

茄子 Whirly 基因家族鉴定和表达分析

梁书卿^{1,2}, 周晓慧², 杨 艳^{1,2}, 张静娴^{1,2}, 刘松瑜², 刘 军², 庄 勇^{1,2}

(¹南京农业大学园艺学院, 南京 210095; ²江苏省农业科学院蔬菜研究所/江苏省高效园艺作物遗传改良重点实验室, 南京 210014)

摘要: Whirly 是一类能与单链 DNA 分子结合的植物特异转录因子, 在细胞核以及细胞器内都起着广泛且复杂的作用。为探究茄子 Whirly 基因的功能和进化关系, 本研究开展了基因家族成员生物信息学鉴定, 包括系统进化关系、基因结构、保守基序及启动子中的顺式作用元件, 分析了其在不同组织、外源激素处理和逆境胁迫下表达模式。结果表明, 茄子 Whirly 基因家族包含两个家族成员, 分别命名为 *SmWHY1* 和 *SmWHY2*, 它们与番茄中 Whirly 基因亲缘关系最近。 *SmWHY1* 和 *SmWHY2* 在不同组织中均能表达, 在叶片中 *SmWHY1* 的表达水平高于 *SmWHY2*, 在其他组织中 *SmWHY2* 的表达水平高于 *SmWHY1*。两个基因的表达均受到脱落酸、茉莉酸甲酯、水杨酸、低温胁迫和病原菌诱导, 但不同处理或基因型响应程度存在差异, 在抗绵疫病种质 G114 中能够保持较高的表达水平。以上结果表明 *SmWHY1* 和 *SmWHY2* 可能在调控茄子生长发育和逆境响应中具有重要作用。

关键词: 茄子; Whirly 转录因子; 生物信息学; 表达分析

Identification and Expression Analysis of Whirly Gene Family Members in Eggplant

LIANG Shuqing^{1,2}, ZHOU Xiaohui², YANG Yan^{1,2}, ZHANG Jingxian^{1,2},
LIU Songyu², LIU Jun², ZHUANG Yong^{1,2}

(¹College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095; ²Institute of Vegetable Crops, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences/Jiangsu Key Laboratory for Horticultural Crop Genetic Improvement, Nanjing 210014)

Abstract: Whirly is a class of plant specific transcription factors that can bind to single-stranded DNA molecules and play a wide and complex role in both nucleus and organelles. In order to explore the functional and evolutionary relationships of Whirly genes in eggplant, we applied the bioinformatics approach to identify Whirly genes, including the phylogenetic relationships, gene structure, conservative motifs and *cis*-acting elements in promoters. Their transcriptional profiles were also analyzed in different tissues, or under treatments of exogenous hormone, low temperature and pathogen infection. The results showed that the Whirly gene family of eggplant contained two members, named *SmWHY1* and *SmWHY2*, which were closely related to the Whirly genes in tomato. Both *SmWHY1* and *SmWHY2* expressed in different tissues, and the transcripts of *SmWHY1* in leaves were higher than that of *SmWHY2* in other tissues. The induction at two genes was detected under treatments (abscisic acid, methyl jasmonate, salicylic acid, low temperture and pathogen), whereas the responses were variable in gene and/or by treatments. In G114, a *Phytophthora capsici* resistant germplasm, two genes showed relatively high expression. Collectively, these results indicated that *SmWHY1* and *SmWHY2* may play an important role in the regulation of growth, development, and response to stress.

Key words: *Solanum melongena* L.; Whirly transcription factor; bioinformatics; expression analysis

收稿日期: 2023-06-14 修回日期: 2023-06-19 网络出版日期: 2023-07-20

URL: <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20230614002>

第一作者研究方向为蔬菜遗传育种与生物技术, E-mail: lsq1023435796@163.com

通信作者: 庄 勇, 研究方向为蔬菜遗传育种与生物技术, E-mail: jaaszy@163.com

基金项目: 江苏省自然科学基金(BK20221429); 江苏省重点研发计划项目(BE2021377); 江苏省农业科技自主创新项目(CX(22)3160)

Foundation projects: Jiangsu Natural Science Foundation (BK20221429); Jiangsu Key R&D Plan Project (BE2021377); Jiangsu Agricultural Science and Technology Independent Innovation Project(CX (22) 3160)

Whirly 基因家族广泛存在于植物界,其编码产物主要定位在叶绿体和线粒体中,是高度保守的单链 DNA 结合 (SSB, single-strand DNA binding) 蛋白。Whirly 蛋白具有 Whirly 结构域、N 末端结构域和 C 末端多变区。Whirly 结构域包含的一段细胞核定位信号(NLS)是最重要的结构域,在不同物种中高度保守,能与单链 DNA 结合;N 端结构域一般包含叶绿体或线粒体定位信号肽和转录激活结构域;C 末端多变区具有自我调节区,主要参与调节 Whirly 蛋白与单链 DNA 结合活性^[1]。

Whirly 基因已在众多植物中陆续报道,包括拟南芥 (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.)^[2]、小麦 (*Triticum aestivum* L.)^[3]、马铃薯 (*Solanum tuberosum* L.)^[4]、水稻 (*Oryza sativa* L.)^[5]、玉米 (*Zea mays* L.)^[6-7]、大豆 (*Glycine max* (Linn.) Merr.)^[8]、番茄 (*Solanum lycopersicum* L.)^[9]、辣椒 (*Capsicum annuum* L.)^[10] 等。拟南芥包含至少两个家族成员,分别定位于叶绿体和线粒体。第一个被发现的 Whirly 家族成员马铃薯 *StWHY1* 蛋白是一个转录激活因子,参与基因的激活及水杨酸诱导的防御应答反应。拟南芥 *AtWHY1* 除参与基础和特异性防御反应,还可能在叶绿体以及细胞核中发挥作用^[11-12]。更多的研究发现,Whirly 基因在植物响应病原菌侵染^[5,13-14]、逆境胁迫^[15-17]和生长发育^[18-21]等方面具有重要作用。

