

曾 坚, 王舒婷, 周洁薇, 等. 粉蕉 *PAL* 家族基因的鉴定及其在逆境胁迫下的表达分析[J]. 江苏农业学报, 2023, 39(6): 1286-1293.
doi:10.3969/j.issn.1000-4440.2023.06.003

粉蕉 *PAL* 家族基因的鉴定及其在逆境胁迫下的表达分析

曾 坚¹, 王舒婷¹, 周洁薇¹, 胡 伟^{2,3}, 曾力旺^{2,3}

(1. 韶关学院广东省粤北食药资源利用与保护重点实验室/韶关学院英东生物与农业学院, 广东 韶关 512005; 2. 中国热带农业科学院热带生物技术研究所, 海南 海口 571101; 3. 中国热带农业科学院科技信息研究所, 海南 海口 571101)

摘要: 苯丙氨酸解氨酶(*PAL*) 在植物生长发育和对生物/非生物胁迫的响应中起着重要作用, 因此有必要对香蕉中的 *PAL* 家族基因进行详细的研究。本研究从粉蕉基因组中鉴定出 8 个 *MaPAL* 基因, 分别命名为 *MaPAL1*~*MaPAL8*, 在系统发育树中 *MaPAL6* 基因单独被分成一支。根据基因系统进化关系、蛋白质结构域和基因结构的分析, 8 个 *MaPAL* 基因属于 *PAL* 家族基因。转录组分析结果表明, *MaPAL* 基因参与了粉蕉的发育、成熟以及对生物/非生物胁迫的响应。*MaPAL4* 基因在所有果实发育和成熟阶段都表现出高表达。*MaPAL1* 和 *MaPAL7* 基因可能对非生物胁迫有响应, *MaPAL2* 和 *MaPAL8* 基因的表达在香蕉枯萎病菌 4 号生理小种(Foc4) 感染时被明显抑制, 可能响应 Foc4 的感染。和巴西蕉相比, *MaPAL* 基因在粉蕉中被低温和渗透胁迫诱导的程度要高。本研究结果为进一步研究香蕉 *PAL* 家族基因的功能提供了基础, 也为香蕉遗传改良提供了潜在基因资源。

关键词: 粉蕉; *PAL* 家族基因; 非生物胁迫; 生物胁迫

中图分类号: S668.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2023)06-1286-08

Identification of *PAL* family genes in Pisang Awak and their expression analysis under stress conditions

ZENG Jian¹, WANG Shu-ting¹, ZHOU Jie-wei¹, HU Wei^{2,3}, ZENG Li-wang^{2,3}

(1. Guangdong Provincial Key Laboratory of Utilization and Conservation of Food and Medicinal Resources in Northern Region, Shaoguan University/Henry Fok College of Biology and Agriculture, Shaoguan University, Shaoguan 512005, China; 2. Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 571101, China; 3. Institute of Scientific and Technical Information, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 571101, China)

Abstract: Phenylalanine ammonia-lyase (*PAL*) plays an important role in plant growth, development and response to biotic/abiotic stresses. Therefore, it is necessary to investigate *PAL* family genes in banana. In this study, eight *MaPAL* genes were identified from the Pisang Awak genome, which were named as *MaPAL1*–*MaPAL8*. The *MaPAL6* gene was individually divided into one branch. The phylogenetic relationship, protein domain and gene structure analysis showed that eight *MaPAL* genes belonged to *PAL* family genes. Trans-

收稿日期: 2022-12-10

基金项目: 广东省基础与应用基础研究基金项目 (2023A1515010336、2021A1515011236); 广东省普通高校重点领域专项 (2022ZDZX4047); 韶关学院重点项目 (SZ2022KJ05); 国家自然科学基金项目 (31901537); 韶关学院博士启动项目 (99000615); 国家级大学生创新创业训练计划项目 (202310576009)

作者简介: 曾 坚 (1987-), 男, 湖南岳阳人, 博士, 副教授, 研究方向为植物基因功能研究。(E-mail) zengjian@sgu.edu.cn

通讯作者: 曾力旺, (E-mail) zengliwang@163.com

criptomic analysis showed that *MaPAL* gene was involved in the development, maturation and response to biotic/abiotic stresses. The *MaPAL4* was highly expressed at fruit development and maturation stages. *MaPAL1* and *MaPAL7* might respond to abiotic stress. The expression of *MaPAL2* and *MaPAL8* was significantly inhibited during the infection of Foc4, which may respond to the infection of Foc4. Compared with Brazilian banana, *MaPAL* genes were highly induced by low temperature and osmotic stress in Pisang Awak. These results provide a basis for further study on the

function of *PAL* family genes and potential genetic resources for banana genetic improvement.

