

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(X): 1–10. 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(X): 1–10.

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^{1,2}, 郭玲霞^{1,2}, 范明慧³, 殷 姿⁴, 韩 健^{1,2}, 李菲菲^{1,2}, 周 铁^{1,2}, 陈 鹏^{1,2}

(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)00-0001-10

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

XU Yuanyuan^{1,2}, GUO Lingxia^{1,2}, FAN Minghui³, YIN Zi⁴, HAN Jian^{1,2}, LI Feifei^{1,2}, ZHOU Tie^{1,2}, CHEN Peng^{1,2}

(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。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

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^[1]。近年来，一些研究采用疏花疏果^[2]、环剥^[3-4]、施用外源激素^[2, 5]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^[6-10]。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约有 30% 的贡献率^[11-12]。*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^[13-14]。*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^[15]。目前，已对梨^[14]、牛油果 *Persea americana*^[16]、樱桃 *Prunus avium*^[17] 和枇杷 *Eriobotrya japonica*^[18] 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 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 (quantitative trait loci, QTLs)，如与单果横径、质量相关的 QTLs^[19-21]，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 试验材料

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 个大小均匀的视野，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^[22]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^[17, 23]、玉米^[24]、水稻^[25]、梨^[26]和桃 *Prunus persica*^[17] 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 1 000，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 2 000 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	反向引物序列
<i>CsFWL1</i>	ACTGCTTCTCCGACTGCTCAAC	GCAGCCTGTCAGCCAAGCTATT
<i>CsFWL2</i>	ACTGCCTCTCTCATGCGTG	TCTAGATGGGTCGAGTCCCC
<i>CsFWL3</i>	CCAACACAACCACAAGCA	GTCGTCACAGCAATCACA
<i>CsFWL4</i>	AAATCACTGCCTGCCTTACTCT	TCTTCCACGCAACTTCCACAAC
<i>CsFWL5</i>	AAGAGAAGGCGGGTGGTGAAGAG	AGGCGGATTGGAGAGCGATGGG
<i>CsFWL6</i>	CTTGCTTATACTCGTGC GGCTATC	TTTCTCCAAATTTCCATGCCATCC
<i>CsFWL7</i>	ACTGCGTCCCTCACTTCT	GGTTCCTGTTCCTCGTTC
<i>CsFWL8</i>	TTCCTATCCAAAAATGGGGTT	AATCACTTCACACTGGCTCACA
<i>CsFWL9</i>	CCGCTACCGAAAGCTACGAG	AAGTGCCAATCCACCTTCAATAC
<i>CsFWL10</i>	GCTGTTGTTGGTGTACTCTTGCT	CGTGGCAAAGGTGACAACTGAT
<i>CsFWL11</i>	GGTGACTGGCTGCGGGTGCTTAT	ACATGTCTGAATCCACGGGCTTTG
<i>CsFWL12</i>	GCTTGGTTCATTGCTGTTGCT	GAGTCTCTTCTCTACATTCCC
<i>CsFWL13</i>	TTGCGGCGACACTATTTCATT	CCAACCTATGGAGGGATTAACA
<i>CsFWL14</i>	AGCAAGTTCAACCTCCCCGAAG	AATAGAAGGATCCCAGCCTCTG
<i>CsFWL15</i>	ATGTGGAAGATGAGAGAA	ACCAAGCAAAAAACAAACCC
<i>CsFWL16</i>	AAACTTTTAACATTACGGGCGG	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

