

梁 靖, 王调叶, 刘雅诗, 等. 4 种葡萄 *SOD* 家族基因鉴定与表达分析[J]. 江苏农业学报, 2024, 40( 12 ): 2334-2348.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2024.12.017

## 4 种葡萄 *SOD* 家族基因鉴定与表达分析

梁 靖, 王调叶, 刘雅诗, 孙莹莹, 陈佰鸿, 褚明宇

(甘肃农业大学园艺学院, 甘肃 兰州 730070)

**摘要:** 超氧化物歧化酶(*SOD*)在植物体氧化与抗氧化平衡中起至关重要的作用。本研究对 4 种葡萄 *SOD* 家族基因进行了全基因组鉴定和表达分析。鉴定结果显示, 4 种葡萄共有 45 个 *SOD* 基因, 其中黑比诺葡萄 12 个、山葡萄 8 个、河岸葡萄 15 个、圆叶葡萄 10 个, *SOD* 基因随机分布在染色体上; 葡萄 *SOD* 基因启动子中有多个激素、生长发育、逆境胁迫等响应顺式作用元件; 种内共线性分析结果显示, 黑比诺葡萄、山葡萄和河岸葡萄 *SOD* 基因中仅含有 1 对共线性关系, 而圆叶葡萄 *SOD* 基因中含有 6 对共线性关系; qRT-PCR 结果表明 *VaSOD* 基因对氯化钠(NaCl)、水杨酸(SA)、脱落酸(ABA)、低温(4 ℃)等不同非生物胁迫的响应明显。4 种葡萄 *SOD* 基因之间碱基序列相对保守, 亲缘关系较近。本研究结果为进一步解析葡萄 *SOD* 家族基因在其生长发育和非生物胁迫应答中的作用机理奠定了基础。

**关键词:** 葡萄; *SOD* 基因; 基因家族; 生物信息学; 表达分析

**中图分类号:** S663.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2024)12-2334-15

## Identification and expression analysis of *SOD* family genes in four kinds of grapes

LIANG Jing, WANG Tiaoye, LIU Yashi, SUN Yingying, CHEN Baihong, CHU Mingyu

(College of Horticulture, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China)

**Abstract:** Superoxide dismutase (*SOD*) plays an important role in the balance between oxidation and antioxidation in plants. In this study, the whole genome identification and expression analysis of *SOD* family genes in four kinds of grapes were carried out. The identification results showed that there were 45 *SOD* genes in the four kinds of grapes, including 12 genes in Pinot Noir, eight genes in *Vitis amurensis*, 15 genes in *Vitis riparia* and 10 genes in *Vitis rotundifolia*. The *SOD* genes were randomly distributed on chromosomes. There were many *cis*-acting elements in the promoter of grape *SOD* gene, such as hormones, growth and development, stress response and so on. The results of intraspecific collinearity analysis showed that there was only one pair of collinearity in the *SOD* genes of Pinot Noir, *Vitis amurensis* and *Vitis riparia*, while there were six pairs of collinearity in the *SOD* genes of *Vitis rotundifolia*. The results of qRT-PCR showed that the *VaSOD* gene responded significantly to different abiotic stresses such as sodium chloride (NaCl), salicylic acid (SA), abscisic

acid (ABA) and low temperature (4 ℃). The base sequence of *SOD* genes in four kinds of grapes was relatively conservative and the genetic relationship was relatively close. The results of this study can lay a foundation for further analysis of the mechanism of grape *SOD* family genes in their growth and development and abiotic stress response.

**Key words:** grape; *SOD* gene; gene family; bioinformatics; expression analysis

收稿日期: 2024-01-12

基金项目: 国家自然科学基金项目(32060671); 2021 甘肃省青年人才托举工程项目(GXH20210611-01); 甘肃农业大学大学生创新创业训练计划项目(S202110733035)

作者简介: 梁 靖(2000-), 女, 甘肃武威人, 硕士研究生, 主要从事果树生理与生物技术方面的研究。(E-mail) 1436387524@qq.com

通讯作者: 褚明宇, (E-mail) chu.my@foxmail.com

超氧化物歧化酶(SOD)是生物体内的一种抗氧化金属酶<sup>[1]</sup>。按照 SOD 中金属辅基的不同,可将 SOD 分为 4 大类,分别为 Cu/Zn-SOD、Mn-SOD、Fe-SOD 和 Ni-SOD<sup>[2]</sup>,其活性可以影响植物生长发育、细胞膜结构功能的稳定性以及植物的抗逆性。SOD 能够催化超氧阴离子自由基歧化生成氧和过氧化氢,在植物体氧化与抗氧化平衡中起到至关重要的作用<sup>[3]</sup>。研究发现,干旱、低温、盐碱等非生物胁迫会导致植物细胞中产生活性氧<sup>[4]</sup>,而过量的活性氧会导致植物细胞受到损伤,甚至导致不可修复的代谢功能障碍和细胞死亡<sup>[5]</sup>。因此,在植物生长发育和进化过程中会形成酶和非酶抗氧化保护系统以清除活性氧。SOD 是清除植物体内氧自由基的关键酶<sup>[6-8]</sup>。

Cu/Zn-SOD 最早从鱼发光杆菌中分离得到<sup>[9]</sup>,广泛存在于细菌、真菌、植物体和动物体内,与抗寒、抗旱、耐盐碱等多种抗逆性密切相关<sup>[10]</sup>。研究结果表明,在拟南芥和西葫芦中过表达 SOD 基因可提高抗寒能力<sup>[11]</sup>;马铃薯植株在低温胁迫下,超氧化物歧化酶(SOD)活性是正常温度下的 1.38 倍<sup>[12]</sup>;转 SOD 基因木薯在低温下可通过提高 SOD 活性来清除活性氧并激活机体抗氧化防御机制,从而提高机体对寒冷的耐受性<sup>[13]</sup>;铅、锌、铜、汞等重金属污染在超过耐受浓度时会对植物体内 SOD 活性产生显著影响<sup>[14]</sup>;MSDI 是一种独特的高尔基体/质体类型的锰超氧化物歧化酶,水稻的 MSDI 基因会导致水稻植株对热胁迫非常敏感<sup>[15]</sup>,在干旱条件下,不耐旱品种苜蓿根茎中 SOD 活性低于耐旱品种,说明植物的抗旱性可能与 SOD 活性有关<sup>[16]</sup>。低温胁迫时,玉米中 SOD 活性呈现先缓慢增长后下降再增长的趋势<sup>[17]</sup>,这表明,在一定范围内玉米可以通过调节自身的酶系统来抵御低温胁迫造成的伤害。近年来,葡萄的生长发育不断受到低温、干旱、盐碱等非生物因素的影响<sup>[18]</sup>,造成了一定的经济损失。黑比诺葡萄(*Vitis vinifera*)是全球现存最古老的葡萄品种之一<sup>[19]</sup>,2007 年法国和意大利联合科学家团队采用全基因组鸟枪法首次对黑比诺葡萄全基因组进行测序组装<sup>[20]</sup>,并经过多次更新。山葡萄(*Vitis amurensis* Rupr.)是世界上被广泛应用的抗寒葡萄资源,能作为抗寒育种的良好亲本<sup>[21]</sup>。河岸葡萄(*Vitis riparia*)在北美广泛分布,抗葡萄根瘤蚜和根结线虫等<sup>[22]</sup>。圆叶葡萄(*Muscadinia rotundifolia*)是世界公认的抗病性葡萄品种,也是目前唯一检测到含鞣花酸的葡萄品种,鞣花酸具有抗癌功效<sup>[23]</sup>。

中国北方地区光照充足、昼夜温差大,是优质葡萄栽培区,但冬季气候寒冷干燥,冻害是限制该地区葡萄种植及产业高质量发展的主要因素之一。研究葡萄抗寒机制对于提高葡萄抗寒性及葡萄产业提质增效具有重要意义,而 SOD 活性是研究植物逆境胁迫的重要指标之一。山葡萄在冬季-45~-40℃能安全越冬,抗寒能力远高于其他葡萄品种,还可作为砧木提高嫁接品种的抗寒性。因此本研究利用黑比诺葡萄、山葡萄、河岸葡萄、圆叶葡萄的基因组数据进行 SOD 家族基因的生物信息学分析,并进一步分析了山葡萄 SOD 基因在非生物胁迫和激素处理下的响应表达模式,为葡萄 SOD 基因家族成员功能研究和应用提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料处理

本试验所用材料为山葡萄试管苗,由甘肃农业大学园艺学院组培室提供。山葡萄试管苗培养于 GS 固体培养基中,附加 30 g/L 蔗糖,置于培养箱(温度 25℃/光照 16 h,温度 22℃/黑暗 8 h)中。挑选生长健壮且长势一致的组培苗,分别继代培养在含有 100 μmol/L 脱落酸(ABA)、100 μmol/L 水杨酸(SA)、100 μmol/L 氯化钠(NaCl)和加了清水的 GS 液体培养基中,低温胁迫处理在植物培养箱中进行,温度为 4℃,处理时间分别为 0 h、3 h、6 h、12 h、24 h 和 48 h,每个处理重复 3 次。处理结束后,取样品并放入-80℃冰箱中备用。

