



陈艺豪,房永雨,范菠菠,张学峰,赵彦,闫秀秀,吴婧,翟永青,于卓,马艳红. 蒙古冰草 *XTH* 基因生物信息学及干旱胁迫下表达分析[J]. 中国农业大学学报, 2025,30(01):55-64.

CHEN Yihao, FANG Yongyu, FAN Bobo, ZHANG Xuefeng, ZHAO Yan, YAN Xiuxiu, WU Jing, ZHAI Yongqing, YU Zhuo, MA Yanhong. Bioinformatics and expression analysis of *XTH* gene in *Agropyron mongolicum* Keng under drought stress[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2025,30(01):55-64.

DOI: 10.11841/j.issn.1007-4333.2025.01.05

蒙古冰草 *XTH* 基因生物信息学及干旱胁迫下表达分析

陈艺豪¹ 房永雨² 范菠菠¹ 张学峰¹ 赵彦³ 闫秀秀¹ 吴婧¹ 翟永青¹
于卓¹ 马艳红^{1*}

(1. 内蒙古农业大学 农学院, 呼和浩特 010019;

2. 内蒙古自治区农牧业科学院 草原研究所, 呼和浩特 010031;

3. 内蒙古农业大学 草原与资源环境学院, 呼和浩特 010018)

摘要 为筛选出蒙古冰草(*Agropyron mongolicum* Keng)抗旱相关的 *XTH* 基因, 利用生物信息学方法对其理化性质、亚细胞定位、保守基序、进化关系及二、三级结构进行分析, 并对4个抗旱相关的 *XTH* 基因进行表达分析。结果表明: 筛选得到的7个蒙古冰草 *XTH* 基因, 蛋白大小位于70~357 aa, 分子质量为7.67~39.46 ku, 理论等电点(PI)在4.67~9.81, 均为亲水性蛋白; 亚细胞定位表明 *AmXTH-1* 定位在细胞壁和细胞质, 其余6个定位于细胞壁。 *XTH* 基因的二、三级结构以无规则卷曲为主, 推测 motif1、motif2 和 motif3 为保守基序。进化关系比对发现 *AmXTH30*、*AmXTH28-1*、*AmXTH-1* 和 *AmXTH8-1* 与已知具有抗旱功能的基因具有较高相似性。qRT-PCR分析表明, 4个与蒙古冰草抗旱相关的 *XTH* 基因均呈下调表达。推测蒙古冰草中差异表达的4个 *XTH* 基因在响应干旱胁迫中起负调控作用。

关键词 蒙古冰草; *XTH*; 生物信息学分析; 基因表达

中图分类号 S543.9

文章编号 1007-4333(2025)01-0055-10

文献标志码 A

Bioinformatics and expression analysis of *XTH* gene in *Agropyron mongolicum* Keng under drought stress

CHEN Yihao¹, FANG Yongyu², FAN Bobo¹, ZHANG Xuefeng¹, ZHAO Yan³, YAN Xiuxiu¹,
WU Jing¹, ZHAI Yongqing¹, YU Zhuo¹, MA Yanhong^{1*}

(1. College of Agriculture, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010019, China;

2. Institute of Grassland, Inner Mongolia Academy of Agricultural & Animal Husbandry Sciences, Hohhot 010031, China;

3. College of Grassland, Resources Environment, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, China)

Abstract To screen the *XTH* genes related to drought resistance in *Agropyron mongolicum* Keng, the physical and chemical properties, subcellular localization, conserved motif, evolutionary relationship and secondary and tertiary structures were analyzed by bioinformatics methods, and the expression of four *XTH* genes related to drought resistance was monitored. The results showed that: The seven *XTH* genes of *A. mongolicum* were hydrophilic proteins with molecular weight of 7.67 to 39.46 ku, the theoretical isoelectric point (PI) of 4.67 to 9.81, and protein size of 70 to 357 aa. Subcellular localization analysed showed that *AmXTH-1* was located in the cell wall and cytoplasm, and the rest 6 genes were located in the cell wall. The

收稿日期: 2024-01-02

基金项目: 国家自然科学基金项目(32360338)

第一作者: 陈艺豪(ORCID:0009-0004-6945-5051), 硕士研究生, E-mail: 1763418421@qq.com

通讯作者: 马艳红(ORCID:0000-0002-0581-4404), 教授, 主要从事作物遗传育种研究, E-mail: mayanhong80@126.com

secondary and tertiary structures of the *XTH* gene were mainly random coils, and motif1, motif2 and motif3 were speculated to be conserved motifs. Phylogenetic analysis showed that *AmXTH30*, *AmXTH28-1*, *AmXTH-1* and *AmXTH8-1* had high similarity with known genes with drought resistance. The qRT-PCR analysis showed that the four *XTH* genes related to drought resistance of *A. mongolicum* were down-regulated. It is speculated that the four differentially expressed *XTH* genes in *A. mongolicum* play a negative regulatory role in response to drought stress.

Keywords *Agropyron mongolicum* Keng; xyloglucan endotransglycosylase/hydrolase; bioinformatics; gene expression

干旱是危害植物正常生长发育、导致作物减产的非生物胁迫因素之一^[1]。在植物生长发育过程中,干旱会影响其体内的水分平衡,干扰正常生长,改变其生理和形态的特征,从而导致植物萎谢、死亡^[2]。研究发现,干旱胁迫下植物的叶面积呈现降低的趋势,影响植物的光合作用和蒸腾作用,进而影响植物的生长发育。除此之外,干旱胁迫还会影响根、茎和叶的生长,甚至根际的土壤环境^[3]。因此提高农业用水效率,从分子层面对一些抗逆基因进行鉴定和功能研究,从而筛选更多抗旱品种,对于减轻干旱对植物带来的严重危害具有重要意义。

木葡聚糖内转糖苷酶/水解酶(Xyloglucan endotransglycosylase/hydrolase, XTH)为细胞壁重构过程中的一种关键酶^[4],是由多基因家族编码的一类蛋白,具有催化木葡聚糖内糖基转移酶(XET)和木葡聚糖水解酶(XEH)的双重功能,是糖苷水解酶GH16家族成员之一。依照蛋白质功能和氨基酸序列的不同,可以将XTH蛋白分为I、II和III三大类,第III类又可分为IIIA和IIIB两类。其中,I、II类同时具有XET和XEH这2种活性,第III类只有木葡聚糖水解酶活性。研究表明,XTH主要作用于初生细胞壁,通过调节其弹性、延展性进而在植物逆境响应的过程中发挥作用^[5]。沈红艳^[6]通过对黑麦草*LpXTH8*基因以及二穗短柄草中的同源基因*BdXTH27*在干旱处理下进行定量分析,发现*LpXTH8*和*BdXTH27*基因可能在植株应对干旱胁迫中起到一定的作用。Cho等^[7]对辣椒*XTH*基因的研究中也发现,干旱能够使辣椒*CaXTH1*、*CaXTH2*和*CaXTH3*基因的表达量上调,并且在辣椒和拟南芥中过量表达*CaXTH3*基因能够显著提高转基因植株对干旱的抵抗能力。

