

引用格式: 许园园, 郭玲霞, 范明慧, 等. 甜橙 *FW2.2* 家族基因鉴定及在果实细胞分裂期的表达分析[J]. 浙江农林大学学报, 2026, 43(2): 250–259. XU Yuanyuan, GUO Lingxia, FAN Minghui, et al. Identification of *FW2.2* family gene in *Citrus sinensis* and expression analysis during fruit cell division period[J]. Journal of Zhejiang A&F University, 2026, 43(2): 250–259.

## 甜橙 *FW2.2* 家族基因鉴定及在果实细胞分裂期的表达分析

许园园<sup>1,2</sup>, 郭玲霞<sup>1,2</sup>, 范明慧<sup>3</sup>, 殷姿<sup>4</sup>, 韩健<sup>1,2</sup>, 李菲菲<sup>1,2</sup>, 周铁<sup>1,2</sup>, 陈鹏<sup>1,2</sup>

(1. 湖南省农业科学院园艺研究所, 湖南长沙 410125; 2. 岳麓山实验室, 湖南长沙 410128; 3. 湖南农业大学园艺学院, 湖南长沙 410128; 4. 麻阳苗族自治县农业农村局, 湖南麻阳 419400)

**摘要:** 【目的】鉴定甜橙 *Citrus sinensis* *FW2.2* 基因家族成员, 分析 *FW2.2* 家族成员的结构特征及其在果实细胞分裂期的表达模式, 为探究 *FW2.2* 在甜橙果实发育中的基因功能提供理论依据。【方法】以甜橙全基因组数据为基础筛选确定甜橙 *FW2.2* 家族成员。运用生物信息学方法预测分析其基因结构、序列特征、染色体定位和顺式作用元件, 并与多个物种的 *FW2.2* 家族序列构建发育进化树。利用实时荧光定量聚合酶链式反应 (RT-qPCR) 技术分析甜橙 *FW2.2* 家族基因在甜橙果实细胞分裂时期的表达趋势。【结果】*FW2.2* 家族在甜橙基因组中有 16 个成员。它们分布在 6 条染色体上, 长度为 100~563 个氨基酸, 含有 2 个以上的保守基序, 主要定位在细胞膜。进化分析表明: 甜橙、番茄 *Solanum lycopersicum*、梨 *Pyrus bretschneideri*、桃 *Prunus persica*、玉米 *Zea mays* 及水稻 *Oryza sativa* 中 *FW2.2* 成员分为 6 个亚组。顺式元件分析显示: *FW2.2* 家族基因启动子上均含有与激素、生长发育、非生物胁迫相关的元件。基因表达分析表明: *FW2.2* 家族成员在果实细胞分裂期的表达趋势存在差异。*CsFWL5*、*CsFWL6*、*CsFWL12* 在果实细胞分裂期的表达量显著降低, 且与细胞层数增长呈极显著负相关 ( $P < 0.01$ )。【结论】*CsFWLs* 成员在进化过程中表现出一定的保守性, 且跟梨、桃、番茄等作物 *FWLs* 基因序列存在相似性。甜橙 *FW2.2* 基因家族成员间功能不同, 其中甜橙 *CsFWL5/6/12* 可能参与调控果实细胞分裂过程。图 6 表 3 参 33

**关键词:** 甜橙; *FW2.2*; 全基因组鉴定; 细胞分裂; 表达分析

中图分类号: S722.3 文献标志码: A 文章编号: 2095-0756(2026)02-0250-10

### Identification of *FW2.2* family gene in *Citrus sinensis* and expression analysis during fruit cell division period

XU Yuanyuan<sup>1,2</sup>, GUO Lingxia<sup>1,2</sup>, FAN Minghui<sup>3</sup>, YIN Zi<sup>4</sup>, HAN Jian<sup>1,2</sup>, LI Feifei<sup>1,2</sup>, ZHOU Tie<sup>1,2</sup>, CHEN Peng<sup>1,2</sup>

(1. Horticultural Research Institute, Hunan Academy of Agricultural Sciences, Changsha 410125, Hunan, China; 2. Yuelushan Laboratory, Changsha 410128, Hunan, China; 3. College of Horticultural, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, Hunan, China; 4. Bureau of Agriculture and Rural Affairs of Mayang Miao Autonomous County, Mayang 419400, Hunan, China)

**Abstract:** [**Objective**] This study aims to identify the members of the *FW2.2* family in *Citrus sinensis* and analyze their structural characteristics and expression patterns during the fruit cell division period, so as to provide a theoretical basis for exploring the function of the *FW2.2* gene family in *C. sinensis* fruit development. [**Method**] Based on the whole genome data of *C. sinensis*, *FW2.2* family members were screened and identified. Bioinformatics methods were employed to predict and analyze their gene structure, sequence characteristics, chromosome localization, and cis-acting elements. A phylogenetic tree was constructed with

收稿日期: 2025-08-11; 修回日期: 2025-12-13

基金项目: 湖南省自然科学基金资助项目 (2025JJ60125); 湖南省农业科技创新资金项目 (2024CX124); 国家自然科学基金资助项目 (32302487)

作者简介: 许园园 (ORCID: 0009-0000-6695-5713), 从事柑橘遗传改良研究。E-mail: [yuanyuan\\_xu@hunaas.cn](mailto:yuanyuan_xu@hunaas.cn)。通信作者: 陈鹏 (ORCID: 0000-0003-2288-5228), 研究员, 博士, 从事柑橘遗传改良研究。E-mail: [chenpeng@hunaas.cn](mailto:chenpeng@hunaas.cn)

*FW2.2* sequences from multiple species. The expression patterns of *FW2.2* family members during the fruit cell division period were analyzed by real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR) technology. [Result] A total of 16 *FW2.2* genes were identified in *C. sinensis*, distributed on 6 chromosomes, with a length of 100 to 563 amino acids, containing multiple conserved motifs, and mainly located in the cell membrane. Evolutionary analysis revealed that *FW2.2* family members from *C. sinensis*, *Solanum lycopersicum*, *Pyrus bretschneideri*, *Prunus persica*, *Zea mays* and *Oryza sativa* were divided into 6 subgroups. Cis-acting elements analysis showed that the promoters of *FW2.2* family genes contained elements related to the hormone, growth and development, and abiotic stress. Gene expression analysis showed that there were differences in the expression trends of *FW2.2* family genes during the fruit cell division period. The expression levels of *CsFWL5*, *CsFWL6* and *CsFWL12* decreased significantly during the fruit cell division period, and were negatively correlated with the increase in cell layers ( $P < 0.01$ ). [Conclusion] *CsFWLs* members exhibit a certain degree of conservation during evolution, and share sequence similarities with *FWLs* genes in crops such as *Pyrus bretschneideri*, *Prunus persica*, and *S. lycopersicum*. *CsFWLs* show different gene functions. *CsFWL5*, *CsFWL6* and *CsFWL12* may be involved in regulating fruit cell division. [Ch, 6 fig. 3 tab. 33 ref.]