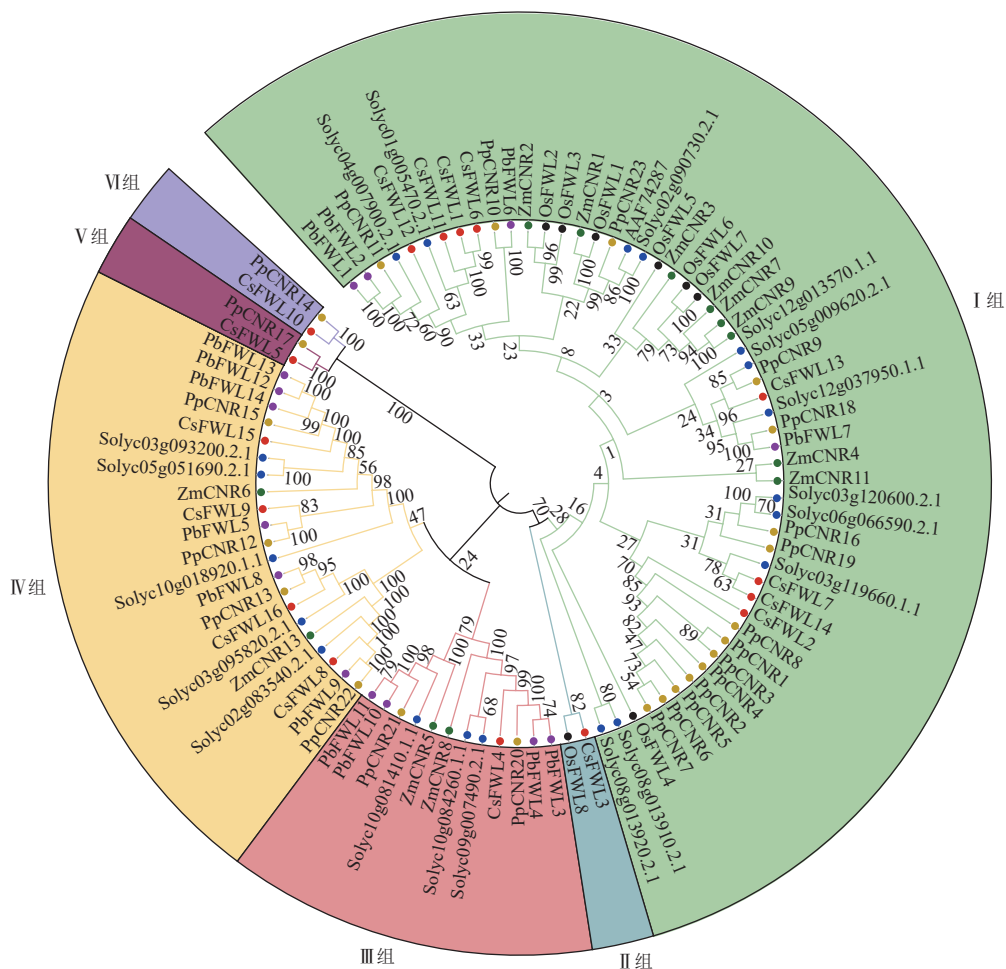
甜橙 FW2.2 家族包含 16 个成员。甜橙 FW2.2 家族成员的氨基酸数量为 100~563 个，分子量为 11.69~63.60 kDa，等电点为 4.78~9.06，亲水系数为-0.564~0.132；CsFWL5 的不稳定系数为 38.54，其余成员的不稳定指数均大于 40.00；CsFWL7、CsFWL8、CsFWL12、CsFWL14 和 CsFWL16 定位在细胞膜和细胞核，其他 FW2.2 家族成员定位在细胞膜 (表 2)。

