

黑果枸杞 PYL 转录因子家族鉴定与生物信息学分析

胡晓桐,刘筠,杜雨,贾西贝,马彦军*

(甘肃农业大学林学院,甘肃 兰州 730070)

摘要:【目的】基于黑果枸杞(*Lycium ruthenicum*)果实发育过程中转录组测序结果,对黑果枸杞 PYL 转录因子家族成员进行鉴定。【方法】将黑果枸杞果实发育过程中鉴定出的 PYL 转录因子进行理化性质、多序列对比、保守基序、果实发育过程中的表达谱分析。【结果】与黑果枸杞果实发育相关的 9 个 PYL 转录因子氨基酸数目介于 166~255,分子量 18 229.42~24 689.97 D,理论等电点 5.33~7.14,不稳定系数为 35.08~44.05,家族成员中含有 1 个稳定碱性蛋白、4 个稳定酸性蛋白、4 个不稳定酸性蛋白。【结论】通过分析基因表达谱发现,LrPYL7 和 LrPYL8 成员在黑果枸杞果实发育全时期中(绿熟期、变色期、完熟期)均呈现高表达,可能对该过程具有重要调控作用,这将为黑果枸杞及 PYL 转录因子的进一步研究奠定基础。

关键词:黑果枸杞;果实发育;PYL 转录因子;生物信息学;系统性发育分析

中图分类号:S567 **文献标志码:**A **文章编号:**1009-5500(2023)03-0014-07

DOI:10.13817/j.cnki.cyycp.2023.03.002



黑果枸杞(*Lycium ruthenicum*)为茄科(Solana-ceae)枸杞属(*Lycium*)多年生灌木植物,主要分布于我国新疆、甘肃、宁夏、青海等地区。黑果枸杞果实富含多糖、类黄酮、多酚、微量元素、甜菜碱等成分,具有抗衰老、美容养颜、增强免疫力、预防癌症、保护肾脏等功效^[1]。黑果枸杞含有的花色苷,具有抗动脉硬化、降血脂、预防糖尿病、抗辐射、保护视网膜、预防脑损伤的作用^[2]。在小鼠研究中还发现,黑果枸杞原花青素能明显改善小鼠皮肤老化的现象,促进小鼠体重增加,提升皮肤含水量,减轻细胞凋亡^[3]。此外,黑果枸杞作为盐生药用植物具有较强的耐盐性、耐旱性及抗逆机制;其典型的旱生植物叶片结构可有效减少水分流失、抵制氧自由基伤害,能在恶劣环境下极大程度

保全生命力^[4],是集防治水土流失、防风固沙、盐碱地改良、沙产业发展于一体的生态经济兼用优势树种^[5],具有广阔的应用前景和开发潜力。然而,目前对黑果枸杞的研究仍集中在苗木繁育、生理生化、抗逆性、成分测定及生态价值评估等方面^[6],其相关分子机制仍缺乏系统研究。

转录因子(transcription factors)在植物体中通过各种信号转导途径,调节植物生长及对不同胁迫的适应性^[7]。脱落酸(abscisic acid,ABA)作为一种植物激素,在植物生长发育及应对生物与非生物胁迫过程中都发挥着非常关键的作用。PYL 转录因子最初于 2009 年被发现,研究人员利用酵母双杂交和筛选突变体等方法在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中发现 PYL 为一种新的 ABA 受体,并进一步证实了它在 ABA 信号转导途径中起重要作用^[8-9]。研究发现,PYL 转录因子调节 ABA 应答基因的表达和气孔运动,它在 ABA 信号转导途径中相互联系,形成了一个负调控系统,通过调节下游的作用元件而形成一条完整的 ABA 信号通路^[10]。PYL 转录因子家族现已在多种植物中被研究,在平榛(*Corylus heterophylla*)研究中发

收稿日期:2021-12-27;**修回日期:**2022-03-10

基金项目:国家自然科学基金(31560215);甘肃省自然科学基金(20JR10RA530)

