

浙江农林大学学报, 2023, 40(3): 492–501

Journal of Zhejiang A&F University

doi: 10.11833/j.issn.2095-0756.20220783

## 桂花 OfACOs 基因家族鉴定及表达分析

张 耀<sup>1</sup>, 王家璇<sup>1</sup>, 蔡 璇<sup>1,2</sup>, 曾祥玲<sup>1,2</sup>, 杨 洁<sup>1,2</sup>, 陈洪国<sup>1,2</sup>, 邹晶晶<sup>1,2</sup>

(1. 湖北科技学院 国家林业草原桂花工程技术研究中心, 湖北 咸宁 437100; 2. 咸宁市高新桂花产业技术研究院, 湖北 咸宁 437100)

**摘要:** 【目的】对桂花 *Osmanthus fragrans* 乙烯合成路径氨基环丙烷羧酸氧化酶 (1-aminocyclopropane-1-carbox-ylate oxidase, ACO) 基因家族进行了全基因组鉴定及表达分析, 以探索参与桂花花瓣乙烯合成的关键 ACO 家族成员。

【方法】以桂花品种‘柳叶金桂’ *O. fragrans* ‘Liuye Jingui’ 为参考基因组, 对桂花 OfACOs 家族进行鉴定、进化分析、基因结构分析以及根、茎、叶、芽和不同开花阶段的表达模式分析。【结果】通过蛋白保守结构域 (protein families, pfam) 分析, 从桂花基因组中共鉴定出了 122 个 OfACOs 成员, 分布于 22 条染色体上; 保守基序分析表明: 大多数 OfACOs 基因同时包含 Motif 1、Motif 2、Motif 3、Motif 4 和 Motif 7 这 5 个保守基序, 它们共同组成 OfACOs 保守结构域; 共线性分析结果表明: 与拟南芥 *Arabidopsis thaliana* 基因为共线性对的基因可能具有相似的功能。结合 swiss-prot 同源序列对比分析, 筛选出 27 个成员作为候选研究对象, 进行不同组织部位根、茎、叶、芽和不同开花阶段的转录组测序分析, 结果发现: 12 个成员在花瓣中显著表达, 其中 LYG006223、LYG007706、LYG007045、LYG035696 等 4 个成员在开花后期极显著上调表达。进一步对该 4 个成员进行荧光定量 PCR 验证分析, 结果与转录组测序结果一致。

【结论】通过 OfACOs 基因家族的全基因组鉴定及基因克隆分析, 筛选到在开花后期显著差异上调的 4 个 ACO 家族成员可能参与桂花花瓣衰老的调控。图 6 参 34

关键词: 桂花; OfACOs; 乙烯; 衰老; 基因家族

中图分类号: S722.3 文献标志码: A 文章编号: 2095-0756(2023)03-0492-10

## Identification and expression of OfACOs gene family in *Osmanthus fragrans*

ZHANG Yao<sup>1</sup>, WANG Jiaxuan<sup>1</sup>, CAI Xuan<sup>1,2</sup>, ZENG Xiangling<sup>1,2</sup>, YANG Jie<sup>1,2</sup>, CHEN Hongguo<sup>1,2</sup>, ZOU Jingjing<sup>1,2</sup>

(1. National Forestry and Grassland Administration Engineering Research Center for *Osmanthus fragrans*, Hubei University of Science and Technology, Xianning 437100, Hubei, China; 2. Xianning Hi-tech Research Academy of *Osmanthus fragrans*, Xianning 437100, Hubei, China)

**Abstract:** [Objective] The objective of this study is to identify and analyze the gene family of OfACOs in ethylene biosynthesis pathway, so as to explore the key 1-aminocyclopropane-1-carbox-ylate oxidase (ACO) family members involved in the ethylene synthesis of *Osmanthus fragrans* petals. [Method] The identification, evolutionary analysis, gene structure analysis, and expression pattern analysis of OfACOs gene family at root, stem, leaf, bud and different flowering stages were carried out taking *O. fragrans* ‘Liuye Jingui’ as the reference genome. [Result] Through the analysis of protein conserved domain (protein families, pfam), a total of 122 OfACOs members were identified from *O. fragrans* genome, which were distributed on 22

收稿日期: 2022-12-28; 修回日期: 2023-03-07

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (32271951, 32101581); 湖北省科技创新专项 (2021BBA098); 湖北省中央引导地方专项 (2022BEG263)

作者简介: 张耀 (ORCID: 0009-0001-9978-1163), 从事园林植物研究。E-mail: 2743181722@qq.com。通信作者: 邹晶晶 (ORCID: 0000-0002-5564-2989), 教授, 博士, 从事观赏植物品质生物学研究。E-mail: silence@hbust.edu.cn

chromosomes. The conserved motif analysis showed that most OfACOs genes contained Motif 1, Motif 2, Motif 3, Motif 4, and Motif 7, which together formed the OfACOs conserved domain. Collinearity analysis showed that OfACOs genes that were colinear with *Arabidopsis thaliana* genes might have similar functions. Combined with comparative analysis of switch-prot homologous sequence, 27 OfACOs members were selected as candidate research objects for transcriptome sequencing analysis of different tissue parts, including root, stem, leaf, bud and different flowering stages, and the results showed that 12 OfACOs members were significantly expressed in petals, among which LYG006223, LYG007706, LYG007045, and LYG035696 were significantly up-regulated in the late flowering stage. The four members were further analyzed by RT-qPCR analysis, and the results were consistent with those of transcriptome sequencing. [Conclusion] Through the whole genome identification and gene cloning analysis of OfACOs gene family, four members of OfACOs which are significantly up-regulated in the late flowering stage are screened, which may participate in *O. fragrans* petal senescence. [Ch, 6 fig. 34 ref.]