茄子 (*Solanum melongena* L.) 是一种重要的蔬菜作物,在世界范围内广泛栽培。茄子生长期长,易受各种生物和非生物胁迫,影响产量和品质^[22-23]。Whirly 基因具有调控植物生长发育和响应逆境的重要功能,但在茄子中未见相关报道。本研究拟在全基因组开展茄子 Whirly 基因家族成员鉴定,利用生物信息学技术分析系统进化关系、基因结构、保守基序及其启动子元件,研究其在不同组织、外源激素处理和逆境胁迫下表达模式,旨在为深入研究茄子 Whirly 基因功能奠定基础,并为品种遗传改良提供基因资源。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本研究所用材料包括三月茄、G42、G114 和 EP28。三月茄为四川省地方品种,引进后自交 6 代,用于开展不同组织、低温处理和激素处理的基因表达研究。G42 和 G114 为抗果实绵疫病种质,分别引自 USDA (United States Department of Agriculture) 和 CGN (Centre for Genetic Resources, The

Netherlands), 引进后自交 6 代。EP28 为感果实绵疫病紫长茄稳定自交系 (F_0)。所有植物材料于 2022 年秋季种植于江苏省农业科学院试验基地,按常规管理。

1.2 试验方法

1.2.1 茄子 Whirly 基因家族成员鉴定和分析 从拟南芥基因组数据库 (<https://www.arabidopsis.org/>) 中下载拟南芥 Whirly 基因的序列 *AtWHY1* (*AT1G14410*)、*AtWHY2* (*AT1G71260*) 和 *AtWHY3* (*AT2G02740*), 在茄子基因组数据库 (<http://eggplant-hq.cn/Eggplant/home/index>) 中进行序列比对,获得茄子 Whirly 基因家族成员。Whirly 蛋白的相对分子量和等电点使用 ProtParam 程序 (<https://web.expasy.org/protparam/>) 进行分析。利用 GSDS 2.0 程序 (<http://gsds.gao-lab.org/>) 分析基因结构,绘制出外显子-内含子结构图。利用 MEME Suite 5.5.0 (<https://meme-suite.org/meme/>) 鉴定茄子和拟南芥 Whirly 基因家族的保守基序,根据 E-value 值筛选可信度大的基序。在 Plantcare 程序上 (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>) 分析基因的启动子序列 (ATG 上游 1500bp) 的顺式作用元件,利用 TBtools 软件将结果可视化。

1.2.2 茄子 Whirly 基因家族成员的进化树分析 在 Sol Genomics Network (<https://solgenomics.net/>) 中下载番茄、辣椒、马铃薯和烟草的 Whirly 家族基因序列。在 EnsemblPlants (<http://plants.ensembl.org/index.html>) 中下载大豆和黄瓜的 Whirly 家族基因序列,使用 MEGA 7.0 软件构建茄子、番茄、辣椒、马铃薯、烟草、拟南芥、大豆和黄瓜的 Whirly 蛋白序列进化树,校验参数 Bootstrap 值设置为 1000 次重复。

1.2.3 植株处理与样品采集 三月茄于 4 片真叶期选取生长一致的植株进行根、茎和叶取样,开花结果期选取开花当天的花瓣、花药、花萼、子房、柱头和花后 15 d 果实取样。激素处理时,取长势一致的三月茄植株叶片分别浸入 400 $\mu\text{mol/L}$ 脱落酸溶液、100 $\mu\text{mol/L}$ 茉莉酸甲酯溶液和 2 mmol/L 水杨酸溶液中,叶背面朝下,置于 28℃ 人工培养箱中,16 h 光照/8 h 黑暗,设置 0 h、3 h、6 h、12 h 和 24 h 共 5 个取样时间点。低温处理时,4 片真叶期时,取长势一致的三月茄植株分别置于 4℃ 和 28℃ 人工培养箱中,16 h 光照/8 h 黑暗,相对湿度为 60%。设置 0 h、3 h、6 h、12 h 和 24 h 共 5 个取样时间点。采样均为 3 次生物学重复,每次重复 5 株混合取样,样品保存于 -80℃ 冰箱中。

1.2.4 qRT-PCR 分析 基因在不同组织及响应激素和低温的表达模式采用 qRT-PCR 分析。总 RNA 提取采用总 RNA 提取试剂盒(天根生化科技(北京)有限公司,北京),cDNA 第 1 链合成采用 cDNA 单链合成试剂盒(北京全式金生物技术有限公司,北京),按照说明书进行操作。*SmWHY1* 的引物为 AGGCTGCCCACATTAGTA 和 CCCAGTCATATTGCGATC;*SmWHY2* 的引物为 TCGCCAGAGTTCTCACCTTT 和 ACAGACAGCGAGAAGACCTG,内参基因选用 β -actin。利用 AceQ qPCR SYBR Green Master Mix 试剂盒(诺唯赞生物科技股份有限公司,南京)和实时荧光定量 PCR 仪(罗氏,瑞士)进行 qRT-PCR 分析。配制 20 μ L 反应体系,其中,2 $\times$ AceQ qPCR SYBR Green Master Mix 10 μ L,cDNA 0.8 μ L,上下游引物各 0.4 μ L (10 μ mol/L),ddH₂O 8.4 μ L。反应程序,95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min; 95 $^{\circ}$ C 变性 10 s, 57 $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 30 s, 40 个循环;熔解曲线温度设置 60 $^{\circ}$ C ~ 95 $^{\circ}$ C,每个反应进行 3 次重复。利用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法分析数据,确定基因的相对表达量^[24]。

1.2.5 辣椒疫霉接种与基因表达分析 用于果实绵疫病接种的菌株为辣椒疫霉 (*Phytophthora capsici*) 菌株 NJ1,植物材料为 G42、G114 和 EP28,接种方法参照文献^[25]。分别在 0 d、1 d、3 d 和 5 d 取接种点附近的果肉,3 次生物学重复,每次重复 3 个果实株混合取样。样品委托杭州联川生物技术