蒙古冰草(*Agropyron mongolicum* Keng)原名沙芦草,是禾本科小麦族冰草属多年生草本植物,对干旱、寒冷及风沙具有很强的抵抗能力,春季返

青早,蒙古冰草是干旱草原和荒漠地带的重要牧草^[8]。然而目前蒙古冰草中*XTH*基因抗旱功能研究尚未见有报道。本研究拟通过生物信息学及qRT-PCR方法,对蒙古冰草*XTH*基因进行筛选及表达分析,以期为蒙古冰草优良抗旱功能基因的挖掘和利用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料及干旱胁迫处理

本试验材料为蒙古冰草(*A. mongolicum* Keng),种子采自于内蒙古农业大学萨拉齐牧草繁殖基地。挑选颗粒饱满的种子于室内培养箱水培生长,温度为24℃、光周期为16h。在三叶一心时期用含25% PEG-6000的1/5 Hoagland's营养液模拟干旱处理,同时设置对照组(CK);之后在干旱1d(d_1)、3d(d_3)、5d(d_5)、7d(d_7)及复水1d(f_1)取样,每个处理3次重复^[9],用于后续qRT-PCR试验。

1.2 蒙古冰草*XTH*基因鉴定、序列比对及进化关系分析

从蒙古冰草转录组测序数据(登录号为PRJNA742257)组装的41 793个Unigenes中^[10],根据功能注释初步筛选出22个*XTH*基因,用NCBI中的ORFfinder(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder>)将核苷酸序列翻译成氨基酸序列,使用NCBI中的CDD(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/cdd/>)进行分析,筛选出具有保守结构域的氨基酸序列。

利用在线分析软件ExPASy中的ProtParam(<https://web.expasy.org/protparam/>)^[11]对筛选出的蒙古冰草*XTH*基因的氨基酸数目、相对分子质量、理论等电点(PI)、脂肪指数和亲疏水性等理化性质进行分析,用Cell-PLOC2.0(<http://www.csbio.sjtu.edu.cn/bioinf/Cell-PLoc-2/>)^[12]对蒙古冰草*XTH*基因进行亚细胞定位预测。

用在线分析软件 The MEME Suite 中的 MEME (<https://meme-suite.org/meme/tools/meme>)^[13]对筛选出来的蒙古冰草 *XTH* 基因的保守基序进行分析。通过 NCBI(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)数据库,筛选出具有抗旱功能的 1 条大麦(*Hordeum vulgare*)^[31]、1 条玉米(*Zea mays*)^[16]、1 条小麦(*Triticum aestivum*)^[17]、1 条辣椒(*Capsicum annuum* L.)^[7]、5 条水稻(*Oryza sativa* subsp. *japonica*)^[18]、3 条谷子(*Setaria italica*)^[19]的 *XTH* 核酸序列。使用 DNAMAN 软件对 7 个蒙古冰草 *XTH* 基因编码的氨基酸序列与 12 个已知的具有抗旱功能的 *XTH* 基因的氨基酸序列进行多序列比对,并与 PEG 渗透胁迫下蒙古冰草的 4 个差异表达 *XTH* 基因的氨基酸序列用 MEGA11.0^[14]的 muscle 进行多序列比对,用相邻连接法(Neighbor-joining)构建系统进化树。设置参数 Bootstrap 为 1 000,其他参数均设为默认。用 EvolView(<https://evolgenius.info/evolview-v2/#mytrees/1/2>)^[15]将进化树进行美化。

1.3 蒙古冰草抗旱相关的 *XTH* 编码蛋白的二、三级结构预测

利用 SOPMA([https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-](https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=npsa_sopma.html)

[bin/npsa_automat.pl?page=npsa_sopma.html](https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=npsa_sopma.html))对蒙古冰草抗旱相关的 4 个 *XTH* 基因二级结构预测分析,并用 SWISS-MODEL(<https://swissmodel.expasy.org/>)在线软件的同源建模法对其三级结构进行预测分析。

1.4 蒙古冰草抗旱相关的 *XTH* 基因表达分析

用 SnapGene 3.2.1 对筛选出的蒙古冰草 *XTH* 基因设计特异性引物,以 U6 作为内参基因,并委托生工(Sangon,上海)合成,引物序列见表 1。用 FastQuant RT Kit(with gDNase)试剂盒(KR106)将蒙古冰草处理组及对照组的 Total RNA 反转录为 cDNA,用 MonAmp SYBR Green qPCR Mix 试剂盒(MQ10201S)进行 qRT-PCR 试验,每个处理 3 个生物学重复和 4 次技术重复。反应体系为 MonAmp SYBR Green qPCR Mix 试剂 10 μ L, cDNA 模板 1.2 μ L,上下游引物(0.2 μ mol/L)各 0.4 μ L, Nuclease-Free water 8 μ L。反应程序为预变性 95 $^{\circ}$ C 30 s,变性 95 $^{\circ}$ C 10 s,退火温度在 55~57 $^{\circ}$ C,反应时间为 10 s,延伸 72 $^{\circ}$ C 30 s,循环数为 40。采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法^[25]计算基因的相对表达量,并通过 SPSS 26.0 软件进行表达量差异显著分析。

表 1 蒙古冰草抗旱相关 *XTH* 基因 qRT-PCR 引物序列

Table 1 The sequence of qRT-PCR primers of drought resistance-related *XTH* gene of *Agropyron mongolicum* Keng

