

引文格式: 齐建伟, 鲁松松, 黄海霞, 等. 裸果木超氧化物歧化酶基因家族鉴定及对盐胁迫的响应分析[J]. 云南农业大学学报(自然科学), 2023, 38(5): 856–867. DOI: [10.12101/j.issn.1004-390X\(n\).202211043](https://doi.org/10.12101/j.issn.1004-390X(n).202211043)

裸果木超氧化物歧化酶基因家族鉴定及 对盐胁迫的响应分析*

齐建伟, 鲁松松, 黄海霞**, 张 婷, 周晓瑾
(甘肃农业大学 林学院, 甘肃 兰州 730070)

摘要: 【目的】鉴定裸果木超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)基因家族成员组成, 分析在 NaCl 胁迫下裸果木 SOD 基因在叶组织中的表达调控模式, 并探索裸果木 SOD 基因家族对环境的适应性进化机制。【方法】以裸果木叶组织为材料, 利用植物生理学和生物信息学相关方法初步对裸果木 SOD 基因家族进行鉴定和盐胁迫下的表达分析。【结果】共鉴定到 7 个 SOD 成员, FSD、CSD 和 MSD 3 个亚家族组成模式为 2:3:2, 均受到纯化选择。裸果木 SOD 基因共包含 7 个蛋白保守基序, 且均为亲水性蛋白质, 但稳定性较差。叶片 SOD 酶活性随着 NaCl 质量分数的增大呈先增强后减弱的趋势, 且在 0.5% NaCl 处理下活性最高; 在 1.5% NaCl 处理下, SOD 活性也显著高于对照。盐胁迫下, 叶组织中 FSD、CSD1、CSD3 和 MSD2 基因表达显著上调, 其中 FSD1 和 CSD1 基因表达最高。CSD1 基因存在的变异位点可能会导致其蛋白质活性中心增大。【结论】裸果木 SOD 基因家族包含 7 个成员, 其中 FSD1 和 CSD1 基因在盐胁迫下的高表达可能是裸果木具有较强耐盐能力的原因之一。此外, FSD1 和 CSD1 氨基酸位点突变导致的蛋白质亲水性升高和活性中心增大对提升 SOD 的催化活性有一定作用。

关键词: 裸果木; 超氧化物歧化酶; 基因家族鉴定; 表达量; 蛋白质结构

中图分类号: S793.901 文献标志码: A 文章编号: 1004-390X (2023) 05-0856-12

Identification of Superoxide Dismutase Gene Family in *Gymnocarpus przewalskii* and its Response to Salt Stress

QI Jianwei, LU Songsong, HUANG Haixia, ZHANG Ting, ZHOU Xiaojin
(College of Forestry, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China)

Abstract: [Purpose] To identify the members of the superoxide dismutase (SOD) gene family of *Gymnocarpus przewalskii*, analyze the expression regulation mode of the SOD gene in leaf tissues under NaCl stress, and explore the adaptive evolution mechanism of the SOD gene family of *G. przewalskii* to the environment. [Methods] Leaves of *G. przewalskii* were used as experimental materials, the SOD gene family of *G. przewalskii* was identified and expression pattern was analyzed by plant physiological method and bioinformatics. [Results] Seven SOD genes were identified, and the

收稿日期: 2022-11-22 修回日期: 2023-08-21 网络首发日期: 2023-09-20

*基金项目: 甘肃省青年基金科技计划 (18JR3RA184); 甘肃农业大学创新基金—公招博士科研启动基金 (2017RCZX-23); 甘肃农业大学科技创新基金—学科建设专项基金 (GAU-XKJS-2018-101); 甘肃农业大学学科建设专项基金 (GSAU-XKJS-2018-110)。

作者简介: 齐建伟 (1996—), 男, 甘肃平凉人, 硕士研究生, 主要从事野生动植物生理生态及分子生态研究。E-mail: 353561330@qq.com

**通信作者 Corresponding author: 黄海霞 (1974—), 女, 甘肃民勤人, 博士, 副教授, 主要从事野生植物生理生态和分子生态研究。E-mail: 1057821914@qq.com

网络首发地址: <https://link.cnki.net/urlid/53.1044.S.20230918.2245.001>



composition pattern of its subfamily *FSD*, *CSD* and *MSD* was 2 : 3 : 2, which were all under purifying selection. The *SOD* gene family of *G. przewalskii* contained seven protein conserved motifs, and the proteins were hydrophilic with weak stability. SOD activity in *G. przewalskii* leaves increased firstly then decreased, reaching the highest at 0.5% NaCl treatment, and SOD activity at 1.5% NaCl treatment was also significantly higher than that under the control. Under salt stress, *FSD*, *CSD1*, *CSD3* and *MSD2* genes were all significantly up-regulated, among which *FSD1* and *CSD1* genes had the highest expression level. The variation site of *CSD1* gene in *G. przewalskii* leaves may lead to the increase of protein active center. [**Conclusion**] The *SOD* gene family of *G. przewalskii* contains seven members, and the high expression of *FSD1* and *CSD1* genes under salt stress may be one of the reasons why *G. przewalskii* has strong salt tolerance. In addition, the increases of protein hydrophilicity and active center caused by amino acid site mutation of *FSD1* and *CSD1* have a certain effects on the catalytic activity of SOD.

Keywords: *Gymnocarpos przewalskii*; superoxide dismutase; gene family identification; expression level; protein structure

盐分、干旱和温度等多种环境压力导致的植物体自由基积累给逆境植物的生存带来了巨大的挑战^[1]。活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 是植物细胞中响应环境胁迫产生的有毒自由基之一, 包括超氧阴离子 (O_2^-)、过氧化氢 (H_2O_2)、羟自由基 ($OH^\cdot$) 和单线态氧 (1O_2) 等, 会导致大分子过氧化和降解 (如脂质、蛋白质和核酸等), 损伤细胞膜, 最终导致细胞死亡^[2-4]。经过长期的自然选择, 植物进化出了复杂的防御机制来减轻逆境胁迫对其造成的损害。植物对 ROS 水平的调控主要依赖酶促系统和非酶促系统的共同调节^[5]。其中酶促系统主要依赖抗氧化酶清除 ROS, 如超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、过氧化物酶 (peroxidase, POD) 和抗坏血酸—谷胱甘肽循环酶 (ascorbic acid-glutathione, AsA-GSH) 等, 它们能够减少 ROS 对植物体产生的不利影响^[6]。对植物细胞的研究发现: 抗氧化酶类的活性与植物的自身代谢、植物逆境胁迫耐受程度密切相关^[7], 可作为衡量植物抗逆水平的指标之一, 其中 SOD 作为抗氧化系统的第一道防线, 对植物体 ROS 清除意义重大。

SOD 是催化 O_2^- 发生歧化反应 ($2O_2^- + 2H^+ \rightarrow O_2 + H_2O_2$) 的金属酶, 在抗氧化酶系统中处于核心地位。在植物体中存在多种 SOD 同工酶, 根据其催化活性部位金属离子的不同将其分为 Cu/Zn-SOD (CSD)、Mn-SOD (MSD) 和 Fe-SOD (FSD) 3 个亚家族^[8]。研究发现: 植物体内 O_2^- 的产生主

要来源于质膜 NADPH 氧化酶自身的激活或失活反应, 以及叶绿体、线粒体和过氧化物酶体中的氧化和电子传递反应, 而 CSD、FSD 和 MSD 分别主要在胞质、叶绿体、线粒体和过氧化物酶体中呈组成型表达, 确保植物体受到生物及非生物胁迫时 SOD 能够在不同的亚细胞发挥作用^[9]。大量研究表明植物体内 SOD 活性增强能显著提高植物对多种逆境胁迫的抗性。MA 等^[10]研究发现: 与水稻敏感品系相比, 在盐碱胁迫下耐受品系 SOD 活性显著升高, 明显提高了其对盐胁迫的耐受性。已有研究发现: 盐胁迫可以诱导黑麦草 (*Lolium perenne*) 胞质 Cu/Zn-SOD、胞外 Cu/Zn-SOD 以及 Fe-SOD 等基因表达, 使黑麦草增强了对盐分的耐受性^[11]。SOD 活性的增强对植物耐性的提升有一定限度, 当植物体内的 ROS 水平超过阈值, 植物的抗氧化系统就会遭到破坏, 导致植物 ROS 代谢失调, 对植物自身造成一定损伤, 如随着盐碱处理浓度的升高, 蒙古柳 (*Salix linearistipularis*) 雌雄株扦插苗 SOD 活性呈先升高后降低的趋势^[12]。