**Key words:** *Citrus sinensis*; *FW2.2*; genome-wide identification; cell division; expression analysis

果实大小是评判果实品质的重要性状之一,也是决定果实分级的重要参数,对刺激消费者购买欲至关重要<sup>[1]</sup>。近年来,一些研究采用疏花疏果<sup>[2]</sup>、环剥<sup>[3-4]</sup>、施用外源激素<sup>[2,5]</sup>等农艺措施控制柑橘属 *Citrus* 果实大小。此外,一些基因作用于细胞分裂和细胞膨大,影响果实大小<sup>[6-10]</sup>。其中,番茄 *Solanum lycopersicum SIFW2.2* 是第 1 个被分离出来的与果实大小相关的数量性状基因,其表达水平与细胞分裂呈负相关,对番茄果实质量变异有 30% 的贡献率<sup>[11-12]</sup>。*SIFW2.2* 属于 PLAC8 超基因家族,含有 PLAC8 结构域,该结构域是由一段富含半胱氨酸的序列组成<sup>[13-14]</sup>。*FW2.2* 同源基因在玉米 *Zea mays*、水稻 *Oryza sativa*、梨 *Pyrus bretschneideri* 等植物中存在,并且都含有 PLAC8 结构域,在器官大小调控、镉金属积累等方面发挥功能<sup>[15]</sup>。目前,已对梨<sup>[14]</sup>、牛油果 *Persea americana*<sup>[16]</sup>、樱桃 *Prunus avium*<sup>[17]</sup> 和枇杷 *Eriobotrya japonica*<sup>[18]</sup> 等的 *FW2.2* 同源基因进行了研究,其功能均与细胞分裂相关,并影响果实大小。

柑橘 *C. reticulata* 是重要的果树之一。2023 年中国的柑橘种植面积超过 300 万  $\text{hm}^2$ ,产量超过 6 433 万 t。果实大小是柑橘果实分级和果园经济效益的主要决定因素。近年来,人们日益重视对柑橘果实大小相关基因的挖掘和功能研究,并获得了与柑橘果实大小指数相关的数量性状遗传位点 (QTLs),如与单果横径、质量相关的 QTLs<sup>[19-21]</sup>,但未鉴定到控制果实大小的功能基因。*FW2.2* 家族为研究柑橘果实大小的分子机制提供了良好的候选基因。然而,柑橘中尚未有 *FW2.2* 基因家族全基因组鉴定的报道。

甜橙 *C. sinensis* 是深受消费者喜爱的柑橘栽培种之一。本研究对甜橙 *FW2.2* 家族基因进行全基因组鉴定,分析其基因结构、染色体定位和顺式作用元件等理化性质,研究 *FW2.2* 家族成员在甜橙果实细胞分裂期的表达情况,为进一步探究 *FW2.2* 家族基因在甜橙果实发育中的功能提供参考,并为柑橘果实大小调控提供基因支持。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料

选取 3 株冠幅、株高、树龄较为一致,植株生长状况良好且无病虫害的甜橙‘锦红’ *C. sinensis* ‘Jinhong’。2023 年在树冠中上部采集开花前 7 和 3 d 的花苞(花后-7、-3 d),完全盛开的花苞(花后 0 d),开花后 7、30 和 40 d(花后 7、30 和 40 d)的幼果,剥离出花苞中的子房,同幼果一起用液氮速冻后放于  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  超低温冰箱保存,用于实时荧光定量聚合酶链式反应 (RT-qPCR) 分析。将子房和幼果用 FAA 固定液固定,用于石蜡切片制备。

## 1.2 果实细胞组织的形态结构观察

将花后-7、-3、0、7、30和40 d的子房和幼果放入FAA固定液中固定24 h,再经过脱水、透明、渗蜡、包埋等处理后切片。切片用甲苯胺蓝染色后用中性树脂封片,风干后,于显微镜(Nikon Eclipse E100)下观察并拍照。随机选取10个大小均匀视野,使用Image J软件统计细胞大小。细胞层数代表细胞数量,参考HAMADA等<sup>[22]</sup>的方法进行统计。

## 1.3 甜橙FW2.2家族基因鉴定、氨基酸序列特征分析和系统发育分析

从华中农业大学柑橘基因组数据库下载甜橙V3.0基因组数据。在美国国家生物信息技术中心(NCBI)网站获得番茄FW2.2蛋白序列,作为query序列检索甜橙FW2.2家族成员;在Pfam数据库获得FW2.2家族的隐马尔可夫模型(Pfam: PF04749),利用HMM在甜橙基因组数据库检索FW2.2成员。将2种方法获得的甜橙FW2.2家族基因整合后,利用NCBI-CDD剔除不含有PLAC8结构域的基因,即可得到甜橙FW2.2家族基因,将各成员依次命名为CsFWL1~CsFWL16。

利用Plant-mPLoc对甜橙FWLs蛋白亚细胞分布位置进行预测。利用TBtools预测氨基酸数、分子量(单位为kDa)、等电点和亲水系数等理化性质。

利用ClustalW对甜橙、番茄<sup>[17,23]</sup>、玉米<sup>[24]</sup>、水稻<sup>[25]</sup>、梨<sup>[26]</sup>和桃*Prunus persica*<sup>[17]</sup>中FW2.2基因序列进行多序列比对分析,通过MEGA 7.0,采用邻接法(neighbor-joining, NJ),设置参数Bootstrap method为1000,其他参数默认,生成进化树。利用iTOL软件修饰进化树。

## 1.4 染色体定位和基因结构分析

以甜橙基因组数据为基础,利用TBtools进行染色体定位分析。将氨基酸序列上传到在线网站GSDS和MEME进行基因结构和保守基序分析,并利用TBtools进行可视化分析。

## 1.5 启动子分析

采用TBtools的Fasta Extract工具提取甜橙FW2.2家族基因起始密码子上游2000 bp的启动子区域序列,将启动子序列提交到PlantCare进行顺式作用元件分析,并利用TBtools的Heatmap工具进行可视化。

## 1.6 总RNA提取和RT-qPCR

用多糖多酚总RNA提取试剂盒(中国天根)提取果实的总RNA。通过NovoScript®Plus All-in-one 1st Strand cDNA Synthesis SuperMix (gDNA Purge, 苏州近岸蛋白)合成cDNA。采用NovoStart® SYBR qPCR SuperMix Plus (苏州近岸蛋白)在RT-qPCR仪上检测CsFWLs的基因表达。CsActin为内参基因。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算基因的相关表达量。引物信息见表1。

表1 RT-qPCR引物序列

Table 1 Primer sequence of RT-qPCR

基因	正向引物序列(5'→3')	反向引物序列(5'→3')
CsFWL1	ACTGCTTCTCCGACTGCTCAAC	GCAGCCTGTACGCAAGCTATT
CsFWL2	ACTGCCTCCTCTCATGCGTG	TCTAGATGGGTCGAGTCCCC
CsFWL3	CCAACACAACCACAAGCA	GTCGTCACAGCAATCACA
CsFWL4	AAATCACTGCCTGCCTTACTCT	TCTTCCACGCAACTTCCACAAC
CsFWL5	AAGAGAAGGCGGGTGGTGAAGAG	AGGCGGATTGGAGAGCGATGGG
CsFWL6	CTTGCTTATACTCGTGC GGCTATC	TTTCTCAAATTTCCATGCCATCC
CsFWL7	ACTGCGTCCCTCACTTCT	GGTTCCTGTTCCCTCGTTC
CsFWL8	TTCCTATCCAAAAATGGGGTT	AATCACTTCACACTGGCTCACA
CsFWL9	CCGCTACCGAAAGCTACGAG	AAGTGCCAATCCACCTTCAATAC
CsFWL10	GCTGTTGTTGGTGTACTCTTGCT	CGTGGCAAAGGTGACAACCTGAT
CsFWL11	GGTGA CTGGCTGCGGGTGCTTAT	ACATGTCGAATCCACGGGCTTTG
CsFWL12	GCTTGGTTTCAATTGCTGTTGCT	GAGTCTCTTTCTTACATTCCC
CsFWL13	TTGCGGCGACACTATTCATT	CCAACCTATGGAGGGATTAACA
CsFWL14	AGCAAGTTCAACCTCCCCGAAG	AATAGAAGGATCCCAGCCTCTG
CsFWL15	ATGTGAAAAGATGAGAGAA	ACCAAGCAAAAAACAACCC
CsFWL16	AAACTTTTAACATTCAGGGCGG	GGCTTCATATATTGGTACGGCG