Key words: Pisang Awak; *PAL* family genes; abiotic stress; biotic stress

苯丙氨酸解氨酶(*PAL*)是苯丙烷代谢途径中的关键酶,*PAL*广泛存在于各种植物中^[1],能够将保守的 *L*-苯丙氨酸转化为反式肉桂酸。在植物中,苯丙烷代谢途径是重要的次生代谢途径,它会影响植物中多种次级代谢产物合成,如类黄酮、木质素、花青素等,因此会参与植物的生长发育过程和响应多种非生物环境胁迫^[2-3]。此外,*PAL* 还是重要激素水杨酸合成途径的限速酶,因此,*PAL* 在植物的生物胁迫过程中也发挥着重要作用^[4]。在植物中,*PAL* 通常是由小基因家族编码,最早从大麦中分离出了具有苯丙氨酸解氨酶活性的 *PAL*^[5]。目前已经在不同物种中鉴定到 *PAL* 家族基因,例如拟南芥^[6]、水稻^[7]、苹果^[8]等。*PAL* 家族基因影响着植物的不同生长发育过程,如拟南芥中的 *PAL2* 和 *PAL4* 在种子中表达较高,而 *PAL1*、*PAL2* 和 *PAL4* 在茎中表达较高^[1]。在苹果中,*PAL* 在果实发育的早期和成熟期高表达^[8],表明其可能影响着果实的发育过程和最终果实的品质,这和 *PAL* 影响类黄酮和花青素等次生代谢产物的合成和含量密切相关^[3]。*PAL* 和木质素的合成密切相关,木质素对提高植株抵御干旱和病原菌侵染等逆境胁迫能力具有重要作用,在拟南芥中 *PAL* 能促进木质素的合成来增加细胞壁的厚度^[6];在小麦中,*TaPAL* 基因在根中的高表达可能提高了植株响应干旱胁迫的能力^[9];在感染不同病原菌后的玉米、小麦和水稻中,*PAL* 的表达水平都显著提高^[10-12]。因此,*PAL* 基因家族在植物的生长发育和逆境胁迫响应中都发挥不同的作用。

香蕉(*Musa* ssp.)是热带地区广泛种植的水果,也是数百万人的重要粮食。大多数可食用栽培香蕉起源于种内或种间杂交的 *Musa acuminata* 和 *Musa balbisiana*^[13]。香蕉在生长过程中会遭受到香蕉枯萎病、低温、干旱等不同逆境的影响,对香蕉的产量和最终果实品质产生重要影响^[14-15]。而次级代谢产物影响着香蕉果实品质和抵抗不同逆境胁迫的能力,因此,研究香蕉中 *PAL* 家族基因种类和不同逆境处理下的表达情况具有重要意义。本研究拟从香蕉基因组中鉴定得到 *PAL* 家族基因,并研究它们的进化关系、基因结构和编码的蛋白质结构域,同时对其在不同器官、果实发育和成熟的不同阶段以及非生物/生物胁迫

响应中的表达模式进行分析,以期香蕉遗传改良提供基因资源。

1 材料与方法

1.1 材料和处理方法

粉蕉(*Musa*. ABB group, Pisang Awak subgroup)是一种具有良好风味的优良香蕉品种,对逆境具有很好的适应性。将粉蕉苗种植在无菌土壤塑料盆中,在生长室中培养,培养条件为温度 28 ℃,相对湿度 70%,光照周期 16 h/8 h,光合光子通量密度 200 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 。为了分析不同组织中 *PAL* 家族基因的表达,从 5 叶期幼苗中采集根和叶样本;为了分析果实发育过程中 *PAL* 家族基因的表达,采集开花后 0 d、20 d 和 80 d 的果实,同时收集采收后 3 d 和 6 d 的果实。用 300 mmol/L NaCl 或 200 mmol/L 甘露醇连续灌溉香蕉幼苗(5 叶期)7 d,分别作为盐胁迫处理和渗透胁迫处理。将 5 叶期香蕉幼苗置于 4 ℃ 生长室 22 h 作为低温胁迫处理。采集处理后叶片样本(每个处理 5 g)进行非生物处理的 *PAL* 家族基因表达分析。将香蕉幼苗根部(5 叶期)浸泡在每 1 ml 含有 1×10^6 个香蕉枯萎病菌 4 号生理小种(*Foc4*)分生孢子的孢子悬液中 2 h。将香蕉幼苗根部(5 叶期)浸入无菌蒸馏水中 2 h 作为对照。所有接种植株移栽到无菌土壤塑料盆中,在生长室中培养,培养条件为:温度 28 ℃,相对湿度 70%,光照周期 16 h/8 h,光合光子通量密度 200 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 。培养 2 d 后,采集根系样品进行 *PAL* 家族基因表达分析。每个样本包含 2 个生物重复样本。

1.2 香蕉 *PAL* 家族基因的鉴定及系统发育分析

利用从 PF00221 中下载的 HMMs 模型,从香蕉 A 基因中搜索得到 *MaPAL* 基因序列,然后利用得到的 *MaPAL* 基因序列构建新的 HMMs 模型,利用新 HMMs 模型从基因组中搜索鉴定 *MaPAL* 基因。使用保守结构域数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/cdd/>)和 PFAM 数据库(<http://pfam.sanger.ac.uk/>)来验证鉴定得到的 *MaPAL* 家族基因。利用下载得到的 *AtPAL* 和 *OsPAL* 基因编码的氨基酸序列,以 MEGA-X 中的 MUSCLE 方法进行序列比对,使用 Neighbor-joining 法构建系统发育树,Bootstrap 值设置为 1 000。采用

Wolf Psort 网站 (<https://wolfsort.hgc.jp/>) 进行亚细胞定位预测。

1.3 香蕉 *PAL* 家族基因结构及编码蛋白质特性

通过 ExPASy 数据库 (<http://expasy.org/>) 对相对分子质量和等电点等理化性质进行预测。利用 MEME 软件和 InterProScan 数据库对蛋白结构域序列进行鉴定。采用 GSDS 数据库 (<http://gsds.cbi.pku.edu.cn/>) 对基因结构进行分析。

