

引用格式: 张梦涵, 杨拓, 黄肖镭, 等. 彩色马蹄莲多聚半乳糖醛酸酶抑制蛋白基因家族的鉴定及对胡萝卜果胶杆菌的响应[J]. 浙江农林大学学报, 2025, 42(5): 1037–1047. ZHANG Menghan, YANG Tuo, HUANG Xiaorong, et al. Identification of polygalacturonase-inhibiting protein gene family in colored *Zantedeschia elliottiana* and its response to *Pectobacterium carotovorum*[J]. Journal of Zhejiang A&F University, 2025, 42(5): 1037–1047.

彩色马蹄莲多聚半乳糖醛酸酶抑制蛋白基因家族的鉴定及对胡萝卜果胶杆菌的响应

张梦涵^{1,2}, 杨拓³, 黄肖镭², 吴乐乐², 田威², 曾臻²,
张国君¹, 卫尊征², 杨学军², 王壹^{1,2}

(1. 河北科技师范学院 园艺科技学院 河北省特色园艺种质挖掘与创新利用重点实验室, 河北 秦皇岛 066000;
2. 北京市农林科学院 草业花卉与景观生态研究所, 北京 100097; 3. 中国农业大学 园艺学院, 北京 100193)

摘要: 【目的】揭示 PGIP 基因家族在彩色马蹄莲 *Zantedeschia elliottiana* 中的结构特征及在胡萝卜果胶杆菌 *Pectobacterium carotovorum* 侵染下的表达差异, 为 ZePGIP 基因功能研究和彩色马蹄莲抗胡萝卜果胶杆菌机制解析提供理论依据。【方法】采用生物信息学方法在全基因组范围内鉴定并分析彩色马蹄莲 ZePGIP 基因家族成员, 并通过实时荧光定量 PCR(RT-qPCR) 检测 ZePGIP 基因在胡萝卜果胶杆菌侵染下的表达模式。【结果】在彩色马蹄莲基因组中共鉴定出 6 个 ZePGIP 基因: ZePGIP1、ZePGIP2、ZePGIP3、ZePGIP4、ZePGIP5 和 ZePGIP6。系统发育及保守结构域分析表明: 这些基因均包含同一亚家族内保守的基序, 其中 MEME-1 和 MEME-2 序列高度相似, 并在所有基因中均可鉴定到 MEME-1、MEME-2、MEME-6, 显示出较高保守性。启动子顺式作用元件分析发现: ZePGIP 基因启动子区含有与脱落酸、生长素、茉莉酸甲酯、光、低温、赤霉素、胁迫及水杨酸相关的响应元件。基因共线性分析显示: ZePGIP2 与 ZePGIP5 为旁系同源基因。跨天南星科 Araceae 物种的基因共线性分析发现: 彩色马蹄莲与虎掌 *Pinellia pedatisecta*、大藻 *Pistia stratiotes*、芋 *Colocasia esculenta* 和魔芋 *Amorphophallus konjac* 存在 2 对直系同源基因。胡萝卜果胶杆菌接菌处理和相关性分析表明: 在胡萝卜果胶杆菌侵染下彩色马蹄莲 ZePGIP 基因呈现差异性表达, 其中 ZePGIP2 和 ZePGIP6 在胡萝卜果胶杆菌侵染早期表达水平受到抑制, 而在后期则被显著诱导。【结论】PGIP 基因家族在彩色马蹄莲中主要以串联重复形式存在, 整体结构高度保守。ZePGIP2 和 ZePGIP6 对胡萝卜果胶杆菌具有显著响应, 揭示其可能在抗胡萝卜果胶杆菌中发挥关键作用。图 8 参 37

关键词: 彩色马蹄莲; PGIP 基因; 胡萝卜果胶杆菌; 表达分析

中图分类号: S68 文献标志码: A 文章编号: 2095-0756(2025)05-1037-11

Identification of polygalacturonase-inhibiting protein gene family in colored *Zantedeschia elliottiana* and its response to *Pectobacterium carotovorum*

ZHANG Menghan^{1,2}, YANG Tuo³, HUANG Xiaorong², WU Lele², TIAN Wei², ZENG Zhen²,
ZHANG Guojun¹, WEI Zunzheng², YANG Xuejun², WANG Yi^{1,2}

(1. Hebei Key Laboratory of Horticultural Germplasm Excavation and Innovative Utilization, College of Horticultural Science & Technology, Hebei Normal University of Science & Technology, Qinhuangdao 066000, Hebei, China;

收稿日期: 2025-08-09; 修回日期: 2025-10-01

基金项目: 北京市农林科学院科技创新能力建设专项 (KJCX20230108); 北京市农林科学院产业技术研究平台建设与科技能力提升专项 (CYJS202502); 国家自然科学基金面上资助项目 (32071812); 国家资助博士后研究人员计划项目 (GZB20240831); 中国博士后科学基金面上项目 (2025M771922)

作者简介: 张梦涵 (ORCID: 0009-0005-2180-0669), 从事球根花卉遗传育种研究。E-mail: zhangmenghanbaafs@163.com。通信作者: 杨学军 (ORCID: 0009-0001-1454-9155), 副研究员, 博士, 从事园林植物研究。E-mail: cxj1038@163.com。王壹 (ORCID: 0009-0008-0971-8672), 助理研究员, 博士, 从事球根花卉遗传育种研究。E-mail: wangyi@baafs.net.cn

2. Institute of Grassland, Flowers and Ecology, Beijing Academy of Agricultural and Forestry Sciences, Beijing 100097, China; 3. College of Horticulture, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract: [Objective] This objective is to reveal the structural characteristics of the *PGIP* gene family in colored *Zantedeschia elliottiana* (calla lily) and their differential expression under *Pectobacterium carotovorum* (soft rot bacteria) infection, so as to provide a theoretical basis for functional studies of *ZePGIP* genes as well as the elucidation of the resistance mechanism to *P. carotovorum* in *Z. elliottiana*. [Method] Bioinformatics methods were employed to identify and analyze the members of the *PGIP* gene family across the entire genome of *Z. elliottiana*. The expression patterns of *ZePGIP* genes under infection by *P. carotovorum* were detected by real-time quantitative PCR (RT-qPCR). [Result] A total of 6 *ZePGIP* genes, namely *ZePGIP1*, *ZePGIP2*, *ZePGIP3*, *ZePGIP4*, *ZePGIP5*, and *ZePGIP6*, were identified in the genome of the colored *Z. elliottiana*. Phylogenetic and conserved domain analysis revealed that these genes contained conserved motifs within the same subfamily. Among them, MEME-1 and MEME-2 exhibited high sequence similarity, and MEME-1, MEME-2, MEME-6 could be detected in all members, demonstrating a high degree of conservation. Promoter cis-element analysis showed that *ZePGIP* promoters contained response elements associated with abscisic acid, auxin, methyl jasmonate, light, low temperature, gibberellin, stress, and salicylic acid. Gene collinearity analysis indicated that *ZePGIP2* and *ZePGIP5* were paralogous genes. Gene collinearity analysis across species in the Araceae family identified two pairs of orthologous genes between *Z. elliottiana* and *Pinellia pedatisecta*, *Pistia stratiotes*, *Colocasia esculenta*, and *Amorphophallus konjac*. The inoculation and correlation analysis of *P. carotovorum* indicated that *ZePGIP* genes displayed differential responses to *P. carotovorum* infection, among which *ZePGIP2* and *ZePGIP6* were inhibited in the early stage of infection but significantly induced in the later stage. [Conclusion] The *PGIP* gene family mainly exists in the form of tandem repeats in colored *Z. elliottiana* and exhibits a highly conserved structure. *ZePGIP2* and *ZePGIP6* show significant responses to *P. carotovorum* infection, suggesting that they may play a crucial role in resisting *P. carotovorum*. [Ch, 8 fig. 37 ref.]

