

张惠敏, 王曼曼, 冯路路, 等. 甜瓜 *NRL* 家族基因全基因组鉴定及其表达对弱光胁迫的响应特征[J]. 江苏农业学报, 2026, 42(5): 1027-1037.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2026.05.016

甜瓜 *NRL* 家族基因全基因组鉴定及其表达对弱光胁迫的响应特征

张惠敏, 王曼曼, 冯路路, 闫洪朗, 魏小云, 王康
(江苏沿江地区农业科学研究所, 江苏 南通 226012)

摘要: *NRL* (NPH3/RPT2-like) 蛋白是植物特有的光响应蛋白家族, 其成员在调节植物气孔开放、叶绿体运动、叶片伸长和向光性等方面起着重要作用。为探究甜瓜 *NRL* 家族基因结构、染色体位置及其编码蛋白质的理化性质、保守基序, 弱光胁迫下甜瓜 *NRL* 家族基因的表达特征, 本研究通过生物信息学手段, 对甜瓜 *NRL* 家族基因进行鉴定。结果表明, 甜瓜全基因组中存在 24 个 *NRL* 家族成员, 分布在除 5 号染色体外的其他 11 条染色体上。甜瓜 *NRL* 家族基因结构较为保守。20 个 *CmNRL* 家族基因在茎和叶中高表达, 在根中表达水平较低, 15 个 *CmNRL* 家族基因可能参与甜瓜对弱光胁迫的响应。本研究结果可为甜瓜 *NRL* 家族基因功能研究和利用提供参考和依据。

关键词: 甜瓜; *NRL*; 弱光胁迫; 生物信息学分析

中图分类号: S652 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2026)05-1027-11

Genome-wide identification of *NRL* family genes of *Cucumis melo* L. and their response characteristics to low light stress

ZHANG Huimin, WANG Manman, FENG Lulu, YAN Honglang, WEI Xiaoyun, WANG Kang
(*Jiangsu Yanjiang Institute of Agricultural Sciences, Nantong 226012, China*)

Abstract: The *NRL* (NPH3/RPT2-like) protein is a plant-specific light-responsive protein family, and its members play important roles in regulating plant stomatal opening, chloroplast movement, leaf elongation and phototropism. In order to explore the structure and chromosomal location of *NRL* family genes of *Cucumis melo* L., and physicochemical properties and conserved motifs of their encoded proteins, and the expression characteristics of melon *NRL* family genes under low light stress, this study identified melon *NRL* family genes by bioinformatics methods. The results showed that there were 24 *NRL* family genes in the whole genome of melon, which were distributed on 11 chromosomes except chromosome 5. The *NRL* family gene structure of melon was relatively conservative. The 20 *CmNRL* family genes were highly expressed in stems and leaves, and the expression level in roots was low. The 15 *CmNRL* family genes may be involved in the response of melon to low light stress. The results of this study can provide reference and basis for the functional research and utilization of melon *NRL* family genes.

Key words: *Cucumis melo* L.; *NRL*; low light stress; bioinformatics analysis

收稿日期: 2025-09-15

基金项目: 江苏省种业振兴项目 [JBGS(2021)075]; 南通市科技计划项目 (JC2023049、MS2024044)

作者简介: 张惠敏 (1996-), 女, 山西朔州人, 硕士, 助理研究员, 主要从事甜瓜霜霉病抗病育种研究。(E-mail) 20220057@jaas.ac.cn

通讯作者: 王康, (E-mail) wangkang@jaas.ac.cn

光是影响植物植株形态和功能的重要因素, 在

植物生长发育和形态建成中起着极其重要的作用^[1]。在植物光合作用过程中,一系列复杂的信号网络随着外界光信号的波长、强度和方向的变化而演化^[2]。向光素 PHOTOTROPIN1 (PHOT1) 和 PHOTOTROPIN2 (PHOT2) 是一类结合细胞质膜的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶^[3]。蓝光照射后,PHOT1 和 PHOT2 发生构象变化和自磷酸化激活,进而调节下胚轴光弯曲响应、叶绿体运动、气孔打开、叶片伸展及定位^[4]。Christie 等^[5]、Kimura 等^[6] 研究发现,NPH3 (NONPHOTOTROPIC HYPOCOTYL 3) 蛋白和 RPT2 (ROOT PHOTOTROPISM 2) 蛋白参与向光素 (PHOT1 和 PHOT2) 介导的拟南芥趋光性、叶片伸长和光合作用调控^[5-6]。

NPH3 和 RPT2 同属于 NRL (NPH3/RPT2-like) 蛋白家族,该家族成员通常包含 3 个典型结构域,即 N 端 BTB 结构域、中间 NPH3 结构域和 C 端卷曲结构域^[7]。其中 BTB 结构域的功能主要在于介导向光素 PHOT1 的泛素化^[8];C 端卷曲结构域主要参与 NPH3 结构域和 PHOT1 之间的蛋白质相互作用;而 NPH3 结构域的功能尚未见报道^[9]。

NRL 家族作为植物特有的光响应蛋白质家族,其家族成员不仅参与植物的趋光反应,而且在花粉萌发、花粉管生长、叶脉结构及花型形成、根重力响应和抗病性等方面起到重要作用^[5,10]。拟南芥 *AtNRL8* (*AtSETH6*) 参与花粉萌发和花粉管生长^[11]。*AtNRL23* (*AtDOT3*) 参与叶脉结构形成、维管系统发育和生殖发育^[12-13]。生菜 *LsNRL4* 基因通过调控叶绿体和维管束厚壁细胞的发育参与生菜光合作用和植株形态建成^[14]。马铃薯 *StNRL1* 基因沉默可减少晚疫病病原体定殖,加速 INF1 蛋白介导的细胞死亡,从而增强宿主抗病能力^[15]。

目前,拟南芥 (*Arabidopsis*)^[5]、番茄 (*Solanum lycopersicum*)^[16]、水稻 (*Oryza sativa* L.)^[17] 和玉米 (*Zea mays*)^[18] 等模式植物的 NRL 基因家族已经得到鉴定,NRL 家族基因功能得到初步分析^[19-20],而甜瓜 (*Cucumis melo*) NRL 家族基因的鉴定与功能分析尚未见报道。基于此,本研究采用生物信息学方法在全基因组范围内挖掘甜瓜 NRL 基因家族成员,并对该家族成员的基因结构、染色体定位、共线性、顺式作用元件及其编码蛋白质的理化性质进行系统分析,同时结合弱光胁迫处理,明确甜瓜 NRL 家族基因的表达特征,筛选弱光胁迫响