1.4 转录组分析

RNA 测序中的 RNA 提取、文库制备和测序等工作由美吉生物技术有限公司(中国上海)完成。进行 RNA-seq 分析样本的收集过程参考之前的研究^[16]。每个样本包含 2 个生物重复序列。测序平台为 Illumina GAI (Illumina, San Diego, CA, USA)。FASTX (http://hannonlab.cshl.edu/fastx_toolkit/) 和 FastQC (<https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>) 用于删除接头序列和低质量序列。通过 Tophat V.2.0.10 将粉蕉样本 clean read 与香蕉基因组进行比对^[17], 使用 Cufflinks 进行转录组组装^[18]。基因的表达值使用 FPKM 值表示。使用 DEGseq 工具鉴定差异表达基因。

表 1 *MaPAL* 家族基因信息

Table 1 Information of *MaPAL* family genes

基因	基因编号	编码的蛋白质特性			
		氨基酸数目	相对分子质量	等电点	亚细胞定位
<i>MaPAL1</i>	Ma01_t04420.1	712	7.711 222×10 ⁴	5.87	细胞质
<i>MaPAL2</i>	Ma02_t00760.1	711	7.682 463×10 ⁴	5.76	细胞质
<i>MaPAL3</i>	Ma05_t03720.1	709	7.688 967×10 ⁴	6.23	细胞质
<i>MaPAL4</i>	Ma05_t20900.1	711	7.693 693×10 ⁴	6.00	细胞质
<i>MaPAL5</i>	Ma08_t14940.1	709	7.691 471×10 ⁴	5.86	细胞质
<i>MaPAL6</i>	Ma09_t15390.1	782	8.595 122×10 ⁴	5.95	细胞质
<i>MaPAL7</i>	Ma11_t14940.1	700	7.596 368×10 ⁴	5.77	细胞质
<i>MaPAL8</i>	Ma11_t21180.1	713	7.703 489×10 ⁴	5.94	细胞质
<i>OsPAL1</i>	LOC_Os02g41630.2	702	7.549 833×10 ⁴	6.47	细胞质
<i>OsPAL2</i>	LOC_Os02g41650.3	719	7.775 814×10 ⁴	6.43	细胞质
<i>OsPAL3</i>	LOC_Os02g41670.1	714	7.658 145×10 ⁴	6.09	细胞质
<i>OsPAL4</i>	LOC_Os02g41680.1	714	7.698 090×10 ⁴	6.22	细胞质
<i>OsPAL5</i>	LOC_Os04g43760.1	708	7.603 882×10 ⁴	6.37	细胞质
<i>OsPAL6</i>	LOC_Os04g43800.1	715	7.693 774×10 ⁴	6.28	细胞质
<i>OsPAL7</i>	LOC_Os05g35290.1	717	7.669 857×10 ⁴	5.94	细胞质
<i>OsPAL8</i>	LOC_Os11g48110.1	701	7.550 840×10 ⁴	6.38	细胞质
<i>OsPAL9</i>	LOC_Os12g33610.1	681	7.360 117×10 ⁴	6.14	细胞质
<i>AtPAL1</i>	AT2G37040.1	725	7.872 510×10 ⁴	6.25	细胞质
<i>AtPAL2</i>	AT3G53260.1	717	7.785 930×10 ⁴	6.42	细胞质
<i>AtPAL3</i>	AT5G04230.2	698	7.667 280×10 ⁴	6.47	细胞质
<i>AtPAL4</i>	AT3G10340.1	707	7.691 890×10 ⁴	6.22	细胞质

2 结果

2.1 *MaPAL* 家族基因的鉴定

根据 *MaPAL* 基因编码的蛋白质保守结构域构建 HMM 模型, 总共从香蕉 A 基因组中鉴定到 8 个 *MaPAL* 基因, 分别命名为 *MaPAL1* ~ *MaPAL8* (表 1)。香蕉 *MaPAL* 家族基因中 *MaPAL6* 编码的氨基酸序列最长, 为 782 个氨基酸残基, *MaPAL7* 编码的氨基酸序列最短, 为 700 个氨基酸残基。*MaPAL1* ~ *MaPAL8* 编码的蛋白质相对分子质量为 7.596×10⁴ ~ 8.595×10⁴, 等电点为 5.76~6.23, *MaPAL2* 基因编码的蛋白质等电点最低, *MaPAL3* 基因编码的蛋白质等电点最高。亚细胞定位预测结果显示, *MaPAL1* ~ *MaPAL8* 编码的蛋白质都定位于细胞质内。为了研究香蕉 *MaPAL* 家族基因的进化关系, 分别下载了拟南芥和水稻中的 *AtPAL* 和 *OsPAL* 家族基因编码的氨基酸序列 (表 1), 采用 NJ 法构建了系统发育树。结果如图 1 所示, 所有 *PAL* 基因可以分成两类, 除 *MaPAL6* 基因外, 所有香蕉 *PAL* 基因和拟南芥及水稻的 *PAL* 基因聚在一起, 而 *MaPAL6* 基因则单独成一支, 说明 *MaPAL6* 基因和水稻、拟南芥 *PAL* 基因之间的同源性低。

