DOI:10.13925/j.cnki.gsxb.20240533

中国沙棘ACBPs基因家族成员鉴定 及响应铅胁迫的表达分析

陈科1,2,李昕娟1,张恬1,任乾丹1,孙 菁2,周 武1*

(¹青海大学生态环境工程学院,西宁 810016; ²中国科学院西北高原生物研究所•青海省青藏高原 特色生物资源研究重点实验室•中国科学院藏药研究重点实验室,西宁 810008)

摘要:【目的】ACBPs(acyl-CoA-binding proteins)基因家族在植物的正常生长和发育、响应非生物胁迫以及生物膜修复 等方面具有重要作用。旨在探究中国沙棘ACBPs基因家族成员在重金属铅胁迫下的基因表达量,为初步解析中国沙棘 响应重金属铅胁迫的分子机制及利用基因工程手段培育重金属铅低积累性的新品种提供研究基础和分子靶标。【方 法】通过生物信息学方法对中国沙棘ACBPs基因家族成员进行鉴定,并对其家族成员进行理化性质分析、多序列比对 和系统进化分析、亚细胞定位和染色体定位分析、基因结构和Motif序列分析、顺式作用元件分析、蛋白互作网络和蛋 白三维结构预测分析、物种内与物种间基因共线性分析以及对基因表达模式进行转录组分析和qRT-PCR验证。【结 果】在中国沙棘全基因组中共鉴定出8个ACBPs基因,不均匀分布于7条染色体上。ACBPs家族成员可细分为4个组, 同一组内的成员基因结构保守且蛋白基序差异较小。共线性分析表明,中国沙棘ACBPs基因家族与拟南芥ACBPs基 因家族之间存在9条共线性,与翅果油树ACBPs基因家族之间存在17条共线性。转录组分析和qRT-PCR验证表明,中 国沙棘ACBPs基因家族中大部分基因在铅浓度(w,后同)为1000 mg·kg⁻¹时,表达量急剧下降;在铅浓度为5000 mg·kg⁻¹ 时,表达量显著上升。【结论】在中国沙棘基因组中鉴定到8个ACBPs基因家族成员的启动子区域含有多种顺式作用元件, 能够响应植物激素的调控、影响分生组织的基因活性,以及响应胁迫应激。基因家族大部分成员在铅胁迫条件下的表 达具有相似性,该基因家族通过调整基因的表达量响应不同浓度的重金属铅胁迫,从而减轻铅胁迫带来的伤害。 关键词:中国沙棘;生物信息学;ACBPs基因家族;铅胁迫

中图分类号:S793.6 文献标志码:A 文章编号:1009-9980(2025)03-0526-17

Identification and expression analysis of *ACBPs* family members of *Hippophae rhamnoides* subsp. *sinensis* Rousi in response to lead stress

CHEN Ke^{1,2}, LI Xinjuan¹, ZHANG Tian¹, REN Qiandan¹, SUN Jing², ZHOU Wu^{1*}

(¹College of Eco-Environmental Engineering, Qinghai University, Xining 810016, Qinghai, China; ²Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences/Qinghai Provincial Key Laboratory of Qinghai-Tibet Plateau Biological Resources/CAS Key Laboratory of Tibetan Medicine Research, Xining 810008, Qinghai, China)

Abstract: [Objective] *Hippophae rhamnoides* subsp. *sinensis* Rousi is a plant of substantial economic value and ecological significance, attracting sustained research interest. The *ACBPs* gene family is integral to plant biology, playing a critical role in normal plant growth and development. This gene family is deeply involved in cellular material and energy metabolism and plays a vital role in plants' adaptation to abiotic stress and biomembrane repair, particularly in response to heavy metal stress. Information on the *ACBPs* gene family in *H. rhamnoides* remains scarce. This study aims to accurately and comprehensively identify the members of the *ACBPs* gene family in *H. rhamnoides* using bioinformatics tools, and to investigate the expression of these genes under heavy metal (lead) stress through molecular

作者简介:陈科,男,在读硕士研究生,研究方向为中药资源学。E-mail:1474026887@gg.com

收稿日期:2024-10-21 接受日期:2024-12-12

基金项目:国家自然科学基金项目(32160386);青海省青藏高原特色生物资源研究重点实验室开放课题(2024-KF-04)

^{*}通信作者 Author for correspondence. E-mail: zhouwu870624@qhu.edu.cn

biology approaches. [Methods] In this study, the ACBPs gene family in H. rhamnoides subsp. sinensis Rousi was identified using the hidden Markov model (PF00887) and the HMMER search script. Physicochemical properties and subcellular localization were analyzed via the ExPASy and WoLF PSORT websites. Multiple sequence alignment and gene structure analyses were conducted using MEGA software and the GSDS website. Phylogenetic and motif analyses were performed using the TBtools Fast-Tree plugin and the MEME website. Chromosome localization and cis-acting element analyses were conducted using Mapchart software and the PlantCARE website. Intra- and interspecific gene collinearity analyses were conducted via the TBtools Advanced Circos and One Step MCScanX plugins. Proteinprotein interaction networks and three-dimensional structure prediction analyses were conducted using the STRING database and the SWISS-MODEL website. Additionally, expression profiles of ACBPs gene were visualized using heatmaps based on FPKM values from RNA-Seq data, and relative gene expression levels were validated through aRT-PCR experiments. [Results] A comprehensive search of the H. rhamnoides subsp. sinensis Rousi proteome identified eight ACBPs genes, named HrLACBPs1 - Hr-LACBPs8. Physicochemical analysis revealed that most translated protein sequences were rich in acidic amino acids, with only one being basic, and most of the proteins were localized in the nucleus. Multiple sequence alignments identified two main motifs, YKQA and KWDAW, responsible for acyl-CoA binding. Chromosomal mapping indicated that HrLACBPs4 and HrLACBPs5 were on chromosome 4, while the other six genes were on chromosomes 1, 2, 3, 5, 11, and 12. Phylogenetic analysis with the ACBPs gene families of Arabidopsis, Elaeagnus mollis Diels and Helianthus annuus divided the HrLACBPs family into three groups: Groups 1 with three members, Group 2 with one member, and Group 3 and 4 each with two members. Gene structure and motif analysis showed conserved gene structures and minimal motif differences within each group, with Group 3 containing the most exons and motif sequences. Cis-acting element analysis, focusing on hormone regulation, meristem expression, and stress response elements, revealed that the promoters of HrLACBPs members generally contained three or more of these elements. Collinearity analysis demonstrated no collinearity between HrLACBPs4 and the other seven genes, but HrLACBPs2, HrLACBPs3, and HrLACBPs5 exhibited mutual collinearity on chromosomes 2, 3, and 4. Nine collinearities were identified between the H. rhamnoides ACBPs gene family and the Arabidopsis ACBPs gene family, and seventeen with the Elaeagnus mollis Diels ACBPs gene family. Protein interaction network analysis suggested that HrLACBPs1 in H. rhamnoides may functionally resemble ACBP6 in Arabidopsis. Protein 3D structure predictions revealed that Group 3 proteins were the most complex with high model similarity; Group 1 proteins were simpler but also similar; Group 4 proteins showed low similarity and large differences. Transcriptome analysis and qRT-PCR validation indicated that, except for HrLACBPs1, the other genes had lower expression levels at 2000 mg kg⁻¹ lead compared to controls, while their expression increased at 5000 mg \cdot kg⁻¹ lead. [Conclusion] In H. rhamnoides subsp. sinensis Rousi, eight ACBPs were identified, with Group 1 and 3 members exhibiting conserved patterns in gene structure, motif sequences, and three-dimensional protein structures. Group 3 contained the most exons, increasing the likelihood of alternative splicing and enhancing functional diversity. The gene family's promoter regions contain various cis-acting elements responsive to plant hormones, meristematic activity, and stress stimuli, suggesting that HrLACBPs have multiple biological functions. Protein interaction network analysis highlighted AtACBP6, from the Arabidopsis ACBP family, as a core protein that enhances plant cold tolerance when overexpressed under cold stress. Low-temperature stress response elements were also identified in *HrLACBPs1*, suggesting its role in enhancing plant cold tolerance. Transcriptome analysis and qRT-PCR validation showed that