### 1.2 葡萄 SOD 基因家族的鉴定

下载黑比诺葡萄、山葡萄、河岸葡萄和圆叶葡萄基因组和注释信息文件。利用 TBtools 软件提取葡萄的所有蛋白质氨基酸序列并与 AtSOD 家族蛋白质氨基酸序列进行比对,初步获取葡萄 SOD 基因家族成员。通过 NCBI 数据库中蛋白质聚类信息进行 BLAST 比较筛选得到 SOD 蛋白质氨基酸序列,用 PFAM 和 SMART 两个软件去除不含保守结构域的氨基酸序列,共鉴定出 45 个葡萄 SOD 家族基因。

### 1.3 葡萄 SOD 蛋白理化性质、亚细胞定位预测及二级结构分析

葡萄 SOD 蛋白理化性质和亚细胞定位分别使用 ExPasy (<https://web.expasy.org/protparam/>)、PSORT (<http://psort.hgc.jp/>)进行分析和预测。葡萄 SOD 家族蛋白质二级结构占比通过 SOPMA 进行预测。

#### 1.4 葡萄 *SOD* 家族基因系统发育树、基因结构和 motif 分析

利用 Clustal X<sup>[24]</sup> 对 4 种葡萄、拟南芥、番茄、水稻 *SOD* 家族蛋白质氨基酸序列进行分析,并通过 MEGA-X<sup>[25]</sup> 构建系统发育树,设置 1 000 重复值,并使用在线工具 iTOL v6(<https://itol.embl.de/>)进行美化。基因结构通过 TBtools 1.6<sup>[26]</sup> 进行可视化,*SOD* 家族氨基酸序列利用工具 MEME (<https://meme-suite.org/meme/tools/meme>) 对保守基序进行分析(设置 10 个 motif)。

#### 1.5 葡萄 *SOD* 家族基因顺式作用元件分析

使用 TBtools 1.6 提取所有葡萄 *SOD* 家族基因的顺式作用元件区域,将所得结果利用在线软件 Plant CARE (<https://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>) 和 TBtools 1.6 分别进行预测分析和可视化。

#### 1.6 葡萄 *SOD* 家族基因染色体定位、密码子偏好性及共线性分析

利用 TBtools 1.6 提取染色体信息,绘制目标基

因的染色体图谱。利用编码序列(CDS)计算密码子使用偏好,主要参数为多物种密码子偏好性(*RSCU*)、密码子适应性指数(*CAI*)、密码子偏好性指数(*CBI*)、最优密码子使用频率(*Fop*)、有效密码子数(*Nc*)、同义密码子第 3 位碱基中 G+C 含量(*GC3s*)、鸟嘌呤-胞嘧啶含量(*GC*);用 TBtools 1.6 对共线性基因进行分析和定位。

#### 1.7 非生物胁迫及外源激素处理下山葡萄 *SOD* 基因的表达分析

在生工生物工程(上海)股份有限公司设计合成 8 个山葡萄基因的 qPCR 引物(表 1)。在 4 ℃ 条件下,以 SA、ABA、乙烯和 NaCl 处理下的山葡萄试管苗为材料提取 RNA,通过试剂盒(Prime Script RT reagent Kit, Perfect Real Time, TaKaRa)转化为 cDNA。以 cDNA 2 μL、上游+下游引物 2 μL、SYBR 酶 10 μL、ddH<sub>2</sub>O 去离子水 6 μL 作为反应体系,通过 PCR 仪(Light Cycler® 96 Real-Time PCR System, Roche)分析,使用 TBtools 1.6 进行可视化。

表 1 用于 qRT-PCR 分析的引物

Table 1 Primers for qRT-PCR analysis

基因	正向引物(5'→3')	反向引物(5'→3')
<i>VaSOD1</i>	TGTATTGGCTGCGATGGCTGTTT	TGGCGAGTGAGTTTGAGGGAGAG
<i>VaSOD2</i>	ACCACCTGAAGCACCACCTCAC	TGACCTCCGCCATTGAACCTTGATG
<i>VaSOD3</i>	TACTGGCCTCACACCTGGTCTTC	CGGCAACGATGTTTCCCAAATCAC
<i>VaSOD4</i>	CGCACCAGCACCAGTCAGATATAC	AGATTTTGGAGCTTGGGGCAGTTTC
<i>VaSOD5</i>	ACCAGAAGCACCACCAGACCTAC	CCTCCGCCGTGAACCTTGATGG
<i>VaSOD6</i>	CCATTGTTGGAAGGCTGTTGTTG	GCATTTCCTGCTTTTGCTGAG
<i>VaSOD7</i>	GGCAAAGGCTCAGGTGGCTAATAG	TCATCACCATCACCGTCGCTTTTC
<i>VaSOD8</i>	TCCGATCCTCAATGTGCCTCCTC	AGCCGTTTCAGTGGTCATCAAGC
<i>GAPDH</i>	TTCTCGTTGAGGGCTATTCCA	CCACAGACTTCATCGGTGACA

## 2 结果与分析

### 2.1 葡萄 *SOD* 家族基因鉴定及其编码的蛋白质性质

通过同源筛选,4 种葡萄共鉴定出 45 个 *SOD* 基因(表 2),其中黑比诺葡萄 *SOD* 基因(*VbSOD*) 12 个、山葡萄 *SOD* 基因(*VaSOD*) 8 个、河岸葡萄 *SOD* 基因(*VrSOD*) 15 个、圆叶葡萄 *SOD* 基因(*VmSOD*) 10 个,根据其染色体位置信息命名为 *VbSOD1*~*VbSOD12*、*VaSOD1*~*VaSOD8*、*VrSOD1*~*VrSOD15* 以及 *VmSOD1*~*VmSOD10*。理化特性分析结果表明,

*VmSOD* 蛋白氨基酸序列长度介于 152 aa 至 322 aa 之间,其中 *VmSOD1* 最长;等电点介于 5.48 至 9.05 之间;其中 *VmSOD2*、*VmSOD5* 蛋白为碱性蛋白质,其余为酸性蛋白质;*VmSOD1*、*VmSOD3*、*VmSOD4* 蛋白为疏水蛋白质,其余为亲水蛋白质。*VrSOD* 蛋白氨基酸序列长度介于 122 aa 至 322 aa 之间,其中 *VrSOD1* 最长;等电点介于 5.33 至 8.79 之间,其中 *VrSOD3*、*VrSOD4*、*VrSOD6* 和 *VrSOD7* 蛋白为碱性蛋白质,其余为酸性蛋白质;*VrSOD* 蛋白大部分为亲水蛋白质,只有 *VrSOD1* 和 *VrSOD2* 蛋白为疏水蛋白质。*VbSOD* 蛋白氨基酸序列长度为 79~352 aa,其

中 *VvSOD5* 最长;等电点为 4.89~9.07,其中 *VvSOD2*、*VvSOD4* 和 *VvSOD5* 蛋白为碱性蛋白质,其余为酸性蛋白质;*VvSOD* 蛋白大多数为亲水蛋白质,只有 *VvSOD1*、*VvSOD3* 和 *VvSOD8* 蛋白为疏水蛋白质。*VaSOD* 蛋白长度介于 146 aa 至 511 aa 之间;等电点介于 5.42 至 9.45 之间,其中 *VaSOD1*、*Va-*

*SOD6*、*VaSOD7*、*VaSOD8* 蛋白为酸性蛋白质, *VaSOD2*、*VaSOD3*、*VaSOD4* 和 *VaSOD5* 蛋白为碱性蛋白质;*VaSOD* 蛋白大部分为亲水性蛋白质,只有 *VaSOD1* 蛋白为疏水蛋白质。亚细胞定位预测结果显示,4 种葡萄 *SOD* 家族基因编码的蛋白质主要位于线粒体、细胞质和叶绿体中。

表 2 4 种葡萄 *SOD* 家族基因及其编码的蛋白质性质

Table 2 The *SOD* family genes and the properties of their encoded proteins in four kinds of grapes