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

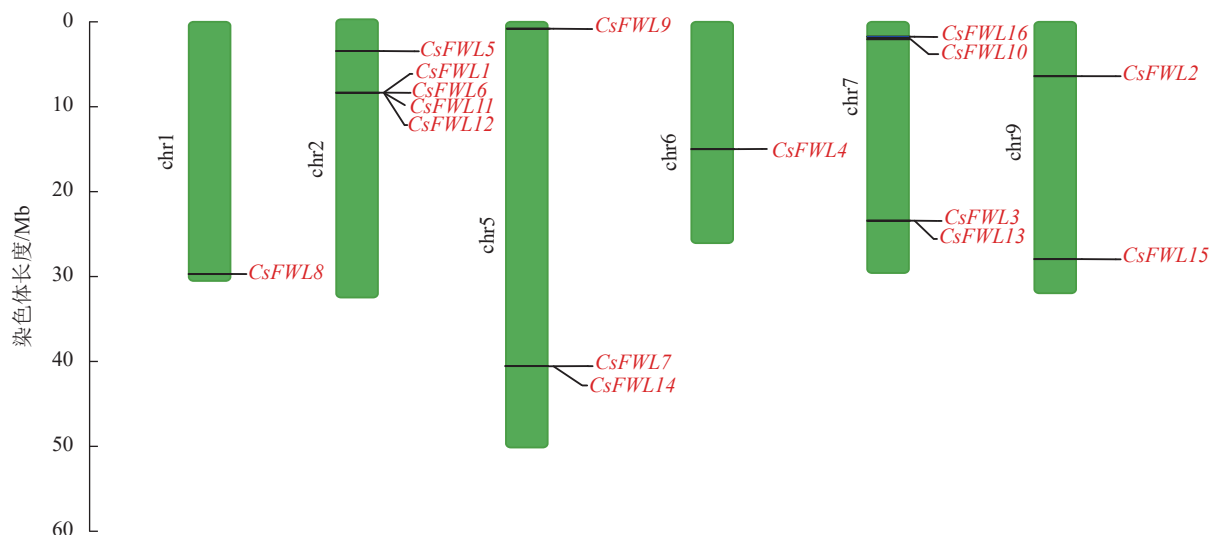
2.2 甜橙 CsFW2.2 家族的系统发育分析

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 *CsFW2.2* 基因都含有基序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 Mkl_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。

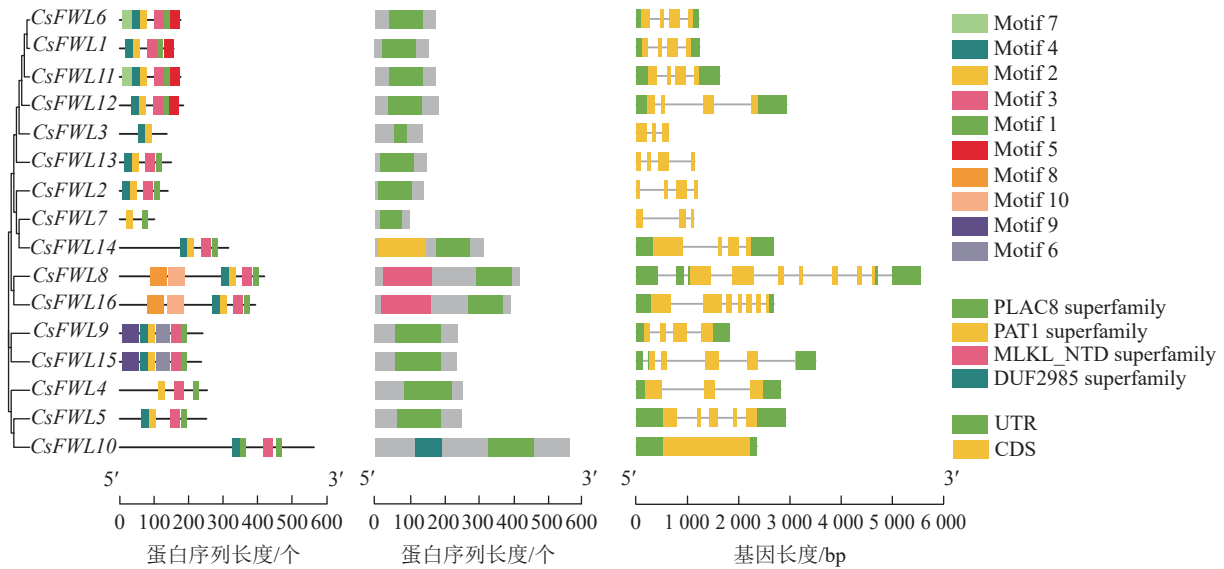
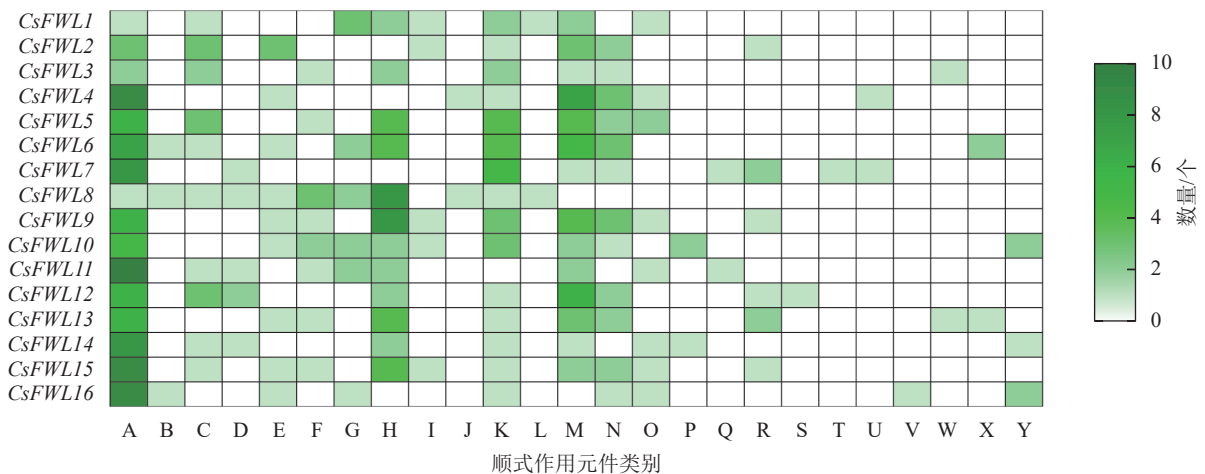