应基因,为进一步的 NRL 基因功能研究及抗逆甜瓜品种培育奠定基础。

1 材料与方法

1.1 甜瓜 NRL 家族基因鉴定

从 Pfam 数据库 (<http://pfam-legacy.xfam.org/>) 下载拟南芥 NRL 基因编码的蛋白质序列,随后将下载的 hmmer 文件作为母序列,在甜瓜基因组数据库 (<http://cucurbitgenomics.org/pub/cucurbit/genome/melon/v3.6.1>) 中比对,预测得到甜瓜 NRL 家族蛋白^[21-22]。借助美国国家生物技术信息中心网站 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/cdd/>) Batch CD-Search 工具对预测得到的甜瓜 NRL 家族基因进行进一步筛选^[23-24]。

1.2 甜瓜 NRL 家族基因系统发育树建立及其编码蛋白质的理化性质分析

利用 ExPASy 网站 (<https://web.expasy.org/protparam/>) 分析甜瓜 NRL 家族基因编码蛋白质氨基酸序列长度、相对分子量和等电点^[25]。利用 Ensembl Plants 数据库 (<https://plants.ensembl.org/index.html>) 获得拟南芥和番茄全基因组的 NRL 蛋白质序列,利用 MUSCLE 工具进行 NRL 家族基因鉴定与筛选^[26]。随后采用 MEGA 7.0 软件进行甜瓜、拟南芥和番茄 NRL 蛋白质序列比对,设置自展值 (Bootstrap) 为 1 000,采用邻域连接 (Neighbor-joining, NJ) 方法重建系统发育树,使用在线工具 iTOL (<https://itol.embl.de/>) 对系统发育树进行美化。

1.3 甜瓜 NRL 家族基因顺式作用元件分析

利用 MEME 网站 (<http://meme-suite.org/tools/meme>) 鉴定甜瓜 NRL 蛋白保守基序。选取甜瓜 NRL 基因起始密码子上游的 2 000 bp 序列,利用 Plant CARE 数据库 (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>) 分析 NRL 基因启动子区域的顺式作用元件。利用 TBtools 软件进行蛋白质基序和顺式作用元件可视化分析。利用 SWISS-MODEL 互作网络 (<https://www.swissmodel.expasy.org/interactive>) 预测甜瓜 NRL 蛋白的三级结构。

1.4 甜瓜 NRL 基因染色体定位及共线性分析

利用 MCScanX 软件确定甜瓜 NRL 家族基因染色体位置,并用 iTOL 工具进行可视化 (<https://>

itol.embl.de/)。根据甜瓜基因组数据进行物种内 *NRL* 家族基因的共线性分析,结合拟南芥和番茄的基因组数据对物种间 *NRL* 家族基因同源性进行分析,并且利用 TBtools 软件进行可视化分析。

1.5 甜瓜 *NRL* 基因表达特征

利用课题组保存的弱光敏感自交系材料 317 进行甜瓜生长试验。自交系 317 种子在 55 °C 温水中浸泡 4 h 后,放入 28 °C 培养箱中催芽 2 d,随后播种于 50 孔培养皿中,然后将培养皿置于人工气候室中,生长条件设置为相对湿度 70%,光周期(6:00–18:00)12 h/d,光照度 300 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 。当幼苗生长至三叶一心期时,取根、茎、叶等组织,用液氮冷冻后于 -80 °C 保存,用于甜瓜 *NRL* 基因表达水平分析。

1.6 弱光胁迫下甜瓜 *NRL* 基因表达特征

在自交系材料 317 三叶一心期时,设置光周期 12 h/d、光照度 60 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 的弱光处理,处理 2 d 后取植株第 2 片叶片备用,每 5 株为一个样品混样,液氮冻存后用于 RNA 提取,每个样品 3 个生物学重复。采用 RNAiso Plus 试剂盒[宝日医生物技术(北京)有限公司产品]进行样品 RNA 提取,利用 One-Step gDNA Removal 试剂盒和 cDNA Synthesis SuperMix 试剂盒(北京全式金生物技术有限公司产品)进行 cDNA 反转录,然后以 18S 为内参基因,利用 SYBR qPCR Master Mix 试剂盒(南京诺唯赞生物科技股份有限公司产品)进行荧光定量 PCR (qRT-PCR),qRT-PCR 引物序列见表 1。采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算基因相对表达量。

2 结果与分析

2.1 甜瓜 *NRL* 家族基因编码蛋白质理化性质

利用相似性搜索及结构域鉴定,从甜瓜全基因组中共鉴定到 24 个 *NRL* 家族成员,命名为 *CmNRL1*~*CmNRL24*。甜瓜 *NRL* 家族基因编码蛋白质理化性质如表 2 所示。从表中可以看出,甜瓜 *NRL* 家族基因编码序列长度为 789~2 094 bp,*NRL* 蛋白氨基酸序列长度为 262~697 aa,相对分子量为 29 863.00~77 793.85,理论等电点为 5.05~9.04。甜瓜 *CmNRL1* 蛋白定位于细胞核中,*CmNRL2*、*CmNRL8*、*CmNRL9*、*CmNRL10*、*CmNRL11*、*CmNRL14* 和 *CmNRL19* 蛋白定位于细胞膜中,其他 16 个甜瓜 *CmNRL* 蛋白在细胞核和细胞膜中均存在。

表 1 qRT-PCR 引物序列

Table 1 Primer sequences for qRT-PCR

引物名称	上游引物(5'→3')	下游引物(5'→3')
<i>CmNRL1</i>	GATGCCTCTTATTGG	TCITCCCTGACTTTT
<i>CmNRL2</i>	CTAAACACGCACTCA	TCATCTTCCCACCTC
<i>CmNRL3</i>	CTCTGCCCTGACTT	ATGCCGAGGAACT
<i>CmNRL4</i>	GCAGCAGTAAGAATAA	TAGCAGCACAGAAAG
<i>CmNRL5</i>	AAGTTTCCCTTAGTTTC	CTCAGACCCACCAG
<i>CmNRL6</i>	AGCCAGTTCTTG	CTGCTTATGAGGGA
<i>CmNRL7</i>	GGGAGCACAATG	CAGCAGCACAACG
<i>CmNRL8</i>	GAGGCATTTGAGTTAG	CAAGTTTCCGACT
<i>CmNRL9</i>	AGAGCCACAGGAAGA	ACGCCGTAGCAGA
<i>CmNRL10</i>	GGGGTATGGAGATTA	CTTGTGGAGGTGGA
<i>CmNRL11</i>	GAAAGCCAATGAGG	CGAGCAGCCACTA
<i>CmNRL12</i>	AAGTGATTGCGTCTAA	GCTATCCGCACCA
<i>CmNRL13</i>	GAGCCAGAAGGCGAATA	CCGCAGCAATGAAGTAA
<i>CmNRL14</i>	TGTGCGGCGGACTA	TCCGCATAAGATAAAGTC
<i>CmNRL15</i>	AAACAGCAGCCACG	ACCTTCCACCCATA
<i>CmNRL16</i>	GACAGGCTTGGTTCT	TCITTTATTACACCTCCT
<i>CmNRL17</i>	GGAGCGAGTTCATC	CCTCAAACCACCAA
<i>CmNRL18</i>	ACTCTGGGAGGTTG	TCAAATCCCTCTGC
<i>CmNRL19</i>	AAGGCAGCCAAGTT	TGTTGTGCAATACTT
<i>CmNRL20</i>	TGTCTCCCGAAGTG	AAGATAATCAGATACGC
<i>CmNRL21</i>	CTGGCATCCAAATCC	GGGCACCATAGCAA
<i>CmNRL22</i>	ACGAGGTCTTTGGT	GCTTCGGACATTCT
<i>CmNRL23</i>	GCGACTGAGTTGGC	CCCTGGGTAGTGTAG
<i>CmNRL24</i>	CTGGCTGTTCTCAA	ACGACCCATCCTC
18S	TCTGCCCGTTGCTCTGATG	TCACCCGTCACCACCATAG

