

晏美红, 郑玉成, 侯炳豪, 等. 茶树乙烯受体 *ETR* 基因家族的鉴定与表达分析 [J]. 福建农业学报, 2021, 36 (10): 1160–1168.

YAN M H, ZHENG Y C, HOU B H, et al. Identification and Expression Analysis of *ETR* Gene Family in *Camellia sinensis* [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2021, 36 (10): 1160–1168.

茶树乙烯受体 *ETR* 基因家族的鉴定与表达分析

晏美红, 郑玉成, 侯炳豪, 陈雪津, 陈晓君, 叶乃兴*

(福建农林大学园艺学院/茶学福建省高校重点实验室, 福建 福州 350002)

摘要:【目的】鉴定并分析 *CsETR* 基因, 预测其潜在分子功能, 以期从分子水平了解乙烯受体在茶树生长过程中应对胁迫的作用机制。【方法】采用生物信息学分析方法鉴定 *ETR* 基因家族成员并预测其潜在分子功能, 采用实时荧光定量分析法分析其在不同胁迫处理下的表达水平。【结果】从茶树基因组中确定了 6 个茶树 *ETR* 基因家族成员, 均包含 N 端跨膜区、GAF 区和组氨酸 (His) 激酶结构域; 系统发育树分析显示其为两组, 与乙烯受体的两个亚家族分别对应; 茶树 *ETR* 基因家族中每个成员含有 1~12 个外显子。*ETR* 家族基因在茶树果实和茎中表达量较高, 且该家族表现出明显的组织表达特异性。实时荧光定量分析结果显示: 低温处理下, 6 个基因的表达水平上调, 其中 *ERS1-1* 基因的表达水平上调最为明显; 在植物生长调节剂 ABA、JA 和 GA 处理下大部分基因表达水平上调, 其中 *ERS1-3* 基因上调最为明显, 而 *ETR2-2* 基因在 ABA 处理下表达水平呈缓慢下调趋势。【结论】共鉴定出 6 个 *CsETR* 基因家族成员, 并预测分析了其潜在的分子功能, 该基因家族成员在果实和茎中表达量较高, 且低温能诱导 *CsETR* 基因的表达, 其中 *ERS1-3* 基因在 ABA、MeJA 和 GA 的处理下表达量显著上调。

关键词: 茶树; *ETR* 基因; 植物生长调节剂; 非生物胁迫; 表达分析

中图分类号: S 571.1

文献标志码: A

文章编号: 1008-0384 (2021) 10-1160-09

Identification and Expression Analysis of *ETR* Gene Family in *Camellia sinensis*

YAN Meihong, ZHENG Yucheng, HOU Binghao, CHEN Xuejin, CHEN Xiaojun, YE Naixing*

(College of Horticulture, Fujian Agriculture and Forestry University/Key Laboratory of Tea Science at University in Fujian, Fuzhou, Fujian 350002, China)

Abstract: 【Objective】*CsETRs* were identified and analyzed to predict the potential molecular functions involving the mechanism of ethylene receptor in response to stress in tea plants. 【Method】Bioinformatics was used to identify members in the *ETR* family and predict their potential molecular functions. Real-time fluorescence quantitative analysis was employed for the expressions of the genes under stresses. 【Result】Six *ETRs* were identified from the genome of tea plants. They all consisted of N-terminal transmembrane region, GAF region, and histidine (His) kinase domain. Phylogenetic tree analysis divided them into two groups. Each member of the *ETR* family contained 1-12 exons. Significantly differentiated in tissues, the expressions of *ETRs* were high in the fruits and stems. The fluorescence quantitative expressions of the 6 genes, especially *ERS1-1*, were upregulated to varying degrees when exposed to low temperature. Under the stress of plant growth regulators ABA, JA, or GA, most of the genes were upregulated, especially *ERS1-3*, but *ETR2-2* downregulated slowly when treated by ABA. 【Conclusion】On tea plants, 6 *CsETRs* in the family were identified with their potential molecular functions predicted and analyzed in this study. *CsETRs* were highly expressed in the fruits and stems that could be induced by low-temperature stress. Whereas ABA, MeJA, or GA could significantly upregulate the expression of *ERS1-3*.

Key words: *Camellia sinensis*; *ETR* gene; plant growth regulators; abiotic stress; expression analysis

收稿日期: 2021-05-26 初稿; 2021-08-30 修改稿

作者简介: 晏美红 (1998-), 女, 研究方向: 茶树栽培育种与生物技术 (E-mail: 15960010793@163.com)

* 通信作者: 叶乃兴 (1963-), 男, 教授, 研究方向: 茶树栽培育种与品质化学 (E-mail: ynxtea@126.com)

基金项目: 中国乌龙茶产业协同创新中心专项 (闽教科 (2015) 75 号); 安溪茶叶重大科技创新专项 (AX2021001); 福建农林大学大学生创新创业训练计划项目 (20190389154); 福建张天福茶叶发展基金会科技创新基金项目 (FJZTF01)