引物名称 Primer name	引物序列(5'-3') Primer sequence(5'-3')
U6-F	GGACATCCGATAAAATTGGAACGATACAG
U6-R	AATTTGGACCATTCTCTCGATTTATGCGTGT
<i>AmXTH28-1-F</i>	ACTTCCACCGCTACGCCATC
<i>AmXTH28-1-R</i>	CCATCGCCTCGCTCCTCAC
<i>AmXTH30-F</i>	ACCATCTGCCTCCACCTGAAC
<i>AmXTH30-R</i>	CATCCGCCAGCTCCACCTC
<i>AmXTH-1-F</i>	CACCGTCACCGCCTTCTACC
<i>AmXTH-1-R</i>	GCTGCCCCGTCCTGTTCC
<i>AmXTH8-1-F</i>	CAGGCACAGGTGGAGGGAAG
<i>AmXTH8-1-R</i>	ACACAGGAAGCAGCAGAGGAG

2 结果与分析

2.1 蒙古冰草 *XTH* 基因鉴定及序列

从蒙古冰草转录组测序数据组装的 41 793 个 Unigenes 中,筛选出 22 个 *XTH* 基因,通过 CDD (Conserved domains)保守结构域预测分析,获得 7

个具有 *XTH* 完整结构域的基因。7 个蒙古冰草的 *XTH* 基因编码氨基酸数目位于 70~357 aa,相对分子质量为 7.67~39.46 ku。理论等电点为 4.67~9.81,有 5 个 *XTH* 基因理论等电点<7,呈酸性;仅有 2 个 *XTH* 基因理论等电点>7,呈碱性(表 2)。脂肪指数最小为 42.00,最大值为 64.73;*XTH* 基因总

平均亲水性全部 <0 ,表现为亲水性。对7个蒙古冰草 *XTH* 基因进行亚细胞定位分析,发现有6个 *XTH* 基因定位在细胞壁中,只有 *AmXTH-1* 定位在细胞壁和细胞质中(表2)。

表2 蒙古冰草*XTH*基因理化性质及亚细胞定位
Table 2 Physicochemical properties and subcellular localization of *XTH* gene in *A. mongolicum* Keng

基因名称 Gene name	基因 ID Gene ID	氨基酸数目 Number of aminoacids	相对分子质量 Molecular weight	理论等电点 Isoelectric point	脂肪指数 Aliphaticindex	总平均亲水性 Total average hydrophilicity	亚细胞定位 Subcellular localization
<i>AmXTH-1</i>	DN9701_c0_g1	294	33 568.63	6.71	64.73	−0.509	细胞壁、细胞质
<i>AmXTH30</i>	DN15003_c0_g1	357	39 460.13	5.71	59.13	−0.353	细胞壁
<i>AmXTH28-1</i>	DN15003_c0_g3	315	34 928.23	8.56	63.30	−0.399	细胞壁
<i>AmXTH22-2</i>	DN19442_c0_g2	70	7 675.79	9.81	42.00	−0.584	细胞壁
<i>AmXTH8-1</i>	DN28536_c0_g1	282	30 908.11	4.67	60.18	−0.363	细胞壁
<i>AmXTH8-5</i>	DN25273_c0_g1	282	31 698.52	5.97	64.04	−0.441	细胞壁
<i>AmXTH22-3</i>	DN26971_c0_g2	298	32 687.50	5.13	60.97	−0.270	细胞壁

对蒙古冰草*XTH*基因保守基序分析发现3种motif(图1),且不同的*XTH*基因的motif数量和种类有所差异。*AmXTH-1*、*AmXTH22-3*、*AmXTH8-1*和*AmXTH8-5*同时含有motif1、motif2和motif3,*AmXTH22-2*仅含有motif3。motif1、motif2和motif3同时出现的次数最多,推测motif1、motif2和motif3是蒙古冰草*XTH*基因的特征保守基序(图2)。此外,*AmXTH30*和*AmXTH28-1*均含有motif1和motif2。

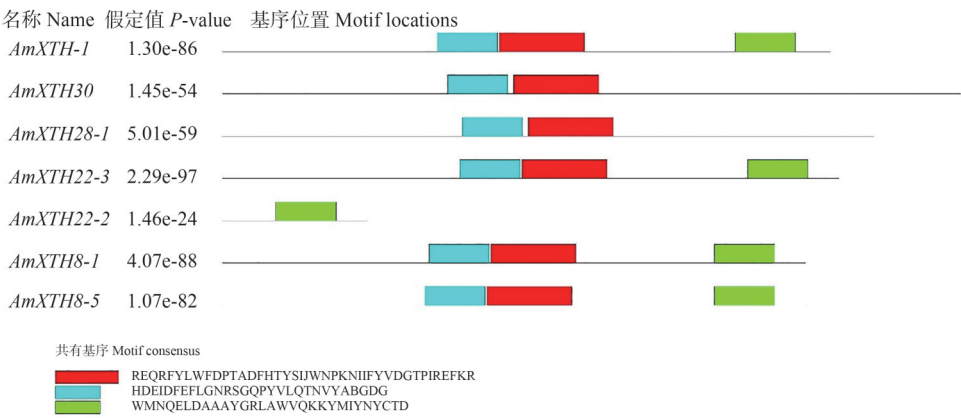


图1 蒙古冰草*XTH*基因基序分析
Fig. 1 Analysis of *XTH* gene motif in *A. mongolicum* Keng

通过DNAMAN软件进行多序列比对(图3)。7个蒙古冰草*XTH*基因编码的氨基酸序列与12个已知的具有抗旱功能的*XTH*基因的氨基酸序列的相似度为38.21%。将7个蒙古冰草*XTH*基因分别与已知具有抗旱功能的*XTH*基因比对发现,与小麦*HvXTH1*基因的氨基酸序列相似度最高,为42.40%;与水稻*OsXTH28*基因的氨基酸序列相似度最低,为28.21%。7个蒙古冰草均具有DEIDFEFLG保守基

序,该基序被认为是*XTH*的典型结构和活性中心。
2.2 蒙古冰草抗旱相关的*XTH*基因进化关系分析
在PEG渗透胁迫下,转录组测序结果表明*AmXTH30*、*AmXTH28-1*、*AmXTH-1*和*AmXTH8-1*这4个蒙古冰草的*XTH*基因是差异表达基因,因此将这4个基因与*AtXTH10*、*TaXTH-7A*和*OsXTH8*等12个具有抗旱功能的*XTH*基因进行进化关系分析(图4)。结果将*XTH*分为5个亚族,其中第Ⅲ亚族和第Ⅴ亚族不