Key words: colored *Zantedeschia elliottiana*; *PGIP* gene; *Pectobacterium carotovorum*; expression analysis

彩色马蹄莲 *Zantedeschia elliottiana* 是珍贵观赏植物, 常被用作切花, 具有很高的经济价值。彩色马蹄莲在生长过程中可能会受到各种病原体的影响, 其中最严重的是由胡萝卜果胶杆菌 *Pectobacterium carotovorum* 引起的细菌性软腐病^[1-2]。该病常使被侵染器官薄壁组织发生浸渍腐烂, 最终导致植株死亡^[3]。当前, 尚未找到根治马蹄莲软腐病的办法。在生产上只能在栽培管理、物理、化学和生物等方面采取系列措施减少马蹄莲软腐病带来的危害^[4]。邹丽婷^[5]研究发现: 柠檬草精油 (lemongrass essential oil, LEO) 对彩色马蹄莲软腐病具有一定的防治作用。蒙盼盼^[6]认为: 微生物群落可以通过招募其他有益菌群协同控制魔芋 *Amorphophallus konjac* 软腐病。

多聚半乳糖醛酸酶抑制蛋白 (polygalacturonase-inhibiting protein, PGIP) 于 1971 年被首次发现, 在单子叶及双子叶植物中均呈现保守性^[7]。PGIP 的结构通常由 10 个不完美的富含亮氨酸的重复序列 (LRR) 形成, 每个重复序列有 24 个残基, 形成 2 个 β -折叠, 其中 1 个折叠占据分子的凹形内侧, 并包含对与内切多聚半乳糖醛酸酶 (endo-PG) 相互作用至关重要的残基^[8]。多聚半乳糖醛酸酶和 PGIP 之间的相互作用促进了寡半乳糖醛酸苷 (OG) 的形成, 寡半乳糖醛酸苷是各种防御反应的诱导剂^[9-11]。植物 *PGIP* 基因在基因组上多以串联重复排列^[12], 基因家族未经历大规模扩张, 成员为 2~16 个不等, 如: 拟南芥 *Arabidopsis thaliana* 中有 2 个成员, 水稻 *Oryza sativa* 中有 7 个成员, 油菜 *Brassica napus* 中有 16 个成员^[13-15]。除个别成员包含 1 个较短内含子外, 大多数 *PGIP* 基因无内含子^[12]。虽然同一物种不同成员基因序列具有高度相似性, 但它们在植物的不同生长发育阶段以及应对不同病原菌或逆境时, 表达量都有显著差异^[16-18]。为抵御病原物的侵袭, 植物常依靠其细胞表层及细胞间隙中的受体来辨识病原物种类, 并随即触发相应的防御机制。PGIP 便是这类受体中的一员, 它能特异性地阻断病原物所分泌的多聚半

乳糖醛酸酶活性, 有效阻止病原物的入侵与扩散; 同时, PGIP 还能促进植物体内寡聚半乳糖醛酸的累积, 进而激活特定的防御反应, 最终遏制病害的发生^[19]。纯化的 *GhPGIP1* 是棉花 *Gossypium hirsutum* 枯萎病的 2 种真菌病原体黄萎病和尖孢镰刀菌 *Fusarium oxysporum* 的功能性抑制剂^[20]; 通过根瘤农杆菌 *Bacterium tumefaciens* 介导法将 PGIP 转入菊花 *Chrysanthemum × morifolium* 品种中, 可以提高菊花对真菌病害的抗性^[21]; *PgPGIP1* 的表达增强了转基因小麦 *Triticum aestivum* 对全蚀病与根腐病的抗性^[22]。由此可见: 深入研究 PGIP 基因家族的功能, 对于促进植物生长和抗病抗虫能力, 提高植物次生代谢物产量具有重要意义。

本研究在全基因组水平上对彩色马蹄莲 *ZePGIP* 基因家族进行了系统鉴定和分析, 强调了 *ZePGIP* 基因在彩色马蹄莲软腐病响应中的作用, 并为深入解析 PGIP 基因家族的功能奠定了理论基础。

1 材料与方法

1.1 植物材料和处理

所用材料为彩色马蹄莲 ‘京彩阳光’ *Zantedeschia elliottiana* ‘Jingcai Yangguang’, 栽培于温室。栽培条件为: 温度 25 ℃, 相对湿度 60%, 光周期 16 h 光照/8 h 黑暗。取盆栽植株叶柄基部切下的完全展开叶片, 先在质量分数为 0.5% 次氯酸钠溶液中浸泡 20 min, 再用无菌蒸馏水冲洗 2 次, 置于无菌环境下风干备用。胡萝卜果胶杆菌 *Pectobacterium carotovorum* 的接种参考 LUZZATTO 等^[23] 的方法进行。胡萝卜果胶杆菌菌株最初从发病的彩色马蹄莲植株上分离, 并保存在 -80 ℃ 冰箱中。试验前, 将冻存菌株接种于 Luria-Bertani (LB) 固体培养基, 28 ℃ 培养 16 h。取单个菌落接入 4.0 mL LB 液体培养基中, 28 ℃、150 r·min⁻¹ 条件下摇床培养 10 h。随后取 2.0 mL 细菌培养物, 于室温下 12 000 r·min⁻¹ 离心 3 min, 弃去上清液后加入 1.0 mL 新鲜 LB 培养基 (记作 C1)。充分涡旋混匀后, 取 0.1 mL C1 加入 0.9 mL 新鲜 LB 培养基 (C2), 再次涡旋混匀。使用分光光度计测定吸光度 [*D*(600)], 并根据公式 $D(600) = 1.0 (\approx 10^9 \text{ CFU})$ ^[24] 计算 C1 的菌液比例。将 C1 稀释至 $10^7 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ 作为工作比例^[25], 用于接种。接种方法为沿叶片下侧主脉的 6 个对称点注射 0.1 mL 细菌悬浮液。接种后植株置于 28 ℃ 下培养, 并在 0、6、12、24 和 48 h 观察并记录表型。所有样品迅速投入液氮中冷冻, 并储存于 -80 ℃ 冰箱备用。

1.2 *ZePGIP* 基因序列检索与系统发育分析

从植物基因组数据库 (<https://plants.ensembl.org/index.html>) 获取水稻 *OsPGIP* 基因序列, 并通过 BLASTP 软件筛选候选基因。随后在保守结构域数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/bwrpsb/bwrpsb.cgi>) 中检索分析, 以确认所鉴定序列均包含完整的结构域。以水稻 *OsPGIP* 基因为参考, 对 *ZePGIP* 基因进行分类。使用 MUSCLE 软件 (默认参数) 对全长蛋白序列进行多序列比对, 并基于比对结果在 IQ-TREE 2 中构建系统发育树。

1.3 *ZePGIP* 基因的保守基序分析

获得 *ZePGIP* 基因的全长蛋白质序列, 并分析其保守基序。为此, 采用多序列基序分析工具 MEME (Multiple Em for Motif Elicitation, v5.5.0; <http://meme-suite.org>)。参数设置: 在每条序列中基序的出现次数设定为 “0 次或 1 次”, 最大基序数为 20。保守基序结果通过 TBtools 软件进行可视化。

1.4 基因串联重复分析与基因共线性分析

基于彩色马蹄莲的全基因组数据和基因注释文件, 采用 MCScanX 软件在默认参数下鉴定串联重复基因及基因共线性关系^[26], 利用 Circos 软件 (<http://circos.ca/>, 最小块大小设为 30) 对结果进行可视化。*ZePGIP* 基因在染色体上的分布位置由 MapChart 软件 (<https://www.wur.nl/en/show/Mapchart.htm>) 绘制。进一步开展彩色马蹄莲种内共线性分析、串联重复基因对分析, 以及彩色马蹄莲与水稻的种内共线性比较。分别使用天南星科 Araceae 植物: 红掌 *Anthurium andraeanum*、虎掌 *Pinellia pedatisecta*、大藻 *Pistia stratiotes*、芋 *Colocasia esculenta* 和魔芋 *Amorphophallus konjac* 与彩色马蹄莲进行种间基因共线性分析。