基因		编码的蛋白质					
名称	登录号	氨基酸序列长度(aa)	等电点	相对分子量	不稳定系数	亲水指数	亚细胞定位
<i>VmSOD1</i>	VITMroTrayshed_v2.0.hap1.chr02.ver2.0.g019650.t01	322	5.67	33 944.47	88.98	0.01	叶绿体
<i>VmSOD2</i>	VITMroTrayshed_v2.0.hap1.chr06.ver2.0.g076600.t01	178	9.05	19 986.62	88.20	-0.45	细胞核
<i>VmSOD3</i>	VITMroTrayshed_v2.0.hap1.chr06.ver2.0.g079340.t01	221	6.09	22 566.58	92.67	0.08	叶绿体
<i>VmSOD4</i>	VITMroTrayshed_v2.0.hap1.chr06.ver2.0.g079450.t01	221	6.09	22 566.58	92.67	0.08	叶绿体
<i>VmSOD5</i>	VITMroTrayshed_v2.0.hap1.chr08.ver2.0.g107050.t01	156	7.19	15 812.82	86.28	-0.13	细胞质
<i>VmSOD6</i>	VITMroTrayshed_v2.0.hap1.chr13.ver2.0.g160720.t01	228	6.76	25 336.96	90.61	-0.32	线粒体
<i>VmSOD7</i>	VITMroTrayshed_v2.0.hap1.chr14.ver2.0.g176370.t01	152	5.48	15 295.95	78.82	-0.17	细胞质
<i>VmSOD8</i>	VITMroTrayshed_v2.0.hap1.chr14.ver2.0.g176410.t01	152	5.67	15 409.07	74.34	-0.29	细胞质
<i>VmSOD9</i>	VITMroTrayshed_v2.0.hap1.chr14.ver2.0.g176480.t01	152	5.67	15 409.11	78.82	-0.19	细胞质
<i>VmSOD10</i>	VITMroTrayshed_v2.0.hap1.chr16.ver2.0.g196930.t01	306	5.42	34 921.40	74.93	-0.59	叶绿体
<i>VrSOD1</i>	rna-XM_034820338.1	322	5.66	33 800.19	88.39	0.01	叶绿体
<i>VrSOD2</i>	rna-XM_034833043.1	221	5.95	22 587.56	92.22	0.05	叶绿体
<i>VrSOD3</i>	rna-XM_034833405.1	280	8.79	31 117.81	91.96	-0.25	叶绿体
<i>VrSOD4</i>	rna-XM_034837022.1	156	7.19	15 802.74	83.14	-0.18	细胞质
<i>VrSOD5</i>	na-XM_034841622.1	236	5.84	27 085.82	82.25	-0.35	叶绿体
<i>VrSOD6</i>	rna-XM_034841623.1	264	7.17	30 225.52	80.19	-0.39	叶绿体
<i>VrSOD7</i>	rna-XM_034849451.1	228	7.16	25 338.99	92.32	-0.31	线粒体
<i>VrSOD8</i>	rna-XM_034851189.1	122	6.36	13 241.96	77.46	-0.41	细胞核
<i>VrSOD9</i>	rna-XM_034851190.1	152	5.49	15 324.00	79.47	-0.16	细胞质
<i>VrSOD10</i>	rna-XM_034851779.1	122	6.03	12 518.89	72.70	-0.53	细胞质
<i>VrSOD11</i>	rna-XM_034851780.1	152	5.49	15 324.00	79.47	-0.16	细胞质
<i>VrSOD12</i>	rna-XM_034851781.1	152	5.49	15 281.92	77.57	-0.19	细胞质
<i>VrSOD13</i>	rna-XM_034852474.1	189	6.17	19 540.99	81.43	-0.08	细胞质
<i>VrSOD14</i>	rna-XM_034855991.1	306	5.33	34 774.17	75.92	-0.56	叶绿体
<i>VrSOD15</i>	rna-XM_034855992.1	306	5.33	34 774.17	75.92	-0.56	叶绿体
<i>VaSOD1</i>	VAG0107000.1	221	5.95	22 590.56	91.76	0.057	叶绿体
<i>VaSOD2</i>	VAG0107455.1	259	9.45	28 803.17	90.77	-0.26	线粒体
<i>VaSOD3</i>	VAG0110285.1	146	8.02	14 844.75	89.52	-0.12	叶绿体
<i>VaSOD4</i>	VAG0114313.1	323	9.39	37 258.79	75.23	-0.56	线粒体
<i>VaSOD5</i>	VAG0118169.1	511	8.78	56 599.03	87.36	-0.29	线粒体
<i>VaSOD6</i>	VAG0119236.1	152	5.49	15 270.94	80.13	-0.12	叶绿体
<i>VaSOD7</i>	VAG0122724.1	393	5.76	44 696.64	77.23	-0.48	叶绿体
<i>VaSOD8</i>	VAG0122731.1	306	5.42	34 927.46	76.24	-0.56	叶绿体
<i>VvSOD1</i>	Vitvi002488.t01	322	5.66	33 844.25	88.66	0.01	叶绿体



续表2 Continued2

基因		编码的蛋白质					
名称	登录号	氨基酸序列长度(aa)	等电点	相对分子量	不稳定系数	亲水指数	亚细胞定位
<i>VvSOD2</i>	Vitvi010272.t01	249	7.90	27 599.63	93.65	-0.27	叶绿体
<i>VvSOD3</i>	Vitvi010902.t01	221	5.87	22 537.50	92.22	0.06	叶绿体
<i>VvSOD4</i>	Vitvi015551.t01	156	7.19	15 786.74	83.78	-0.16	细胞质
<i>VvSOD5</i>	Vitvi019369.t01	352	9.07	40 584.48	74.29	-0.55	线粒体
<i>VvSOD6</i>	Vitvi023199.t01	228	6.80	25 283.90	91.89	-0.31	线粒体
<i>VvSOD7</i>	Vitvi025808.t01	152	5.49	15 281.92	77.57	-0.18	细胞质
<i>VvSOD8</i>	Vitvi025815.t01	80	5.26	8 898.28	86.50	0.12	细胞质
<i>VvSOD9</i>	Vitvi025821.t01	152	5.49	15 295.00	81.38	-0.12	细胞质
<i>VvSOD10</i>	Vitvi025832.t01	205	4.89	21 654.82	71.27	-0.28	细胞质
<i>VvSOD11</i>	Vitvi026272.t01	79	5.81	8 594.70	83.67	-0.39	叶绿体
<i>VvSOD12</i>	Vitvi029574.t01	306	5.42	34 834.28	75.92	-0.58	叶绿体

等电点大于 7 的为碱性蛋白质,小于 7 的为酸性蛋白质;亲水指数大于 0 的为疏水蛋白质,小于 0 的为亲水蛋白质。

二级结构预测结果(表 3)表明,所有基因编码的蛋白质均无  $\beta$ -折叠,主要为  $\alpha$ -螺旋、无规则卷曲、拓展链结构和  $\beta$ -转角。圆叶葡萄  $\alpha$ -螺旋介于 3.95%至 46.07% 之间,无规则卷曲介于 32.89%至 55.77%之间,拓展链结构介于 11.80%至 33.55%之间, $\beta$ -转角介于 3.79%至 9.05%之间;河岸葡萄  $\alpha$ -螺旋介于 3.29%至 51.75%之间,无规则卷曲介于 29.39%至 59.02%之间,拓展链结构介于 12.42%至 34.87%之间, $\beta$ -转角介于 3.21%至 9.02%之间;黑比诺  $\alpha$ -螺旋介于 2.63%至 52.19%之间,无规则卷曲介于 29.82%至 60.00%之间,拓展链结构介于 11.44%至 34.21%之间, $\beta$ -转角介于 4.82%至 10.53%之间;山葡萄  $\alpha$ -螺旋介于 3.95%至 46.08%之间,无规则卷曲介于 33.27%至 55.26%之间,拓展链结构介于 12.09%至 36.30%之间, $\beta$ -转角介于 2.94%至 8.41%之间。总之,葡萄 *SOD* 家族基因编码的蛋白质二级结构无规则卷曲和  $\alpha$ -螺旋占比较大, $\beta$ -转角占比最小,推测这可能是葡萄 *SOD* 家族基因编码的蛋白质二级结构的特点。

2.2 不同物种 *SOD* 家族基因系统进化树

经过鉴定的 12 个黑比诺葡萄、8 个山葡萄、10 个圆叶葡萄、15 个河岸葡萄 *SOD* 基因和从 NCBI 中获取的 8 个番茄、19 个拟南芥、9 个水稻 *SOD* 基因,将这 81 个 *SOD* 基因利用软件 MEGA X 构建系统进化树(图 1),根据其亲缘关系的远近将 81 个 *SOD* 基因分为 5 个亚族,其中第Ⅰ亚族中含有 27 个成员,第Ⅱ亚族

中含有 13 个成员,第Ⅲ亚族中仅含有 1 个成员,第Ⅳ亚族中含有 5 个成员,第Ⅴ亚族中含有 35 个成员。*VaSOD4*、*VaSOD7*、*VaSOD8*、*VvSOD5*、*VvSOD12*、*VrSOD5*、*VrSOD6*、*VrSOD14*、*VrSOD15*、*VmSOD10* 位于第Ⅰ亚家族;*VaSOD2*、*VaSOD5*、*VrSOD3*、*VrSOD7*、*VvSOD2*、*VvSOD6*、*VmSOD2*、*VmSOD6* 位于第Ⅱ亚家族;*VvSOD1*、*VrSOD1*、*VmSOD1* 位于第Ⅳ亚家族;*VrSOD* 的 9 个成员和 *VvSOD* 的 7 个成员、*VmSOD* 的 6 个成员以及 *VaSOD* 的 3 个成员位于第Ⅴ亚家族。4 种葡萄的 *SOD* 基因与水稻、番茄的 *SOD* 基因亲缘关系较近,推测这 3 个物种的 *SOD* 基因在功能方面可能具有一定相似性。

