

DOI: 10.11686/cyxb2025066

http://cyxb.magtech.com.cn

柳家乐, 祁娟, 李文亮, 等. 老芒麦 *EsJRL* 基因家族鉴定与表达分析. 草业学报, 2026, 35(1): 206—222.

LIU Jia-le, QI Juan, LI Wen-liang, et al. Identification and expression analysis of *EsJRL* genes in *Elymus sibiricus*. Acta Prataculturae Sinica, 2026, 35(1): 206—222.

老芒麦 *EsJRL* 基因家族鉴定与表达分析

柳家乐, 祁娟*, 李文亮, 路欣, 袁琪, 李明洁, 张奥龙, 杜旺毅

(甘肃农业大学草业学院, 草业生态系统教育部重点实验室, 甘肃省草业工程实验室, 中-美草地畜牧业可持续研究中心, 甘肃兰州 730070)

摘要: Jacalin类凝集素基因家族在植物中广泛存在, 与植物的生长发育、逆境胁迫及病虫害防御密切相关。基于老芒麦基因组数据, 利用生物信息学方法对 *EsJRL* 基因家族进行鉴定, 并对其进行理化性质、染色体分布、系统进化、基因结构、保守结构域和启动子顺式作用元件分析。通过 RNA-Seq 数据及实时荧光定量 PCR (RT-qPCR) 对 *EsJRL* 基因在不同时期的旗叶及非生物胁迫 (外源激素、干旱和低温) 下的表达模式进行分析。结果显示, 从老芒麦中共鉴定到 84 个 *EsJRL* 基因, 在 13 条染色体两端不均匀分布, 编码氨基酸序列长度为 93~1574 bp。根据系统发育分析结果, 将 *EsJRL* 家族成员分为 8 个组。保守基序分析发现大部分 *EsJRL* 基因包含 Motif 1、Motif 3 和 Motif 7。种内共线性结果显示, 在老芒麦基因组中共发现 39 个基因重复事件。非同义替代率与同义替代率的比值 (Ka/Ks) 分析显示, 所有重复基因均受到纯化选择。顺式作用元件预测表明, *EsJRL* 基因启动子区域富含与光响应、胁迫响应、激素响应以及植物生长发育有关的功能元件。表达模式分析显示, 仅有 33 个 *EsJRL* 基因在老芒麦不同时期旗叶中表达, 其中 19 个 *EsJRL* 基因在两个种质中均表达。RT-qPCR 结果表明, 多数 *EsJRL* 基因在赤霉素 (GA)、脱落酸 (ABA) 和水杨酸 (SA) 处理下显著上调 ($P < 0.05$), 少数 *EsJRL* 基因响应干旱和低温胁迫后上调表达, 其中, *EsJRL28-2* 基因表达量在干旱胁迫和 GA 处理下显著下调 ($P < 0.05$), 低温胁迫下仅 *EsJRL43* 基因表达量显著下调 ($P < 0.05$)。

关键词: 老芒麦; Jacalin 相关凝集素 (JRL); 生物信息学; 表达分析; 非生物胁迫

Identification and expression analysis of *EsJRL* genes in *Elymus sibiricus*

LIU Jia-le, QI Juan*, LI Wen-liang, LU Xin, YUAN Qi, LI Ming-jie, ZHANG Ao-long, DU Wang-yi

College of Pratacultural Science, Gansu Agricultural University, Key Laboratory of Grassland Ecosystem, Ministry of Education, Gansu Grassland Engineering Laboratory, China-US Center for Grazing Land Ecosystem Sustainability, Lanzhou 730070, China

Abstract: The Jacalin-like lectin gene family is widely found in plants. Its members are known to be involved in plant growth and development, responses to adverse environmental conditions, and defense against pests and diseases. Based on the genome data of *Elymus sibiricus*, the *EsJRL* gene family was identified using bioinformatics methods and analyzed to determine the chromosomal distribution, phylogeny, promoter *cis*-acting elements, and structure of the genes, and the conserved structural domains and physicochemical properties of the putative proteins. The transcript profiles of *EsJRL* genes in flag leaves at different growth stages and under various stress conditions (exogenous hormones, drought, and low temperature) were analyzed on the basis of RNA-Seq data and by real-time fluorescence quantitative PCR (RT-qPCR) analysis. A total of 84 *EsJRL* genes were identified from the *E. sibiricus*

收稿日期: 2025-03-04; 改回日期: 2025-04-28

基金项目: 国家现代农业产业技术体系 (CARS-34) 和国家自然科学基金 (31660684) 资助。

作者简介: 柳家乐 (1999—), 男, 河南周口人, 在读硕士。E-mail: 1810220900@qq.com

* 通信作者 Corresponding author. E-mail: qijuan@gsau.edu.cn

genome. They were unevenly distributed at both ends of 13 chromosomes, and the length of the coding sequences ranged from 93 to 1574 bp. Conserved motif analysis revealed the presence of Motif 1, Motif 3, and Motif 7 in 83, 86, and 86 protein sequences, respectively, indicative of a high degree of structural conservation among the *EsJRL* gene family. Intraspecific covariance analyses revealed 39 duplication events (18 pairs of tandem duplicated genes and 21 pairs of segmental duplicated genes) in the *E. sibiricus* genome, and a Ka/Ks analysis showed that all duplicated genes have been subject to purifying selection during their evolutionary history. *Cis*-acting element prediction showed that the promoter regions of *EsJRL* genes were enriched with functional elements related to response to light, hormones, and growth and development. Gene expression analyses indicated that only 33 *EsJRL* genes were expressed in the spikes of two *E. sibiricus* lines, XH04 and XH05, at different growth stages. Only 19 *EsJRL* genes were expressed in both germplasm materials. The RT-qPCR results indicated that most *EsJRL* genes were significantly up-regulated under gibberellin, abscisic acid, and salicylic acid treatments ($P < 0.05$), and a few *EsJRL* genes were up-regulated in response to drought and low temperature stress. *EsJRL28-2* was significantly down-regulated under drought stress and gibberellin treatment ($P < 0.05$). Only one *EsJRL* gene, *EsJRL43*, was significantly down-regulated under low temperature stress ($P < 0.05$).

Key words: *Elymus sibiricus*; Jacalin-related lectin (JRL); bioinformatics; expression analysis; abiotic stresses

植物凝集素(lectins)是一类重要的糖结合蛋白,广泛参与植物的信号传导、胁迫响应以及生长发育过程。近年来,随着对糖分子识别机制和植物抗逆性研究的深入,凝集素家族在植物抗逆性和衰老调控中的潜在应用受到了广泛关注。其中,类凝集素相关受体激酶(Jacalin-related lectins, JRLs)作为凝集素家族的一个重要亚类,因其独特的结构和功能多样性,成为研究的热点。JRL 蛋白家族以其保守的 Jacalin 结构域为特征,能够识别并结合特定的糖分子。根据其结构域类型,JRLs 可分为 3 类:只有一个 Jacalin 结构域的 merojacalins,有多个 Jacalin 结构域的 holojacalins,以及有 Jacalin 结构域和其他结构域的嵌合型 jacalins^[1-2]。这些蛋白通过糖分子结合能力,广泛参与植物的非生物胁迫响应、生物防御和生长发育调控。研究表明,至少有 26 种植物中报道了 JRL 蛋白的存在^[3]。

JRL 蛋白的研究始于 20 世纪 80 年代,最早在菠萝蜜(*Artocarpus heterophyllus*)种子中被鉴定,因其结合半乳糖的能力使其被命名为 Jacalin^[4]。根据其碳水化合物结合特异性,JRL 蛋白可进一步分为半乳糖特异性(galactose-specific jacalin-related lectins, gJRLs)和甘露糖特异性(mannose-specific jacalin-related lectins, mJRLs)两类^[5-6]。gJRLs 储存于液泡中,主要结合半乳糖及其衍生物,参与营养储备和静态防御功能^[7]。大多数 JRL 蛋白是 mJRLs,主要分布于细胞质和细胞核,能够结合甘露糖及其衍生物,参与信号传递和基因调控^[8]。多种植物 JRL 蛋白的三维结构分析表明,Jacalin 结构域由 3 组平行的 β 折叠层围绕棱柱轴排列,具有稳定的 β -棱柱结构(β -prism structure),提供了精确的糖结合空间位点,从而实现高特异性的糖结合能力^[9]。JRL 蛋白在植物的抗逆性和生长调控中发挥了重要作用。水稻(*Oryza sativa*)的 *OsJAC1* 基因编码一种嵌合禾本科特异性蛋白,该蛋白是 N 端为 dirigent 和 C 端为 JRL 结构域模块化蛋白,参与木质素合成调控,提高了对稻瘟病菌的抗性^[10];水稻的 *OsJRL* (*Os01g0348900*) 基因通过调节苯丙氨酸代谢和类黄酮生物合成负向调节水稻的耐寒性^[11];水稻的 *OsJRL45* 和 *OsJRL40* 可增强细胞的抗氧化能力并防止活性氧(reactive oxygen species, ROS)过度积累,二者相互作用可增强盐胁迫耐受性^[12-14];大麦(*Hordeum vulgare*) *HvHorcH* 基因能够显著提高植物在低氮胁迫下的耐受性^[15];毛竹(*Phyllostachys edulis*) *PeJRL13* 基因在低温和盐胁迫下显著上调表达,进一步支持了 JRL 基因在非生物胁迫响应中的关键作用^[16]。此外,JRL 蛋白还与植物生长和发育密切相关,在植物衰老相关机制中展现了潜在调控能力。在小麦(*Triticum aestivum*)中,在幼叶和芽顶端分生组织的春化过程中诱导了一种包含 Jacalin 结构域的凝集素 VER2,可调节开花和小穗发育过程^[17]。拟南芥(*Arabidopsis thaliana*) *AtJAC1* 基因通过调节开花时间影响植物生命周期^[18]。