裸果木 (*Gymnocarpos przewalskii*) 为石竹科 (Caryophyllaceae) 裸果木属 (*Gymnocarpos*) 植物, 主要分布于亚洲中部荒漠区域, 是荒漠植被的重要建群种之一, 在防风固沙、改良盐碱地和维持荒漠生态平衡等方面发挥着重要作用^[13]。由于裸果木生境条件恶劣多变, 经过长期的自然选择, 其在生理生化和形态解剖结构方面均表现出对盐

渍和干旱等极端环境适应的典型特征,是研究植物抗盐机理的天然优良材料^[14-16]。目前,有关裸果木适应盐胁迫的研究已有报道,但研究内容只涉及盐胁迫对其种子萌发的影响^[17],并未涉及幼苗相关抗氧化酶活性对盐胁迫的响应及其相关分子基础。本研究以裸果木幼苗为材料,采用不同质量分数的 NaCl 处理模拟盐胁迫,利用植物生理学和分子生物学的研究方法对裸果木的 SOD 酶活性和 SOD 基因家族进行分析,旨在探索裸果木幼苗叶组织 SOD 酶活性和 SOD 基因对盐胁迫响应的机理,为裸果木资源保护和逆境胁迫响应机理研究提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 试验材料处理

供试裸果木种子于 2021 年采自安西极旱荒漠国家级自然保护区植物园,采种地位于甘肃省酒泉市瓜州县境内(N40°29'53", E95°44'12", 海拔 1800~2334 m)。根据预试验结果,2.5% NaCl 处理下,裸果木幼苗的出苗率和成活率受到显著影响,生长势明显减弱,故将供试种子分别播种于使用质量分数为 0、0.5%、1.5% 和 2.5% NaCl 处理过的基质($m_{\text{泥炭土}}:m_{\text{蛭石}}=3:1$)中,再放置于人工气候箱培育至茎叶健壮,采集叶片用于转录组测序和 SOD 酶活性测定。培育条件为:28℃ 恒温,光照时间 14 h/d,湿度 60%。叶片采样时使用液氮速冻后置于超低温冰箱中(-80℃)保存备用。

1.2 转录组测序与酶活性测定

各 NaCl 处理组叶片分别取 0.6 g (3 个生物学重复)用于转录组测序。用 Invitrogen TRIZOL Reagent (Cat.No. 15596-018) 试剂盒提取和纯化裸果木叶片的总 RNA,使用安捷伦 2100 RNA Nano 6000 Assay Kit (Agilent Technologies, CA, USA) 检测 RNA 样品的浓度和完整性,后送样至安诺优达基因科技(北京)有限公司完成裸果木叶组织转录组测序。

每个 NaCl 处理组分别称取新鲜叶片 0.2 g 置于研钵中,加 pH 值为 7.8 的磷酸缓冲液(内含 5 mmol/L EDTA, 2 mmol/L AsA, 2% PVP) 3 mL 研磨成匀浆,定容至 5 mL;在 4℃、12000 r/min 下离心 20 min,上清液即为酶提取液。采用氮蓝四唑还原法^[18]测定裸果木的 SOD 酶活性。

1.3 裸果木 SOD 基因家族生物信息学分析

1.3.1 转录本组装和 SOD 基因家族成员鉴定

使用自编 Perl 语言脚本剔除转录组原始测序数据中测序质量值不高的 Reads,剔除条件为:未知碱基(N)超过总读长 5%、低质量碱基(<7)超过总读长 65%。将过滤后的数据使用 Trinity 2.11.0 软件^[19]完成转录本组装,组装参数设置为默认。从 NCBI 数据库下载已有基因组测序数据的中央种子目物种苍白茎藜(*Chenopodium pallidicaule*)、甜菜(*Beta vulgaris*)、细小蝇子草(*Heliosperma pusillum*)、海滨蝇子草(*Silene uniflora*)、菠菜(*Spinacia oleracea*)和拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)的基因组文件、蛋白质文件以及注释文件,并使用获取的基因组和转录本文件构建本地 BLAST 索引^[20]备用。

基因家族成员的鉴定参照 LOZANO 等^[21]的方法,并结合中央种子目物种和拟南芥 SOD 基因的 BLAST 比对结果进行。首先,从 Pfam 数据库(<http://pfam.xfam.org/>)下载 Cu/ZnSOD(PF00080) Fe-SOD (PF00081) 和 Mn-SOD (PF02777) 的隐马尔科夫模型,接着使用 hmmsearch 程序在下载基因组中搜索得到包含 SOD 蛋白保守结构域的蛋白质序列,然后使用 hmmbuild 程序基于上一步得到的序列构建该物种新的隐马尔科夫模型,之后再重复第 1 步得到 SOD 基因家族的候选成员。使用在线程序 NCBI-CDD (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/cdd/>) 和 Pfam(<http://www.sanger.ac.uk/software/pfam/>) 进一步分析其保守结构域,剔除不含 SOD 保守结构域的序列和冗余序列;然后使用 BLASTN 将得到的序列比对到基因组文件中以确定是否有遗漏的基因(假基因);最后使用线上 BLASTN 将得到的序列比对到 NT/NR 库中对获得的候选序列进行准确性检验,最终获得的基因则为该物种 SOD 家族基因。将上述中央种子目物种和拟南芥 SOD 基因准确鉴定后,使用本地 BLASTN 将准确鉴定的 SOD 基因家族成员序列比对到裸果木叶组织转录本中,得到裸果木 SOD 基因家族成员 CDS 序列,当比对结果中出现多个可变剪切体时,根据同源性选择最长的 CDS 序列用于后续分析。

1.3.2 系统进化关系重建、基因结构和蛋白保守基序分析

根据基因鉴定结果,使用 6 个中央种子目物

种和拟南芥 *SOD* 基因家族各成员的 CDS 序列构建系统进化树。使用基于最大似然的 PhyML-3.1 软件^[22]对上述 7 个物种的 *SOD* 基因进行系统发生关系推断。模型预测用 jModelTest 软件^[23]进行,依照赤池信息标准 (AICc) 计算得到最优模型。PhyML-3.1 软件序列类型选择 interleaved,模型选择使用上述预测的最优模型,最优进化树的搜寻方法选择 SPR 法,Bootstrap 设置为 1000 代,其他参数选择默认值。使用在线绘制软件 GSDS 2.0 绘制基因结构图^[24](<http://gsds.gao-lab.org/>)。利用在线网站 MEME^[25](<http://meme-suite.org/tools/meme>)对裸果木 *SOD* 基因家族成员进行蛋白保守基序分析,根据 *P* 值设置基序的最大数值设为 7,基序的长度设置介于 6~200 之间,其他参数使用默认参数。对得到的保守基序使用 CDD 进行功能注释。

1.3.3 蛋白质理化性质和选择压力分析

使用 ExPASy (<https://web.expasy.org/protparam/>) 在线工具对鉴定的裸果木 *SOD* 蛋白序列进行蛋白质理化性质分析。参考 IVANOVA 等^[26]的分析策略,使用 KaKs_Calculator 2.0 软件计算中央种子目 6 个物种 *SOD* 基因家族各成员受到的选择压力。

1.3.4 基因表达量计算与分析

基因表达量计算使用 Bowtie2 2.2.9 进行。将裸果木 *SOD* 基因家族各成员的 CDS 序列比对到叶片转录物组数据中,用自编 Perl 语言脚本统计比对上的读段数。表达量 (RPKM) 表示为每百万读段比对到基因每 kb 碱基上的读段数。使用 SPSS 22.0 的单因素方差 (one-way ANOVA) 分析处理间的差异显著性 ($P < 0.05$)。

1.3.5 cSNP 位点分析和蛋白质结构比较

使用 MEGA X 软件对 6 个中央种子目物种 *SOD* 基因序列进行比对,分析裸果木 *FSD1* 和 *CSD1* 基因序列的非同义性单核苷酸多态性位点 (coding-regionSNP, cSNP)。FSD1 和 CSD1 蛋白质同源建模使用 Modeller 软件^[27]完成,同源模板搜索使用 SWISS-MODEL^[28]在线服务 (<https://swissmodel.expasy.org/interactive>) 和 NCBI-BLASTP 完成。根据模版搜索结果,FSD1 选择拟南芥 FSD2 蛋白衍射晶体结构 7BJK (2.3 Å) 和豇豆 (*Vigna unguiculata*) FSD 蛋白衍射晶体结构 1UNF (2.0 Å) 作为共同模版;CSD1 蛋白质同源模板选择菠菜

CSD 蛋白质衍射晶体结构 1SRD (2.0 Å) 作为模版。分别使用 Modeller 多模版建模和单模版建模完成裸果木 FSD1 和 CSD1 蛋白质建模,每个蛋白质共构建 100 个模型,然后使用 DOPE 和 GA341 两种方法进行评估并选择最优模型用于后续分析。蛋白质活性口袋分析使用在线工具 PROTEINS PLUS 软件 (<https://proteins.plus/>) 进行。使用软件 missense3d (<http://missense3d.bc.ic.ac.uk/missense3d/>) 完成蛋白质定点突变预测。最后使用 VMD 1.9.4 软件^[29]完成 FSD1 和 CSD1 蛋白质 3D 结构的比较和可视化展示。