0 引言

【研究意义】茶树 *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze 是我国重要的无酒精饮料作物^[1]，在生长过程中容易受到低温、干旱、洪涝等胁迫，从而影响茶树的正常生长发育，降低茶叶的产量和质量。植物通过调节乙烯敏感性来对环境胁迫产生反应。乙烯受体 ETR (Ethylene receptor) 是乙烯信号转导途径的第一个元件，乙烯受体基因表达对调控乙烯信号传递，从而调节植物生长起着重要作用。因此，鉴定并分析乙烯受体基因，挖掘其相关的功能，以期从分子水平了解乙烯受体在茶树生长过程中应对胁迫的作用机制。【前人研究进展】乙烯是通过其与受体的结合来被植物感知的。受体位于细胞内质网膜上，起着负调控乙烯反应的作用^[2]。目前，植物乙烯信号转导通路探明：在 CU^+ 的参与下，乙烯分子结合乙烯受体，致使 CTR1 (Constitutive triple response1)，失活而减弱下游的 EIN2 (Ethylene Insensitive2) 蛋白的磷酸化，EIN2 蛋白 c 端被切割，c 端移动到细胞核使其中的 EIN3 (Ethylene insensitive3) 等因子感受到乙烯信号，促进下游的 ERFs (Ethylene response factors) 表达，激活乙烯反应^[3]。在模式植物拟南芥中，研究者们发现了 5 种不同类型的乙烯受体，分别为：ETR1、ERS1、EIN4、ETR2 和 ERS2。每个受体都包含有 N 端跨膜区、GAF 区和组氨酸 (His) 激酶结构域，ETR1、EIN4 和 ETR2 受体中还包含一个接收域^[4]。根据 His 激酶结构域中是否存在保守元素，将受体分为 2 个亚科：亚科 1 (ETR1 和 ERS1) 和亚科 2 (ETR2、ERS2 和 EIN4)。前人已在对香蕉^[5]、芒果^[6]、木薯^[7]、丹参^[8]等的研究中证实了乙烯受体在果实成熟和花生生长等组织生长发育方面的作用以及对逆境胁迫的抵御功能。茶树基因组学的巨大进步有效促进了研究人员对茶叶品质及适制性的理解，2017 年云抗 10 号茶树基因组发表，开启了茶树基因组学研究序幕^[9]，2018 年中国小叶种茶树舒茶早完成测序，舒茶早采用二代测序和三代 PacBio 序列补洞的策略获得了更高质量的茶树基因组^[10]。科学家们已经分离出 2 个茶叶品种：中国小叶种茶树 CSS (*Camellia sinensis* vars. *sinensis*)^[11] 和中国大叶种茶树 CSA (*Camellia sinensis* vars. *assamica*)^[9] 的基因组序列，尤其是 3 个中国种 (舒茶早^[12]、碧云^[13] 和龙井 43^[11]) 的高精度染色体水平基因组序列已经被科学家们研究获得。但至今鲜有有关茶树乙烯受体基因方面的研究报告。【本研究切入点】前人研究结果表明乙烯受体基因对植物生长发育有内部调控作用。但至今鲜有

茶树乙烯受体基因的有关研究报告。【拟解决的关键问题】本研究通过对茶树 ETR 基因家族进行生物信息学分析，预测其潜在分子功能，明确乙烯受体在茶树发育过程中的动态变化，初步了解家族各成员功能，筛选主要参与茶树组织发育过程 ETR 基因家族成员，利用前期基因家族的研究及 qRT-PCR 技术研究在非生物和外源激素胁迫下 ETR 基因家族各成员相对表达量变化，为进一步探明茶树乙烯受体各成员功能奠定基础。

1 材料与方法

1.1 供试材料

试验所用材料于福建农林大学茶学福建省高校重点实验室采集。供试原料为相同栽培条件下生长状态良好的二年生铁观音盆栽茶树。原料于 2019 年 4 月参照陈丹 (2017) 等^[14] 的方法进行了以下处理：

1) 低温处理：将在适宜温度 (24 ± 2) °C 下生长的原料植株移到人工气候箱中发育，温度设置为 4 °C，湿度为 60%~70%，光照时间 14 h，黑暗时间 10 h。取低温处理后 0、4、24、48 h 的顶端第 2、3 片茶树成熟混合叶。

2) 植物生长调节剂处理：制备新鲜的 GA、MeJA 和 ABA 溶液，提取 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 喷洒于不同植株^[15]，取各处理后 0、6、24、48 h 的顶端第 2、3 片茶树成熟混合叶。

将以上试验材料每个处理取 3 次重复，用锡纸包裹标记，液氮速冻后存于 -80 °C 冰箱中。

1.2 试验方法

1.2.1 CsETR 基因家族成员鉴定 首先在茶树基因组数据库 TPIA (<http://tpia.teaplant.org>)^[16] 中下载茶树 ETR 基因蛋白序列，使用 SMART (<http://smart.embl-heidelberg.de/>)^[17] 和 CDD (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/cdd/>)^[18] 在线网站查找鉴定到的潜在基因的 ETR 保守结构域，与完整的 ETR 基因结构域进行比对，以筛选准确的基因家族成员。采用 ExPASY (<http://www.expasy.org/>)^[19] 和 WoLF PSORT (<https://wolfsort.hgc.jp/>)^[20] 在线网站分析 CsETR 家族成员的蛋白质理化性质并预测其亚细胞定位。

1.2.2 CsETR 基因家族系统发育树构建 采用 MEGA7.0 软件对 CsETR 基因进行保守序列分析，并于 TAIR (<https://www.arabidopsis.org/>) 网站和 NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) 网站下载拟南芥和番茄的乙烯受体基因序列，使用 MEGA7.0 软件构建系统进化树^[21]。

1.2.3 CsETR 基因成员结构和保守结构域分析 从

TPIA 数据库中下载 CsETR 基因的外显子和内含子数据文件, 利用 GSDS (<http://gsds.cbi.pku.edu.cn/>)^[22] 在线网站制作 CsETR 家族成员的基因结构图, 包含外显子和内含子数目。使用 MEME5.0.2 (<http://meme-suite.org/tools/meme>) 在线软件分析 CsETR 基因蛋白序列的保守基序^[23]。

1.2.4 CsETR 基因的顺式作用元件分析 从 TPJA 数据库中提取 CsETR 基因起始位置上游 1000 bp 序列, 利用 Editra 软件查找启动子顺式作用元件, 并于 TBtools 软件进行分析^[24]。

1.2.5 实时荧光定量 PCR 分析 茶树叶片总 RNA 使用北京天根多糖多酚植物总 RNA 提取试剂盒提取, 参照北京全式金试剂盒合成茶树乙烯受体 cDNA 用于 qRT-PCR^[10]。CsETR 家族成员引物设计在 primer3plus (<http://www.primer3plus.com/>) 在线网站上进行 (表 1), 内参基因选用 CsGAPDH (登录号 GE651107)。qRT-PCR 反应在荧光定量 PCR 仪上进行。反应体系及程序参照实验室前期方法, 使用 2^{-ΔΔCt} 方法计算基因相对表达量^[25], 并使用 TBtools 绘制热图。

2 结果与分析

2.1 CsETR 基因家族成员的鉴定

为准确鉴定 CsETR 家族成员, 本研究采用了 Blast 比对方法, 并将鉴定到的潜在 CsETR 家族成员提交至 SMART 和 CDD 网站再次进行鉴定, 最终获得 6 个 CsETR 家族成员, 分别命名为 CsERS1-1、CsERS1-2、CsERS1-3、CsEIN4、CsETR2-1、CsETR2-2 (图 1)。采用 ExPASy 和 WoLF PSORT 在线网站