老芒麦(*Elymus sibiricus*)是一种具有优良的抗寒、抗旱性以及耐盐碱等特性的多年生禾草^[19],在非生物胁迫响应和延缓衰老研究中具有重要价值。然而,老芒麦 *JRL* 基因家族未见有相关研究报道,其潜在功能尚未系统阐明。本研究以老芒麦为对象,利用生物信息学技术系统鉴定其 *JRL* 基因家族,结合 RNA-Seq 与 RT-qPCR 验证其在不同种质、激素处理及干旱、低温胁迫下的表达模式,揭示其在抗逆响应中的潜在功能,以期为分子育种和生态修复实践奠定理论基础,并提供重要的遗传资源。

1 材料与方法

1.1 老芒麦 *EsJRL* 基因家族成员的鉴定和染色体定位

基于课题组无参转录组数据,筛选出命名为 Cluster1432.35582 的编码序列(coding sequence, CDS),并提交 ORF of NCBI(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder/>)网站得到蛋白序列,将获得的蛋白序列提交 InterPro^[20](<https://www.ebi.ac.uk/interpro/>)得到 *JRL* 的蛋白保守结构域(PF01419),并在 pfam 数据库(<http://pfam-legacy.xfam.org/>)下载该保守结构域。老芒麦全基因组数据和注释文件下载自 figshare 数据库(https://figshare.com/articles/dataset/_i_Chromosome-scale_assembly_of_the_wild_cereal_relative_Elymus_sibiricus_i_/24964659),并结合 HMMER3 程序从老芒麦蛋白数据库中鉴定 *EsJRL* 蛋白序列。以小麦的 TaJRL 蛋白作为查询序列,通过 Blastp 在本地老芒麦蛋白数据库中进行比对,设置 E-value < 1e⁻¹⁰。将两种方法获得的结果取并集,在 InterPro 和 NCBI-CDD(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>)数据库中进一步验证,最后利用 TBtools 软件去除冗余序列。从老芒麦的基因组注释信息 gff3 文件中提取 *JRL* 家族基因的位置信息,并使用软件 TBtools 进行可视化呈现。

1.2 老芒麦 *EsJRL* 家族成员蛋白理化性质分析

使用 ExPASy 网站(https://web.expasy.org/compute_pi/)对 *EsJRL* 蛋白序列进行等电点、分子量预测、稳定系数和平均亲水系数等理化性质分析。

1.3 老芒麦 *EsJRL* 基因家族系统进化和共线性分析

采用 Clustal W 对老芒麦 *JRL* 蛋白与已报道的水稻^[21]、小麦^[22]和拟南芥^[23] *JRL* 蛋白进行多序列比对分析。基于比对结果,使用 IQ-Tree 构建最大似然(maximum likelihood, ML)系统发育树,设置 1000 次 bootstrap 检验。进一步应用 MCSanX 进行基因组共线性分析,并通过 Advanced Circos 实现结果可视化。

1.4 老芒麦 *EsJRL* 基因的基因结构、保守基序和结构域分析

在 MEME 工具(<https://meme-suite.org/meme/index.html>)中分析保守基序,最大基序数设为 10,最佳基序宽度为 10~50。从老芒麦 gff3 注释文件获得基因结构信息,利用 TBtools 可视化。使用 NCBI CDD 和 SMART 鉴定保守结构域并用 TBtools 进行可视化。

1.5 老芒麦 *EsJRL* 家族基因顺式作用元件分析

提取 *EsJRL* 转录起始位点上游 2000 bp 的启动子序列,并提交至 Plant CARE 数据库(<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>)进行顺式作用元件的预测分析,使用 TBtools 可视化顺式作用元件。

1.6 老芒麦 *EsJRL* 家族表达模式分析

为分析老芒麦 *EsJRL* 基因家族成员在不同种质老芒麦旗叶中的表达模式,从 NCBI 数据库中下载不同种质老芒麦的转录组数据,包括 XH04 早花种质老芒麦(SRR2993880-SRR2993881 和 SRR29938906-SRR29938909)和 XH05 晚花种质老芒麦(SRR29938886-SRR29938892)。利用 Python 程序,通过 Hisat2 建立索引,将老芒麦基因组数据与 RNA-Seq 数据进行比对,使用 Feature Counts 计算每个基因或转录本的 read count,通过 R 语言的统计分析工具 DESeq 2 进行差异表达分析,筛选出 *EsJRL* 基因家族差异基因,通过计算 log₂FC 来描述不同条件下基因的响应模式,并使用 pheatmap 包绘制热图,进行可视化。

1.7 老芒麦 *EsJRL* 基因在非生物胁迫和外源激素处理下的 RT-qPCR 分析

试验材料为老芒麦种子,挑选大小均匀、饱满完整的种子于 2024 年 7 月种植在甘肃农业大学牧草实训基地。待其生长至二叶一心期,将老芒麦幼苗移入 20 cm × 20 cm 盆栽中,每盆 50 株,室温培养,14 h 光照,10 h 黑暗,放

置 7 d。分别进行 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 脱落酸(abscisic acid, ABA)、 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 赤霉素(gibberellin, GA)和 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 水杨酸(salicylic acid, SA)激素处理,以及干旱和低温 2 种逆境处理。其中,干旱处理使用 20% PEG 6000 溶液浇灌植物,处理期将植物置于常温下,模拟水分胁迫。低温处理将老芒麦植株置于 $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 的培养箱(HGZ-HA250, 上海)中,进行冷处理以模拟低温胁迫。正常生长为对照(CK),各处理 4 次重复。激素处理方式为叶面喷施,至叶片表面形成均匀液滴。处理 12 h 后,取每个处理的叶片,液氮速冻, $-80 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存。采用液氮研磨法^[16],使用 TRNzol Universal 总 RNA 提取试剂(TIANGEN, DP424)提取总 RNA,并使用 PrimeScript RT Reagent Kit with gDNA Eraser(Takara, RR047A)进行反转录得到 cDNA, $-20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存。根据老芒麦基因组中鉴定到的 *EsJRL* 基因序列,使用 Primer Premier 5 设计荧光定量引物(表 1),通过 NCBI Primer-Blast 检验引物的特异性,并由北京擎科生物有限公司合成引物。以贾燕伟^[24]所用的内参基因 *Actin* 作为本试验的内参基因 *EsActin*(正向引物:ACCCGAGACTAGATGATAACAGCA;反向引物:TAGCCTCACTCAGCACTTTCCAA),使用 TBGreen® PremixExTaq™ II 试剂盒(TaKaRa, 宝日医生物技术(北京)有限公司)进行 RT-qPCR 验证,反应体系与反应程序参照试剂盒说明书,通过 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法^[24]计算基因相对表达量。

表 1 *EsJRL* 基因的 RT-qPCR 特异性引物

Table 1 RT-qPCR specific primers for *EsJRL* gene

基因号 Gene ID	基因名称 Gene name	正向引物 Forward primer (5'-3')	反向引物 Reverse primer (5'-3')
Es2StG00000039474.1	<i>EsJRL23</i>	ATAGGTCCTTGCGGTGGTAGTG	TGGTCTCATCATGGTTGACTTCG
Es7HG00000031260.1	<i>EsJRL74</i>	GCCGTTTGGGAAAGAGGATGG	CAGGACCGCCCGTGGGAAG
Es3HG00000084164.1	<i>EsJRL32</i>	GGAGGAGCCGAAGCAGCAG	GCGGGAGCACGGTGGTC
Es3StG00000005761.1	<i>EsJRL37</i>	CGGCGTGGTGGTGGTGAG	CGGGAGGTTGAACGGCATG
Es3HG00000084157.2	<i>EsJRL31-2</i>	CCTCTGAGATCCGCCTGAGC	ACCACCACCACGCCCTTG
Es3HG00000084157.1	<i>EsJRL31-1</i>	CCTCTGAGATCCGCCTGAGC	ACCACCACCACGCCCTTG
Es3HG00000084155.1	<i>EsJRL29</i>	ACCGCCGTGAAGCAGCAG	CCGTGAGGACCGCAGAACC
Es1StG000000032567.1	<i>EsJRL14</i>	CTGTCAACCGGCTGCGTACTG	CCTCCACAACCTGGCGTGTCTTC
Es1HG00000058078.1	<i>EsJRL8</i>	ACAAGGTGCATCATCTGGGG	TGATGCTGAACTCTCGCCTC
Es3HG00000088654.1	<i>EsJRL35</i>	AGCTCCGAATCCGTGCTATG	TCTTTTCTCCATTCCC GCC
Es3StG00000010545.1	<i>EsJRL43</i>	ACTCAAGGCGAGCCAGACAGG	ATGAACGACGATGGAGCCAAACTC
Es2StG00000045601.2	<i>EsJRL28-2</i>	GCTTGCCCTTCCGTTCTC	GCTATCGCATGACCACCAGTTCTC
Es1HG00000053830.1	<i>EsJRL6</i>	GCCGCTACAAACCCTTCTACTAC	AGTGTGTTGGTTGGCGTTGGTAG

1.8 数据处理

使用 Excel 2021 进行基因表达量的计算,运用 GraphPad Prism 9.0 进行数据分析、作图和差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 老芒麦 *EsJRL* 基因家族成员的鉴定和染色体定位

在老芒麦基因组中共鉴定出 84 个 *EsJRL* 家族成员,主要分布在 13 条染色体的两端,在 chr1H、chr2St、chr3H 和 chr4H 染色体两端观察到基因家族成员的密集分布,其中 chr1H 染色体上分布最多,为 18 个家族成员,chr5H 染色体上分布最少,为 2 个家族成员,其余染色体上 *EsJRL* 家族成员有 3~12 个不等。此外,*EsJRL* 基因中存在 18 个串联重复基因对,chr7St 染色体上含 3 个,chr1H、chr2St、chr3St、chr4H、chr7H 和 chr7St 染色体上含有 2 对,其余染色体上各含有 1 个串联重复对(图 1)。根据 *EsJRL* 基因在染色体上的位置,依次命名为 *EsJRL1*~*EsJRL84*。