2.2 甜瓜 *NRL* 家族基因的系统发育分析

根据甜瓜、拟南芥和番茄的 *NRL* 蛋白质氨基酸序列构建的系统发育树如图 1 所示。从图中可以看出,3 个物种共有 71 个 *NRL* 家族基因,可分为 5 组。组 I 有 30 个成员,包括 8 个甜瓜 *CmNRL* 基因、14 个拟南芥 *AtNRL* 基因和 8 个番茄 *SolycNRL* 基因,组 II 有 23 个成员,包括 8 个甜瓜 *CmNRL* 基因、12 个拟南芥 *AtNRL* 基因和 3 个番茄 *SolycNRL* 基因,组 III 有 13 个成员,包括 5 个甜瓜 *CmNRL* 基因、5 个拟南芥 *AtNRL* 基因和 3 个番茄 *SolycNRL* 基因,组 IV 有 4 个成员,包括 2 个甜瓜 *CmNRL* 基因和 2 个拟南芥 *AtNRL* 基因,组 V 仅有 1 个成员,为甜瓜 *CmNRL15* 基因。

表 2 甜瓜 *NRL* 家族基因编码蛋白质的理化特征Table 2 Physicochemical characteristics of proteins encoded by *NRL* family genes in *Cucumis melo* L.

基因名称	序列号 (ID)	编码序列长度 (bp)	编码蛋白质的理化特征			
			氨基酸序列长度 (aa)	相对分子量	等电点	定位
<i>CmNRL1</i>	MELO3C006281.2	1 857	618	70 746.62	6.55	细胞核
<i>CmNRL2</i>	MELO3C024837.2	2 028	675	76 023.90	7.53	细胞膜
<i>CmNRL3</i>	MELO3C007999.2	1 803	600	68 010.48	8.95	细胞核, 细胞膜
<i>CmNRL4</i>	MELO3C021671.2	966	321	35 953.52	7.52	细胞核, 细胞膜
<i>CmNRL5</i>	MELO3C016051.2	1 983	660	74 362.45	9.02	细胞核, 细胞膜
<i>CmNRL6</i>	MELO3C002514.2	1 479	492	56 526.32	9.04	细胞核, 细胞膜
<i>CmNRL7</i>	MELO3C017994.2	1 863	623	68 497.26	6.43	细胞核, 细胞膜
<i>CmNRL8</i>	MELO3C020861.2	1 359	457	50 903.73	5.96	细胞膜
<i>CmNRL9</i>	MELO3C007509.2	2 070	689	77 007.89	5.05	细胞膜
<i>CmNRL10</i>	MELO3C024211.2	2 022	673	77 606.66	7.18	细胞膜
<i>CmNRL11</i>	MELO3C011299.2	1 839	612	68 842.43	8.73	细胞膜
<i>CmNRL12</i>	MELO3C011945.2	1 776	591	65 907.88	8.86	细胞核, 细胞膜
<i>CmNRL13</i>	MELO3C005204.2	1 656	551	61 202.69	8.17	细胞核, 细胞膜
<i>CmNRL14</i>	MELO3C012424.2	1 839	612	69 080.92	5.36	细胞膜
<i>CmNRL15</i>	MELO3C015331.2	1 785	594	67 453.08	8.80	细胞核, 细胞膜
<i>CmNRL16</i>	MELO3C007084.2	1 911	636	70 553.12	5.99	细胞核, 细胞膜
<i>CmNRL17</i>	MELO3C018788.2	1 503	500	57 156.98	9.03	细胞核, 细胞膜
<i>CmNRL18</i>	MELO3C019223.2	1 566	521	59 133.65	6.20	细胞核, 细胞膜
<i>CmNRL19</i>	MELO3C016232.2	1 749	582	65 119.69	8.18	细胞膜
<i>CmNRL20</i>	MELO3C026665.2	1 893	630	71 192.00	5.99	细胞核, 细胞膜
<i>CmNRL21</i>	MELO3C032967.2	789	262	29 863.00	5.42	细胞核, 细胞膜
<i>CmNRL22</i>	MELO3C009341.2	1 773	590	65 679.26	5.21	细胞核, 细胞膜
<i>CmNRL23</i>	MELO3C007625.2	2 094	697	77 793.85	5.86	细胞核, 细胞膜
<i>CmNRL24</i>	MELO3C018952.2	1 887	380	43 595.70	7.19	细胞核, 细胞膜