2 结果与分析

2.1 裸果木 *SOD* 基因结构、系统发生关系及基序分析

基因鉴定结果 (表 1) 表明:拟南芥 *SOD* 基因家族共包含 *FSD*、*CSD* 和 *MSD* 3 个亚家族,每个亚家族分别有 4、3 和 2 个家族成员。6 个中央种子目植物与拟南芥相似,均由 *FSD*、*CSD* 和 *MSD* 3 个亚家族组成。藜科植物 *SOD* 基因家族均由 2 个 *FSD*、4 个 *CSD* 和 1 个 *MSD* 基因组成,而石竹科植物 *SOD* 基因家族成员组成差异较大。裸果木和海滨蝇子草 *SOD* 基因家族均包含 7 个家族成员,分别是 2 个 *FSD*、3 个 *CSD* 和 2 个 *MSD*;与裸果木不同,细小蝇子草基因组只包含 6 个 *SOD* 基因家族成员,分别是 2 个 *FSD*、3 个 *CSD* 和 1 个 *MSD*。基因家族系统发生关系 (图 1) 显示:6 个中央种子目植物 *SOD* 基因 *FSD*、*CSD* 和 *MSD* 3 个亚家族基因聚为 3 个主要分支,Bootstrap 支持率分别为 0.80、0.57 和 0.99。

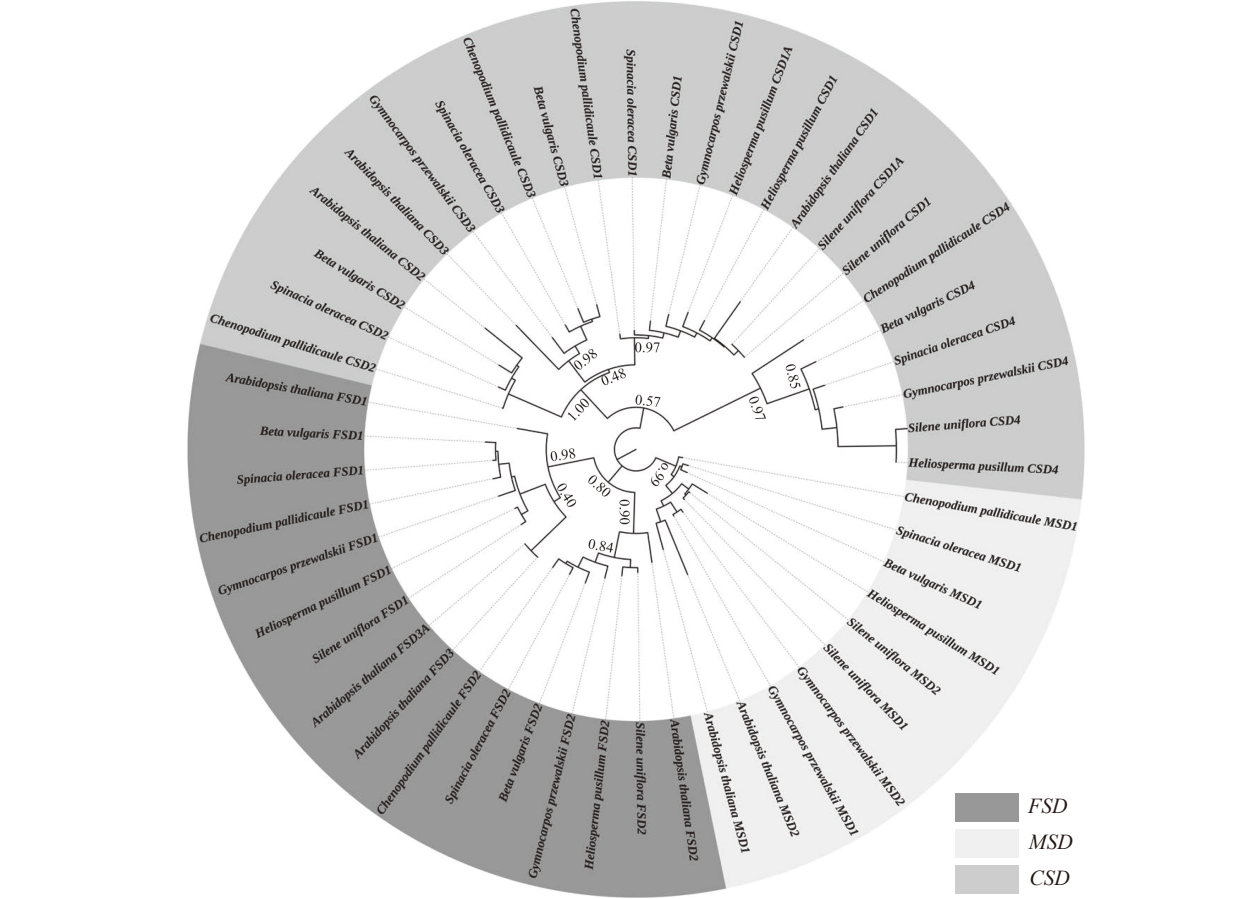
中央种子目植物和拟南芥 *SOD* 基因家族成员基因结构 (图 2) 显示:中央种子目植物 *SOD* 基因家族大多数成员比较保守,有少数基因在藜科植物和石竹科植物中存在较大差异。除海滨蝇子草 *FSD2* 基因有 7 个外显子外,其他 *FSD1* 和 *FSD2* 基因均为 8 外显子 7 内含子结构,基因全长介于 3.8~6.3 kb 之间。值得注意的是,细小蝇子草和海滨蝇子草 *CSD4* 基因为 4 外显子 3 内含子结构,但是藜科植物 *CSD4* 基因均有 6 个外显子,CDS 序列比对发现裸果木 CDS 序列长度与藜科植物相同,推测裸果木 *CSD4* 基因结构也为 6 外显子 5 内含子结构。蛋白保守基序预测结果 (图 3) 显示:藜科植物和石竹科植物 *CSD4* 均只

表 1 中央种子目植物和拟南芥 *SOD* 基因家族成员鉴定结果

Tab. 1 Identification of *SOD* gene family members in Centrospermae plants and *Arabidopsis thaliana*