作者简介:胡晓桐(1998-),男,甘肃兰州人,硕士研究生。

E-mail:2682182395@qq.com

*通信作者。E-mail:756847715@qq.com

现 *ChPYL6* 转录因子可能在胚珠发育过程发挥正调控作用^[11]; 油棕 (*Elaeis guineensis*) 的研究中发现大多数 PYL 基因家族成员参与油棕对 ABA 的响应, 且部分成员 (*EgPYL7*、*EgPYL8* 和 *EgPYL9*) 在油棕果实发育中发挥重要的调控作用^[12]; 葡萄 (*Vitis vinifera*) 的研究中发现, *VvPYL1* 和 *VvPYL2* 基因能够被外源 ABA 显著诱导, *VvPYL6* 基因在胁迫后期积极参与了盐胁迫的适应性调节^[13]; 草莓 (*Fragaria ananassa*) 研究中证明 ABA 受体 *FaPYL5* 在果实成熟中起到显著的正调控作用, 为 ABA 正调控草莓果实成熟提供了基因和蛋白层面上的依据^[14]。然而, 迄今为止, PYL 转录因子家族在黑果枸杞的相关研究中尚未报道。

本研究通过对黑果枸杞 PYL 转录因子家族的鉴定及分析, 探究该家族在黑果枸杞果实发育过程中的调控模式及相关表达, 为进一步研究黑果枸杞及 PYL 转录因子家族的功能奠定基础。

1 材料和方法

1.1 材料

从甘肃农业大学林学院试验地 (N 38°28', E 106°16') 采取树龄 5 年、长势优良、无病虫害的黑果枸杞不同发育时期 (绿熟期、变色期、完熟期) 果实, 每 3 个枸杞果实设置为 1 组重复, 共重复 3 次。用 mirVana™ miRNA ISolation Kit (Ambion-1561) 试剂盒提取和纯化黑果枸杞果实总 RNA。分别用 NanoDrop 2000 (美国, 赛默飞) 与 Agilent 2100 Bioanalyzer (美国, 安捷伦) 进行总 RNA 质量和纯度检测。

1.2 转录组测序

将符合质量要求的黑果枸杞果实总 RNA 送样至上海欧易生物医学科技有限公司, 利用新一代高通量测序技术平台 Illumina Solexa 进行二代转录组测序。

1.3 果实发育过程中 *LrPYL* 转录因子的筛选及理化性质分析

基于转录组测序数据, 在 De novo、CDS 和 Annotation 3 个数据库进行筛选, 初步筛选出黑果枸杞 PYL 转录因子相关基因, 将筛选出基因的蛋白序列导入 NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder/>) 逐个进行蛋白序列预测, 而后, 利用 DNAMAN (8.0) 软件将初步筛选出的黑果枸杞 PYL 转录因子与模式植物拟南芥的氨基酸序列进行多重序列比对, 使用

ClustalW 软件鉴定出具有全长序列的基因, 最终得到具有 PYL 转录因子保守结构域的全长序列。根据最终筛选出的转录因子, 利用 NCB-blast (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastn&PAGE_TYPE=BlastSearch&LI) 在线对其重新进行命名并依次排序, 使用在线软件 ProtParam (<https://web.expasy.org/protparam/>) 对黑果枸杞果实发育过程中 PYL 转录因子家族的氨基酸大小、分子量和等电点等进行预测, 通过开放阅读框查找器 ORF Finder 在线工具 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder/>) 预测 PYL 片段的开放阅读框序列。利用 DNAMAN (8.0) 软件对获得的黑果枸杞 PYL 蛋白进行多序列对比, 进一步利用在线网站 MEME (Multiple Em for Motif Elicitation, <https://meme-suite.org/meme/tools/meme>) 预测黑果枸杞 PYL 蛋白序列的保守基序, 查找的保守基序最大数目为 5, 其他参数均设为默认值。

1.4 果实发育过程中 *LrPYL* 转录因子系统进化树构建

为研究黑果枸杞 PYL 转录因子家族进化上的亲缘关系及其潜在功能, 利用 MEGA-X (10.0.2) 软件中的最大似然法构建拟南芥、水稻、黑果枸杞的系统进化树, 设置 boot-strap 为 1 000, 其余参数均采用默认值, 并利用 itol 在线平台 (<https://itol.embl.de/tree/1257557242207601633839596>) 对进化树进行美化。

1.5 果实发育过程中 *LrPYL* 转录因子的表达谱分析

为进一步探究 PYL 转录因子家族在黑果枸杞果实发育过程中的功能, 对最终筛选出的转录因子采用 TB tools 1.095 软件绘制热图进行表达谱分析, 根据结果预测其在果实发育不同时期的潜在调控功能和部分关键性基因。