most *ACBPs* genes in *H. rhamnoides* were significantly downregulated at 1000 mg \cdot kg⁻¹ lead, with upregulation occurring at 5000 mg \cdot kg⁻¹. This may occur because low lead concentrations cause less oxidative stress, allowing plants to enhance antioxidant defenses by upregulating gene expression to mitigate lead damage. *HrLACBPs1* expression, localized in the endoplasmic reticulum, decreased at 500 mg \cdot kg⁻¹ lead compared to controls, then gradually increased at 2000 and 5000 mg \cdot kg⁻¹. Expression of the genes in the endoplasmic reticulum may reduce to alleviate protein synthesis burden at low lead stress and may increase to address protein damage and accumulation at higher stress levels. These findings provide a solid theoretical basis for further research on *H. rhamnoides's* response to heavy metal lead stress.

Key words: *Hippophae rhamnoides* subsp. *sinensis* Rousi; Bioinformatics; *ACBPs* gene family; Lead stress

中国沙棘(Hippophae rhamnoides subsp. sinensis Rousi),是胡颓子科沙棘属的一种落叶性灌木或小 乔木,适应能力强,广泛生长于中国华北、西北、西南 等地^[1]。中国沙棘是一种具有重要经济和生态价值 的植物,果实富含多种生物活性物质,如不饱和脂肪 酸、维生素C等,对人类健康具有颇多益处^[2]。中国 沙棘是一种重金属富集型的植物,能够吸收并累积 土壤中的铅等重金属,这种特性使沙棘果实及其加 工产品中重金属含量超出了安全标准,尤其是在浓 缩果汁和其衍生产品中,这种超标情况更为显著^[3]。 因此,研究中国沙棘对铅胁迫的响应机制,对中国沙 棘产业的可持续发展和人类健康具有重要意义。

随着工业高速发展,环境问题日益突出,尤其是 土壤中的铅污染问题。铅在土壤中溶解度低,受多 种因素影响,迁移能力弱,导致土壤污染加剧⁽⁴⁾。铅 对植物生长有显著的负面影响,高浓度铅会抑制植 物种子中的生长分子,影响生根和发芽,导致植物衰 败或死亡^[5]。铅污染还影响植物的光合作用、水分 代谢和矿物质吸收^[6]。铅污染通过食物链影响人体 健康,过量摄入铅会影响儿童智力发育,损害阅读和 协调能力^[7],导致胃肠问题,如食欲不振和便秘。铅 的摄入还可能引起肾组织变性和肾功能改变^[8],增 加肾衰竭风险。此外,铅对神经系统有直接毒性作 用,可能引发铅性脑病^[9]。

植物对铅的吸收主要有两个重要途径,第一,植 物叶片的吸收和吸附;第二,植物根系吸收和转运。 植物叶片具有吸收大气中重金属气溶胶的能力^[10],由 于铅在土壤中的流动性较差,且主要以非可交换态存 在^[11],因此,在大气铅浓度较高的地区,植物通过叶片 的吸附和吸收作用积累铅的可能性,要远大于通过根 系吸收后再向地上部分转移的可能性。铅从大气环 境中向植物叶片内部的转移过程与叶片的表面形态 和内部结构密切相关^[12]。植物叶片表皮上的角质层 小孔、气孔以及排水孔道是大气中铅颗粒进入叶片的 关键途径,而在这些途径中,气孔的进入效率最高^[13]。

植物根系对铅的吸收可能涉及主动和被动两种 机制。大多数植物根系通过吸收在土壤中以溶解态 的形式存在的铅^[14],铅在植物中的迁移率相对较低, 大部分被植物吸收的铅局限于根部,只有少量的铅被 输送到芽中,这可能是由于内胚层中卡氏带的屏障作 用,以及木质部果胶等会阻碍铅离子的运输[15]。铅一 旦被植物根系表面吸附,就有可能通过质外体途径和 共质体途径两种主要的细胞间运输途径,进入根的内 部。质外体途径涉及细胞壁和细胞间隙,是一个非 细胞质的路径。在质外体途径中,铅可能与细胞壁 的多糖(如纤维素、半纤维素和果胶)相互作用,这些 多糖中含有可以与铅离子形成络合物的官能团。质 外体途径允许铅在细胞间隙中相对快速地移动,但最 终可能需要跨越质膜进入共质体途径以进行长距离 运输10;共质体途径涉及细胞质和质膜连接的细胞间 连丝。这是一个细胞内的路径,允许分子和离子在细 胞之间直接移动。对于铅而言,共质体途径可能涉及 特定的转运蛋白,这些蛋白可以帮助铅穿过质膜进 入细胞质,然后通过共质体途径在细胞之间转移四。

植物在铅污染的情况下,会发生一系列的生理 生化变化来响应铅胁迫,形成耐受机制。一般来说, 植物对铅的耐受和解毒机制可通过外部屏障作用来 排斥铅的吸收,以及通过内部生理调节来增强对铅 的耐受性^[5]。植物通过根系的细胞壁和角质层形成 物理屏障,这些屏障能够限制铅离子的跨膜运输;当 植物接触到重金属毒性区域时,能够通过抑制其根 系的扩展,有效减少与有毒重金属的接触面积,进而 减轻重金属造成的损害^[18]。细胞壁是铅离子进入植 物细胞的第一道防线,在植物对铅的耐性和解毒过 程中发挥着关键作用。细胞壁中的组分(果胶、纤维 素和木质素等),含有大量的负电基闭,这些负电基 团可通过吸附(通过静电作用吸附带正电的铅离 子)、络合(与铅离子形成络合物)、沉淀(与铅离子反 应生成不溶性的沉淀物)等方式与铅离子发生相互 作用,能够有效抑制其进入植物细胞内,从而降低了 铅对植物细胞的毒性^[3]。除细胞壁外,质膜作为细 胞的外层界限,也为细胞提供了一个物理屏障。质 膜的脂质双分子层对大多数离子和大分子是不可渗 透的,这有助于限制铅离子的进入。同样,质膜表面 带有负电荷(磷酸基团),这些负电荷区域能够吸附 带正电的铅离子,减少了铅离子通过膜的机会。植 物细胞内的液泡含有多种有机酸、蛋白质和生物碱 等成分,这些能够与铅离子形成络合物19,而植物细 胞内部的液泡可以通过液泡膜上的特定转运蛋白, 如HMA(重金属ATP酶)家族蛋白,将铅离子泵入液 泡中,从而降低其对细胞的毒性[20]。