2.3 葡萄 *SOD* 家族基因的染色体定位和共线性分析

利用 TBtools 进行染色体定位分析(图 2)。河岸葡萄 *VrSOD* 基因定位在 7 条染色体上,其中 2 号、8 号和 13 号染色体上各有 1 个基因,6 号、10 号和 16 号染色体上均有 2 个基因,14 号染色体上基因分布最多,有 6 个基因,占河岸葡萄 *SOD* 总基因数的 40%。圆叶葡萄 *VmSOD* 基因定位在 6 条染色体上,其中 2 号、8 号、13 号和 16 号染色体上各分布 1 个基因,6 号和 14 号染色体上均有 3 个基因。山葡萄 *VaSOD* 家族基因不均匀地分布在 6 条染色体上,6 号和 16 号染色体上各有 2 个基因,8 号、10 号、13 号和 14 号染色体上各有 1 个基因。黑比诺葡萄 *VvSOD* 基因定位在 7 条染色体上,2 号、8 号、10 号、

13 号和 16 号染色体上各有 1 个基因,6 号染色体上有 2 个基因,14 号染色体上基因分布最多,有 5 个基因,占黑比诺葡萄 *SOD* 总基因数的 41.67%。河岸葡萄、圆叶葡萄和黑比诺葡萄 *SOD* 基因均在 14 号染色体上基因分布最多。为了进一步了解基因家族的进化关系,本研究使用 TBtools 的 MCScanX 工具进行了种内共线性分析(图 3)。圆叶葡萄 *VmSOD* 家族基因有 6 对共线性关系,位于 2 号染色体、6 号染色体、13 号染色体、14 号染色体和 16 号染色体上,分别是 *VmSOD1/VmSOD3*、*VmSOD2/VmSOD6*、*VmSOD3/VmSOD9*、*VmSOD7/VmSOD8*、*VmSOD7/Vm-*

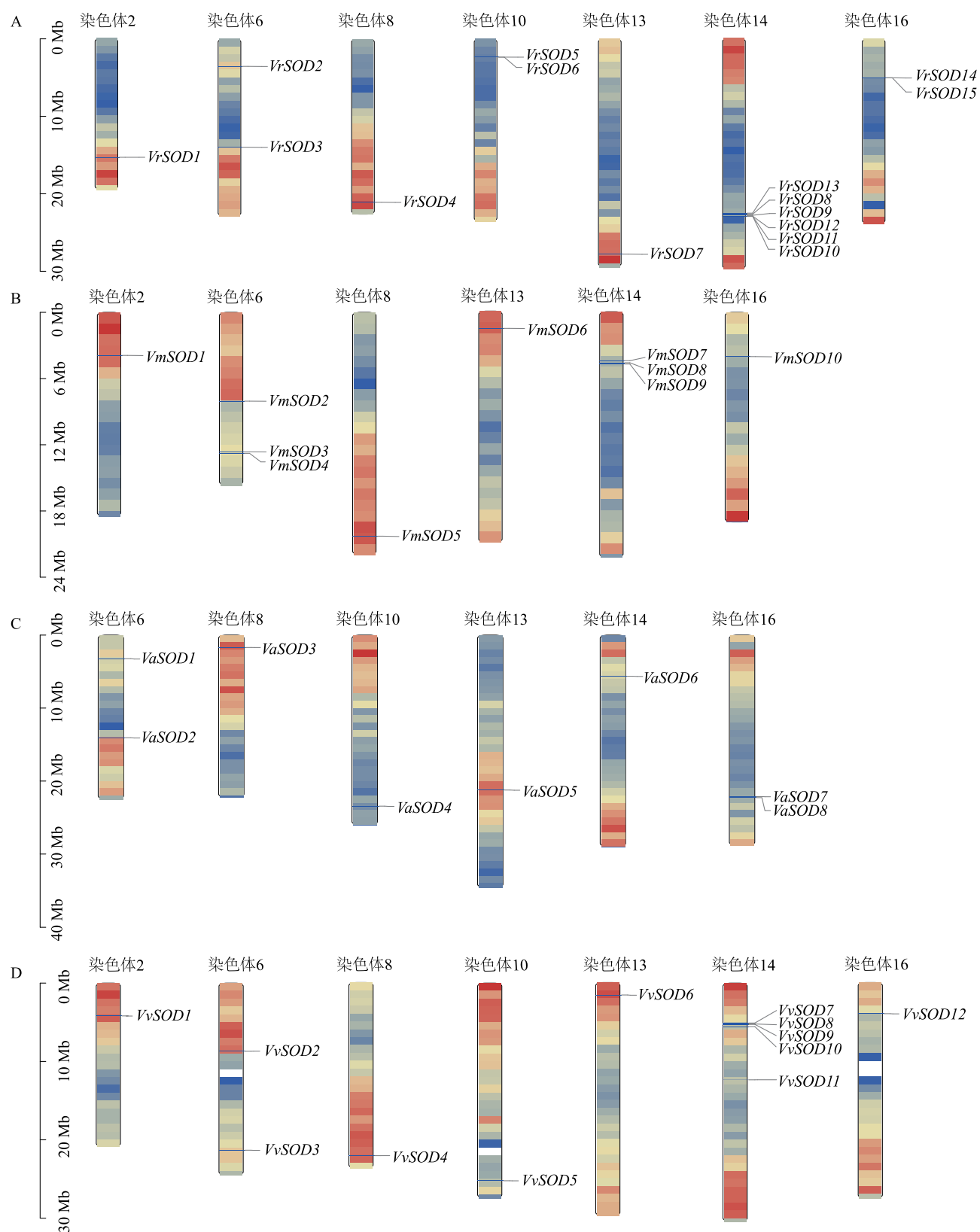
*SOD9* 和 *VmSOD6/VmSOD10*, 其中 *VmSOD3*、*VmSOD6*、*VmSOD7* 和 *VmSOD9* 有 2 个串联重复序列,这些结果表明部分 *VmSOD* 基因可能是通过基因重复产生的,它们可能具有相似的功能;黑比诺葡萄 *VvSOD* 家族基因有 1 对共线性关系,位于染色体 14 上,为 *VvSOD7/VvSOD11*;山葡萄 *VaSOD* 家族基因有 1 对共线性关系,位于 6 号染色体和 13 号染色体上,为 *VaSOD2/VaSOD5*;河岸葡萄 *VrSOD* 家族基因有 1 对共线性关系,位于 6 号染色体和 13 号染色体上,为 *VrSOD3/VrSOD7*。

表 3 4 种葡萄 *SOD* 基因编码的蛋白质二级结构

Table 3 Secondary structure of proteins encoded by *SOD* genes in four kinds of grapes

基因	编码的蛋白质				基因	编码的蛋白质			
	$\alpha$ -螺旋 (%)	拓展链结构 (%)	$\beta$ 转角 (%)	无规则卷曲 (%)		$\alpha$ -螺旋 (%)	拓展链结构 (%)	$\beta$ 转角 (%)	无规则卷曲 (%)
<i>VmSOD1</i>	34.4	20.19	7.14	38.20	<i>VaSOD1</i>	17.19	28.51	7.24	47.06
<i>VmSOD2</i>	46.07	11.80	5.06	37.08	<i>VaSOD2</i>	41.70	13.51	5.41	39.38
<i>VmSOD3</i>	18.10	26.70	9.05	46.15	<i>VaSOD3</i>	4.11	36.30	8.22	51.37
<i>VmSOD4</i>	18.10	26.70	9.05	46.15	<i>VaSOD4</i>	34.98	15.79	3.41	45.82
<i>VmSOD5</i>	5.77	33.33	5.13	55.77	<i>VaSOD5</i>	37.57	20.74	8.41	33.27
<i>VmSOD6</i>	46.05	15.35	5.70	32.89	<i>VaSOD6</i>	3.95	34.87	5.92	55.26
<i>VmSOD7</i>	3.95	33.55	8.55	53.95	<i>VaSOD7</i>	43.26	13.49	5.60	37.66
<i>VmSOD8</i>	41.67	16.67	3.79	37.88	<i>VaSOD8</i>	46.08	12.09	2.94	38.89
<i>VmSOD9</i>	42.05	17.80	4.17	35.98	<i>VvSOD1</i>	30.75	22.98	6.83	39.44
<i>VmSOD10</i>	46.05	15.35	5.70	32.89	<i>VvSOD2</i>	48.59	14.86	4.82	31.73
<i>VrSOD1</i>	32.92	18.63	7.45	40.99	<i>VvSOD3</i>	19.46	27.15	6.33	47.06
<i>VrSOD2</i>	18.10	28.05	7.24	46.61	<i>VvSOD4</i>	3.85	32.05	5.13	58.97
<i>VrSOD3</i>	43.57	14.29	3.21	38.93	<i>VvSOD5</i>	34.94	16.19	5.11	43.75
<i>VrSOD4</i>	4.49	33.97	6.41	55.13	<i>VvSOD6</i>	52.19	13.16	4.82	29.82
<i>VrSOD5</i>	44.92	17.37	3.39	34.32	<i>VvSOD7</i>	3.29	32.24	8.55	55.92
<i>VrSOD6</i>	41.29	16.67	3.41	38.64	<i>VvSOD8</i>	8.75	22.50	8.75	60.00
<i>VrSOD7</i>	51.75	12.72	6.14	29.39	<i>VvSOD9</i>	2.63	34.21	10.53	52.63
<i>VrSOD8</i>	17.21	27.87	9.02	45.90	<i>VvSOD10</i>	8.78	31.22	7.32	52.68
<i>VrSOD9</i>	3.29	32.89	8.55	55.26	<i>VvSOD11</i>	3.80	27.85	10.13	58.23
<i>VrSOD10</i>	4.92	28.69	7.38	59.02	<i>VvSOD12</i>	47.06	11.44	5.23	36.27
<i>VrSOD11</i>	3.29	32.89	8.55	55.26					
<i>VrSOD12</i>	3.29	34.87	7.24	54.61					
<i>VrSOD13</i>	20.11	29.10	6.88	43.92					
<i>VrSOD14</i>	49.67	12.42	4.58	33.33					
<i>VrSOD15</i>	49.67	12.42	4.58	33.33					