2.2 老芒麦 *EsJRL* 基因家族成员蛋白理化性质分析

EsJRL 基因编码氨基酸序列长度为 93~1574 bp,分子量(molecular weight, MW)为 9.71~178.37 kDa;等电点(theoretical isoelectric point, pI)为 4.19~9.88,68 个酸性蛋白质(pI<7)和 26 个碱性蛋白质(pI>7),表明老芒

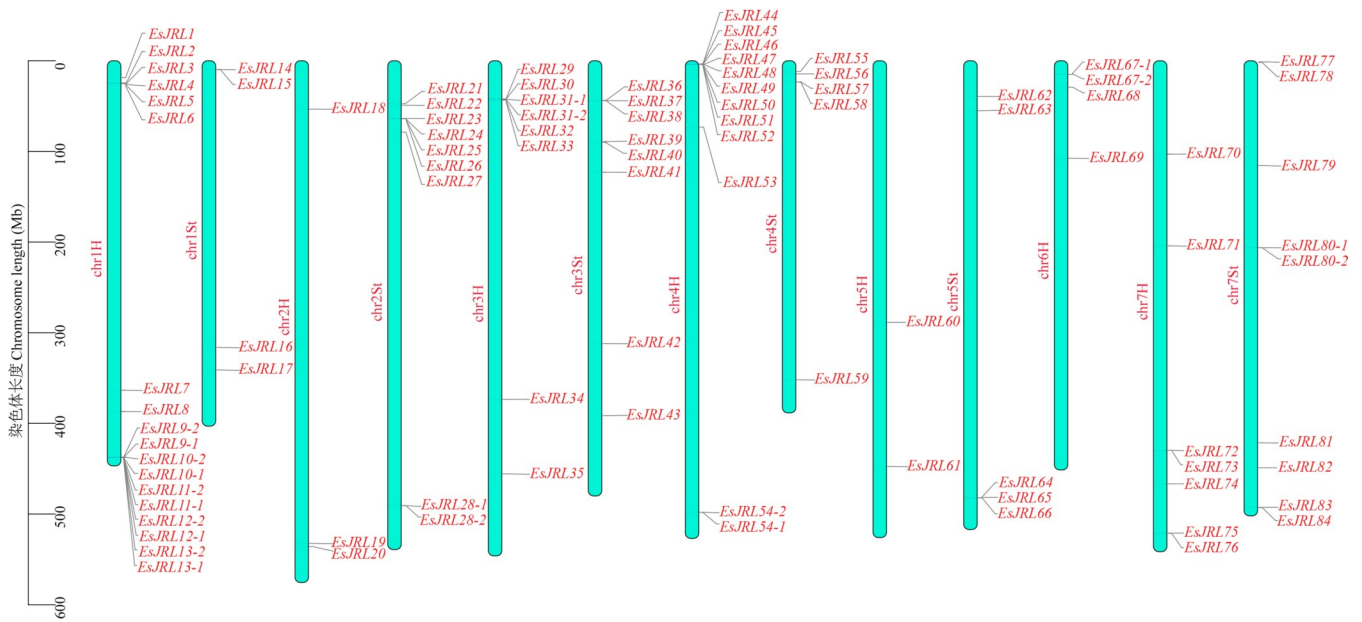


图1 *EsJRL* 基因家族成员的染色体分布

Fig. 1 Chromosome distribution of *EsJRL* gene family members

Chr: 染色体 Chromosome.

麦中 JRL 蛋白的等电点分布偏向于酸性; 不稳定性系数 (instability index, II) 为 10.79~46.56, 部分蛋白如 EsJRL42 (II 为 22.92) 在体外表现出较高的稳定性, 而 EsJRL17 (II 为 46.56) 稳定性较差; 脂溶性指数 (aliphatic index, AI) 为 59.13~96.68, 其中 EsJRL19 的 AI 为 93.80, 具有较强的热稳定性, 而 EsJRL55 的 AI 为 59.13, 显示出较低的热稳定性; 亲水性平均值 (grand average of hydropathicity, GRAVY) 为 $-0.511 \sim -0.032$, 其中 EsJRL15、Es7JRL83 和 EsJRL30 的 GRAVY 值分别为 0、0.006、0.032, 其余 91 个 JRL 蛋白的 GRAVY 均小于 0, 表明 *EsJRL* 基因家族具有亲水性, 主要倾向于在亲水环境中发挥作用 (表 2)。

表 2 *EsJRL* 基因家族成员理化性质分析

Table 2 Physicochemical properties analysis of *EsJRL* gene family members

基因 ID Gene ID	基因名 Gene name	氨基酸数目 Number of amino acid (aa)	分子量 Molecular weight (MW, Da)	等电点 Isoelectric point (pI)	不稳定性系数 Instability index (II)	脂溶性指数 Aliphatic index (AI)	亲水性平均值 Grand average of hydropathicity (GRAVY)
Es1HG00000053762.1	<i>EsJRL1</i>	144	14897.71	8.93	10.79	75.07	-0.199
Es1HG00000053820.1	<i>EsJRL2</i>	146	15568.32	4.19	18.04	78.70	-0.128
Es1HG00000053821.1	<i>EsJRL3</i>	146	15554.30	4.19	17.46	78.01	-0.125
Es1HG00000053822.1	<i>EsJRL4</i>	146	15568.32	4.19	18.04	78.70	-0.128
Es1HG00000053823.1	<i>EsJRL5</i>	146	15554.30	4.19	17.46	78.01	-0.125
Es1HG00000053830.1	<i>EsJRL6</i>	249	27090.86	8.79	32.09	74.10	-0.160
Es1HG00000057612.1	<i>EsJRL7</i>	589	63979.22	7.09	41.32	64.67	-0.447
Es1HG00000058078.1	<i>EsJRL8</i>	218	23602.69	8.89	46.10	67.94	-0.454
Es1HG00000059055.2	<i>EsJRL9-2</i>	153	15994.03	5.84	27.08	77.12	-0.137
Es1HG00000059055.1	<i>EsJRL9-1</i>	158	16481.60	5.84	30.54	75.32	-0.128
Es1HG00000059056.2	<i>EsJRL10-2</i>	153	16057.13	6.06	32.45	77.78	-0.133
Es1HG00000059056.1	<i>EsJRL10-1</i>	158	16544.70	6.06	35.73	75.95	-0.125
Es1HG00000059057.2	<i>EsJRL11-2</i>	153	15969.06	6.71	27.02	77.78	-0.110

续表 Continued Table

基因 ID Gene ID	基因名 Gene name	氨基酸数目 Number of amino acid (aa)	分子质量 Molecular weight (MW, Da)	等电点 Isoelectric point (pI)	不稳定系数 Instability index (II)	脂溶性指数 Aliphatic index (AI)	亲水性平均值 Grand average of hydrophobicity (GRAVY)
Es1HG00000059057.1	<i>EsJRL11-1</i>	158	16456.64	6.71	30.48	75.95	-0.103
Es1HG00000059058.2	<i>EsJRL12-2</i>	153	15969.06	6.71	27.02	77.78	-0.110
Es1HG00000059058.1	<i>EsJRL12-1</i>	158	16456.64	6.71	30.48	75.95	-0.103
Es1HG00000059059.2	<i>EsJRL13-2</i>	153	15957.01	6.06	27.99	77.12	-0.090
Es1HG00000059059.1	<i>EsJRL13-1</i>	158	16471.65	6.71	30.94	75.32	-0.103
Es1StG00000032567.1	<i>EsJRL14</i>	152	16247.31	5.40	35.76	94.14	-0.003
Es1StG00000032569.1	<i>EsJRL15</i>	93	10391.95	9.51	29.75	86.88	0.000
Es1StG00000036517.1	<i>EsJRL16</i>	584	63221.47	7.38	37.84	65.58	-0.395
Es1StG00000037075.1	<i>EsJRL17</i>	220	23694.74	9.27	46.56	64.27	-0.502
Es2HG00000060203.1	<i>EsJRL18</i>	309	33637.74	4.87	41.26	77.28	-0.224
Es2HG00000065677.1	<i>EsJRL19</i>	581	65180.76	6.56	45.25	93.80	-0.100
Es2HG00000065745.1	<i>EsJRL20</i>	696	77761.06	7.31	42.89	71.14	-0.422
Es2StG00000039181.1	<i>EsJRL21</i>	155	16561.74	9.06	25.62	76.71	-0.101
Es2StG00000039209.1	<i>EsJRL22</i>	157	16896.14	9.01	18.57	76.43	-0.152
Es2StG00000039474.1	<i>EsJRL23</i>	148	16611.77	5.93	31.73	72.36	-0.511
Es2StG00000039475.1	<i>EsJRL24</i>	298	32302.38	6.31	14.65	72.62	-0.278
Es2StG00000039477.1	<i>EsJRL25</i>	301	32804.94	5.92	21.33	71.26	-0.274
Es2StG00000039478.1	<i>EsJRL26</i>	310	34429.84	8.92	17.46	70.06	-0.327
Es2StG00000039795.1	<i>EsJRL27</i>	243	26449.77	7.01	38.77	75.84	-0.272
Es2StG00000045601.1	<i>EsJRL28-1</i>	494	55341.59	6.22	44.25	96.68	-0.030
Es2StG00000045601.2	<i>EsJRL28-2</i>	581	65047.63	6.35	45.09	94.96	-0.071
Es3HG00000084155.1	<i>EsJRL29</i>	325	34920.95	7.53	38.87	75.23	-0.129
Es3HG00000084156.1	<i>EsJRL30</i>	244	26216.12	7.54	44.28	79.84	0.032
Es3HG00000084157.1	<i>EsJRL31-1</i>	145	15447.50	6.83	38.05	73.17	-0.194
Es3HG00000084157.2	<i>EsJRL31-2</i>	139	14811.70	6.28	37.12	76.33	-0.188
Es3HG00000084164.1	<i>EsJRL32</i>	244	25959.49	8.48	40.17	74.30	-0.431
Es3HG00000084173.1	<i>EsJRL33</i>	166	18209.30	5.53	42.25	70.30	-0.452
Es3HG00000087351.1	<i>EsJRL34</i>	451	48576.97	9.23	24.63	71.33	-0.276
Es3HG00000088654.1	<i>EsJRL35</i>	317	34442.01	6.66	19.20	82.11	-0.150
Es3StG00000005754.1	<i>EsJRL36</i>	141	15118.15	6.06	39.42	75.96	-0.274
Es3StG00000005761.1	<i>EsJRL37</i>	145	15697.80	6.97	43.98	70.48	-0.220
Es3StG00000005767.1	<i>EsJRL38</i>	332	35598.66	7.07	41.03	78.34	-0.105
Es3StG00000006647.1	<i>EsJRL39</i>	155	16763.02	9.34	28.10	74.84	-0.153
Es3StG00000006682.1	<i>EsJRL40</i>	157	16960.14	7.90	20.70	75.22	-0.196
Es3StG00000007172.1	<i>EsJRL41</i>	103	11180.64	5.29	27.97	74.76	-0.333
Es3StG00000009097.1	<i>EsJRL42</i>	451	48623.73	9.06	22.92	69.58	-0.345
Es3StG00000010545.1	<i>EsJRL43</i>	317	34353.81	7.07	21.78	80.85	-0.183
Es4HG00000066395.1	<i>EsJRL44</i>	147	16121.96	5.75	45.11	68.30	-0.441
Es4HG00000066397.1	<i>EsJRL45</i>	147	16121.96	5.75	45.11	68.30	-0.441
Es4HG00000066399.1	<i>EsJRL46</i>	147	16121.96	5.75	45.11	68.30	-0.441