1.5 *ZePGIP* 基因结构及启动子的顺式作用元件分析

ZePGIP 基因的结构信息 (包括外显子、内含子和非翻译区) 从基因组注释文件中获得, 利用 Gene Structure Display Server (GSDS) 网站 (<https://gsds.gao-lab.org/>) 进行可视化。启动子顺式作用元件通过 PlantCARE 数据库 (<https://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>) 预测, 分析范围为起始密码

子上游 2 kb 序列。利用 TBtools 软件对启动子中的顺式作用元件进行可视化^[27]。

1.6 RNA 提取和转录组分析

在接种软腐病菌后 0、6、12、24 和 48 h, 收集病斑周围约 2 cm 的彩色马蹄莲叶片组织。总 RNA 提取使用 EASYspin Plus 植物 RNA 提取试剂盒 (Aidlab, 中国), 并通过琼脂糖凝胶电泳和 Nanodrop 2000 光谱仪检测其质量和浓度。合格 RNA 样品经 NEBNext Ultra RNA Library Prep Kit (NEB, 美国) 构建文库, 并在 Illumina NovaSeq 6000 平台上进行双端测序 (PE150)。获得的测序数据经质量控制后, 利用 HISAT2 软件比对至彩色马蹄莲参考基因组。比对结果通过 FeatureCounts 软件进行定量分析, 以获得各基因的原始 count 值。随后, 使用 TBtools 将 count 值转换为 FPKM, 并据此绘制 *ZePGIP* 基因在接菌后的表达热图。*ZePGIP* 基因间的表达相关性基于各样品的 FPKM 值, 使用 R 包绘制基因表达相关性图。

1.7 实时荧光定量 PCR(RT-qPCR) 分析

RT-qPCR 进一步用于验证 *ZePGIP* 基因在接种胡萝卜果胶杆菌后 0~48 h 的表达量, 每个基因在各时间点均设 3 个独立生物学重复和 3 个技术重复。使用 HiScript II 1st Strand cDNA Synthesis Kit (Vazyme) 合成 cDNA, RT-qPCR 反应依照 ChamQ SYBR qPCR Master Mix (Vazyme) 体系操作。荧光定量引物通过美国国家生物技术信息中心 (NCBI) 的 primer-BLAST 工具 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 设计。相对表达量采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法计算, 并以 *ZeActin* 作为内参基因进行标准化。表达柱状图由 GraphPad Prism 9.5 绘制, 差异显著性通过独立 *t* 检验分析, 并在 $P < 0.05$ 时标注。

2 结果与分析

2.1 彩色马蹄莲 *ZePGIP* 基因的鉴定及保守基序分析

为鉴定彩色马蹄莲中的 *ZePGIP* 基因, 首先以水稻 *OsPGIP* 基因序列为参考, 利用 BLAST 软件在彩色马蹄莲的基因序列中筛选候选基因。随后, 对水稻与彩色马蹄莲的 *PGIP* 基因进行多序列比对, 并基于最大似然法构建系统发育树 (图 1)。结果表明: 彩色马蹄莲基因组中共鉴定出 6 个 *ZePGIP* 基因, 大部分聚集在同一分支。其中 *ZePGIP3* 与 *ZePGIP4* 相似度最高, 其次为 *ZePGIP2* 与 *ZePGIP1*。这 4 个基因与 *ZePGIP5* 的相似度均高于与 *ZePGIP6*。

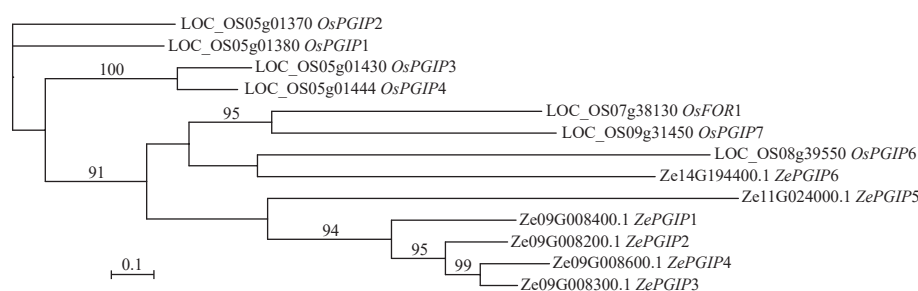


图 1 彩色马蹄莲和水稻 *PGIP* 基因的系统发育关系

Figure 1 Phylogenetic relationship between *PGIP* genes in colored *Z. elliotiana* and *O. sativa*

为进一步解析 *ZePGIP* 蛋白的特征基序, 进行保守基序分析 (图 2)。结果表明: 尽管基因长度存在差异, 但每个 *ZePGIP* 蛋白均至少含有 4 个保守基序, 且整体结构高度保守。除了 *ZePGIP1* 和 *ZePGIP6*, 其余 *ZePGIP* 蛋白均包含亚家族内共享的 6 种保守基序, 其中 MEME-1 和 MEME-2 序列高度相似, 在所有基因中均检测到 MEME-1、MEME-2 或 MEME-6, 说明这些基序具有较高保守性。同时, 不同 *ZePGIP* 基因间的基序排列顺序基本一致, 揭示其保守区域差异很小, 蛋白相似度较高。

2.2 彩色马蹄莲 *ZePGIP* 基因串联重复及基因共线分析

在彩色马蹄莲的 16 条染色体中, *ZePGIP* 基因仅分布于 Chr09、Chr11 和 Chr14 上 (图 3A)。其中, Chr09 上已鉴定出的基因 Ze09G008400.1 (*ZePGIP1*)、Ze09G008200.1 (*ZePGIP2*) 和 Ze09G008300.1 (*ZePGIP3*) 构成了一组串联重复基因。在进化过程中, 基因的串联重复不仅有助于基因家族的扩张, 还可能通过产生新型或功能增强的同源基因而促进物种适应性进化。

为了更全面地检验 *ZePGIP* 基因在染色体上的分布特征及其共线关系, 绘制了覆盖全基因组的染色

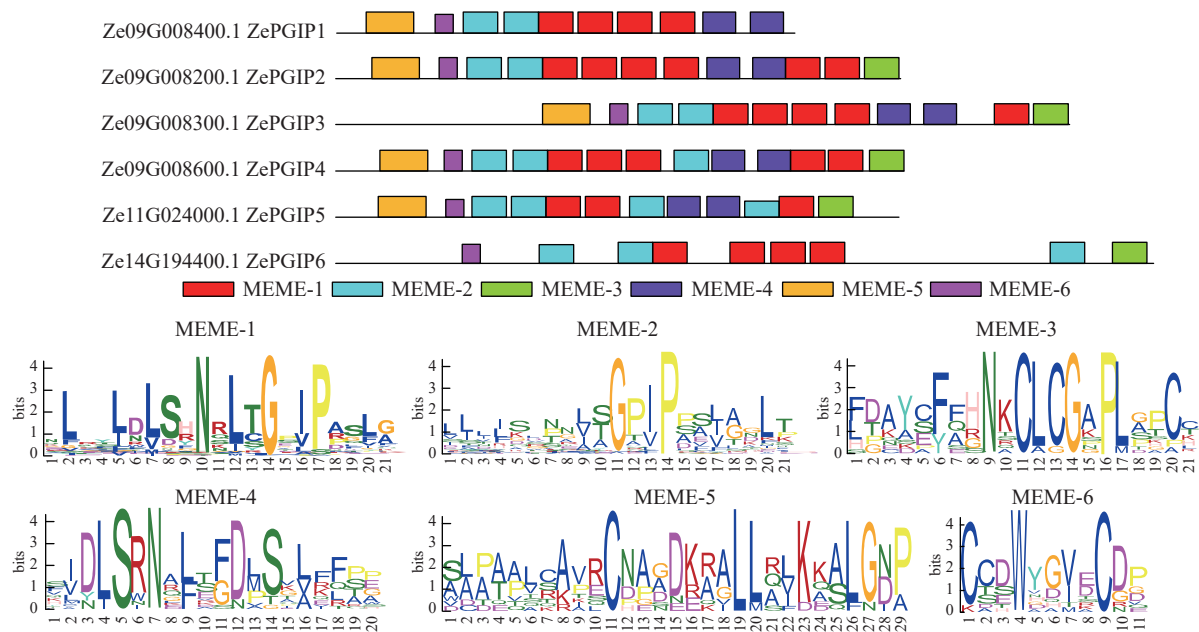


图 2 彩色马蹄莲 ZePGIP 蛋白保守基序的鉴定

Figure 2 Identification of conserved motifs in ZePGIP proteins of colored *Z. elliottiana*