A: 河岸葡萄; B: 圆叶葡萄; C: 山葡萄; D: 黑比诺葡萄。

图2 4种葡萄 *SOD* 家族基因在染色体上的位置

Fig.2 Location of *SOD* family genes on chromosomes in four kinds of grapes



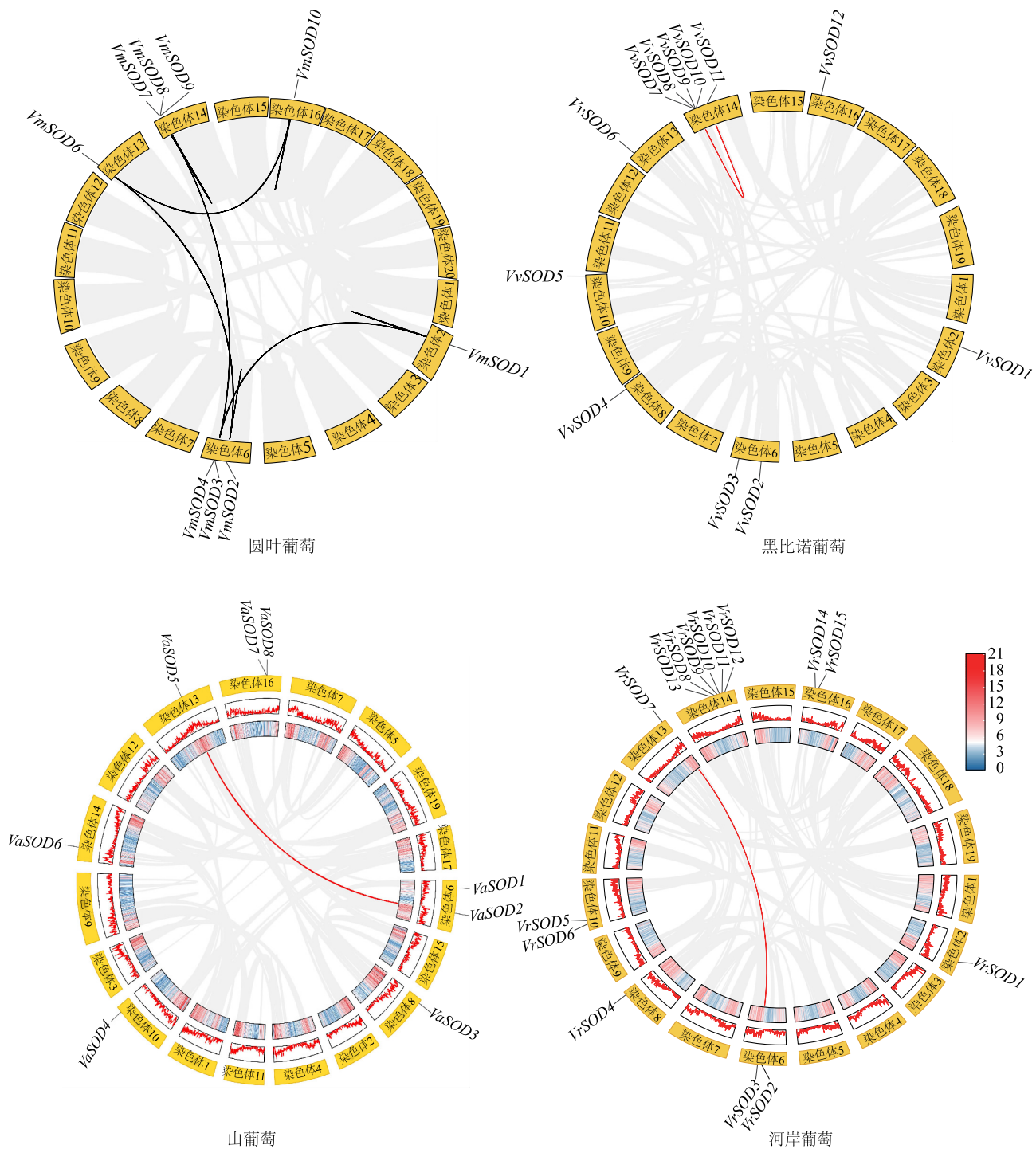


图 3 4 种葡萄 SOD 家族基因的共线性关系  
Fig.3 Collinearity of SOD family genes in four kinds of grapes

motif 结构相似。在同一亚族中基因 motif 的种类和数量相似,但同一亚族不同分支间 motif 的种类和数量有差异。总之,4 种葡萄 SOD 基因中碱基序列相对保守,基序种类、数量和分布差异较小。根据基因结构分析,第 I 亚族中 12 基因不含非翻译区,内含

子数量为 4~7 个;*VvSOD1*、*VrSOD1* 和 *VmSOD1* 含有 4 个内含子,且 *VvSOD1* 和 *VmSOD1* 具有相似的内含子分布和长度,大多数基因含有 7 个内含子,*VvSOD10* 编码序列长度最长。第 II 亚族中的 3 个基因都不含非翻译区,内含子数量 2~4 个,其中 *Vr-*

*SOD9* 含有 4 个内含子,且碱基序列在该亚族中长度最长。第Ⅲ亚族中仅有 5 个基因含有非翻译区,除 *VmSOD2* 不含内含子,其他均含有 5 个以上内含子,其中 *VaSOD8* 含有 11 个内含子。结果表明,同一亚