2.2 MaPAL 家族基因结构及编码蛋白质结构域分析

为了研究香蕉 *MaPAL* 家族基因可能的功能和其结构差异,利用 MEME 数据库从 *MaPAL* 家族基因编码的蛋白质中鉴定到 10 个保守基序,并利用 InterPro 数据库对 10 个保守基序分别进行鉴定,结果(表 2)显示, Motif1 ~ Motif10 都含有结构域 IPR001106,该结构域功能为芳香族氨基酸裂解酶。所有的 *MaPAL* 家族基因编码的蛋白质都呈现出类似的基序组成(图 2),*MaPAL6* 缺少 Motif10。进一步对 *MaPAL* 家族基因的结构进行分析,*MaPAL6* 只有 1 个内含子,而其他 7 个基因包含 2 个内含子(图 3)。蛋白质结构域和基因结构的分析结果表明,同一类有类似的基因结构,这也和系统发育树中 *MaPAL6* 基因单独成一类的结果一致。

表 2 保守基序 Motif1~Motif10 的注释

Table 2 The annotation of conserved domains Motif1–Motif10

保守基序	序列	注释
Motif1	HEQDPLQKPKQDRYALRTSPQWLGPQIEVIRSSSTKSIEREINSVNDNPLI	IPR001106(芳香族氨基酸裂解酶); IPR008948 (类 L-天冬氨酸)
Motif2	PSNLSGGRNPSLDYGFKAELIAMAAYCSELQFLANPVTNHVQSAEQHNQD	IPR001106 (芳香族氨基酸裂解酶); IPR008948 (类 L-天冬氨酸)
Motif3	LSAVFCEVMQKGPEFTDHLTHKLKHHPGQIEAAIMEHILDCSSYMKMA	IPR001106 (芳香族氨基酸裂解酶); IPR008948 (类 L-天冬氨酸)
Motif4	DVSRNKALHGCNFGQTPIGVSMDNTRLALAAIGKLMFAQFSELVNDFYNN	IPR001106 (芳香族氨基酸裂解酶); IPR008948 (类 L-天冬氨酸)
Motif5	RINTLLQCYSGIRFEILEAMASLLNSGITPCLPLRGTTTASGDLVPLSYI	IPR001106 (芳香族氨基酸裂解酶); IPR008948 (类 L-天冬氨酸)
Motif6	SSZWVMDSMKTGTDYSGVTTGFGATSHRRTKZGALQKELIRFLNAGIFG	IPR001106 (芳香族氨基酸裂解酶); IPR008948 (类 L-天冬氨酸)
Motif7	FCEKDLITVVDREHVFYSIDDPSCSTYALMPKLRMVLVEHALNNGEKEKD	IPR001106(芳香族氨基酸裂解酶); IPR008948 (类 L-天冬氨酸)
Motif8	VNSLGLISSRKTAEAVDILKLMSATYLVALCQAIDLRHLEENLKNVAKNT	IPR001106(芳香族氨基酸裂解酶); IPR008948 (类 L-天冬氨酸)
Motif9	CRSYPLYRFVREELGTAYLTGEKVRSPGEEFDKVF AINKGLLDLPLEEC	IPR001106(芳香族氨基酸裂解酶); IPR008948 (类 L-天冬氨酸)
Motif10	DPLNWAAAEEALTGSHLDEVKRMVEEFRQPLVRLEGATLKISQV	IPR001106(芳香族氨基酸裂解酶)

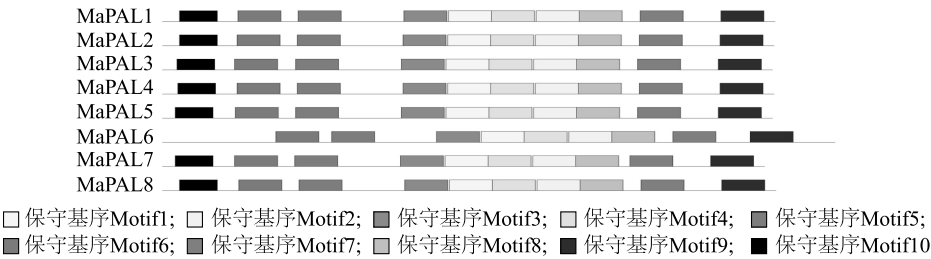


图 2 MaPAL 家族基因编码蛋白质的保守基序分布

Fig.2 Conserved domain distribution of proteins encoded by *MaPAL* family genes

2.3 粉蕉不同组织 *MaPAL* 家族基因的表达

对 *MaPAL* 家族基因在粉蕉不同组织的表达情况进行分析。结果(图 4)表明,除 *MaPAL5* 外,其他 7 个 *MaPAL* 基因在根中都高表达(*FPKM*>5);在叶