2 结果与分析

2.1 *LrPYL* 的理化性质分析

在 De novo、CDS 和 Annotation 3 个数据库进行筛选, 初步筛选出 42 个黑果枸杞 PYL 转录因子相关基因, 将筛选出基因的蛋白序列导入 NCBI 逐个进行蛋白序列预测, 而后, 利用 NCBI 去除重复序列及冗余转录本后, 最终得到 9 个具有 PYL 转录因子保守结构域的蛋白序列。利用 NCBI-blast 网站在线对最终筛选

出的9个转录因子进行重命名,根据结果分别将其命名为*LrPYL1*~*LrPYL9*(表1—2)。

表1 黑果枸杞PYL转录因子的基本信息
Table 1 The physicochemical properties of PYL transcription factors in *L. ruthenicum*

基因 ID	基因命名	cDNA 长度/bp	氨基酸 数目
>CL20951Contig1	<i>LrPYL1</i>	699	187
>CL25409Contig1	<i>LrPYL2</i>	1180	189
>CL174Contig2	<i>LrPYL3</i>	816	214
>CL10696Contig1	<i>LrPYL4</i>	1156	166
>CL174Contig1	<i>LrPYL5</i>	1126	225
>comp88286_c2_seq14_2	<i>LrPYL6</i>	1341	214
>CL29846Contig1	<i>LrPYL7</i>	1403	185
>CL30730Contig1	<i>LrPYL8</i>	1097	185
>CL9673Contig1	<i>LrPYL9</i>	752	200

对9个黑果枸杞PYL家族基因的分析结果表明,与黑果枸杞果实发育相关的PYL转录因子的氨基酸

数目为166(*LrPYL4*)~225个(*LrPYL5*),分子量18 229.42(*LrPYL4*)~24 689.97 D(*LrPYL5*)之间,理论等电点5.33(*LrPYL9*)~7.14(*LrPYL5*),不稳定系数35.08(*LrPYL2*)~44.05(*LrPYL9*)之间(表1)。其蛋白质亲水性平均值均为负值,说明黑果枸杞PYL转录因子均为亲水性蛋白。根据不稳定系数小于40为稳定蛋白及等电点小于7为酸性蛋白的原则,发现家族成员中有1个稳定碱性蛋白(*LrPYL5*)、4个稳定酸性蛋白(*LrPYL2*、*LrPYL3*、*LrPYL4*、*LrPYL6*)、4个不稳定酸性蛋白(*LrPYL1*、*LrPYL7*、*LrPYL8*、*LrPYL9*),分别占家族成员总数的11.1%、44.4%、44.4%。进一步将黑果枸杞PYL家族成员的理化性质分别与油棕^[12]、平榛^[11]、谷子(*Setaria italica*)^[15]、蒺藜苜蓿(*Medicago truncatula*)^[16]及葡萄^[13]进行比较(表3),结果显示PYL家族在不同物种中的理化性质较为接近。

表2 黑果枸杞PYL转录因子的理化性质
Table 2 The physicochemical properties of PYL transcription factors in *L. ruthenicum*

基因命名	分子量/D	理论等电点	不稳定系数	分子式	蛋白质亲水性平均值
<i>LrPYL1</i>	21 029.96	6.38	40.46	C ₉₃₄ H ₁₄₈₂ N ₂₅₈ O ₂₈₂ S ₆	−0.297
<i>LrPYL2</i>	21 198.06	5.64	35.08	C ₉₄₃ H ₁₄₈₆ N ₂₅₄ O ₂₈₉ S ₆	−0.340
<i>LrPYL3</i>	23 526.16	6.24	38.51	C ₁₀₁₃ H ₁₆₂₀ N ₂₉₈ O ₃₃₅ S ₆	−0.386
<i>LrPYL4</i>	18 229.42	5.93	39.14	C ₇₉₉ H ₁₂₅₉ N ₂₃₁ O ₂₅₀ S ₄	−0.180
<i>LrPYL5</i>	24 689.97	7.14	35.76	C ₁₀₈₃ H ₁₇₂₆ N ₃₁₀ O ₃₃₄ S ₈	−0.266
<i>LrPYL6</i>	23 481.06	6.33	39.04	C ₁₀₀₇ H ₁₆₀₅ N ₃₀₁ O ₃₃₃ S ₇	−0.436
<i>LrPYL7</i>	21 105.08	5.91	42.48	C ₉₃₁ H ₁₄₉₅ N ₂₆₅ O ₂₈₂ S ₆	−0.312
<i>LrPYL8</i>	20 662.54	5.96	42.64	C ₉₀₉ H ₁₄₅₃ N ₂₅₃ O ₂₈₀ S ₈	−0.286
<i>LrPYL9</i>	22 445.45	5.33	44.05	C ₉₉₃ H ₁₅₅₆ N ₂₆₂ O ₃₁₀ S ₁₀	−0.271