酰基辅酶A结合蛋白(ACBPs)是一类在脂类代 谢过程中起关键作用的蛋白质,这类蛋白含有一个 高度保守的酰基辅酶A结合域(ACB),其在不同物 种间保持功能上的一致性。ACB能够与碳链长度 介于C12至C26之间的酰基辅酶A分子结合,形成 稳定的复合物,这种稳定性对确保脂肪酸代谢过程 中生化反应的顺利进行至关重要[21]。植物 ACBPs 可以在不同的组织中表达,响应非生物和生物胁迫, 并被分类到不同的亚细胞位置[22]。在植物中,根据 ACBPs的结构和功能,可将其分为4个主要类别:分 别是只含有一个 ACB 域的小分子质量的 ACBPs (Small ACBPs);含有N端ACB域和C端ankyrin结 构域的大分子质量 ACBPs(ANK-ACBPs);只含有 一个ACB域的大分子质量ACBPs(Large ACBPs); 含有N端ACB域和C端kelch结构域的大分子质量 ACBPs(Kelch ACBPs)^[23]。

植物中的酰基辅酶A结合蛋白对维持细胞内脂 质代谢的平衡至关重要,该蛋白能够参与调控植物 的生长和发育过程,而且还能够响应多种生物和非 生物胁迫,包括重金属、氧化应激、低温以及病原体 的侵袭等,对植物的正常生长发育与逆境应答具有 重要作用^[24]。拟南芥*ACBPs*基因家族中的*AtACBP1* 和*AtACBP2*能够结合卵磷脂(lecithin)和酰基辅酶脂 类(Acyl-CoA),并参与长链饱和脂肪酸的合成^[25]; *AtACBP1*和*AtACBP2*被铅离子、镉离子、铜离子等重 金属离子胁迫时,表达水平上升,并通过与亚油酰辅 酶A(linoleoyl-CoA)和亚麻酰辅酶A(linolenoyl-CoA)结合,参与到细胞膜的修复过程^[26];过表达 *AtACBP2*可以增强拟南芥的抗旱能力^[27]。此外,在水 稻的研究中发现,在干旱和高盐条件下,*OsACBP4*的 表达量迅速升高;在种子形成的过程中,*OsACBP5*的 表达量显著升高,*OsACBP6*对伤害(如机械损伤或病 理伤害)非常敏感^[28],并且是目前已知唯一定位于过 氧化物酶体的ACBP。过氧化物酶体是β-氧化的唯 一场所,所以此发现意味着*OsACBP6*可能为脂类的 降解运送了底物^[29]。由此可见,*ACBPs*基因家族在帮 助植物应对生物和非生物胁迫中具有重要作用。

中国沙棘是我国及世界的重要经济作物,目前 关于中国沙棘ACBPs基因家族的信息较为缺乏,因 此开展中国沙棘ACBPs基因家族的全基因组鉴定 以及分析其在铅胁迫下的表达模式和功能具有重要 意义。笔者基于中国沙棘的全基因组对中国沙棘 ACBPs基因家族进行鉴定,筛选出8个ACBPs基因 家族成员,并对该基因家族进行生物信息学分析,以 及对不同浓度铅胁迫下的基因表达量进行分析,为 初步解析中国沙棘响应重金属铅胁迫的分子机制, 以及通过基因工程手段培育重金属铅低积累性的新 品种提供研究基础和分子靶标。

1 材料和方法

1.1 中国沙棘 ACBPs 基因家族的鉴定及基本信息

从Pfam数据库下载ACBPs基因结构域的隐马 尔可夫文件(PF00887),从国家基因库核酸序列归 档系统中获取中国沙棘的全基因组、蛋白序列和注 释文件。利用Hmmer search脚本,以e值<0.001为 标准,对中国沙棘的全基因组蛋白序列进行搜索,筛 选获得候选蛋白。随后将候选蛋白序列文件提交至 SMART数据库和Pfam数据库,进行进一步的保守结 构域比对确认,并根据结果对中国沙棘该家族的8个 成员进行命名,分别为HrLACBPs1~HrLACBPs8。 利用 ExPASy 网站和 WoLF PSORT 网站,分析中国 沙棘 ACBPs 家族蛋白的蛋白长度、相对分子质量、 理论等电点,以及预测该家族成员的亚细胞定位。

1.2 中国沙棘 ACBPs 基因家族的多序列比对和基因结构分析

利用 MEGA 7.0 软件的 ClustalW 功能,对下载的中国沙棘蛋白序列进行多序列比对,将对比的结

果导入GeneDoc软件分析保守结构域,并对结果进行美化。将鉴定出的8个中国沙棘ACBPs基因家族成员的序列,以及该家族成员基因进化树的nwk文件,上传至基因结构展示服务器(GSDS)进行可视化分析,得到中国沙棘ACBPs基因家族的基因结构和进化树的组合图。

1.3 中国沙棘 *ACBPs* 基因家族系统发育及 Motif 分析

从JGI数据库下载拟南芥、向日葵的ACBPs蛋 白序列文件,从Figshare数据库中下载翅果油树 (Elaeagnus mollis Diels)的全基因组、蛋白序列和注 释文件,并通过ACBPs 基因结构域的隐马尔可夫文 件(PF00887),筛选得出10个翅果油树ACBPs蛋 白。将中国沙棘、拟南芥、翅果油树、向日葵4种植 物的ACBPs 基因家族成员的蛋白质序列放到同一 个文件中,导入到MEGA 11.0软件中进行 ClustalW 比对、参数默认,比对完成之后剪切差异太大的序 列。利用 MEFA 软件的 Neighbor-Joining(邻接法) 构建多物种系统发育树。将系统发育树的nwk文件 提交 Evolview 网站进行可视化分析与美化处理。利 用MEGA网站,设置搜索参数为10,对该家族的蛋白 保守基序(motif)进行预测,并将预测结果文件与该 家族成员基因进化树的 nwk 文件上传到 TB tools 软 件,得到蛋白保守基序与系统发育树的组合图。

1.4 中国沙棘 ACBPs 基因染色体定位、顺式作用 元件分析

利用 Perl 脚本从中国沙棘基因组的 Gff 注释文件中提取 ACBPs 基因家族染色体的位置信息,通过

Mapchart软件可视化,并在Adobe Illustrator中进行 美化处理。从中国沙棘ACBPs基因家族中提取转 录起始位点前2000个碱基对的DNA序列,作为启 动子区域,利用PlantCare网站,分析该家族启动子 区域的顺式作用元件。

1.5 中国沙棘 ACBPs 基因共线性、蛋白质互作网络 分析

使用TBtools中的相关插件分析中国沙棘ACB-Ps基因家族的染色体长度信息、基因关联信息以及 基因在染色体上的位置,再利用Advanced Circos插 件进行绘图,得到中国沙棘ACBPs基因家族物种内 的共线性,并根据拟南芥和翅果油树的基因组文件 和Gff注释文件进行分析,得到中国沙棘与拟南芥、 翅果油树ACBPs基因家族物种间的共线性。通过 String数据库确定中国沙棘ACBPs基因家族与拟南 芥中相应基因之间的蛋白互作关系。获得互作关系 后,利用Cytospace软件对蛋白互作网络进行可视化 处理,得到蛋白互作网络。