图3 *CsFW2.2* 家族的基因结构分析

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2000 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。

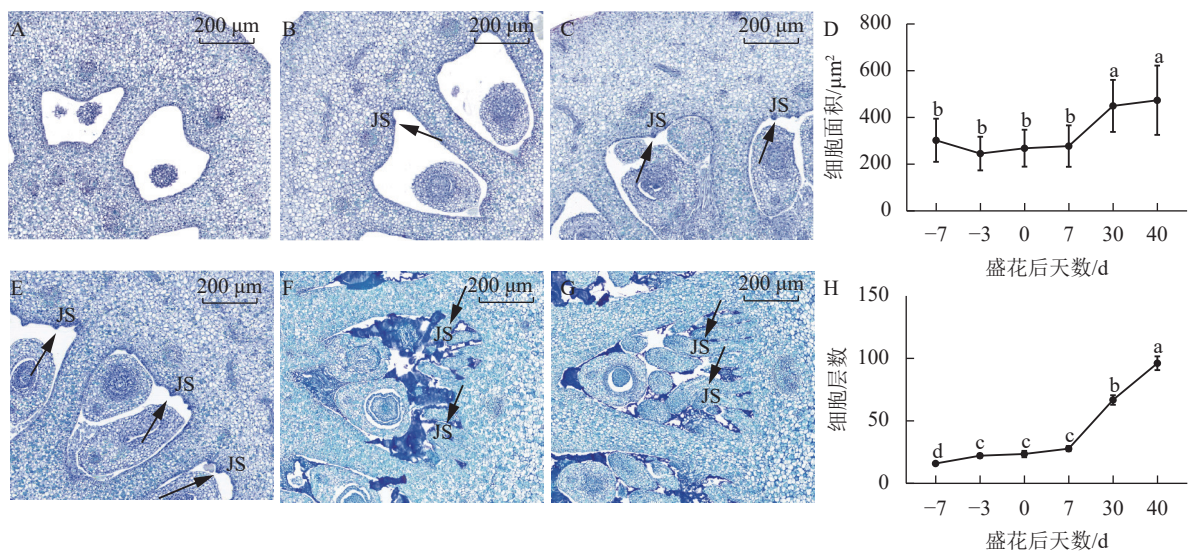
图4 启动子顺式作用元件分析

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^[11]。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^[11, 27-28]。*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^[7]。目前, *FW2.2* 基因家族在桃^[17]、番茄^[23]、玉米^[24]、水稻^[25]和梨^[26]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^[26, 29]。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。