股份有限公司进行转录组测序。参考基因组为 HQ-1315,基因的表达量经过标准化处理,用 FPKM (fragments per kilobase of exon per million fragments mapped) 值表示,以 $\log_2$ 形式转化用于分析^[8]。

1.3 数据分析

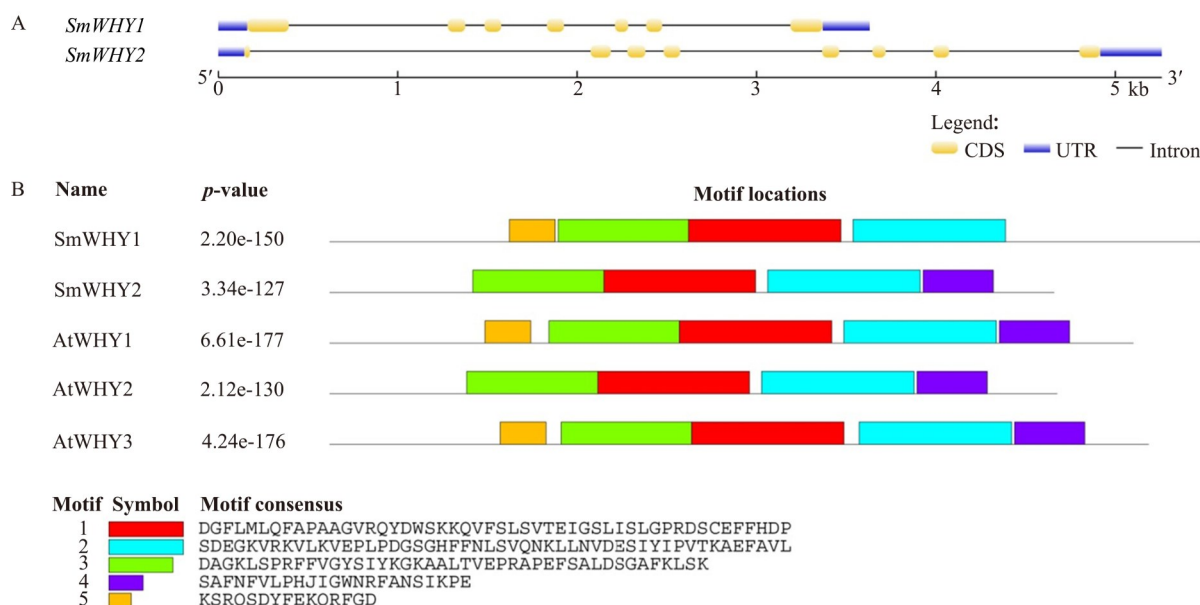
利用 WPS XLS 工作表和 IBM SPSS26 软件对数据进行统计和分析,用 prism 软件作图。采用 One-way ANOVA 单因素方差分析方法分析不同组织和不同处理间的差异显著性^[26]。

2 结果与分析

2.1 茄子 Whirly 家族成员的鉴定

利用拟南芥 Whirly 基因在茄子基因组 HQ-1315 (<http://eggplant-hq.cn/Eggplant/home/index>) 中进行比对,共发现两个茄子 Whirly 基因:*Smechr1001570* 和 *Smechr1200905*,分别命名为 *SmWHY1* 和 *SmWHY2* (图 1A)。*SmWHY1* 位于 10 号染色体,有 7 个外显子和 6 个内含子,CDS 全长 861 bp,编码 286 个氨基酸,相对分子量为 31433.83 Da,等电点为 7.74;*SmWHY2* 位于 12 号染色体,有 8 个外显子和 7 个内含子,CDS 全长 714 bp,编码 237 个氨基酸,相对分子量为 26550.43 Da,等电点为 10.09。

利用 MEME suite 软件进行茄子和拟南芥 Whirly 基因家族的蛋白保守基序分析,结果表明不同 Whirly 基因的基序存在差异(图 1B)。5 个保守



A: 茄子 Whirly 基因结构; B: 茄子和拟南芥 Whirly 蛋白保守基序

A: Structures of Whirly gens in eggplant; B: Conservative motifs of Whirly gene family in eggplant and Arabidopsis

图 1 茄子 Whirly 家族基因结构和蛋白基序

Fig.1 The gene structure and protein motif of the Whirly family

基序中, motif1、motif2 和 motif3 是茄子和拟南芥 whirly 基因家族共有的结构域, 表明 Whirly 基因家族在进化上结构具有保守性。茄子 Whirly 只有 4 个保守基序, 其中 *SmWHY1* 缺少 motif4, *SmWHY2* 缺少 motif5, 说明这两个基因在功能上可能存在分化。

2.2 Whirly 基因家族进化分析

为探明茄子 Whirly 基因的进化, 构建了茄子、番茄、辣椒、马铃薯、烟草、拟南芥、大豆和黄瓜的 Whirly 基因进化树(图2)。根据聚类结果, 将 24 种不同物种的 Whirly 分为 3 大类, 茄子的两个 Whirly 序列差异较大, 分别属于第 I 类和第 II 类, 第 III 类仅包括大豆 Whirly。同为茄科的茄子、番茄、辣椒、马铃薯、烟草的 Whirly 聚在一起, 其中茄子 *SmWHY1* 和

番茄 *SIWHY1*、茄子 *SmWHY2* 和番茄 *SIWHY2* 的关系更近, 说明这些 Whirly 具有相似的功能。

2.3 茄子 Whirly 基因家族启动子序列顺式作用元件分析

茄子 Whirly 基因家族启动子序列顺式作用元件分析结果见表 1。*SmWHY1* 和 *SmWHY2* 启动子区所含的共同的元件为 CAAT-box、TATA-box 以及响应干旱诱导 MBS, 说明这两个基因可能参与对干旱胁迫响应的调控。除共同元件外, *SmWHY1* 启动子中含有两个光反应元件(GATA-motif 和 MRE)、1 个与分生组织表达相关的元件 CAT-box、两个响应茉莉酸甲酯的元件(CGTCA-motif 和 TGACG-motif) 和 1 个响应水杨酸的 TCA-element; *SmWHY2* 启动子中含两个响应赤霉素的元件(GARE-motif 和 TATC-