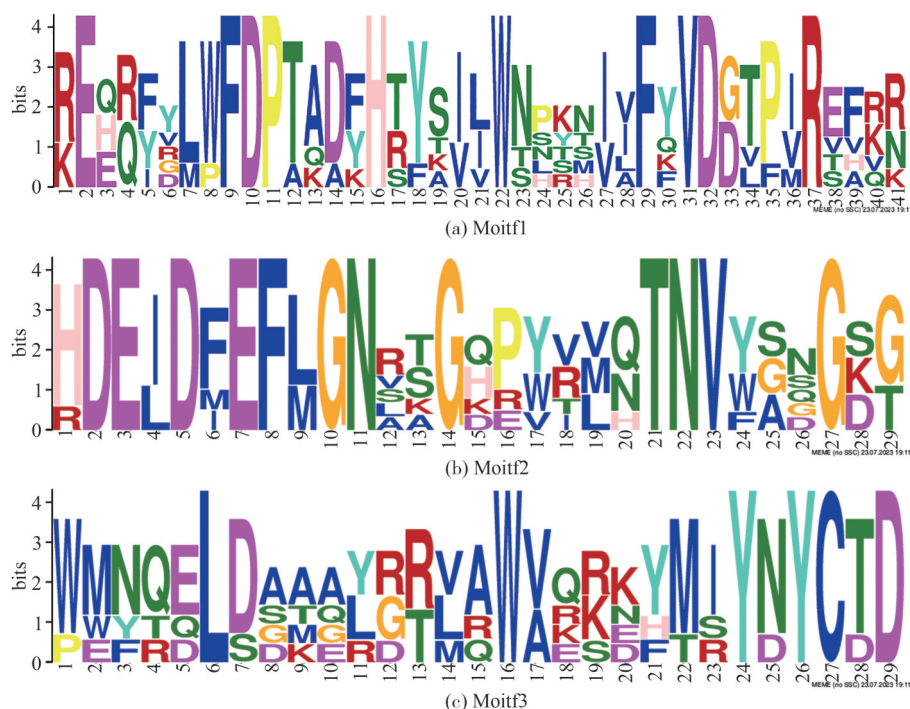
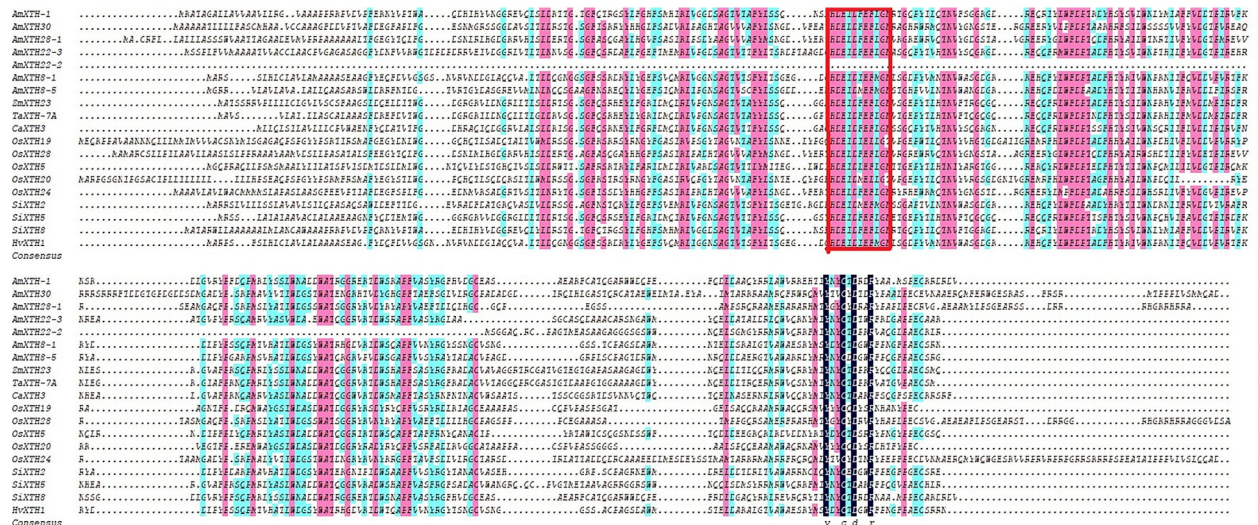


图2 蒙古冰草 *XTH* 基因的保守基序

Fig. 2 The conserved motifs of *XTH* gene in *A. mongolicum* Keng



红色文本框标注为活性中心。

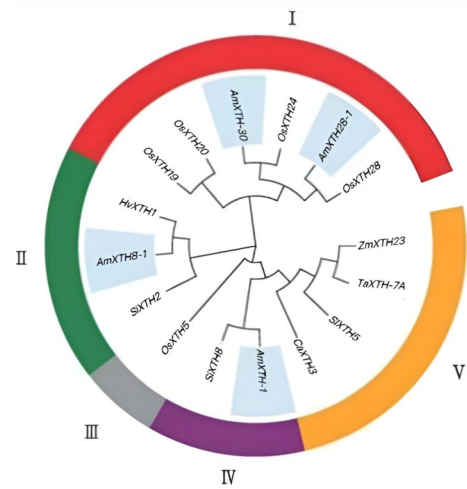
The red text box is marked as the active center.

图3 蒙古冰草 *XTH* 基因的氨基酸序列比对

Fig. 3 Alignment of amino acid sequences of *XTH* gene in *A. mongolicum* Keng

含有本研究筛选的4个差异表达的蒙古冰草*XTH*基因。第II、IV亚族各有1个蒙古冰草*XTH*基因,分别为*AmXTH8-1*和*AmXTH-1*。*AmXTH28-1*和*AmXTH30*划分在第I亚族,其中*AmXTH28-1*与*OsXTH28*聚为一个分支,*AmXTH30*与*OsXTH24*聚

为一个分支。*AmXTH-1* 被划分在第Ⅳ亚族, 与 *SiXTH8* 聚为一个分支。*AmXTH8-1* 划分在第Ⅱ亚族, 与 *HvXTH1* 聚为一个分支。因此推测蒙古冰草 *AmXTH30*、*AmXTH28-1*、*AmXTH-1* 和 *AmXTH8-1* 可能参与干旱胁迫响应。



I~V分别表示蒙古冰草XTH家族的5个亚族。Zm:玉米;Ca:辣椒;Hv:大麦;Ta:小麦;Os:水稻;Si:谷子。蓝色阴影表示蒙古冰草。
I-V indicate the 5 different groups of XTH family. Zm: *Zea mays*; Ca: *Capsicum annuum*; Hv: *Hordeum vulgare*; Ta: *Triticum aestivum*; Os: *Oryza sativa subsp. Japonica*; Si: *Setaria italica*. The blue shade indicates *A. mongolicum* Keng.