家族不同基因之间的基因结构相似,但并不完全相同,这可能是由于 *SOD* 基因功能的多样性以及在进化过程中发生了变异。

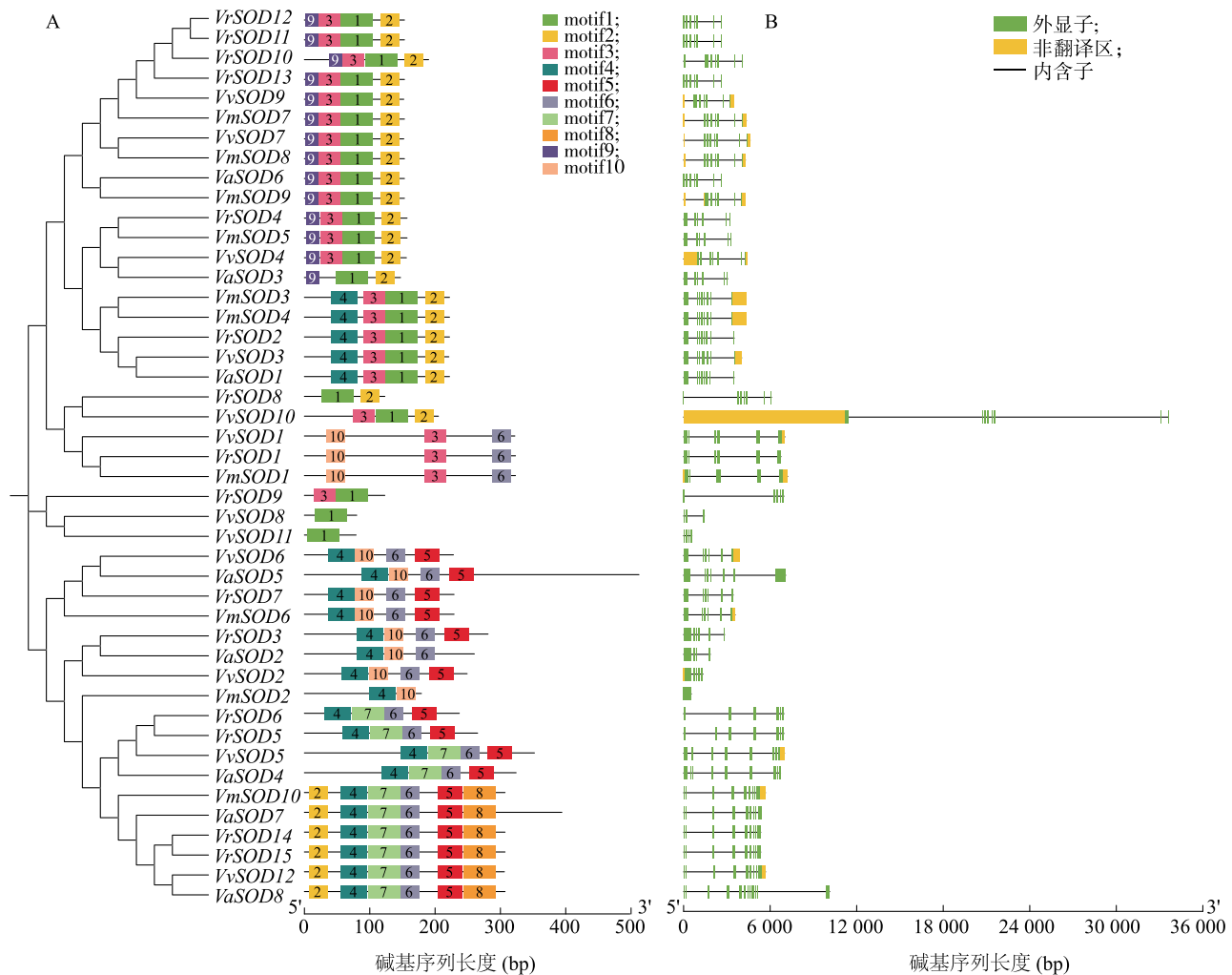


图4 4种葡萄 *SOD* 基因结构(A)与葡萄 *SOD* 保守基序 motif(B)

Fig.4 Structure of *SOD* genes (A) and conserved motif of *SOD* genes (B) in four kinds of grapes

## 2.5 葡萄 *SOD* 基因顺式作用元件

为了进一步明确葡萄 *SOD* 家族基因的潜在功能,本研究分析了上游 2 kb 区域的顺式作用元件(图 5)。结果表明, *VmSOD*、*VrSOD*、*VvSOD* 和 *VaSOD* 均含有 4 种顺式作用元件,包括光响应元件、激素响应元件、防御和应激响应元件以及生长发育相关元件。多数基因含有 ABA 响应元件,其中 *VvSOD6*、*VvSOD10*、*VaSOD7*、*VmSOD6* 和 *VaSOD5* 居多, *VvSOD6* 和 *VvSOD10* 含有 5 个, *VmSOD6* 和 *VaSOD5* 含有 6 个, *VaSOD7* 含有 7 个。在山葡萄中,

*VaSOD* 含有较多的 ABA 和赤霉素(GA)响应元件,在河岸葡萄、黑比诺和圆叶葡萄中生长素、赤霉素和水杨酸响应元件相对较少。防御和胁迫响应元件包括低温、干旱、厌氧诱导等,除 *VaSOD6*、*VvSOD8*、*VmSOD10* 和 *VrSOD3* 不含厌氧诱导响应元件外,其他均含有厌氧诱导响应元件,其中 *VrSOD8* 最多,数量为 4 个,推测 *SOD* 在厌氧诱导中起着重要的调控作用。综上,4 种葡萄 *SOD* 家族基因不仅可以进行正常的转录活动,还可以参与光响应、激素响应、应激响应和生长发育。

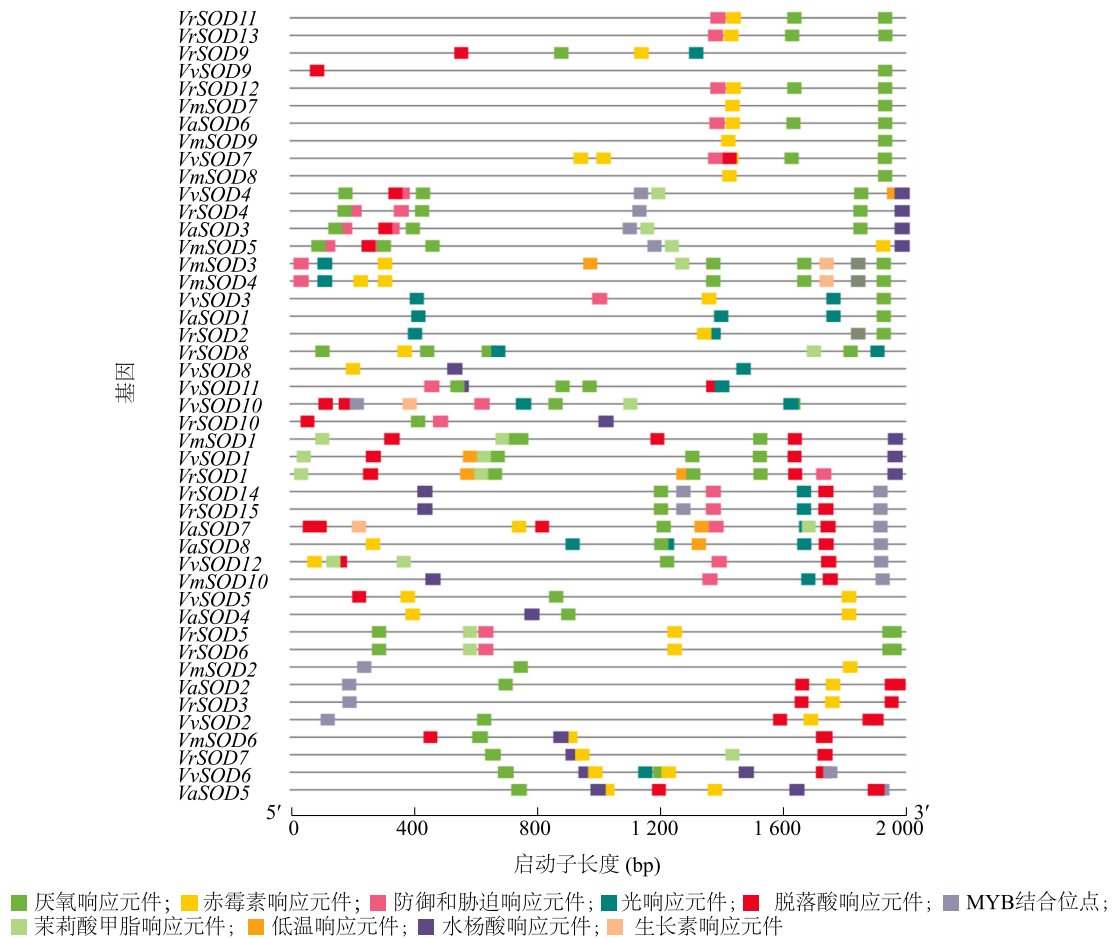


图 5 4 种葡萄 SOD 家族基因的顺式作用元件

Fig.5 Cis-acting elements of SOD family genes in four kinds of grapes

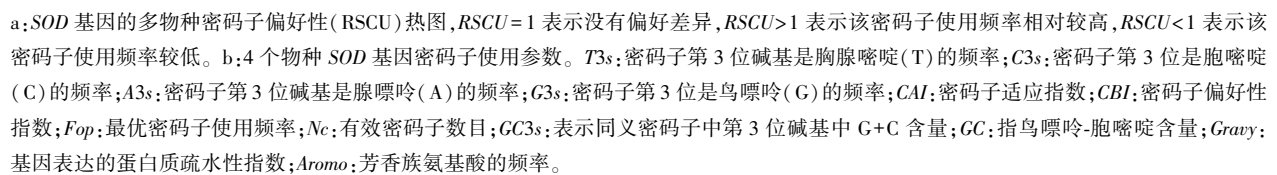
## 2.6 葡萄 SOD 家族基因的密码子偏好性

为了解 SOD 基因在植物中的进化情况,本研究系统分析了 SOD 家族基因在 4 种葡萄中相对同义密码子的使用频率(图 6)。结果发现,在 4 种葡萄的 SOD 家族基因中,UUC、CUU、AUG、AUU、GUU、UCU、UCC、CCU、ACU、GCU、UGA、CAU、CAG、AAU、GAU、AGA、AGG、GGU 和 GGA 等 19 个密码子的同义密码子相对使用度(RSCU)  $\geq 1$ ,其中 11 个密码子以 U 结尾,3 个密码子以 A 结尾,3 个密码子以 G 结尾,2 个密码子以 C 结尾,这表明葡萄 SOD 基因中密码子第 3 个碱基更倾向于 U。此外,CUU 和 AGA 在 4 种葡萄 SOD 基因中均表现出强烈的偏好性,GAU 在河岸葡萄 SOD 基因中的偏好性最强(图 6a)。根据分析发现,葡萄 SOD 家族基因密码子适应指数(CAI)、密码子偏好性指数(CBI)和最优密码子使用频率( $F_{op}$ )的平均值分别为 0.212 5、-0.012 5 和 0.412 5。4 种葡萄 SOD 基因的 G+C 含量和同义密码子第 3 位碱基中 G