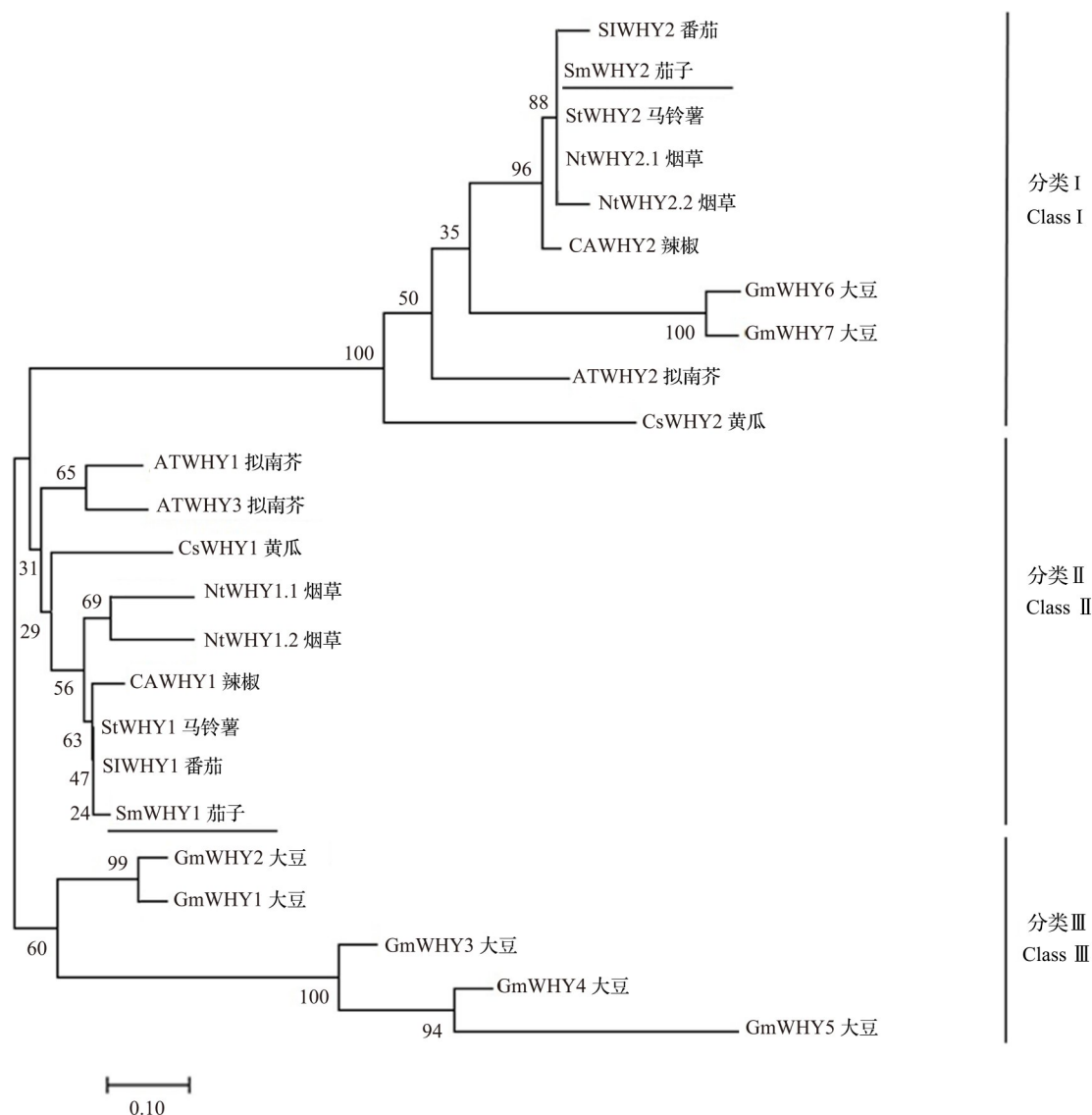


图2 8个物种24个 Whirly 基因的系统进化树

Fig.2 Phylogenetic tree of twenty-four Whirly genes in eight plant species

box)、1个响应生长素的元件 AuxRR-core 和 1 个响应厌氧诱导的元件 ARE。两个 Whirly 基因含有不同的元件,说明他们可能在不同的生长发育过程中发挥作用,特别是响应激素反应的元件不同,说明在特定激素处理下,两个基因的表达可能会作出不同的响应。

表 1 茄子 Whirly 基因启动子区域相关元件信息

Table1 Information on elements related to the Whirly promoter region of eggplant

基因 Gene	元件名称 Element name	功能 Function
SmWHY1	TATA-box	转录起始点上游约-30bp 处核心启动子元件
	CAAT-box	启动子和增强子区域中的共同顺式作用元件
	TCA-element	参与响应水杨酸的顺式作用元件
	MBS	参与干旱诱导的 MYB 结合位点
	GATA-motif	光响应元件的一部分
	MRE	参与光响应的 MYB 结合位点
	CGTCA-motif	参与茉莉酸甲酯响应的顺式调控的顺式调控元件
	TGACG-motif	参与茉莉酸甲酯响应的元件
	CAT-box	分生组织表达相关的顺式调控元件
SmWHY2	TATA-box	转录起始点上游约-30bp 处的核心启动子元件
	CAAT-box	启动子和增强子区域中的共同顺式作用元件
	MBS	参与干旱诱导的 MYB 结合位点
	ARE	厌氧诱导所必需的顺式作用调节元件
	GARE-motif	赤霉素响应元件
	TATC-box	参与赤霉素响应的顺式调控元件
	AuxRR-core	参与生长素响应的顺式调控元件