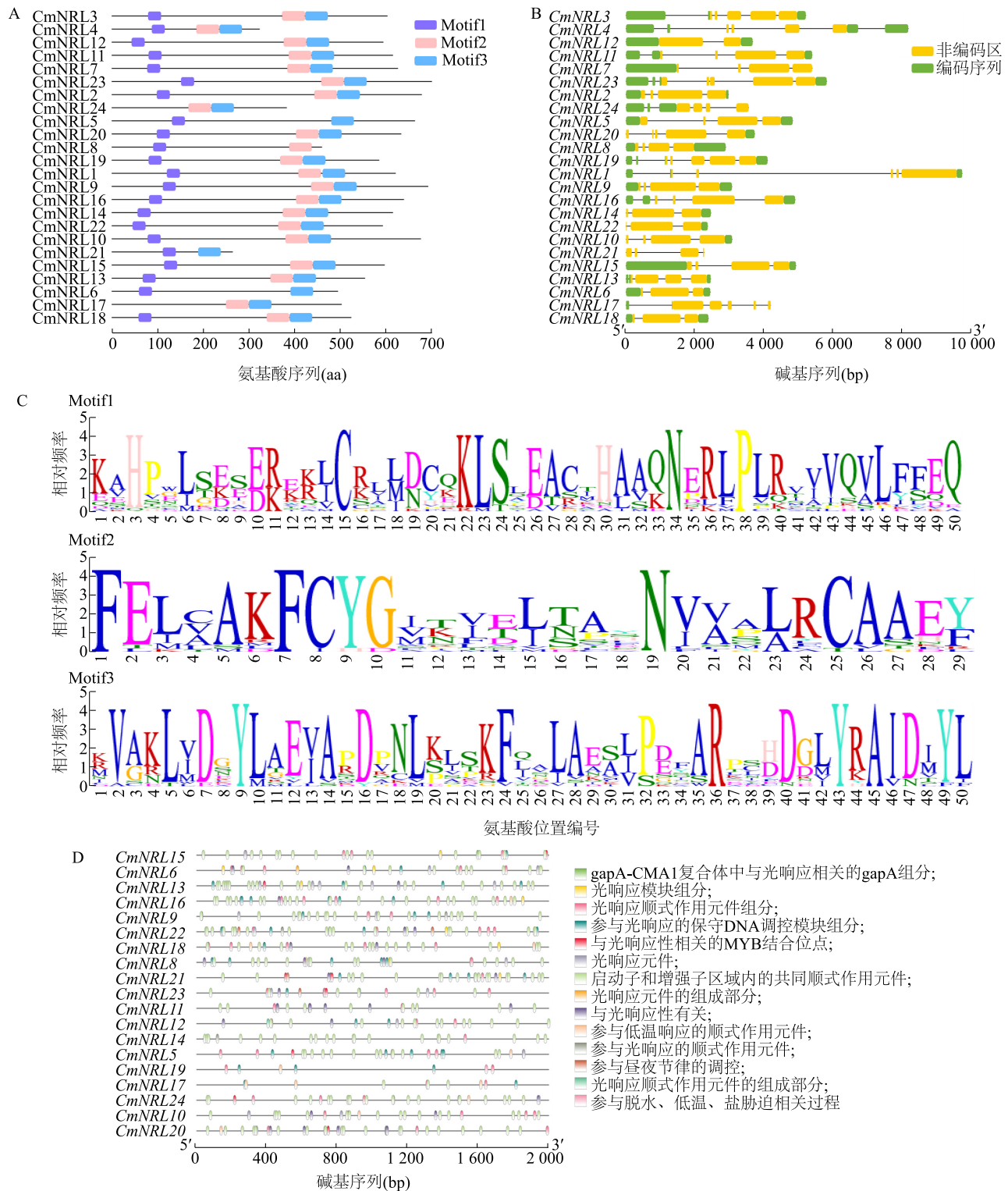
2.3 甜瓜 *CmNRL* 家族基因的染色体位置

甜瓜 *NRL* 家族基因的染色体位置分布如图 2 所示。从图中可以看出,甜瓜 *NRL* 家族基因分布在除染色体 5 外的其他 11 条染色体上。染色体 8 上有的 5 个 *CmNRL* 基因,数量最多,且所有基因都集中在染色体的起始部分。染色体 7、染色体 1 上分别有 4 个和 3 个 *CmNRL* 基因,染色体 4、染色体 10、染色体 11、染色体 12 上各有 2 个 *CmNRL* 基因,染色体 2、染色体 3、染色体 6、染色体 9 上各有 1 个 *CmNRL* 基因。这表明甜瓜 *NRL* 家族基因在染色体上的分布是不均匀的。此外,从图中还可看出,甜瓜基因组中不存在串联重复 *NRL* 基因。

2.4 甜瓜 *NRL* 基因结构、启动子区域的顺式作用元件及其编码蛋白质保守基序分析

甜瓜 *NRL* 家族基因编码蛋白质保守基序分布

如图 3A 所示。从图中可以看出,*CmNRL24* 蛋白和 *CmNRL17* 蛋白仅含有 Motif2 (NPH3 结构域) 和 Motif3 (C 端 NPH3 结构域),*CmNRL8* 蛋白仅含有 Motif1 (N 端 BTB 结构域) 和 Motif2, *CmNRL5*、*CmNRL6*、*CmNRL21* 蛋白仅含有 Motif1 和 Motif3,其他 18 个 *CmNRL* 蛋白均含有 3 个保守基序。甜瓜 *NRL* 家族基因结构如图 3B 所示。3 个保守基序的氨基酸序列如图 3C 所示。从图中可以看出,*NRL* 家族基因编码区和非编码区的位置及排列顺序存在一定的差异。甜瓜 *NRL* 家族基因启动子区共鉴定出 14 种顺式作用元件,依据其生物学功能可分为光响应元件、低温响应元件和盐胁迫响应元件等。除 *CmNRL1*~*CmNRL4* 及 *CmNRL7* 基因外,其他 19 个 *CmNRL* 基因上均存在光响应元件,这说明 *CmNRL* 基因在光信号转导方面发挥重要作用(图 3D)。



A: NRL 蛋白的保守基序分布 (Motif1-N 端 BTB 结构域的核心保守基序、Motif2-NPH3 结构域的核心保守基序和 Motif3-NRL 蛋白 C 端 NPH3 结构域内部的一个高度保守基序)。B: *CmNRL* 基因的编码区-非编码区结构。绿色方框表示编码序列 (编码区); 黄色线条表示非编码序列 (非编码区)。C: NRL 蛋白基序的氨基酸序列图。D: 19 个存在光响应元件的 *CmNRL* 基因启动子顺式作用元件。