1.6 中国沙棘 ACBPs 蛋白三维结构预测

采取同源建模(homology modeling)的方法对 蛋白质的三维结构进行预测,相似的氨基酸序列对 应着相似的蛋白质结构,利用在线工具 SWISS-MODEL,找到与目标序列同源的已知结构作为模板 (目标序列与模板序列的一致度至少要达到30%), 选定好蛋白质模型下载 PDB 文件,然后提交至 SAVES 网站进行测评(提供5个软件的评估结果),其 中有3个显示通过即表示预测结果可信度较高。进 行上述生物信息学分析的在线工具网址如表1所示。

表1	用于中国沙棘 ACBPs 基因家族生物信息学分析的工具
----	-----------------------------

在线工具Online tools	网址 Website
国家基因库核酸序列归档系统 CNSA	https://ftp.cngb.org/pub/CNSA/data2/CNP0001846/CNS0383685/CNA0022752/
JGI	https://phytozome-next.jgi.doe.gov/
Pfam	https://www.ebi.ac.uk/interpro/
ExPASy	http://web.expasy.org/protparam/
WoLF PSORT	https://wolfpsort.hgc.jp/
GSDS	http://gsds.gaolab.org/
Evolview	https://evolgenius.info//evolviewv2/#login
MEGA	https://meme-suite.org/meme/doc/overview.html
PlantCare	https://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/
String	https://cn.string-db.org/
SWISS-MODEL	https://swissmodeexpasy.org/
SAVES	https://saves.mbi.ucla.edu/
Figshare	https://figshare.com/

 Table 1
 Tools used for bioinformatics analysis of the ACBPs gene family in H. rhamnoides subsp. sinensis Rousi

1.7 中国沙棘 ACBPs 基因家族转录组分析和 qRT-PCR 验证

选取生长状况良好的中国沙棘幼苗,并对其进行 不同浓度的硝酸铅胁迫:对照组(不含硝酸铅)、500、 1000、2000、5000 mg·kg⁻¹,胁迫4周。使用 DP452 型 号的 RNA 提取试剂盒(由天根公司提供)提取幼苗 中的总 RNA。将中国沙棘幼苗送至武汉迈特维尔 生物科技有限公司,进行 RNA-Seq测序。根据测序 结果,基于 ACBPs 基因的 FPKM 值(每千个碱基的 转录每百万映射读取的 fragments),使用 TBtools 软 件绘制表达量热图,以展示基因表达的变化。

使用天根 KR118 试剂盒进行反转录得到 cD-NA。针对 HrLACBPs 家族的 8 个基因,通过上海生工生物工程股份有限公司合成特异性引物(表2)。选用微管蛋白(TUBULIN)作为内参基因,采用SYBR Green(FP215,天根)染料进行实时荧光定量PCR(qRT-PCR)分析,试验的反应体系为 20 µL,每个样品进行 3 次重复试验。使用 2^{-AACI}计算中国沙棘ACBPs 基因家族的相对表达量,并使用 GraphPad prism 软件对 qRT-PCR 结果进行可视化。

	表 2 中国沙棘 ACBPs 基因家族 qRT-PCR 引物
Table 2	qRT-PCR primers of the ACBPs gene family in H.rhamnoides subsp. sinensis Rousi

•		•
基因 ID Gene ID	上游引物 Forward primers	下游引物 Reversed primers
Hiprha1gene12790	GCGGCACACGAGGCTGAATC	ACTCTCCACACCTTCCCAGTCATC
Hiprha1gene06859	GAAAGAGAGAGCCAAGTGGGATGC	GCTTCTTCCTGCAACTGTCTCACC
Hiprha1gene20548	ATGGCCTGTACAAGCAAGCTACTG	CAGCCTTCCAAGCATCCCACTTAG
Hiprha1gene15641	GTAGGGTTGTTTCCATGGCTCCAG	ACCCACTTGGCTTCTCAGATTTGC
Hiprha1gene17806	TCAAGCAAGCTACTGTTGGTCCAG	CCTTCCACGCATCCCACTTAACTC
Hiprha1gene07485	CTGTCCGTGGTCAACTAGCATCTG	TTGGAGCTTGTGCCGCAGTTC
Hiprha1gene10649	CTGCTCTCCTTCTCTACGCTTTGC	GGCATTCCAGGCACTCGGTTC
Hiprha1gene01688	AAGTGGCAAGCGTGGCAGAAG	TTTCACAGAGGCACCAGCAATCC
Tubulin	GGAGATGTTCCGCAGAGTTAG	GTGAACTCCATCTCATCCATACC

2 结果与分析

2.1 中国沙棘ACBPs基因家族的鉴定及基本信息

通过生物信息学方法对中国沙棘ACBPs基因 家族进行鉴定,得到8个ACBPs基因家族成员,并对 其编码的蛋白质的理化性质进行分析,结果见表3。 蛋白质的长度范围为71AA(HrLACBPs3)~677AA (HrLACBPs7);蛋白质分子质量为7995.1Da(Hr-LACBPs3)~74498.7Da(HrLACBPs7);其理论等电 点介于4.22(HrLACBPs4)~7.53(HrLACBPs5)之 间,其中碱性氨基酸(pI>7)较少,只有一个(HrLACBPs5),剩余7个均为酸性氨基酸。根据亚细胞 定位预测分析,中国沙棘ACBPs基因家族蛋白质的 分布也呈现多样性。HrLACBPs1定位在内质网, HrLACBPs3定位在细胞质,HrLACBPs4定位在叶 绿体,而其他蛋白质则定位于细胞核。

2.2 中国沙棘 ACBPs 基因家族的多序列比对和系统发育

在先前的研究中,ACBPs基因家族中的两个保 守基序YKQA和KWDAW被认为是结合酰基辅酶 A酯的必要基序。多重序列比对分析表明(图1),8 个ACBPs的氨基酸序列中也发现了这两个保守基

表 3	中国沙棘	ACBPs	蛋白的理化性质、	亚细胞定位
-----	------	--------------	----------	-------

Table 3	Physicochemical	properties and	subcellular	localization	of ACBPs	nroteins in	H. rhan	<i>nnoides</i> subsn.	sinensis	Rousi
Lable S	1 II y sicocitcinicai	properties and	Subcenular	IUCanZation	ULTICDI S	proteins in	11. I IIIII	monues subsp.	Silicitors	TOUS

基因名称 Gene name	基因 ID Gene ID	蛋白质长度 Protein sequence length/AA	分子质量 Molecular weight/Da	理论等电点 Isoelectric point	亚细胞定位 Subcellular localization
HrLACBPs1	Hiprha1gene12790	358	39 890.1	4.50	内质网 Endoplasmic reticulum
HrLACBPs2	Hiprha1gene06859	92	10 461.8	5.23	细胞核 Nucleus
HrLACBPs3	Hiprha1gene20548	71	7 995.1	5.83	细胞质 Cytoplasm
HrLACBPs4	Hiprha1gene15641	322	36 279.7	4.22	叶绿体 Chloroplast
HrLACBPs5	Hiprha1gene17806	90	10 188.5	7.53	细胞核Nucleus
HrLACBPs6	Hiprha1gene07485	670	74 077.9	6.13	细胞核Nucleus
HrLACBPs7	Hiprha1gene10649	677	74 498.7	5.35	细胞核Nucleus
HrLACBPs8	Hiprha1gene01688	334	36 772.3	4.32	细胞核Nucleus



框中部分为 ACBPs 中的两个保守基序。

The parts within the box are two conserved motifs in ACBPs.