**Key words:** *Osmanthus fragrans*; OfACOs; ethylene; petal senescence; gene family

桂花 *Osmanthus fragrans* 为木犀科 Oleaceae 园林观赏植物, 是中国十大传统名花之一, 桂花树形优美、叶色青翠、香味馥郁, 在园林中应用广泛<sup>[1]</sup>。目前, 桂花在食品、化妆品和药品中的应用已经逐渐成熟<sup>[2]</sup>, 新兴的桂花香水、乳液、香熏和精油等高档化妆品也逐渐打开市场<sup>[3-5]</sup>。然而, 桂花花期较短, 最佳观赏期和采收期仅 2~3 d, 极大地限制了其观赏价值与经济价值<sup>[6-7]</sup>。

已有研究证明: OfABFs 基因可能参与调控桂花花瓣衰老<sup>[8]</sup>; 蒋琦妮等<sup>[9]</sup>研究发现: 桂花 *OfAP1* 基因在桂花成花转变、花芽分化和发育中有重要作用。向其柏等<sup>[10]</sup>研究发现: 许多经济采收价值较高的桂花品种对乙烯敏感, 非授粉诱导的内源乙烯跃变是其衰老的重要调控因子。朱诚等<sup>[11]</sup>研究表明: 盛花末期乙烯释放量的迅速增加及膜脂过氧化程度加剧是导致‘薄叶金桂’ *O. fragrans* ‘Baoye Jingui’ 衰老的主要生理原因。ZHOU 等<sup>[12]</sup>发现: 外源乙烯利处理明显加速‘厚瓣金桂’ *O. fragrans* ‘Houban Jingui’ 和‘柳叶金桂’ *O. fragrans* ‘Liuye Jingui’ 的衰老, 而乙烯抑制剂硫代硫酸银则延长了其观赏寿命。ZOU 等<sup>[6]</sup>发现‘柳叶金桂’ 内源乙烯跃变峰的出现与花瓣褐化、脱落等衰老特征同时发生, 外源乙烯处理不仅明显加速了切花花瓣的萎蔫和脱落, 还导致花瓣细胞中央大液泡破裂、各细胞器扭曲挤缩变形, 加剧了 DNA 断裂, 降低了抗氧化酶活性, 增加了超氧自由基的激发和膜脂过氧化程度。由此可见: 桂花是乙烯敏感型花卉, 乙烯参与了其花瓣衰老过程中花瓣脱落和萎蔫、细胞结构变化、氧化还原系统及核酸降解等多个过程的调节, 是桂花衰老的重要调控因子。然而, 尚不清楚该过程中内源乙烯合成途径。

氨基环丙烷羧酸氧化酶(1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase, ACO)作为乙烯生物合成途径中的最后一个关键酶, 直接催化乙烯的合成, 被认为是高等植物中乙烯应答的主要标志<sup>[13]</sup>。ACO 早期被 ADAMS 等<sup>[14]</sup>发现, 并命名为乙烯形成酶, 后来发现需要抗坏血酸和氧作为辅助底物, 因此称为 ACC 氧化酶。目前, ACO 基因家族在多个物种中都有研究, SORNCHAI 等<sup>[15]</sup>通过导入石斛 *Dendrobium CpACO* 基因延长了其花期; 有研究表明: 杨树 *Populus* ACO 基因参与调节林木茎的生长发育<sup>[16]</sup>。植物 ACO 基因的表达受到生长素、干旱以及盐胁迫的抑制<sup>[17]</sup>; 番茄 *Lycopersicon esculentum*、花椰菜 *Brassica oleracea* var. *botrytis* 的 ACO 基因表达受脱落酸、外部机械损伤和低温的诱导<sup>[18]</sup>。在拟南芥 *Arabidopsis thaliana* 中<sup>[19]</sup>, ACO1 受多种信号调控, 影响植株的乙烯产量。然而, 目前桂花中还未见相关基因的报道。本研究以‘柳叶金桂’为试材, 利用生物信息学方法和工具对桂花 OfACOs 家族进行鉴定、进化分析、基因结构分析、表达模式分析等, 为进一步探索桂花花瓣衰老机制以及提高桂花园林赏花价值与经济价值提供指导。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

‘柳叶金桂’ 花瓣采自华中农业大学校园内。分别采集不同开花阶段的桂花花瓣, 称量后密封, 保

存在液氮中，立即运送回实验室，置于-80℃超低温冰箱备用。参考 CHEN 等<sup>[20]</sup>对桂花开花级数的划分体系，将‘柳叶金桂’开花级数划分为：①铃梗期(花苞期，S1)，花朵呈紧闭的花苞状，未展开；②初花期(S2)，花朵微张，呈半开放状态；③盛花初期(S3)，花瓣进一步展开，夹角为45°~90°；④盛花期(S4)，花瓣完全展开，花药膨大浅黄色；⑤盛花后期(S5)，花瓣完全展开，花药萎缩变为深褐色；⑥脱落期(S6)，花瓣失水，部分从树体上自然脱落。

## 1.2 方法

**1.2.1 桂花 OfACOs 基因家族成员的鉴定** ACO 基因家族成员大多含有 DIOX-N(PF14226) 和 2OG-FeII-Oxy(PF03171) 保守结构域<sup>[21]</sup>。对‘柳叶金桂’基因进行蛋白质家族数据库(pfam)保守结构域注释，以注释到 PF03171 和 PF14226 保守结构域的基因作为 OfACOs 基因家族候选基因，再通过蛋白结构域搜索(NCBI Conserved Domain Search Service) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/bwrpsb/bwrpsb.cgi>)<sup>[22]</sup> 进一步验证候选基因的 PF03171 和 PF14226 结构域。

**1.2.2 进化树分析** 登录拟南芥官网([www.arabidopsis.org](http://www.arabidopsis.org))下载拟南芥 AtACO 基因序列信息。利用 MUSCLE<sup>[23]</sup>比对各基因多序列，采用邻接算法进行系统进化树聚类分析。

**1.2.3 基因全家族鉴定及染色体定位** 对‘柳叶金桂’基因进行 pfam 保守结构域注释，获取 OfACOs 成员序列信息及其在各染色体上的定位信息，然后使用 Mapchart (2.32)<sup>[24]</sup> 绘制染色体上的 ACO 基因。

**1.2.4 基因结构与保守 Motif 分析** 利用 MEME 软件(Suite version 5.0.2, <http://meme-suite.org/>)对 OfACOs 保守基序进行预测分析，设置 Motif 个数为 15 个。根据基因注释的 gff 文件，利用 TBtools (v1.098775)<sup>[25]</sup> 对基因结构、Motif 进行可视化。