## 1.7 数据处理及分析

采用 Excel 2021 进行数据处理，通过 GraphPadPrism 8 进行单因素方差分析 (one-way ANOVA) 和制图。

## 2 结果与分析

### 2.1 甜橙 *FW2.2* 家族成员鉴定及其理化性质

甜橙 *FW2.2* 家族包含 16 个成员。甜橙 *FW2.2* 家族成员的氨基酸数量为 100~563 个，分子量为 11.69~63.60 kDa，等电点为 4.78~9.06，亲水系数为 -0.564~0.132；*CsFWL5* 的不稳定系数为 38.54，其余成员的不稳定指数均大于 40.00；*CsFWL7*、*CsFWL8*、*CsFWL12*、*CsFWL14* 和 *CsFWL16* 定位在细胞膜和细胞核，其他 *FW2.2* 家族成员定位在细胞膜 (表 2)。

表 2 甜橙 *FW2.2* 家族基因的基本信息

Table 2 Detailed information of identified *FW2.2* genes in *C. sinensis*

基因名称	基因ID	氨基酸数/个	分子量/kD	等电点	不稳定系数	亲水系数	亚细胞定位
<i>CsFWL1</i>	<i>Cs_ont_2g013230</i>	156	17.29	5.30	53.89	-0.066	细胞膜
<i>CsFWL2</i>	<i>Cs_ont_9g009130</i>	139	15.34	8.28	44.43	0.083	细胞膜
<i>CsFWL3</i>	<i>Cs_ont_7g019620</i>	136	14.60	5.11	60.76	0.132	细胞膜
<i>CsFWL4</i>	<i>Cs_ont_6g019810</i>	253	27.20	5.34	57.84	-0.328	细胞膜
<i>CsFWL5</i>	<i>Cs_ont_2g006240</i>	251	28.26	5.20	38.54	-0.112	细胞膜
<i>CsFWL6</i>	<i>Cs_ont_2g013260</i>	176	19.36	7.02	45.13	-0.151	细胞膜
<i>CsFWL7</i>	<i>Cs_ont_5g036960</i>	100	11.69	8.86	46.13	-0.503	细胞膜、细胞核
<i>CsFWL8</i>	<i>Cs_ont_1g028600</i>	419	48.20	7.09	51.40	-0.503	细胞膜、细胞核
<i>CsFWL9</i>	<i>Cs_ont_5g001070</i>	240	26.38	4.78	49.87	-0.163	细胞膜
<i>CsFWL10</i>	<i>Cs_ont_7g002410</i>	563	63.60	9.06	49.82	-0.190	细胞膜
<i>CsFWL11</i>	<i>Cs_ont_2g013300</i>	176	19.27	6.62	40.79	-0.069	细胞膜
<i>CsFWL12</i>	<i>Cs_ont_2g013320</i>	184	20.75	8.27	44.87	-0.179	细胞膜、细胞核
<i>CsFWL13</i>	<i>Cs_ont_7g019640</i>	149	16.65	6.39	58.53	-0.195	细胞膜
<i>CsFWL14</i>	<i>Cs_ont_5g036990</i>	315	34.55	5.42	57.59	-0.564	细胞膜、细胞核
<i>CsFWL15</i>	<i>Cs_ont_9g023590</i>	236	26.27	4.90	46.47	-0.353	细胞膜
<i>CsFWL16</i>	<i>Cs_ont_7g001970</i>	393	44.39	5.80	40.20	-0.268	细胞膜、细胞核

### 2.2 甜橙 *CsFW2.2* 家族的系统发育分析

为鉴定甜橙 *CsFW2.2* 与其他物种 *FW2.2* 家族的进化关系，对甜橙中 16 个 *FW2.2* 蛋白、12 个玉米 *ZmFW2.2*、20 个番茄 *SIFW2.2*、23 个桃 *PpFW2.2*、14 个梨 *PbFW2.2* 和 8 个水稻 *OsFW2.2* 进行蛋白序列比对，并构建发育进化树 (图 1)。由图 1 可知：所有 *FW2.2* 蛋白分为 6 组。I 组是最大的 1 个分支，包括 *CsFWL1*、*CsFWL2*、*CsFWL6*、*CsFWL7*、*CsFWL11*、*CsFWL12*、*CsFWL13* 和 *CsFWL14* 等 8 个甜橙 *FWLs* 蛋白，*OsFWL1*~*OsFWL7* 等 7 个水稻 *FWLs* 蛋白，*PpCNR1*~*PpCNR8*、*PpCNR10*、*PpCNR11* 等 15 个桃 *CNRs* 蛋白，*Solyc04g007900* 等 11 个番茄 *FWLs* 蛋白，*ZmCNR1*~*ZmCNR4* 和 *ZmCNR7*、*ZmCNR9*、*ZmCNR10* 等 7 个玉米 *CNRs* 蛋白及 *PbFWL1*、*PbFWL2* 等 4 个梨 *FWLs* 蛋白。II 组只包括 *OsFWL8* 和 *CsFWL3*。III 组包括 *CsFWL4*，*PbCNR3*、*PbCNR4*、*PbCNR10* 等 4 个梨 *FWLs* 蛋白，*PpCNR20* 和 *PpCNR21* 等 2 个桃 *CNRs* 蛋白，以及 *Solyc10g081410* 等 3 个番茄 *FWLs* 蛋白。IV 组是第二大分支，包括 4 个 *CsFWLs* 蛋白 (*CsFWL8*、*CsFWL9*、*CsFWL15*、*CsFWL16*)，4 个 *PpCNRs* 蛋白 (*PpCNR12*、*PpCNR13*、*PpCNR15* 和 *PpCNR22*)，5 个番茄 *FWLs* 蛋白，6 个 *PbFWLs* 蛋白和 2 个 *ZmCNRs* 蛋白；V 组包括 *CsFWL5* 和 *PpCNR17*。VI 组包含 *CsFWL10* 和 *PpCNR14*。系统进化树分析结果显示：大多数物种的 *FWLs* 蛋白，如番茄、桃、玉米和梨聚在一支，说明它们在进化过程中的保守性和同源性较高。另外，*CsFWL5*、*CsFWL10* 和 *CsFWL3* 分别与桃 *PpCNR17*、*PpCNR14*，玉米 *OsFWL8* 聚在一支，表明进化上这 3 个 *CsFWLs* 蛋白与桃或玉米的同源性较高，功能上可能更相似。这一发现为探索 *FW2.2* 基因家族的功能分化和进化提供了新的方向。