2.4 茄子 Whirly 基因的组织表达模式

对茄子 *SmWHY1* 和 *SmWHY2* 在不同组织中的表达水平进行了比较分析,结果见图 3。两个基因在不同组织中均有表达,但表达水平在不同组织间存在一定差异,其中在根、叶片、花瓣、花萼、果肉和子房中的表达水平较高,在花药中表达水平较低。两个基因在同一组织中的表达水平也存在明显差异,*SmWHY1* 在叶片中的表达水平显著高于 *SmWHY2*,在根、茎、花瓣、花萼、果肉、柱头和子房中的表达水平显著低于 *SmWHY2*,在花药中的表达水平明显低于 *SmWHY2*,但差异不显著。以上结果说明说明两个基因在调控茄子生长发育中具有重要作用,在功能上可能存在分化。

2.5 Whirly 基因在激素处理下的表达模式

不同激素处理后, *SmWHY1* 和 *SmWHY2* 在 0~24 h 内的表达水平均表现为降低-升高-降低趋势,具体表达水平变化因激素和基因而异(图 4)。在脱落酸处理下,与 0 h 相比, *SmWHY1* 的表达水平在 3 h、12 h 表现显著差异, *SmWHY2* 的表达水平仅在 3 h 差异显著。在茉莉酸甲酯处理下,与 0 h 相比,

SmWHY1 表达水平除 24 h 外,其他时间点均有显著差异, *SmWHY2* 的表达水平仅在 12 h 存在显著差异。在水杨酸处理下,与 0 h 相比, *SmWHY1* 的表达水平在所有时间点均有显著差异, *SmWHY2* 的表达水平仅在 6 h 和 12 h 有显著差异。以上结果表明,两个基因的表达均受到 3 种激素的诱导, *SmWHY1* 的响应度高于 *SmWHY2*。

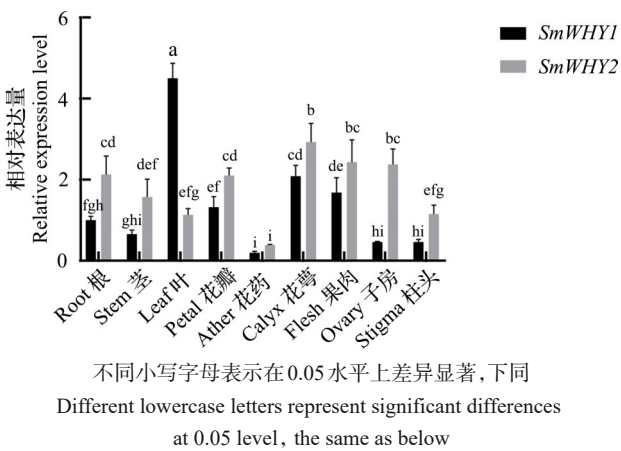


图 3 茄子 Whirly 基因在不同组织中的相对表达水平
Fig.3 Relative expression levels of eggplant Whirly genes in different tissues

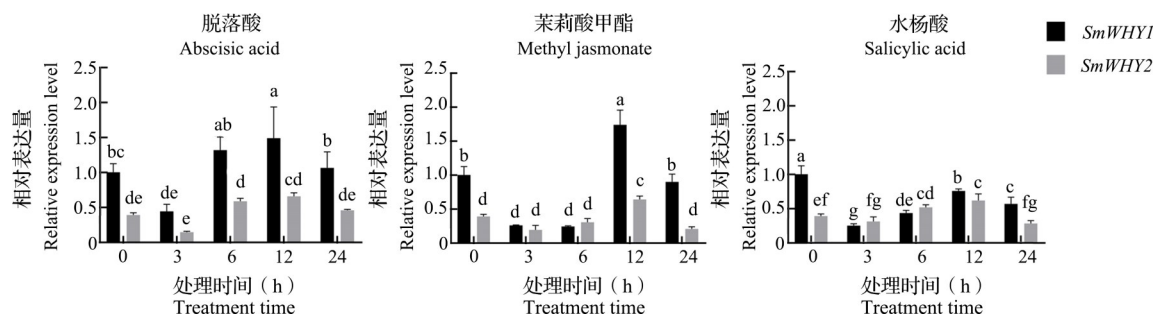


图4 茄子 Whirly 基因在激素处理下的相对表达水平

Fig.4 Relative expression levels of eggplant Whirly genes treated with different hormones

2.6 茄子 Whirly 基因在低温处理下的表达模式

低温处理下, *SmWHY1* 和 *SmWHY2* 的表达水平在 0~24 h 内表现为升高-降低-升高的趋势(图 5)。*SmWHY1* 和 *SmWHY2* 表达水平在 3 h 时分别为 0 h 的 1.36 倍和 1.35 倍, 随后开始降低, 在 12 h 达到最低, *SmWHY1* 表达量为 0 h 的 0.56 倍, *SmWHY2* 表达量为 0 h 的 0.33 倍。在 24 h 时, *SmWHY1* 和 *SmWHY2* 表达量显著上升, *SmWHY1* 表达量上升幅度较 *SmWHY2* 大, 为 0 h 的 1.37 倍, 而 *SmWHY2* 表达量仅为 0 h 的 0.84 倍。以上结果表明, *SmWHY1* 和 *SmWHY2* 的表达均受低温胁迫诱导, 响应程度因处理时间而异。