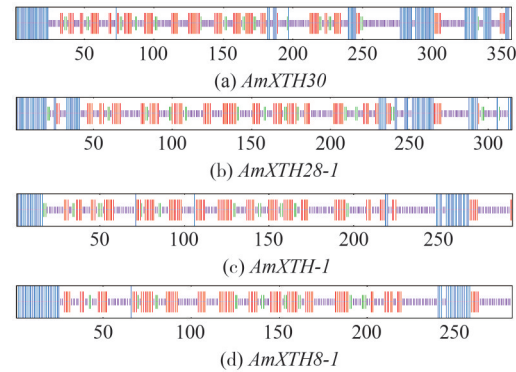
图4 蒙古冰草XTH基因家族进化关系分析

Fig. 4 Phylogenetic analysis of XTH geng in *A. mongolicum* Keng

2.3 蒙古冰草抗旱相关的XTH编码蛋白的二、三级结构

对蒙古冰草 *AmXTH30*、*AmXTH28-1*、*AmXTH-1* 和 *AmXTH8-1* 编码蛋白的二级结构进行预测(图5),主要以无规则卷曲为主,分别占

44.26%、42.86%、48.64% 和 46.10%;其次是 α -螺旋,分别占22.13%、20.63%、13.27% 和 15.60%;延伸链分别占26.61%、27.94%、31.29% 和 31.91%; β -转角别占7.00%、8.57%、6.80% 和 6.38%。



蓝色, α -螺旋;紫色,无规则卷曲;红色,延伸链;绿色, β -转角。
Blue, α -helix;Purple:randomcoil;Red,extended strand;Green, β -turn.

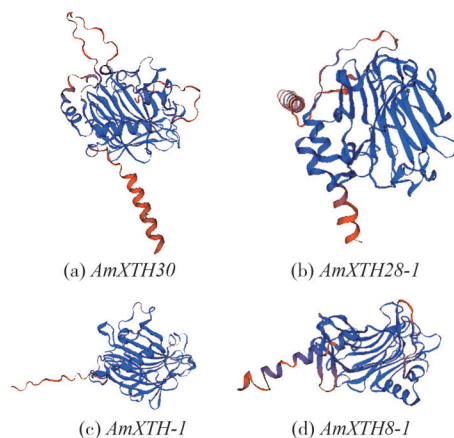
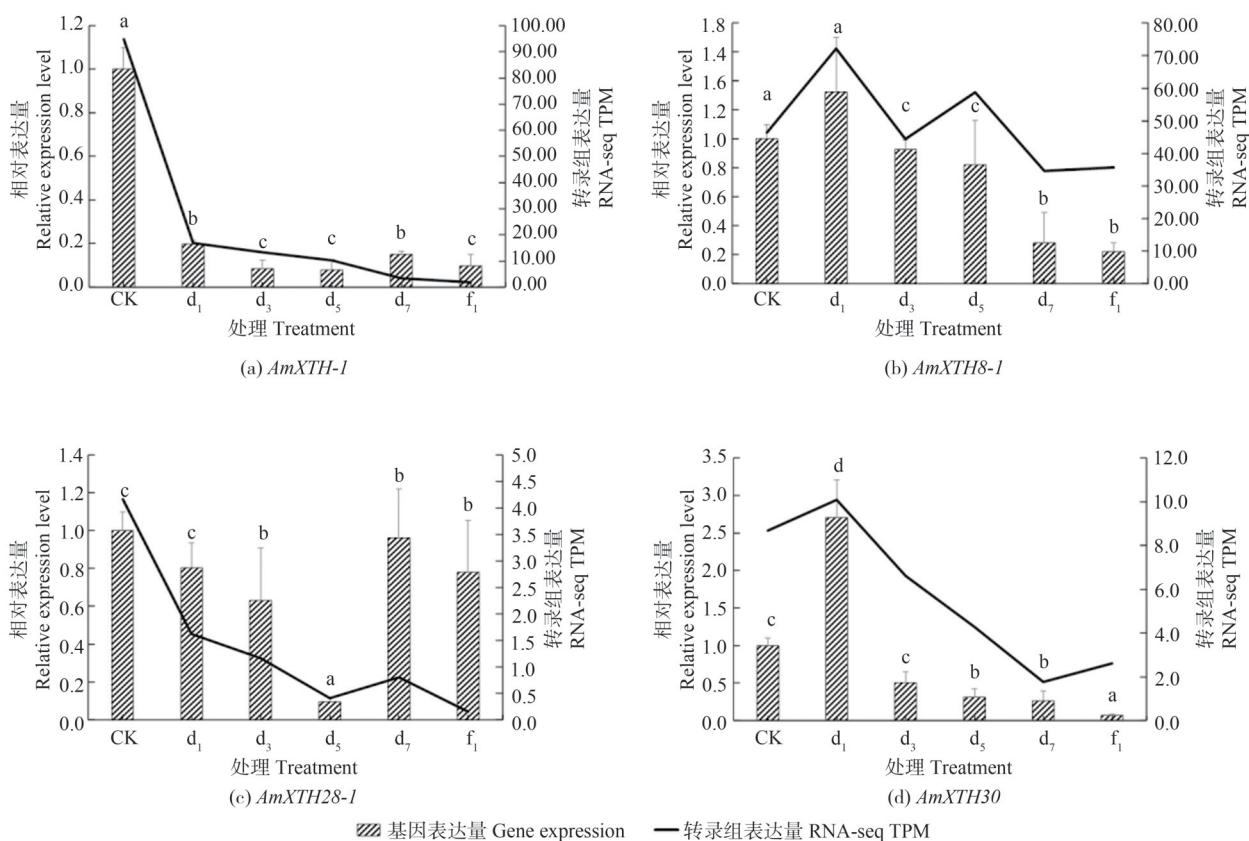
图5 蒙古冰草XTH编码蛋白的二级结构

Fig. 5 Secondary structure of XTH encoding protein in *A. mongolicum* Keng

根据 SWISS-MODEL 的同源建模法对 *AmXTH30*、*AmXTH28-1*、*AmXTH-1* 和 *AmXTH8-1* 编码蛋白的三级结构建模(图6)。4个XTH基因聚合状态均为单体,其三级结构都具有无规则卷曲、 α -螺旋和 β -转角的空间结构,与二级结构预测相吻合,都能够不同程度的匹配到木葡聚糖内转糖苷酶/水解酶。