续表 Continued Table

基因 ID Gene ID	基因名 Gene name	氨基酸数目 Number of amino acid (aa)	分子质量 Molecular weight (MW, Da)	等电点 Isoelectric point (pI)	不稳定系数 Instability index (II)	脂溶性指数 Aliphatic index (AI)	亲水性平均值 Grand average of hydrophobicity (GRAVY)
Es4HG0000066400.1	<i>EsJRL47</i>	147	16182.00	5.75	40.81	68.30	-0.467
Es4HG0000066401.1	<i>EsJRL48</i>	147	16121.96	5.75	45.11	68.30	-0.441
Es4HG0000066403.1	<i>EsJRL49</i>	147	16121.96	5.75	45.11	68.30	-0.441
Es4HG0000066404.1	<i>EsJRL50</i>	147	16182.00	5.75	40.81	68.30	-0.467
Es4HG0000066405.1	<i>EsJRL51</i>	147	16121.96	5.75	45.11	68.30	-0.441
Es4HG0000066407.1	<i>EsJRL52</i>	147	16145.98	5.50	43.69	70.27	-0.458
Es4HG0000067604.1	<i>EsJRL53</i>	149	16142.07	5.07	35.89	77.79	-0.303
Es4HG0000071276.1	<i>EsJRL54-1</i>	919	101893.84	5.99	40.98	85.55	-0.210
Es4HG0000071276.2	<i>EsJRL54-2</i>	989	109609.44	6.20	39.14	83.83	-0.230
Es4StG0000000171.1	<i>EsJRL55</i>	196	20629.91	7.78	29.02	59.13	-0.433
Es4StG0000000209.1	<i>EsJRL56</i>	235	24515.95	4.76	32.34	63.87	-0.177
Es4StG0000000300.1	<i>EsJRL57</i>	180	18897.27	5.42	30.39	80.22	-0.051
Es4StG0000000301.1	<i>EsJRL58</i>	169	17764.90	4.75	32.38	83.08	-0.039
Es4StG00000004303.1	<i>EsJRL59</i>	301	31898.48	6.30	29.27	68.87	-0.225
Es5HG0000074467.1	<i>EsJRL60</i>	304	32991.16	5.16	29.49	78.88	-0.129
Es5HG0000077065.1	<i>EsJRL61</i>	1010	109900.74	5.64	31.82	87.95	-0.140
Es5StG00000012697.1	<i>EsJRL62</i>	504	57157.44	5.28	43.36	82.52	-0.385
Es5StG00000012895.1	<i>EsJRL63</i>	148	15890.99	6.65	34.07	83.51	-0.185
Es5StG00000018974.1	<i>EsJRL64</i>	341	37258.82	5.80	16.13	71.99	-0.283
Es5StG00000018980.1	<i>EsJRL65</i>	341	37258.82	5.80	16.13	71.99	-0.283
Es5StG00000018983.1	<i>EsJRL66</i>	341	37258.82	5.80	16.13	71.99	-0.283
Es6HG00000078673.1	<i>EsJRL67-1</i>	183	19167.51	5.12	34.72	78.36	-0.072
Es6HG00000078673.2	<i>EsJRL67-2</i>	207	21931.69	4.89	35.03	79.13	-0.075
Es6HG00000078921.1	<i>EsJRL68</i>	319	34380.79	8.87	26.94	75.11	-0.186
Es6HG00000079987.1	<i>EsJRL69</i>	321	34277.48	9.88	35.74	74.24	-0.286
Es7HG00000027580.1	<i>EsJRL70</i>	155	16735.84	5.03	29.45	80.45	-0.127
Es7HG00000028732.1	<i>EsJRL71</i>	155	16795.83	6.97	43.97	67.87	-0.393
Es7HG00000030707.1	<i>EsJRL72</i>	328	35853.54	6.06	21.98	77.56	-0.200
Es7HG00000030708.1	<i>EsJRL73</i>	346	37760.64	6.20	22.32	75.23	-0.225
Es7HG00000031260.1	<i>EsJRL74</i>	168	18260.90	8.45	32.02	80.60	-0.238
Es7HG00000032129.1	<i>EsJRL75</i>	310	33630.75	6.14	18.99	76.42	-0.253
Es7HG00000032133.1	<i>EsJRL76</i>	311	34065.22	6.12	26.63	78.01	-0.283
Es7StG00000046382.1	<i>EsJRL77</i>	1574	178373.74	7.92	44.52	88.70	-0.348
Es7StG00000046394.1	<i>EsJRL78</i>	906	101125.34	5.71	39.59	76.05	-0.298
Es7StG00000048488.1	<i>EsJRL79</i>	162	17437.63	5.07	31.44	80.00	-0.168
Es7StG00000049687.1	<i>EsJRL80-1</i>	155	16781.84	6.50	44.16	69.74	-0.370
Es7StG00000049687.2	<i>EsJRL80-2</i>	148	15999.87	6.18	43.69	68.45	-0.386
Es7StG00000052256.1	<i>EsJRL81</i>	307	32583.53	6.10	21.36	79.09	-0.144
Es7StG00000052743.1	<i>EsJRL82</i>	342	36912.21	6.79	30.06	80.96	-0.018
Es7StG00000053443.1	<i>EsJRL83</i>	93	9714.84	5.38	21.86	66.13	0.006
Es7StG00000053444.1	<i>EsJRL84</i>	298	32035.85	5.80	30.58	66.41	-0.343

2.3 老芒麦 *EsJRL* 基因家族成员的系统发育分析和共线性分析

为探究 *JRL* 基因家族的进化关系,基于老芒麦、小麦、拟南芥和水稻的 *JRL* 蛋白进行多序列比对与系统发育分析(图 2)。结果显示,*JRL* 基因家族成员可分为 8 个亚家族(Clade I ~ VIII),同一亚家族中的基因结构相似。各家族成员数量不等,Clade IV 族最大,包含 22 个 *EsJRL* 蛋白、11 个 *OsJRL* 蛋白、3 个 *TaJRL* 蛋白和 42 个 *AtJRL* 蛋白,最小组为 Clade II,仅包含 5 个 *EsJRL* 蛋白和 6 个 *TaJRL* 蛋白。*EsJRL* 蛋白分布于所有亚家族。为揭示 *EsJRL* 基因家族的进化关系,使用 MCScanX 对 *EsJRL* 基因进行了共线性分析(图 3)。结果表明,*EsJRL* 基因(71.4%)位于重复区域,在染色体 chr1H、chr1St、chr2H、chr2St、chr3H、chr3St、chr4St、chr6H、chr7H 和 chr7St 上共检测到 21 对片段重复基因。为了解其在进化过程中遇到的选择压力,对所有串联重复基因对计算了非同义替代率(non-synonymous substitution, *Ka*)、同义替代率(synonymous substitution, *Ks*)以及 *Ka/Ks*。结果显示,所有串联基因对的 *Ka/Ks* 均小于 1(表 3),说明这些基因在进化历史中均受到纯化选择。