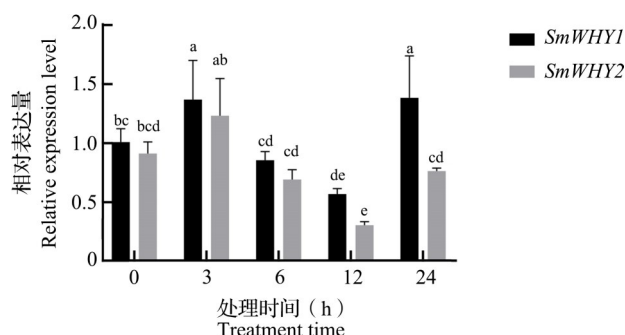
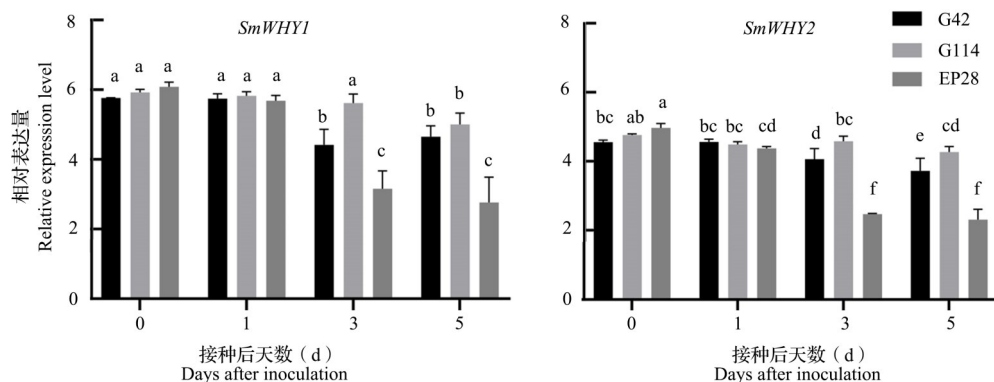


图5 茄子 Whirly 基因在低温处理下的相对表达水平

Fig.5 Relative expression levels of eggplant Whirly genes under low temperature

2.7 茄子 Whirly 基因在 *P. capsici* 抗、感种质资源中的表达模式

接种后 1 d, 3 份材料均无明显症状。接种后 3 d, 抗病材料 G42 和 G114 无明显症状, 感病材料 EP28 接种点开始褐变。接种后 5 d, 抗病材料 G42 和 G114 无明显症状, 感病材料 EP28 接种点开始腐烂。基因表达分析发现, *SmWHY1* 和 *SmWHY2* 的表达水平均表现为下降, 但响应程度有差异(图 6)。在 0 d 的 3 个材料中, *SmWHY1* 的表达水平无显著差异, *SmWHY2* 在感病材料 EP28 中的表达水平显著高于抗病材料 G42。与接种 0 d 相比, 接种 1 d 时, *SmWHY1* 的表达水平无明显变化, *SmWHY2* 在抗病材料 G42 和 G114 中的表达水平无显著变化, 在感病材料 EP28 中的表达水平显著下降。接种 3 d 时, 两个基因的表达水平在抗病材料 G42 和感病材料 EP28 中表达水平显著下降, 而在抗病材料 G114 中则无显著变化。接种 5 d 时, 与接种 3 d 时相比, *SmWHY1* 在抗病材料 G114 中表达水平显著下降, 在抗病材料 G42 和感病材料 EP28 中的表达水平无显著变化, *SmWHY2* 在抗病材料 G42 中的表达水平显著下降, 在抗病材料 G114 和感病材料 EP28 中的表达水平无显著变化。此外, 接种 3 d 和 5 d, 两个基因在抗病材料中的表达水平均显著高于感病材料。以上结果表明, *SmWHY1* 和 *SmWHY2* 的表达均受 *P. capsici* 侵染诱导, 在 G114 中的表达水平较高。

图6 茄子 Whirly 基因在接种 *P. capsici* 后的相对表达水平Fig.6 Relative expression levels of eggplant Whirly genes after inoculation with *P. Capsici*

3 讨论

Whirly 作为植物特有的转录因子,在植物生长发育和胁迫响应中具有重要作用^[27]。茄子基因组测序的完成为开展茄子 Whirly 基因鉴定及功能研究奠定了基础^[28]。本研究从茄子基因组中鉴定了两个 Whirly 基因 *SmWHY1* 和 *SmWHY2*。基因结构分析发现,两个基因均具有 3 个高度保守的基序,但结构上存在一定差异。启动子序列中包含分生组织表达、激素、光反应、胁迫响应等顺式作用元件,2 个基因既具有相同的元件,也具有特有的元件。基因表达模式研究发现,两个基因在不同组织中均有表达,表达水平在基因间和组织间均存在一定差异。激素处理试验发现,两个基因的表达均受到 3 种激素的诱导,但响应程度存在差异。以上结果为深入研究茄子 Whirly 基因的功能奠定了基础,并为茄子品种遗传改良提供了重要信息。

Whirly 基因在调控植物非生物胁迫抗性中具有重要作用。研究发现,在盐、干旱和低温胁迫下,番茄 Whirly 基因的表达水平表现为上调,过表达 *SIWHY1* 能减轻低温引起的植株萎蔫症状^[29-30]。烟草中过表达番茄 Whirly 基因能显著提高耐旱性^[9, 31],木薯中 *MeCIPK23* 与 Whirly 互作能够激活脱落酸的合成并提高耐旱性^[32],大麦中敲除 *Whirly1* 能够减缓干旱引起的叶片衰老^[15]。茄子是我国设施栽培的主要蔬菜作物,低温是生产的主要逆境之一,影响产量和品质^[33]。本研究发现两个茄子 Whirly 基因的表达受低温快速诱导,0~24 h 内表达水平呈现为升高-降低-升高的趋势,且两个基因的表达模式存在明显差异,说明这两个基因可能参与了对冷胁迫的响应,可作为茄子耐低温遗传改良研究的目标基因。

Whirly 基因在调控植物病害抗性中具有重要作用。研究发现,番茄 *SIWHY2* 的表达受到青枯假单胞菌侵染的诱导,过表达 *SIWHY2* 能提高烟草对病原菌的抗性^[31],辣椒 *CaWHY2* 的表达受辣椒疫霉的诱导^[10],芒果 *MiWHY1* 和 *MiWHY3* 的表达受到胶孢炭疽菌和细菌性黑斑病菌的侵染的诱导^[14]。在葡萄中, *VpWhy1* 的表达受到霜霉病病原菌的强烈诱导,其启动子中含有响应辣椒疫霉菌侵染的元件,可以提高抗病能力^[34]。本研究发现,两个茄子 Whirly 基因均响应了辣椒疫霉菌的侵染,抗病和感病材料对病原菌的响应程度不同。感病材料 EP28 中, *SmWHY1* 的表达水平在接种 3 d 时显著下调,