注:稳定蛋白,不稳定性指数小于40;不稳定蛋白,不稳定性指数大于40

表3 PYL基因家族在不同物种中的理化性质
Table 3 Physicochemical properties of PYL gene family in different species

物种	成员 数量	氨基酸数目	分子量/kD	理论等电点	不稳定系数	蛋白质亲水性平均值
黑果枸杞(<i>Lycium ruthenicum</i>)	9	166~255	18.23~24.69	5.33~7.14	35.08~44.05	−0.180~−0.436
油棕(<i>Elaeis guineensis</i>)	12	187~254	20.95~28.3	5.26~7.95	32.67~52.87	−0.17~−0.68
平榛(<i>Corylus heterophylla</i>)	8	168~208	18.8~23.0	5.35~7.75	31.57~50.57	−0.147~−0.467
谷子(<i>Setaria italica</i>)	9	175~220	18.81~23.67	4.93~8.88	—	−0.132~−0.393
蒺藜苜蓿(<i>Medicago truncatula</i>)	14	168~233	18.5~25.4	4.45~7.64	—	—
葡萄(<i>Vitis vinifera</i>)	6	178~286	20.05~32.14	5.32~7.15	33.47~48.61	−0.410~−0.122

2.2 *LrPYL* 的多序列对比和保守基序预测分析

利用 DNAMAN 软件对获得的黑果枸杞 PYL 蛋白进行多序列对比(图 1),结果显示,9 个 *LrPYL* 转录因子均含有 PYL 家族蛋白特有的 PYR 保守结构域。