物种和基因 species and gene	科 family	基因位置 genomic location	mRNA 登录号 mRNA accession number
<i>Arabidopsis thaliana</i> FSD1	十字花科 Cruciferae	NC_003075.7: 12 886 501-12 884 649	NM_179 109.3
<i>Arabidopsis thaliana</i> FSD2		NC_003076.8: 7 850 624-7 852 241	NM_122 237.4
<i>Arabidopsis thaliana</i> FSD3		NC_003076.8: 20 775 635-20 773 357	NM_001344920.1
<i>Arabidopsis thaliana</i> FSD3A		NC_003075.7: 271 879-271 487	NM_001160723.1
<i>Arabidopsis thaliana</i> CSD1		NC_003070.9: 2 827 700-2 828 807	NM_100 757.4
<i>Arabidopsis thaliana</i> CSD2		NC_003071.7: 12 014 548-12 016 119	NM_128 379.4
<i>Arabidopsis thaliana</i> CSD3		NC_003076.8: 5 987 221-5 988 706	NM_121 815.3
<i>Arabidopsis thaliana</i> MSD1		NC_003074.8: 3 418 015-3 419 581	NM_111 929.4
<i>Arabidopsis thaliana</i> MSD2		NC_003074.8: 20 895 625-20 894 155	NM_115 493.4
<i>Gymnocarpus przewalskii</i> FSD1	石竹科 Caryophyllaceae	*	*
<i>Gymnocarpus przewalskii</i> FSD2		*	*
<i>Gymnocarpus przewalskii</i> CSD4		*	*
<i>Gymnocarpus przewalskii</i> CSD1		*	*
<i>Gymnocarpus przewalskii</i> CSD3		*	*
<i>Gymnocarpus przewalskii</i> MSD1		*	*
<i>Gymnocarpus przewalskii</i> MSD2		*	*
<i>Heliosperma pusillum</i> FSD1		JAIUZE010018124.1: 11 847-15 799	*
<i>Heliosperma pusillum</i> FSD2		JAIUZE010000002.1: 140 516-136 928	*
<i>Heliosperma pusillum</i> CSD4		JAIUZE010067092.1: 3 384-5 050	*
<i>Heliosperma pusillum</i> CSD1		JAIUZE010073259.1: 285 813-288 035	*
<i>Heliosperma pusillum</i> CSD1A		JAIUZE010070098.1: 178 071-179 888	*
<i>Heliosperma pusillum</i> MSD1		JAIUZE010008127.1: 79 107-76 112	*
<i>Silene uniflora</i> FSD1		JAGPOY010018870.1: 5 491-2 120	*
<i>Silene uniflora</i> FSD2		JAGPOY010002330.1: 7 452-11 037	*
<i>Silene uniflora</i> CSD4		JAGPOY010003172.1: 23 432-25 100	*
<i>Silene uniflora</i> CSD1		JAGPOY010001333.1: 40 498-38 310	*
<i>Silene uniflora</i> CSD1A		JAGPOY010011427.1: 964-0	*
<i>Silene uniflora</i> MSD1		JAGPOY010014232.1: 7 069-2 430	*
<i>Silene uniflora</i> MSD2		JAGPOY010011731.1: 4 295-262	*
<i>Beta vulgaris</i> FSD1	藜科 Chenopodiaceae	NC_025816.2: 6 234 788-6 228 677	*
<i>Beta vulgaris</i> FSD2		NC_025818.2: 40 177 518-40 172 416	*
<i>Beta vulgaris</i> CSD4		NC_025816.2: 4 914 930-4 919 486	*
<i>Beta vulgaris</i> CSD1		NC_025815.2: 15 147 045-15 150 139	XM_048643263.1
<i>Beta vulgaris</i> CSD2		NC_025820.2: 8 642 105-8 643 606	XM_010690943.3
<i>Beta vulgaris</i> CSD3		NW_017567370.1: 79 949-75 243	XM_048641553.1
<i>Beta vulgaris</i> MSD1		NC_025813.2: 38 245 103-38 248 668	XM_010672327.3
<i>Spinacia oleracea</i> FSD1		NW_018931542.1: 472 076-476 008	*
<i>Spinacia oleracea</i> FSD2		NW_018931921.1: 9 755-14 589	*
<i>Spinacia oleracea</i> CSD4		NW_018931441.1: 557 804-561 552	*
<i>Spinacia oleracea</i> CSD1		NW_018933314.1: 21 108-24 616	XM_021980495.1
<i>Spinacia oleracea</i> CSD2		NW_018931532.1: 503 914-502 172	XM_021992599.1
<i>Spinacia oleracea</i> CSD3		NW_018931535.1: 211 206-208 540	XM_021992686.1
<i>Spinacia oleracea</i> MSD1		NW_018932804.1: 356 909-364 539	XM_022007118.1
<i>Chenopodium pallidicaule</i> FSD1		MATR01001300.1: 30 440-27 605	*
<i>Chenopodium pallidicaule</i> FSD2		MATR01000265.1: 180 148-176 382	*
<i>Chenopodium pallidicaule</i> CSD1		MATR01000264.1: 257 344-260 369	*
<i>Chenopodium pallidicaule</i> CSD4		MATR01000261.1: 320 327-316 450	*
<i>Chenopodium pallidicaule</i> CSD2		MATR01000024.1: 784 224-782 104	*
<i>Chenopodium pallidicaule</i> CSD3		MATR01001549.1: 14 852-21 045	*
<i>Chenopodium pallidicaule</i> MSD1		MATR01000148.1: 624 885-628 670	*

注：“*”代表本研究鉴定的基因。
Note: “*” represents the genes identified in this study.



注: 分枝节点数字表示 bootstrap 值。
Note: Branch numbers indicate bootstrap values.

图 1 中央种子目物种 *SOD* 基因家族系统发生树
Fig. 1 Phylogenetic tree of *SOD* gene family of Centrospermae species

包含 cl33606 超家族结构域 (PLN02957), 所以推测其功能并没有变化。裸果木 *SOD* 基因家族包含 8 个 motif, 其中 *CSD* 亚家族包含 motif4 和 motif7, 但 *CSD4* 只有 motif4。*FSD* 亚家族和 *MSD* 亚家族均包含 motif2、motif6、motif3 和 motif1, 且 5'端均为 motif2, 二者不同的是 *MSD* 亚家族还包含 motif5。NCBI-CDD 检测结果显示: motif5 是 *MSD* 亚家族特有的保守基序。

2.2 裸果木 *SOD* 基因选择压力和蛋白质理化性质分析

由表 2 可知: 裸果木 *SOD* 基因家族非同义突变率/同义突变率 (K_a/K_s) 值均小于 1, 故认为裸果木 *SOD* 基因家族受到纯化选择; 裸果木 *SOD* 基因家族编码 152~306 个氨基酸, 分子量介于 15 109.74~32 884.70 之间; 该基因家族均为亲水性蛋白质, 且多数为不稳定蛋白质 (不稳定系数>30)。

2.3 裸果木叶片 *SOD* 活性及其基因表达量

由图 4a~g 可知: 裸果木 *SOD* 基因家族 7 个成员均在叶片中表达, 其中 *FSD1* 和 *CSD1* 的表达量最高。随着 NaCl 质量分数的增加, *CSD1* 的表达量呈先升高后降低的变化趋势, 并在 0.5% NaCl 处理下达到最高, 较 CK 处理显著高 52.53%。*FSD1* 基因表达与 *CSD1* 有明显差异, 受到 NaCl 胁迫时, *FSD1* 基因表达量呈上调—下调—上调的调节模式, 并在 0.5% NaCl 处理时达到最高, 显著高于 CK 处理的表达量, 为 CK 处理的 1.84 倍。*CSD3* 基因与 *MSD1* 和 *MSD2* 基因的表达模式不同, 在 0~1.5% NaCl 处理时, *CSD3* 表达持续上调, 并在 1.5% NaCl 时达到最大值, 显著高于 CK 处理; *MSD2* 基因的表达模式与 *CSD1* 基因相似, 随 NaCl 质量分数的升高呈先上调后下调的表达模式, 但下降幅度较 *CSD1* 基因小。*FSD2* 基因和 *CSD4* 基因表达量最低, 其中 *CSD4* 基因