SmWHY2 的表达水平在接种 1 d 时显著下调。抗病材料中,两个基因表达下调的时间较晚,且能保持较高的表达水平,说明这两个基因可能具有调控抗病性的功能。接种后 3 d 和 5 d, 2 个基因在 G114 中的表达水平高于 G42,在抗病育种实践中,源自 G114 的抗病单株的抗性强于源自 G42 的抗病单株,说明 G114 的育种利用价值高于 G42。

参考文献

- [1] Desveaux D, Allard J, Brisson N, Sygusch J. A new family of plant transcription factors displays a novel ssDNA-binding surface. *Nature Structural Biology*, 2002, 9(7): 512-517
- [2] Krause K, Kilbiński I, Mulisch M, Rödiger A, Schäfer A, Krupinska K. DNA-binding proteins of the Whirly family in *Arabidopsis thaliana* are targeted to the organelles. *FEBS Letters*, 2005, 579(17): 3707-3712
- [3] Grabowski E, Miao Y, Mulisch M, Krupinska K. Single-stranded DNA-binding protein *Whirly1* in barley leaves is located in plastids and the nucleus of the same cell. *Plant Physiology*, 2008, 147(4): 1800-1804
- [4] Zhuang K Y, Liu Z B, Kong F Y, Zhang S, Meng C, Yang M M, Wang Y, Ma N N, Meng Q W. *WHIRLY1* regulates HSP21.5A expression to promote thermotolerance in tomato. *Plant and Cell Physiology*. 2020, 61(1): 138-145
- [5] 姚沁涛, 张文蔚, 刘莉, 韩榕, 简桂良, 齐放军. Whirly 转录因子对非寄主菌诱导水稻 HR 反应的负调控作用. *中国农业科技导报*, 2008, 10(5): 53-58
Yao Q T, Zhang W W, Liu L, Han R, Jian G L, Qi F J. The negative regulatory effect of Whirly transcription factor on non host bacteria induced HR response in rice. *China Journal of Agricultural Science and Technology*, 2008, 10(5): 53-58
- [6] Prikryl J, Watkins K P, Friso G, Prikryl J, Watkins K P, Friso G, van Wijk K J, Barkan A. A member of the Whirly family is a multifunctional RNA and DNA binding protein that is essential for chloroplast biogenesis. *Nucleic Acids Research*, 2008, 36(16): 5152-5165
- [7] Zhang Y F, Hou M M, Tan B C. The requirement of *WHIRLY1* for embryogenesis is dependent on genetic background in maize. *PLoS ONE*, 2013, 8(6): e67369
- [8] 李清, 王洪, 郭禄芹, 罗秋兰. 大豆 Whirly 基因家族的鉴定和表达分析. *大豆科学*, 2019, 38(2): 204-211
Li Q, Wang H, Guo L Q, Luo Q L. Identification and expression analysis of soybean Whirly gene family. *Soybean Science*, 2019, 38(2): 204-211
- [9] Zhao S Y, Wang G D, Zhao W Y, Zhang S, Kong F Y, Dong X C, Meng Q W. Overexpression of tomato *WHIRLY* protein enhances tolerance to drought stress and resistance to *Pseudomonas solanacearum* in transgenic tobacco. *Biologia Plantarum*, 2018, 62(1): 55-68
- [10] 吕艳艳, 魏小春, 赵艳艳, 原玉香, 王志勇, 杨双娟, 郑小兰, 姜俊, 李艳, 张梦园, 姚秋菊, 张强, 张晓伟. 辣椒 Whirly 基因家