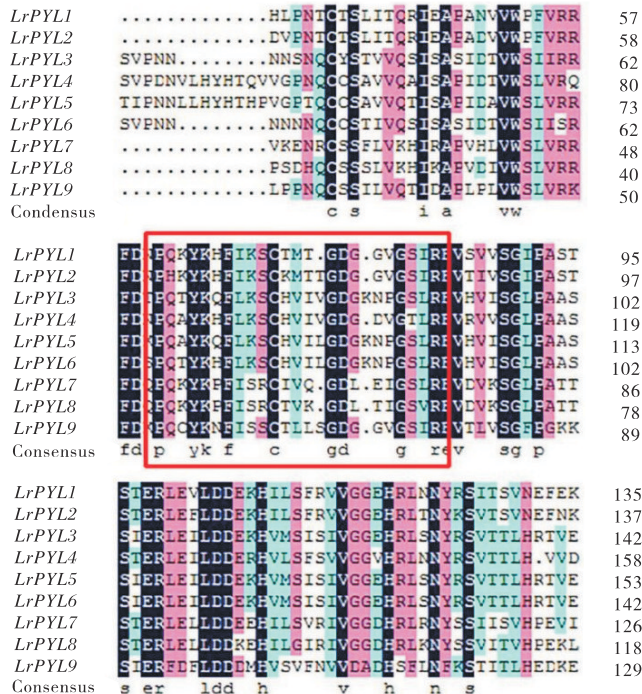


图 1 黑果枸杞 PYL 转录因子的多序列对比

Fig. 1 Multi-sequence comparison of PYL transcription factors in *L. ruthenicum*

利用在线网站 MEME 预测黑果枸杞 PYL 蛋白序列的保守基序(图 2)。由图可知,这些基序包含 15~50 个氨基酸残基,其中 motif 1、motif 2、motif 3、motif 4、motif 5 分别包含 50、49、50、16、15 个。进一步研究发现,motif 在黑果枸杞 PYL 转录因子中的排列与组成呈现出一定的规律性,例如 motif 1、motif 2、motif 3 均存在于黑果枸杞 PYL 家族之中,Motif 4 存在于 *LrPYL3*~*LrPYL6* 中(占比 44.44%),motif 5 存在于 *LrPYL3*、*LrPYL5*、*LrPYL6* 中(占比 33.33%)。将这 5 个保守基序结合进化树分组结果分析,结果表明分在同一亚族的家族成员拥有极为相似甚至相同的 motif 类型,分在不同亚族的家族成员 motif 组成类型不同。在进化树第一亚族中,*LrPYL3*~*LrPYL6*、*LrPYL9* 均含有 motif 1、motif 2、motif 3。此外 *LrPYL3*~*LrPYL6* 还含有 motif 4,*LrPYL3*、*LrPYL5*、*LrPYL6* 还含有 motif 5,其中 *LrPYL3* 与 *LrPYL6* 的蛋白保守基序完全一致,其在进化树的亲缘关系也最为接近,*Lr-*

PYL5 的蛋白保守基序与这二者十分相似,其在进化树分支上的位置也与这二者最为接近。*LrPYL1* 和 *LrPYL2* 蛋白保守基序及进化树位置也极为相似与接近。

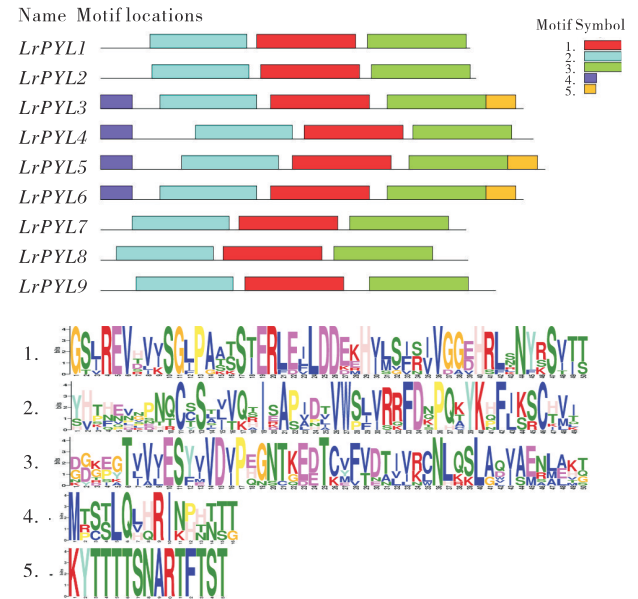


图 2 黑果枸杞 PYL 转录因子的蛋白保守基序

Fig. 2 Protein conserved motif of PYL transcription factor of *L. ruthenicum*

2.3 *LrPYL* 的系统进化树分析

利用 MEGA-X 软件最大似然法构建拟南芥、水稻、黑果枸杞 3 种植物 PYL 转录因子系统进化树(图 3)。

结果表明,3 种植物的 PYL 蛋白可分为 4 个亚族,各亚族分别由 11、8、13、3 个成员构成。与黑果枸杞果

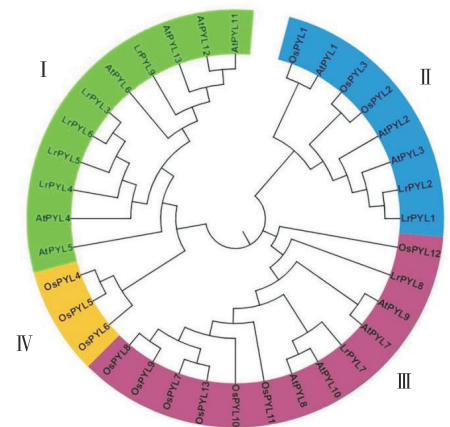


图 3 拟南芥(*At*)、水稻(*Os*)与黑果枸杞(*Lr*)的同源进化关系

Fig. 3 The unrooted phylogenetic tree in *Arabidopsis* (*At*), *Oryza sativa* (*Os*) and *L. ruthenicum* (*Lr*)