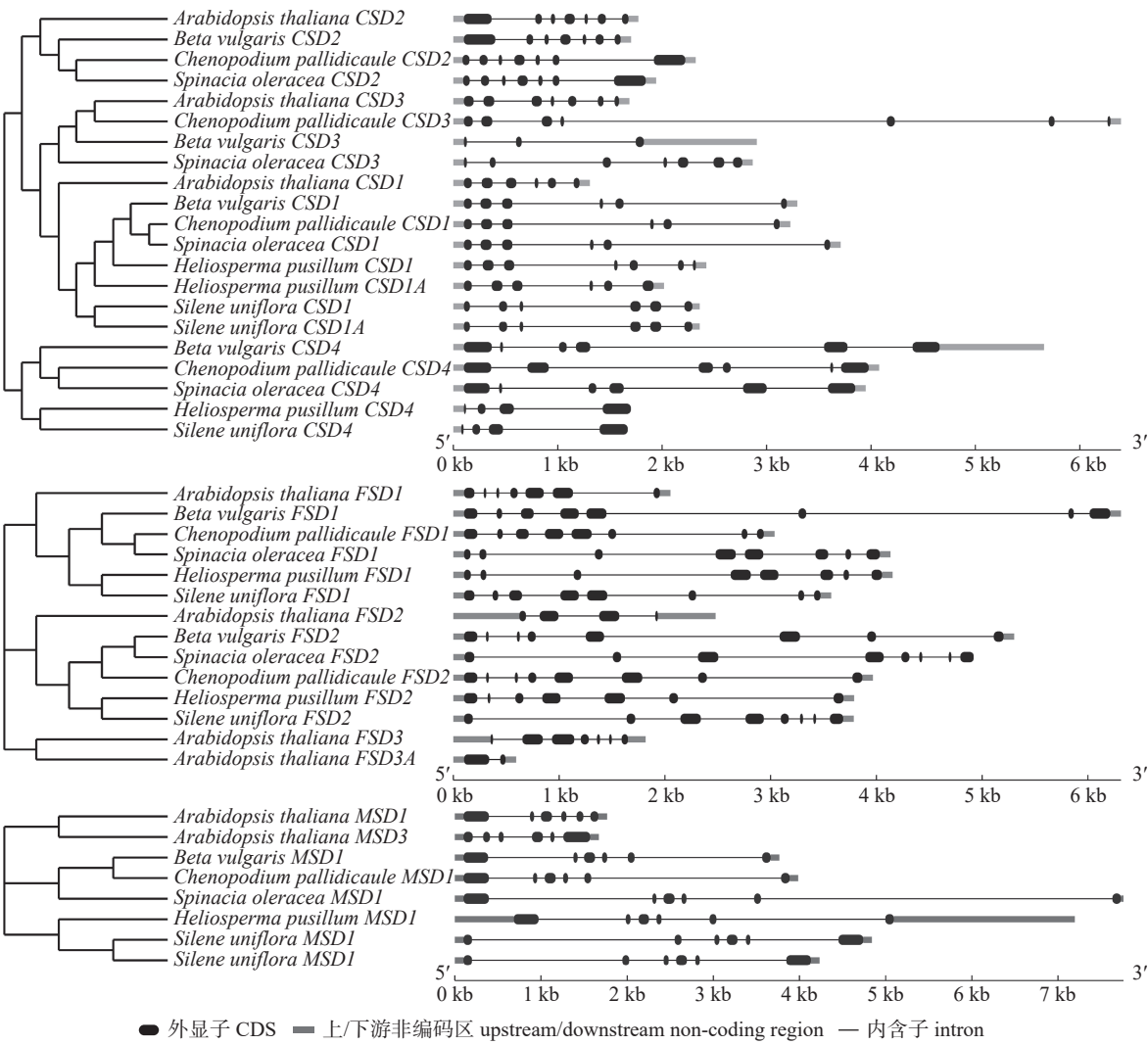


图 2 中央种子目物种 *SOD* 基因家族成员结构

Fig. 2 Family member structure of *SOD* gene in Centrospermae species

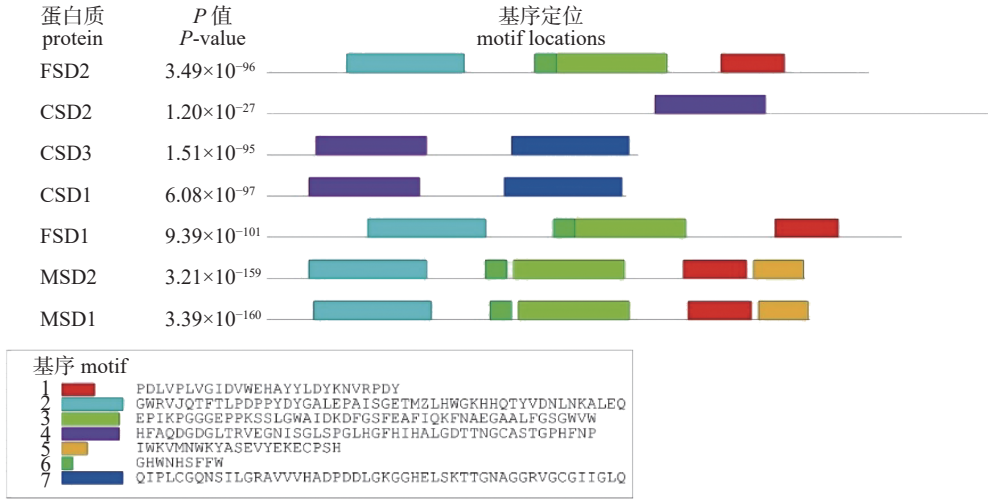


图 3 裸果木 *SOD* 基因家族基序分析

Fig. 3 Motif analysis of *SOD* gene family in *Gymnocarpus przewalskii*

表 2 裸果木 SOD 蛋白质理化性质分析

Tab. 2 Analysis of physical and chemical properties of *Gymnocarpus przewalskii* SOD protein

基因/多肽链 genes/polypeptide chain	氨基酸数量 number of amino acids	分子量 molecular weight	等电点 isoelectric point	平均亲水性 average hydrophilicity	不稳定性系数 instability index	非同义替换率/同义替换率 K_a/K_s
<i>CSD1</i>	152	15 109.74	5.47	-0.10	20.91	0.10
<i>CSD3</i>	157	15 970.96	7.19	-0.13	17.39	0.12
<i>CSD4</i>	306	32 884.70	6.06	-0.10	36.54	0.54
<i>FSD1</i>	269	30 257.10	5.82	-0.35	37.58	0.13
<i>FSD2</i>	255	29 251.63	8.94	-0.28	45.02	0.15
<i>MSD1</i>	230	25 758.29	6.75	-0.40	44.83	0.08
<i>MSD2</i>	228	25 614.22	6.75	-0.37	42.50	0.05

对盐胁迫条件响应的敏感度较低, 在 4 个 NaCl 质量分数梯度下表达量变化差异不大。

裸果木幼苗叶片 SOD 活性随 NaCl 质量分数的增加呈先上升后降低的变化趋势(图 4h), 且各处理间叶片 SOD 活性变化差异显著。0.5% NaCl 处理下, SOD 活性显著高于其他 3 个处理, 分别是 0、1.5% 和 2.5% NaCl 处理的 1.85 倍、1.37 倍和 2.16 倍。说明随着 NaCl 胁迫的产生, SOD 已经产生了明显的抗氧化作用; 当 NaCl 质量分数达到 2.5% 时, SOD 活性降至最低, 但与 CK 之间差异不显著, 表示此时的 NaCl 处理对裸果木幼苗叶片产生的盐胁迫作用已经超过 SOD 的作用上限, 对植物机体产生了严重危害。

2.4 裸果木 *FSD1* 和 *CSD1* 基因非同义 cSNP 位点和蛋白质结构分析

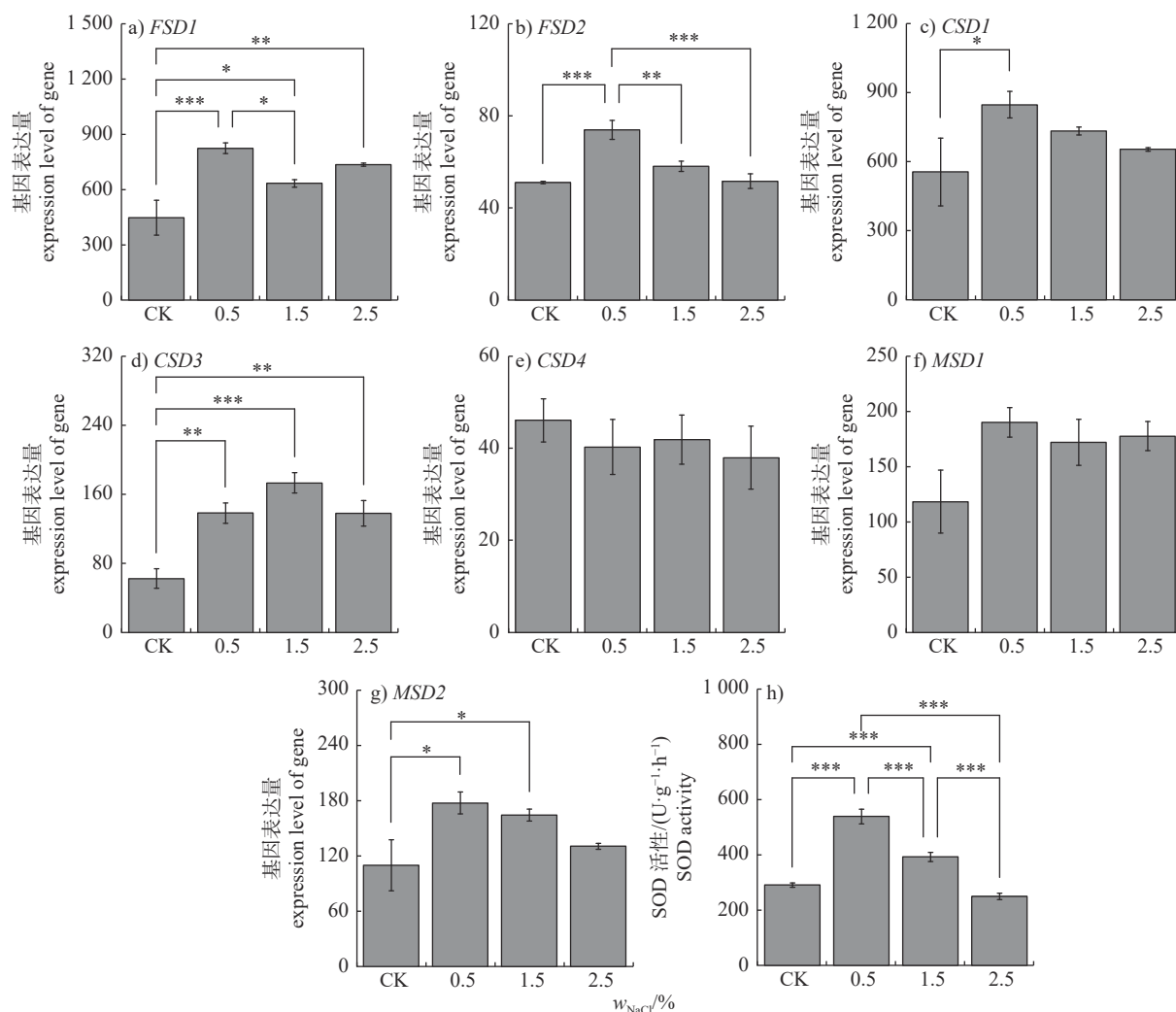
由图 5 可知: *FSD1* 和 *CSD1* 基因 CDS 序列分别存在 12 个和 3 个非同义 cSNP 位点, 其中 *FSD1* 基因的 12 个非同义 cSNP 位点导致编码的 9 个氨基酸发生突变, *FSD1* 基因的 3 个 cSNP 位点导致编码的 3 个氨基酸发生突变。