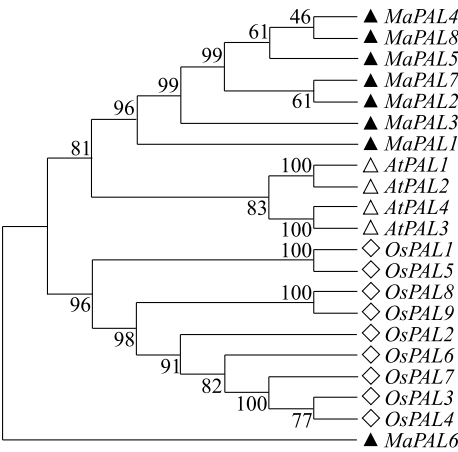
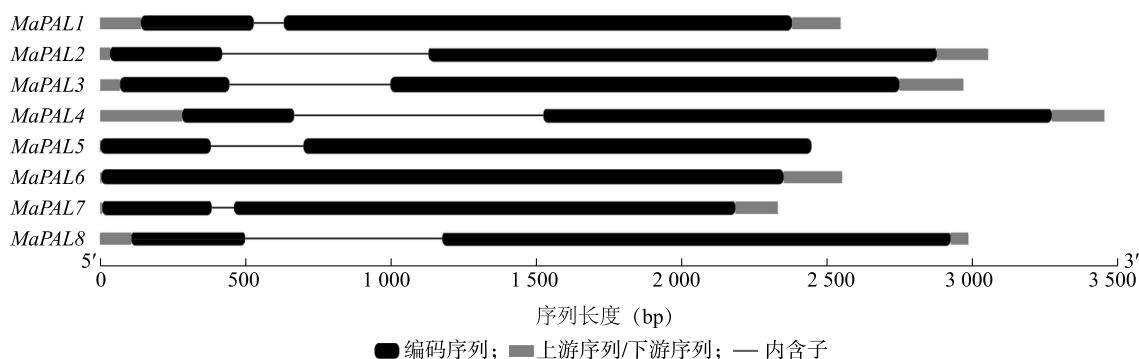
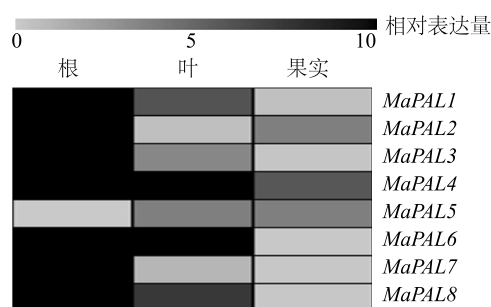
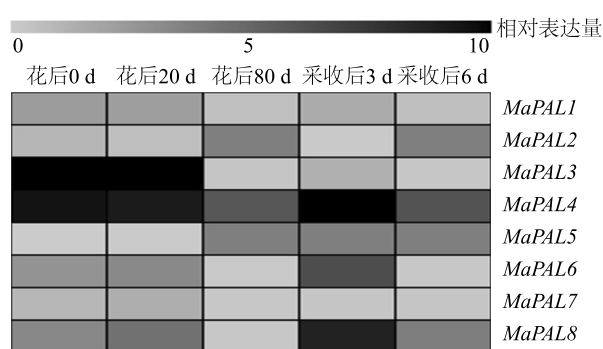


图 1 香蕉、拟南芥和水稻的 PAL 家族基因系统进化树

Fig.1 Phylogenetic tree of PAL family genes in Pisang Awak, *Arabidopsis thaliana* and rice

片中,*MaPAL1*、*MaPAL4*、*MaPAL6*、*MaPAL7* 这 4 个基因高表达,在果实中则只有 *MaPAL4* 高表达。*MaPAL* 家族基因中只有 *MaPAL4* 基因在根、叶和果实中高表达,在根中高表达的 *MaPAL* 家族基因最多。

图3 *MaPAL* 家族基因的结构分析Fig.3 Structural analysis of *MaPAL* family genes图4 粉蕉不同组织 *MaPAL* 家族基因的表达分析Fig.4 Expression analysis of *MaPAL* family genes in various tissues of Pisang Awak图5 粉蕉果实发育和成熟阶段的 *MaPAL* 基因表达分析Fig.5 Expression analysis of *MaPAL* genes in the development and maturation stages of Pisang Awak

2.4 粉蕉果实不同发育阶段 *MaPAL* 家族基因的表达

为研究 *MaPAL* 家族基因在果实发育阶段的功能,对该家族基因在粉蕉果实不同发育阶段中的表达情况进行了分析。如图 5 所示,在果实发育早期(花后 0 d 和 20 d),只有 *MaPAL3* 和 *MaPAL4* 基因呈现出高表达 ($FPKM > 5$);在果实发育后期(花后 80 d、采收后 3 d、收获后 6 d),*MaPAL4*、*MaPAL6*、*MaPAL8* 基因高表达。*MaPAL2* 和 *MaPAL5* 基因在果实发育后期没有表达,可能不参与该过程;而 *MaPAL4* 基因在果实发育的所有阶段都呈现出高表达,推测该基因可能在果实发育过程中发挥了作用。