表 1 茶树 CsETR 家族成员引物序列
Table 1 Primer sequence of CsETRs in tea plants

基因名称 Gene name	上游引物 Forward primers (5'→3')	下游引物 Reverse primer (5'→3')
ERS1-1	AATGGCCTGCTGATGAGCTT	CACAGAAGATCCAGCAGGCA
ERS1-2	GAGGATGGCAGCCTTCAACT	AGTACATCCCTTGCCAAGCC
ERS1-3	GGCACCAGATTTACCTGCCT	GCTGAGCTTTCTGCAACACC
EIN4	AATTGTGCCGTTTGGATGCC	GAGTTTCTTGCTGGCTTGTC
ETR2-1	GCAAATCGCTTGATCGGCAT	CCATCATTGCGCTCTGCTTC
ETR2-2	ATAAAGGAAGCCGCTTGCCT	TCCCGTTTCAGAGATGCCTA
CsGAPDH	TTGGCATCGTTGAGGGTCT	CAGTGGGAACAGGAAAGC

分析 6 个家族成员各项因子的理化性质 (表 2)。通过蛋白质理化分析后得出结果, CsETR 的 ORF 氨基酸长度为 614 aa (CsERS1-1)~763 aa (CsETR2-1), 分子量为 68.63~85.56 kD, 等电点大小为 6.09 (CsERS1-1)~7.57 (CsETR2-2), 亲水性为 0.014~0.250, 表明 CsETR 基因蛋白为碱性疏水蛋白; 通过亚细胞定位预测分析后发现, CsETR 基因蛋白均位于质膜上。

2.2 CsETR 家族成员的系统发育和分类分析

为了解 ETR 蛋白之间的进化关系, 本研究选取了 3 个典型物种的 17 个 ETR 蛋白用来构建系统进化树。共采用 6 个茶树乙烯受体基因、6 个番茄乙烯受体基因和 5 个拟南芥乙烯受体基因来构建系统发育树 (图 2)。ETR 家族总共可分为 2 个亚家族, 分别为 ETR 家族和 ERS 家族。另外, 番茄的变异受体基因 Nr 单独形成一组, 与其他 2 个亚家族功能有所区别。

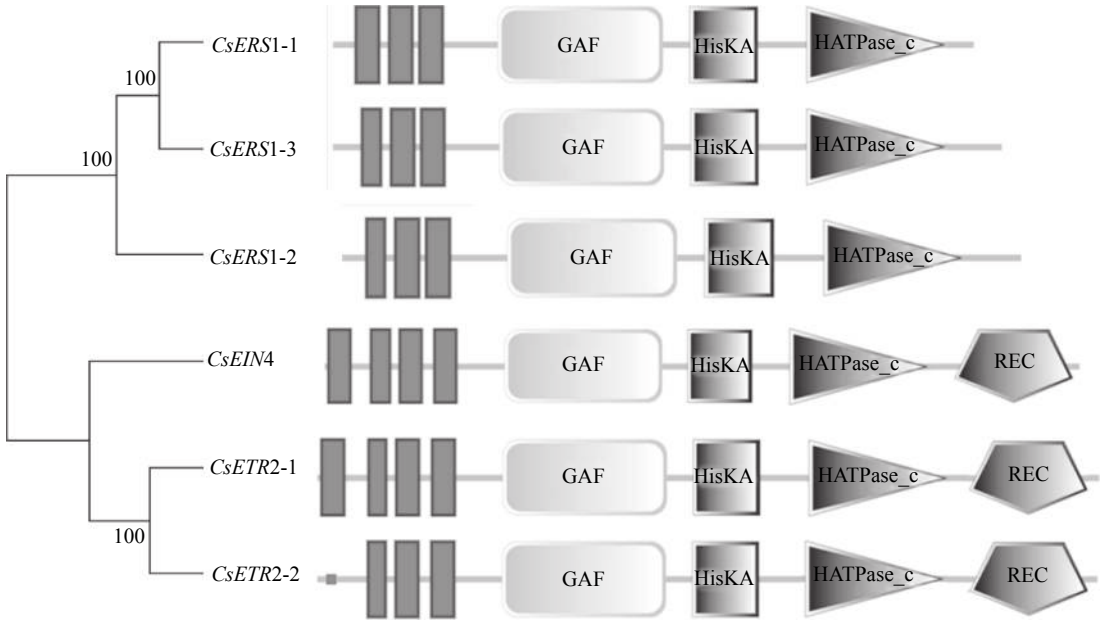


图 1 茶树乙烯受体结构域
Fig. 1 Ethylene receptor domain of tea plants

表 2 茶树 *CsETR* 基因家族的序列特征
Table 2 Characteristics of *CsETR* sequences in tea plants

基因 Gene name	基因组编号 Genome ID	编码序列长度 CDS/bp	开放阅读框长度 ORF/aa	分子量 MW/kD	等电点 pI	平均亲水性 Grand average of hydropathicity	亚细胞定位 Subcellular localization
<i>CsERS1-1</i>	TEA017521	1 845	614	68.63	6.09	0.162	质膜 Plasma membrane
<i>CsERS1-2</i>	TEA032252	1 923	640	71.71	7.02	0.144	质膜 Plasma membrane
<i>CsERS1-3</i>	TEA012203	1 932	643	71.89	6.67	0.250	质膜 Plasma membrane
<i>CsEIN4</i>	TEA025082	2 292	763	85.56	7.27	0.014	质膜 Plasma membrane
<i>CsETR2-1</i>	TEA002824	2 292	763	84.73	6.32	0.077	质膜 Plasma membrane
<i>CsETR2-2</i>	TEA020178	2 292	763	85.56	7.57	0.054	质膜 Plasma membrane

2.3 *CsETR* 家族成员结构和保守结构域分析

为分析 *CsETR* 基因家族成员结构的多样性，本文通过在 GSDS 网站上制作基因结构图来比较乙烯受体家族的内含子/外显子数量（图 3），通过比较这 6 个成员的基因结构发现，外显子的数量从 1（*ERS1-2*）至 12（*ERS1-3*）个不等，差别较大，其中 *ERS1-3* 基因序列最长，超过了 10 000 bp，*ERS1-2* 除外显子外，无内含子的存在，其他成员内含子均被外显子中断隔开。除此之外，发现 *ETR* 亚家族的基因序列分布相似，外显子内含子数量均为 2 个，

