员，其分布在9条染色体上；系统进化分析结果显示，苹果SDH蛋白分布在5个组中。梁东等[16]在‘嘎啦’苹果中，通过全基因组鉴定获得了12个*SDH*家族成员，并将12个成员分成了A和B 2个亚组，*SDH*数量远远低于本研究，这可能与基因组数据的更新、基因复制事件等有关。

本研究对苹果*SDH*基因起始密码子上游2 000 bp序列中的顺式作用元件进行了预测，发现30个苹果*SDH*基因所含的顺式作用元件主要响应逆境胁迫、激素、防御与应激反应。研究表明，植物SDH是山梨糖醇代谢的关键酶[1]，其通过调节多元醇水平[24]，从而影响植物对逆境如干旱、火疫病、低温和盐胁迫的抗性[25]。本研究发现，与CK相比，*MdSDH*30表达水平受低温胁迫后极显著上调，而顺式作用元件分析结果也进一步证实其含有低温响应元件；*MdSDH*05、*MdSDH*10和*MdSDH*15表达水平受干旱胁迫后极显著上调，这与顺式作用元件的分析结果一致，即其序列中含有响应干旱胁迫的元件。

在干旱、低温胁迫下木薯*SDH*基因在叶片中上调表达，并且经脱落酸（ABA）处理后其在叶片和根系中显著上调表达[26]，这表明*SDH*基因可以响应多种胁迫并上调表达。前人以拟南芥过表达*SDH*株系为材料进行研究发现，*SDH*的表达受ABA、盐和渗透胁迫的调控，*SDH*通过调控拟南芥中ABA合成和信号传导的基因表达，参与植物对盐和渗透胁迫的耐受性以及对ABA的应答[27]。

本研究发现，30个苹果*SDH*基因在响应逆境胁迫时的表现各有差异。低温处理后，*MdSDH*30的表达量明显高于其他基因；干旱胁迫处理后，30个苹果*SDH*基因均上调表达；盐胁迫处理后，部分*SDH*基因表达量明显下调，而*MdSDH04*、*MdSDH05*、*MdSDH07*、*MdSDH23*的表达量增幅均较高。这表明苹果*SDH*基因家族在响应低温、干旱以及盐胁迫时发挥着重要作用。

[参考文献]

[1] 杨光，李玲玉，黄明丽，等. 山梨醇对植株抗逆性作用的研究进展[J]. 土壤，2018，50(3)：446-454.
YANG G，LI L Y，HUANG M L，et al. Progresses in study on sorbitol effect on plants resistance[J]. Soils，2018，50(3)：446-454.

[2] WANG Q，LAAMANEN J. Cryopreservation of *in vitro*-grown shoot tips of raspberry by encapsulation-vitrification and encapsulation-dehydration[J]. Plant Cell Reports，2005，24(5)：280-288.

[3] KANAYAMA Y. Sugar metabolism and fruit development in the Rosaceae[J]. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science，2017，86(1)：1-11.

[4] LI M J，LI P M，MA F W，et al. Sugar metabolism and accumulation in the fruit of transgenic apple trees with decreased sorbitol synthesis[J]. Horticulture Research，2018，5：60

[5] JIA Y，WONG D C J，SWEETMAN C，et al. New insights into the evolutionary history of plant sorbitol dehydrogenase[J]. BMC Plant Biology，2015，15：101.

[6] WU T，WANG Y，ZHENG Y，et al. Suppressing sorbitol synthesis substantially alters the global expression profile of stress response genes in apple（*Malus domestica*）leaves[J]. Plant & Cell Physiology，2015，56(9)：1748-1761.

[7] WANG Z，STUTTE G W. The role of carbohydrates in active osmotic adjustment in apple under water stress[J]. Journal of the American Society for Horticultural Science，1992，117(5)：816-823.

[8] ZHOU R，CHENG L L，DANDEKAR A M. Down-regulation of sorbitol dehydrogenase and up-regulation of sucrose synthase in shoot tips of the transgenic apple trees with decreased sorbitol synthesis[J]. Journal of Experimental Botany，2006，57(14)：3647-3657.

[9] YAMADA K，OURA Y，MORI H，et al. Cloning of NAD-dependent sorbitol dehydrogenase from apple fruit and gene expression[J]. Plant and Cell Physiology，1998，39(12)：1375-1379.

[10] FANG T，CAI Y M，YANG Q R，et al. Analysis of sorbitol content variation in wild and cultivated apples[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture，2020，100(1)：139-144.