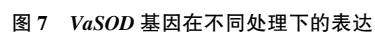
+C 含量(GC3s)均小于 0.5,说明葡萄 SOD 基因不偏好于使用 G、C 碱基;葡萄 SOD 家族基因的有效密码子数目( $N_c$ )值在 50.06~52.45,平均值为 51.405 0,说明在该家族基因中每个密码子都被平均使用(图 6b)。

实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)结果表明,Va-SOD 家族基因在 NaCl、ABA、SA 和低温诱导下,不同基因对不同非生物胁迫响应表达模式有差异(图 7)。NaCl 处理下,除 VaSOD3 的相对表达量随处理时间(3~48 h 处理期间)的增加逐渐下降外,其他基因表达量随处理时间的增加波动较大,VaSOD2 在 48 h 时达到高峰,其表达量是对照(对照为 1)的 7.94 倍。在 ABA 处理下,VaSOD6 的相对表达量随处理时间的增加而增加,VaSOD4 在 48 h 时达到高峰,表达量是对照的 9.57 倍,VaSOD6 在 48 h 时达到高峰,表达量是对照的 7.24 倍。SA 处理下,VaSOD2 的相对表达量在 0~24 h 随处理时间的增加

8.12 倍。qRT-PCR 结果表明,盐胁迫、2 种激素和低温胁迫均能诱导葡萄 *SOD* 基因不同程度表达,且 *VaSOD2*、*VaSOD4*、*VaSOD6* 多在处理 48 h 时达到峰值。



**Fig.6 Analysis of codon usage bias in four kinds of grapes**



**Fig.7 Expression of *VaSOD* gene under different treatments**



### 3 讨论

超氧化物歧化酶(*SOD*)是植物抗氧化系统的关键酶,可有效保护细胞和机体本身,增强植物在逆境胁迫下的耐受能力。本研究对 4 种葡萄 *SOD* 基因的全基因组、系统发育关系、基因结构、保守基序、染色体定位、共线性、密码子使用偏好、顺式作用元件和表达模式进行了综合分析,从欧洲葡萄黑比诺葡萄中鉴定出 12 个 *SOD* 基因,从山葡萄中鉴定出 8 个 *SOD* 基因,从河岸葡萄中鉴定出 15 个 *SOD* 基因,从圆叶葡萄中鉴定出 10 个 *SOD* 基因。从前人研究结果可知,目前在毛竹中发现 7 个 *SOD* 基因<sup>[27]</sup>,番茄中 9 个<sup>[28]</sup>,谷子中 8 个<sup>[29]</sup>,水稻中 9 个<sup>[30]</sup>,大豆中 13 个<sup>[31]</sup>,辣椒中 15 个<sup>[32]</sup>,油菜中 32 个<sup>[33]</sup>,由此可见,在不同物种中 *SOD* 基因数目存在较大差异。理化性质分析结果表明,4 种葡萄 *SOD* 基因编码的蛋白质大部分为酸性蛋白质,只有 13 个基因编码的蛋白质为碱性蛋白质,大部分基因编码的蛋白质为亲水性蛋白质,在植物中功能保持相对稳定,这与郭栋等<sup>[33]</sup>对油菜 *SOD* 家族基因生物信息学分析的结果相一致。4 种葡萄不同基因的染色体定位及其编码的蛋白质长度、相对分子量、等电点、亲水性等特征均有差异,但蛋白质二级结构均以  $\alpha$  螺旋和无规则卷曲为主,无  $\beta$ -折叠;亚细胞定位预测结果表明 4 种葡萄 *SOD* 基因编码的蛋白质主要定位于叶绿体、线粒体和细胞质中,这与绿豆 *SOD* 家族基因编码的蛋白质主要定位在叶绿体中的结果<sup>[34]</sup>相似,也为葡萄 *SOD* 酶生物学功能的研究提供了基础信息。

4 种葡萄 *SOD* 基因保守性较强,在进化中没有太大的分化,且与水稻和番茄的亲缘关系较近。据此推测,这 3 个物种的 *SOD* 家族基因并没有发生太大的分化,而是相对保守的。在保守基序分析中发现 4 种葡萄的基序存在一些差异,因此推测该家族基因在进化过程中存在一定的变异。基因复制在生物进化过程中发挥着重要作用,包括串联复制、局部复制和全基因组复制<sup>[35]</sup>。本研究中 *SOD* 基因染色体定位结果显示,不同葡萄 *SOD* 基因在染色体上的分布大多呈两端分布,并且一些基因在染色体上形成基因簇,根据位置及序列信息,推测它们是串联重复基因。种内共线性分析结果显示,黑比诺葡萄、山葡萄和河岸葡萄分别仅有 1 对基因为共线性关系,而圆叶葡萄中有 6 对基因为共线性关系,由此推测

串联重复和片段重复是葡萄 *SOD* 基因家族成员数量扩增的主要方式。

当植物遭受干旱、高温、低温、盐碱等外界非生物胁迫时,胁迫信号会通过转导机制整合到信号因子中,并激活相应的转录因子,加上相应的顺式作用元件启动相应的基因表达和对胁迫的反应<sup>[36-37]</sup>。例如,ABA 响应元件(ABREs)可以响应 ABA、干旱和盐胁迫<sup>[38]</sup>;LTR 参与低温响应和调控<sup>[39]</sup>;MYB 可以响应各种应激信号和应激调控,调控相应基因<sup>[40]</sup>。本研究分析了葡萄 45 个 *SOD* 基因的上游 2 kb 顺式作用元件,结果发现 *VmSOD*、*VrSOD*、*VvSOD* 和 *VaSOD* 均含有光响应元件、激素响应元件、防御和应激响应元件、生长发育相关元件,这表明葡萄 *SOD* 家族基因对植物生长发育有显著调控作用。其中,光响应元件、ABA 响应元件和生长素响应元件在 *SOD* 基因的作用元件中占很大比例,已有研究结果表明在 3 种蔷薇科植物中 *SOD* 酶活性与激素及光响应密切相关<sup>[41]</sup>,由此推测葡萄中 *SOD* 酶活性与 ABA、SA 及光响应密切相关。

根据系统发育关系可见,位于同一分支上的基因其保守基序和顺式作用元件的种类和数量相似,如分布于第 V 亚族同一个分支的 4 种葡萄 *SOD* 基因均含有 motif 1,且大都包含厌氧响应元件和 ABA 响应元件,推测这些基因可能作为正调控因子参与了 ABA 信号响应;已有研究结果表明位于同一亚族的基因,由于基因结构和保守基序相似,在功能方面也具有相似性<sup>[42]</sup>,因此推测和 *VaSOD3* 在同一分支的 *VrSOD4*、*VvSOD4*、*VmSOD5* 可能也参与 ABA 信号响应;分布于第 IV 亚族同一分支的 3 个葡萄 *SOD* 成员均含有 motif 3、motif 6、motif 10,且都包含 4 个 MeJA 响应元件、2 个 ABA 响应元件、1 个 SA 响应元件和 3 个厌氧响应元件,推测这些基因可能作为正调控因子参与了 ABA、MeJA 和 SA 信号响应;在 ABA 胁迫下,只有 *VaSOD7* 表达受到抑制(5 个 ABA 胁迫时间下 *VaSOD7* 相对表达量均小于 1),推测 *VaSOD7* 是 ABA 信号和非生物胁迫的负调控基因。

密码子使用偏好性分析也有助于理解进化关系。本研究通过对 8 个山葡萄、12 个黑比诺葡萄、15 个河岸葡萄和 10 个圆叶葡萄 *SOD* 家族基因的密码子使用偏好性进行分析,结果表明,CUU 和 AGA 在 4 种葡萄 *SOD* 基因中均表现出强烈的偏好性,而 GAU 在河岸葡萄 *SOD* 基因中的偏好性最强,且 4 种



葡萄在密码子使用上不同基因间存在差异,不偏好于使用 G、C 碱基。密码子偏好性的研究可为葡萄转基因和密码子优化提供理论支持。

## 4 结 论

本研究鉴定到 45 个葡萄 SOD 家族基因,并对这些基因的结构和 motif、顺式作用元件、系统发育树、染色体定位、密码子偏好性、共线性及编码的蛋白质理化性质等进行了详细分析。其中保守基序分析结果表明,4 种葡萄 SOD 家族基因在进化过程中具有较高的保守性,此外, *VaSOD2*、*VaSOD4*、*VaSOD6* 在 ABA、SA、NaCl、低温等逆境胁迫应答过程中具有重要功能。总之,本研究结果丰富和深化了对葡萄 SOD 家族基因的认识,为进一步研究葡萄 SOD 基因在非生物胁迫下的抗性机制奠定了基础。