图 1 中国沙棘 ACBPs 基因家族蛋白多序列比对

Fig. 1 Multiple sequence alignment of ACBPs gene family proteins in H. rhamnoides subsp. sinensis Rousi

序。

通过构建系统进化树对中国沙棘(8个)、拟南 芥(6个)^[28]、翅果油树(10个)、向日葵(8个)^[30]的 ACBPs蛋白序列进行系统进化分析,结果表明,这 些植物中的ACBPs蛋白可根据系统发育树的分支 情况分为四大类(Group1~Group4)(图2)。在各个 类别中,ACBPs蛋白的成员数量存在差异。Group1 含有3个中国沙棘ACBPs成员,Group3和Group4中都含有2 个中国沙棘ACBPs成员。同时,通过系统树可以发 现翅果油树的 evm.model.LG01.147 单独分为了一 类,通过进一步的理化性质分析,发现该蛋白在翅果 油树的 10个 ACBPs 蛋白中等电点最低,为酸性蛋白 质,猜测该蛋白可能进化出了新的功能,具体功能尚 需进一步研究。

2.3 中国沙棘 ACBPs 基因家族基因结构及 Motif 分析

中国沙棘ACBPs基因家族的基因结构分析表明(图3),中国沙棘8条ACBPs基因均含有外显子结构,其中Group3中所含外显子数量最多,均为18个



各分支的颜色区分了不同的组别。红色三角形标记的是中国沙棘的 ACBPs 家族成员,蓝色五角星代表的是拟南芥的 ACBPs 家族成员,绿 色正方形标记的是向日葵的 ACBPs 家族成员,橙色圆形则表示翅果油树的 ACBPs 家族成员。

The colors of the branches distinguish different groups. The red triangles mark the members of the ACBPs family from *H. rhamnoides* subsp. *sinensis* Rousi, the blue stars represent the members of the ACBPs family from *Arabidopsis thaliana*, the green squares mark the members of the ACBPs family from *Helianthus annuus*, and the orange circles indicate the members of the ACBPs family from *Elaeagnus mollis* Diels.

图 2 中国沙棘、拟南芥、向日葵、翅果油树 ACBPs 蛋白的系统进化分析

Fig. 2 Phylogenetic analysis of ACBPs proteins in *H. rhamnoides* subsp. *sinensis* Rousi, *Arabidopsis thaliana*, *Helianthus annuus* and *Elaeagnus mollis* Diels

外显子;Group2的HrLACBPs4含有外显子数量最少,仅有2个;Group1中成员的外显子数量为3~4个。由此可见,位于同一类别中的HrLACBPs家族成员的外显子数量接近,呈现高度的序列相似性和保守性。

为进一步了解中国沙棘ACBPs 基因家族的特

征,对ACBPs家族蛋白的Motif序列进行分析。分析结果表明(图4),*HrLACBPs*家族编码蛋白的10个Motif序列中,亲缘关系较近的成员之间的Motif序列的位置分布更相似。所有的HrLACBPs成员都存在Motifl,表明Motifl在ACBPs基因家族中具有重要作用。此外,HrLACBPs6和HrLACBPs7缺失了



图 3 中国沙棘 ACBPs 基因家族基因结构分析

Fig. 3 Analysis of the gene structure of the ACBPs gene family in H. rhamnoides subsp. sinensis Rousi





Motif7序列,而在HrLACBPs2和HrLACBPs5均含 有两个Motif7序列,这表明了HrLACBPs家族基因 在功能上也存在一定的差异。

2.4 中国沙棘 ACBPs 基因染色体定位和顺式作用 元件分析

中国沙棘ACBPs基因家族染色体定位结果表明(图5),中国沙棘8个ACBPs基因分布于7条不同的染色体上,其中HrLACBPs5和HrLACBPs4位于4号染色体上,剩余6个基因分别位于1号、2号、3号、5号、11号、12号染色体上。

对中国沙棘ACBPs基因家族顺式作用元件进行分析(图6),重点选取了激素调控、分生组织表达和胁迫应激相关的调控元件。其中激素调控相关的顺式作用元件主要包括4种类型:促进植物响应脱落酸信号的ABRE元件、与水杨酸信号转导相关的TCA-element元件、参与生长素信号转导的TGA-element元件,以及与茉莉酸甲酯信号相关的TGACG-motif元件;植物体内的基因表达调控也涉及到4种特定的顺式作用元件:与低温胁迫反应相关的LTR元件、胁迫响应元件STRE、涉及防御机制和应激反



图 5 中国沙棘 ACBPs 基因家族染色体定位

Fig. 5 Chromosomal localization of the ACBPs gene family in H. rhamnoides subsp. sinensis Rousi



Fig. 6 Analysis of cis-acting elements in the ACBPs gene family of H. rhamnoides subsp. sinensis Rousi

应的TC-rich元件,以及与伤害信号相关的WUNmotif元件;还有一类与分生组织特异性表达密切相 关的顺式作用元件,即CAT-box元件。

笔者所选取的9种顺式作用元件在HrLACBPs 基因家族成员的分布中呈现差异性。具体来说,Hr-LACBPs8含有最多的响应元件,共计10个;而Hr-LACBPs3最少,仅有2个。从响应元件的类型来看, HrLACBPs家族成员普遍包含3种或以上的元件。 由此推测HrLACBPs家族成员可能具有多重生物学 功能。在HrLACBPs1中发现含有与低温胁迫反应 相关的元件(LTR),这表明HrLACBPs1与AtACBP6 类似,也可能参与响应低温胁迫,提高植物对低温的 耐受性^[31]。

2.5 中国沙棘 ACBPs 基因共线性、蛋白质互作网络分析

通过中国沙棘ACBPs基因家族物种内共线性 分析结果表明(图7),在chr1、chr2、chr3、chr4、chr5、 chr11和chr12上各分布有一些具有共线性的ACBPs 基因,分别是定位在chr1和chr12上的HrLACBPs1 和HrLACBPs8;定位在chr5和chr11上的HrLACB- *Ps6*和*HrLACBPs7*以及定位于 chr2、chr3和 chr4上的*HrLACBPs2、HrLACBPs3*和*HrLACBPs5*三个基因互有共线性。*HrLACBPs4*与其他7个基因均没有 共线性。中国沙棘*ACBPs*基因家族共线性分析结 果表明,chr2、chr3和 chr4之间存在较密切的共线性 关系。

进一步构建中国沙棘ACBPs基因家族和拟南芥、翅果油树的共线性分析(图8),结果表明,中国 沙棘ACBPs基因家族与拟南芥ACBPs基因家族之 间存在9条共线性,而与中国沙棘同为胡颓子科的 翅果油树ACBPs基因家族之间存在17条共线性,分 析发现,中国沙棘与翅果油树ACBPs同源基因的数 量要显著多于中国沙棘与拟南芥ACBPs同源基因 的数量,反映了胡颓子科ACBPs基因家族在进化过 程中的保守性和相似性。