2.4 老芒麦 *EsJRL* 基因的结构、保守基序和结构域分析

通过 TBtools 软件对基因结构可视化,发现所有 *EsJRL* 基因都含内含子,大部分基因内含子数目为 1~3 个。

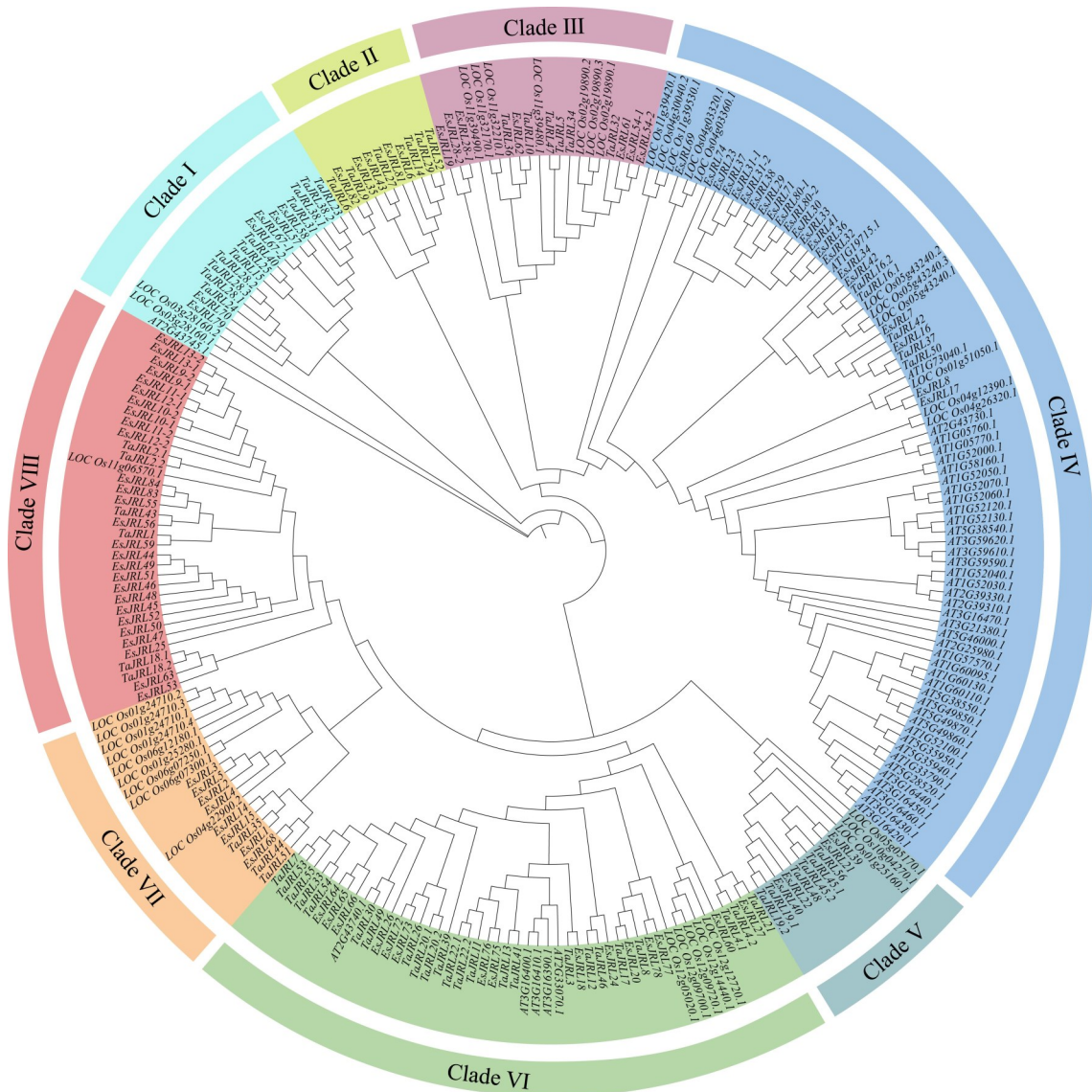
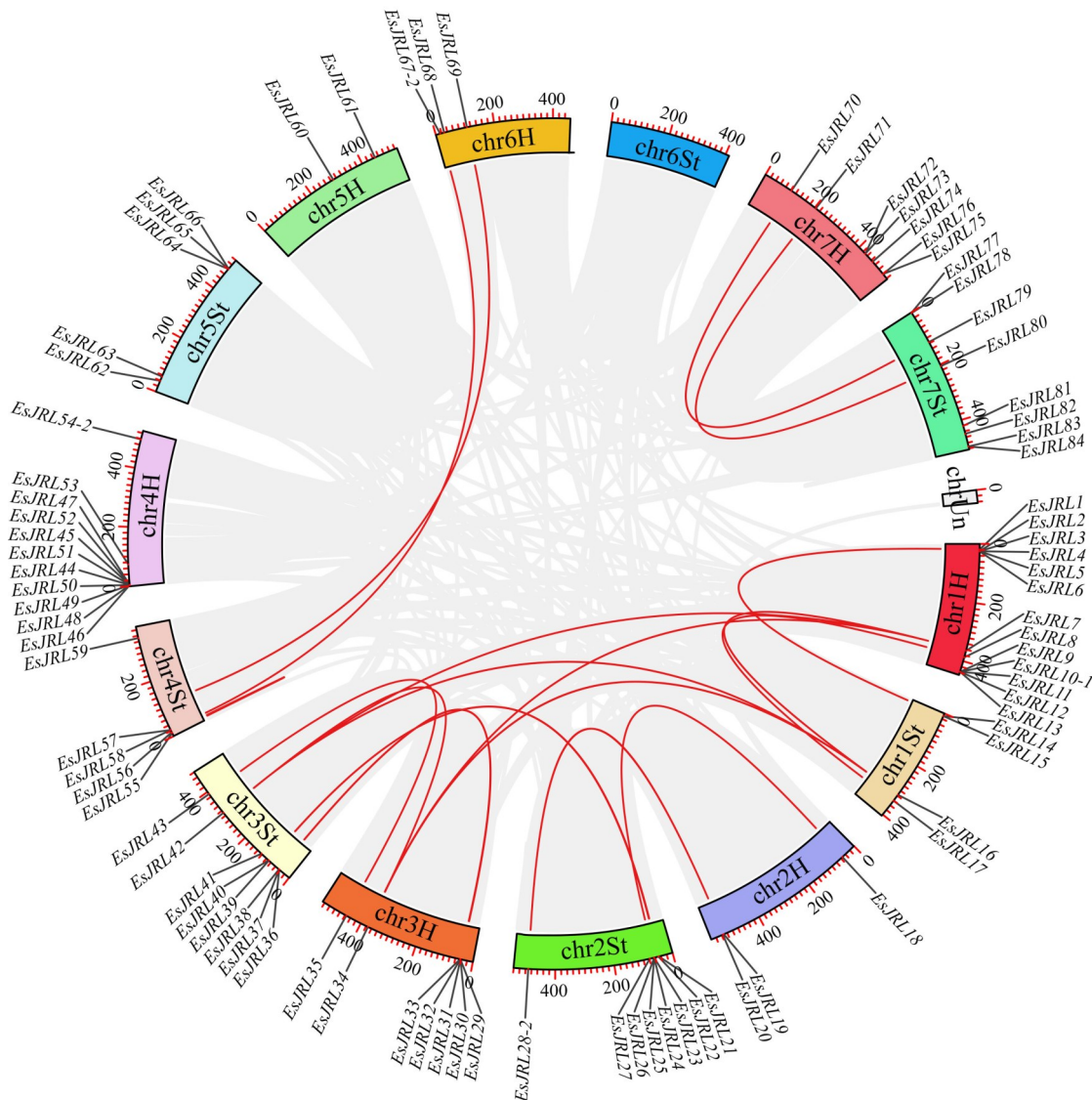


图 2 植物 *JRL* 基因家族系统进化树

Fig. 2 Phylogenetic tree of the plant *JRL* gene family

Clade: 亚家族。

图3 *EsJRL* 基因家族共线性分析Fig. 3 Collinearity analysis of *EsJRL* gene family表3 *EsJRL* 基因家族片段重复基因对的 Ka/KsTable 3 Ka/Ks of segmental duplicated gene pairs in the *EsJRL* gene family

同源基因 Homologous gene	非同义替代率 Non-synonymous substitution (Ka)	同义替代率 Synonymous substitution (Ks)	非同义替代 率/同义替 代率 Ka/Ks	同源基因 Homologous gene	非同义替代率 Non-synonymous substitution (Ka)	同义替代率 Synonymous substitution (Ks)	非同义替代 率/同义替 代率 Ka/Ks
<i>EsJRL8~EsJRL17</i>	0.031309	0.125153	0.250166	<i>EsJRL34~EsJRL42</i>	0.020869	0.160252	0.130227
<i>EsJRL7~EsJRL16</i>	0.015508	0.139083	0.111505	<i>EsJRL35~EsJRL43</i>	0.031225	0.063006	0.495590
<i>EsJRL1~EsJRL14</i>	0.415929	0.577628	0.720063	<i>EsJRL33~EsJRL36</i>	0.314220	0.878862	0.357530
<i>EsJRL7~EsJRL34</i>	0.301874	0.666092	0.453202	<i>EsJRL33~EsJRL37</i>	0.384634	1.148341	0.334947
<i>EsJRL7~EsJRL42</i>	0.305636	0.674034	0.453443	<i>EsJRL29~EsJRL38</i>	0.054512	0.129426	0.421181
<i>EsJRL16~EsJRL34</i>	0.308583	0.719593	0.428830	<i>EsJRL29~EsJRL37</i>	0.256467	0.638630	0.401589
<i>EsJRL16~EsJRL42</i>	0.284311	0.709209	0.400884	<i>EsJRL55~EsJRL56</i>	0.350654	0.538459	0.651218
<i>EsJRL18~EsJRL24</i>	0.464964	1.109302	0.419150	<i>EsJRL57~EsJRL67</i>	0.089606	0.146610	0.611185
<i>EsJRL19~EsJRL28</i>	0.016781	0.034327	0.488853	<i>EsJRL70~EsJRL79</i>	0.052291	0.106226	0.492263
<i>EsJRL21~EsJRL39</i>	0.020150	0.104351	0.193097	<i>EsJRL71~EsJRL80</i>	0.027931	0.084786	0.329428
<i>EsJRL22~EsJRL40</i>	0.019738	0.085265	0.231489				



图 4 老芒麦 *EsJRL* 基因家族系统发育树、保守基序及保守结构域

Fig. 4 Phylogenetic tree, conserved motifs and conserved structural domains of the *EsJRL* gene family of *E. sibiricus*

使用在线网站 MEME 识别老芒麦 *EsJRL* 蛋白的 10 个保守基序(Motif 1~10),长度为 11~39 bp。Motif 1、Motif 3 和 Motif 7 分别存在于 83、86 和 86 个基因序列中,其中 Motif 1 的 e 值最低,为 $4.9e^{-887}$,表明这些基序在基因家族中具有高度保守性。Motif 8、Motif 9 和 Motif 10 出现频率较低。结构域分析揭示 *EsJRL* 蛋白的结构域多种多样,具有不同数量的 Jacalin 结构域和不同类型的其他结构域,其中 8 个 *EsJRL* 基因包含多个与 Jacalin 超家族相关的结构域,如 *EsJRL7*、*EsJRL16* 和 *EsJRL42* 等。此外,除了 Jacalin 结构域外,部分 *EsJRL* 蛋白还包含一个或多个其他类型的结构域。例如,*EsJRL77* 包含 NB-ARC、RX-CC_like、LRR、PKc_like 和 PLN03210 结构域,*EsJRL35*、*EsJRL43*、*EsJRL68* 和 *EsJRL82* 都包含 dirigent 结构域(图 4)。