2.4 蒙古冰草抗旱相关XTH基因的表达分析

对筛选出的与抗旱相关的4个蒙古冰草XTH基因进行qRT-PCR分析(图7)。PEG渗透胁迫下, *AmXTH8-1* 和 *AmXTH30* 基因在PEG渗透胁迫d₁时期呈现上调表达,其余时期均呈现下调表达; *AmXTH-1* 呈现下调表达; *AmXTH-1*、*AmXTH8-1* 和 *AmXTH30* 基因均在f₁时期表达量最低,

图 6 蒙古冰草 *XTH* 编码蛋白的三级结构Fig. 6 Tertiary structure of *XTH* encoding protein in *A. mongolicum* KengCK 为对照组; d_1 、 d_3 、 d_5 、 d_7 和 f_1 分别代表模拟干旱处理 1、3、5、7 d 及复水处理 1 d。CK in the figure represents control group. d_1 , d_3 , d_5 , d_7 and f_1 represent simulated drought treatment for 1, 3, 5, 7 days and rehydration treatment for 1 day, respectively.图 7 25% PEG-6000 干旱胁迫下蒙古冰草抗旱相关 *XTH* 基因的相对表达量Fig. 7 Relative expression of drought resistance *XTH* genes in *A. mongolicum* Keng under 25% PEG-6000 osmotic stress

AmXTH28-1 在渗透胁迫 d_5 时期表达量最低。在 0.05 水平上, *AmXTH-1* 干旱处理各时期相对表达量与 CK 均存在显著性差异, *AmXTH8-1* 和

AmXTH28-1 在干旱处理 d_3 、 d_5 、 d_7 、 f_1 时期相对表达量与 CK 均存在显著性差异, *AmXTH30* 在干旱处理 d_1 、 d_5 、 d_7 、 f_1 时相对表达量与 CK 存在显著性差异。

4个蒙古冰草 *XTH* 基因的 qRT-PCR 趋势与转录组数据趋势大致相同。通过 qRT-PCR 分析,蒙古冰草差异表达的 4 个 *XTH* 基因呈现下调表达,说明蒙古冰草 *XTH* 基因参与蒙古冰草对干旱胁迫的响应。

3 讨论

本研究从蒙古冰草转录组测序得到的 Unigenes 数据中筛选获得 22 条与抗旱相关的 *XTH* 基因,其中 7 个 *XTH* 基因具有完整的结构域。生物信息学分析发现 7 个蒙古冰草 *XTH* 基因均属于亲水性,与甜菜 (*Beta Vulgaris* L.)^[22]、人参 (*Panax ginseng* C. A. Mey.)^[23]、苹果 (*Malus pumila*)^[24] 等对 *XTH* 基因亲疏水性的研究结果一致。亚细胞定位发现蒙古冰草 *XTH* 基因主要定位在细胞壁中,只有 1 个定位在细胞壁和细胞质中,说明大部分 *XTH* 基因在细胞壁中发挥作用,少数在细胞质中行使功能,这与柿子 (*Diospyros kaki*) *DkXTH6*^[26]、桃 (*Prunus persica* L.) *PpXTH33*^[21]、荷花 (*Nelumbo nucifera*) *NnXTH6*^[27] 等基因的亚细胞定位结构一致。将 7 个蒙古冰草 *XTH* 基因的氨基酸序列与已知具有抗旱功能的 *XTH* 基因的氨基酸序列进行比对发现,其 N 端具有糖基化位点 NXT/S 和典型的木葡聚糖内糖基转移酶 XET 催化活性的基序 (DEIDFEFLG),C 端具有可以形成二硫键且有利于 *XTH* 蛋白结构稳定的高度保守的半胱氨酸位点等典型的 XET 特征结构。

XTH 基因在植物生长发育和抵御外界胁迫发挥着不同的作用。蒙古冰草 *XTH* 基因和已知具有抗旱功能的 *XTH* 基因进行系统进化关系分析,谷子 *SiXTH8*、*SiXTH5* 和 *SiXTH2* 等基因的启动子区域分析中,绝大部分基因在启动子区含有与响应逆境胁迫有关的顺式作用元件^[28]。ABRE (ABA-responsive element) 及光响应元件在植物受非生物逆境胁迫的过程中发挥一定作用^[29]。ABRE 对 ABA 响应诱导大量特异蛋白产生一系列的植物内调节作用;MeJA 是植物响应病虫害及机械伤害的元件,同时参与调节作物的生长和发育^[30]。将 *HvXTH1* 基因转入到西藏野生大麦耐旱基因型 XZ5 中,经过不同浓度的 PEG 模拟干旱处理不同时间后,发现 *HvXTH1* 对不同浓度不同处理时间的 PEG 响应不同,5% PEG-6000 干旱处理的表达量变化更为剧烈。水稻 *OsXTH24* 和 *OsXTH28* 基因

的表达量随着干旱胁迫的发展而显著下调。这些被证明与干旱胁迫响应相关的 *XTH* 基因均与蒙古冰草 *XTH* 基因有较高的同源性,进而推测蒙古冰草的 *AmXTH30*、*AmXTH28-1*、*AmXTH-1* 和 *AmXTH8-1* 基因也具有相似功能,可能参与干旱胁迫。

元香梅等^[19]通过 qRT-PCR 分析结果表明,谷子 *SiXTH9* 基因在谷子的抗旱品种中相对表达量显著下调;付曼曼^[31]对大麦 *HvXTH* 家族成员干旱响应情况分析发现 *HvXTH17*、*HvXTH18*、*HvXTH19*、*HvXTH20*、*HvXTH21* 和 *HvXTH23* 均为下调表达。本研究中,PEG 渗透胁迫下 qRT-PCR 分析表明 *AmXTH30*、*AmXTH28-1*、*AmXTH-1* 和 *AmXTH8-1* 均呈现下调表达,与前人研究一致。这些基因如何参与干旱胁迫响应有待进一步试验验证。

4 结论

本研究基于蒙古冰草转录组测序数据筛选出 7 个具有完整结构域的 *XTH* 基因,通过对其保守基序、进化关系及表达分析,获得 4 个可能具有抗旱功能的蒙古冰草 *XTH* 基因,其二、三级结构主要以无规则卷曲为主。对差异表达的 4 个 *XTH* 基因进行 qRT-PCR 分析,表明 4 个 *XTH* 基因均呈下调表达,推测蒙古冰草中差异表达的 4 个 *XTH* 基因在响应干旱胁迫中起负调控作用。