基于拟南芥与中国沙棘蛋白的同源性,利用 String数据库,进行HrLACBPs家族蛋白的互作分析。根据Cytoscape中的degree值筛选出核心蛋白, 如图9所示,圆圈内颜色的深浅代表不同互作强度, 颜色深,代表与核心蛋白互作强度大,颜色浅,代表



图 7 中国沙棘 ACBPs 基因家族物种内共线性分析

Fig. 7 Intraspecific collinearity analysis of the ACBPs gene family in H. rhamnoides subsp. sinensis Rousi



Fig. 8 Interspecific collinearity analysis of the *H. rhamnoides* subsp. *sinensis* Rousi *ACBPs* gene family and the *Arabidopsis thaliana, Elaeagnus mollis* Diels *ACBPs* gene family

与核心蛋白互作强度小;圆圈之间的线条表示蛋白 之间存在互作关系。根据结果可以看出,核心蛋白 为拟南芥ACBPs基因家族的ACBP6,而ACBP6在 冷胁迫下的应答中起重要作用,其过表达能够增强 植物的耐冷性。在冷胁迫条件下,ACBP6可能通过 调控与冷胁迫相关的基因表达,参与脂类代谢中卵 磷脂的转运,修复受损的细胞膜,从而提高植物对低 温的耐受性^[32],而中国沙棘ACBPs基因家族中HrLACBPs1也存在低温胁迫的顺式作用元件。这表明中国沙棘的HrLACBPs1可能在低温胁迫响应中起重要作用,与拟南芥ACBPs基因家族的ACBP6在功能上可能存在一定的相似性或相互作用。

2.6 中国沙棘 ACBPs 蛋白三维结构预测

基于同源建模原理,对中国沙棘ACBPs基因家 族进行了蛋白三维结构预测,结果表明(图10), Group3中的蛋白结构最为复杂,且结构模型相似度



图 9 中国沙棘 ACBPs 蛋白基于拟南芥 ACBPs 蛋白的蛋白质互作网络

Fig. 9 Protein-protein interaction network of H. rhamnoides subsp. sinensis Rousi ACBPs based on Arabidopsis ACBPs



图 10 中国沙棘 ACBPs 蛋白三维结构



较高;Group1中的蛋白氨基酸序列较短且结构相对 简单,主要由α螺旋组成,同时伴有一些β转角,这 些蛋白的结构模型也展现出较高的相似性;Group2 的HrLACBPs4,蛋白结构模型也较为简单,相较于 Group1中的蛋白模型,具有更多的α螺旋;Group4 中的蛋白模型相似度较低,HrLACBPs1存在一条长 而弯曲的链状结构。这表明中国沙棘ACBPs基因 家族在进化过程中发生了一定程度的变异和分化, 也暗示*ACBPs*基因在功能上具有一定的多样性。

2.7 中国沙棘ACBPs基因家族转录组分析和qRT-PCR验证

选取生长状况良好的中国沙棘幼苗,并对其进行不同浓度的硝酸铅胁迫,胁迫4周后,将中国沙棘 幼苗送至武汉迈特维尔生物科技有限公司,进行 RNA-Seq测序。中国沙棘ACBPs基因家族测序结果 表明(图11),HrLACBPs家族成员在铅胁迫条件下, 表达量均发生了不同程度的变化。与对照相比,Hr-LACBPs1在低浓度铅胁迫(500~1000 mg·kg⁻¹)时,表 达量下降,但在高浓度铅胁迫(2000~5000 mg·kg⁻¹) 时,表达量上升;HrLACBPs2、HrLACBPs3、Hr-LACBPs5、HrLACBPs6以及HrLACBPs8在铅胁迫浓 度为500~2000 mg·kg⁻¹下的表达量相对升高;HrLACBPs4

随着铅胁迫浓度的升高,表达量呈先升高后下降的 趋势。

qRT-PCR的验证结果(图12)与转录组表达分析的结果基本一致。除了HrLACBPs1外,其他基因在与同基因其他样本的对比中,在铅胁迫浓度为2000 mg·kg⁻¹下的表达量均较低,甚至HrLACBPs2和HrLACBPs3在Pb2000浓度时几乎不表达;而Hr-LACBPs家族基因在铅胁迫浓度为5000 mg·kg⁻¹时相对表达量均会升高。通过分析可以推测中国沙棘面





临重金属铅胁迫时,HrLACBPs基因家族的成员有不同的表现,都可以在一定程度上响应重金属铅离子胁迫。

3 讨论

目前,在已知的植物ACBPs基因家族的研究中 发现,除了一些多倍体植物ACBPs基因家族数量较 多外,例如,陆地棉(24个)、白菜(20个)、欧洲油菜 (45个)等,二倍体植物ACBPs基因家族数量较少, 例如,毛果杨(7个)、拟南芥(6个)、水稻(6个)、高粱 (5个)、玉米(5个)等^[32]。笔者在本研究中对二倍体 植物中国沙棘的ACBPs基因家族进行筛选得到8个 基因,与其他二倍体植物ACBPs基因家族的数量总 体相近。 根据系统发育关系可将中国沙棘ACBPs基因 家族分为4组。根据基因结构分析的结果,发现中 国沙棘ACBPs家族中Group3的成员含有最多的外 显子数量,这一特征可能增加了选择性剪接的发生 概率,进而增加了ACBPs基因家族功能的多样 性^[33]。顺式作用元件对许多生物过程和应激反应至 关重要^[34],在顺式作用元件的分析结果中发现,在大 多数HrLACBPs启动子区域中发现了参与对伤害信 号、水杨酸和脱落酸信号响应的元件。

亚细胞定位预测结果表明,中国沙棘ACBPs蛋 白主要定位在细胞核中,在细胞质、叶绿体、内质网 中也有分布。这表明*HrLACBPs*家族成员可能参与 调控基因表达、脂质的代谢和转运、中长链酰基辅酶 A(acyl-CoA)的转运以及叶绿体生物膜的修复和维



* indicates corresponding gene is significant difference between the treatment and control (*p<0.05; ** p<0.01; *** p<0.001; **** p<0.000 1).

图 12 不同铅浓度胁迫下 HrLACBPs 家族基因的相对表达量

Fig. 12 Relative expression level of the *HrLACBPs* gene family under different lead concentration stress

持等。此外,已有的研究表明,拟南芥ACBPs家族成员蛋白多数定位于细胞质,在水稻中,ACBPs家族成员可定位于细胞质与内质网以及定位于过氧化物酶体的OsACBP6^[29]。