2.5 老芒麦 *EsJRL* 基因家族顺式作用元件分析

使用 Plant CARE 网站在 *EsJRL* 基因上游序列(2000 bp)区域,共鉴定出 36 种元件,包括光响应、激素响应、植物发育、胁迫响应及其他类型。其中,光响应元件的种类和数量占据主导地位,几乎分布于所有 *EsJRL* 基因中,主要包括 G-box、ACE 和 Box 4 元件。此外,大量激素响应元件也存在于 *EsJRL* 基因启动子区域,包括生长素响应元件(AuxRE、TGA-element)、赤霉素响应元件(GARE-motif、P-box、TATC-box)、脱落酸响应元件(the abscisic acid responsiveness, ABRE)、茉莉酸响应元件(CGTCA-motif、TGACG-motif)和水杨酸响应元件(TCA-element)等。除了光和激素响应元件外,*EsJRL* 基因启动子区域还被鉴定出多种胁迫响应元件,主要包括干旱响应元件(MYB binding site, MBS)、低温响应元件(low-temperature responsiveness, LTR)、厌氧诱导响应元件(anaerobic induction responsive element, ARE)以及防御应激相关的 TC-rich repeats。此外,还有大量与植物发育相关的顺式作用元件,包括种子发育调控元件(RY-element)、胚乳特异性表达元件(GCN4_motif)、细胞周期调控元件(MSA-like)及分生组织特异性表达元件(CAT-box)。同时,还鉴定出与类黄酮生物合成相关的元件(MYB binding site I, MBSI)以及与昼夜节律调控相关的 circadian 元件(图 5)。

2.6 老芒麦 *EsJRL* 基因表达模式分析

对老芒麦 RNA-seq 数据进行分析,在穗期,发现有 33 个 *EsJRL* 基因在 XH04 种质的旗叶中表达,有 23 个在 XH05 种质的旗叶中表达,有 19 个在两个种质中均有表达。在两个种质中部分基因在开花期高表达,而到晚穗期表达量则显著降低。其中 *EsJRL75* 仅在 XH04 中表达,在开花期的表达量明显增加,而在晚穗期则明显下降,开花期的表达量为晚穗期的 32 倍。*EsJRL58* 和 *EsJRL79* 在不同品种中的表达模式与 *EsJRL75* 表现出相似的变化趋势,表明这些基因在开花相关的生物过程(花器官发育、开花启动和生殖发育)中发挥关键作用。*EsJRL82*、*EsJRL23* 和 *EsJRL42* 等基因在 XH04 晚穗期表达较高,但在开花期表达量较低。晚穗期 *EsJRL* 基因的表达量明显高于开花期,说明这部分基因可能与营养物质的积累和转移相关,为开花和生殖提供能量和结构基础。*EsJRL82* 和 *EsJRL35* 在两个品种中的表达变化相反,暗示不同品种老芒麦的基因调控可能受到不同遗传背景或环境条件的影响。部分基因(*EsJRL42*、*EsJRL35* 和 *EsJRL57*)在不同发育阶段和处理条件下的表达量变化较小,表现出较高的表达稳定性(图 6)。

2.7 老芒麦 *EsJRL* 基因在非生物胁迫和外源激素处理下的 RT-qPCR 分析

为研究 *EsJRL* 基因在不同激素(GA、ABA、SA)处理及非生物胁迫(PEG 6000、低温 4 °C)条件下的表达模式,选出 13 个 *EsJRL* 基因进行了 RT-qPCR 分析(图 7)。结果显示,在不同激素和非生物胁迫条件下,*EsJRL* 基因家族表现出显著的动态变化。在 GA 处理下,*EsJRL8*、*EsJRL23*、*EsJRL32*、*EsJRL35* 和 *EsJRL43* 基因的表达水平较 CK 显著上调($P < 0.05$),其中 *EsJRL32* 基因上调最明显,表达量是 CK 的 122.1 倍。与之相比,*EsJRL28-2* 基因表达水平则显著下调($P < 0.05$),较 CK 下调 82%;在 SA 处理下,*EsJRL6*、*EsJRL28-2* 和 *EsJRL32* 的表达水平较 CK 显著上调($P < 0.05$),其中 *EsJRL32* 上调最明显,表达量是 CK 的 34.2 倍;在 ABA 处理下,*EsJRL8*、*EsJRL23*、*EsJRL29*、*EsJRL31-1*、*EsJRL31-2*、*EsJRL35*、*EsJRL37*、*EsJRL43* 和 *EsJRL74* 基因的表达水平显著上调($P < 0.05$),其中 *EsJRL31-2* 上调最明显,表达量为 CK 的 798.1 倍。在非生物胁迫处理中,干旱胁迫显著诱导了 *EsJRL14*、*EsJRL23* 和 *EsJRL74* 的表达,较 CK 上调至 3.3、23.2 和 26.4 倍,而 *EsJRL28-2* 则显著下调 82%($P < 0.05$);在低温处理下,*EsJRL31-1* 的表达量较 CK 显著上调 10.9 倍($P < 0.05$),而 *EsJRL43* 的表达量显著下调约



图5 *EsJRL* 基因家族启动子序列顺式作用元件分析

Fig. 5 Analysis of *cis*-acting elements in the promoter sequence of *EsJRL* family genes

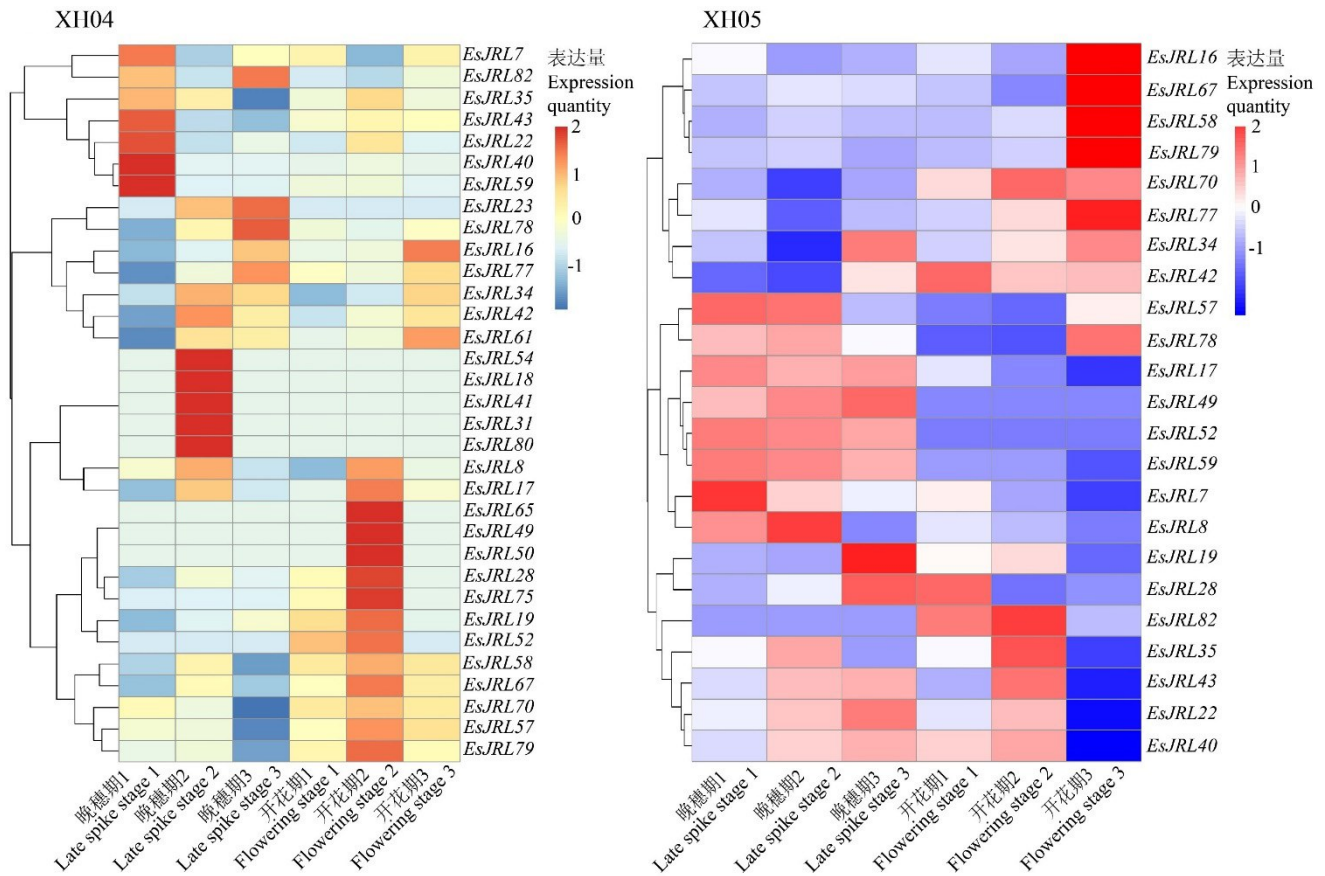


图6 *EsJRL* 基因在不同种质老芒麦旗叶的表达分析

Fig. 6 Expression analysis of *EsJRL* gene in different germplasm

1, 2, 3代表3个重复转录组测序。1, 2, and 3 represent three replicate transcriptome sequencing.