蛋白质结构比较结果显示: 裸果木 *FSD1* 蛋白质的 9 个突变位点并没有引起蛋白质构象的变化。进一步研究发现, 3Ala-Thr 和 41Arg-Gly 2 个突变位点均由疏水性氨基酸突变为亲水性氨基酸, 185Lys-Glu 由碱性氨基酸突变为酸性氨基酸, 与理化性质预测结果一致, 上述 3 个位点引起裸果木 *FSD1* 蛋白质亲水性增大和等电点降低(表 3)。CSD1 蛋白质结构比较结果显示(图 6): 裸果木 CSD1 蛋白质 80Ser-Ala 和 143Ile-Val 变异使得蛋白质活性中心由海滨蝇子草的 0.22 nm³ 增大到裸果木的 0.23 nm³。CSD1 蛋白质是每个亚基具有 Cu²⁺和 Zn²⁺的同源二聚体结构的寡聚蛋白, 每个 Cu²⁺离子与 4 个组氨酸残基(45、47、

62 和 119 位) 配位, Zn²⁺与 3 个组氨酸残基(62、70 和 79 位) 和 1 个天冬氨酸(82 位) 残基配位, 2 个金属离子通过 62His 的咪唑桥相连共同构成了每个亚基的活性中心。裸果木 CSD1 蛋白质 80 位氨基酸由亲水氨基酸突变为疏水氨基酸, 失去了 1 个 -OH, 使得与 Zn²⁺离子配位的 82Asp 范德华力减弱(裸果木和海滨蝇子草 80 位氨基酸到 82 位氨基酸之间的距离分别是 0.61 和 0.60 nm), 导致 82 位氨基酸所在区域的 β 折片与 80 位所在的无规则卷曲部分距离增大(与 Zn²⁺配位的 79His 和 82Asp 之间的距离也相应增大)。又检测到 Cu²⁺和 79His(与 Zn²⁺配位) 的距离由海滨蝇子草的 1.05 nm 增大到裸果木的 1.07 nm, 但 79His 以及 70His 与 Zn²⁺的距离并没有发生变化, 推测裸果木 CSD1 蛋白质的 Zn²⁺和与其配位的 79His、70His 整体向远离 Cu²⁺方向偏移。为了验证推测是否正确, 检测了与 Cu²⁺和 Zn²⁺共同配位的 62His 到 Cu²⁺和 Zn²⁺之间的距离是否发生变化, 结果显示: 62His 的位置并未发生偏移, 但是与 C 原子相连的咪唑基向 Zn²⁺的方向微弱偏移(咪唑基 1 号氧原子到 His 中心碳原子的距离由海滨蝇子草的 0.43 nm 增大到裸果木的 0.44 nm), 结果符合上述推测。此外, 未检测到蛋白质的其他构象变化, 分布在蛋白质表面的突变位点可能只是引起了蛋白质亲水性的改变。

3 讨论

SOD 作为清除 ROS 的最关键酶之一, 在维持植物细胞稳态和抗氧化反应中起着重要的作用。随着测序技术的不断应用和发展, SOD 基因家族陆续在不同分类地位的物种中被克隆和鉴定。朱雪天等^[30]研究发现: 绿豆 (*Vigna radiata*) SOD 基因家族包含 8 个成员, *FSD*、*CSD* 和 *MSD*



注/ Note: *, $P < 0.05$, **, $P < 0.01$, ***, $P < 0.001$.

图 4 不同质量分数 NaCl 处理下裸果木叶片 SOD 基因表达量 (a~g) 和 SOD 酶活性 (h)

Fig. 4 SOD gene expression level (a-g) and enzyme activity (h) in *G. przewalskii* leaves under different mass fractions of NaCl

亚家族组成模式为 3 : 4 : 1; 而葡萄 (*Vitis vinifera*)、油菜 (*Brassica napus*) 和香蕉 (*Musa nana*) SOD 基因家族分别含有 10、32 和 12 个成员, 3 个亚家族组成模式分别为 2 : 6 : 2、10 : 12 : 10 和 2 : 6 : 4^[31-33]。本研究利用叶组织的转录组数据初步鉴定了裸果木 SOD 基因家族组成, 它包含 7 个 SOD 家族成员, FSD、CSD 和 MSD 亚家族组成模式为 2 : 3 : 2, 但由于缺少裸果木全基因组数据, 因此无法判断是否包含了 SOD 基因家族的全部成员 (SOD 基因存在组织特异性表达)。根据中央种子目 6 个物种 SOD 基因家族组成和系统发生关系推断本研究鉴定的裸果木 SOD 基因家族成员较为完善。石竹科和藜科植物的 SOD 基因家族包含 6~7 个家族成员, 其中石竹科的裸果木和海滨蝇子草均包含 7 个 SOD 家族基

因, FSD、CSD 和 MSD 亚家族组成模式均为 2 : 3 : 2, 但石竹科的细小蝇子草只有 6 个 SOD 家族基因, 与裸果木和海滨蝇子草相比缺少 MSD2。藜科植物基因组均包含 7 个 SOD 基因, 3 个亚家族组成模式均为 2 : 4 : 1。由此证明: 在不同类群或相同类群的植物体中, 尽管 SOD 基因家族均由 3 个亚家族构成, 但家族成员数量和亚家族数量组成模式存在较大差异。值得注意的是, 裸果木 SOD 基因家族组成模式与藜科植物和石竹科植物均不同, 裸果木保留了与藜科植物同源的 CSD3 基因, 但删除了与石竹科植物同源的 CSD1A 基因, 推测藜科和石竹科植物的 SOD 基因家族在不同谱系中各亚家族成员又经历了不同的基因复制和删除事件, 导致裸果木 SOD 基因家族成员同时具有石竹科和藜科植物 SOD 基

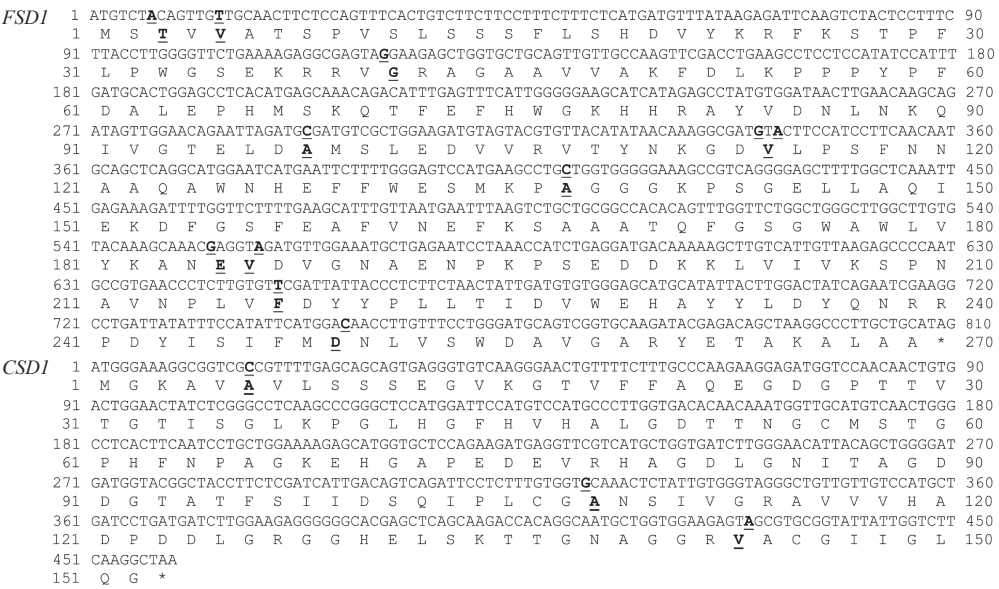


图 5 裸果木 *FSD1* 和 *CSD1* 基因 cSNP 变异位点

Fig. 5 cSNP mutation sites of *FSD1* and *CSD1* genes in *G. przewalskii*

表 3 裸果木和海滨蝇子草 *FSD1* 和 *CSD1* 蛋白质理化性质分析

Tab. 3 Physicochemical properties of *FSD1* and *CSD1* proteins in *G. przewalskii* and *Silene uniflora*

物种/多肽链 species/polypeptide chain	氨基酸数量 number of amino acids	分子量 molecular weight	等电点 isoelectric point	平均亲水性 average hydrophilicity	不稳定性系数 instability index
<i>S. uniflora</i> <i>FSD1</i>	269	30 047.07	6.39	-0.276	29.82
<i>G. przewalskii</i> <i>FSD1</i>	269	30 257.10	5.82	-0.350	37.58
<i>S. uniflora</i> <i>CSD1</i>	152	15 198.85	5.71	-0.186	18.47
<i>G. przewalskii</i> <i>CSD1</i>	152	15 109.74	5.47	-0.100	20.91