实发育相关的PYL转录因子蛋白聚类到3个亚族上。其中 *LrPYL3~LrPYL6*、*LrPYL9* 与拟南芥 *AtPYL4~AtPYL6*、*AtPYL11~AtPYL13* 为第Ⅰ亚族,该族中 *LrPYL3~LrPYL6* 蛋白与 *AtPYL4* 聚类较近,其次为 *AtPYL5*、*AtPYL6*,说明其亲缘关系较为接近;现有研究发现,*AtPYL4*、*AtPYL5*在调控种子萌发、气孔关闭以及ABA信号途径相关基因的表达方面均起着重要作用,且 *AtPYL5*的异位表达能够提高抗旱能力,故而推测 *LrPYL3~LrPYL6*有相似功能^[17]。*LrPYL9*与 *AtPYL13* 聚类较近,其次为 *AtPYL11*、*AtPYL12*,推测其亲缘关系可能较近。第Ⅱ亚族由 *AtPYL1~AtPYL3*、*OsPYL1~OsPYL3*、*LrPYL1* 及 *LrPYL2* 组成。其中,*LrPYL1*、*LrPYL2*与 *AtPYL3*、*AtPYL2* 亲缘关系较近;第Ⅲ亚族由 *LrPYL7*、*LrPYL8*、*AtPYL7~AtPYL10*、*OsPYL7~OsPYL13* 共同构成。其中,*LrPYL7*与 *AtPYL8* 及 *AtPYL10*、*LrPYL8*与 *OsPYL12* 亲缘关系较近。值得注意的是,水稻 *OsPYL4~OsPYL6* 蛋白单独聚类为第Ⅳ亚族,黑果枸杞PYL蛋白中无一与其聚类相近,考虑可能为其亲缘关系较远所致。

2.4 *LrPYL* 转录因子表达模式分析

在数据库中筛选出黑果枸杞PYL转录因子在绿熟期、变色期、完熟期对应的FPKM(Fragments Per Kilobase per Million)值,利用其制作热图,并将所得热图数据进行对数化处理(图4)。

热图结果表明,9个PYL转录因子在黑果枸杞果实发育的不同时期均有表达,且表达量均呈现上调,表明PYL转录因子家族参与黑果枸杞果实发育过程。从黑果枸杞果实发育不同时期来看,绿熟期中PYL高表达转录因子2个(*LrPYL7*、*LrPYL8*),变色期中高表达及较高表达转录因子4个(*LrPYL2*、*LrPYL6*、*LrPYL7*、*LrPYL8*),完熟期中高表达及较高表达转录因子6个(*LrPYL2*、*LrPYL5*、*LrPYL6*、*LrPYL7*、*LrPYL8*)。其中,*LrPYL8*和 *LrPYL9*基因在果实发育3个时期均呈现高表达,表明这两个转录因子可能对黑果枸杞果实发育过程具有重要调控作用;*LrPYL2*、*LrPYL6*在完熟期中呈现高表达,表明该转录因子可能对黑果枸杞果实的完熟期具有重要调控作用,此外,*LrPYL2*基因还在黑果枸杞果实的变色期也呈现较高的表达,表明此基因可能参与调控黑果枸杞变色

期的表达;*LrPYL1*、*LrPYL3*和 *LrPYL4*基因在果实发育3个时期表达量均较低,可能对黑果枸杞果实发育过程不具有调控作用。

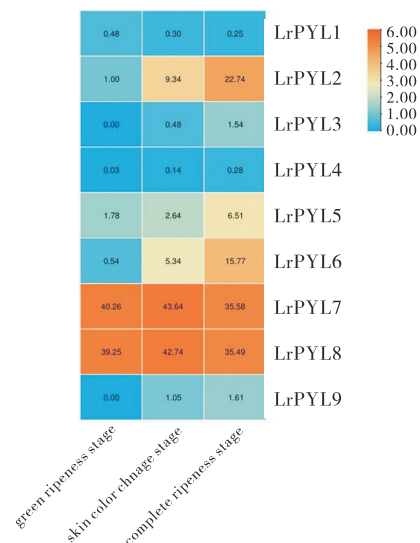


图4 黑果枸杞果实发育过程中PYL转录因子在绿熟期、变色期、完熟期的差异表达分析

Fig. 4 Differential expression analysis of PYL transcription factor in green ripeness stage, skin color change stage and complete ripeness stage during the fruit development of *L. ruthenicum*

3 讨论

转录组是特定细胞或组织在特定时间或状态下转录出来的所有产物的集合。转录组研究是基因功能及结构研究的基础和出发点,通过对转录组的研究可以揭示生物体的基因表达、研究结构变异及发现新基因等^[18-19]。随着科学技术的不断发展,使得研究人员更为高效廉价地获得大量精确的基因数据,对植物展开基因层面的研究。

