

邓健伟, 孙清明, 申迎宾, 等. 火龙果热激转录因子 *HSF* 基因家族鉴定及生物信息学分析[J]. 福建农业学报, 2025, 40 (3): 280–290.
DENG J W, SUN Q M, SHEN Y B, et al. Identification and Bioinformatics of Pitaya *HSF* Family[J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2025, 40 (3): 280–290.



火龙果热激转录因子 *HSF* 基因家族鉴定及生物信息学分析

邓健伟^{1,2}, 孙清明², 申迎宾¹, 李俊成^{2*}

(1. 广州大学生命科学学院, 广东 广州 510006; 2. 广东省农业科学院果树研究所/农业农村部亚热带果树生物学与遗传资源利用重点实验室/广东省果树科学与技术研究重点实验室, 广东 广州 510640)

摘要:【目的】探究火龙果 (*Selenicereus* spp.) 热激转录因子 (heat shock transcription factors, *HSF*) 基因家族的生物学特性, 为探明火龙果抵抗高温胁迫反应机制提供依据。【方法】运用生物信息学手段, 对火龙果 *HSF* 基因家族进行理化性质、Motif 分析、基因结构分析、基因结构域的预测、染色体定位、启动子分析和系统进化树分析等。并通过转录组数据和 qPCR 技术分析基因家族各成员在逆境胁迫的表达情况。【结果】从火龙果基因组中鉴定出 13 个 *HSF* 基因家族成员。理化性质分析结果表明, 其编码的热转录因子均为不稳定蛋白; 基因结构分析显示, 火龙果 *HSF* 基因家族大部分成员仅含一个内含子; 系统进化树分析结果表明, 火龙果 *HSF* 基因家族根据亲缘关系分为 4 类, Motif 分析结果也从侧面印证同一分支的基因具有相似或相同的保守基序; *HSF* 基因家族成员随机分布在火龙果的 6 条染色体中; 其启动子中包含激素响应、逆境胁迫、植物生长发育调控和光响应等多种元件; 基因结构域预测分析发现, 火龙果 *HSF* 基因家族成员均含有特定的 *HSF* 结构域。基因表达分析表明, 火龙果 *HSF* 基因的表达具有较强的时间与空间特异性; 其中仅 5 个成员在枝条表达且表达趋势不同, HU05G00210.1 和 HU05G01887.1 的表达量在 24 h 和 48 h 均显著升高, HU02G02398.1 和 HU10G01257.1 在经过 48 h 高温处理后表达量才显著升高, 而 HU04G00163.1 表达量则没有显著变化, 体现了 *HSF* 基因对热胁迫的响应。【结论】初步鉴定并验证了 *HSF* 基因家族成员参与了火龙果热胁迫反应过程, 为进一步探究 *HSF* 基因家族成员在火龙果高温响应机制提供参考。

关键词: 火龙果; *HSF* 基因家族; 热激转录因子; 生物信息学

中图分类号: S641.1

文献标志码: A

文章编号: 1008-0384 (2025) 03-0280-11

Identification and Bioinformatics of Pitaya *HSF* Family

DENG Jianwei^{1,2}, SUN Qingming², SHEN Yingbin¹, LI Juncheng^{2*}

(1. School of Life Sciences, Guangzhou University, Guangzhou, Guangdong 510006, China; 2. Institute of Fruit Tree Research, Guangdong Academy of Agricultural Sciences/Key Laboratory of South Subtropical Fruit Biology and Genetic Resource Utilization, Ministry of Agriculture and Rural Affairs/Guangdong Provincial Key Laboratory of Science and Technology Research on Fruit Tree, Guangzhou, Guangdong 510640, China)

Abstract: 【Objective】Biological characteristics of the gene family related to heat shock transcription factors (HSFs) crucial in plant responses to high-temperature stress in pitaya were studied. 【Methods】Bioinformatic tools were utilized to analyze the physicochemical properties, motifs, gene structure, domains, chromosome localization, promoters, and phylogenetic tree of the *HSF* family in *Selenicereus* spp. Transcriptome and qPCR were employed to determine the gene expressions under heat stress. 【Results】Thirteen *HSF* members were identified from the genome. The encoded HSFs were all unstable proteins. Most members contained only one intron belonging to 4 classes of phylogenetics. The genes in the same branch possessed

收稿日期: 2024-12-23 修回日期: 2025-02-17

作者简介: 邓健伟 (1999—), 男, 硕士研究生, 主要从事植物分子生物学研究, E-mail: dzideno@e.gzhu.edu.cn

* 通信作者: 李俊成 (1988—), 男, 博士研究生, 助理研究员, 主要从事火龙果遗传育种相关研究 (E-mail: lijuncheng@gdaas.cn)

基金项目: 广东省农业农村厅乡村振兴项目 (2022-NPY-00-034); 国家自然科学基金项目 (32102341); 广东省农业科学院协同创新平台项目 (XTXM202203)

similar or identical conserved motifs and were randomly distributed in 6 chromosomes. Their promoters contained various elements related to the responses to hormone, stress, and light or plant growth and development regulation. The gene structure consisted of specific domains with temporally and spatially specific expressions. Gene expression analysis showed that the expression of pitaya *HSF* gene had strong temporal and spatial specificity; among them, only five members were expressed in branches with different expression trends, and the expression of HU05G00210.1 and HU05G01887.1 was significantly elevated at 24 h and 48 h, and the expression of HU02G02398.1 and HU10G01257.1 was not significantly elevated until the high temperature treatment of 48 h, while the expression of HU04G00163.1 did not change significantly, reflecting the response of *HSF* gene to heat stress. 【Conclusion】 This study identified and validated the involvement of *HSF* family of pitaya in response to heat stress.