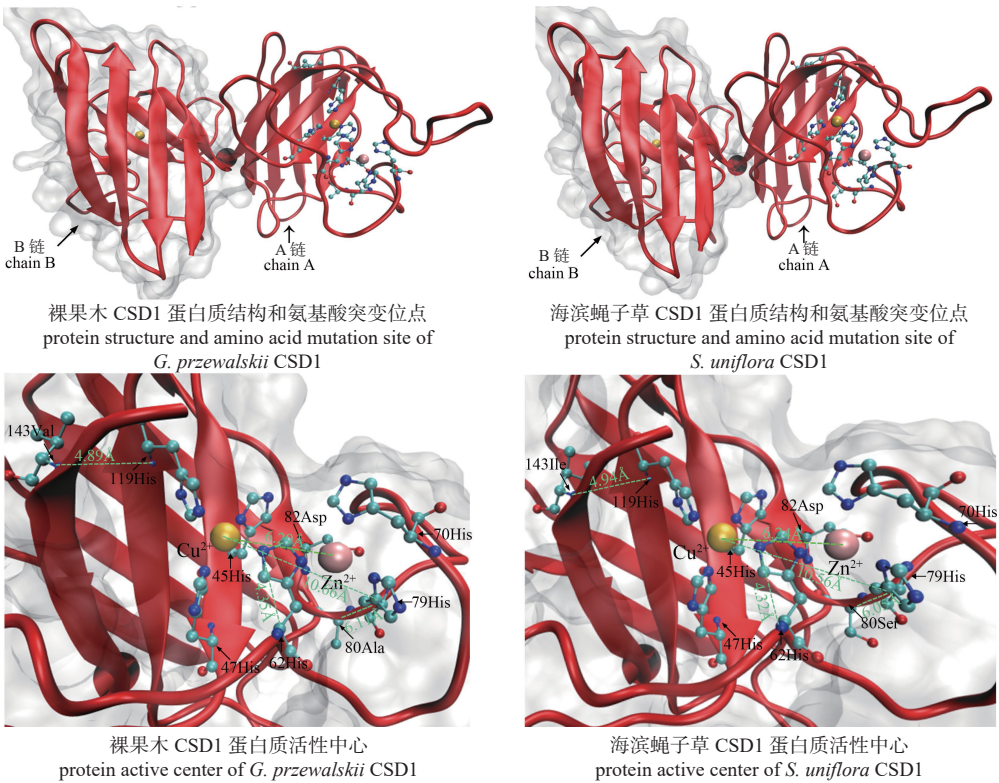


图 6 裸果木和海滨蝇子草 *CSD1* 蛋白质结构分析

Fig. 6 Analysis of *CSD1* protein structure in *G. przewalskii* and *Silene uniflora*

因家族成员的组成特征。

随着中国土壤盐渍化程度日趋严重,盐碱胁迫已成为限制植物生长发育的主要非生物胁迫。在盐胁迫下,植物叶片的光能利用率和 CO_2 同化率均会受到不同程度的抑制,导致叶绿体在光合电子传递过程中产生大量 ROS,严重影响植物的光合效率和正常生长^[34]。*SOD* 基因家族成员亚细胞定位研究结果显示:*FSD* 和 *CSD* 主要在叶绿体中表达,在高质量分数 NaCl 胁迫下,叶绿体中的抗氧化酶系统在抗氧化胁迫中起关键作用。早在 1994 年对转基因烟草的研究中就发现:叶绿体中 *FSD* 和 *CSD* 的过量表达提高了植物对氧化胁迫耐受能力,但 *MSD* 的过量表达并没有缓解叶片被氧化的现状^[35]。本研究结果发现:*FSD1* 和 *CSD1* 是裸果木叶片中的主要表达基因,并且对 NaCl 胁迫的变化最为敏感,二者 RPKM 均在 0.5% NaCl 处理时达到最大值,且显著高于 CK 处理,分别为 CK 处理的 1.84 倍和 1.52 倍;*CSD3* 和 *MSD1/2* 在受到 NaCl 胁迫时变化明显,RPKM 在 60~200 之间,*CSD4* 对 NaCl 胁迫响应比较迟钝,这可能与植物中 *SOD* 基因存在时空特异性表达有关^[2]。上述结果表明:*FSD1* 和 *CSD1* 基因表达量的上调为裸果木在盐胁迫下叶绿体能够正常进行光合作用提供了保障,这可能是裸果木具有较强耐盐胁迫能力的主要因素之一。

已有大量研究证实了 cSNP 直接与遗传表型相关,因此研究 cSNP 有助于解释不同种群的表型差异及对不同环境因子的响应机制^[36-37]。海滨蝇子草生长于沿海和矿山等地区,长期遭受盐碱和重金属等非生物胁迫,经过长期的自然选择与进化,对盐胁迫具有较好的适应能力,分子进化学研究结果显示:尽管不同类群的海滨蝇子草对盐碱胁迫适应的分子机理存在差异,但均表现出对盐碱环境较好的耐受性^[38]。本研究显示:与海滨蝇子草相比,裸果木 *FSD1* 中的变异位点导致 *FSD1* 蛋白质亲水性升高和等电点降低。蛋白质亲水性升高会导致蛋白质在溶液中的溶解度增大,有利于蛋白质再积累;等电点降低会使得蛋白质带的正电荷增多,有利于提高 *FSD1* 的催化效率。此外,裸果木 *CSD1* 基因存在的 238 位 cSNP 位点导致蛋白质 80 位氨基酸变异,结果使得 *CSD1* 蛋白质活性中心体积增大,在相同条件下更有利于催化反应的进行,从而增加其在逆境条

件下清除过量自由基的能力,具体机理尚需进一步试验验证。

4 结论

裸果木叶组织中共鉴定到 7 个 *SOD* 成员,*FSD*、*CSD* 和 *MSD* 3 个亚家族组成模式为 2 : 3 : 2,它们共包含 7 个蛋白保守基序,且均为亲水性蛋白质。盐胁迫下,*FSD*、*CSD1*、*CSD3* 和 *MSD2* 基因在叶组织中的表达显著上调,其中 *FSD1* 和 *CSD1* 基因表达最高,是叶组织 *SOD* 酶活性升高的主要原因,能有效地保护叶绿体免受盐胁迫引起的氧化损伤。此外,裸果木 *FSD1* 和 *CSD1* 基因存在的变异位点可能会导致蛋白质催化活性增强。

[参考文献]

- [1] LIU J H, FU C C, LI G J, et al. ROS homeostasis and plant salt tolerance: plant nanobiotechnology updates[J]. Sustainability, 2021, 13(6): 3552. DOI: [10.3390/su13063552](https://doi.org/10.3390/su13063552).
- [2] ZHANG X, ZHANG L T, CHEN Y Y, et al. Genome-wide identification of the SOD gene family and expression analysis under drought and salt stress in barley[J]. Plant Growth Regulation, 2021, 94: 49. DOI: [10.1007/s10725-021-00695-8](https://doi.org/10.1007/s10725-021-00695-8).
- [3] BOGOUTDINOVA L R, LAZAREVA E M, CHABAN I A, et al. Salt stress-induced structural changes are mitigated in transgenic tomato plants over-expressing superoxide dismutase[J]. Biology, 2020, 9(9): 297. DOI: [10.3390/biology9090297](https://doi.org/10.3390/biology9090297).
- [4] MITTLER R, ZANDALINAS S I, FICHMAN Y, et al. Reactive oxygen species signalling in plant stress responses[J]. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2022, 23: 663. DOI: [10.1038/s41580-022-00499-2](https://doi.org/10.1038/s41580-022-00499-2).
- [5] NADARAJAH K K. ROS homeostasis in abiotic stress tolerance in plants[J]. International Journal of Mechanical Sciences, 2020, 21(15): 5208. DOI: [10.3390/ijms21155208](https://doi.org/10.3390/ijms21155208).
- [6] RAJPUT V D, HARISH, RUPESH K S, et al. Recent developments in enzymatic antioxidant defense mechanism in plants with special reference to abiotic stress[J]. Biology, 2021, 10(4): 267. DOI: [10.3390/biology10040267](https://doi.org/10.3390/biology10040267).
- [7] RAZA A, SALEHI H, RAHMAN M A, et al. Plant hormones and neurotransmitter interactions mediate antioxidant defenses under induced oxidative stress in plants[J]. Frontiers in Plant Science, 2022, 13: 961872. DOI: [10.3389/fpls.2022.961872](https://doi.org/10.3389/fpls.2022.961872).
- [8] DEL RÍO L A, CORPAS F J, LÓPEZ-HUERTAS E, et al. Plant superoxide dismutases: function under abiotic stress conditions[M]. Germany: Springer International Publishing, 2018.