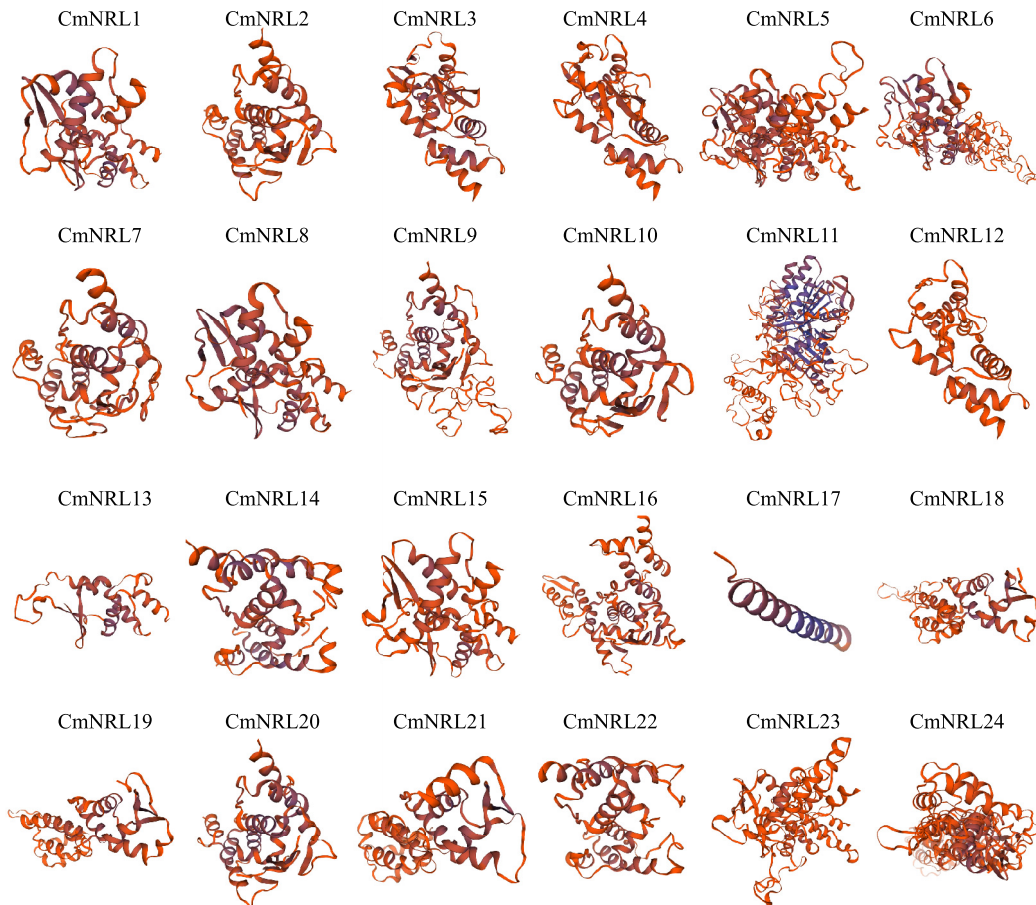
图 3 甜瓜 *CmNRL* 基因结构、启动子区域的转录调控元件及其编码蛋白质的保守基序

Fig.3 Conserved protein motifs, and gene structures of the *CmNRLs* and transcriptional regulatory elements in the promoter regions of *Cucumis melo* L.

2.5 甜瓜 *NRL* 蛋白的三级结构

甜瓜 *NRL* 家族基因编码蛋白质的三维结构如图 4 所示。从图中可以看出,甜瓜 *NRL* 蛋白主要由 α -

螺旋、 β -折叠和无规卷曲组成。其中 *CmNRL3*、*CmNRL4* 和 *CmNRL12*, *CmNRL1* 和 *CmNRL15* 蛋白结构上相似,其余 *CmNRL* 蛋白三维结构均存在一定的差异。



蓝色表示低能量结构,橙色表示高能量结构。 α -螺旋:卷曲螺旋条带; β -折叠:反向平行或平行的 β 片层扁平条带;无规则卷曲结构用连接 α -螺旋和 β -折叠的不规则、松散的线条表示。

图 4 *CmNRL* 蛋白的三维结构

Fig.4 Three-dimensional domains of the *NRL* proteins in *Cucumis melo* L.

2.6 甜瓜 *NRL* 基因同源性分析

甜瓜 *NRL* 基因的同源性分析结果如图 5 所示。从图中可以看出,甜瓜染色体上存在 2 对同源基因,分别为 *CmNRL17* 和 *CmNRL18*、*CmNRL17* 和 *CmNRL6*(图 5A),这说明 *CmNRL* 基因在该物种内具有相对较高的保守性。而甜瓜 *NRL* 基因与拟南芥 *NRL* 基因之间存在 17 对同源基因,甜瓜 *NRL* 基因与番茄 *NRL* 基因之间存在 15 对同源基因。因此,可以认为甜瓜 *NRL* 家族基因与番茄和拟南芥的 *NRL* 基因具有较强的关联性(图 5B、5C)。