Key words: pitaya; *HSF* gene family; heat shock transcription factors; bioinformatics analysis

0 引言

【研究意义】在植物的生长和发育过程中，常常会受到各种程度的生物和非生物胁迫的影响。近年来，极端高温天气的频繁发生使得非生物胁迫成为限制植物生长的一个重要因素。严酷的高温条件不仅会导致植物的生长和发育受到抑制，甚至可能导致植株的死亡，从而对作物的产量和品质产生显著的负面影响。热激转录因子（heat shock transcription factors, HSF）是植物在应对高温胁迫中发挥关键调控作用的重要因子，通过参与调控编码热激蛋白（heat shock protein, HSP）的相关基因的表达，从而参与植物抵抗高温的生理生化反应。火龙果属于仙人掌科（Cactaceae）蛇鞭柱属（*Selenicereus*），起源于南美洲热带地区，天然对高温具有耐受性，但高温环境仍会影响其座果率^[1,2]，为此对火龙果 *HSF* 基因家族展开研究具有重大的经济效益与现实意义。【前人研究进展】当植物受到高温胁迫时，体内会启动一系列生化反应以应对高温伤害。其中一项重要手段是产生热 HSP，而 HSP 的基因直接受 HSF 调控^[3]。在高温环境下，HSF 会特异性地与 HSP 基因启动子区域的热激元件（heat shock element, HSE）结合，从而激活 HSP 基因进行转录和翻译，进一步影响整个热激反应^[4,5]。植物体内有多种转录因子，广泛参与植物的生理生化反应调节机制，通过与基因特定位点结合，从而影响基因表达^[6,7]。HSF 是植物应对高温胁迫的重要转录因子，根据其蛋白质结构可大致被分为 A、B、C 三种类型。其中 A 类 HSF 是参与热胁迫响应的重要调控因子，因为只有 A 类 HSF 具有转录激活功能的 AHA 基序^[8-10]。HSF 在真核生物中具有结构和功能上的保守性，包含 N 端的 DNA 结合域（DNA binding domain, DBD）、寡聚化结构域（oligomerization domain, OD）、核定位信号（nuclear localization signal, NLS）以及 C 端核

输出信号（nuclear export signal, NES）和 C 端转录激活结构域（C-terminal transcriptional activation domain, CTAD）共 5 个结构域。其中，DBD 是 HSF 中结构和功能最保守的结构域^[5,11-13]。【本研究切入点】目前，*HSF* 基因家族已在多个物种中被鉴定，但有关火龙果 *HSF* 基因家族的研究报道却很少。【拟解决的关键问题】本研究利用生物信息学方法对火龙果进行 *HSF* 基因家族鉴定，分析其基因结构以及组织特异性表达，并通过高温胁迫分析验证 *HSF* 基因家族在应对高温胁迫中的作用。

1 材料与方法

1.1 植物材料

试验材料为‘大红’火龙果。选取 27 根长势良好且生长状态相似的火龙果枝条，以每 9 根枝条一组随机分为 3 组。每组中将 3 根枝条视为 1 个重复，共设 3 个重复。所有枝条先在室温下（25℃）适应 72 h，随后空白对照组继续在 25℃ 恒温条件下培养 48 h，试验组则分别置于 40℃ 恒温条件下培养 24 h 和 48 h，其他培养条件保持一致（光周期 12L:12D，光照强度为 5000 lx，相对湿度为 70%）。将处理好的样本迅速用液氮冷冻，然后储存于-80℃ 的超低温冰箱中备用。

1.2 基因获取与鉴定

从 pitayagenomic（<http://www.pitayagenomic.com/>）获取火龙果全基因组文件、CDS 文件以及 GFF3 文件，并从 tair（<https://www.arabidopsis.org>）网站获取拟南芥 *HSF* 基因家族序列。以拟南芥 *HSF* 基因家族 21 条序列（AT4G17750、AT5G16820、AT1G32330、AT3G02990、AT2G26150、AT5G03720、AT4G18880、AT5G45710、AT4G13980、AT5G43840、AT3G22830、AT3G51910、AT3G63350、AT1G67970、AT5G54070、AT4G36990、AT5G62020、AT4G11660、AT2G41690、AT1G46264、AT3G24520）为参考，利用 Blast 比对（blastn, e-value > 1×10^{-5} ）获得火龙果 *HSF* 基因家

族序列，并使用 NCBI 数据库对结果进一步确认。通过 ExPASy 网站（https://web.expasy.org/compute_pi/）对火龙果 *HSF* 基因家族所编码的蛋白质进行理化性质分析。

1.3 *HSF* 基因家族基因特征分析

运用 TBtools 软件中的 Simple MEME Wrapper 功能、BioSequence Structure Illstrator 功能和 Show Genes on Chromosome 功能分别进行保守基序（Motif）分析、基因结构分析和基因位置分析，并借助软件自带的可视化功能绘制相应的 Motif 图、基因结构图和基因位置图^[14]。

1.4 启动子顺式作用元件分析

利用 TBtools 对火龙果基因组文件进行处理，获取 *HSF* 家族基因上游 2 000 bp 提交至 PlantCARE 数据库（<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>）以预测顺式作用元件^[15]。将检测结果与序列长度文件添加到 TBtools 中，对数据进行可视化处理，即可得到启动子序列分析图谱。

1.5 基因结构域的预测

通过 NCBI 网站（<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>）的 CD Search 功能对火龙果 *HSF* 蛋白文件进行基因结构域预测，预测结果使用 TBtools 进行可视化。

1.6 基因进化树的构建

将火龙果、拟南芥、甜菜（*Beta vulgaris*）、小麦（*Triticum aestivum*）、番茄（*Solanum lycopersicum*）和玉米（*Zea mays*）的 *HSF* 基因家族序列进行多序列比对，利用 MEGA 软件构建进化树，并利用 iTOL 网站（<https://itol.embl.de>）进行美化。

1.7 基因表达转录组分析

借助 pitayagenomic（<http://www.pitayagenomic.com/>）

获取火龙果不同组织（果肉、刺座、花和果皮）和部分组织不同发育阶段的转录组数据，提取其中 *HSF* 基因表达数据，以 transcripts per million（TPM 计），使用热图展示 *HSF* 基因在火龙果不同组织中的表达量。

1.8 *HSF* 基因 qPCR 定量分析

利用 Omega 植物 RNA 提取试剂盒（R6827-01）提取 RNA，并使用 NanoDrop™One（Thermo Fisher）检测纯度和浓度，最后使用 Takara 反转录试剂盒（PrimeScriptTRT reagent Kit）逆转录获得 cDNA。

使用 Primer Premier 5.0 软件设计相应引物，使用诺唯赞 Taq Pro Universal SYBR qPCR Master Mix（Q712-02）按照说明书对相应基因表达进行相对定量分析，每个样品重复 3 次，根据 2^{-ΔΔCT} 法计算相对表达量。