## 参考文献:

- [1] 郭 笑,苑广信,王曼力,等. 番茄超氧化物歧化酶的生物信息学分析[J]. 北方园艺,2016(21):97-101.
- [2] 魏 婧,徐 畅,李可欣,等. 超氧化物歧化酶的研究进展与植物抗逆性[J]. 植物生理学报,2020,56(12):2571-2584.
- [3] 宗 琪,张生才,范国泰,等. 聚- $\gamma$ -谷氨酸对柑橘苗木性状的 GABA 的影响[J]. 华中农业大学学报,2020,39(5):108-114.
- [4] MAO H J, WEN Y Y, YU Y H. Ignored role of polyphenol in boosting reactive oxygen species generation for polyphenol/chemodynamic combination therapy[J]. Materials Today Bio,2022,16:100436.
- [5] ANTHONY D, PAPANICOLAOU A, WANG H. et al. Excessive reactive oxygen species inhibit IL-17A<sup>+</sup>  $\gamma\delta$  T cells and innate cellular responses to bacterial lung infection[J]. Antioxidants & Redox Signaling,2019,32(13):943-956.
- [6] 周雪婷,梁国平,卢世雄,等. 葡萄糖醛还原酶(AKR)基因家族的鉴定与表达分析[J]. 西北植物学报,2022,42(11):1851-1861.
- [7] DU J, ZHU Z, LI W C. Over-expression of exotic superoxide dismutase gene Mn-SOD and increase in stress resistance in maize[J]. Journal of Plant Physiology and Molecular Biology,2006,32(1):57-63.
- [8] 夏民旋,王 维,袁 瑞,等. 超氧化物歧化酶与植物抗逆性[J]. 分子植物育种,2015,13(11):2633-2646.
- [9] AENGWANICH W, WANDEE J. The effect of increased ambient temperature on Hsp70, superoxide dismutase, nitric oxide, malondialdehyde, and caspase activity in relation to the intrinsic and extrinsic apoptosis pathway of broiler blood cells[J]. Journal of Thermal Biology,2022,105:103211.
- [10] 张静文,张力文,严云香,等. 草海桐铜锌超氧化物歧化酶基因的克隆及序列分析[J]. 西南农业学报,2022,35(2):425-431.
- [11] LIN K H, SEI S C, SU Y H, et al. Overexpression of the *Arabidopsis* and winter squash superoxide dismutase genes enhances chilling tolerance via ABA-sensitive transcriptional regulation in transgenic *Arabidopsis*[J]. Plant Signaling & Behavior,2019,14(12):1685728.
- [12] CHE Y Z, ZHANG N, ZHU X, et al. Enhanced tolerance of the transgenic potato plants overexpressing Cu/Zn superoxide dismutase to low temperature[J]. Scientia Horticulturae,2020,261:108949.
- [13] XU J, YANG J, DUAN X G, et al. Increased expression of native cytosolic Cu/Zn superoxide dismutase and ascorbate peroxidase improves tolerance to oxidative and chilling stresses in cassava (*Manihot esculenta* Crantz)[J]. BMC Plant Biology,2014,14(1):208.
- [14] 吴嘉煜,米 楠. 重金属对植物抗氧化酶影响研究进展[J]. 浙江农业科学,2022,63(6):1177-1181.
- [15] SHIRAYA T, MORI T, MARUYAMA T, et al. Golgi/plastid-type manganese superoxide dismutase involved in heat-stress tolerance during grain filling of rice[J]. Plant Biotechnology Journal,2015,13(9):1251-1263.
- [16] SONG X S, WANG Y J, MAO W H, et al. Effects of cucumber mosaic virus infection on electron transport and antioxidant system in chloroplasts and mitochondria of cucumber and tomato leaves[J]. Physiologia Plantarum,2009,135(3):246-257.
- [17] 于海瑞. 低温胁迫下玉米幼苗的几种生理生化指标的变化[J]. 吉林农业,2017(12):66.
- [18] 张利鹏,刘怀峰,辛海平. 葡萄抗寒机制研究进展[J]. 果树学报,2023,40(2):350-362.
- [19] 李婉莹,马乃膺,左存武,等. 葡萄 CR4 类受体激酶基因家族的鉴定及表达分析[J]. 果树学报,2022,39(4):518-531.
- [20] JAILLON O, AURY J M, NOEL B, et al. The grapevine genome sequence suggests ancestral hexaploidization in major angiosperm phyla[J]. Nature,2007,449(7161):463-467.
- [21] GIROLLET N, RUBIO B, LOPEZ-ROQUES C, et al. De novo phased assembly of the *Vitis riparia* grapevine genome[J]. Scientific Data,2019,6(1):127.
- [22] 樊秀彩,张 颖,姜建福,等. SSR 分子标记鉴定山葡萄和河岸葡萄种间杂种[J]. 西北植物学报,2012,32(11):2195-2200.
- [23] 张 丹,蒋振华,张海平,等. 桂北地区圆叶葡萄的引种表现及栽培技术[J]. 现代农业科技,2018(10):81-82.
- [24] LARKIN M A, BLACKSHIELDS G, BROWN N P, et al. Clustal W and Clustal X version 2.0[J]. Bioinformatics,2007,23(21):2947-2948.
- [25] KUMAR S, STECHER G, LI M. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms[J]. Molecular Biology and Evolution,2018,35(6):1547-1549.
- [26] CHEN C J, CHEN H, ZHANG Y, et al. TBtools: an integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data[J]. Molecular Plant,2020,13(8):1194-1202.
- [27] 蔡 凯. 毛竹 SOD 基因家族生物信息学与功能分析[D]. 杭州:浙江农林大学,2018.

- [28] 冯 坤. 番茄 *SOD* 基因家族的全基因组鉴定及盐胁迫下表达分析[D]. 南京:南京农业大学,2017.
- [29] 赵 艳,生云龙,宋亚菲,等. 谷子超氧化物歧化酶基因家族生物信息学分析[J]. 中国农业科技导报,2018,20(8):1-6.
- [30] 刘家林,欧阳林娟,曾嘉丽,等. 水稻 *SOD* 基因家族的全基因组分析及逆境胁迫下表达研究[J]. 分子植物育种,2018,16(9):2753-2760.
- [31] LU W X, DUANMU H Z, QIAO Y H, et al. Genome-wide identification and characterization of the soybean *SOD* family during alkaline stress[J]. PeerJ,2020,8(W1):e8457.
- [32] 朱冉冉,吉雪花,张中荣,等. 辣椒超氧化物歧化酶基因家族的生物信息学分析[J]. 石河子大学学报(自然科学版),2020,38(6):712-717.
- [33] 郭 栋,张艳阳,杜 媚,等. 油菜超氧化物歧化酶基因家族生物信息学分析[J]. 分子植物育种,2020,18(2):367-373.
- [34] 朱雪天,黄 勇,卢 有,等. 绿豆 *SOD* 基因的生物信息学分析及盐胁迫下的表达分析[J]. 分子植物育种,2023,21(15):4886-4894.
- [35] XU G X, GUO C C, SHAN H Y, et al. Divergence of duplicate genes in exon-intron structure[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,2012,109(4):1187-1192.
- [36] HADIARTO T, TRAN L S. Progress studies of drought-responsive genes in rice[J]. Plant Cell Reports,2011,30(3):297-310.
- [37] SHINOZAKI K, YAMAGUCHI-SHINOZAKI K. Gene expression and signal transduction in water-stress response[J]. Plant Physiology,1997,115(2):327-334.
- [38] LI W, CUI X, MENG Z L, et al. Transcriptional regulation of arabidopsis *MIR168a* and *ARGONAUTE1* homeostasis in abscisic acid and abiotic stress responses[J]. Plant Physiology,2012,158(3):1279-1292.
- [39] MAESTRINI P, CAVALLINI A, RIZZO M, et al. Isolation and expression analysis of low temperature-induced genes in white poplar(*Populus alba*) [J]. Journal of Plant Physiology,2009,166(14):1544-1556.
- [40] HARTMANN U, SAGASSER M, MEHRTENS F, et al. Differential combinatorial interactions of cis-acting elements recognized by R2R3-MYB, BZIP, and BHLH factors control light-responsive and tissue-specific activation of phenylpropanoid biosynthesis genes [J]. Plant Molecular Biology,2005,57(2):155-171.
- [41] LI G H, HU F, ZHANG Y, et al. Comparative genomic analysis of superoxide dismutase (*SOD*) genes in three Rosaceae species and expression analysis in *Pyrus bretschneideri*[J]. Physiology and Molecular Biology of Plants,2021,27(1):39-52.
- [42] GUO L L, LU S X, LIU T, et al. Genome-wide identification and abiotic stress response analysis of *PP2C* gene family in woodland and pineapple strawberries[J]. International Journal of Molecular Sciences,2023,24(4):4049.

(责任编辑:黄克玲)