体圆环图，直观展示基因间的旁系同源关系及其进化关联 (图 3B)。结果表明：位于 Chr11 的 Ze11G024000.1 (*ZePGIP5*) 与 Chr09 上的 Ze09G008200.1 (*ZePGIP2*) 构成一对旁系同源基因，提示两者可能源自全基因组复制事件并在进化过程中形成功能上的分化或互补。

2.3 天南星科不同物种 *PGIP* 基因的共线性分析

共线性分析结果 (图 4) 显示：除红掌外，其余物种的 *PGIP* 基因均与彩色马蹄莲存在 2 对同源基因对。红掌的物种分化时间早于其他天南星科物种。在本研究中未能鉴定到红掌 *PGIP* 基因与彩色马蹄莲之间的共线性，推测红掌的 *PGIP* 基因经历了相对独立的分化过程。彩色马蹄莲的 Ze11G024000.1 (*ZePGIP5*)、Ze09G008200.1 (*ZePGIP2*) 以及 Ze14G194400.1 (*ZePGIP6*) 均与虎掌、大藻、芋和魔芋的 *PGIP* 基因呈现出共线性关系。分析结果也表明：*ZePGIP2* 与 *ZePGIP5* 之间的旁系同源关系并未在虎掌、大藻、芋和魔芋的 *PGIP* 基因中得到体现。这种基因复制可能是在物种分化后产生的。

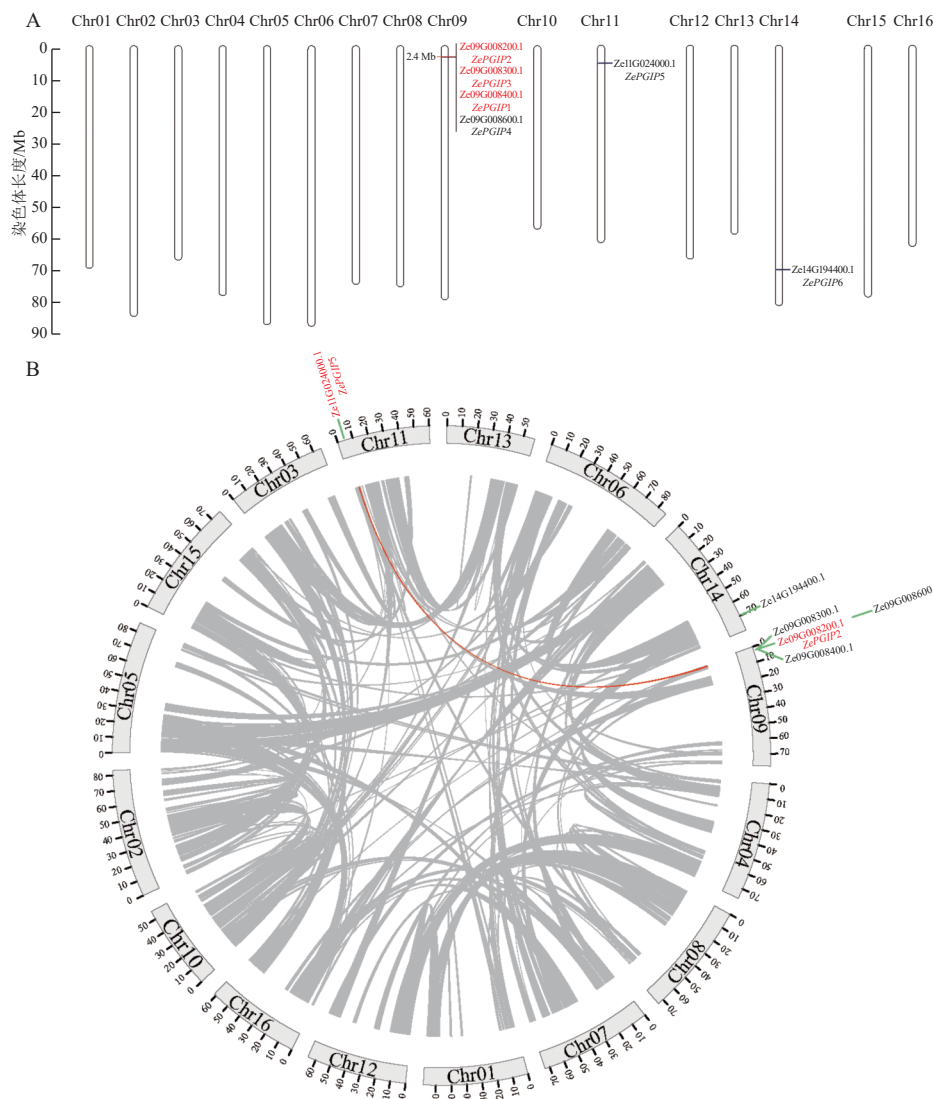
2.4 彩色马蹄莲 *ZePGIP* 基因结构及启动子顺式作用元件分析

基因结构示意图 (图 5A) 显示：不同基因的外显子和内含子数量存在差异，部分基因仅包含 1 个外显子。6 个基因均具有完整的外显子结构，但多数 *ZePGIP* 基因缺乏内含子，仅 Ze09G008300.1 (*ZePGIP3*) 和 Ze11G024000.1 (*ZePGIP5*) 含有内含子结构。此外，值得注意的是：*ZePGIP3* 含有 1 个超长的内含子。长内含子在植物基因组中常与复杂的转录调控相关，其序列可能包含多种顺式作用元件或调控基序，为转录因子结合提供更多潜在位点。同时，长内含子区域还可能与组蛋白修饰、染色质重塑及 RNA 剪接效率等过程相关，从而在转录活性与基因表达的时空特异性中发挥重要作用。因此，*ZePGIP3* 中超长内含子的存在提示该基因可能具有更加复杂的调控机制，并可能在响应环境信号或发育调控中发挥独特功能。

基因表达的显著调控通常发生在转录起始阶段，而启动子序列中的顺式作用元件在其中发挥关键作用。启动子的一般结构包括核心启动子元件与上游调控元件。提取 *ZePGIP* 启动子序列并对潜在的调控基序进行了预测分析 (图 5B)。结果发现：在 *ZePGIP* 启动子序列中分布有多种与激素和胁迫相关的响应元件，包括脱落酸响应元件 (ABRE)、生长素响应元件 (AuxRR-core)、茉莉酸甲酯响应元件 (CGTCA-motif)、光响应元件 (G-box)、低温响应元件 (LTR)、赤霉素响应元件 (TATC-box)、胁迫响应元件 (TC-rich repeats) 以及水杨酸响应元件 (TCA 元件)。其中，茉莉酸甲酯响应元件在多个 *ZePGIP* 启动子中广泛存在 (图 5B)，因此推测茉莉酸可能是调控 *ZePGIP* 基因表达的重要激素。

2.5 彩色马蹄莲 *ZePGIP* 基因表达水平及相关性分析

在彩色马蹄莲叶片上接种了胡萝卜果胶杆菌 (图 6)，并对接种后 0、6、12、24 和 48 h 各 *ZePGIP* 基



A. 彩色马蹄莲 *ZePGIP* 基因的分布, 串联重复基因的名称用红色表示。B. 圆环图展示了彩色马蹄莲的 16 条染色体及 6 个 *ZePGIP* 基因的位置。以红色标注的基因代表旁系同源基因, 红色连线则表示它们之间的旁系同源关系。

图 3 彩色马蹄莲 6 个 *ZePGIP* 基因的串联重复及基因共线分析

Figure 3 Analysis of tandem duplication and gene synteny of six *ZePGIP* genes in *Z. elliptiana*