2 结果与分析

2.1 火龙果 *HSF* 基因家族鉴定

通过 Blast 比对从结果中筛选出 13 个火龙果 *HSF* 基因家族序列，分别命名为 *SpHSF1*~*SpHSF13*（表 1）。13 个基因家族成员的编码区序列（CDS）长度为 798~1 518 bp，编码的氨基酸数目为 265~505 aa，蛋白质相对分子量为 30.59~55.32 kDa，等电点（pI）为 4.66~9.18，不稳定系数为 42.91~72.24。根据不稳定系数分析，由于其数值均大于 40，说明 13 个 *HSF* 基因编码的蛋白均为不稳定蛋白。

2.2 *HSF* 基因家族成员保守基序分析

通过 Motif 分析，鉴定出 8 个保守基序 Motif（图 1A）。13 个 *HSF* 基因家族成员都含有 Motif 1、

表 1 火龙果 *HSF* 基因家族信息
Table 1 Information on *HSFs* in pitaya

基因名称 Name of gene	基因 ID Gene ID	编码区长度 CDS length/bp	编码蛋白质特性 Characteristic of the coding protein			
			氨基酸数目 Amino acid number/aa	分子量 Molecular weight/kDa	等电点 Isoelectric point	不稳定系数 Instability coefficient
<i>SpHSF1</i>	HU02G02398.1	1 368	455	50.22	5.28	65.89
<i>SpHSF2</i>	HU04G00163.1	969	322	34.39	4.89	61.69
<i>SpHSF3</i>	HU04G01591.1	1 479	492	54.93	5.57	59.68
<i>SpHSF4</i>	HU04G01952.1	1 146	381	43.68	5.37	52.94
<i>SpHSF5</i>	HU05G00210.1	1 518	505	55.32	4.82	55.18
<i>SpHSF6</i>	HU05G01887.1	846	281	31.31	5.53	42.91
<i>SpHSF7</i>	HU08G01904.1	1 230	409	46.78	5.18	52.64
<i>SpHSF8</i>	HU10G00758.1	1 131	376	42.85	4.66	51.09
<i>SpHSF9</i>	HU10G01009.1	798	265	30.59	7.73	60.05
<i>SpHSF10</i>	HU10G01257.1	1 005	334	37.31	5.45	48.87
<i>SpHSF11</i>	HU10G01285.1	1 461	486	53.76	5.27	72.24
<i>SpHSF12</i>	HU10G01592.1	882	293	33.26	9.18	48.85
<i>SpHSF13</i>	HU11G00478.1	1 017	338	38.32	6.09	57.00

Motif 2、Motif 3 和 Motif 4 等 4 个保守基序。其中，HU04G01591.1、HU04G01952.1、HU05G00210.1、HU08G01904.1 和 HU10G01285.1 等 5 个基因拥有 8 个 Motif 基序，具有最多的保守区域。

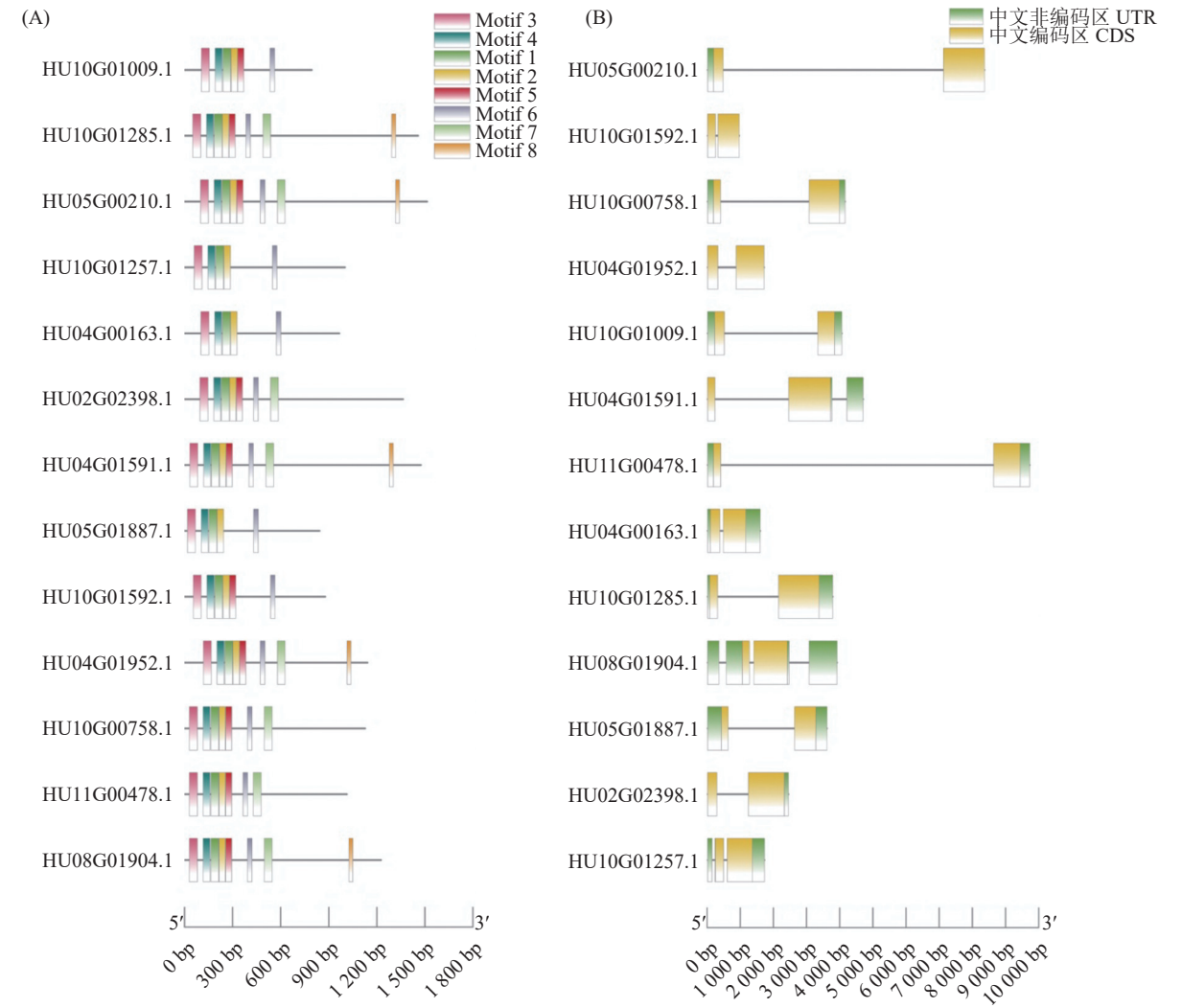


图 1 *HSF* 基因家族蛋白基序预测分析 (A) 及 基因结构 (B)
Fig. 1 Protein motif prediction on *HSF* family (A) and *HSF* structure gene (B)