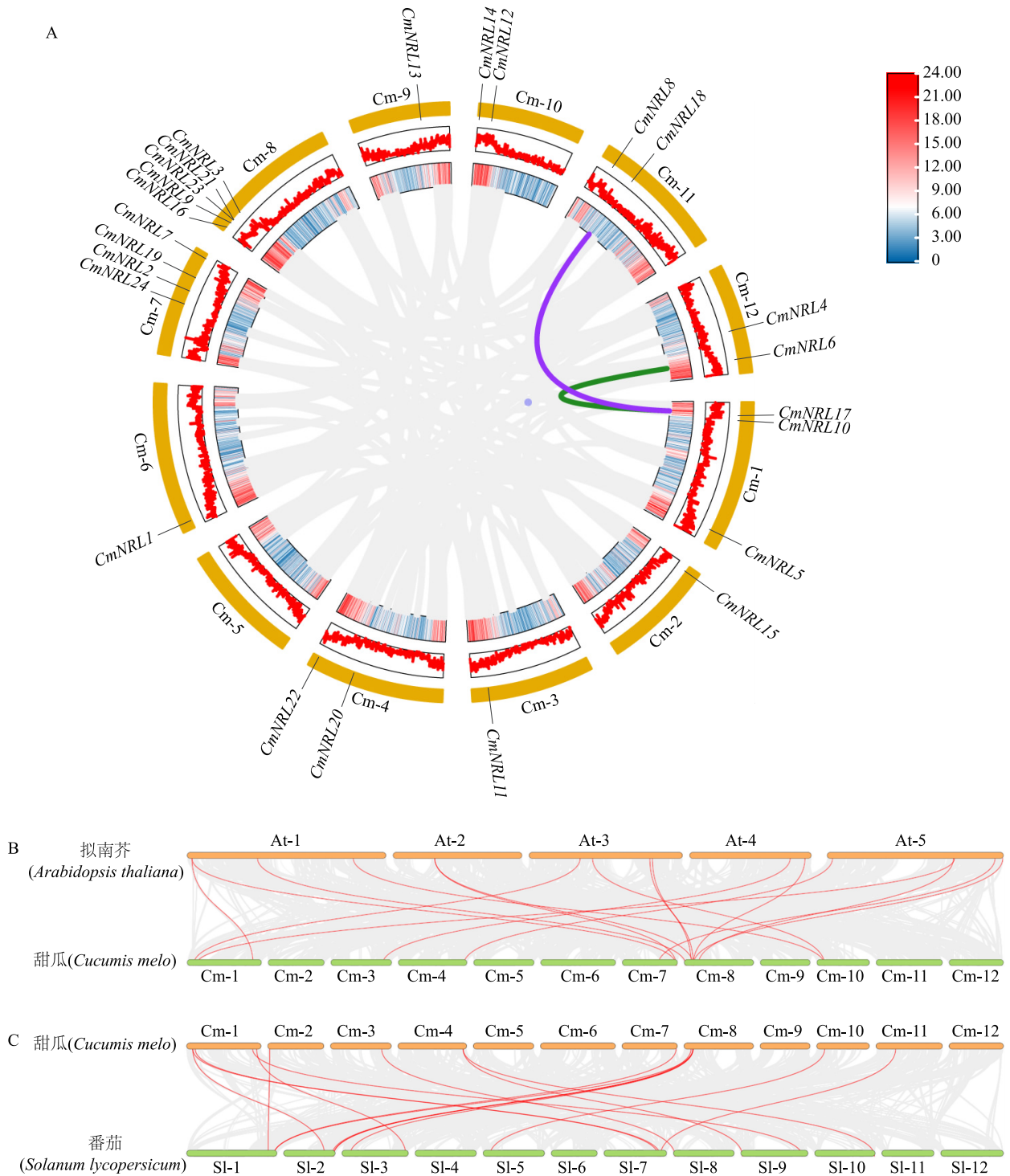
2.7 甜瓜不同组织 *CmNRL* 基因的表达分析

甜瓜 *NRL* 家族基因在植株不同器官中的表达情况如图 6 所示。从图中可以看出,24 个甜瓜 *NRL*

家族基因在根、茎和叶中的表达存在显著差异,其中 20 个 *CmNRL* 基因在茎和叶中的表达水平较高,在根中的表达水平较低;而 *CmNRL3*、*CmNRL8*、*CmNRL10* 和 *CmNRL19* 这 4 个基因在根中的表达水平较高,在茎中的表达水平较低。

2.8 弱光胁迫下 *CmNRL* 基因的表达分析

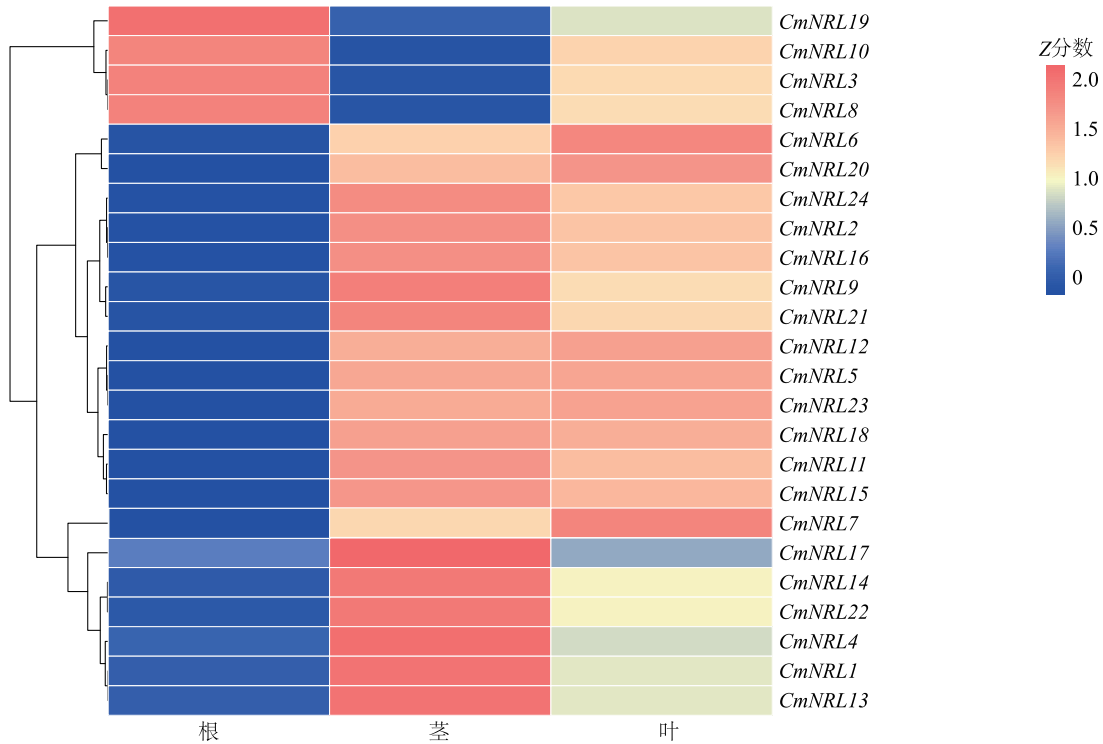
弱光胁迫后,甜瓜叶片中 *CmNRL1*、*CmNRL2*、*CmNRL5*、*CmNRL10*、*CmNRL11*、*CmNRL15*、*CmNRL16*、*CmNRL22*、*CmNRL24* 9 个基因的表达水平无显著变化,其他 15 个 *CmNRL* 家族基因的表达水平存在显著差异。弱光胁迫下,*CmNRL7* 和 *CmNRL21* 基因表达水平极显著降低,而其他 13 个基因则显著或极显著上调(图 7)。



A; 甜瓜种内 *NRL* 基因同源性分析; B; 甜瓜与拟南芥 *NRL* 基因同源性分析; C; 甜瓜与番茄 *NRL* 基因同源性分析。Cm-1~ Cm-12 为甜瓜染色体 1~染色体 12; At-1~ At-5 为拟南芥染色体 1~染色体 5; SI-1~ SI-12 为番茄染色体 1~染色体 12。灰色线条表示甜瓜种内及其与番茄、拟南芥种间的共线性区域,而红色曲线则表示具有共线性特征的 *NRL* 基因。

图 5 甜瓜 *NRL* 基因种内及其与拟南芥和番茄 *NRL* 基因种间的同源性分析

Fig.5 Intraspecific homology analysis of *NRL* genes in melon (*Cucumis melo* L.) and interspecific collinearity analysis with *Arabidopsis thaliana* and tomato (*Solanum lycopersicum* L.)



蓝色表示低表达,红色表示高表达。

图6 不同甜瓜组织中 *CmNRL* 基因的表达情况

Fig.6 Expression profiles of *CmNRL* genes in different melon tissues

3 讨论

NRL 基因家族是植物特有的光响应家族^[5],其家族成员均来源于同一个祖先,是由一个基因通过基因复制或加倍而构成的一组基因。甜瓜 *NRL* 编码蛋白质保守基序显示,所有甜瓜 *NRL* 蛋白都包含 NPH3 结构域,这与水稻 *NRL* 蛋白特征^[17]一致。拟南芥^[5]、水稻^[17]、玉米^[18] *NRL* 家族基因分别为 33 个、27 个和 31 个,这说明不同物种 *NRL* 家族成员的数量是相对保守的。甜瓜 *NRL* 家族基因编码蛋白质的理论等电点为 5.05~9.04,其中 13 个 *CmNRL* 蛋白等电点高于 7.00,其原因可能是大多数 *CmNRL* 蛋白富含碱性氨基酸,这与玉米 *NRL* 蛋白的特性^[18]基本一致。