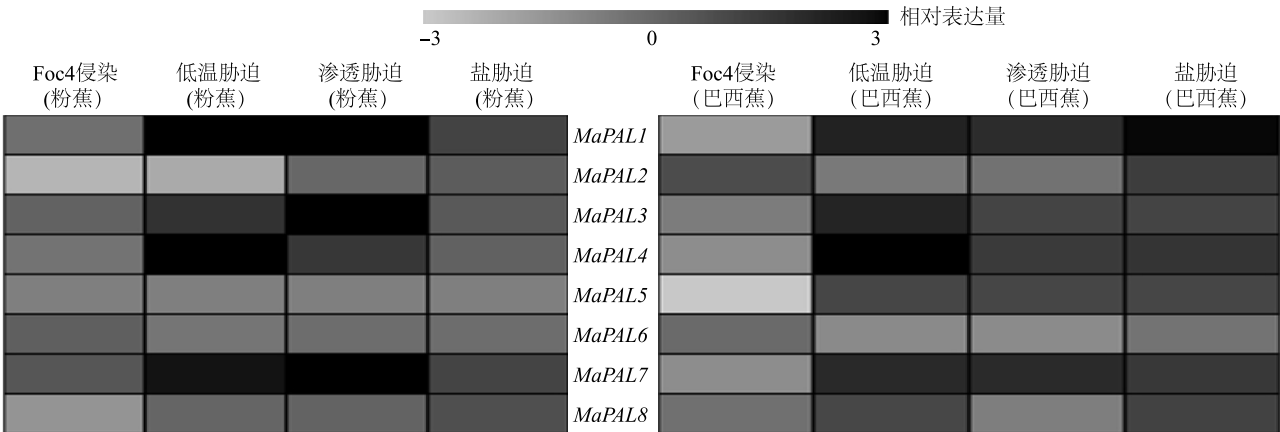
2.5 不同逆境下 *MaPAL* 家族基因的表达

为研究 *MaPAL* 家族基因的功能,本研究分析了在不同逆境条件下该家族基因的表达情况。根据转录组数据,除了 *MaPAL5* 基因外,其他 *MaPAL* 家族基因在逆境下都有响应表达(图 6)。在低温胁迫下,3 个基因(*MaPAL1*、*MaPAL4*、*MaPAL7*)表现出上调,*MaPAL2* 基因表现出下调;在渗透胁迫下,4 个基

因(*MaPAL1*、*MaPAL3*、*MaPAL4*、*MaPAL7*)表现出上调,没有基因呈现出下调;在盐胁迫下,2 个基因(*MaPAL1* 和 *MaPAL7*)表现出上调,没有基因呈现出下调;在 *Foc4* 侵染下,2 个基因(*MaPAL2* 和 *MaPAL8*)表现出下调,没有基因呈现出上调。在这些响应的 *MaPAL* 家族基因中,*MaPAL1* 和 *MaPAL7* 基因在 3 种非生物胁迫下都表现出上调,*MaPAL4* 基因在低温和渗透胁迫下都表现出上调,表明这 3 个 *MaPAL* 基因在粉蕉的非生物胁迫响应中发挥了作用。在低温和渗透胁迫下,粉蕉中的 *MaPAL* 基因相比巴西蕉明显受到更显著的诱导^[19],表明此时 *MaPAL* 基因在粉蕉中受诱导的程度更高。

3 讨论

香蕉是一种重要的热带和亚热带水果和粮食作物,在全球 130 多个国家都有栽培^[20-24]。与其他作物相比,香蕉的研究进展较慢^[25]。次生代谢物在植物的生长发育和生物/非生物胁迫的响应中起着重



Foc4:香蕉枯萎病菌 4 号生理小种。

图 6 不同逆境下粉蕉和巴西蕉中 *MaPAL* 基因表达分析

Fig.6 Expression analysis of *MaPAL* genes in Pisang Awak and Brazil banana under different stresses

要作用^[26]。而 *PAL* 是苯丙烷代谢途径的限速酶,也影响着木质素、类黄酮、花青素等多种重要次级代谢物的合成^[2-3]。本研究从香蕉基因组中鉴定出 8 个 *PAL* 基因,根据系统发育关系将香蕉 *MaPAL* 家族基因分为两大类。*MaPAL* 基因结构及其编码蛋白质的保守结构域也证明了这些基因属于 *PAL* 家族基因。*MaPAL* 家族基因编码的氨基酸序列中都含有 Motif5, Motif5 中包含高度保守的亚甲基咪唑酮结构 (Ala-Gly-Ser, MIO)。在遗传进化关系上, *MaPAL6* 基因被单独分为一个亚类,这个结果也和其他研究结果^[27]相一致。蛋白质保守结构域和基因结构的分析也验证了香蕉 *MaPAL* 家族基因的鉴定和分组。在拟南芥和水稻中的 *PAL* 基因数量分别是 4 个和 9 个^[28],在香蕉中的数量是 8 个,这表明 *PAL* 蛋白属于小基因家族基因编码的蛋白质。

香蕉果实的品质很大程度上取决于它的发育和成熟过程^[13]。次级代谢物的生产和含量对果实的成熟和品质具有重要影响, *PAL* 对花青素和类黄酮等物质的生物合成起着关键作用, *PAL* 在苹果和葡萄中都和果实的发育密切相关^[8]。在本研究中,不同 *MaPAL* 基因在不同的果实发育阶段表现出不同的表达模式,如 *MaPAL3* 和 *MaPAL4* 基因只在果实发育早期表现出高表达,而 *MaPAL4* 基因则在果实发育的所有阶段都呈现出高表达,表明这些基因在果实发育和成熟过程中可能起着重要作用。在巴西蕉中, *MaPAL4* 基因也在果实发育的所有阶段都呈现出高表达,但几乎所有 *MaPAL* 基因 (除 *MaPAL1*