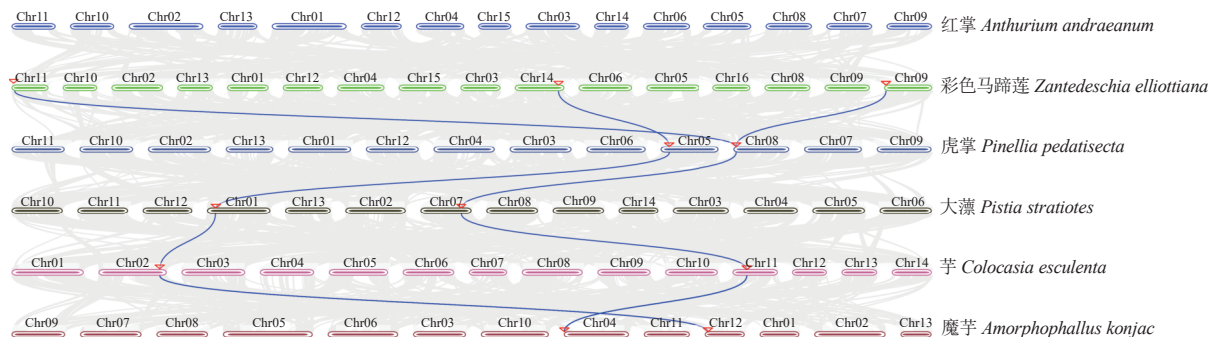
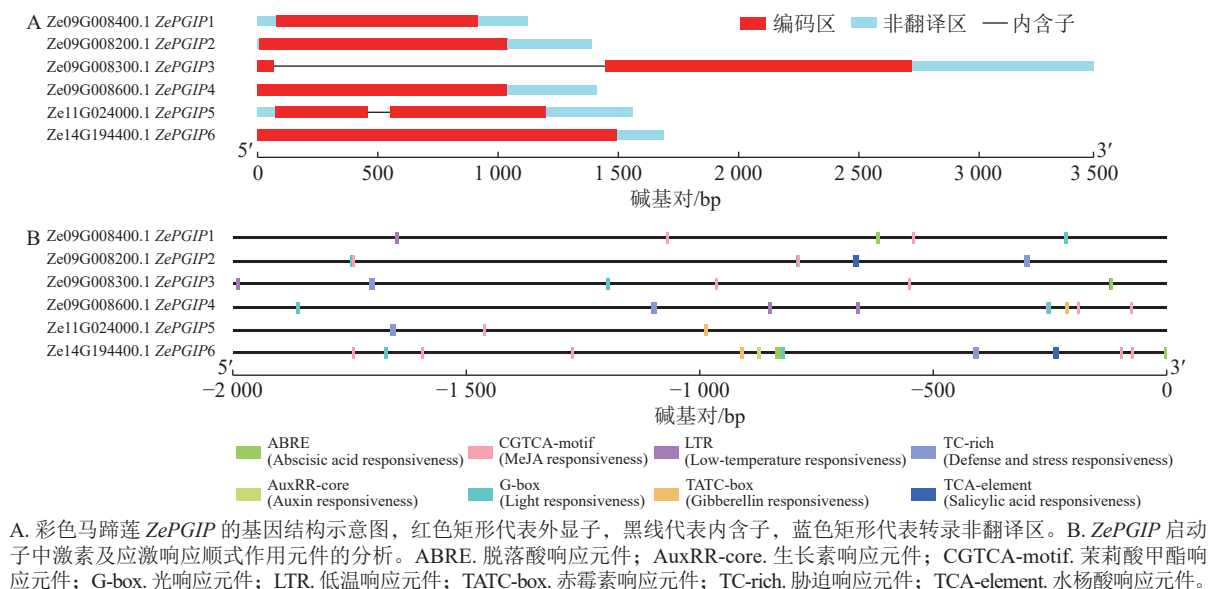


图 4 6 种天南星科物种 *PGIP* 基因的共线性分析

Figure 4 Synteny analysis of *PGIP* genes in six Araceae species

因的转录组表达水平进行了分析。结果显示：*ZePGIP6* 的表达量始终显著高于其他家族成员，而 *ZePGIP5* 表达水平最低，几乎处于接近 0 的状态 (图 7A)。值得注意的是，除 *ZePGIP5* 外，其余基因在接菌后早期均出现不同程度的下调，说明胡萝卜果胶杆菌的侵染可能通过抑制 *PGIP* 基因的表达来削弱寄主的防御反应，从而促进病原菌的侵染过程。

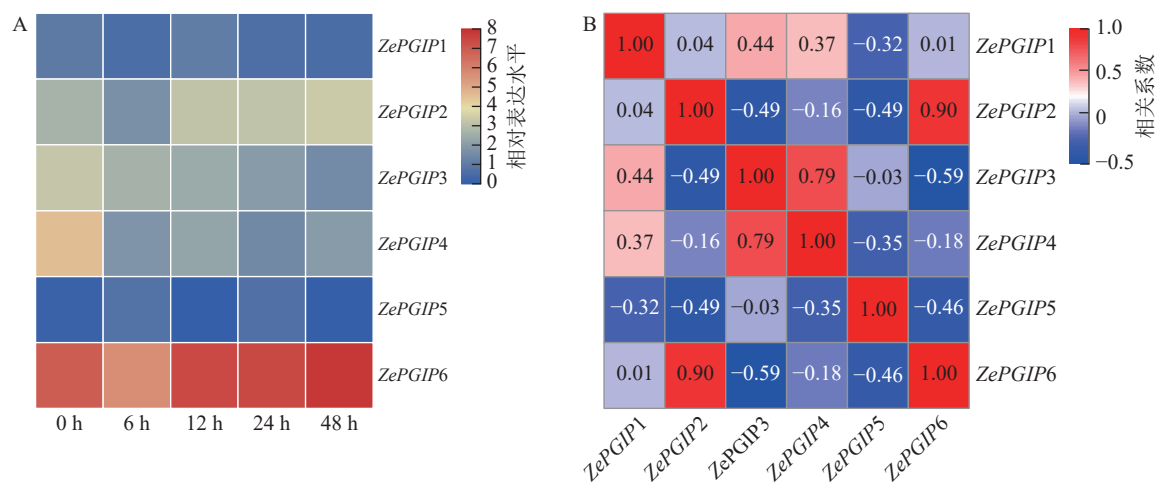
图 5 彩色马蹄莲 *ZePGIP* 的基因结构与启动子顺式作用元件分析Figure 5 Analysis of gene structure and promoter cis-acting elements of *ZePGIP* genes in *Z. elliptiana*