96% ($P < 0.05$)。 *EsJRL43* 在 GA 处理下的表达量较 CK 显著上调 ($P < 0.05$)； *EsJRL28-2* 在 SA 处理下的表达量较 CK 显著上调 ($P < 0.05$)，而在 GA 和干旱处理下则显著下调 ($P < 0.05$)； *EsJRL29* 在 ABA 处理下的表达量也显著上调 ($P < 0.05$)，为 CK 的 66.4 倍，而其他处理条件下其表达量无显著变化。

3 讨论

JRL 基因家族是植物中重要的转录因子家族之一，广泛参与植物的生长发育及环境适应过程。随着转基因技术和基因组学的迅速发展，许多植物物种中的 *JRL* 基因家族得到了鉴定，包括水稻^[21]、小麦^[22]和拟南芥^[23]等，这为进一步探讨 *JRL* 基因在植物中的作用机制提供了重要的研究基础。本研究结合生物信息学手段，利用老芒麦的全基因组数据，系统地鉴定和分析了 *EsJRL* 基因家族的特征，并进一步揭示了其潜在的生物学功能。老芒麦的 *EsJRL* 基因家族可能具有与水稻和小麦等禾本科物种相似的进化背景。研究表明，*JRL* 基因的数量因物种而异，例如十字花科植物的 *JRL* 基因数量为 46~123 个，而禾本科植物则为 20~41 个^[25]。禾本科植物往往具有相似数量的 *JRL* 基因，并且这些基因可能以相似的速度扩增^[16]。本研究中，从老芒麦中鉴定出了 84 个 *EsJRL* 基因，数量显著高于其他禾本科植物，可能是老芒麦 *JRL* 基因家族的扩展复制所致。通过基因组数据的系统分析，构建了老芒麦、小麦、水稻和拟南芥中的 *JRL* 蛋白进化树，并将其划分为 8 个组 (Clade I~VIII)。结果显示，老芒麦与小麦和水稻具有更近的亲缘关系，而与双子叶植物拟南芥则存在显著分化，进一步表明单子叶植物和双子叶植物在功能适应性上存在明显差异。在进化过程中，基因家族的扩展通常通过分段和串联复制实现^[26-27]。通过染色体定位和共线性分析结果表明，老芒麦 *EsJRL* 基因家族中发生了 18 个片段重复事件和 21 对串联重复基因，这些重复事件对 *EsJRL* 家族的扩展起到了重要作用。所有串联重复基因对的 Ka/Ks 均小于 1，表明 *EsJRL* 基因家族在进

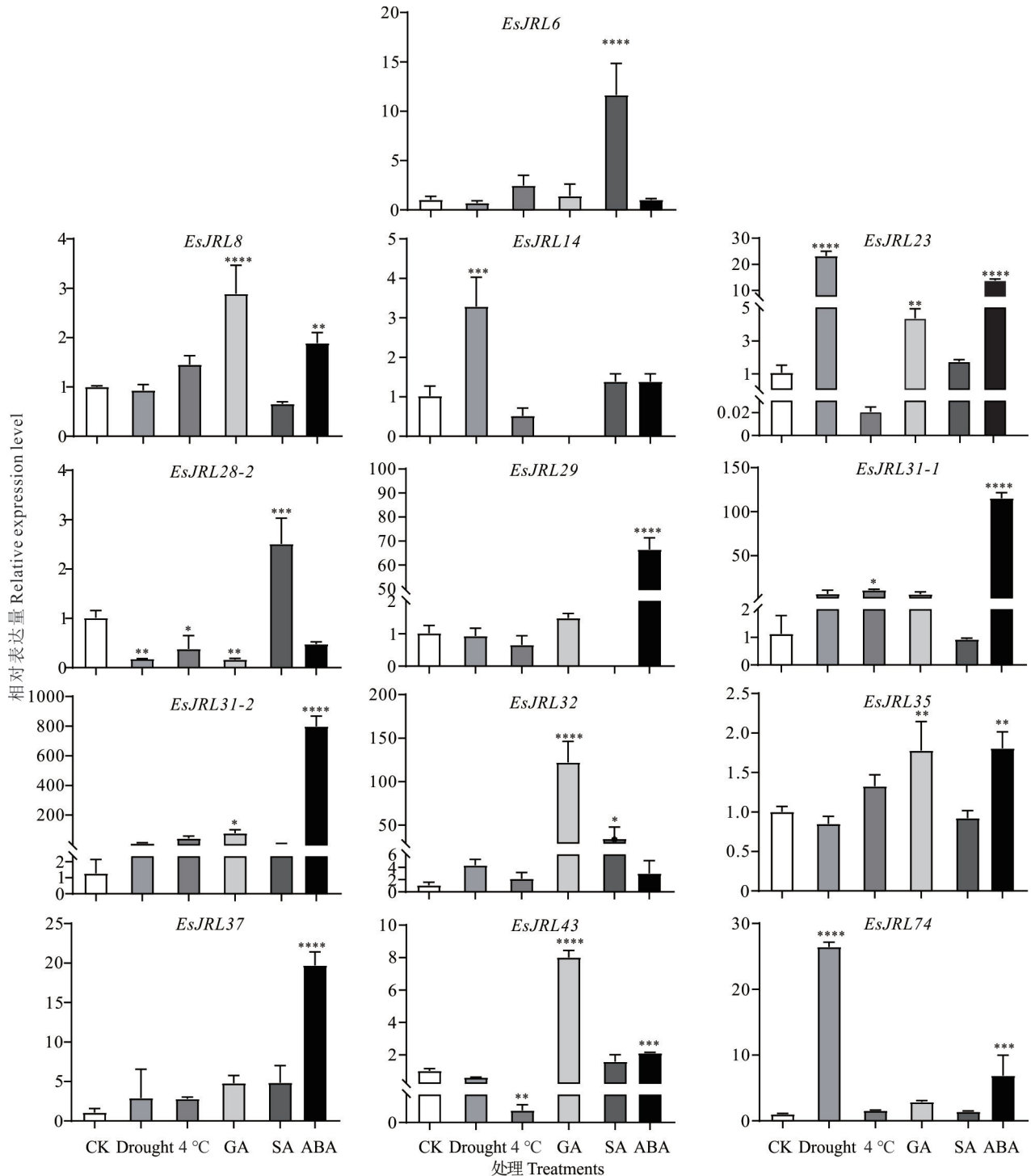


图7 *EsJRL* 基因家族在外源 GA、ABA、SA、干旱和低温胁迫下的表达模式分析

Fig. 7 Expression pattern analysis of *EsJRL* gene family under exogenous GA, ABA, SA, drought and low temperature stresses

CK: 空白对照 Blank control; Drought: 20% 的 PEG 6000 模拟干旱处理 20% PEG 6000 mimicking drought treatment; 4 °C: 低温处理 Low temperature treatment; GA: $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 赤霉素 Gibberellin; SA: $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 水杨酸 Salicylic acid; ABA: $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 脱落酸 Abscisic acid. *: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$; ***: $P < 0.001$; ****: $P < 0.0001$.

化过程中经历了较强的选择性保守,从而维持了其基本功能和结构特征。这一发现与水稻 *OsJRL* 基因家族的研究一致^[28],该研究证明 *JRL* 基因可能是通过串联和片段复制从古老的 Jacalin 结构域进化而来的。启动子区域的分析表明,老芒麦 *EsJRL* 基因家族启动子区域含有 36 种顺式作用元件,主要包括光响应元件、激素响应元件、胁迫响应元件和植物发育相关元件等,光响应元件(如 G-box、ACE、Box 4)几乎分布于所有基因中。在非生物胁迫

下,对水稻的研究发现,*OsJRL*蛋白在干旱和激素处理下具有高度的组织特异性^[29]。除激素反应元件(如ABA、GA和SA相关响应元件等)外,还检测到大量与非生物胁迫和植物发育相关的顺式作用元件的存在,表明*JRL*基因家族不仅与植物的胁迫响应相关,而且还可能在种子发育、细胞周期调控及分生组织的特异性表达中起着重要作用。胡婉茵^[30]的研究发现,*OsJRL*(LOC_Os01g24710)可能作为一种镉离子外排转运体参与水稻镉代谢,通过CRISPR/Cas基因敲除*OsJRL*基因,使其蛋白功能域的不完整导致蛋白功能丧失或部分丧失,提高突变体的镉吸收能力,降低了镉胁迫耐受限度。

许多植物凝集素主要存在于储存组织中,例如种子、块茎、鳞茎、根茎和树皮^[31]。RNA-Seq分析显示,老芒麦*EsJRL*基因在旗叶的表达具有显著的时空特异性,仅33个*EsJRL*基因在开花期和抽穗期显著表达,其中*EsJRL49*、*EsJRL52*、*EsJRL82*和*EsJRL75*基因在抽穗期表达量较高。暗示这些基因可能在花器官发育和籽粒形成中起关键作用,并与小麦中*JRL*基因在花器官和籽粒发育中的表达模式一致^[17]。此外,*JRL*基因对多种植物激素的诱导具有显著响应。小麦中的*TaJRL1*对SA和茉莉酸甲酯(MeJA)处理有响应^[32]。在本研究中挑选了13个*EsJRL*基因,分析其在GA、ABA、SA、干旱和低温处理下的表达模式。结果显示,GA处理后8个*EsJRL*基因上调表达,SA处理后34个*EsJRL*基因上调表达,ABA处理后7个*EsJRL*基因上调表达。不同激素处理对不同基因的表达模式存在显著差异。例如,在GA和SA处理下*EsJRL32*表达水平显著上调,而在ABA中几乎未发生变化;相反,*EsJRL37*在ABA处理下表达显著上调,而在GA和SA处理中无显著变化。结果表明,*JRL*基因对激素的响应具有较高的特异性,并可能通过不同的信号通路实现功能。陈同睿等^[33]的研究发现小麦的*TaJRL53*可能通过调控植物体内活性氧产生、茉莉酸(jasmonate,JA)信号途径、诱导病程相关蛋白基因的表达水平,从而提高植株对赤霉菌的抗性。张会龙^[34]的研究表明,过表达*PeJRL*能够抑制转基因拟南芥中ABA的生物合成,减轻了由ABA诱导产生的活性氧所造成的氧化损伤。并非所有对生物胁迫有反应的*EsJRL*基因都受植物激素调节,部分基因在某些激素处理下调,在其他植物中也报道了类似的发现。此外,*EsJRL*对低温和干旱胁迫下响应分析显示,*EsJRL74*和*EsJRL23*在干旱处理下表达水平显著上调,而*EsJRL31-1*在低温处理下显著下调。与*EsJRL43*互为同源基因的*EsJRL35*的表达在所有处理下均无显著变化,表明这些基因在非生物胁迫下可能以不同的方式发挥作用。