2.3 *HSF* 基因家族成员基因结构分析

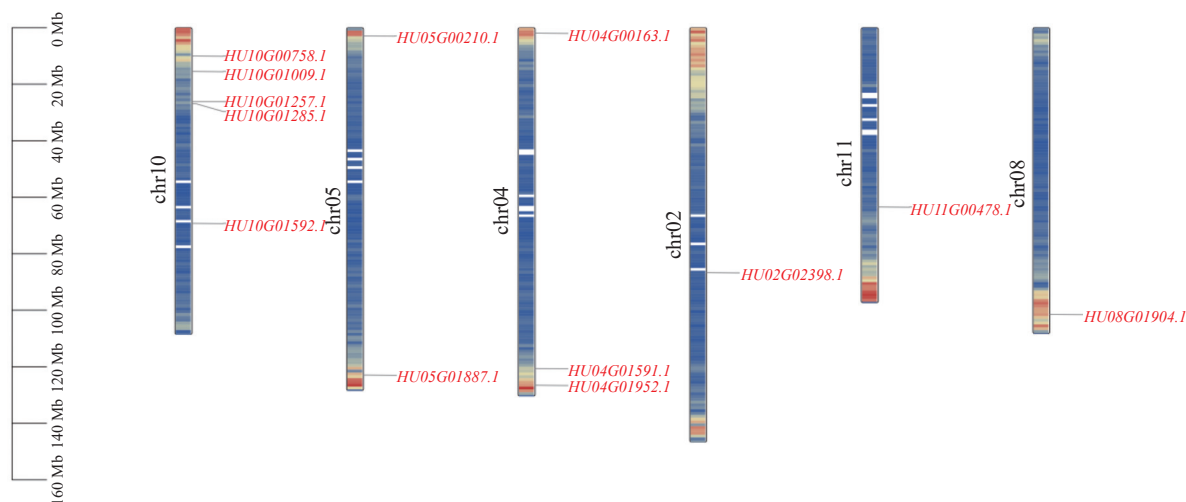
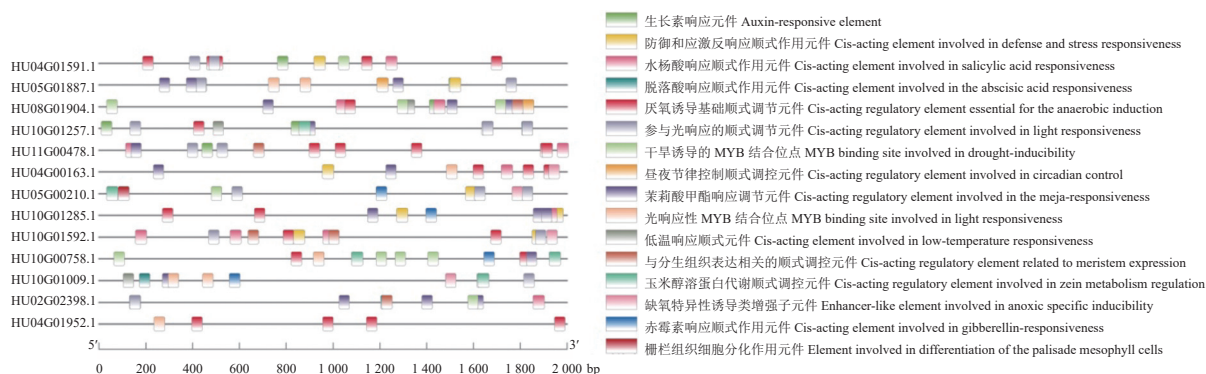
在基因结构分析中 (图 1B)，发现火龙果 13 个 *HSF* 基因家族成员中，10 个基因仅含有 1 个内含子，HU04G01591.1 和 HU10G01257.1 有 2 个内含子，HU08G01904.1 有 3 个内含子。

2.4 *HSF* 基因家族成员染色体定位

HSF 的 13 个基因家族成员分布在火龙果 11 条染色体中的 6 条上 (图 2)。其中 chr10 染色体含有 5 个 *HSF* 基因家族成员，chr04 有 3 个，chr05 有 2 个，chr02、chr08 和 chr11 分别有 1 个基因家族成员。从分布位置特征来看，HU05G00210.1、HU05G01887.1、HU04G00163.1、HU04G01952.1 和 HU08G01904.1 等 5 个基因分布在基因密度较大的染色体区域。

2.5 启动子顺式作用元件分析

火龙果 *HSF* 基因家族共检测到 16 种启动子顺式作用元件 (图 3)，可分为 4 类：(1) 激素响应元件，如生长素、赤霉素、脱落酸、水杨酸响应顺式作用元件等；(2) 逆境胁迫相关元件，如防御和应激响应顺式作用元件、低温响应顺式元件、厌氧诱导基础顺式调节元件、茉莉酸甲酯响应调节元件、玉米醇溶蛋白代谢顺式调控元件、缺氧特异性诱导类增强子元件、干旱诱导的 MYB 结合位点、类黄酮生物合成基因调控 MYB 结合位点等；(3) 植物生长发育调控相关元件，如昼夜节律控制顺式调控元件、与分生组织表达相关的顺式调控元件、栅栏组织细胞分化作用元件等；(4) 光响应相关元件，如参与光响应的顺式调节元件和参与光响应性 MYB 结合位点。

图 2 *HSF* 基因家族成员在染色体上的分布Fig. 2 Distribution of *HSFs* in chromosome图 3 *HSF* 基因启动子区域顺式作用元件的预测Fig. 3 Predicted cis-acting elements in promoter region of *HSF*