而 *ERS* 亚家族基因序列分布不均。

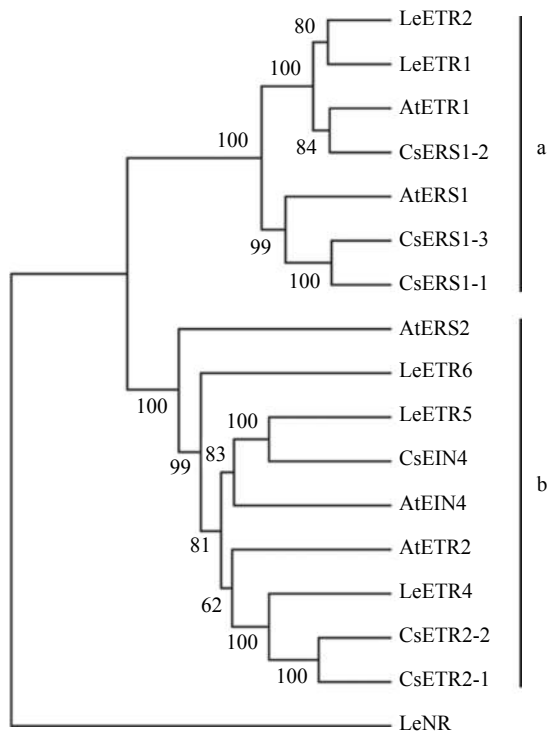
利用分析网站 MEME 预测发现了 *ETR* 家族的 6 个保守基序（图 4）和基因的保守基序分布及长度，结果显示所有家族成员都有相同的保守基序，且 2 个亚家族之间的分布在分布区域及长度上都十分相似。说明 *ETR* 家族成员基因功能较为保守，2 个亚家族分别有着相似的遗传功能。

2.4 *CsETR* 基因家族启动子顺势元件分析

启动子顺势元件对于调控基因表达发挥着重要作用。*CsETR* 基因启动子顺式作用元件使用 PlantCARE 在线工具分析（图 5）。最终获得 3 类顺势元件，与茶树生长相关的顺势元件：玉米醇溶蛋白代谢调控（O2-site，1 个）、光响应（TCT-motif，25 个）；胁迫相应元件：厌氧响应（ARE，10 个）、干旱响应（MBS，3 个）、低温响应（LTR，3 个）、防御和压力响应（TC-rich repeats，1 个）、创伤响应（WUN-motif，1 个）以及激素响应元件：包括生长素（AuxRR-core，1 个）、脱落酸（ABmotif，1 个）以及激素响应元件：包括生长素（AuxRR-TATbox、GARE-motif，3 个）、水杨酸（TCA-element，1 个）。由图可知，在 *ETR* 家族中 6 个成员均含有大量顺势元件，其中 *CsETR2-1* 含有 1 个 O2-site，*CsETR1-3* 含有 1 个 AuxRR-core，*CsETR2-2* 含有 1 个 WUN-motif。以上结果表明，*CsETR* 家族在茶树的生长发育、激素和外界胁迫响应中起着重要作用。

2.5 *CsETR* 家族成员在不同组织中的表达模式

为研究 *CsETR* 基因家族对茶树组织生长发育的功能，从 TPIA 数据库中下载 8 种茶树组织表达数据，利用 TBtools 软件分析其在不同组织中的表达模式（图 6）。根据结果可分析出：*ETR* 家族在果实中的表达最为明显，茎和顶芽次之，在根和老叶部分表达相对较低，表明 *CsETR* 家族对茶树的果实发育起着重要作用。分析各个基因家族成员的组织表达

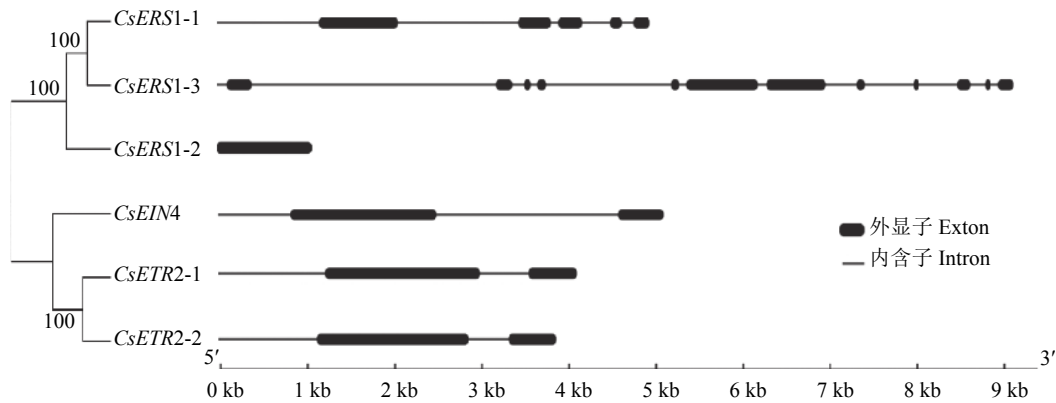


注：Cs. 茶树；At. 拟南芥；Le. 番茄。

Note: Cs: *Camellia sinensis*; At: *Arabidopsis thaliana*; Le: *Lycopersicon esculentum*.