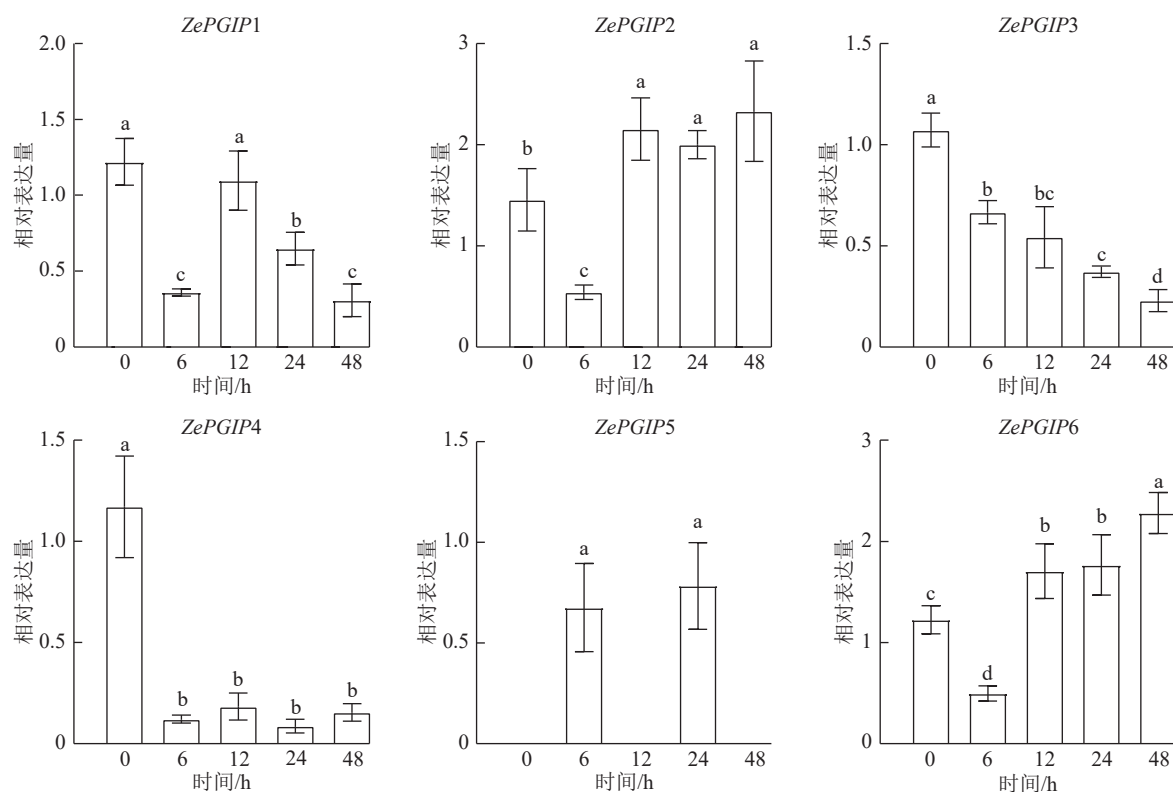
相关性分析表明：*ZePGIP2* 与 *ZePGIP6* 以及 *ZePGIP3* 与 *ZePGIP4* 表现出较强的共表达关系（图 7B），提示这些基因可能协同参与特定的生物学过程。RT-qPCR 验证结果与转录组趋势基本一致：*ZePGIP2* 与 *ZePGIP6* 在 6~48 h 随感染时间逐渐升高，表现出典型的诱导表达模式，呈现波动趋势；*ZePGIP4* 表达则在侵染过程中受到明显抑制（图 8）。

综上所述，彩色马蹄莲 *ZePGIP* 基因家族在胡萝卜果胶杆菌与寄主的互作过程中呈现出显著的差异化响应模式，尤其是 *ZePGIP2* 与 *ZePGIP6*，其表达水平在胡萝卜果胶杆菌侵染早期受到抑制，而在后期则被显著诱导，表现出典型的防御相关转录特征。由此推测，这 2 个基因在彩色马蹄莲抗软腐病过程中可能发挥关键作用。*ZePGIP2* 与 *ZePGIP6* 可作为潜在的抗病功能基因，为后续抗性机制解析及抗病育种提供重要参考。



图 6 彩色马蹄莲‘京彩阳光’叶片上接种胡萝卜果胶杆菌后不同时间点的病害表型

Figure 6 Phenotypes of diseases on the leaves of the colorful water chestnut ‘Jingcai Sunshine’ after inoculation with *P. carotovorum* at different time points图 7 接种胡萝卜果胶杆菌后彩色马蹄莲叶片中 *ZePGIP* 基因的表达热图及相关性分析Figure 7 Heatmap and correlation analysis of *ZePGIP* gene expression in *Z. elliptiana* leaves after *P. carotovorum* inoculation



数据为 3 个独立生物学重复的平均值±标准差。不同字母表示接种后不同时间差异显著 ($P < 0.05$)。

图 8 接种胡萝卜果胶杆菌彩色马蹄莲 *ZePGIP* 基因的相对表达水平

Figure 8 Relative expression levels of *ZePGIP* genes in *Z. elliptica* leaves after inoculation with *P. carotovorum*

3 讨论

目前已对许多植物, 如水稻^[28]、桃 *Prunus persica*^[29]、梅 *Prunus mume*^[30] 的 *PGIP* 基因进行了分析, 但未在基因组水平上充分掌握彩色马蹄莲 *ZePGIP* 基因家族的进化动力学和功能。

本研究对彩色马蹄莲 *PGIP* 基因进行了全面分析, 共鉴定出 6 个 *ZePGIP* 基因家族成员。系统发育及保守结构域分析表明: 这些基因均包含同一亚家族内保守的基序, 其中 MEME-1 和 MEME-2 序列高度相似, 并在所有基因中均可检测到 MEME-1、MEME-2 或 MEME-6, 显示出较高保守性, 且在彩色马蹄莲 6 个保守的 *ZePGIP* 基因中, *ZePGIP1*、*ZePGIP2*、*ZePGIP3* 是由串联重复产生的。这与前人的研究结果一致, *PGIP* 家族成员主要以串联形式组织而成, 串联多少不一, 且高度保守。例如, 在滇龙胆 *Gentiana scabra* 中共鉴定到 10 条 *PGIPs* 基因家族成员, 这些基因主要以串联重复的状态分布于 2 号染色体上, 且与拟南芥、葡萄 *Vitis vinifera* 的 *PGIP* 家族成员各有 2 对同源基因^[31]。在大豆 *Glycine max* 中, *PGIP* 基因家族数量较少且高度保守, 为独立的串联重复事件^[17]。

基因结构分析表明: 6 个 *ZePGIP* 基因均具有完整的外显子结构, 但仅 *ZePGIP3* 和 *ZePGIP5* 含有内含子。此外, *ZePGIP3* 含有 1 个超长的内含子, 这类结构在植物基因组中通常与基因表达调控的复杂性相关。一方面, 长内含子区域可能富含顺式作用元件或结合位点, 从而为转录因子、非编码 RNA 或表观遗传修饰提供调控平台; 另一方面, 超长内含子在进化过程中可能通过转座元件插入或序列重排积累而成, 从而为基因功能分化与新性状的出现提供潜在的分子基础。此外, 已有研究表明: 长内含子还可能在转录效率、mRNA 剪接精确性以及染色质高级结构的形成中发挥作用。前人的研究表明: 内含子增加基因的长度和基因重组的频率; 虽然内含子较少的基因在物种进化或基因重组中没有优势, 但它们能够快速响应外部非生物胁迫^[32]。LIU 等^[33] 对拟南芥和水稻的研究表明: 无内含子的亚家族基因在“转录调控”中最为丰富, 可能在应对干旱和盐胁迫方面发挥重要作用。这表明不同的 *ZePGIP* 基因根据其内含子是否存在及内含子的长度, 有着不同的功能。

启动子顺式作用元件分析发现: MeJA 响应元件在多个 *ZePGIP* 启动子中广泛存在, 推测茉莉酸可能是调控 *ZePGIP* 基因表达的重要激素。陈夕军等^[18] 研究发现: 在梗稻‘中花 11’ *Oryza sativa* subsp.

japonica ‘Zhonghua 11’ 中, 使用脱落酸、芸薹素内酯、赤霉素、生长素、激动素、茉莉酸和水杨酸处理后, 随着时间的推移, 绝大多数 *OsPGIP* 基因的表达量均上调。王秀云等^[34] 研究发现: 桃 *PpPGIP1* 启动子中乙烯相关调控元件在 *PpPGIP1* 转录调控功能中可能具有重要的作用。前人的研究表明: 茉莉酸信号不敏感突变体易感黑斑病菌、灰霉病菌 *Botrytis cinerea* 及胡萝卜果胶杆菌亚种等多种死体型病菌, 胡萝卜果胶杆菌感染拟南芥后, 茉莉酸的防御反应会被激活^[35]。在本研究中, *ZePGIP2* 和 *ZePGIP6* 在胡萝卜果胶杆菌侵染后表现出显著的诱导表达。结合启动子分析结果, 可以推测其上游含有多种与茉莉酸信号相关的顺式作用元件。茉莉酸是植物抵御坏死营养型或半坏死营养型病原菌的重要信号分子。因此, *ZePGIP2* 和 *ZePGIP6* 的表达动态很可能受到茉莉酸途径的调控, 进而介导对胡萝卜果胶杆菌侵染的防御反应。这一假设提示 *ZePGIP2* 和 *ZePGIP6* 可能在茉莉酸依赖型抗性网络中发挥关键作用。这为后续功能验证提供了研究方向。