**1.2.5 共线性分析** 为分析 OfACOs 基因家族成员的重复关系，通过使用 blast (2.11.0+) 和 MCScanX<sup>[26]</sup> 对家族成员进行共线性分析，使用默认参数输出数据，结果使用 circos (0.69) 圈图展示。此外，下载了拟南芥 ACO 基因家族成员的基因注释文件，通过使用 blast (2.11.0+) 和 MCScanX 对家族成员进行共线性分析，使用默认参数输出数据，结果使用 circos (0.69) 圈图展示。

**1.2.6 OfACOs 不同组织器官表达模式分析** 从美国国家生物技术信息中心(NCBI)数据库下载桂花在根、茎、叶及不同开花阶段等组织部位的转录组测序数据(PRJNA679852)，以基因表达量量化指标(FPKM)计算基因表达水平值，用 TBtools<sup>[25]</sup>对数据可视化。

**1.2.7 OfACOs 不同开花阶段的表达分析** 取 S1~S6 不同开花阶段的桂花花瓣，按 HiPure Universal RNA Kit 提取试剂盒说明提取桂花花瓣 RNA。用 StarScript II RT Kit 反转录试剂盒将 RNA 逆转录为 cDNA，稀释 10 倍备用。利用染料法(SYBR)预混 2×RealStar Fast 在 ABI 7500 系统(Thermo Fisher Scientific, Inc.)进行实时荧光定量 PCR 分析(RT-qPCR)。RT-qPCR 体系为 10.0 μL 2×RealStar Fast SYBR qPCR Mix，上下游引物各 0.8 μL，2.0 μL cDNA，6.4 μL ddH<sub>2</sub>O。RT-qPCR 的反应程序为：94℃ 30 s；40 个循环：94℃ 10 s，60℃ 30 s，72℃ 10 s。以 ACTIN 作为内参，采用 2<sup>-ΔΔCT</sup> 法计算基因的相对表达量，每个组织每个基因设 3 个重复。

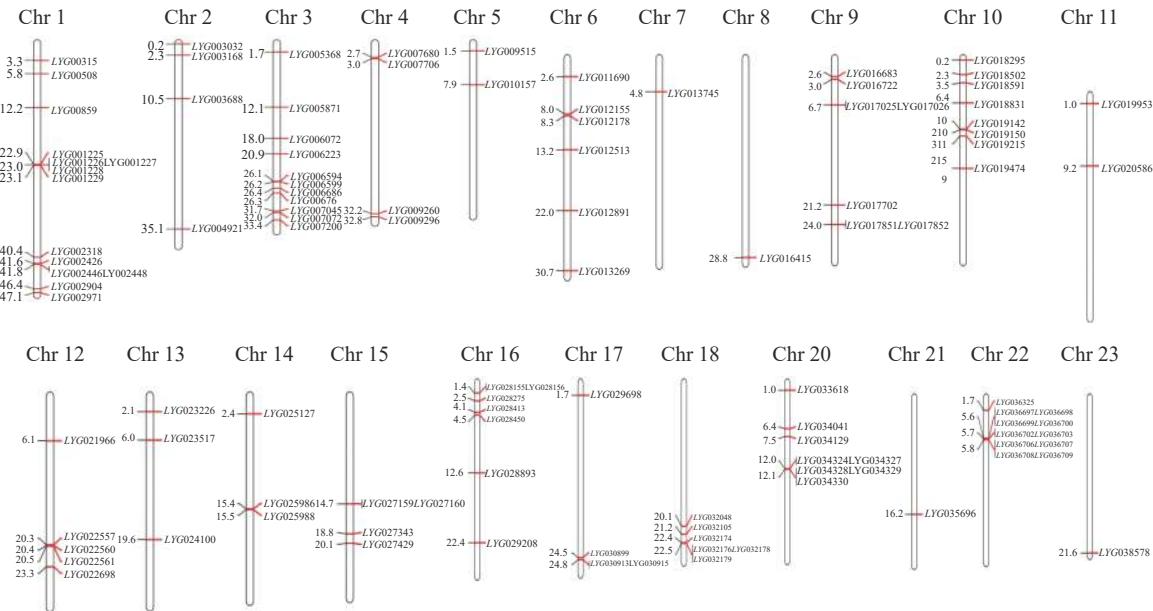
**1.2.8 数据统计分析** 每个试验的每个处理进行 3 次生物学重复。数据为平均值±标准误。所有数据用 SAS v.8.0 进行方差分析和多重比较分析，在 0.05 水平上进行邓肯氏多重比较。

## 2 结果与分析

### 2.1 OfACOs 基因鉴定及染色体定位

通过 pfam 数据库 PF03171 和 PF14226 保守结构域注释分析，从桂花基因组中共鉴定到 122 个 OfACOs 基因家族成员(图 1)。这 122 个 OfACOs 家族成员主要分布于除 19 号染色体以外的其他 22 条染色体上，其中，1 号 14 条、2 号 4 条、3 号 13 条、4 号 4 条、5 号 2 条、6 号 6 条、7 号和 8 号各 1 条、9 号 7 条、10 号 8 条、11 号 2 条、12 号 5 条、13 号和 14 号各 3 条、15 号 4 条、16 号 7 条、17 号 3 条、18 号 6 条、20 号 8 条、21 号和 23 号各 1 条、22 号 11 条。其中 1 号染色体上基因最多，7 号、8 号、21 号和 23 号染色体上分布最少。

用桂花 OfACOs 和拟南芥 AtACOs 构建进化树，结果如图 2 所示。通过系统聚类，大致将



小图右侧是基因编号, 左侧数字代表这些基因之间的距离。

图 1 桂花 OfACOs 基因家族的染色体定位

Figure 1 Chromosomal localization of OfACOs gene family in *O. fragrans*

OfACOs 分为 7 组, 其中拟南芥基因 *AT1G05010*、*AT1G62380*、*AT1G77330*、*AT2G19590* 和 *AT1G12010* 与桂花 *LYG005871*、*LYG00776* 等 21 个 OfACOs 共存于第 3 组中。其他组不存在拟南芥 *AtACOs* 基因。通过拟南芥官网查找发现这 5 个基因都具有促进乙烯生成的功能。

## 2.2 桂花 OfACOs 基因家族结构及保守基序分析

进一步对桂花 122 个 OfACOs 进行基因结构和保守基序分析(图 3)。基因结构编码区(CDS)、非翻译区(UTR)分析结果表明: OfACOs 基因的 CDS 数量为 2~11 个, 其中 52 个成员含有 3 个 CDS 区(42.6%), 41 个成员含有 4 个 CDS 区(33.6%)。其中 *LYG025988*、*LYG018295*、*LYG001228*、*LYG001225*、*LYG028156* 和 *LYG030913* 的 CDS 区分布较散。*LYG000315* 是 CDS 区最多的基因。