4 结论

本研究从老芒麦参考基因组中鉴定到84条*EsJRL*基因,不均匀分布在13条染色体的两端。*EsJRL*蛋白相对较小,编码的氨基酸为93~1574个,分子量为9.71~178.37 kDa。根据系统发育关系、保守基序及基因结构,可将*EsJRL*蛋白分为8组,大部分成员均含有Motif 1、Motif 3和Motif 7。顺式作用元件分析共预测到37种元件,以光响应和激素响应元件为主。共线性分析表明,片段重复和串联重复在该家族的扩增中起到了重要作用。RNA-Seq数据揭示了不同*EsJRL*基因可能在老芒麦生长发育过程中发挥着不同的功能。RT-qPCR结果表明,13个*EsJRL*基因均能参与响应干旱、低温和激素胁迫,并且其响应过程可能与ABA信号传导相关。本研究结果可为进一步探究*EsJRL*基因功能提供理论依据,揭示它们在植物生长发育、环境适应以及抗逆性改良中的关键作用,为老芒麦等作物的分子育种提供新的研究思路。

参考文献 References:

- [1] Han Y J, Zhong Z H, Song L L, *et al.* Evolutionary analysis of plant jacalin-related lectins (JRLs) family and expression of rice JRLs in response to *Magnaporthe oryzae*. *Journal of Integrative Agriculture*, 2017, 17(6): 1252—1266.
- [2] Van Damme E J M, Lannoo N, Peumans W J. Plant lectins. *Advances in Botanical Research*, 2008, 48: 107—209.
- [3] Esch L, Schaffrath U. An update on jacalin-like lectins and their role in plant defense. *International Journal of Molecular Sciences*, 2017, 18: 1592—1602.
- [4] Bunn-Moreno M M, Campos-Neto A. Lectin(s) extracted from seeds of *Artocarpus integrifolia* (jackfruit): potent and selective stimulator(s) of distinct human T and B cell functions. *Journal of Immunology*, 1981, 127(2): 427—429.
- [5] Sankaranarayanan R, Sekar K, Banerjee R, *et al.* A novel mode of carbohydrate recognition in jacalin, a Moraceae plant lectin

- with a β -prism fold. *Nature Structural Biology*, 1996, 3(7): 596–603.
- [6] Williams C E, Collier C C, Nemacheck J A, *et al.* A lectin-like wheat gene responds systemically to attempted feeding by avirulent first-instar Hessian fly larvae. *Journal of Chemical Ecology*, 2002, 28: 1411–1428.
- [7] Azarkan M, Feller G, Vandenamee J, *et al.* Biochemical and structural characterization of a mannose binding jacalin-related lectin with two-sugar binding sites from pineapple (*Ananas comosus*) stem. *Scientific Reports*, 2018, 8(1): 11508.
- [8] Peumans J W, Hause B, Damme V J E. The galactose-binding and mannose-binding jacalin-related lectins are located in different sub-cellular compartments. *FEBS Letters*, 2000, 477(3): 186–192.
- [9] Pratap J V, Jeyaprakash A A, Rani P G, *et al.* Crystal structures of artocarpin, a Moraceae lectin with mannose specificity, and its complex with methyl- α -D-mannose: implications to the generation of carbohydrate specificity. *Journal of Molecular Biology*, 2002, 317(2): 237–247.
- [10] Weidenbach D, Esch L, Möller C, *et al.* Polarized defense against fungal pathogens is mediated by the jacalin-related lectin domain of modular *Poaceae*-specific proteins. *Molecular Plant*, 2016, 9(4): 514–527.
- [11] An Z X, Yang Z H, Zhou Y, *et al.* *OsJRL* negatively regulates rice cold tolerance via interfering phenylalanine metabolism and flavonoid biosynthesis. *Plant, Cell & Environment*, 2024, 47(11): 4071–4085.
- [12] Gao Q M, Yin X L, Wang F, *et al.* Jacalin-related lectin 45 (*OsJRL45*) isolated from ‘sea rice 86’ enhances rice salt tolerance at the seedling and reproductive stages. *BMC Plant Biology*, 2023, 23(1): 553.
- [13] Gao Q M, Yin X L, Wang F, *et al.* *OsJRL40*, a jacalin-related lectin gene, promotes salt stress tolerance in rice. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(8): 7441.
- [14] Yin X, Gao Q, Wang F, *et al.* Marker-assisted selection of jacalin-related lectin genes *OsJRL45* and *OsJRL40* derived from sea rice 86 enhances salt tolerance in rice. *International Journal of Molecular Sciences*, 2024, 25(20): 10912.
- [15] Quan X Y, Chen M, Xie C J, *et al.* Genome-wide and transcriptome analysis of jacalin-related lectin genes in barley and the functional characterization of *HvHorch* in low-nitrogen tolerance in *Arabidopsis*. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(23): 16641.
- [16] Zhang Z J, Huang B, Chen J L, *et al.* Genome-wide identification of *JRL* genes in moso bamboo and their expression profiles in response to multiple hormones and abiotic stresses. *Frontiers in Plant Science*, 2022, 12: 809666.
- [17] Xing L J, Li J, Xu Y Y, *et al.* Phosphorylation modification of wheat lectin VER2 is associated with vernalization-induced O-GlcNAc signaling and intracellular motility. *Public Library of Science ONE*, 2017, 4(3): e4854.
- [18] Xiao J, Li C H, Xu S J, *et al.* Jacalin-lectin like1 regulates the nuclear accumulation of glycine-rich RNA-binding protein7, influencing the RNA processing of flowering locus c antisense transcripts and flowering time in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 2015, 169(3): 2102–2117.
- [19] Zhang H H, Liang W W, Zhang X Z, *et al.* Analysis on morphology and growth characteristics of wild *Elymus sibiricus* L. germplasm resources in Xinjiang. *Acta Agrestia Sinica*, 2021, 29(4): 701–708.
张荟荟, 梁维维, 张学洲, 等. 新疆野生老芒麦种质资源形态及生长特性分析. *草地学报*, 2021, 29(4): 701–708.
- [20] Mitchell A L, Attwood T K, Babbitt P C, *et al.* InterPro in 2019: improving coverage, classification and access to protein sequence annotations. *Nucleic Acids Research*, 2019, 47(D1): 351–360.
- [21] Jiang S Y, Ma Z G, Ramachandran S. Evolutionary history and stress regulation of the lectin superfamily in higher plants. *BMC Ecology and Evolution*, 2010, 10(1): 79.
- [22] Song M, Xu W Q, Xiang Y, *et al.* Association of jacalin-related lectins with wheat responses to stresses revealed by transcriptional profiling. *Plant Molecular Biology*, 2014, 84: 95–110.
- [23] Nagano A J, Fukao Y, Fujiwara M, *et al.* Antagonistic jacalin-related lectins regulate the size of ER body-type β -glucosidase complexes in *Arabidopsis thaliana*. *Plant and Cell Physiology*, 2008, 49(6): 969–980.
- [24] Jia Y W. Analysis of telomere variation patterns in *Elymus sibiricus* at different ages and mining of senescence candidate genes. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2023.
贾燕伟. 不同株龄老芒麦端粒变化规律分析及衰老候选基因挖掘. 兰州: 甘肃农业大学, 2023.
- [25] Han Y J, Song L L, Peng C L, *et al.* A *Magnaporthe* chitinase interacts with a rice jacalin-related lectin to promote host colonization. *Plant Physiology*, 2019, 179(4): 1416–1430.
- [26] Weidenbach D, Esch L, Möller C, *et al.* The roles of segmental and tandem gene duplication in the evolution of large gene families in *Arabidopsis thaliana*. *BMC Plant Biology*, 2004, 4(1): 10.
- [27] Zhu Y, Wu N N, Song W L, *et al.* Soybean (*Glycine max*) expansin gene superfamily origins: segmental and tandem

- duplication events followed by divergent selection among subfamilies. *BMC Plant Biology*, 2014, 14: 1–19.
- [28] Gong L P, Lu Y T, Wang Y J, *et al.* Comparative analysis of the *JRL* gene family in the whole-genome of five gramineous plants. *Frontiers in Plant Science*, 2024, 15: 15150197.
- [29] He X, Li L, Xu H, *et al.* A rice jacalin-related mannose-binding lectin gene, *OsJRL*, enhances *Escherichia coli* viability under high salinity stress and improves salinity tolerance of rice. *Plant Biology*, 2017, 19(2): 257–267.
- [30] Hu W Y. Functional analysis of rice lectin gene *OsJRL* in response to cadmium stress. Hangzhou: Zhejiang University, 2020. 胡婉茵. 水稻凝集素基因 *OsJRL* 响应镉胁迫的功能研究. 杭州: 浙江大学, 2020.
- [31] Damme E J M V, Peumans W J, Barre A, *et al.* Plant lectins: a composite of several distinct families of structurally and evolutionary related proteins with diverse biological roles. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 1998, 17(6): 575–692.
- [32] Xiang Y, Song M, Wei Z Y, *et al.* A jacalin-related lectin-like gene in wheat is a component of the plant defence system. *Journal of Experimental Botany*, 2011, 62(15): 5471–5483.
- [33] Chen T R, Luo Y J, Zhao P T, *et al.* Overexpression of *TaJRL53* enhances the *Fusarium* head blight resistance in wheat. *Acta Agronomica Sinica*, 2021, 47(1): 19–29.
陈同睿, 罗艳君, 赵潘婷, 等. 过表达 *TaJRL53* 基因提高了小麦赤霉病抗性. *作物学报*, 2021, 47(1): 19–29.
- [34] Zhang H L. The role of *Populus euphratica* *PeREMs* and *PeJRL* in the mediation of salt tolerance in higher plants. Beijing: Beijing Forestry University, 2019.
张会龙. 胡杨 *PeREMs* 和 *PeJRL* 调控植物耐盐机制研究. 北京: 北京林业大学, 2019.