2.6 *HSF* 基因家族成员基因结构域的预测

对火龙果 *HSF* 基因家族成员所编码的 *HSF* 蛋白质进行结构预测, 结果显示 (图 4), 13 个 *HSF* 基因家族成员中的 10 个含有 *HSF domains* 结构域, 另外 3 个成员中 HU08G01904.1 和 HU10G00758.1 有 *HSF 1 superfamily* 结构域, HU10G01257.1 有 *HSF_DNA-bind* 结构域。此外, HU05G00210.1、HU04G01591.1、HU04G01952.1 和 HU11G00478.1 等 4 个基因除了含有 *HSF domains* 结构域外, 还分别含有 *SMC_prok_B superfamily*、*bZIP superfamily*、*GumC superfamily* 和 *PRK03918 superfamily* 结构域。

2.7 *HSF* 基因家族系统进化树的构建

使用火龙果、拟南芥、甜菜、番茄和小麦等 5 个物种的 *HSF* 基因序列共同构建的系统进化树显示 (图 5), 5 个物种的 *HSF* 基因家族被分为 4 个类群, 其中火龙果 HU10G01592.1 和 HU10G00758.1 两个基因分别与小麦的 TraesCS2A02G146600.1 和番茄的 Solyc09g059520.3.1 基因的亲缘关系较近, 其余的基因都与甜菜的基因亲缘关系相近。

将火龙果的 13 个 *HSF* 基因构建系统进化树, 结果 (图 6) 表明, 13 个 *HSF* 基因可以被分为 4 类。HU08G01904.1 和 HU10G01285.1 亲缘关系较近, HU11G00478.1 和 HU04G01952.1 亲缘关系较近, HU04G01591.1 和 HU05G00210.1 亲缘关系较近, HU10G01257.1 和 HU04G00163.1 亲缘关系较近。

2.8 *HSF* 基因家族成员不同组织相对表达量转录组分析

结果 (图 7) 显示, 在火龙果果肉中 HU02G02398.1 的表达量最高, 其他基因的表达量相对较低; 在刺座中 HU04G00163.1 表达量最高, 其次是 HU05G01887.1; 在花、花粉和子房等生殖器官中 HU05G01887.1 均有很高的表达量, 而且 HU05G01887.1 在果皮、根系和鳞片中表达量也是最高的; HU04G01591.1 和 HU08G01904.1 两个基因在花丝中的表达量较高, 而且两个基因的表达量十分相近; 而 HU10G01592.1 和 HU04G01952.1 两个基因在上述组织中几乎不表达。

2.9 *HSF* 基因家族成员高温胁迫下相对表达量分析

根据火龙果 *HSF* 基因的组织表达特性及在枝条

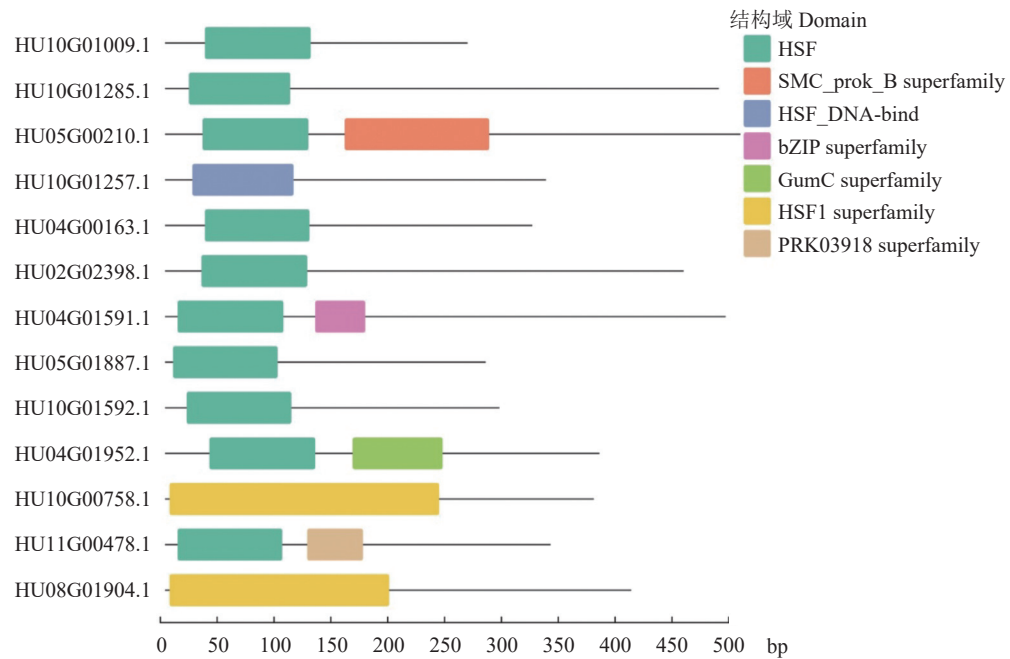
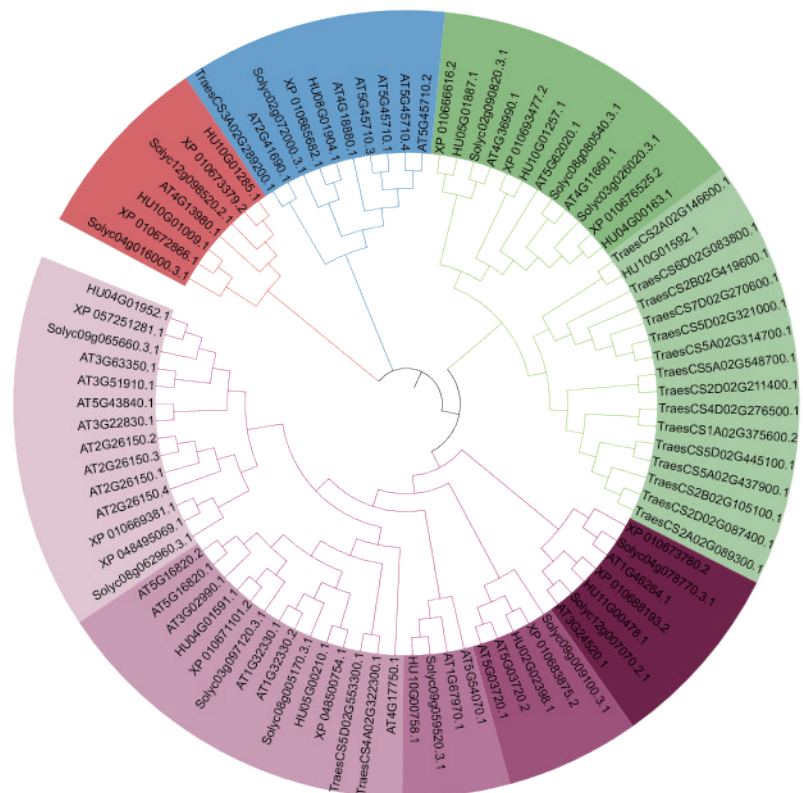