参考文献 References

- [1] 曲涛,南志标.作物和牧草对干旱胁迫的响应及机理研究进展[J].草业学报,2008,17(2):126-135
Qu T, Nan Z B. Research progress on responses and mechanisms of crop and grass under drought stress[J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2008, 17 (2): 126-135 (in Chinese)
- [2] Vurukonda S S K P, Vardharajula S, Shrivastava M, SkZ A. Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria[J]. *Microbiological Research*, 2016, 184: 13-24
- [3] 马福林,马玉花.干旱胁迫对植物的影响及植物的响应机制[J].宁夏大学学报:自然科学版,2022,43(4):391-399
Ma F L, Ma Y H. Effect of drought stress on plants and their response mechanism[J]. *Journal of Ningxia University: Natural Science Edition*, 2022, 43(4):391-399 (in Chinese)
- [4] 黄春丽,宋静,李全权,郭庆东,田秋菊,高居荣,王洪刚,封德顺.小偃麦系附加系 *TaXTH* 基因的克隆与生物信息学分析[J].山东农业科学,2015,47(7):1-6
Huang C L, Song J, Li Q Q, Guo Q D, Tian Q J, Gao J R, Wang H G, Feng D S. Cloning and bioinformatics analysis of *TaXTH* from wheat-

- Thinopyrum alien addition line [J]. *Shandong Agricultural Sciences*, 2015, 47(7):1-6 (in Chinese)
- [5] 杜丽萍, 沈昕, 陈少良, 胡赞民. 细胞壁重构关键酶木葡聚糖内转糖苷酶/水解酶(XTH)的研究进展[J]. 农业生物技术学报, 2010, 18(3):604-609
- Du L P, Shen X, Chen S L, Hu Z M. Research advances on a key cell wall remodeling enzyme xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase (XTH)[J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2010, 18(3): 604-609 (in Chinese)
- [6] 沈红艳. 干旱对黑麦草和二穗短柄草生理变化的影响及 *BdXTH27* 基因的功能分析[D]. 泰安: 山东农业大学, 2020
- Shen H Y. Effects of drought stress on physiological changes of ryegrass and brachypodium distachyon and functional analysis of *BdXTH27* gene [D]. Tainan: Shandong Agricultural University, 2020 (in Chinese)
- [7] Cho S K, Kim E J, APark J, Eom J T, Kim T W. Constitutive expression of abiotic stress-inducible hot pepper *CaXTH3*, which encodes a xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase homolog, improves drought and salt tolerance in transgenic *Arabidopsis* plants [J]. *FEBS Letters*, 2006, 580(13):3136-3144
- [8] 云锦凤, 米福贵. 干旱地区一种优良禾草: 蒙古冰草[J]. 内蒙古草业, 1990, 2(2): 70-71, 25
- Yun J F, Mi F G. *Agropyron mongolicum*, an excellent grass in arid areas [J]. *Inner Mongolia Prataculture*, 1990, 2(2): 70-71, 25 (in Chinese)
- [9] 闫秀秀, 范菠菠, 张学峰, 于卓, 房永雨, 吴婧, 赵彦, 马艳红. 蒙古冰草 GDSL 酯酶/脂肪酶基因的序列及表达分析[J]. 中国农业大学学报, 2023, 28(4): 41-56
- Yan X X, Fan B B, Zhang X F, Yu Z, Fang Y Y, Wu J, Zhao Y, Ma Y H. Sequence and expression analysis of GDSL esterase/lipase gene in *Agropyron mongolicum* [J]. *Journal of China Agricultural University*, 2023, 28(4): 41-56 (in Chinese)
- [10] Fan B B, Sun F C, Yu Z, Zhang X F, Yu X X, Wu J, Yan X X, Zhao Y, Nie L Z, Fang Y Y, Ma Y H. Integrated analysis of small RNAs, transcriptome and degradome sequencing reveal the drought stress network in *Agropyron mongolicum* Keng[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2022, 13: 976684
- [11] Gasteiger E, Hoogland C, Gattiker A, Duvaud S, Wilkins M R, Appel R D, Bairoch A. Protein identification and analysis tools on the ExPASy server[M]. In: Totowa N J, eds. *The Proteomics Protocols Handbook*. Hatfield: Humana Press, 2005:571-607
- [12] Chou K C, Shen H B. Cell-PLoc: A package of Web servers for predicting subcellular localization of proteins in various organisms [J]. *Nature Protocols*, 2008, 3(2): 153-162
- [13] Bailey T L, Johnson J, Grant C E, Noble W S. The MEME suite [J]. *Nucleic Acids Research*, 2015, 43(W1): W39-W49
- [14] Kumar S, Stecher G, Tamura K. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2016, 33(7): 1870-1874
- [15] He Z L, Zhang H K, Gao S H, Lercher M J, Chen W H, Hu S N. Evolview v2: An online visualization and management tool for customized and annotated phylogenetic trees [J]. *Nucleic Acids Research*, 2016, 44 (W1): W236-W241
- [16] 陈东滨, 王茜茜, 孙智仪, 杨小英, 傅经效, 郭新梅, 宋希云. 玉米 *ZmXTH23* 的克隆、表达及其对盐胁迫和干旱胁迫的响应[J]. 农业生物技术学报, 2019, 27(9): 1533-1541
- Chen D B, Wang Q Q, Sun Z Y, Yang X Y, Fu J X, Guo X M, Song X Y. Cloning and expression of *ZmXTH23* in maize (*Zea mays*) and its response to salt and drought stress [J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2019, 27(9): 1533-1541 (in Chinese)
- [17] 周琪, 冯燕茹, 李嵩, 刘子辉, 郑炜君, 柴守诚. 小麦 TaXTH-7A 基因的克隆及抗旱性鉴定[J]. 农业生物技术学报, 2019, 27(9): 1521-1532
- Zhou Q, Feng Y R, Li S, Liu Z H, Zheng W J, Chai S C. Cloning and drought resistance identification of TaXTH-7A gene in wheat (*Triticum aestivum*) [J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2019, 27(9): 1521-1532 (in Chinese)
- [18] He H, Serraj R, Yang Q. Changes in OsXTH gene expression, ABA content, and peduncle elongation in rice subjected to drought at the reproductive stage [J]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2009, 31(4): 749-756
- [19] 元香梅, 禾璐, 张凯烨, 武雪, 马芳芳, 王军, 韩渊怀. 谷子 XTH 基因家族与抗旱相关基因的分析[J]. 山西农业大学学报: 自然科学版, 2017, 37(1): 1-6
- Yuan X M, He L, Zhang K Y, Wu X, Ma F F, Wang J, Han Y H. Analysis of XTH genes that related to drought stress in foxtail millet [J]. *Journal of Shanxi Agricultural University: Natural Science Edition*, 2017, 37(1): 1-6 (in Chinese)
- [20] 赵运军, 李来庚. 植物细胞壁松弛因子[J]. 植物生理学报, 2011, 47(10): 925-935
- Zhao Y J, Li L G. Plant cell wall loosening factors [J]. *Plant Physiology Journal*, 2011, 47(10):925-935 (in Chinese)
- [21] 郭绍雷, 许建兰, 王晓俊, 宿子文, 张斌斌, 马瑞娟, 俞明亮. 桃 XTH 家族基因鉴定及其在桃果实贮藏过程中的表达特性[J]. 中国农业科学, 2022, 55(23):4702-4716
- Guo S L, Xu J L, Wang X J, Su Z W, Zhang B B, Ma R J, Yu M L. Genome-wide identification and expression analysis of XTH gene family in peach fruit during storage [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2022, 55(23):4702-4716 (in Chinese)
- [22] 马怀龙. 甜菜木葡聚糖内转糖苷酶基因 *BvXTH1* 的克隆及功能分析[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2018
- Ma H L. Cloning and functional analysis of Xyloglucan Endotransglucosylase gene *BvXTH1* from sugar beets (*Beta Vulgaris* L) [D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2018 (in Chinese)
- [23] 江俊峰. 人参 XTH 家族基因生物信息学分析及两个 *PgXTH* 基因的功能分析[D]. 长春: 吉林大学, 2022
- Jiang J F. Bioinformatics analysis of ginseng XTH family genes and function analysis of two *PgXTH* genes [D]. Changchun: Jilin University, 2022 (in Chinese)
- [24] 李婷, 吴成成, 李保华, 练森, 梁文星, 王彩霞. 苹果木葡聚糖酶抑制蛋白基因的克隆与表达分析[J]. 植物生理学报, 2018, 54(7):1245-1252
- Li T, Wu C C, Li B H, Lian S, Liang W X, Wang C X. Molecular cloning and expression analysis of XEGIP in *Malus pumila* [J]. *Plant Physiology Journal*, 2018, 54(7):1245-1252 (in Chinese)
- [25] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{-ΔΔC_T} Method [J]. *Methods*, 2001, 25(4): 402-408
- [26] Han Y, Ban Q Y, Hou Y L, Meng K, Suo J T, Rao J P. Isolation and characterization of two persimmon xyloglucan endotransglycosylase/hydrolase (XTH) genes that have divergent functions in cell wall modification and fruit postharvest softening [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2016, 7:624-624
- [27] 翟允汝, 王婉茹, 倪梦辉, 贺丹, 刘红利, 张曼, 孔德政, 刘艺平. 荷花 *NnXTH6* 基因克隆、亚细胞定位及表达分析[J]. 河南农业大学学报, 2022, 56(4):599-610