PYL转录因子广泛存在于植物之中,作为ABA受体,在ABA信号转导途径中起重要作用^[8-9]。该转录因子家族现已在多个物种中被鉴定出来,其在油棕、平榛、高粱、蒺藜苜蓿和葡萄中分别鉴定到12、8、8、14、6个家族成员^[11-13,16,20]。本研究利用黑果枸杞果实发育过程中转录组测序数据库^[21]鉴定到9个PYL家族成员,对其理化性质、多序列对比、保守基序、果实发育过程中的表达量进行分析,并结合其他植物中鉴定出的PYL家族成员进行比较(表2)。结果表明,PYL家族成员在不同植物中的成员数量均在10个左

右(6~14),在6种植物中的氨基酸数目(黑果枸杞 *LrPYL4* 最少,166个;葡萄 *VvPYL6* 最多,286个)、分子量(黑果枸杞 *LrPYL4* 最少,18.23 kD;葡萄 *VvPYL6* 最多,32.14 kD)、理论等电点(蒺藜苜蓿 *MtrPYL3* 最小,4.45;谷子 *Si3G207900.1* 最大,8.88)、不稳定系数、蛋白质亲水性平均值区间都较为接近。除葡萄中的 *VvPYL4* 成员蛋白质亲水性平均值为正值(0.122),其余均为负值(亲水性蛋白)^[13]。

利用鉴定出的黑果枸杞 PYL 家族成员与拟南芥、水稻构建系统发育树,发现其聚类于3个亚族上,拟南芥与水稻 PYL 蛋白聚类结果同张兴政等人在平榛的研究中相同^[11]。同一亚族中的转录因子具有相似的理化性质及结构,且在3种植物中,黑果枸杞与拟南芥的聚类更为接近,说明它与拟南芥的亲缘关系更为接近。值得注意的是,通过分析表达量, *LrPYL7* 和 *LrPYL8* 基因在黑果枸杞果实发育3个时期(绿熟期、变色期、完熟期)均呈现高表达,可能对黑果枸杞果实发育过程具有重要调控作用,结合进化树中 *LrPYL7* 与 *AtPYL8*、*AtPYL10* (在种子萌发、营养生长、基因表达和气孔运动等多种生理过程中都表现出对 ABA 更加敏感,且使植株的耐旱能力显著增强)^[10]; *LrPYL8* 与 *OsPYL12* (在植株干旱胁迫、热胁迫中具有调控作用)亲缘关系较近这一结果^[22],可为今后黑果枸杞 *LrPYL7*、*LrPYL8* 转录因子的深入研究提供参考。

4 结论

对黑果枸杞果实发育过程中鉴定出的9个 PYL 转录因子进行了鉴定及生物信息学分析,并与其他5种植物中鉴定出的 PYL 转录因子做了比较。研究发现, *LrPYL7* 和 *LrPYL8* 基因在黑果枸杞果实发育全时期中均呈现高表达,可能对黑果枸杞果实发育过程具有重要调控作用。

参考文献:

[1] 董雨荷,胡文忠,连俊辉,等. 黑果枸杞活性成分及其药理作用的研究进展[J]. 广东化工, 2020, 47(23): 48—49+54.

[2] 赵子丹,牛艳,葛谦,等. 黑果枸杞花色苷研究进展[J]. 食品工业, 2016, 37(8): 230—234.

[3] 罗文娟. 黑果枸杞原花青素对小鼠衰老皮肤抗氧化作用及凋亡相关蛋白的影响[D]. 西宁:青海大学, 2018.

[4] 雷春英,彭钊植,刘畅,等. 盐生药用植物黑果枸杞研究进展[J]. 中国野生植物资源, 2021, 40(7): 55—60.

[5] 袁海静,安巍,李立会,等. 中国枸杞种质资源主要形态学性状调查与聚类分析[J]. 植物遗传资源学报, 2013, 14(4): 627—633.

[6] 张佳琪,赵英力,王浩宁,等. 黑果枸杞研究进展及产业发展对策[J]. 北方园艺, 2020(19): 134—140.

[7] Chen K, Rajewsky N. The evolution of gene regulation by transcription factors and microRNAs. [J]. Nature Reviews Genetics, 2007, 8(2): 93.