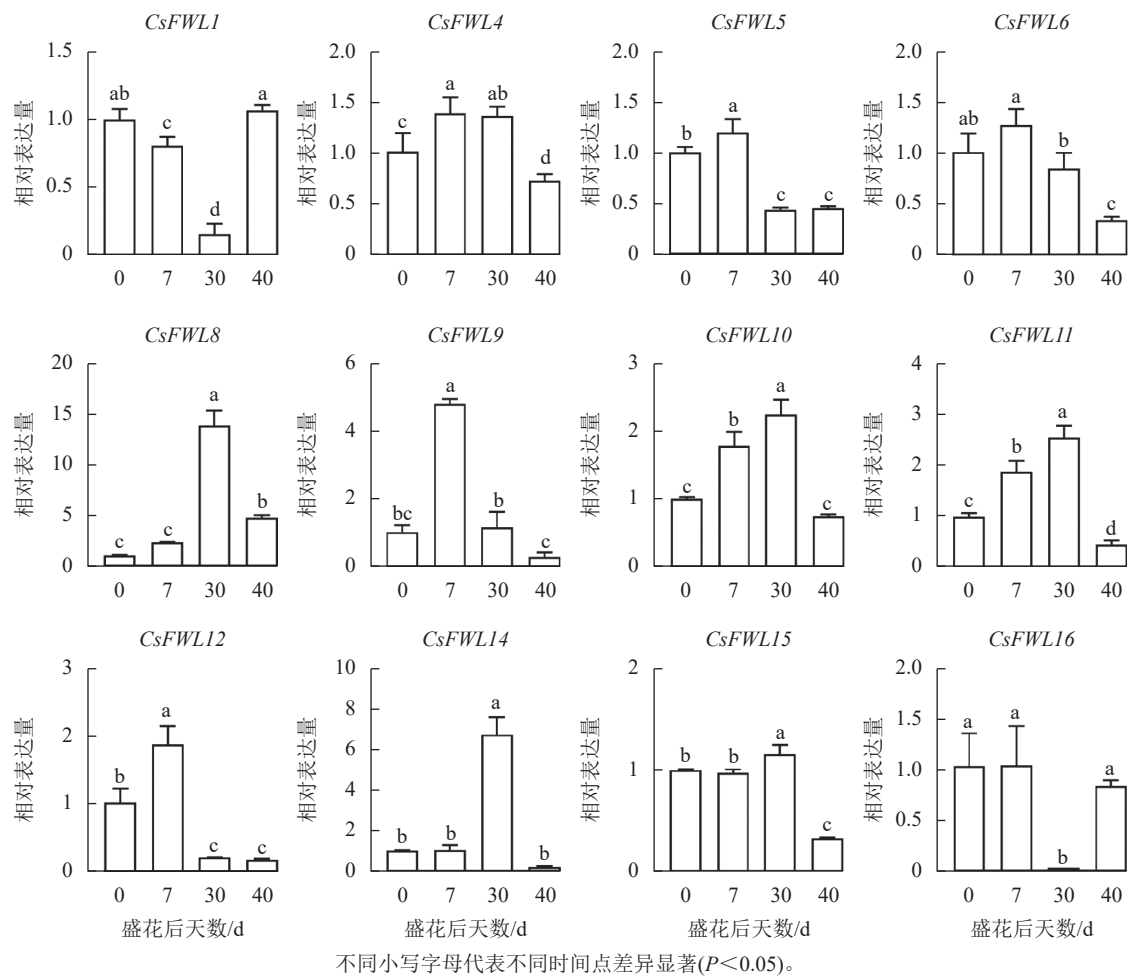


图 6 甜橙 *FW2.2* 家族基因在果实不同时期中的表达分析
Figure 6 Expression analysis of *FW2.2* family genes in fruit under different stages

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 <i>CsFW2.2</i> 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：*. $P<0.05$ ；**. $P<0.01$ 。

PLAC8 结构域与跨膜功能相关，在细胞膜位置表达。本研究 *CsFWLs* 蛋白都含有 PLAC8 结构域，这与番茄^[23]、枣 *Ziziphus jujuba*^[30] 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^[31]，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^[32]。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^[14, 33]和牛油果^[16]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](https://doi.org/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](https://doi.org/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/aeer/1605_62056218](https://doi.org/10.15666/aeer/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](https://doi.org/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](https://doi.org/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](https://doi.org/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](https://doi.org/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](https://doi.org/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](https://doi.org/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](https://doi.org/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](https://doi.org/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](https://doi.org/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](https://doi.org/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](https://doi.org/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 Xiaoqiu.

- Identification and Expression of Pear fw2.2-Like Gene Family and Functional Verification of Related Genes*[D]. Urumqi: Xinjiang Agricultural University, 2023.
- [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.* EjFWLs 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 & 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).