图 4 火龙果 *HSF* 基因结构域的预测
Fig. 4 Predicted *HSF* gene domains in pitaya



AT 为拟南芥基因序列、HU 为火龙果基因序列、XP 为甜菜基因序列、TraesCS 为小麦基因序列、Solyc 为番茄基因序列。
AT: Arabidopsis gene sequence; HU: pitaya gene sequence; XP: beet gene sequence; TraesCS: wheat gene sequence; Solyc: tomato gene sequence.

图 5 5 个物种 *HSF* 基因家族序列系统进化树
Fig. 5 Phylogenetic tree of *HSF* sequences in 5 species

的表达情况 (qPCR 显示, 大部分 HSF 基因在枝条几乎不表达), 选择表达量相对较高的 5 个基因 HU 05G00210.1、HU04G00163.1、HU05G01887.1、HU02

G02398.1 和 HU10G01257.1 进行 qPCR 分析, 使用 *Actin* 作为内参基因, 相关引物见表 2 所示。结果 (图 8) 表明, 其中有 3 个基因的表达量显

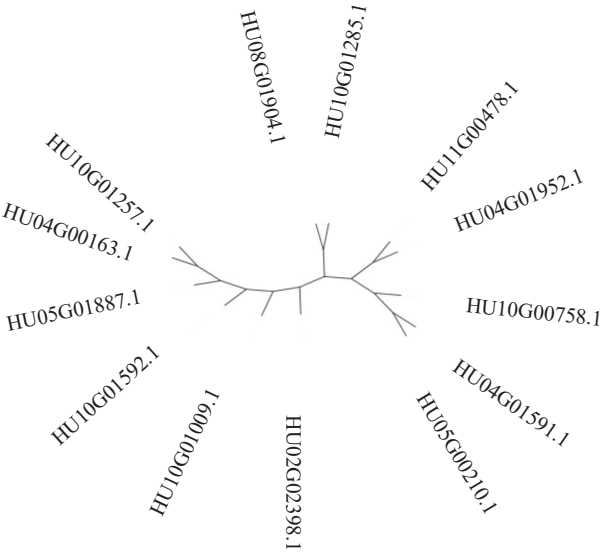


图 6 火龙果 *HSF* 基因家族序列的系统进化树
Fig. 6 Phylogenetic tree of *HSF* sequences in pitaya

示上升趋势, 1 个基因的表达量则呈下降趋势, 1 个基因的表达量表现为先下降后升高的变化趋势。HU05G00210.1 在经过 24 h 热处理后表达量对比空白对照组上升 4 倍, 热处理 48 h 基因的表达量几乎不变; HU05G01887.1 经过 24 h 热处理和 48 h 热处理后表达量对比空白组上升 3 倍多; HU10G01257.1 在经过 24 h 热处理后表达量几乎与空白组相当, 但经过 48 h 热处理后, 其表达量相较于空白组提高了近 4 倍; HU02G02398.1 的表达量在 24 h 热处理后先轻微降低, 在 48 h 热处理后表达量又出现上升趋势; 而 HU04G00163.1 在 24 h 热处理和 48 h 热处理中都呈现

下降趋势。

3 讨论

本研究基于火龙果基因组数据共鉴定出 13 个 *HSF* 基因家族成员。对 13 个基因编码的蛋白质进行理化性质分析, 发现这些 *HSF* 蛋白均为不稳定蛋白。火龙果 *HSF* 基因家族编码的大部分蛋白质等电点 (pI) 小于 7, 为酸性蛋白, 仅有 HU10G01009.1 和 HU10G01592.1 编码的蛋白质 pI 大于 7, 为碱性蛋白。由此可见, 火龙果 *HSF* 基因家族编码的蛋白质性质不完全相同, 氨基酸数量也存在明显差异, 每个基因家族成员可能具有不同的功能并参与不同的调控机制, 但这 13 种蛋白也有共同点, 即都是不稳定蛋白。郭存等^[16] 研究发现烟草的 *HSF* 在理化性质上同样存在着较大的差异, 烟草 *HSF* 的氨基酸数量、相对分子量和等电点范围区间较大, 与火龙果 *HSF* 的理化性质相似。通过基因结构域分析和 Motif 基序分析, 发现 13 个 *HSF* 基因都含有 *HSF* 相关结构域且具有较高的保守性。胡亚威等^[17] 鉴定出柑橘的 *HSF* 含有 20 个 Motif 保守基序, 刘丹等^[18] 也鉴定出桑树的 *HSF* 含有 20 个 Motif 保守基序, 保守的 Motif 在不同物种中可能具有相似功能。通过对比不同物种间的 Motif, 研究人员可以了解基因家族的进化关系和功能演变, 这对于理解生物多样性和进化历程具有重要意义。火龙果大部分 *HSF* 基因家族含有 *HSF* domain、*HSF*_DNA-bind 或 *HSF* 1 superfamily