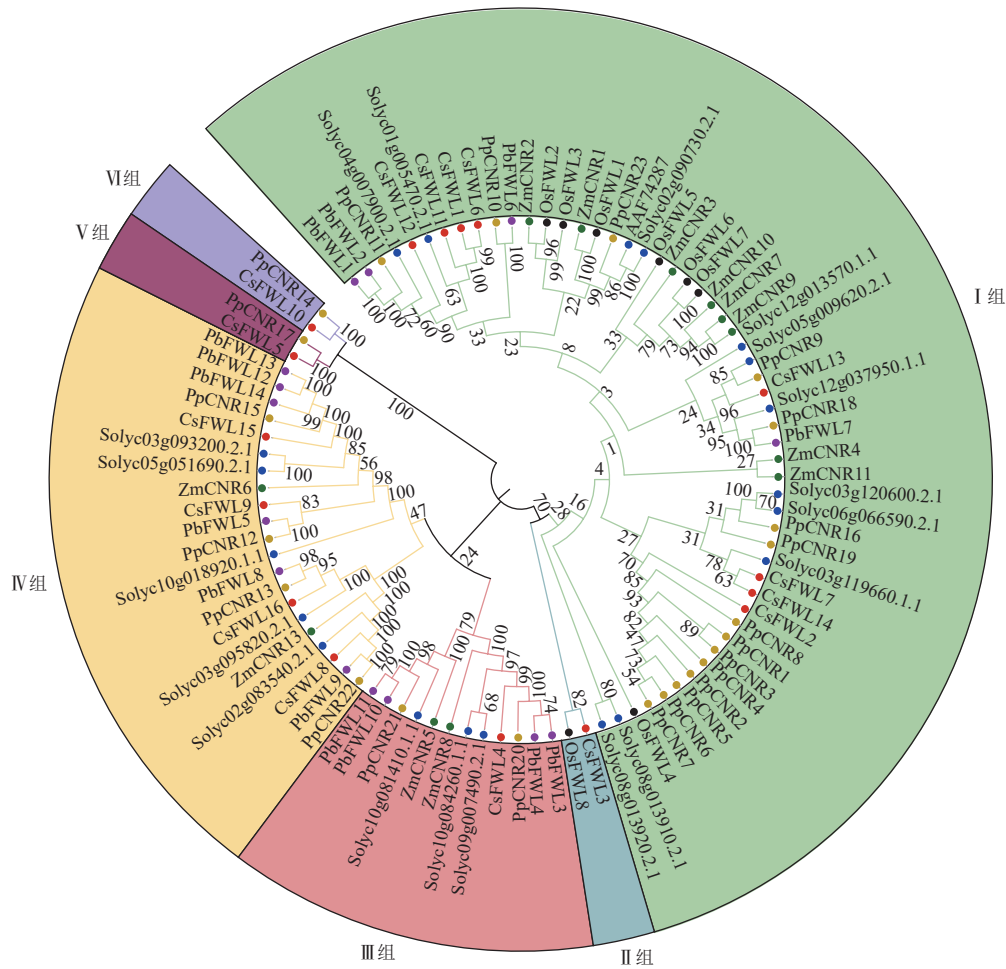


图 1 甜橙与其他物种 FW2.2 家族蛋白序列系统进化树

Figure 1 Phylogenetic tree comparison of FW2.2 protein sequences between *C. sinensis* and other species

### 2.3 甜橙 *CsFW2.2* 家族的染色体定位

染色体定位结果显示：甜橙 *FW2.2* 家族 16 个成员分布在 6 条染色体上。其中 *CsFWL8* 分布在 1 号染色体上，*CsFWL1*、*CsFWL5*、*CsFWL6*、*CsFWL11* 和 *CsFWL12* 分布在 2 号染色体上，*CsFWL7*、*CsFWL9* 和 *CsFWL14* 分布在 5 号染色体上，*CsFWL4* 分布在 6 号染色体上，*CsFWL3*、*CsFWL13*、*CsFWL10* 和 *CsFWL16* 分布在 7 号染色体上，*CsFWL2* 和 *CsFWL15* 分布在 9 号染色体上 (图 2)。

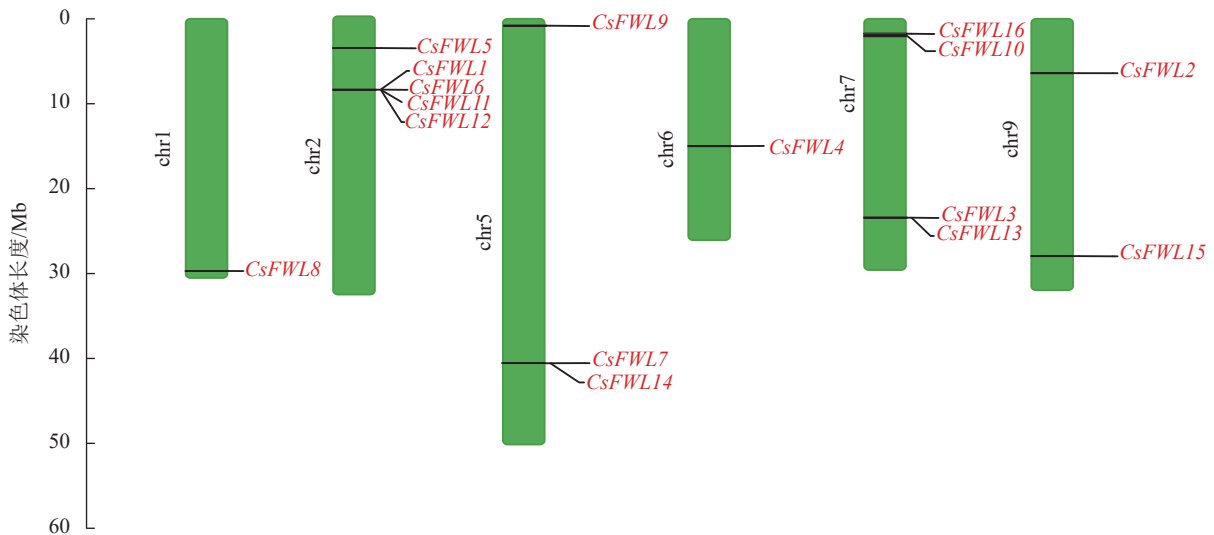


图 2 甜橙 *CsFW2.2* 家族基因染色体定位

Figure 2 Chromosome location of *CsFW2.2* family genes in *C. sinensis*

### 2.4 甜橙 *CsFW2.2* 家族的基因结构与保守基序分析

如图 3 所示：在甜橙 *CsFWLs* 蛋白中鉴定到 10 个氨基酸保守基序。其中，*CsFWL3* 和 *CsFWL7* 具有 2 个基序，其他成员均含有 4~6 个基序。多数 *CsFWLs* 都含有基序 1/2/3。*CsFWL8* 和 *CsFWL16* 具有相同的基序(基序 1/2/3/4/8/10)，*CsFWL9* 和 *CsFWL15* 具有相同的基序(基序 1/2/3/4/6/9)。保守结构域结果表明：所有 *CsFWLs* 蛋白均编码 PLAC8 结构域。除 PLAC8 结构域外，*CsFWL8* 和 *CsFWL16* 还具有 *Mlkl\_Nid* 结构域，*CsFWL14* 具有 *Pat* 结构域，*CsFWL10* 具有 *DUF2985* 结构域。外显子-内含子结构分析表明：*CsFW2.2* 家族基因外显子数量呈现多样性，其中，*CsFWL3*、*CsFWL4* 和 *CsFWL7* 有 3 个外显子，*CsFWL8* 和 *CsFWL16* 有 7 个外显子，*CsFWL5* 有 5 个外显子，*CsFWL10* 有 1 个外显子，其他基因都是 4 个外显子。这表明 *CsFWLs* 基因可能会因基因结构差异而导致功能不同。