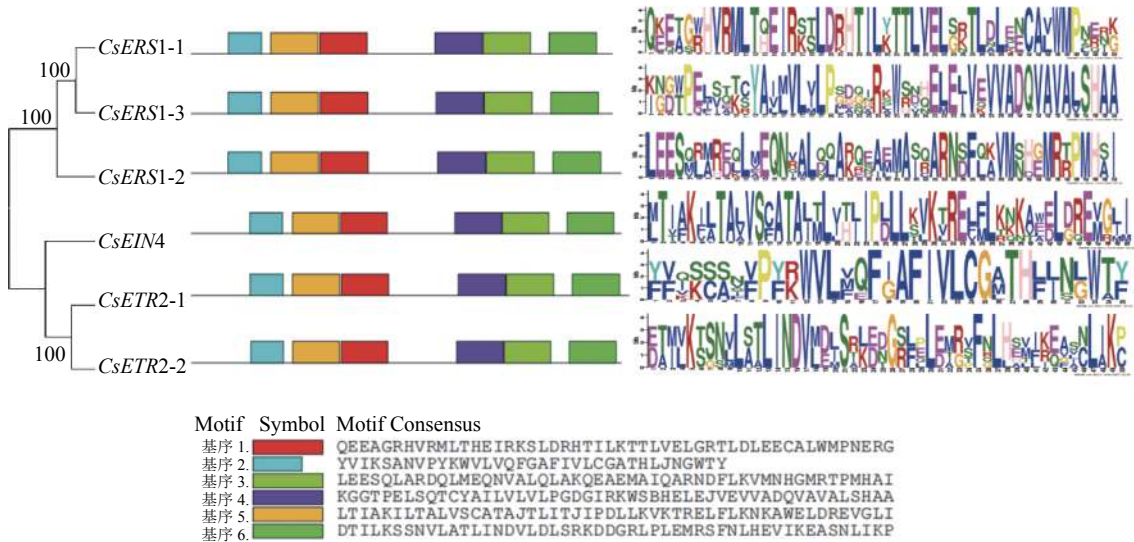
图 2 茶树与其他植物蛋白的 *ETR* 基因系统进化树

Fig. 2 Phylogenetic tree of *ETR*s in tea and other plant proteins



注：a.CsETR 家族系统进化树；b.CsETR 基因结构。
Note: a: phylogenetic tree of CsETR family; b: structure of CsETR.

图 3 CsETR 基因家族结构
Fig. 3 Structure of CsETR family



注：a.CsETR 家族系统进化树；b.CsETR 家族保守基序分析；c.基序 logo 分析。
Note: a: phylogenetic tree of CsETR family; b: conserved motif distribution of CsETR family; c: motif logo analysis.

图 4 CsETR 基因的保守基序分析
Fig. 4 Conservative motif analysis on CsETRs

量发现，*CsETR* 家族有着较为明显的组织表达特异性，其中 *CsERS1-1*、*CsEIN4* 和 *CsETR2-2* 基因在果实中表达量较高，说明这 3 个基因在乙烯对果实成熟的影响过程中扮演着重要角色，而 *CsERS1-2*、*CsERS1-1* 在茎组织有较高表达，*CsETR2-2* 在成熟叶中表达量较低。

2.6 CsETR 家族在 4 种处理下的表达模式

为探究 *CsETR* 基因家族在激素和胁迫下的生理反应，鉴定外界胁迫和激素影响下的乙烯受体表达，本研究使用荧光定量技术测定了 *CsETR* 家族 6 个成员在低温（4℃）、赤霉素、脱落酸、茉莉酸处理下的相对表达量（图 7）。在对低温 4℃ 诱导下的试验材料进行 PCR 分析后得出其不同时间段的基因表达量，发

现 *CsETR* 基因家族的 6 个成员表达量均呈现上调趋势，其中 *CsERS1-1* 表达量上调幅度最大，*CsERS1-3* 较小，大部分基因在低温诱导 48 h 后的表达量最高。分别对 GA、MeJA、ABA 处理后试验材料基因表达量进行分析，在 GA 的影响下，除去 *EIN4* 基因的表达量略有波动外，大部分 *ETR* 基因家族成员表达量均呈上调趋势，其中 *CsERS1-3* 的上调幅度最大，而 *CsERS1-1* 在 6~48 h 的基因表达量差别不大。在 JA 影响下的 *ETR* 基因表达量均呈现上调趋势，且 *CsERS1-3* 的上调幅度亦位于首位。在 ABA 的影响下，除 *CsETR2-2* 基因的表达量呈下调趋势外，其他家族成员都呈上调趋势，其中 *CsERS1-3* 的上调幅度依旧稳居首位。然而，*ETR* 基因家族成员在 ABA 处

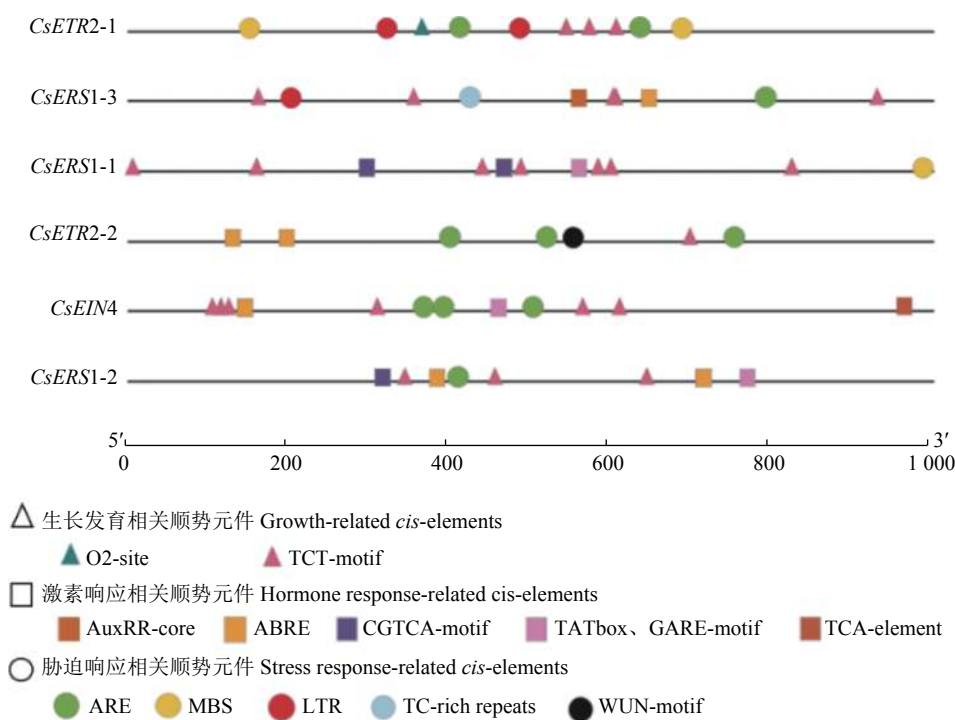
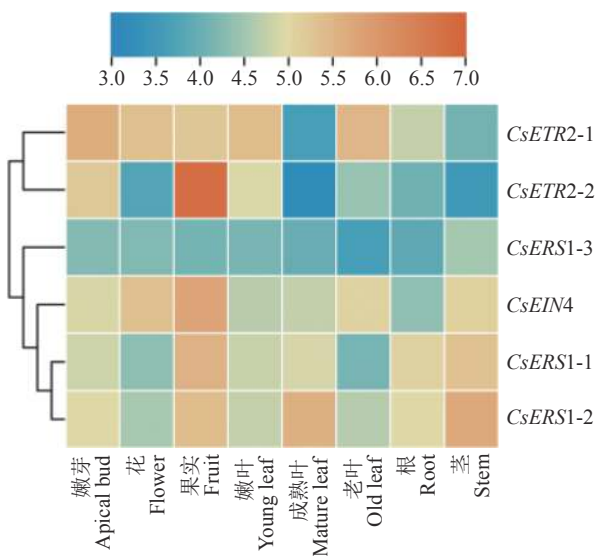


图 5 *CsETR* 基因启动子顺势元件预测
Fig. 5 Predicted cis-elements in promoter of *CsETRs*



注：蓝色代表低表达，橙色代表高表达。
Note: blue represents low expression, and red high expression.