对 122 个 OfACOs 的氨基酸序列进行保守基序分析表明: OfACOs 的 Motif 为 4~25 个, 其中, *LYG022698* 为最少, 只有 4 个 Motif, 而 *LYG028155* 有 25 个 Motif; 24 个 OfACOs 成员含有 14 个 Motif, 且其中有 11 个的 Motif 构成完全相同, 都位于第 3 组中; 几乎所有的 OfACOs 成员中都含有 Motif 1、Motif 2、Motif 3、Motif 4 和 Motif 7, 表明在桂花 OfACOs 家族中这 5 个 Motif 的保守性更高。

## 2.3 桂花 OfACOs 共线性分析

基因组内共线性分析结果(图 4A)表明: 染色体复制事件发生在桂花的 22 条染色体上, OfACOs 共存在 394 对染色体共线性对, 其中 1 号染色体上最多, 有 84 对, 说明该基因家族可能发生了扩张。

桂花与拟南芥 ACO 基因家族的共线性分析表明: 拟南芥的 2 条染色体与桂花的 15 条染色体共发生了 41 对染色体复制对, 其中拟南芥 1 号染色体存在 29 对染色体复制对(图 4B)。综上所述, 通过与拟南芥 ACO 基因共线性分析, 有助于利用拟南芥的基因功能探索桂花 OfACOs 中相应基因的功能。

## 2.4 桂花 OfACOs 不同组织部位及开花时期的表达模式分析

具有相同的 DIOX-N(PF14226) 和 2OG-FeII-Oxy(PF03171) 保守结构域并不一定能行使相同的蛋白功能。为更准确地筛选 OfACOs 蛋白, 通过 swiss-prot 同源序列对比<sup>[27]</sup>, 筛选出 27 个基因家族成员。对 27 个 OfACOs 成员在根、茎、叶、花芽, 以及不同开花阶段(S1~S6)进行转录组分析。由图 5 可知: 除去 FPKM 小于 1 的成员后, 在根茎叶花中表达的 OfACOs 成员共计 17 个。其中, *LYG013745*、*LYG034324*、*LYG027159*、*LYG027160* 主要在根中微量表达; *LYG007706* 主要在根、叶和花中表达; *LYG007045*、*LYG030899*、*LYG036697* 主要在茎、叶和花中表达; *LYG034328* 在叶和花中表达; *LYG003688*、*LYG006223*、*LYG006760*、*LYG034327*、*LYG034329* 在根、茎、叶、花中均有表达; *LYG034330* 主要在根、茎、叶中表达; *LYG035696* 主要在根和花中表达; *LYG036707* 在开花后期微量表达。