基因共线性分析显示: *ZePGIP2* 与 *ZePGIP5* 为旁系同源基因; 天南星科物种的共线性比较发现: 彩色马蹄莲与虎掌、大藻、芋和魔芋存在 2 对直系同源基因。这表明它们的祖先基因可能来源于同一个基因。表达分析表明: 胡萝卜果胶杆菌侵染下不同 *ZePGIP* 基因呈现差异性表达, 其中 *ZePGIP2* 和 *ZePGIP6* 对胡萝卜果胶杆菌表现出强烈响应。因此推测, 彩色马蹄莲 *PGIP* 基因家族参与胡萝卜果胶杆菌与彩色马蹄莲互作过程, 并发挥着不同的作用。

病原细菌或真菌要扩大对植物的感染必须先突破植物细胞壁这第一道防线。为抵御病原物的侵袭, 植物常依靠其细胞表层及细胞间隙中的受体来辨识病原物种类, 并随即触发相应的防御机制。*PGIP* 作为这类受体中的一员, 可以减缓病原细菌或真菌的生长繁殖速度^[19]。本研究认为 *ZePGIP2* 与 *ZePGIP6* 可作为潜在的抗病功能基因, 在彩色马蹄莲抗软腐病过程中可能发挥关键作用, 与前人对 *PGIP* 的研究结果一致。江翱等^[36] 研究发现: 表达的烟草 *Nicotiana tabacum* *PGIP* 蛋白能够明显抑制辣椒疫霉多聚半乳糖醛酸酶 (PGs) 的活性; 邓婕等^[37] 研究发现: *LrPGIP* 可能是岷江百合 *Lilium regale* 抵御尖孢镰刀菌侵染的重要抗病基因。

4 结论

本研究基于全基因组数据对彩色马蹄莲 *ZePGIP* 基因家族进行了系统鉴定, 共发现 6 个成员, 包括 *ZePGIP1*、*ZePGIP2*、*ZePGIP3*、*ZePGIP4*、*ZePGIP5* 和 *ZePGIP6*。系统发育与保守基序分析表明: 每个基因至少含有 4 个保守基序, 其中 MEME-1、MEME-2 和 MEME-6 最为普遍, 显示该家族在进化过程中具有较高的保守性。6 个基因分布于 Chr09、Chr11 和 Chr14, 其中 *ZePGIP1*、*ZePGIP2*、*ZePGIP3* 和 *ZePGIP4* 位于 Chr09, 并形成一组串联重复基因, 而 *ZePGIP2* 与 *ZePGIP5* 构成一对旁系同源基因。进一步的跨物种共线性分析显示: 除红掌外, 其余天南星科物种的 *PGIP* 基因均与彩色马蹄莲形成 2 对同源关系, 提示该基因家族在天南星科中具有一定的保守性与分化特征。基因结构分析发现: 大多数 *ZePGIP* 基因不含内含子, 仅 *ZePGIP3* 和 *ZePGIP5* 含有内含子, 其中 *ZePGIP3* 具有超长内含子, 可能参与复杂的转录调控。启动子分析表明: *ZePGIP* 基因含有多种激素和胁迫响应元件, 其中茉莉酸相关位点普遍存在, 提示其可能通过激素信号途径介导防御反应。在胡萝卜果胶杆菌侵染过程中, *ZePGIP2* 和 *ZePGIP6* 的表达由早期受抑制转为后期显著诱导, 提示其在彩色马蹄莲抗性中具有关键作用。这一结果为抗病机理解析与分子育种提供了重要候选靶点。

5 参考文献

- [1] CHO H R, LIM J H, YUN K J, et al. Virulence variation in 20 isolates of *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* on *Zantedeschia* cultivars in Korea [J]. *Acta Horticulturae*, 2005(673): 653–659.
- [2] SNIJDER R C, van TUYL J M. Breeding for resistance in *Zantedeschia* spp. (Araceae) against soft rot caused by *Erwinia carotovora* ssp. *carotovora* [J]. *Acta Horticulturae*, 2002(570): 263–266.
- [3] 王雪皎, 郭彦斌, 李紫薇, 等. 彩色马蹄莲栽培品种对软腐病的抗性鉴定 [J]. 热带农业科学, 2018, 38(6): 69–73.
WANG Xuejiao, GUO Yanbin, LI Ziwei, et al. Resistance identification of *Zantedeschia hybrida* cultivars against the soft rot [J]. *Chinese Journal of Tropical Agriculture*, 2018, 38(6): 69–73.

- [4] 喻洪伟. 马蹄莲响应软腐病菌侵染的转录组分析和相关基因挖掘[D]. 昆明: 云南农业大学, 2022.
YU Hongwei. *Transcriptome Analysis and Related Genes Mining in Response to Pectobacterium carotovora Subsp. carotovora in Colored Zantedeschia*[D]. Kunming: Yunnan Agricultural University, 2022.
- [5] 邹丽婷. 柠檬草精油对彩色马蹄莲软腐病菌群体感应的抑制作用[D]. 福州: 福建农林大学, 2020.
ZOU Liting. *Study on Quorum Sensing of Soft Rot Bacteria of Colored Calla Lily Inhibitory Effect by Lemongrass Essential Oil*[D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2020.
- [6] 蒙盼盼. 基于魔芋根相关微生物群落分析构建合成微生物群落防控魔芋软腐病[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2025.
MENG Panpan. *Construction of Synthetic Microbial Community based on Analysis of Konjac Root-related Microbial Community to Prevent and Control Konjac Soft Rot*[D]. Yangling: Northwest A&F University, 2025.
- [7] ALBERSHEIM P, ANDERSON A J. Proteins from plant cell walls inhibit polygalacturonases secreted by plant pathogens [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1971, **68**(8): 1815–1819.
- [8] Di MATTEO A, FEDERICI L, MATTEI B, *et al.* The crystal structure of polygalacturonase-inhibiting protein (PGIP), a leucine-rich repeat protein involved in plant defense [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2003, **100**(17): 10124–10128.
- [9] CERVONE F, HAHN M G, de LORENZO G, *et al.* Host-pathogen interactions: XXXIII. a plant protein converts a fungal pathogenesis factor into an elicitor of plant defense responses [J]. *Plant Physiology*, 1989, **90**(2): 542–548.
- [10] RIDLEY B L, O'NEILL M A, MOHNEN D. Pectins: structure, biosynthesis, and oligogalacturonide-related signaling [J]. *Phytochemistry*, 2001, **57**(6): 929–967.
- [11] FERRARI S, SAVATIN D V, SICILIA F, *et al.* Oligogalacturonides: plant damage-associated molecular patterns and regulators of growth and development[J/OL]. *Frontiers in Plant Science*, 2013, **4**: 49[2025-07-31]. DOI: [10.3389/fpls.2013.00049](https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00049).
- [12] KALUNKE R M, TUNDO S, BENEDETTI M, *et al.* An update on polygalacturonase-inhibiting protein (PGIP), a leucine-rich repeat protein that protects crop plants against pathogens[J/OL]. *Frontiers in Plant Science*, 2015, **6**: 146[2025-07-31]. DOI: [10.3389/fpls.2015.00146](https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00146).
- [13] LU Liaoxun, ZHOU Fei, ZHOU Yong, *et al.* Expression profile analysis of the polygalacturonase-inhibiting protein genes in rice and their responses to phytohormones and fungal infection [J]. *Plant Cell Reports*, 2012, **31**(7): 1173–1187.
- [14] JANG S, LEE B, KIM C, *et al.* The OsFOR1 gene encodes a polygalacturonase-inhibiting protein (PGIP) that regulates floral organ number in rice [J]. *Plant Molecular Biology*, 2003, **53**(3): 357–372.
- [15] JANNI M, Di GIOVANNI M, ROBERTI S, *et al.* Characterization of expressed Pgip genes in rice and wheat reveals similar extent of sequence variation to dicot PGIPs and identifies an active PGIP lacking an entire LRR repeat [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2006, **113**(7): 1233–1245.
- [16] JOUBERT D A, de LORENZO G, VIVIER M A. Regulation of the grapevine polygalacturonase-inhibiting protein encoding gene: expression pattern, induction profile and promoter analysis [J]. *Journal of Plant Research*, 2013, **126**(2): 267–281.
- [17] KALUNKE R M, CENCI A, VOLPI C, *et al.* The pgip family in soybean and three other legume species: evidence for a birth-and-death model of evolution[J/OL]. *BMC Plant Biology*, 2014, **14**: 189[2025-07-31]. DOI: [10.1186/s12870-014-0189-3](https://doi.org/10.1186/s12870-014-0189-3).
- [18] 陈夕军, 唐滔, 李丽丽, 等. 水稻多聚半乳糖醛酶抑制蛋白家族 OsPGIP 结构及基因表达特征分析[J]. 作物学报, 2020, **46**(12): 1884–1893.
CHEN Xijun, TANG Tao, LI Lili, *et al.* Analysis on the structures of polygalacturonase-inhibiting proteins and the expression profile of its encoding genes in rice [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2020, **46**(12): 1884–1893.
- [19] 桂枝, 高建明, 袁庆华. 多聚半乳糖醛酶抑制蛋白 (PGIP) 的研究进展概述[J]. 天津农学院学报, 2011, **18**(3): 36–41.
GUI Zhi, GAO Jianming, YUAN Qinghua. Progress of researches on polygalacturonase inhibiting protein [J]. *Journal of Tianjin Agricultural University*, 2011, **18**(3): 36–41.
- [20] LIU Nana, ZHANG Xueyan, SUN Yun, *et al.* Molecular evidence for the involvement of a polygalacturonase-inhibiting protein, GhPGIP1, in enhanced resistance to *Verticillium* and *Fusarium* wilts in cotton[J/OL]. *Scientific Reports*, 2017, **7**: 39840[2025-07-31]. DOI: [10.1038/srep39840](https://doi.org/10.1038/srep39840).
- [21] 于森, 刘兆磊, 陈素梅, 等. 转梅 PGIP 基因增强菊花抗病性研究[J]. 西北植物学报, 2010, **30**(6): 1111–1116.
YU Miao, LIU Zhaolei, CHEN Sumei, *et al.* Expression of *P. mume* PGIP gene in transgenic *Dendranthema morifolium* increased tolerance to disease resistance [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2010, **30**(6): 1111–1116.