- [9] YANG X Y, LU M Q, WANG Y F, et al. Response mechanism of plants to drought stress[J]. *Horticulturae*, 2021, 7(3): 50. DOI: [10.3390/horticulturae7030050](https://doi.org/10.3390/horticulturae7030050).
- [10] MAN L, LAH W A C, KADIR N A, et al. Susceptibility and tolerance of rice crop to salt threat: physiological and metabolic inspections[J]. *PLoS One*, 2018, 13(2): e0192732. DOI: [10.1371/journal.pone.0192732](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0192732).
- [11] XU H S, GUO S M, ZHU L, et al. Growth, physiological and transcriptomic analysis of the perennial ryegrass *Lolium perenne* in response to saline stress[J]. *Royal Society*, 2022, 7(7): 200637. DOI: [10.1098/rsos.200637](https://doi.org/10.1098/rsos.200637).
- [12] 马书荣, 李韞, 石美玉, 等. 盐碱胁迫对蒙古柳无性系生理特性的影响[J]. *分子植物育种*, 2021, 19(3): 1004. DOI: [10.13271/j.mpb.019.001004](https://doi.org/10.13271/j.mpb.019.001004).
- [13] 王立龙, 王亮, 张丽芳, 等. 不同生境下濒危植物裸果木种群结构及动态特征[J]. *植物生态学报*, 2015, 39(10): 980. DOI: [10.17521/cjpe.2015.0095](https://doi.org/10.17521/cjpe.2015.0095).
- [14] 黄海霞, 杨琦琦, 崔鹏, 等. 裸果木幼苗根系形态和生理特征对水分胁迫的响应[J]. *草业学报*, 2021, 30(1): 197. DOI: [10.11686/cyxb2020057](https://doi.org/10.11686/cyxb2020057).
- [15] 黄海霞, 连转红, 王亮, 等. 裸果木渗透调节物质和抗氧化酶活性对干旱的响应[J]. *干旱区研究*, 2020, 37(1): 227. DOI: [10.13866/j.azr.2020.01.26](https://doi.org/10.13866/j.azr.2020.01.26).
- [16] 李娟. 珍稀濒危植物裸果木群落物种多样性及其形态解剖学研究[D]. 太原: 山西师范大学, 2012.
- [17] 连转红, 杨海莉, 吴芳明, 等. NaCl或PEG胁迫对裸果木种子萌发的影响[J]. *中国水土保持科学*, 2017, 15(6): 89. DOI: [10.16843/j.sswc.2017.06.011](https://doi.org/10.16843/j.sswc.2017.06.011).
- [18] 李合生, 孙群, 赵世杰, 等. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000.
- [19] GRABHERR G M, HAAS B J, YASSOUR M, et al. Trinity: reconstructing a full-length transcriptome without a genome from RNA-Seq data[J]. *Nature Biotechnology*, 2011, 29(7): 644. DOI: [10.1038/nbt.1883](https://doi.org/10.1038/nbt.1883).
- [20] CAMACHO C, COULOURIS G, AVAGYAN V, et al. BLAST+: architecture and applications[J]. *BMC Bioinformatics*, 2009, 10(1): 421. DOI: [10.1186/1471-2105-10-421](https://doi.org/10.1186/1471-2105-10-421).
- [21] LOZANO R, HAMBLIN M T, PROCHNIK S, et al. Identification and distribution of the NBS-LRR gene family in the cassava genome[J]. *BMC Genomics*, 2015, 16(1): 360. DOI: [10.1186/s12864-015-1554-9](https://doi.org/10.1186/s12864-015-1554-9).
- [22] GASCUEL O. New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: assessing the performance of PhyML 3.0[J]. *Systematic Biology*, 2010, 59(3): 307. DOI: [10.1093/sysbio/syq010](https://doi.org/10.1093/sysbio/syq010).
- [23] DARRIBA D, TABOADA G L, DOALLO R, et al. jModelTest2: more models, new heuristics and parallel computing[J]. *Nature Methods*, 2012, 9(8): 772. DOI: [10.1038/nmeth.2109](https://doi.org/10.1038/nmeth.2109).
- [24] HU B, JIN J P, GUO A Y, et al. GSDS 2.0: an upgraded gene feature visualization server[J]. *Bioinformatics*, 2015, 31(8): 1296. DOI: [10.1093/bioinformatics/btu817](https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu817).
- [25] BAILEY T L, JOHNSON J, GRANT C E, et al. The MEME suite[J]. *Nucleic Acids Research*, 2015, 43(1): 39. DOI: [10.1093/nar/gkv41](https://doi.org/10.1093/nar/gkv41).
- [26] IVANOVA Z, SABLOK G, DASKALOVA E, et al. Chloroplast genome analysis of resurrection tertiary relict *Haberlea rhodopensis* highlights genes important for desiccation stress response[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8: 204. DOI: [10.3389/fpls.2017.00204](https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00204).
- [27] WEBB B, SALI A. Comparative protein structure modeling using MODELLER[J]. *Current Protocols in Protein Science*, 2016, 86(1): 2.9.1. DOI: [10.1002/cpbi.3](https://doi.org/10.1002/cpbi.3).
- [28] TORSTEN S, KOPP J, NICOLAS G, et al. SWISS-MODEL: an automated protein homology-modeling server[J]. *Nucleic Acids Research*, 2003, 31(13): 3381. DOI: [10.1093/nar/gkg520](https://doi.org/10.1093/nar/gkg520).
- [29] HUMPHREY W, DALKE A, SCHULTEN K. VMD: visual molecular dynamics[J]. *Journal of Molecular Graphics*, 1996, 14(1): 33. DOI: [10.1016/0263-7855\(96\)00018-5](https://doi.org/10.1016/0263-7855(96)00018-5).
- [30] 朱雪天, 黄勇, 卢有, 等. 绿豆SOD基因的生物信息学分析及盐胁迫下的表达分析[J]. *分子植物育种*, 2023, 21(15): 4886. DOI: [10.13271/j.mpb.021.004886](https://doi.org/10.13271/j.mpb.021.004886).
- [31] HU X X, HAO C Y, CHENG Z M, et al. Genome-wide identification, characterization, and expression analysis of the grapevine superoxide dismutase (SOD) family[J]. *International Journal of Genomics*, 2019, 2019: 7350414. DOI: [10.1155/2019/7350414](https://doi.org/10.1155/2019/7350414).
- [32] 郭栋, 张艳阳, 杜媚, 等. 油菜超氧化物歧化酶基因家族生物信息学分析[J]. *分子植物育种*, 2020, 18(2): 367. DOI: [10.13271/j.mpb.018.000367](https://doi.org/10.13271/j.mpb.018.000367).
- [33] FENG X, LAI Z X, LIN Y L, et al. Genome-wide identification and characterization of the superoxide dismutase gene family in *Musa acuminata* cv. Tianbaojiao (AAA group)[J]. *BMC Genomics*, 2015, 16: 823. DOI: [10.1186/s12864-015-2046-7](https://doi.org/10.1186/s12864-015-2046-7).
- [34] NAHIDA A. Activities of antioxidant enzymes in mesophyll and bundle sheath cell chloroplasts of maize plants (*Zea mays* L.) exposed to salt stress[J]. *Bulletin of Science and Practice*, 2020, 6(11): 47. DOI: [10.33619/2414-2948/60/05](https://doi.org/10.33619/2414-2948/60/05).
- [35] HAO S H, WANG Y R, YAN Y X, et al. A review on plant responses to salt stress and their mechanisms of salt resistance[J]. *Horticulturae*, 2021, 7(6): 132. DOI: [10.3390/horticulturae7060132](https://doi.org/10.3390/horticulturae7060132).
- [36] MANOJ G G, GUPTAB K, DONDE R, et al. Characterization of haplotypes and single nucleotide polymorphisms associated with *Gn1a* for high grain number formation in rice plant[J]. *Genomics*, 2022, 112(3): 2647. DOI: [10.1016/j.ygeno.2020.02.016](https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2020.02.016).
- [37] PREMPEH R N A, MANU-ADUENING J A, QUAIN M D, et al. Assessment of genetic diversity among cassava landraces using single nucleotide polymorphic markers[J]. *African Journal of Biotechnology*, 2020, 19(6): 383. DOI: [10.5897/AJB2018.16420](https://doi.org/10.5897/AJB2018.16420).
- [38] PAPADOPULOS A S T, HELMSTETTER A J, OSBORNE O G, et al. Rapid parallel adaptation to anthropogenic heavy metal pollution[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2021, 38(9): 3724. DOI: [10.1093/molbev/msab141](https://doi.org/10.1093/molbev/msab141).

责任编辑: 何馨成