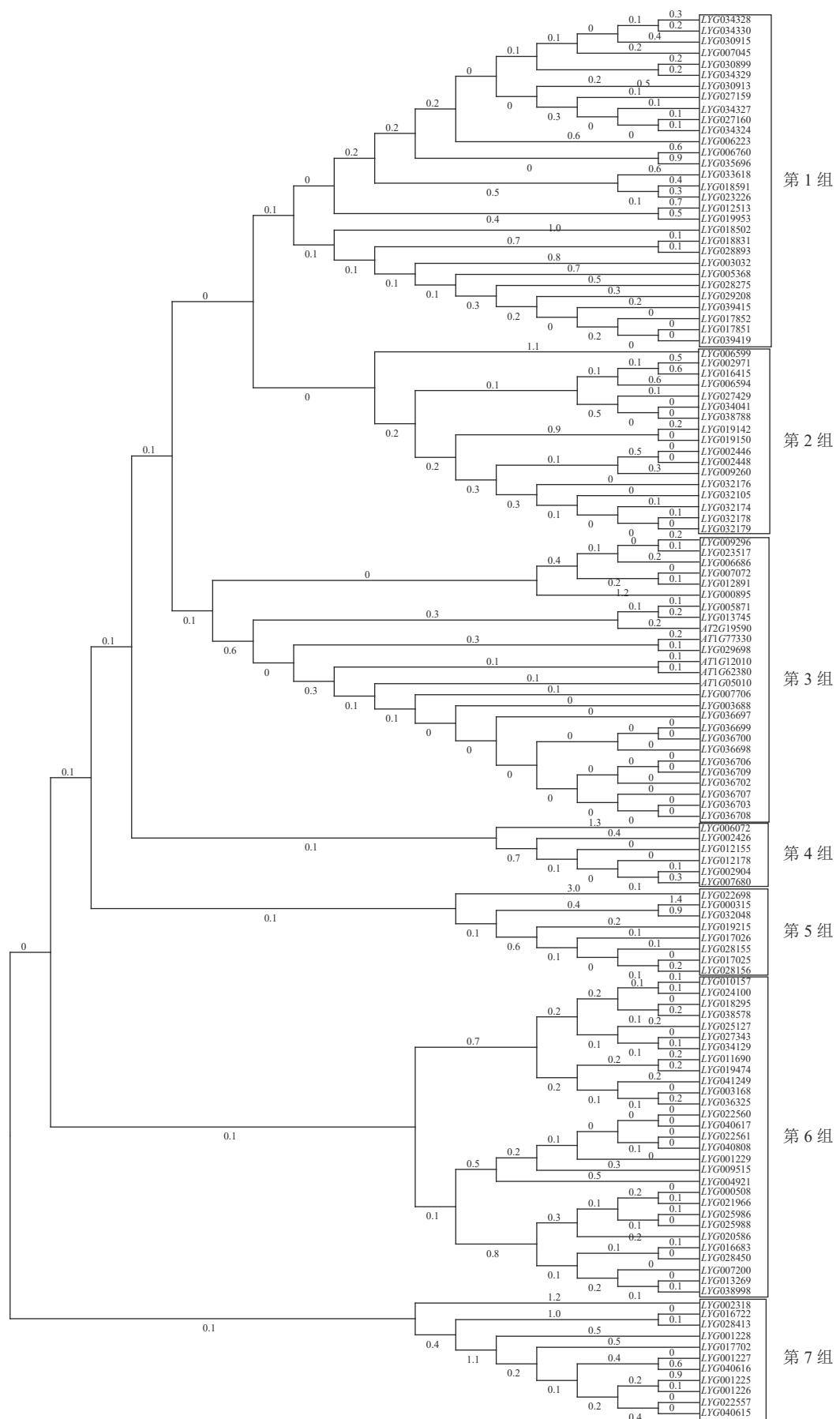


图 2 桂花与拟南芥 ACOs 基因进化分析

Figure 2 Phylogenetic analysis of ACOs in *O. fragrans* and *A. thaliana*

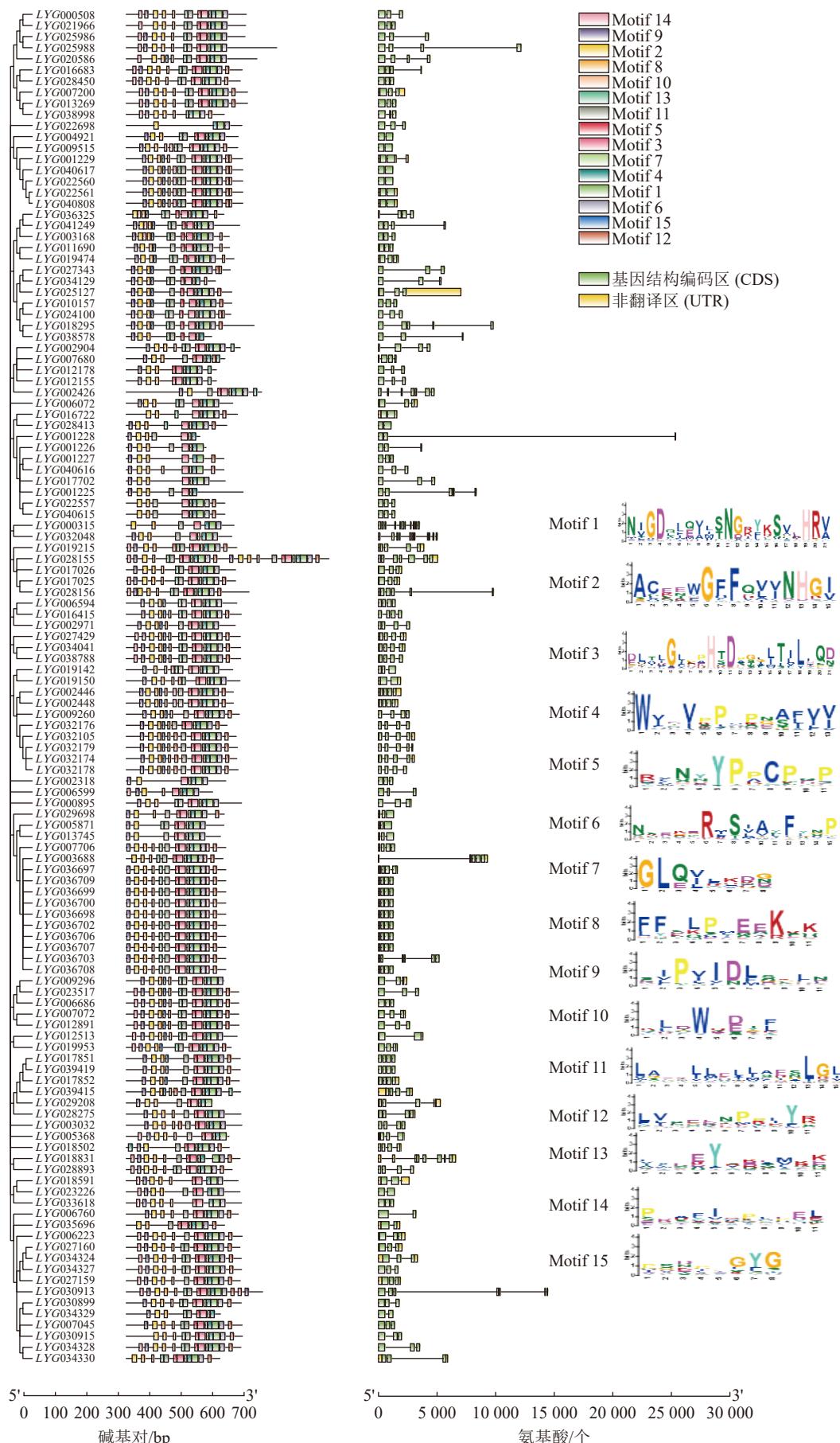
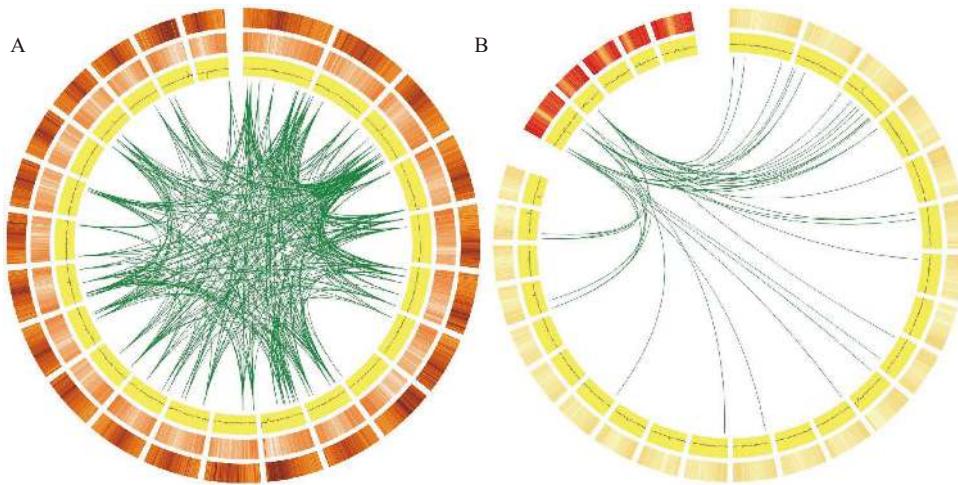


图3 桂花 OfACOs 基因结构及蛋白质保守结构域

Figure 3 Gene structure and conserved motifs analysis of OfACOs in *O. fragrans*



A. 桂花 OfACOs 基因家族共线性分析, 从外到内依次为: 重复序列密度、基因密度、GC 含量、ACO 基因家族内部的共线性;  
B. 桂花与拟南芥 ACO 基因家族共线性分析, 外到内依次为: 基因密度、GC 含量、柳叶桂 ACO 基因家族与拟南芥 ACO 基因家族的共线性。