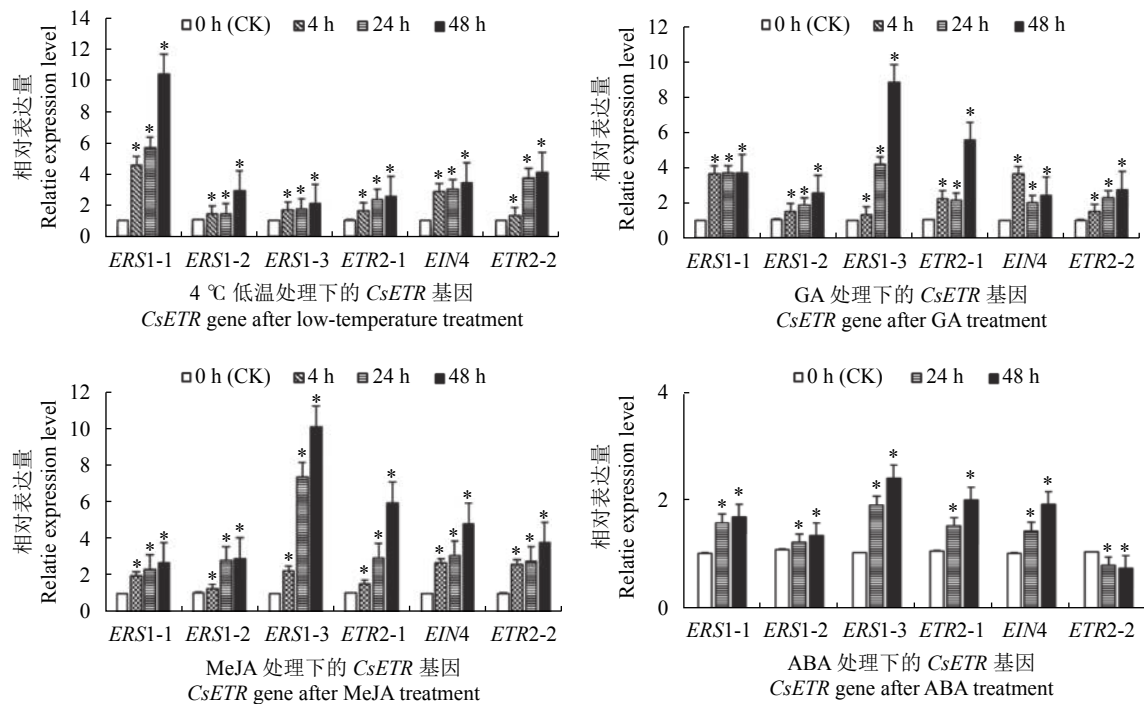
图 6 *CsETR* 基因家族的组织表达谱
Fig. 6 Expression patterns of *CsETR* family

理 6 h 后的表达量变化均难以测定，但内参处理下的基因表达量变化正常，推测其原因是 ABA 处理 6 h 对 *CsETR* 基因的影响不明显。

3 讨论与结论

前人研究表明，*ETR* 基因对植物生长，尤其是在成花及果实成熟阶段发挥着重要的调节作用。目

前已经在拟南芥中鉴定到 5 个 *ETR* 成员^[10]、番茄中鉴定出 6 个 *ETR* 成员^[26]、甜瓜中鉴定出 3 个家族成员^[27]、水稻中分离出 5 个基因^[28]、烟草中鉴定出 4 个 *ETR* 家族成员^[29]。在对 *ETR* 基因的进化史研究发现，*ETR* 家族成员中，类 *ETR1* 受体首先进化，可能伴随着茶藻进化过程。乙烯反应在从藻类向陆地环境过渡期间可能很重要，对乙烯应对外界环境的进化研究有贡献^[30]。然而，目前尚无对茶树 *ETR* 家族的研究。本研究在茶树基因组数据的基础上，根据其蛋白质结构鉴定出了 6 个 *ETR* 成员，分析结果介于拟南芥和番茄之间。通过对模式植物拟南芥 *ETR* 基因家族的分析发现，*ETR* 基因分为 2 个亚家族，茶树 *ETR* 基因在这 2 个亚家族中均有分布，其中亚家族 1 中 *ERS* 基因有 3 个。其中，*CsETR2-1* 和 *CsETR2-2* 与 *LeETR4* 同源性最为接近；*CsERS1-1* 和 *CsERS1-3* 与 *AtERS1* 同源性最近，表明它们可能行使了相同的功能。这些不同的主要序列，存在区域和表现出激酶活性的类型，可能表明受体间的功能差异性。在分析 *ETR* 家族结构之后，发现 *ETR* 基因外显子-内含子高度保守，外显子数目为 1~12 个，同一组间的外显子数目相似，说明同一组基因间有着功能的相似之处。而在 MEME 网站上分析 *CsETR* 蛋白质的基序发现，6 个基因都存在相同的 6 个基序，且相同组的距离几乎相同，说明 2 个亚家族有



注：对同一个基因相同处理下不同时间点的表达量进行差异性分析（“*”表示 $P < 0.05$ ）

Note: Expressions of same gene under identical treatment at different time (“*” indicates $P < 0.05$).