- [22] 杨丽华, 王金凤, 杜丽璞, 等. 抗全蚀病、根腐病的转 *PgPGIP1* 基因小麦的获得与鉴定[J]. *作物学报*, 2013, **39**(9): 1576–1581.
YANG Lihua, WANG Jinfeng, DU Lipu, *et al.* Generation and characterization of *PgPGIP1* transgenic wheat plants with enhanced resistance to take-all and common root rot [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2013, **39**(9): 1576–1581.
- [23] LUZZATTO T, YISHAY M, LIPSKY A, *et al.* Efficient, long-lasting resistance against the soft rot bacterium *Pectobacterium carotovorum* in calla lily provided by the plant activator methyl jasmonate [J]. *Plant Pathology*, 2007, **56**(4): 692–701.
- [24] YISHAY M, BURDMAN S, VALVERDE A, *et al.* Differential pathogenicity and genetic diversity among *Pectobacterium carotovorum* ssp. *carotovorum* isolates from monocot and dicot hosts support early genomic divergence within this taxon [J]. *Environmental Microbiology*, 2008, **10**(10): 2746–2759.
- [25] WANG Yi, YANG Tuo, WANG Di, *et al.* Salicylic acid influences the resistance of colored calla lily to soft rot (*Pectobacterium carotovorum*) via the TGA2-LNC88940-miR528-SOD module[J/OL]. *The Plant Journal*, 2025, **123**(3): e70392[2025-07-31]. DOI: [10.1111/tpj.70392](https://doi.org/10.1111/tpj.70392).
- [26] WANG Yupeng, TANG Haibao, DeBARRY J D, *et al.* MCSscanX: a toolkit for detection and evolutionary analysis of gene synteny and collinearity[J/OL]. *Nucleic Acids Research*, 2012, **40**(7): e49[2025-07-31]. DOI: [10.1093/nar/gkr1293](https://doi.org/10.1093/nar/gkr1293).
- [27] CHEN Chengjie, CHEN Hao, ZHANG Yi, *et al.* TBtools: an integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data [J]. *Molecular Plant*, 2020, **13**(8): 1194–1202.
- [28] 朱梦琳. 水稻 PGIP 基因家族部分成员抗真菌功能研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2017.
ZHU Menglin. *Functional Analysis of Several OsPGIP Genes on Protecting Plants Against Fungal Pathogens*[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2017.
- [29] 湛悦, 张军科, 熊帅. 桃 *PGIP* 基因及 cDNA 的克隆及序列分析[J]. *安徽农业科学*, 2009, **37**(32): 15738–15740, 15778.
CHEN Yue, ZHANG Junke, XIONG Shuai. Cloning and sequence analysis of *PGIP* gene and cDNA from *Prunus persica* [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2009, **37**(32): 15738–15740, 15778.
- [30] 李广平, 房经贵, 蔡斌华, 等. 梅 *PGIP* 基因的克隆及全序列分析[J]. *园艺学报*, 2006, **33**(1): 125–127.
LI Guangping, FANG Jingui, CAI Binhua, *et al.* Cloning and sequencing of *PGIP* gene from *Prunus mume* Sieb. [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2006, **33**(1): 125–127.
- [31] 徐梦恒, 袁文雪, 陈丹, 等. 滇龙胆 *PGIP* 基因家族全基因组鉴定及表达模式[J]. *云南农业大学学报(自然科学)*, 2025, **40**(3): 97–107.
XU Mengheng, YUAN Wenxue, CHEN Dan, *et al.* Genome-wide identification and expression pattern of *PGIP* gene family in *Gentiana rigescens* [J]. *Journal of Yunnan Agricultural University (Natural Science)*, 2025, **40**(3): 97–107.
- [32] SHABALINA S A, OGURTSOV A Y, SPIRIDONOV A N, *et al.* Distinct patterns of expression and evolution of intronless and intron-containing mammalian genes [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2010, **27**(8): 1745–1749.
- [33] LIU Hui, LYU Haimeng, ZHU Kaikai, *et al.* The emergence and evolution of intron-poor and intronless genes in intron-rich plant gene families [J]. *The Plant Journal*, 2021, **105**(4): 1072–1082.
- [34] 王秀云, 张计育, 古咸彬, 等. 桃 *PpPGIP1* 启动子的分离与功能分析[J]. *园艺学报*, 2012, **39**(7): 1263–1270.
WANG Xiuyun, ZHANG Jiyu, GU Xianbin, *et al.* Isolation and functional analysis of *PpPGIP1* promoter in peach [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2012, **39**(7): 1263–1270.
- [35] NORMAN-SETTERBLAD C, VIDAL S, PALVA E T. Interacting signal pathways control defense gene expression in *Arabidopsis* in response to cell wall-degrading enzymes from *Erwinia carotovora* [J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2000, **13**(4): 430–438.
- [36] 江翱, 吴辉, 袁梦思, 等. 烟草 *PGIP* 基因在枯草芽孢杆菌中的表达[J]. *湖北农业科学*, 2015, **54**(11): 2767–2772.
JIANG Ao, WU Hui, YUAN Mengsi, *et al.* Recombinant expression of tobacco *PGIP* gene in *Bacillus subtilis* [J]. *Hubei Agricultural Sciences*, 2015, **54**(11): 2767–2772.
- [37] 邓婕, 王翰林, 李有玉, 等. 岷江百合多聚半乳糖醛酸酶抑制蛋白基因及其启动子的克隆与分析[J]. *华北农学报*, 2022, **37**(4): 45–52.
DENG Jie, WANG Hanlin, LI Youyu, *et al.* Cloning and analysis of a polygalacturonase inhibiting protein gene and its promoter from *Lilium regale* Wilson [J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2022, **37**(4): 45–52.