图 4 桂花及拟南芥 ACO 基因家族共线性分析

Figure 4 Collinearity analysis of ACO gene family in *O. fragrans* and *A. thaliana*

## 2.5 不同开花时期 OfACOs 表达分析

综合 OfACOs 基因家族在不同组织部位以及不同开花时期的表达量, 以在桂花花瓣中明显表达的成员作为参与乙烯途径花瓣衰老调控的研究对象, 筛选出 *LYG003688*、*LYG006223*、*LYG034327*、*LYG034329*、*LYG034330*、*LYG035696*、*LYG007706*、*LYG007045*、*LYG030899*、*LYG036697*、*LYG034328*、*LYG036707* 等 12 个成员, 其中 *LYG006223*、*LYG007706*、*LYG007045*、*LYG035696* 等 4 个基因在开花后期 (S5 或 S6) 极显著上调表达。

进一步对这 4 个 OfACOs 成员进行 RT-qPCR 验证分析 (图 6)。结果表明: 这 4 个成员在开花后期 (S5 或 S6) 显著性差异上调表达 ( $P < 0.05$ ), 与转录组测序结果一致。

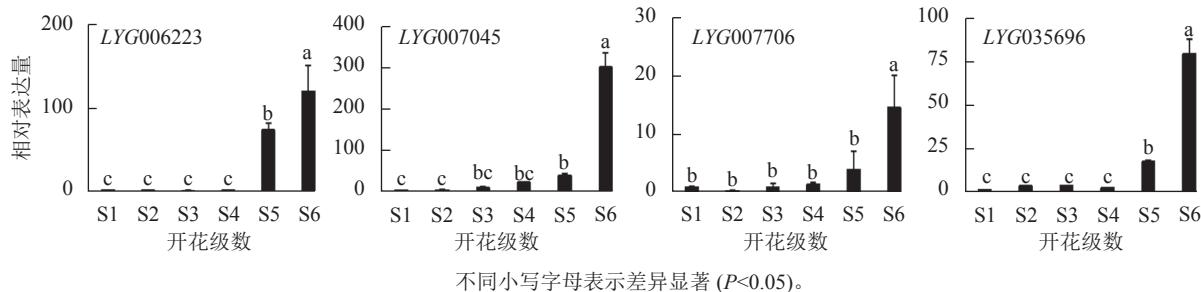


图 5 桂花 OfACOs 基因家族在桂花不同组织部位以及不同开花阶段中的表达分析

Figure 5 Expression profiles of OfACOs gene family in different tissues and different flowering stages of *O. fragrans*

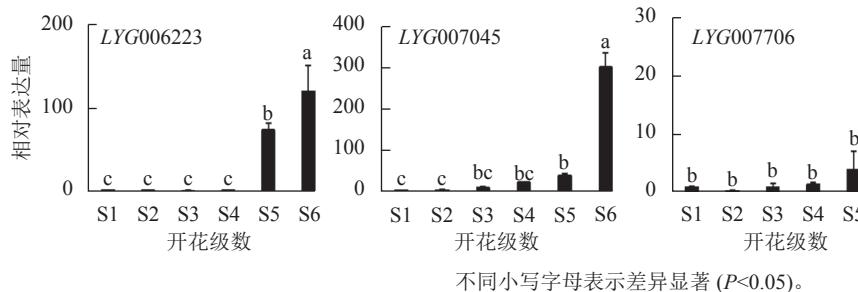


图 6 桂花花瓣候选 OfACOs 实时荧光定量 PCR 分析

Figure 6 RT-qPCR analysis of candidate OfACOs genes in *O. fragrans*

## 3 讨论

ACO 基因家族是植物的转录因子家族之一, 在植物乙烯生物合成中发挥着重要的调控作用<sup>[28]</sup>。本研究从‘柳叶金桂’的基因组中鉴定出 122 个 ACO 基因, 基因家族总数量高于普通烟草 *Nicotiana tabacum* (19 个 ACO 基因)<sup>[29]</sup>、杞柳 *Salix integra* (42 个 ACO 基因)<sup>[21]</sup>、玉米 *Zea mays* (8 个 ACO 基

因)<sup>[30]</sup> 和甜瓜 *Cucumis melo* (9 个 ACO 基因)<sup>[17]</sup> 中的数量, 低于陆地棉 *Gossypium hirsutum* (332 个 ACO 基因)<sup>[31]</sup>。ACO 基因在植物基因组中分布不均匀, 如玉米<sup>[32]</sup>中 62.0% 的基因主要分布在其中 2 条染色体上, 普通烟草<sup>[29]</sup>40.0% 的基因主要分布在其中的 2 条染色体上。本研究中桂花 OfACOs 基因的 42.6% 主要分布在其中的 5 条染色体上, 推测可能与基因复制有关。

通过同源序列比对筛选、不同组织部位及开花阶段的转录组测序分析, 最终筛选到 4 个在花瓣衰老阶段 (S5 和 S6) 显著上调表达的成员 *LYG007706*、*LYG007045*、*LYG006223*、*LYG035696*。*LYG006223* 和 *LYG007045* 位于 3 号染色体上, *LYG007706* 位于 4 号染色体上。家族内共线性分析发现: *LYG007045* 与 *LYG007706* 为一对复制对, 可见其保守基序、共线性都有紧密联系, 可能具有相似的功能。*LYG035696* 家族内进化分析中与 *LYG006223* 聚类较近, 两者可能具有相似的功能。与拟南芥进化分析中, *LYG007706* 与拟南芥 5 个基因位于同一个分组内。与拟南芥共线性分析中 *AT1G12010* 与 *LYG007045* 为共线性对; 研究表明 *AT1G12010* 参与乙烯生物合成<sup>[32]</sup>, 通过负调控 *ACC2* 的表达来调控拟南芥内源乙烯水平能<sup>[33]</sup>。*AT1G62380* 与 *LYG006223* 是一对共线性对; *LYG007706* 不仅与 *AT1G62380*、*AT1G12010* 共线性, 还与 *AT2G19590* 共线性。*AT2G19590* 能够通过调控拟南芥乙烯生物合成, 调控黑暗中拟南芥幼苗根系发育<sup>[34]</sup>。