- Zhai Y R, Wang W R, Ni M H, He D, Liu H L, Zhang M, Kong D Z, Liu Y P. Cloning, subcellular localization and expression analysis of *NnXTH6* gene from lotus (*Nelumbo nucifera*) [J]. *Journal of Henan Agricultural University*, 2022, 56(4): 599-610 (in Chinese)
- [28] 郑晓瑜, 郭晋艳, 张毅, 李秋莉. 植物非生物胁迫诱导启动子顺式作用元件的研究方法[J]. *植物生理学报*, 2011, 47(2): 129-135
- Zheng X Y, Guo J Y, Zhang Y, Li Q L. Research methods of cis-acting elements in plant abiotic stress inducible promoters[J]. *Plant Physiology Journal*, 2011, 47(2): 129-135 (in Chinese)
- [29] 牛祖彪, 李娜, 惠文荣, 宋静, 黄春丽, 高居荣, 王洪刚, 封德顺. 小偃麦异附加系TaTGA4转录因子基因的克隆与生物信息学分析[J]. *分子植物育种*, 2015, 13(1): 91-97
- Niu Z B, Li N, Hui W R, Song J, Huang C L, Gao J R, Wang H G, Feng D S. Cloning and sequence analysis of transcription factor gene TaTGA4 from wheat-*Thinopyrum* alien addition line [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2015, 13(1): 91-97 (in Chinese)
- [30] 周明琦, 吴丽华, 沈忱, 林娟. ABA、MeJA 和 SA 诱导下的芥菜 CBF 途径冷响应相关基因表达调控研究[J]. *中国农业科技导报*, 2010, 12(6): 75-80
- Zhou M Q, Wu L H, Shen C, Lin J. Regulation of cold-responsive genes in CBF signaling pathway from *Capsella bursa* induced by ABA, MeJA and SA [J]. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 2010, 12(6): 75-80 (in Chinese)
- [31] 付曼曼. 西藏野生大麦耐旱相关基因 *HvXTH1* 的克隆与功能鉴定[D]. 杭州: 浙江大学, 2019
- Fu M M. Cloning and functional characterization of *HvXTH1* in drought tolerance in Tibetan wild barley [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2019 (in Chinese)

责任编辑: 董金波



第一作者简介: 陈艺豪, 硕士研究生, 毕业于内蒙古农业大学农学院农艺与种业专业。参与国家自然科学基金项目、内蒙古自治区草原英才创新团队等课题。2023—2024年获校一等奖学金。



通讯作者简介: 马艳红, 内蒙古农业大学农学院教授, 作物学一级学科作物遗传育种二级学科博士研究生导师。研究领域: 作物抗逆、品质性状调控机制及新品种选育。先后获内蒙古自治区科技进步一等奖、内蒙古自治区农牧业丰收一等奖、内蒙古自治区教学成果二等奖等, 获内蒙古自治区“草原英才”创新团队带头人、“321”人才、内蒙古自治区优秀指导教师等称号。先后主持多项国家自然科学基金、内蒙古自治区科学杰出青年基金等各类科研项目, 参加育成作物品种8个; 以通讯作者或第一作者在 *Frontiers in Plant Science*、*Plant Direct*、*Agronomy*、*Grassland Science*、《西北植物学报》、《麦类作物学报》、《草地学报》、《分子植物育种》、《基因组学与应用生物学》等国内外专业期刊发表研究论文30余篇, 参编专著3部。