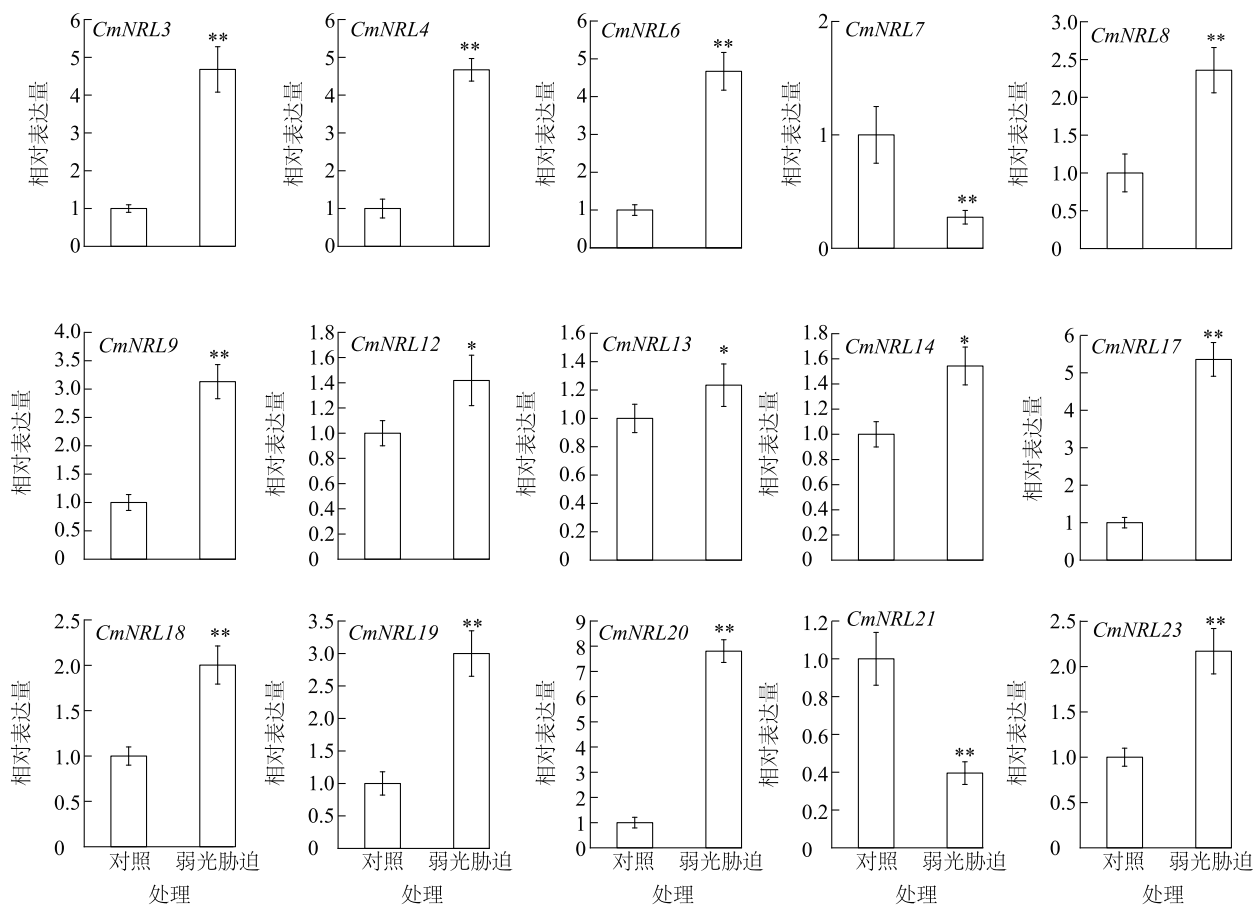
在植物进化过程中,基因重复是促进基因家族扩增、推动基因组进化并增强植物对环境适应能力的有效机制^[27-28]。本研究结果表明,甜瓜 *NRL* 基因与拟南芥 *NRL* 基因之间存在 17 对同源基因,甜瓜 *NRL* 基因与番茄 *NRL* 基因之间存在 15 对同源基因,这表明 *NRL* 家族基因在不同物种进化过程中表

现出高度的保守性,片段重复事件在成员进化和扩增中发挥重要作用。甜瓜 *CmNRL* 家族成员内部存在 2 对片段重复基因,其中 *CmNRL17* 和 *CmNRL18* 这对片段重复基因在蛋白质进化中属于同一分支,但其基因结构、启动子区转录元件的数量均存在差异,说明这 2 个基因功能可能存在一定的差异。

启动子的顺式作用元件参与调控基因表达^[29-33],在植物生长发育调节及应激适应中发挥重要作用^[34]。本研究结果表明,甜瓜 24 个 *CmNRL* 家族基因的启动子区域共包含 14 种顺式作用元件,其中 71.43%的顺式作用元件与光响应有关。弱光胁迫下,15 个 *CmNRL* 家族成员的表达水平发生显著变化,其中 13 个 *CmNRL* 家族成员表达量显著或极显著上调,2 个家族成员极显著下调,这说明甜瓜 *NRL* 家族基因在弱光应激反应中发挥重要作用。本研究结果为后续基因克隆以及 *CmNRL* 家族基因功能的深入研究提供了重要的基础和依据。

4 结论

本研究从甜瓜基因组中共鉴定出 24 个 *CmNRL*



*、** 分别表示处理间差异显著 ($P < 0.05$) 和差异极显著 ($P < 0.01$)。

图7 弱光胁迫下,存在显著差异的 *CmNRL* 基因的表达水平

Fig.7 Expression levels of *CmNRL* genes with significant differences under low light stress

基因,不均匀地分布在甜瓜 11 条染色体上,未检测到串联重复基因。*CmNRL24* 蛋白和 *CmNRL17* 蛋白仅含有 Motif2 和 Motif3, *CmNRL8* 蛋白仅含有 Motif1 和 Motif2, *CmNRL5*、*CmNRL6*、*CmNRL21* 蛋白仅含有 Motif1 和 Motif3,其他 *CmNRL* 蛋白均含有 3 个保守基序。弱光胁迫下,筛选出 15 个表达差异显著的 *CmNRL* 基因,这些基因可能与甜瓜弱光调节相关。

参考文献:

- [1] MA Y C, XU A, CHENG Z M. Effects of light emitting diode lights on plant growth, development and traits a meta-analysis[J]. Horticultural Plant Journal, 2021, 7(6): 552-564.
- [2] SHAFIQ I, HUSSAIN S, ALI RAZA M, et al. Crop photosynthetic response to light quality and light intensity[J]. Journal of Integrative Agriculture, 2021, 20(1): 4-23.
- [3] LI C Y, CHEN J, LI X Y, et al. *FERONIA* is involved in phototropin 1-mediated blue light phototropic growth in *Arabidopsis* [J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2022, 64(10): 1901-1915.
- [4] RIU Y S, SONG H G, KIM H S, et al. Guard-cell-specific expression of Phototropin2 C-terminal fragment enhances leaf transpiration[J]. Plants, 2021, 11(1): 65.
- [5] CHRISTIE J M, SUETSUGU N, SULLIVAN S, et al. Shining light on the function of NPH3/RPT2-like proteins in phototropin signaling[J]. Plant Physiology, 2018, 176(2): 1015-1024.
- [6] KIMURA T, TSUCHIDA-MAYAMA T, IMAI H, et al. *Arabidopsis* root PHOTOTROPISM2 is a light-dependent dynamic modulator of Phototropin1[J]. The Plant Cell, 2020, 32(6): 2004-2019.
- [7] PEDMALE U V, CELAYA R B, LISCUM E. Phototropism: mechanism and outcomes[J]. The Arabidopsis Book, 2010, 8: e0125.
- [8] STOGIOS P J, DOWNS G S, JAUHAL J J, et al. Sequence and structural analysis of BTB domain proteins[J]. Genome Biology, 2005, 6(10): R82.
- [9] SULLIVAN S, WAKSMAN T, PALIOGIANNI D, et al. Regulation of plant phototropic growth by NPH3/RPT2-like substrate phosphorylation and 14-3-3 binding[J]. Nature Communications, 2019, 10: 1-11.

- 2021,12:6129.
- [10] CHRISTIE J M, BLACKWOOD L, PETERSEN J, et al. Plant flavoprotein photoreceptors[J]. *Plant & Cell Physiology*, 2015, 56(3):401-413.
- [11] LALANNE E, MICHAELIDIS C, MOORE J M, et al. Analysis of transposon insertion mutants highlights the diversity of mechanisms underlying male progamic development in *Arabidopsis*[J]. *Genetics*, 2004, 167(4):1975-1986.
- [12] KEN H G, TAKANO M, NEUMANN R, et al. The rice *COLEOPTILE PHOTOTROPISMI* gene encoding an ortholog of *Arabidopsis* NPH₃ is required for phototropism of coleoptiles and lateral translocation of auxin[J]. *The Plant Cell*, 2005, 17(1):103-115.
- [13] PETRICKA J J, CLAY N K, NELSON T M. Vein patterning screens and the defectively organized tributaries mutants in *Arabidopsis thaliana*[J]. *The Plant Journal*, 2008, 56(2):251-263.
- [14] AN G H, QI Y T, ZHANG W Y, et al. LsNRL4 enhances photosynthesis and decreases leaf angles in lettuce[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2022, 20(10):1956-1967.
- [15] YANG L N, MCLELLAN H, NAQVI S, et al. Potato NPH3/RPT2-like protein StNRL1, targeted by a *Phytophthora infestans* RXLR effector, is a susceptibility factor[J]. *Plant Physiology*, 2016, 171(1):645-657.
- [16] LI J H, SU X X, WANG Y L, et al. Genome-wide identification and expression analysis of the BTB domain-containing protein gene family in tomato[J]. *Genes & Genomics*, 2018, 40(1):1-15.
- [17] 胡阳阳,孙琳琳,王多祥,等. 水稻 *NRL* 基因家族的全基因组鉴定与生物信息学分析[J]. *分子植物育种*, 2021, 19(21):6961-6971.
- [18] 赵长江,都梦翔,宋巨奇,等. 玉米 *NRL* 基因家族鉴定与逆境表达分析[J]. *华北农学报*, 2022, 37(4):1-10.
- [19] LISCUM E, ASKINOSIE S K, LEUCHTMAN D L, et al. Phototropism: growing towards an understanding of plant movement[J]. *The Plant Cell*, 2014, 26(1):38-55.
- [20] CHEN W, SHENG Z H, CAI Y C, et al. Rice morphogenesis and chlorophyll accumulation is regulated by the protein encoded by *NRL3* and its interaction with *NAL9*[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2019, 10:175.
- [21] PEI M S, GU C, ZHANG S L. Genome-wide identification and expression analysis of genes associated with peach (*Prunus persica*) fruit ripening[J]. *Scientia Horticulturae*, 2019, 246:317-327.
- [22] MISTRY J, CHUGURANSKY S, WILLIAMS L, et al. Pfam: the protein families database in 2021[J]. *Nucleic Acids Research*, 2021, 49(D1):D412-D419.
- [23] ZHAO K, CHEN S, YAO W J, et al. Genome-wide analysis and expression profile of the *bZIP* gene family in poplar[J]. *BMC Plant Biology*, 2021, 21(1):122.
- [24] YAO Y J, ZHAO H X, SUN L, et al. Genome-wide identification of MAPK gene family members in *Fagopyrum tataricum* and their expression during development and stress responses[J]. *BMC Genomics*, 2022, 23(1):96.
- [25] GINGERICH D J, HANADA K, SHIU S H, et al. Large-scale, lineage-specific expansion of a bric-a-brac/tramtrack/broad complex ubiquitin-ligase gene family in rice[J]. *The Plant Cell*, 2007, 19(8):2329-2348.
- [26] PEGG S. Dictionary of bioinformatics and computational biology[J]. *Briefings in Bioinformatics*, 2005, 6(2):211-212.
- [27] PANCHY N, LEHTI-SHIU M, SHIU S H. Evolution of gene duplication in plants[J]. *Plant Physiology*, 2016, 171(4):2294-2316.
- [28] CANNON S B, MITRA A, BAUMGARTEN A, et al. The roles of segmental and tandem gene duplication in the evolution of large gene families in *Arabidopsis thaliana*[J]. *BMC Plant Biology*, 2004, 4(1):10.
- [29] 杨帆,邹昌利,张利超,等. 甜瓜 *CmLEA* 基因家族鉴定及抗非生物胁迫基因挖掘[J]. *南方农业学报*, 2025, 56(2):563-572.
- [30] 侯银鹤,张永平,姚东伟,等. 甜瓜 *GATA* 基因家族的鉴定及表达分析[J]. *江苏农业科学*, 2025, 53(4):31-40.
- [31] 李程勋,徐晓俞,李爱萍. 木豆 OFP 蛋白基因家族鉴定与表达分析[J]. *江苏农业科学*, 2025, 53(4):209-217.
- [32] 张毕阳,许芳芳,刘伯选,等. 茶树 *RC12* 基因家族成员的鉴定及其低温胁迫下表达分析[J]. *江苏农业科学*, 2024, 52(19):57-64.
- [33] 江定,李光光,袁凡崇,等. 菜心响应高温胁迫的转录组分析与基因挖掘[J]. *南方农业学报*, 2024, 55(3):766-783.
- [34] BRUGIÈRE N, JIAO S P, HANTKE S, et al. Cytokinin oxidase gene expression in maize is localized to the vasculature, and is induced by cytokinins, abscisic acid, and abiotic stress[J]. *Plant Physiology*, 2003, 132(3):1228-1240.

(责任编辑:石春林)