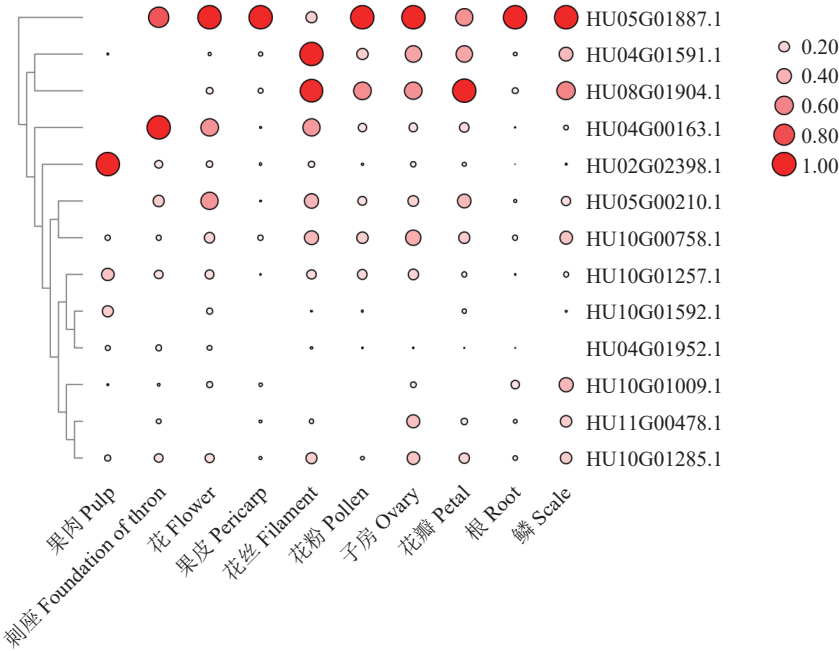
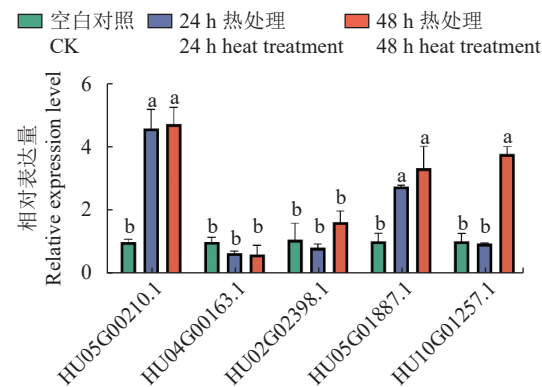


图 7 火龙果 *HSF* 基因家族组织特异性表达
Fig. 7 Tissue-specific expressions of *HSFs* in pitaya



不同字母表示同一基因在不同条件下存在显著性差异 ($P<0.05$)。
Different alphabets indicate significant differences among the same gene under different conditions ($P<0.05$).

图 8 部分 HSF 基因家族在高温胁迫下的表达情况
Fig. 8 Expressions of some HSFs under high temperature stress

表 2 引物序列
Table 2 Primer sequences

基因 Gene	F 端引物 F primer	R 端引物 R primer
<i>Actin</i>	AAAGGCTAACAGG GAGAAAA	GACCACTGGCGTAA AGAGAA
HU05G00210.1	TCGCCAGCTCAAC ACCTA	TCTTCCTCCAGCC CAAAT
HU04G00163.1	TGTTTGCGGACCC TGCTG	GCGTCGTTGGTG TATTCG
HU05G01887.1	CCGAGCACTGATG ATGTGA	TTTGTCGGGCACT GTTTT
HU02G02398.1	TCTCCAGTTTCG TCCGTC	CTTCTCCCTCTCA ACTTCT
HU10G01257.1	TTTGCTCCCGCG TTATTT	TGTCTTCCGTCGC TGTATTT

等 HSF 基因家族基本结构域，部分基因家族成员还拥有 SMC_prok_B_superfamily、bZIP superfamily、GumC superfamily 和 PRK03918 superfamily 等结构域。这些结构域功能多样，比如 SMC_prok_B_superfamily 属于结构维持染色体（structural maintenance of chromosomes, SMC）蛋白家族，可以确保高温胁迫中遗传物质的稳定性^[19]；bZIP superfamily 广泛参与应激反应，比如高温胁迫相关基因表达调控^[20]；GumC superfamily 和生物膜的形成和稳定性有关，维持生物膜稳定性也是应对高温胁迫中的关键^[21]，PRK03918 superfamily 的具体功能不太清楚，这仍需后续深入研究加以解析。从上述分析可知，发现火龙果 HSF 基因家族编码的蛋白既有一定的相似程度，又各具特点，具有从多个角度应对高温胁迫的基因结构。

根据火龙果 HSF 启动子顺式作用元件分析结果，发现大部分为激素响应元件和逆境胁迫元件。比如 ABRE 和 P1BS，ABRE 在逆境条件下对 *Cat1* 基因的表达具有重要调控作用，而 P1BS 顺式作用元件

则在低磷胁迫条件下调控氨基酸转运蛋白基因的表达。这些调控元件通过与目标基因的相对空间作用，影响目标基因的表达，进而影响相应蛋白的合成，从而实现对植物生理过程的调节^[22,23]。在火龙果 HSF 基因家族启动子元件中，还发现了茉莉酸甲酯响应调节元件，茉莉酸甲酯是一种重要的植物生长调节剂，能够激发植物的防御反应，并对多种生物和非生物胁迫做出响应^[24–26]。茉莉酸甲酯响应调节元件涉及多个层面的分子调控机制，响应 MeJA 信号并调控植物的生长发育和防御反应^[27,28]。Gul 研究表明茉莉酸甲酯在应对环境温度胁迫方面有明显影响^[29]。这可能也是 HSF 涉及防御反应以及应对环境温度胁迫的作用方式之一。

根据亲缘关系，火龙果的 HSF 基因家族被分为 4 个类群。在其他植物的 HSF 基因进化分析中，花生（*Arachis hypogaea*）^[30]、百香果（*Passiflora edulis*）^[31]和菠萝（*Ananas comosus*）^[32]的 HSF 基因家族被分为 3 个类群；水稻（*Oryza sativa*）^[33]的 HSF 基因家族被分为 4 个类群；火龙果的 HSF 基因家族的分类与它们的分类相类似。从系统进化树结果分析可知，火龙果 HSF 基因家族与拟南芥（*Arabidopsis thaliana*）、番茄（*Solanum lycopersicum*）和小麦（*Triticum aestivum*）的 HSF 基因家族亲缘关系较远，而与甜菜的亲缘关系较近，所以火龙果 HSF 基因家族的功能可能与甜菜 HSF 基因家族的功能相似或相同。此外，本研究还构建了火龙果 HSF 基因家族内部成员的基因进化树，发现 13 个基因家族成员内部也存在较为明显的亲缘关系差异，Motif 分析的结果也从侧面印证了同一分支的基因具有相似或相同的保守基序。