转录组表达分析与qRT-PCR检测结果表明,与 对照(0 mg·kg⁻¹)相比, HrLACBPs 家族的大部分基 因在铅浓度为500 mg·kg⁻¹时表达量相对上升,在 1000与2000 mg·kg⁻¹时表达量大幅度下降,而在 5000 mg·kg⁻¹时表达量上升。这可能是由于低浓度 的铅胁迫(500 mg·kg⁻¹)对植物造成的氧化应激较 小,植物可以通过增强基因的表达量,进而增强植物 的抗氧化防御机制,从而增强对铅的耐受性[35];而随 着铅胁迫浓度增加到1000~2000 mg·kg·1时,可能会 超过植物对铅的耐受阈值,导致植物无法响应高浓 度的铅胁迫,因此基因的表达量会大幅度降低1361;但 在极高浓度的铅胁迫(5000 mg·kg⁻¹)下,植物可能会 启动另一种响应机制,包括重金属的隔离、储存或排 出,以及修复受损细胞结构的基因上调[37],导致基因 的表达量上升。此外,定位于内质网的HrLACBPs1 在低浓度铅胁迫(500 mg·kg-1)时的表达量相较于对 照有所下降,而在2000与5000 mg·kg-1时表达量逐 渐上升。这表明基因表达的变化可能还与他们在细 胞内的位置有关。定位于细胞核的基因,可能主要 参与调控应激反应的转录调控因子或信号转导分 子,而定位于内质网的基因,可能与蛋白质的折叠、 修饰和运输以及脂质合成、加工和运输有关。而 HrLACBPs1表达量的不同,可能是因为内质网在感 知到较低浓度的铅胁迫时,会减少基因的表达以减 少蛋白质的合成负荷,在更高浓度胁迫时,则可能提 高表达量以应对蛋白质损伤的积累。上述解释是基 于一般生物学原理和已有的科学研究提出的假设, 如果要准确解释这些qRT-PCR分析结果,还需要更 详细的试验数据和更深入的分子机制研究。

4 结 论

中国沙棘基因组中鉴定到8个HrLACBPs基因,不均匀分布在7条染色体上,这些基因分为4个 类别且大部分基因预测定位于细胞核中;同一类别 家族成员基因结构与Motif序列相似;Group1的基 因成员之间具有较高的共线性;相比于拟南芥ACB-Ps基因家族,中国沙棘ACBPs基因家族与翅果油树 ACBPs基因家族表现出更高的共线性;蛋白质三维 结构预测结果表明,中国沙棘ACBPs基因家族同一 类别的成员三维结构相似;不同浓度重金属铅离子 胁迫下的转录组分析表明,8个HrLACBPs基因在不 同浓度的铅胁迫条件下存在表达差异,可能通过不 同的分子机制响应重金属铅离子胁迫。

参考文献 References:

李嘉欣,李鸿燕,刘丽娥,张恬,周武.沙棘 NRAMP 基因家族
 鉴定及铅胁迫下表达分析[J]. 生物技术通报,2024,40(5):191-202.

LI Jiaxin, LI Hongyan, LIU Li' e, ZHANG Tian, ZHOU Wu. Identification and expression analysis of the *NRAMP* family in seabuckthorn under lead stress[J]. Biotechnology Bulletin, 2024, 40(5):191-202.

[2] 段爱国,张建国.青海西宁市沙棘产业发展研究[J].林业科技 通讯,2019(3):3-7.

DUAN Aiguo, ZHANG Jianguo. Studies on industrial development of seabuckthorn in Xining, Qinghai[J]. Forest Science and Technology, 2019(3): 3-7.

[3] 李嘉欣,马健芝,刘丽娥,张晶晶,杜明阳,李鸿燕,周武.沙棘基因组中 HMA 基因家族的鉴定和分析[J/OL].分子植物育种,2023:1-25.(2023-04-06). https://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20230404.1740.017.html.

LI Jiaxin, MA Jianzhi, LIU Li'e, ZHANG Jingjing, DU Mingyang, LI Hongyan, ZHOU Wu. Identification and analysis of the *HMA* gene family in sea buckthorn genome[J/OL]. Molecular Plant Breeding, 2023:1-25.(2023-04-06). https://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20230404.1740.017.html.

 [4] 肖龙恒,唐续龙,卢光华,张颖,郭敏,张梅.重毒性铅污染土壤 清洁高效修复研究进展[J].工程科学学报,2022,44(2):289-304.

XIAO Longheng, TANG Xulong, LU Guanghua, ZHANG Ying, GUO Min, ZHANG Mei. Research progress in cleaning and efficient remediation of heavy, toxic, lead-contaminated soil[J]. Chinese Journal of Engineering, 2022, 44(2): 289-304.

- [5] 段德超,于明革,施积炎.植物对铅的吸收、转运、累积和解毒 机制研究进展[J].应用生态学报,2014,25(1):287-296. DUAN Dechao, YU Mingge, SHI Jiyan. Research advances in uptake, translocation, accumulation and detoxification of Pb in plants[J]. Chinese Journal of Applied Ecology,2014,25(1):287-296.
- [6] 方玲. 雌雄沙棘接种丛枝菌根真菌对重金属污染的生理生态 响应及修复潜力研究[D]. 绵阳:绵阳师范学院,2023. FANG Ling. Physiological response and ecological restoration potential of dioecious *Hippophae rhamnoides* inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi to heavy metal pollution[D]. Mianyang:Mianyang Teachers' College,2023.
- [7] 周芯.酸洗废液中重金属铅和铜的去除研究[D].青岛:青岛理工大学,2018.

ZHOU Xin. Removal of heavy metal lead and copper from pickling waste liquor[D]. Qingdao:Qingdao University of Technology,2018.

[8] 刘辽源.牡蛎壳粉对土壤中铅赋存形态的影响及其钝化效果 分析[J].农业科技通讯,2024(6):91-95.

LIU Liaoyuan. Impact of oyster shell powder on the speciation and immobilization effect of lead in soil[J]. Bulletin of Agricultural Science and Technology,2024(6):91-95.

- [9] 韦友欢,黄秋婵.铅对人体健康的危害效应及其防治途径[J]. 微量元素与健康研究,2008,25(4):62-64.
 WEI Youhuan, HUANG Qiuchan. The toxicological effect of lead on the human health and its measures of preventing[J].
 Studies of Trace Elements and Health,2008,25(4):62-64.
- UZU G, SOBANSKA S, SARRET G, MUÑOZ M, DUMAT C.
 Foliar lead uptake by lettuce exposed to atmospheric fallouts[J].
 Environmental Science & Technology, 2010, 44(3): 1036-1042.
- [11] LI Z, SHUMAN L M. Mobility of Zn, Cd and Pb in soils as affected by poultry litter extract: I. leaching in soil columns[J]. Environmental Pollution (Barking, Essex), 1997, 95(2): 219-226.
- [12] TOMAŠEVIĆ M, VUKMIROVIĆ Z, RAJŠIĆ S, TASIĆ M, STEVANOVIĆ B. Characterization of trace metal particles deposited on some deciduous tree leaves in an urban area[J]. Chemosphere, 2005, 61(6): 753-760.
- [13] SCHRECK E, FOUCAULT Y, SARRET G, SOBANSKA S, CÉCILLON L, CASTREC-ROUELLE M, UZU G, DUMAT C. Metal and metalloid foliar uptake by various plant species exposed to atmospheric industrial fallout: Mechanisms involved for lead[J]. Science of the Total Environment, 2012, 427: 253-262.
- [14] PUNAMIYA P, DATTA R, SARKAR D, BARBER S, PATEL M, DAS P. Symbiotic role of *Glomus mosseae* in phytoextraction of lead in vetiver grass [*Chrysopogon zizanioides* (L.)][J]. Journal of Hazardous Materials, 2010, 177(1/2/3):465-474.
- [15] KOSAKIVSKA I V, BABENKO L M, ROMANENKO K O, KOROTKA I Y, POTTERS G. Molecular mechanisms of plant adaptive responses to heavy metals stress[J]. Cell Biology International, 2021, 45(2): 258-272.
- [16] SEREGIN I V, SHPIGUN L K, IVANOV V B. Distribution and toxic effects of cadmium and lead on maize roots[J]. Russian Journal of Plant Physiology, 2004, 51(4): 525-533.
- [17] SAHI S V, BRYANT N L, SHARMA N C, SINGH S R. Characterization of a lead hyperaccumulator shrub, *Sesbania drummondii*[J]. Environmental Science & Technology, 2002, 36(21): 4676-4680.
- [18] 李嘉欣,李鸿燕,刘丽娥,周武.植物在铅胁迫下的耐受机 制[J/OL].分子植物育种,2023:1-11.(2023-03-03). https://kns. cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20230302.1034.008.html.
 LI Jiaxin,LI Hongyan,LIU Li'e,ZHOU Wu. Tolerance mechanisms of plants under lead stress[J/OL].Molecular Plant Breed-