此外, 进化分析及基因结构分析表明: 桂花中有 16 个 OfACOs 成员与拟南芥 AtACOs 同时聚类于第 3 组中, 其中 11 个 *OfACOs* 成员的 Motif 完全相同, 且与拟南芥的 AtACOs 含有 7 个相同的 Motif 基序。通过转录组测序及 RT-qPCR 分析, 在第 3 组中筛选到 *LYG007706* 在桂花花瓣衰老后期 (S6) 显著上调表达, 与 ZOU 等<sup>[6]</sup> 研究中乙烯释放峰(脱落期)一致, 推断其可能参与乙烯途径的桂花花瓣衰老调控。由此推断, 第 3 组中与拟南芥 AtACOs 聚类的 10 个其他 OfACOs 成员可能参与桂花其他组织部位的调控。

## 4 结论

本研究通过对桂花 OfACOs 基因家族的鉴定与表达分析, 筛选到 4 个在开花后期显著差异上调的成员: *LYG006223*、*LYG007706*、*LYG007045* 和 *LYG035696*, 它们可能参与桂花花瓣衰老的调控。其中, *LYG006223* 和 *LYG007045* 都定位在 3 号染色体上, 且有着相同的保守基序; *LYG007706* 定位在 4 号染色体上; *LYG035696* 定位于 21 号染色体。后续将进一步验证这 4 个成员的功能, 探索其参与桂花花瓣乙烯合成途径及衰老的调控机制。

## 5 参考文献

- [1] 武忠康. 桂花在园艺中的应用 [J]. 现代园艺, 2022, 45(15): 134 – 135.  
WU Zhongkang. Application of *Osmanthus fragrans* in horticulture [J]. *Contemporary Horticulture*, 2022, 45(15): 134 – 135.
- [2] WU Lipeng, LIU Junyi, HUANG Weisu, et al. Exploration of *Osmanthus fragrans* Lour.'s composition, nutraceutical functions and applications [J/OL]. *Food Chemistry*, 2022, 377: 131853[2022-11-28]. doi: 10.1016/j.foodchem.2021.131853.
- [3] WANG Limei, LI Maiteng, JIN Wenwen, et al. Variations in the components of *Osmanthus fragrans* Lour. essential oil at different stages of flowering [J]. *Food Chemistry*, 2009, 114(1): 233 – 236.
- [4] WU Lichen, CHANG Lihui, CHEN Sihan, et al. Antioxidant activity and melanogenesis inhibitory effect of the acetonic extract of *Osmanthus fragrans*: a potential natural and functional food flavor additive [J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2009, 42(9): 1513 – 1519.
- [5] CAI Xuan, MAI Rongzhang, ZOU Jingjing, et al. Analysis of aroma-active compounds in three sweet osmanthus (*Osmanthus fragrans*) cultivars by GC-olfactometry and GC-MS [J]. *Journal of Zhejiang University Science B*, 2014, 15(7): 638 – 648.
- [6] ZOU Jingjing, ZHOU Yuan, CAI Xuan, et al. Increases in DNA fragmentation and role of ethylene during the petal senescence of *Osmanthus fragrans* [J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2014, 93: 97 – 105.
- [7] ZOU Jingjing, CAI Xuan, WANG Caiyun. The spatial and temporal distribution of programmed cell death (PCD) during

- petal senescence of *Osmanthus fragrans* [J]. *Acta Horticulturae*, 2017, **1185**(39): 315 – 324.
- [8] 洪方蕾, 陆瑶, 俞世姣, 等. 桂花*OlfABFs*基因克隆和表达分析 [J/OL]. 浙江农林大学学报, 2023[2022-11-28]. doi: 10.11833/j.issn.2095-0756.20220264.
- HONG Fanglei, LU Yao, YU Shijiao, et al. Cloning and expression analysis of *OlfABFs* gene in *Osmanthus fragrans* [J/OL]. *Journal of Zhejiang A&F University*, 2023, **40**(3)[2022-11-28]. doi: 10.11833/j.issn.2095-0756.20220264.
- [9] 蒋琦妮, 付建新, 张超, 等. 桂花*OlfAP1*基因的克隆及表达分析 [J]. *浙江农林大学学报*, 2019, **36**(4): 664 – 669.
- JIANG Qini, FU Jianxin, ZHANG Chao, et al. CDNA cloning and expression analysis of *OlfAP1* in *Osmanthus fragrans* [J]. *Journal of Zhejiang A&F University*, 2019, **36**(4): 664 – 669.
- [10] 向其柏, 刘玉莲. 中国桂花品种图志 [M]. 浙江: 浙江科学技术出版社, 2008: 93 – 260.
- XIANG Qibo, LIU Yulian. *An Illustrated Monograph of the Sweet Osmanthus Variety in China* [M]. Hangzhou: Zhejiang Science & Technology Press, 2008: 93 – 260.
- [11] 朱诚, 曾广文. 桂花花衰老过程中的某些生理生化变化 [J]. 园艺学报, 2000, **27**(5): 356 – 360.
- ZHU Cheng, ZENG Guangwen. Physiological and biochemical changes in flower senescence of *Osmanthus fragrans* Lour. [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2000, **27**(5): 356 – 360.
- [12] ZHOU Yuan, CHENG Zhengwei, WANG Caiyun. Effects of exogenous ethylene and ethylene inhibitor on longevity and petal senescence of sweet osmanthus [J]. *Acta Horticulturae*, 2008, **768**: 487 – 493.
- [13] PENG Hsiaoping, LIN Teryun, WANG Ningning, et al. Differential expression of genes encoding 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase in *Arabidopsis* during hypoxia [J]. *Plant Molecular Biology*, 2005, **58**(1): 15 – 25.
- [14] ADAMS D O, YANG Shangfa. Methionine metabolism in apple tissue: implication of S-adenosylmethionine as an intermediate in the conversion of methionine to ethylene [J]. *Plant Physiology*, 1977, **60**(6): 892 – 896.
- [15] SORNCHAI P, van DOORN W G, IMSABAI W, et al. *Dendrobium* orchids carrying antisense ACC oxidase: small changes in flower morphology and a delay of bud abortion, flower senescence, and abscission of flowers [J]. *Transgenic Research*, 2020, **29**(4): 429 – 442.
- [16] LOVE J, BJORKLUND S, VAHALA J, et al. Ethylene is an endogenous stimulator of cell division in the cambial meristem of *Populus* [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009, **106**(14): 5984 – 5989.
- [17] 金乌云. 甜瓜ACO基因家族成员的鉴定及*CmACO7*和*CmACO8*基因的克隆 [D]. 呼和浩特: 内蒙古大学, 2017.
- JIN Wuyun. *Identification of ACO Gene Family and Cloning of CmACO7 and CmACO8 Gene in Melon* [D]. Hohhot: Inner Mongolia University, 2017.
- [18] CALVO A P, NICOLÁS C, NICOLÁS G, et al. Evidence of a cross-talk regulation of a GA 20-oxidase (*FsGA20ox1*) by gibberellins and ethylene during the breaking of dormancy in *Fagus sylvatica* seeds [J]. *Physiologia Plantarum*, 2004, **120**(4) : 623 – 630.
- [19] PARK C H, ROH J, YOUN J, et al. *Arabidopsis* ACC oxidase-1 coordinated by multiple signals mediates ethylene biosynthesis and is involved in root development [J]. *Molecules and Cells*, 2018, **41**(10): 923 – 932.
- [20] CHEN Hongguo, ZENG Xiangling, YANG Jie, et al. Whole-genome resequencing of *Osmanthus fragrans* provides insights into flower color evolution [J/OL]. *Horticulture Research*, 2021, **8**: 98[2022-11-28]. doi: 10.1038/s41438-021-00531-0.
- [21] 冯志聪, 邹航, 果弘毅, 等. 旱柳、杞柳ACO基因家族的全基因组鉴定及表达分析 [J]. *扬州大学学报(农业与生命科学版)*, 2022, **43**(2): 10 – 19.
- FENG Zhicong, ZOU Hang, GUO Hongyi, et al. Genome-wide identification and expression analysis of ACO gene family in *Salix matsudana* and *Salix integra* [J]. *Journal of Yangzhou University (Agricultural and Life Science Edition)*, 2022, **43**(2): 10 – 19.
- [22] MARCHEL-BAUER A, DERBYSHIRE M K, GONZALES N R, et al. CDD: NCBI's conserved domain database [J/OL]. *Nucleic Acids Research*, 2015, **43**: D222-6[2022-11-28]. doi: 10.1093/nar/gku1221.
- [23] PEI Jimin. Multiple protein sequence alignment [J]. *Current Opinion in Structural Biology*, 2008, **18**(3): 382 – 386.
- [24] VOORRIPS R E. MapChart: software for the graphical presentation of linkage maps and QTLs [J]. *The Journal of Heredity*, 2002, **93**(1): 77 – 78.
- [25] HE Zilong, ZHANG Huangkai, GAO Shenghan, et al. Evolview v2: an online visualization and management tool for