[8] Yue Ma, Szostkiewicz I, Korte A, et al. Regulators of PP2C Phosphatase Activity Function as Abscissic Acid Sensors[J]. Science, 2009, 324(5930): 1064—1068.

[9] Park S Y, Fung P, Nishimura N, et al. Abscissic acid inhibits type 2C protein phosphatases via the PYR/PYL family of START proteins[J]. Science, 2009, 324(5930): 1068—1071.

[10] 胡帅,王芳展,刘振宁,等. PYR/PYL/RCAR 蛋白介导植物 ABA 的信号转导[J]. 遗传, 2012, 34(5): 560—572.

[11] 张兴政,赵豫川,陈玥,等. 平榛 PYL 基因家族全基因组鉴定及果实发育表达分析[J]. 江西农业大学学报, 2021, 43(2): 435—444.

[12] 金龙飞,尹欣幸,曹红星. 油棕脱落酸受体 PYL 基因家族的全基因组鉴定及表达分析[J]. 南方农业学报, 2021, 52(6): 1545—1556.

[13] 马宗桓,陈佰鸿,李文芳,等. 葡萄 PYL 基因家族的鉴定与表达分析[J]. 果树学报, 2018, 35(3): 265—274.

[14] 张建,黄芸. 草莓 FaPYL5 基因的鉴定及功能分析[J]. 农业与技术, 2021, 41(3): 8—12.

[15] 王帅磊,李子琪,陈辉龙,等. 谷子 PYR/PYL/RCAR 基因家族进化及表达分析[J]. 分子植物育种, 2020, 18(17): 11.

[16] 黄思源,呼天明,杨培志. 蒺藜苜蓿 PYL 基因家族的全基因组鉴定、表达和功能分析[J]. 草业科学, 2019, 36(2): 422—433.

[17] Santiago J, Rodrigues A, Saez A, et al. Modulation of droughtresistance by the abscisic acid receptor PYL5 through inhibition of cladeAPP2Cs [J]. Plant Journal, 2009, 60(4): 575—588.

- [18] 王兴春,杨致荣,王敏,等. 高通量测序技术及其应用[J]. 中国生物工程杂志,2012,32(1):109–114.
- [19] 张春兰,秦孜娟,王桂芝,等. 转录组与RNA-Seq技术[J]. 生物技术通报,2012(12):51–56.
- [20] 彭晶晶,张圣也,阮美丽,等. 高粱PYL基因家族进化及表达分析[C]//中国作物学会. 第十九届中国作物学会学术年会论文摘要集. 北京:中国作物学会,2020:1.
- [21] 孟小伟,牛赞,马彦军. 黑果枸杞果实发育过程中转录组测序分析[J]. 中南林业科技大学学报,2020,40(9):147–155.
- [22] Kumar S, Venkata V, Kumar S, *et al.* Genome-wide identification and characterization of ABA receptor PYL gene family in rice [J]. BMC Genomics, 2020, 21(1):676.

Identification and bioinformatics analysis of PYL transcription factor family of *Lycium ruthenicum*

HU Xiao-tong, LIU Yun, DU Yu, JIA Xi-bei, MA Yan-jun*

(College of Forestry, Gansu Agriculture University, Lanzhou 730070, China)

Abstract: 【Objective】Based on the transcriptome data of *Lycium ruthenicum* during fruit development, the members of PYL transcription factor family in *L. ruthenicum* were identified. 【Method】The identified PYL transcription factors were further used to determine physical and chemical properties, multi-sequence comparison, conservative motif and expression levels during fruit development. 【Result】Results indicated that the number of amino acids of 9 PYL transcription factors related to the fruit development of *Lycium ruthenicum* was 166~255, the molecular weight was 18 229.42~24 689.97 D, the theoretical PI was 5.33~7.14, and the instability index was 35.08~44.05. The Family members contain one stable alkaline protein, four stable acidic proteins and four unstable acidic proteins. 【Conclusion】By analyzing the gene expression patterns, it was found that *LrPYL7* and *LrPYL8* members were highly expressed in the whole fruit development period (green ripening period, discoloration period and full ripening period) of *L. ruthenicum*, indicating that they may play an important role in regulating this process, which would lay a foundation for further research on transcription factors of *Lycium ruthenicum* and PYL.

Key words: *Lycium ruthenicum*; fruit development; PYL transcription factor; bioinformatics; polygenetic analysis