- 族的鉴定及表达分析. 华北农学报, 2019, 34(2): 72-78
- Lv Y Y, Wei X C, Zhao Y Y, Yuan Y X, Wang Z Y, Yang S J, Zheng X L, Jiang J, Li Y, Zhang M Y, Yao Q J, Zhang Q, Zhang X W. Identification and expression analysis of pepper Whirly gene family. North China Agricultural Journal, 2019, 34 (2): 72-78
- [11] Desveaux D, Marechal A, Brisson N. Whirly transcription factors; Defense gene regulation and beyond. Trends in Plant Science, 2005, 10(2): 95-102
- [12] Desvesux D, Després C, Joyeux A, Subramaniam R, Brisson N. PBF-2 is a novel single-stranded DNA binding factor implicated in PR-10a gene activation in potato. The Plant Cell, 2000, 12(8): 1477-1489
- [13] Desvesux D, Subramaniam R, Després C, Mess J N, Lévesque C, Fobert P R, Dangel J L, Brisson, N. A "Whirly" transcription factor is required for salicylic acid-dependent disease resistance in *Arabidopsis*. Developmental Cell, 2004, 6 (2): 229-240
- [14] 孙宇, 刘志鑫, 叶子, 罗睿雄, 蒲金基, 张贺. 杧果 Whirly 基因鉴定及其在病菌侵染过程中的表达分析. 西北植物学报, 2021, 41(1): 37-45
- Sun Y, Liu Z X, Ye Z, Luo R X, Pu J J, Zhang H. Identification of the Whirly gene in mango and its expression analysis during pathogen infection. Northwest Botanical Journal, 2021, 41 (1): 37-45
- [15] Janack B, Sosoi P, Krupinska K, Humbeck K. Knockdown of *WHIRLY1* affects drought stress-induced leaf senescence and histone modifications of the senescence-associated gene *HvS40*. Plants, 2016, 5(3): 37
- [16] Isemer R, Krause K, Grabe N, Kitahata N, Asami T, Krupinska K. Plastid located *WHIRLY1* enhances the responsiveness of *Arabidopsis* seedlings toward abscisic acid. Frontiers in Plant Science, 2012, 3: 283
- [17] 杨洋, 赖恭梯, 赖钟雄. 三明野生蕉 Whirly 转录因子的克隆及其在低温胁迫下的定量表达分析. 热带作物学报, 2014, 35(8): 1533-1538
- Yang Y, Lai G T, Lai Z X. Cloning and quantitative expression analysis of the transcription factor Whirly in Sanming wild banana under low temperature stress. Journal of Tropical Crops, 2014, 35(8): 1533-1538
- [18] Miao Y, Jiang J, Ren Y, Zhao Z. The single-stranded DNA-binding protein WHIRLY1 represses *WRKY53* expression and delays leaf senescence in a developmental stage-dependent manner in *Arabidopsis*. Plant Physiology, 2013, 163 (2): 746-756
- [19] Zhang Y, Hou M, Tan B. The requirement of *WHIRLY1* for embryogenesis is dependent on genetic background in maize. PLoS ONE, 2013, 8(6): e67369
- [20] 黄晨星, 任育军, 李燕云, 缪颖. 拟南芥 *WHIRLY2* 基因超表达引起拟南芥角果发育异常的分子细胞学分析. 福建农林大学学报: 自然科学版, 2016, 45(3): 277-281
- Huang C X, Ren Y J, Li Y Y, Miao Y. Molecular cytological analysis of *Arabidopsis thaliana* cuticle dysplasia caused by overexpression of *WHIRLY2* gene. Journal of Fujian Agriculture and Forestry University: Natural Science Edition, 2016, 45 (3): 277-281
- [21] 孔凡英, 邓永胜, 周斌, 孟庆伟. Whirly 转录因子研究进展. 植物生理学报, 2012, 48(7): 643-653
- Kong F Y, Deng Y S, Zhou B, Meng Q W. Research progress on Whirly transcription factors. Journal of Plant Physiology, 2012, 48 (7): 643-653
- [22] 庞强强. 茄子 *HSFs* 和 *HSPs* 基因鉴定及其在高温下的表达模式分析. 广州: 华南农业大学, 2016
- Pang Q Q. Identification of *HSFs* and *HSPs* genes in eggplant and analysis of their expression patterns under high temperature. Guangzhou: South China Agricultural University, 2016
- [23] 李涛, 孙保娟, 李植良, 黎振兴, 罗少波, 徐小万, 衡周, 官超, 游倩. 茄子对青枯病的抗性机制研究现状与展望. 广东农业科学, 2021, 48(9): 40-50
- Li T, Sun B J, Li Z L, Li Z X, Luo S B, Xu X W, Heng Z, Gong C, You Q. Current status and prospects of research on the resistance mechanism of eggplant to bacterial wilt. Guangdong Agricultural science, 2021, 48 (9): 40-50
- [24] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. Methods, 2001, 25(4): 402-408
- [25] 王谧, 周晓慧, 刘松瑜, 杨艳, 刘军, 庄勇. 茄子果实绵疫病病原菌鉴定与种质资源抗性评价. 植物遗传资源学报, 2022, 23(5): 1281-1286
- Wang M, Zhou X H, Liu S Y, Yang Y, Liu J, Zhuang Y. Identification of pathogens conferring phytophthora fruit rot and their reactions in eggplant germplasm resources. Journal of Plant Genetic Resources, 2022, 23 (5): 1281-1286
- [26] Wang B, Duan H, Chong P, Su S, Shan L, Yi D, Wang L, Li Y. Systematic selection and validation of suitable reference genes for quantitative realtime PCR normalization studies of gene expression in *Nitraria tangutorum*. Scientific Reports, 2020, 10: 1-10
- [27] Krupinska K, Desel C, Frank S, Hensel G. WHIRLIES are multifunctional DNA-binding proteins with impact on plant development and stress resistance. Frontiers in Plant Science, 2022, 13: 880423
- [28] Wei Q, Wang J, Wang W, Hu T, Hu H, Bao C. A high-quality chromosome-level genome assembly reveals genetics for important traits in eggplant. Horticulture Research, 2020, 7: 153
- [29] Akbudak M, Filiz E. Whirly (*Why*) transcription factors in tomato (*Solanum lycopersicum* L.): Genome-wide identification and transcriptional profiling under drought and salt stresses. Molecular Biology Reports, 2019, 46: 4139-4150
- [30] 庄焜扬. 温度胁迫下番茄叶绿体与细胞核双定位 *WHIRLY1* 蛋白的功能分析. 泰安: 山东农业大学, 2020
- Zhuang K Y. Functional analysis of dual localization

- WHIRLY1 protein in tomato chloroplasts and nuclei under temperature stress. Taian: Shandong Agricultural University, 2020
- [31] 赵淑亚. 番茄 *SIWHY2* 基因的克隆、表达和功能分析. 泰安: 山东农业大学, 2016
- Zhao S Y. Cloning, expression and functional analysis of tomato *SIWHY2* gene. Taian: Shandong Agricultural University, 2016
- [32] Yan Y, Liu W, Wei Y, Shi H. MeCIPK23 interacts with Whirly transcription factors to activate abscisic acid biosynthesis and regulate drought resistance in cassava . Plant Biotechnology Journal, 2020, 18: 1504-1506
- [33] Zhou L, Li J, He Y, Liu Y, Chen H. Functional characterization of *SmCBF* genes involved in abiotic stress response in eggplant (*Solanum melongena*) . Scientia Horticulturae, 2018, 233: 14-21
- [34] Lai C, Que Q, Pan R, Pan R, Wang Q, Gao H, Guan X, Che J, Lai Get. The single-stranded DNA-binding gene *Whirly* (*Why1*) with a strong pathogen-induced promoter from *Vitis pseudoreticulata* enhances resistance to *Phytophthora capsici*. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23: 8052