- customized and annotated phylogenetic trees [J/OL]. *Nucleic Acids Research*, 2016, **44**(W1): W236-41 [2022-11-28]. doi: 10.1093/nar/gkw370.
- [26] WANG Yupeng, TANG Haibao, DEBARRY J D, et al. MCScanX: a toolkit for detection and evolutionary analysis of gene synteny and collinearity [J/OL]. *Nucleic Acids Research*, 2012, **40**(7): e49 [2022-11-28]. doi: 10.1093/nar/gkr1293.
- [27] 郭旭, 张慧莹, 王铮, 等. 绿豆VrWOX基因家族鉴定及表达分析[J]. 生物工程学报, 2023, **39**(2): 566 – 585.
- GUO Xu, ZHANG Huiying, WANG Zheng, et al. Molecular characterization and transcriptional analysis of VrWOX genes in mungbean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek] [J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2023, **39**(2): 566 – 585.
- [28] HOUBEN M, van de POEL B. 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid oxidase (ACO): the enzyme that makes the plant hormone ethylene [J/OL]. *Frontiers in Plant Science*, 2019, **10**: 695 [2022-11-28]. doi: 10.3389/fpls.2009.00695.
- [29] 朱丽颖, 杨军, 罗朝鹏, 等. 烟草ACO基因家族鉴定和二氯喹啉酸药害条件下的表达分析[J]. 烟草科技, 2022, **55**(9): 10 – 18.
- ZHU Liying, YANG Jun, LUO Chaopeng, et al. Identification of tobacco ACO gene family and its expression analysis under quinclorac phytotoxicity [J]. *Tobacco Science & Technology*, 2022, **55**(9): 10 – 18.
- [30] 杨利艳, 边璐, 史瑞翔, 等. 玉米ACO家族的全基因组鉴定与表达分析[J]. 湖南师范大学自然科学学报, 2022, **45**(3): 109 – 116.
- YANG Liyan, BIAN Lu, SHI Ruixiang, et al. Genome-wide identification and expression analysis of ACO family in maize [J]. *Journal of Natural Science of Hunan Normal University*, 2022, **45**(3): 109 – 116.
- [31] WEI Hengling, XUE Yujun, CHEN Pengyun, et al. Genome-wide identification and functional investigation of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid oxidase (ACO) genes in cotton [J/OL]. *Plants*, 2021, **10**(8): 1699 [2022-11-28]. doi: 10.3390/plants10081699.
- [32] HUDGINS J W, RALPHY S G, FRANCESCHI V R, et al. Ethylene in induced conifer defense: cDNA cloning, protein expression, and cellular and subcellular localization of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase in resin duct and phenolic parenchyma cells [J]. *Planta*, 2006, **224**(4): 865 – 877.
- [33] MOON J, KIM S Y, PARK C, et al. BES1 negatively regulates the expression of ACC oxidase 2 to control the endogenous level of ethylene in *Arabidopsis thaliana* [J/OL]. *Plant Signaling & Behavior*, 2020, **16**(2): 1850625 [2022-11-28]. doi: 10.1080/15592324.2020.1850625.
- [34] GU Shinyuan, WANG Longchi, CHEUH Chiaomei, et al. CHITINASE LIKE1 regulates root development of dark-grown seedlings by modulating ethylene biosynthesis in *Arabidopsis thaliana* [J/OL]. *Frontiers in Plant Science*, 2019, **10**: 600 [2022-11-28]. doi: 10.3389/fpls.2019.00600.