ing, 2023: 1-11.(2023-03-03). https://kns.cnki.net/kcms/detail/ 46.1068.S.20230302.1034.008.html.

- [19] GUPTA D K, HUANG H G, CORPAS F J. Lead tolerance in plants: Strategies for phytoremediation[J]. Environmental Science and Pollution Research International, 2013, 20(4): 2150-2161.
- [20] 王晓桐,李昊阳,徐吉臣. 毛果杨 HMA 基因家族的生物信息 学分析[J]. 植物生理学报,2014,50(7):891-900.
 WANG Xiaotong,LI Haoyang,XU Jichen. Bioinformatics analysis of the *Heavy Metal Transporting ATPase* gene family in poplar genome[J]. Plant Physiology Journal,2014,50(7):891-900.
- [21] 姜雪.第四类 ACBP 亚细胞定位及作用机制研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学,2021.

JIANG Xue. Subcellular localization and functional mechanism analyses of Class IV ACBP[D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2021.

- [22] LUNG S C, CHYE M L. Arabidopsis acyl-CoA-binding proteins regulate the synthesis of lipid signals[J]. New Phytologist, 2019, 223(1):113-117.
- [23] 徐利剑,梁晶,李泽宇,刘博洋,孟威.植物酰基辅酶 A 结合蛋 白的研究进展[J].中国农学通报,2019,35(30):78-83.
 XU Lijian, LIANG Jing, LI Zeyu, LIU Boyang, MENG Wei. The progress of plant Acyl-CoA-binding proteins[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin,2019,35(30):78-83.
- [24] 姜雪,宋兴舜,孟威. 三类植物脂类转运蛋白家族研究进展[J]. 中国农学通报,2021,37(18):85-94.
 JIANG Xue, SONG Xingshun, MENG Wei. Research progress of three lipid transporter families in plants[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin,2021,37(18):85-94.
- [25] CHEN Q F, XIAO S, QI W Q, MISHRA G, MA J Y, WANG M F, CHYE M L. The *Arabidopsis* acbp1acbp2 double mutant lacking acyl-CoA-binding proteins ACBP1 and ACBP2 is embryo lethal[J]. New Phytologist, 2010, 186(4): 843-855.
- [26] GAO W, XIAO S, LI H Y, TSAO S W, CHYE M L. Arabidopsis thaliana acyl- CoA- binding protein ACBP2 interacts with heavy-metal-binding farnesylated protein AtFP6[J]. New Phytologist, 2009, 181(1):89-102.
- [27] DU Z Y, CHEN M X, CHEN Q F, XIAO S, CHYE M L. Overexpression of *Arabidopsis* acyl-CoA-binding protein ACBP2 enhances drought tolerance[J]. Plant, Cell & Environment, 2013, 36(2):300-314.
- [28] MENG W, SU Y C F, SAUNDERS R M K, CHYE M L. The rice acyl-CoA-binding protein gene family: Phylogeny, expression and functional analysis[J]. New Phytologist, 2011, 189(4): 1170-1184.
- [29] MENG W, HSIAO A S, GAO C J, JIANG L W, CHYE M L. Subcellular localization of rice acyl- CoA- binding proteins (ACBPs) indicates that OsACBP6: GFP is targeted to the peroxisomes[J]. New Phytologist, 2014, 203(2):469-482.
- [30] RABOANATAHIRY N, WANG B S, YU L J, LI M T. Function-

al and structural diversity of acyl-CoA binding proteins in oil crops[J]. Frontiers in Genetics, 2018, 9:182.

- [31] LIAO P, CHEN Q F, CHYE M L. Transgenic Arabidopsis flowers overexpressing acyl-CoA-binding protein ACBP6 are freezing tolerant[J]. Plant & Cell Physiology, 2014, 55(6): 1055-1071.
- [32] 王思竹,张洵,戴绍军,李莹.植物 ACBP 家族成员功能研究 进展[J]. 草业科学,2019,36(10):2535-2548.
 WANG Sizhu,ZHANG Xun,DAI Shaojun,LI Ying. Advances in research regarding the function of the ACBP family in plants[J].
 Pratacultural Science,2019,36(10):2535-2548.
- [33] 王雪莹,王瑞琪,张洋,刘聪,夏德安,魏志刚. 毛果杨 CNGC 家族全基因组鉴定及胁迫响应分析[J]. 植物研究,2022,42 (4):613-625.

WANG Xueying, WANG Ruiqi, ZHANG Yang, LIU Cong, XIA Dean, WEI Zhigang. Genome-wide identification and stress response analysis of cyclic nucleotide- gated channels (CNGC) gene family in *Populus trichocarpa*[J]. Bulletin of Botanical Research, 2022, 42(4):613-625.

[34] IBRAHEEM O, BOTHA C E J, BRADLEY G. In silico analysis

of *cis*-acting regulatory elements in 5' regulatory regions of sucrose transporter gene families in rice (*Oryza sativa* Japonica) and *Arabidopsis thaliana*[J]. Computational Biology and Chemistry,2010,34(5/6):268-283.

- [35] 朱晨璐,武欣怡,喻君保,黄偲祺,曹树一,翟林,韩雪洁,侯晓龙.基于转录组测序金丝草叶片响应铅胁迫的抗氧化酶相关基因[J].农业环境科学学报,2022,41(10):2158-2169.
 ZHU Chenlu, WU Xinyi, YU Junbao, HUANG Siqi, CAO Shuyi,ZHAI Lin, HAN Xuejie, HOU Xiaolong. Antioxidant enzyme- related genes of *Pogonatherum crinitum* leaves in response to lead stress based on RNA-Seq[J]. Journal of Agro-Environment Science,2022,41(10):2158-2169.
- [36] MENG L D, YANG Y P, MA Z W, JIANG J W, ZHANG X M, CHEN Z R, CUI G W, YIN X J. Integrated physiological, transcriptomic and metabolomic analysis of the response of *Trifolium pratense* L. to Pb toxicity[J]. Journal of Hazardous Materials, 2022, 436:129128.
- [37] ILYAS M Z, SA K J, ALI M W, LEE J K. Toxic effects of lead on plants: Integrating multi-omics with bioinformatics to develop Pb-tolerant crops[J]. Planta, 2023, 259(1):18.