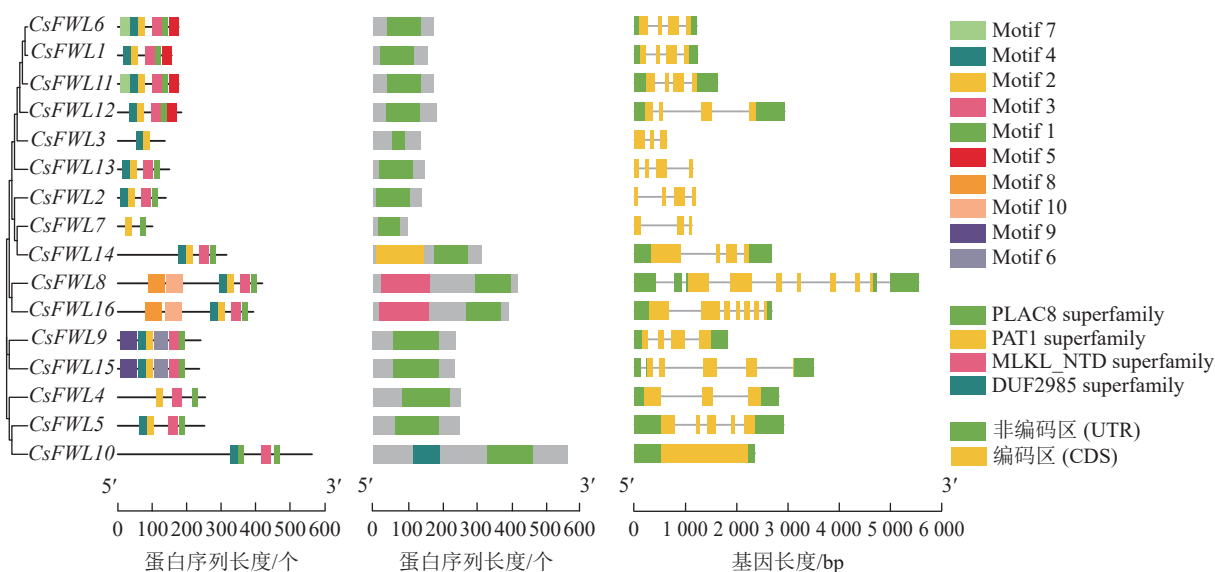
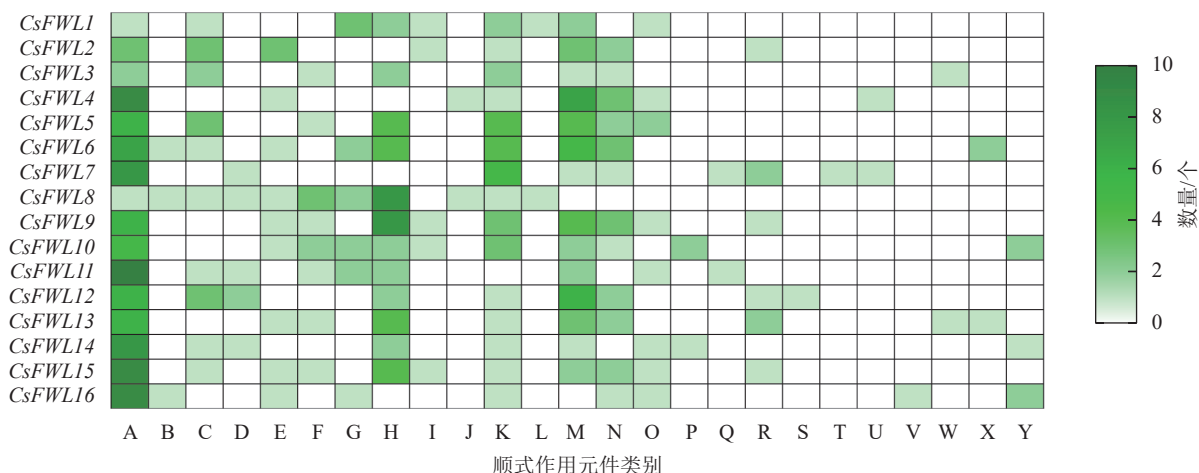


图 3 *CsFW2.2* 家族的基因结构分析  
Figure 3 Gene structure analysis of *CsFW2.2* family

### 2.5 顺式元件分析

为进一步了解 *CsFW2.2* 家族基因的调控机制，对 *CsFW2.2* 家族基因起始密码子上游 2 000 bp 区域进行顺式调控元件分析。剔除 CAAT-box、TATA-box 等元件后，共注释到 26 种顺式调控元件，主要与胁迫、激素、植物生长发育等相关(图 4)。所有 *CsFW2.2* 基因均含有光响应元件。*CsFWLs* 基因的启动子



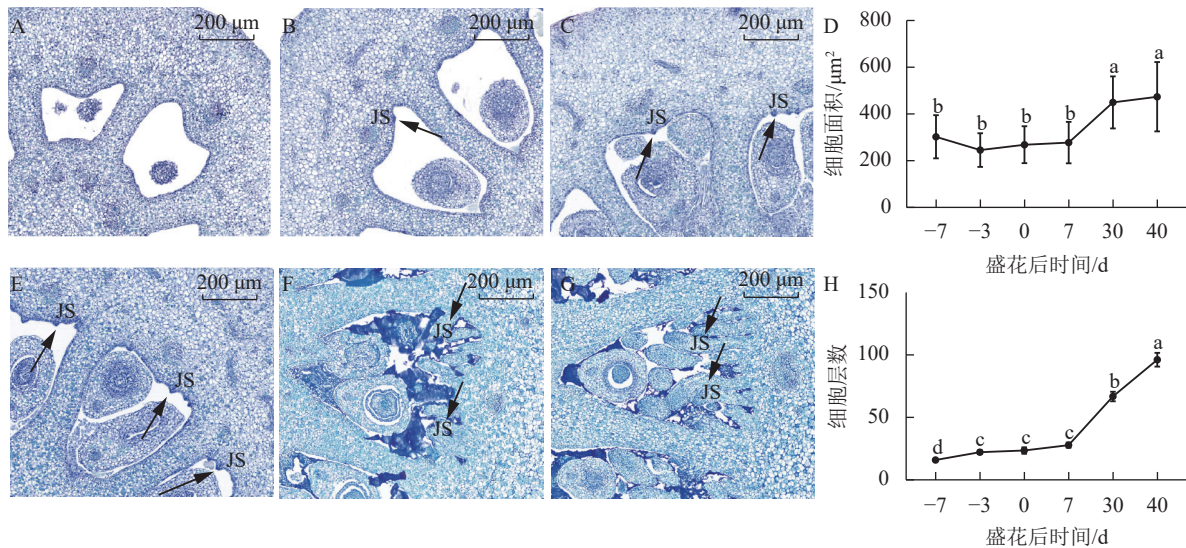
A. 光响应元件; B. 赤霉素响应元件; C. 干旱诱导; D. 玉米蛋白代谢调控; E. 低温响应元件; F. 生长素响应元件; G. 防御胁迫响应元件; H. 茉莉酸甲酯响应元件; I. 分生组织表达; J. 昼夜节律控制; K. 厌氧诱导; L. 光响应模块; M. 光响应性; N. 脱落酸响应元件; O. 水杨酸响应元件; P. 参与赤霉素反应的元件; Q. 伤口响应元件; R. 胚乳表达; S. 光反应元件; T. 种子特异性调控; U. 蛋白结合位点; V. 栅栏组织叶肉细胞的分化; W. 缺氧特异性诱导; X. 类黄酮生物合成基因的调控; Y. 光响应。