[11] DAI M S，SHI Z B，XU C J. Genome-wide analysis of sorbitol dehydrogenase（SDH）genes and their differential expression in two sand pear（*Pyrus pyrifolia*）fruits[J]. International Jour-

nal of Molecular Sciences,2015,16(6):13065-13083.

[12] YAMADA, NIWA, SHIRATAKE, et al. cDNA cloning of NAD-dependent sorbitol dehydrogenase from peach fruit and its expression during fruit development[J]. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology,2001,76(5):581-587.

[13] LI J, WANG Y Q, CHEN D, et al. The variation of NAD^+-SDH gene in mutant white-fleshed loquat[J]. Journal of Integrative Agriculture,2016,15(8):1744-1750.

[14] WANG Z Y,MA B Q,YANG N X,et al. Variation in the promoter of the sorbitol dehydrogenase gene *MdSDH2* affects binding of the transcription factor $MdABI_3$ and alters fructose content in apple fruit[J]. The Plant Journal, 2022, 109(5): 1183-1198.

[15] JIA X M,XU S,WANG F,et al. Sorbitol mediates age-dependent changes in apple plant growth strategy through gibberellin signaling[J]. Horticulture Research,2024,11(8):192.

[16] 梁东,吴钐,王素芳,等. 苹果山梨醇脱氢酶基因家族的克隆及表达分析[J]. 中国农业科学,2012,45(1):102-110.
LIANG D,WU S,WANG S F,et al. Cloning and expression of the sorbitol dehydrogenase gene family in apple[J]. Scientia Agricultura Sinica,2012,45(1):102-110.

[17] 梁东. 苹果山梨醇代谢相关基因的分子特性研究[D]. 陕西杨凌:西北农林科技大学,2010.
LIANG D. Molecular characteristics of genes involved in sorbitol metabolism in apple[D]. Yangling,Shaanxi: Northwest A&F University,2010.

[18] 王朱莉,金喜丽阁,李文胜,等. 干旱胁迫对4个苹果砧木资源幼苗生理特性的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2025,53(11):120-132.
WANG Z L, JIN Xilige, LI W S, et al. Effects of drought stress on physiological characteristics of four apple rootstock seedlings[J]. Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition),2025,53(11):120-132.

[19] JANICK J. The apple in history, mythology, and religion[J]. HortScience,2006,41(1): 8-11.

[20] MUNNS, R, TESTER M. Mechanisms of salinity tolerance [J]. Annual Review of Plant Biology,2008,59:651-681.

[21] CELTON J M, GAILLARD S, BRUNEAU M, et al. Widespread anti-sense transcription in apple is correlated with siRNA production and indicates a large potential for transcriptional or post-transcriptional control[J]. New Phytologist,2014, 203(1):287-299.

[22] 王萍,卢世雄,梁国平,等. 苹果Trihelix转录因子家族生物信息学鉴定与基因表达分析[J]. 园艺学报,2019, 46(11): 2082-2098.
WANG P,LU S X,LIANG G P,et al. Bioinformatics identification and expression analysis of trihelix transcription factor family in apple[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2019, 46(11): 2082-2098.

[23] TODAKA, D, et al. Rice phytochrome-interacting factor-like protein OsPIL1 functions as a key regulator of internode elongation and induces a morphological response to drought stress [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2015, 112(20):6395-6400.

[24] HOOG J O, BRANDT. Mammalian sorbitol dehydrogenase: structure and function [J]. Chemico-Biological Interactions, 1995,96(1):1-14.

[25] 管清美. 苹果NAD-山梨醇脱氢酶(NAD-SDH)基因cDNA片段的克隆及其反义表达载体的构建[D]. 陕西杨凌:西北农林科技大学,2005.
GUAN Q M. Cloning of NAD-sorbitol dehydrogenase (NAD-SDH) cDNA fragment from *Malus pumila* NAD-construction of its antisense expression vector[D]. Yangling,Shaanxi:Northwest A&F University,2005.

[26] 赵平娟,林晨俞,王梦月,等. 木薯SDH蛋白的序列分析及其与MeH1.2关系的研究[J]. 生物技术通报,2024,40(9): 74-81.
ZHAO P J,LIN C Y,WANG M Y,et al. Sequence analysis of MeSDH protein and its relationship with MeH1.2 in cassava [J]. Biotechnology Bulletin,2024,40(9):74-81.

[27] SHI X P,REN J J,YU Q,et al. Overexpression of SDH confers tolerance to salt and osmotic stress, but decreases ABA sensitivity in Arabidopsis [J]. Plant Biology, 2018, 20(2): 327-337.

(责任编辑:李小平)