外)在花后 0~20 d 都表现出高表达^[19],这表明不同香蕉品种中的 *MaPAL* 基因在果实发育阶段可能具有不同的功能。

香蕉对枯萎病菌、盐、干旱或寒冷等胁迫因素敏感,容易造成产量的减少和果实品质的降低^[14-15]。类黄酮和花青素等物质能够清除活性氧,提高植物的抗氧化能力,而 *PAL* 基因和类黄酮和花青素等物质的合成相关。因此植物在遭受逆境威胁时, *PAL* 基因的表达往往发生变化。如黄瓜和番茄中的 *PAL* 基因在非生物逆境胁迫时被诱导,表达水平提高^[29-30]。本研究也发现 *MaPAL* 基因表达受到非生物胁迫诱导或抑制,其中 *MaPAL1* 和 *MaPAL7* 2 个基因在低温、渗透、盐胁迫中都被显著诱导,表明 *MaPAL* 基因可能在香蕉对非生物胁迫的响应中起着重要的作用。但不同香蕉品种中的 *PAL* 基因对非生物胁迫的响应可能存在差异。例如,杨会晓等^[19]发现巴西蕉中 *PAL* 基因的表达也会受到非生物逆境胁迫的诱导。比较了粉蕉和巴西蕉中受非生物胁迫诱导的 *PAL* 基因情况后,发现两个品种中受到显著诱导的 *PAL* 基因数目基本相同,然而在粉蕉中,受到低温和渗透胁迫诱导的 *PAL* 基因的表达水平要高于巴西蕉。有研究结果表明,粉蕉在非生物逆境胁迫下的耐受性比巴西蕉更强^[25]。这些结果表明粉蕉中的 *PAL* 基因显著受非生物逆境胁迫诱导可能与其较强的非生物胁迫抗性有关。香蕉的抗病性也是一个非常重要的农艺性状,特别是香蕉枯萎病严重影响着香蕉的产量和品质。在拟南芥中, *pal* 突

变体表现出对香蕉枯萎病易感^[31]。粉蕉作为重要的香蕉品种也易受到枯萎病的影响^[16]。在本研究中, *MaPAL2* 和 *MaPAL8* 基因的表达显著受到 Foc4 侵染的抑制, 表明这 2 个基因可能参与了响应 Foc4 侵染过程。有研究结果表明, 酚类物质参与了植物对病菌侵染的抵抗过程, 可以通过抑制 *PAL* 基因的表达来减少次生代谢物的产生, 提高植物抵抗病菌侵染的能力^[32], 这也说明 *MaPAL* 基因可能在香蕉抗枯萎病中也发挥着作用。

4 结 论

本研究从香蕉基因组中鉴定到 8 个 *PAL* 基因, 并对它们的系统进化关系、基因结构、编码的蛋白质结构域进行了分析。表达分析结果显示, *MaPAL* 基因参与香蕉的发育、成熟和对生物/非生物胁迫的响应。本研究结果表明, *MaPAL4* 基因在所有果实发育和成熟阶段都表现出高表达。*MaPAL1* 和 *MaPAL7* 基因可能对非生物胁迫响应, *MaPAL2* 和 *MaPAL8* 基因在 Foc4 侵染时表达被明显抑制, 可能响应 Foc4 病菌的侵染。和巴西蕉相比, *MaPAL* 基因在粉蕉中被低温和渗透胁迫诱导的水平更高。

参考文献:

- [1] FRASER C M, CHAPPLE C. The phenylpropanoid pathway in Arabidopsis[J]. The Arabidopsis Book, 2011(9): e0152.
- [2] DIXON R A, PAIVA N L. Stress-induced phenylpropanoid metabolism[J]. The Plant Cell, 1995, 7(7): 1085-1097.
- [3] WANG K, JIN P, HAN L, et al. Methyl jasmonate induces resistance against *Penicillium citrinum* in Chinese bayberry by priming of defense responses[J]. Postharvest Biology and Technology, 2014, 98: 90-97.
- [4] ZHONG Q, HU H, FAN B, et al. Biosynthesis and roles of salicylic acid in balancing stress response and growth in plants[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(21): 11672.
- [5] KOUKOL J, CONN E E. The metabolism of aromatic compounds in higher plants; iv. purification and properties of the phenylalanine deaminase of *hordeum vulgare*[J]. Journal of Biological Chemistry, 1961, 236(10): 2692-2698.
- [6] 孙海燕, 全雪丽, 付爽, 等. 拟南芥苯丙氨酸解氨酶(*PAL*)基因的研究进展[J]. 延边大学农学报, 2016, 38(1): 88-92.
- [7] 曾嘉丽, 边建民, 徐杰, 等. 水稻 *PAL* 基因的全基因组分析及胁迫表达研究[J]. 基因组学与应用生物学, 2018, 37(9): 3881-3888.
- [8] 张丽之, 樊胜, 安娜, 等. 苹果全基因组 *PAL* 基因家族成员的鉴定及表达分析[J]. 浙江农业学报, 2018, 30(12): 2031-2043.
- [9] RASOOL F, UZAIR M, NAEEM M K, et al. Phenylalanine ammonia-lyase(*PAL*) genes family in wheat (*Triticum aestivum* L.): genome-wide characterization and expression profiling[J]. Agronomy, 2021, 11(12): 2511.
- [10] ZANG Y, JIANG T, CONG Y, et al. Molecular characterization of a recombinant *Zea mays* phenylalanine ammonia-lyase(*ZmPAL2*) and its application in trans-cinnamic acid production from L-phenylalanine[J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2015, 176(3): 924-937.
- [11] ZHOU M P, HAYDEN M J, ZHANG Z Y, et al. Saturation and mapping of a major *Fusarium* head blight resistance QTL on chromosome 3BS of Sumai 3 wheat[J]. Journal of Applied Genetics, 2010, 51(1): 19-25.
- [12] YOU X, FANG H, WANG R, et al. Phenylalanine ammonia lyases mediate broad-spectrum resistance to pathogens and insect pests in plants[J]. Science Bulletin, 2020, 65(17): 1425-1427.
- [13] HU W, ZUO J, HOU X, et al. The auxin response factor gene family in banana: genome-wide identification and expression analyses during development, ripening, and abiotic stress[J]. Frontiers in Plant Science, 2015, 6: 742.
- [14] RASHAD Y M, FEKRY W M E, SLEEM M M, et al. Effects of mycorrhizal colonization on transcriptional expression of the responsive factor JERF3 and stress-responsive genes in banana plantlets in response to combined biotic and abiotic stresses[J]. Frontiers in Plant Science, 2021, 12: 742628.
- [15] XU Y, LIU J, JIA C, et al. Overexpression of a banana aquaporin gene *MaPIPI1* enhances tolerance to multiple abiotic stresses in transgenic banana and analysis of its interacting transcription factors[J]. Frontiers in Plant Science, 2021, 12: 699230.
- [16] XU Y, TIE W, YAN Y, et al. Identification and expression of the BAHD family during development, ripening, and stress response in banana[J]. Molecular Biology Reports, 2021, 48(2): 1127-1138.
- [17] GOOSSENS A, PAUWELS L. Jasmonate signaling: methods and protocols[M]. Clifton: Humana Press, 2013.
- [18] TRAPNELL C, ROBERTS A, GOFF L, et al. Differential gene and transcript expression analysis of RNA-seq experiments with TopHat and Cufflinks[J]. Nature Protocols, 2012, 7(3): 562-578.
- [19] 杨会晓, 孙媛媛, 贾彩红, 等. 香蕉苯丙氨酸解氨酶基因家族的全基因组鉴定及表达分析[J]. 热带作物学报, 2019, 40(10): 1949-1957.
- [20] 秦献泉, 武鹏, 邹瑜, 等. 2 个香蕉品种在广西产区的氮磷钾养分累积与分配特点[J]. 南方农业学报, 2022, 53(5): 1280-1287.
- [21] 陈铭中, 钟旭美, 林海生, 等. UV-C 处理对采后香蕉贮藏防御性成分和品质的影响[J]. 江苏农业学报, 2022, 38(2): 528-538.
- [22] 刘洁云, 牟海飞, 田青兰, 等. 香蕉营养生长期叶片矿质元素变化及其与植株生长、果实品质的关系[J]. 江苏农业科学, 2023, 51(2): 148-153.

- [23] 陈 茜,张雪春,王振兴,等. 不同加工方式对香蕉片品质的影响[J].南方农业学报,2022,53(5):1305-1315.
- [24] 李燕培,王 静,林佳琦,等. 香蕉园间种甘薯对土壤物理性状和结构的影响[J].江苏农业科学,2022,50(5):205-211.
- [25] HU W, WANG L, TIE W, et al. Genome-wide analyses of the bZIP family reveal their involvement in the development, ripening and abiotic stress response in banana[J]. Scientific Reports, 2016, 6(1):30203.
- [26] RICARDO H. Genes encoding enzymes of the lignin biosynthesis pathway in Eucalyptus[J]. Genetics and Molecular Biology, 2005, 28(3S):601-607.
- [27] 盖江涛,沈建凯,王 鹏. 主要作物中 *PAL* 基因家族的鉴定和序列分析[J]. 江苏农业科学, 2016, 44(6):45-49.
- [28] HAMBERGER B, ELLIS M, FRIEDMANN M, et al. Genome-wide analyses of phenylpropanoid-related genes in *Populus trichocarpa*, *Arabidopsis thaliana*, and *Oryza sativa*; the *Populus* lignin toolbox and conservation and diversification of angiosperm gene families[J]. Canadian Journal of Botany, 2007, 85(12):1182-1201.
- [29] GUO J, WANG M H. Characterization of the phenylalanine ammonia-lyase gene (*SlPAL5*) from tomato (*Solanum lycopersicum* L.) [J]. Molecular Biology Reports, 2009, 36(6):1579-1585.
- [30] 董春娟,李 亮,曹 宁,等. 苯丙氨酸解氨酶在诱导黄瓜幼苗抗寒性中的作用[J]. 应用生态学报, 2015, 26(7):2041-2049.
- [31] HUANG J, MIN G, LAI Z, et al. Functional analysis of the Arabidopsis *PAL* gene family in plant growth, development, and response to environmental stress [J]. Plant Physiology, 2010, 153(4):1526-1538.
- [32] VANDENBERG N, BERGER D K, HEIN I, et al. Tolerance in banana to *Fusarium* wilt is associated with early up-regulation of cell wall-strengthening genes in the roots[J]. Molecular Plant Pathology, 2007, 8(3):333-341.

(责任编辑:成纾寒)