图 4 启动子顺式作用元件分析  
Figure 4 Cis-acting element analysis of promoter

中含有1个或多个与激素调控相关的顺式作用元件,如赤霉素(GA)、茉莉酸甲酯(MeJA)、脱落酸(ABA)、生长素(IAA)、水杨酸(SA)等响应元件。同时, *CsFWLs* 启动子上还含有种子特异性调控、分生组织表达、昼夜节律控制和胚乳表达等生长发育调控元件以及低温、干旱、创伤、厌氧诱导、防御等胁迫响应元件。

## 2.6 甜橙 *CsFW2.2* 家族在果实细胞分裂期的表达分析

对花后-7、-3、0、7、30和40 d果实进行石蜡切片分析,结果显示(图5):花后-3 d, 汁胞原基出现并逐渐伸长。花后0到7 d, 果实内细胞层数和细胞大小没有显著变化。花后30 d, 细胞层数和细胞大小都显著增加( $P<0.05$ )。前人研究发现:番茄 *FW2.2* 负调控细胞分裂<sup>[11]</sup>。为探究甜橙 *FW2.2* 家族基因与果实细胞分裂的关系, 对其在‘锦红’花后0、7、30和40 d果实进行基因表达及相关系数分析。由图6可知: *CsFWL2*、*CsFWL3*、*CsFWL7*和*CsFWL13*等4个基因在果实组织中未检测到, 其余*CsFWLs* 基因在果实中均有表达, 并且它们在果实细胞分裂期的表达趋势存在差异, *CsFWL1* 的表达趋势呈先下降后上升, *CsFWL15*和*CsFWL16*呈下降趋势, 其他基因均呈先上升后下降的趋势(图6)。 *CsFWL5*、*CsFWL6*、*CsFWL9*、*CsFWL12*和*CsFWL16*在花后30和40 d时表达量下降, 且经相关系数分析, *CsFWL5*、*CsFWL6*和*CsFWL12*表达趋势与细胞层数之间呈极显著负相关( $P<0.01$ , 表3)。说明*CsFWL5*、*CsFWL6*和*CsFWL12*极可能参与调控细胞分裂过程。



不同小写字母代表不同时间差异显著( $P<0.05$ )。材料均为果实; A. 花后-7 d; B. 花后-3 d; C. 花后0 d; D. 细胞面积统计; E. 花后7 d; F. 花后30 d; G. 花后40 d; H. 细胞层数统计。黑色箭头指向汁胞原基; JS. 汁胞。

图5 甜橙‘锦红’果实石蜡切片分析

Figure 5 Paraffin section analysis of ‘Jinhong’ fruit

## 3 讨论

番茄 *FW2.2* 作为细胞分裂过程中的负调控因子影响果实大小<sup>[11, 27-28]</sup>。 *FW2.2* 在单子叶和双子叶植物中的功能比较保守, 都参与器官大小调控<sup>[7]</sup>。目前, *FW2.2* 基因家族在桃<sup>[17]</sup>、番茄<sup>[23]</sup>、玉米<sup>[24]</sup>、水稻<sup>[25]</sup>和梨<sup>[26]</sup>等多个物种里得到系统鉴定。然而, 柑橘作为世界第一大水果, 其 *FW2.2* 基因家族尚未见系统的研究报道。本研究通过生物信息学方法从甜橙基因组中鉴定到16个 *CsFWLs* 基因。 *CsFWLs* 蛋白的理化性质与其他植物中的 *FWL* 蛋白具有一定的相似性<sup>[26, 29]</sup>。多数 *CsFWLs* 蛋白的不稳定性指数大于40.00, 属于不稳定蛋白。此外, 亲水系数小于0, 属于亲水蛋白。

基因结构会影响基因功能, 基因结构差异也能反映出基因家族的进化关系。 *CsFWLs* 基因的外显子数量差异较大, 如 *CsFWL8* 和 *CsFWL16* 含有7个外显子, 而 *CsFWL10* 有1个外显子, 发育进化树上 *CsFWL10* 与 *CsFWL8*、*CsFWL16* 分布在不同的分支上, 暗示着它们可能在进化过程中分化出不同的基因功能。

PLAC8 结构域与跨膜功能相关, 在细胞膜位置表达。本研究中 *CsFWLs* 蛋白都含有 PLAC8 结构

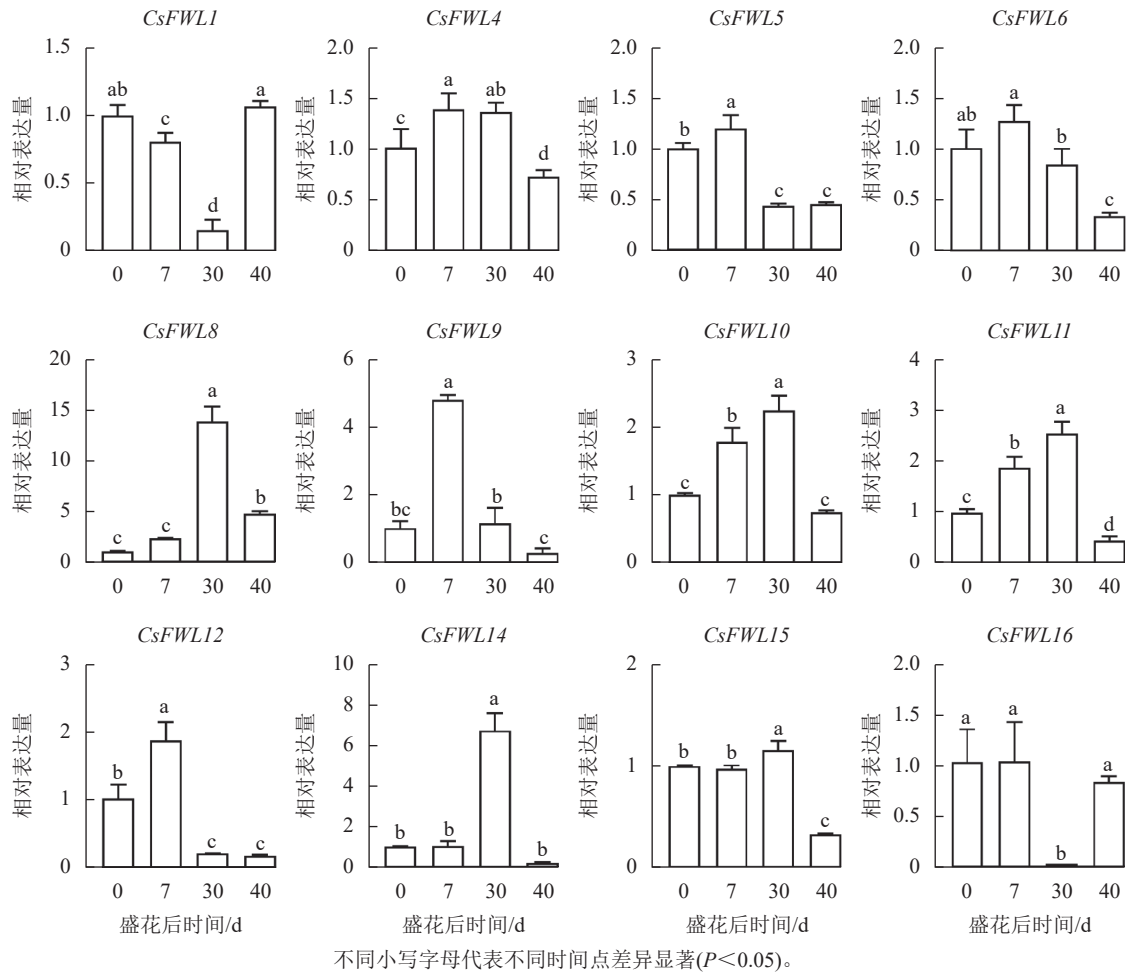


图 6 甜橙 *FW2.2* 家族基因在果实不同时期中的表达分析

Figure 6 Expression analysis of *FW2.2* family genes in fruit under different stages