图 7 *CsETR* 基因在低温、GA、MeJA、ABA 处理下的表达谱

Fig. 7 Expression profile of *CsETRs* under low-temperature, GA, MeJA, or ABA treatment

着相似的遗传功能。

乙烯受体是乙烯信号转导通路中的第一步，对乙烯引起的植物生理反应有着重要的作用。研究表明，*ETR* 基因对于调节植物果实成熟和花衰老有着关键作用。不同的乙烯受体，即使结构相似，在同一或不同植物中对于植物生长阶段的表达水平与模式都有差异，如在同一株月季中，亚家族 1 的 2 个成员 *RhETR1* 和 *RhETR3* 结构相似，但在切花开放过程中，2 个基因的表达却完全相反，*RhETR1* 上调，*RhETR3* 则下调。在 2 个不同植物番茄和甜瓜中，番茄 *LeETR1* 与甜瓜 *Cm-ETR1* 同源，在果实成熟时，*LeETR1* 表达不受乙烯合成影响，而 *Cm-ETR1* 的表达随内源乙烯的合成同比变化^[31]。*ETR* 基因负调控乙烯信号转导，即上调 *ETR* 基因的表达，植物的乙烯敏感性就降低，反之升高。因此，可以通过调节 *ETR* 基因的表达来调控植物对乙烯的敏感性，如在水稻培育过程中通过上调 *ETR2* 基因的表达来降低转基因植株的敏感性，从而延迟水稻开花^[32]。本研究发现 *CsETR* 家族在茶树果实中高表达，尤其是 *CsERS1-1*、*CsEIN4*、*CsETR2-2*，说明这些基因对于调控茶果成熟起着重要作用，其次，*ERS* 亚家族对茶树茎高表达，说明这些基因在茶树茎的发育中发挥作用。

研究基因启动子有助于了解植物基因表达模式的差异及其分子调控机制。前人研究发现，许多 *ETR*

基因自身含有响应非生物胁迫的顺式作用元件，如在番茄中 *SlETR6* 基因含有 LTR、MBS、ARE、TCT-motif、ERF（乙烯应答）等顺式作用元件^[33]。甘蔗的受体基因 *SoERS1* 中也含有干旱诱导的 MYB 结合位点和 LTR 元件，说明该基因的表达可能受干旱和高温等因素的调控^[34]。同样，我们在对茶树的启动子研究当中，也发现了每个成员所携带的顺式作用元件，如 ARE、TCT-motif、LTR、ABRE、AuxRR-core、CGTCA-motif 等，大部分都与非生物胁迫和激素有关。在对低温及植物生长调节剂处理下的茶叶经 PCR 分析后发现，*CsETR* 家族所有成员在低温胁迫下的表达量均呈上调趋势，这与启动子顺势元件分析结果相匹配。在 GA、ABA、JA 的诱导下，大部分家族成员基因表达量都呈上调趋势，而 *EIN4* 基因在 GA 处理 6 h 后达到最高值，说明 *EIN4* 基因在 GA 处理前期正调控反应最大，而 *ETR2-2* 基因在 ABA 处理下表达量呈下调趋势，可能是 *ETR2-2* 基因在 ABA 的影响下表达收到抑制。在 *CsETR* 家族基因中，*CsERS1-3* 在植物生长调节剂的影响下表达量上调幅度最大，说明 *ERS1-3* 在对植物生长调节剂的响应中可能发挥重要的正调控作用。

本研究首次开展了对茶树全基因组数据库中 *CsETR* 基因家族的鉴定分析，鉴定出 6 个家族成员，分为 2 个亚科，对其保守结构域、启动子顺势

元件分析以及在低温、外源激素胁迫下的反应进行分析后得出初步结论: 茶树乙烯受体基因家族与茶树的组织生长发育、非生物胁迫和外源激素影响有着密切的关系, 后续还需进行细致的试验具体验证这些基因的生物学功能, 并为茶树新品种选育提供参考。

参考文献:

- [1] HAZRA A, DASGUPTA N, SENGUPTA C, et al. Next generation crop improvement program: Progress and prospect in tea (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) [J]. *Annals of Agrarian Science*, 2018, 16 (2): 128–135.
- [2] HUA J, MEYEROWITZ E M. Ethylene responses are negatively regulated by a receptor gene family in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Cell*, 1998, 94 (2): 261–271.
- [3] WEN X, ZHANG C L, JI Y S, et al. Activation of ethylene signaling is mediated by nuclear translocation of the cleaved EIN₂ carboxyl Terminus [J]. *Cell Research*, 2012, 22 (11): 1613–1616.
- [4] HUA J, SAKAI H, NOURIZADEH S, et al. EIN₄ and ERS2 are members of the putative ethylene receptor gene family in *Arabidopsis* [J]. *The Plant Cell*, 1998, 10 (8): 1321–1332.
- [5] 冯斗, 张春发, 张颖. 香蕉乙烯受体基因cDNA的克隆及其表达分析 [J]. *热带作物学报*, 2004, 25 (1): 6–10.
FENG D, ZHANG C F, ZHANG Y. Ublished by Evert (2001). Slot Northern hybridization with the labeled probe of PGCHI indicated [J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2004, 25 (1): 6–10. (in Chinese)
- [6] 李丽, 孙健, 易萍, 等. 芒果乙烯受体ETR1和ERS1基因的克隆及序列分析 [J]. *南方农业学报*, 2018, 49 (6): 1053–1060.
LI L, SUN J, YI P, et al. Cloning and sequence analysis of ethylene receptor ETR1 and ERS1 genes from Mango [J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2018, 49 (6): 1053–1060. (in Chinese)
- [7] 陈志晟, 颜彦, 赵思涵, 等. 木薯ETR1基因克隆及表达分析 [J]. *南方农业学报*, 2020, 51 (1): 19–26.
CHEN Z S, YAN Y, ZHAO S H, et al. Cloning and expression analysis of MeETR1 gene in cassava [J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2020, 51 (1): 19–26. (in Chinese)
- [8] 王睿, 吴佳文, 毛仁俊, 陈国梁, 白朕卿. 丹参乙烯受体SmETR1基因的克隆及序列分析[J/OL]. 基因组学与应用生物学: 1–9[2021-05-06]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/45.1369.Q.20210317.1532.002.html>.
WANG R, WU J W, ZHAO S H, et al. Cloning and sequence analysis of ethylene receptor SmETR1 gene from *Salvia miltiorrhiza* [J/OL]. *Genomics and Applied Biology*, 1–9[2021-05-06]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/45.1369.Q.20210317.1532.002.html>.
- [9] XIA E H, ZHANG H B, SHENG J, et al. The tea tree genome provides insights into tea flavor and independent evolution of caffeine biosynthesis [J]. *Molecular Plant*, 2017, 10 (6): 866–877.
- [10] WEI C L, YANG H, WANG S B, et al. Draft genome sequence of *Camellia sinensis* var. *sinensis* provides insights into the evolution of the tea genome and tea quality [J]. *PNAS*, 2018, 115 (18): E4151–E4158.
- [11] WANG X C, FENG H, CHANG Y X, et al. Population sequencing enhances understanding of tea plant evolution [J]. *Nature Communications*, 2020, 11: 4447.
- [12] CHEN J D, ZHENG C, MA J Q, et al. The chromosome-scale genome reveals the evolution and diversification after the recent tetraploidization event in tea plant [J]. *Horticulture Research*, 2020, 7: 63.
- [13] ZHANG Q J, LI W, LI K, et al. The chromosome-level reference genome of tea tree unveils recent bursts of non-autonomous LTR retrotransposons in driving genome size evolution [J]. *Molecular Plant*, 2020, 13 (7): 935–938.
- [14] 陈丹, 俞滢, 岳川, 等. 茶树 $\Delta 12$ -脂肪酸去饱和酶基因FAD2和FAD6的克隆与表达分析 [J]. *茶叶科学*, 2017, 37 (6): 541–550.
CHEN D, YU Y, YUE C, et al. Cloning and expression analysis of $\Delta 12$ -fatty acid desaturase in tea plants [J]. *Journal of Tea Science*, 2017, 37 (6): 541–550. (in Chinese)
- [15] 王鹏杰, 郑玉成, 林滢, 等. 茶树GRF基因家族的全基因组鉴定及表达分析 [J]. *西北植物学报*, 2019, 39 (3): 413–421.
WANG P J, ZHENG Y C, LIN Y, et al. Genome-wide identification and expression analysis of GRF gene family in *Camellia sinensis* [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2019, 39 (3): 413–421. (in Chinese)
- [16] XIA E H, LI F D, TONG W, et al. Tea Plant Information Archive: A comprehensive genomics and bioinformatics platform for tea plant [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2019, 17 (10): 1938–1953.
- [17] SCHULTZ J, MILPETZ F, BORK P, et al. SMART, a simple modular architecture research tool: Identification of signaling domains [J]. *PNAS*, 1998, 95 (11): 5857–5864.
- [18] MARCHLER-BAUER A, DERBYSHIRE M K, GONZALES N R, et al. CDD: NCBI's conserved domain database [J]. *Nucleic Acids Research*, 2015, 43 (Database issue): D222–D226.
- [19] DUVAUD S, GABELLA C, LISACEK F, et al. ExPASy, the Swiss bioinformatics resource portal, as designed by its users [J]. *Nucleic Acids Research*, 2021, 49 (W1): W216–W227.
- [20] HORTON P, PARK K J, OBAYASHI T, et al. WoLF PSORT: Protein localization predictor [J]. *Nucleic Acids Research*, 2007, 35 (Web Server issue): W585–W587.
- [21] NEWMAN L, DUFFUS A L J, LEE C. Using the free program MEGA to build phylogenetic trees from molecular data [J]. *The American Biology Teacher*, 2016, 78 (7): 608–612.
- [22] HU B, JIN J P, GUO A Y, et al. GSDS 2.0: An upgraded gene feature visualization server [J]. *Bioinformatics*, 2015, 31 (8): 1296–1297.
- [23] BAILEY T L, BODEN M, BUSKE F A, et al. MEME Suite: Tools for motif discovery and searching [J]. *Nucleic Acids Research*, 2009, 37 (Suppl_2): W202–W208.
- [24] 陈雪津, 王鹏杰, 郑玉成, 等. 茶树BES1转录因子全基因组鉴定与分析 [J]. *西北植物学报*, 2019, 39 (5): 876–885.
CHEN X J, WANG P J, ZHENG Y C, et al. Genome-wide identification and analysis of BES1 transcription factor family in *Camellia sinensis* [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*,

- 2019, 39 (5) : 876–885. (in Chinese)
- [25] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta$ CT method [J]. *Methods*, 2001, 25 (4) : 402–408.
- [26] TIEMAN D M, KLEE H J. Differential expression of two novel members of the tomato ethylene-receptor family [J]. *Plant Physiology*, 1999, 120 (1) : 165–172.
- [27] 郭呈宇, 柳俊, 李园磊, 等. 甜瓜果实成熟相关基因家族的全基因组鉴定及分析 [J]. *华北农学报*, 2019, 34 (2) : 35–43.
- GUO C Y, LIU J, LI Y L, et al. Genome-wide identification and analysis of gene families related to fruit ripening of melon [J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2019, 34 (2) : 35–43. (in Chinese)
- [28] WATANABE H, SAIGUSA M, SHU H S, et al. Cloning of a cDNA encoding an ETR2-like protein (Os-ERL1) from deep water rice (*Oryza sativa* L.) and increase in its mRNA level by submergence, ethylene, and gibberellin treatments [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2004, 55 (399) : 1145–1148.
- [29] XIE C, ZHANG Z G, ZHANG J S, et al. Spatial expression and characterization of a putative ethylene receptor protein NTHK₁ in tobacco [J]. *Plant and Cell Physiology*, 2002, 43 (7) : 810–815.
- [30] GALLIE D R. Ethylene receptors in plants-why so much complexity? [J]. *F1000Prime Reports*, 2015, 7: 39.
- [31] ZHOU D B, KALAITZIS P, MATTOO A K, et al. The mRNA for an ETR1 homologue in tomato is constitutively expressed in vegetative and reproductive tissues [J]. *Plant Molecular Biology*, 1996, 30 (6) : 1331–1338.
- [32] WURIYANGHAN H, ZHANG B, CAO W H, et al. The ethylene receptor ETR2 delays floral transition and affects starch accumulation in rice [J]. *The Plant Cell*, 2009, 21 (5) : 1473–1494.
- [33] 苏丽艳. 番茄SlETR6基因的克隆及非生物胁迫下的表达分析 [J]. *华北农学报*, 2019, 34 (1) : 19–25.
- SU L Y. Cloning and expression analysis of ethylene receptor gene SlETR6 in *Solanum lycopersicum* under abiotic stress [J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2019, 34 (1) : 19–25. (in Chinese)
- [34] 黄静丽. 甘蔗乙烯受体基因SoERS1表达、转化及启动子序列的研究[D]. 南宁: 广西大学, 2013.
- HUANG J L. Study on sugarcane ethylene receptor gene SoERS1Expression, genetic transformation and promoter sequences[D]. *Nanning: Guangxi University*, 2013. (in Chinese)

(责任编辑: 于洪杰)