表 3 甜橙 *FW2.2* 家族基因相对表达量与细胞层数的相关性分析

Table 3 Correlation analysis between *CsFW2.2* family genes expression and cell layer

基因	相关系数	基因	相关系数	基因	相关系数
<i>CsFWL1</i>	-0.108	<i>CsFWL8</i>	0.515	<i>CsFWL12</i>	-0.835**
<i>CsFWL4</i>	-0.485	<i>CsFWL9</i>	-0.629*	<i>CsFWL14</i>	0.166
<i>CsFWL5</i>	-0.902**	<i>CsFWL10</i>	-0.183	<i>CsFWL15</i>	-0.642*
<i>CsFWL6</i>	-0.868**	<i>CsFWL11</i>	-0.242	<i>CsFWL16</i>	-0.427

说明：\* $P < 0.05$ ；\*\* $P < 0.01$ 。

域，这与番茄<sup>[23]</sup>、枣 *Ziziphus jujuba*<sup>[30]</sup> 等物种的研究结果一致。亚细胞预测结果表明：所有 *CsFWLs* 蛋白定位在细胞膜，同时也存在核膜共定位的情况。这种双定位情况的出现是正常的<sup>[31]</sup>，同时，也可能是由预测不准确引起的。已有研究报道：*FW2.2* 通过调节果实发育过程中胞间连丝的运输能力和信号分子运输，在细胞间信号传递中发挥负调控作用<sup>[32]</sup>。这暗示 *CsFWLs* 基因可能是通过膜间信号传递行使基因功能。

*CsFWLs* 基因启动子上具有赤霉素、脱落酸、生长素等激素响应元件，暗示甜橙 *FW2.2* 基因可能参与多种激素响应的生物学过程。柑橘果实发育遵循单 S 型生长曲线，可分为细胞分裂期、细胞膨大期和成熟期。石蜡切片结果显示：花后 7 d 果实细胞分裂活动开始活跃。*CsFWLs* 在果实细胞分裂阶段表现出不同的表达趋势，其中，*CsFWL5*、*CsFWL6*、*CsFWL9*、*CsFWL12*、*CsFWL16* 表达量下降。基因相对表达量与细胞层数的相关分析表明：*CsFWL5*、*CsFWL6* 和 *CsFWL12* 表达水平与细胞层数呈极显著负相关，表明这 3 个基因可能在细胞分裂过程起负调控作用。该发现与番茄<sup>[14, 33]</sup> 和牛油果<sup>[16]</sup> 中 *FW2.2* 功能

一致, 暗示 *CsFWL5*、*CsFWL6* 和 *CsFWL12* 可能是通过参与细胞分裂过程来影响果实大小, 但其具体功能还需进一步验证。本研究结果为研究甜橙 *FW2.2* 家族基因在果实大小发育中的功能提供了理论基础。

## 4 结论

本研究从甜橙全基因组数据中鉴定出 16 个 *FW2.2* 基因家族成员, 并通过系统进化分析将其划分成 6 个分支。甜橙 *FW2.2* 家族成员之间在进化过程中具有一定的保守性, 与梨、桃、番茄等作物 *FWLs* 基因存在序列相似性。甜橙 *FW2.2* 家族成员可能在胁迫、激素响应等方面发挥作用。相关系数的分析结果表明: *CsFWL5*、*CsFWL6* 和 *CsFWL12* 基因可能在细胞分裂期起负调控作用。

## 5 参考文献

- [1] 吴锦秋, 白海坤, 王楚, 等. 不同砧穗组合对杏果实大小及品质的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2025, **53**(9): 93–103. WU Jinqiu, BAI Haikun, WANG Chu, *et al.* Effects of different rootstock-scion combinations on fruit size and quality of apricot[J]. *Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition)*, 2025, **53**(9): 93–103. DOI:10.13207/j.cnki.jnwafu.2025.09.010.
- [2] GUARDIOLA J L, GARCÍA-LUIS A. Increasing fruit size in *Citrus*. Thinning and stimulation of fruit growth[J]. *Plant Growth Regulation*, 2000, **31**(1): 121–132. DOI: 10.1023/A:1006339721880.
- [3] YILMAZ B, CIMEN B, INCESU M, *et al.* Influence of girdling on the seasonal leaf nutrition status and fruit size of Robinson mandarin (*Citrus reticulata* Blanco)[J]. *Applied Ecology and Environmental Research*, 2018, **16**(5): 6205–6218. DOI: 10.15666/aecer/1605\_62056218.
- [4] LIU Cong, LI Dexiong, HUANG Xianbiao, *et al.* Manual thinning increases fruit size and sugar content of *Citrus reticulata* Blanco and affects hormone synthesis and sugar transporter activity[J]. *Journal of Integrative Agriculture*, 2022, **21**(3): 725–735. DOI: 10.1016/S2095-3119(20)63502-X.
- [5] FERRER C, MARTIZ J, SAA S, *et al.* Increase in final fruit size of tangor (*Citrus reticulata* × *C. sinensis*) cv W. Murcott by application of benzyladenine to flowers[J]. *Scientia Horticulturae*, 2017, **223**: 38–43. DOI: 10.1016/j.scienta.2017.05.030.
- [6] de JONG M, WOLTERS-ARTS M, SCHIMMEL B C J, *et al.* *Solanum lycopersicum* auxin response factor 9 regulates cell division activity during early tomato fruit development[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2015, **66**(11): 3405–3416. DOI: 10.1093/jxb/erv152.
- [7] BEAUCHET A, GÉVAUDANT F, GONZALEZ N, *et al.* In search of the still unknown function of FW2.2/CELL NUMBER REGULATOR, a major regulator of fruit size in tomato[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2021, **72**(15): 5300–5311. DOI: 10.1093/jxb/erab207.
- [8] ZHAO Xuan, MUHAMMAD N, ZHAO Zixuan, *et al.* Molecular regulation of fruit size in horticultural plants: a review[J]. *Scientia Horticulturae*, 2021, **288**: 110353. DOI: 10.1016/j.scienta.2021.110353.
- [9] DONG Yuanxin, QI Xiliang, LIU Congli, *et al.* A sweet cherry AGAMOUS-LIKE transcription factor *PavAGL15* affects fruit size by directly repressing the *PavCYP78A9* expression[J]. *Scientia Horticulturae*, 2022, **297**: 110947. DOI: 10.1016/j.scienta.2022.110947.
- [10] KARIM S K A, ALLAN A C, SCHAFFER R J, *et al.* Cell division controls final fruit size in three apple (*Malus* × *domestica*) cultivars[J]. *Horticulturae*, 2022, **8**(7): 657. DOI: 10.3390/horticulturae8070657.
- [11] FRARY A, NESBITT T C, GRANDILLO S, *et al.* *fw2.2*: a quantitative trait locus key to the evolution of tomato fruit size[J]. *Science*, 2000, **289**(5476): 85–88. DOI: 10.1126/science.289.5476.85.
- [12] van DER KNAAP E, TANKSLEY S D. The making of a bell pepper-shaped tomato fruit: identification of loci controlling fruit morphology in Yellow Stuffer tomato[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2003, **107**(1): 139–147. DOI: 10.1007/s00122-003-1224-1.
- [13] LIBAULT M, STACEY G. Evolution of *FW2.2-like* (*FWL*) and *PLAC8* genes in eukaryotes[J]. *Plant Signaling & Behavior*, 2010, **5**(10): 1226–1228. DOI: 10.4161/psb.5.10.12808.
- [14] TIAN Jia, ZENG Bin, LUO Shuping, *et al.* Cloning, localization and expression analysis of two *fw2.2-like* genes in small- and large-fruited pear species[J]. *Journal of Integrative Agriculture*, 2016, **15**(2): 282–294. DOI: 10.1016/S2095-3119(15)61075-9.
- [15] 蒲小秋. 梨 *fw2.2-like* 基因家族的鉴定、表达及相关基因的功能验证[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2023. PU Xiaoqi. Identification and Expression of Pear *fw2.2-Like* Gene Family and Functional Verification of Related Genes[D]. Urumqi:

- Xinjiang Agricultural University, 2023. DOI: [10.27431/d.cnki.gxnyu.2022.000956](https://doi.org/10.27431/d.cnki.gxnyu.2022.000956).
- [16] DAHAN Y, ROSENFELD R, ZADIRANOV V, *et al.* A proposed conserved role for an avocado *fw2.2-like* gene as a negative regulator of fruit cell division[J]. *Planta*, 2010, **232**(3): 663–676. DOI: [10.1007/s00425-010-1200-3](https://doi.org/10.1007/s00425-010-1200-3).
- [17] de FRANCESCHI P, STEGMEIR T, CABRERA A, *et al.* Cell number regulator genes in *Prunus* provide candidate genes for the control of fruit size in sweet and sour cherry[J]. *Molecular Breeding*, 2013, **32**(2): 311–326. DOI: [10.1007/s11032-013-9872-6](https://doi.org/10.1007/s11032-013-9872-6).
- [18] SU Wenbing, ZHANG Ling, JIANG Yuanyuan, *et al.* E3FWLs are repressors of cell division during early fruit morphogenesis of loquat[J]. *Scientia Horticulturae*, 2021, **287**: 110261. DOI: [10.1016/j.scienta.2021.110261](https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110261).
- [19] YU Yuan, CHEN Chunxian, GMITTER F G. QTL mapping of mandarin (*Citrus reticulata*) fruit characters using high-throughput SNP markers[J]. *Tree Genetics & Genomes*, 2016, **12**(4): 77. DOI: [10.1007/s11295-016-1034-7](https://doi.org/10.1007/s11295-016-1034-7).
- [20] IMAI A, YOSHIOKA T, HAYASHI T. Quantitative trait locus (QTL) analysis of fruit-quality traits for mandarin breeding in Japan[J]. *Tree Genetics & Genomes*, 2017, **13**(4): 79. DOI: [10.1007/s11295-017-1162-8](https://doi.org/10.1007/s11295-017-1162-8).
- [21] 罗艾, 龚桂芝, 彭祝春, 等. 柑橘果实大小与质量的遗传分析和数量性状位点定位[J]. *浙江大学学报(农业与生命科学版)*, 2021, **47**(6): 719–728. LUO Ai, GONG Guizhi, PENG Zhuchun, *et al.* Genetic analysis and quantitative trait loci mapping of *Citrus* fruit size and quality[J]. *Journal of Zhejiang University (Agriculture and Life Sciences)*, 2021, **47**(6): 719–728. DOI: [10.3785/j.issn.1008-9209.2021.04.121](https://doi.org/10.3785/j.issn.1008-9209.2021.04.121).
- [22] HAMADA K, HASEGAWA K, KITAJIMA A, *et al.* The relationship between fruit size and cell division and enlargement in cultivated and wild persimmons[J]. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 2008, **83**(2): 218–222. DOI: [10.1080/14620316.2008.11512372](https://doi.org/10.1080/14620316.2008.11512372).
- [23] NESBITT T C, TANKSLEY S D. Comparative sequencing in the genus *Lycopersicon*. Implications for the evolution of fruit size in the domestication of cultivated tomatoes[J]. *Genetics*, 2002, **162**(1): 365–379. DOI: [10.1093/genetics/162.1.365](https://doi.org/10.1093/genetics/162.1.365).
- [24] GUO Mei, RUPE M A, DIETER J A, *et al.* Cell Number Regulator1 affects plant and organ size in maize: implications for crop yield enhancement and heterosis[J]. *The Plant Cell*, 2010, **22**(4): 1057–1073. DOI: [10.1105/tpc.109.073676](https://doi.org/10.1105/tpc.109.073676).
- [25] XU Jun, XIONG Wentao, CAO Baobao, *et al.* Molecular characterization and functional analysis of “fruit-weight2.2-like” gene family in rice[J]. *Planta*, 2013, **238**(4): 643–655. DOI: [10.1007/s00425-013-1916-y](https://doi.org/10.1007/s00425-013-1916-y).
- [26] PU Xiaoqi, TIAN Jia, LI Jiang, *et al.* Genome-wide identification and expression analysis of the *fw2.2-like* gene family in pear[J]. *Horticulturae*, 2023, **9**(4): 429. DOI: [10.3390/horticulturae9040429](https://doi.org/10.3390/horticulturae9040429).
- [27] NESBITT T C, TANKSLEY S D. *fw2.2* directly affects the size of developing tomato fruit, with secondary effects on fruit number and photosynthate distribution[J]. *Plant Physiology*, 2001, **127**(2): 575–583. DOI: [10.1104/pp.010087](https://doi.org/10.1104/pp.010087).
- [28] LIU Jiping, CONG Bin, TANKSLEY S D. Generation and analysis of an artificial gene dosage series in tomato to study the mechanisms by which the cloned quantitative trait locus *fw2.2* controls fruit size[J]. *Plant Physiology*, 2003, **132**(1): 292–299. DOI: [10.1104/pp.102.018143](https://doi.org/10.1104/pp.102.018143).
- [29] ZHANG M W, ZHANG T K, YUAN Z H. Pomegranate *PLAC8* family[J]. *Acta Horticulturae*, 2019, **1254**: 35–40. DOI: [10.17660/actahortic.2019.1254.6](https://doi.org/10.17660/actahortic.2019.1254.6).
- [30] LI Meiyu, MAO Liyun, SONG Shuang, *et al.* Functional insights into the *FW2.2-like* gene family in Chinese jujube: identification, characterization, and impact of *ZjFWL10* variants on fruit size and plant height[J]. *Journal of Integrative Agriculture*, 2025, **24**(10): 3880–3894. DOI: [10.1016/j.jia.2025.02.017](https://doi.org/10.1016/j.jia.2025.02.017).
- [31] ARNOYS E J, WANG J L. Dual localization: proteins in extracellular and intracellular compartments[J]. *Acta Histochemica*, 2007, **109**(2): 89–110. DOI: [10.1016/j.acthis.2006.10.002](https://doi.org/10.1016/j.acthis.2006.10.002).
- [32] BEAUCHET A, BOLLIER N, GRISON M, *et al.* The cell number regulator *FW2.2* protein regulates cell-to-cell communication in tomato by modulating callose deposition at plasmodesmata[J]. *Plant Physiology*, 2024, **196**(2): 883–901. DOI: [10.1093/plphys/kiae198](https://doi.org/10.1093/plphys/kiae198).
- [33] CONG Bin, LIU Jiping, TANKSLEY S D. Natural alleles at a tomato fruit size quantitative trait locus differ by heterochronic regulatory mutations[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2002, **99**(21): 13606–13611. DOI: [10.1073/pnas.172520999](https://doi.org/10.1073/pnas.172520999).