根据基因表达分析结果发现，不同基因在火龙果不同组织的表达量存在明显的差异，例如 HU05G01887.1、HU04G01591.1、HU08G01904.1 等基因在火龙果营养器官表达量较高，HU10G01257.1、HU10G01592.1、HU04G01952.1、HU10G01009.1、HU11G00478.1 等基因在火龙果的大部分组织的表达量都相对较低，说明火龙果 HSF 基因家族具有较强的组织特异性。小麦、番茄、芝麻（*Sesamum indicum*）、蒲公英（*Taraxacum officinale*）和猕猴桃（*Actinidia deliciosa*）等植物都已证明 HSF 基因在植物的在不同组织表达量存在较大的差异，与火龙果 HSF 基因在不同组织的表达情况相类似^[34–38]。

从 qPCR 定量分析结果可知，枝条组织 HSF 基

因家族成员在经过高温 (40 ℃) 处理后, 表达量以升高为主。其中 HU10G01257.1 基因在 24 h 热处理中的表达量没有明显变化, 48 h 热处理后该基因表达量显著上升, 可能是因为 HU10G01257.1 对高温的响应较慢, 或者是参与一些高温损伤修复过程。HU05G01887.1、HU05G00210.1 表达量则随着处理时长增加而增加, 可能是枝条应对高温胁迫的关键 *HSF* 基因。同时出现了两个特殊的基因 HU02G02398.1 和 HU04G00163.1, 其中 HU04G00163.1 在 24 h 热处理和 48 h 热处理试验中均呈现轻微下降趋势, 而 HU02G02398.1 表达量虽然随着处理和处理时间增加, 但是差异不显著, 这 2 个基因在对枝条 24 h 及 48 h 高温处理似乎没有明显的响应。在 Liu 等^[39]的研究中, 发现 *HSFA2* 突变体的拟南芥比野生型的拟南芥能更加敏感地感受温度的变化, 增强植株的耐热性, 说明拟南芥 *HSFA2* 具有应对高温胁迫重要作用。在小麦^[40]、大豆 (*Glycine max*)^[41]、柑橘 (*Citrus reticulata*)^[17]、水稻^[42]、玉米 (*Zea mays*)^[43] 和烟草 (*Nicotiana tabacum*)^[16] 等植物中, 都有研究证明 *HSF* 基因能够响应高温胁迫, 防止植物在高温环境中受到损伤。试验结果表明火龙果的 *HSF* 基因也对火龙果应对高温胁迫起着重要作用, 尤其是 HU05G01887.1、HU05G00210.1 和 HU02G02398.1 可能是火龙果只填组织应对高温胁迫的关键基因。

4 结论

本研究从 Motif 分析、基因结构分析、基因结构域预测、染色体定位、启动子分析和系统进化树分析等多方面, 对火龙果 *HSF* 基因家族进行了较为系统性的分析, 鉴定出 13 个火龙果 *HSF* 基因家族成员。根据亲缘关系, 这 13 个 *HSF* 基因家族成员可以被分为四类, 并且 *HSF* 基因所编码的热激转录因子全部都是不稳定蛋白。本研究通过高温试验发现, HU05G01887.1 和 HU05G00210.1 两个基因可能是火龙果枝条响应高温胁迫的关键基因, 而 HU02G02398.1 可能更主要作用于高温损伤后的修复。本研究从生物信息学分析和热胁迫响应分析入手, 获得火龙果 *HSF* 基因家族的基本信息和特性, 验证了 *HSF* 基因在枝条热胁迫中的反应, 为全面探究 *HSF* 基因家族提供理论依据。

参考文献:

- [1] 李俊成, 党芸芝, 孙清明. 高温胁迫下火龙果转录组及热激蛋白响应分析[J]. *浙江农业学报*, 2024, 36(5): 1067–1075.
- LI J C, DANG Y Z, SUN Q M. Transcriptome analysis and HSP

- response of pitaya (*Selenicereus* spp.) under heat stress[J]. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 2024, 36(5): 1067–1075. (in Chinese)
- [2] SHAH K, CHEN J Y, CHEN J X, et al. Pitaya nutrition, biology, and biotechnology: A review[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(18): 13986.
- [3] GUO J K, WU J, JI Q, et al. Genome-wide analysis of heat shock transcription factor families in rice and *Arabidopsis*[J]. *Journal of Genetics and Genomics*, 2008, 35(2): 105–118.
- [4] FRAGKOSTEFANAKIS S, SIMM S, PAUL P, et al. Chaperone network composition in *Solanum lycopersicum* explored by transcriptome profiling and microarray meta-analysis[J]. *Plant, Cell & Environment*, 2015, 38(4): 693–709.
- [5] LI P S, YU T F, HE G H, et al. Genome-wide analysis of the Hsf family in soybean and functional identification of GmHsf-34 involvement in drought and heat stresses[J]. *BMC Genomics*, 2014, 15(1): 1009.
- [6] 刘慧洁, 徐恒, 邱文怡, 等. bZIP 转录因子在植物生长发育及非生物逆境响应的作用[J]. *浙江农业学报*, 2019, 31(7): 1205–1214.
- LIU H J, XU H, QIU W Y, et al. Roles of bZIP transcription factors in plant growth and development and abiotic stress response[J]. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 2019, 31(7): 1205–1214. (in Chinese)
- [7] 杜超. WRKY 转录因子家族在植物响应逆境胁迫中的功能及应用[J]. *草业科学*, 2021, 38(7): 1287–1300.
- DU C. Function and application of the WRKY transcription factor superfamily in plant response to stresses[J]. *Pratacultural Science*, 2021, 38(7): 1287–1300. (in Chinese)
- [8] NOVER L, SCHARF K D, GAGLIARDI D, et al. The Hsf world: Classification and properties of plant heat stress transcription factors[J]. *Cell Stress & Chaperones*, 1996, 1(4): 215.
- [9] NISHIZAWA A, YABUTA Y, YOSHIDA E, et al. *Arabidopsis* heat shock transcription factor A2 as a key regulator in response to several types of environmental stress[J]. *The Plant Journal*, 2006, 48(4): 535–547.
- [10] CHAN-SCHAMINET K Y, BANIWAL S K, BUBLAK D, et al. Specific interaction between tomato HsfA1 and HsfA2 creates hetero-oligomeric superactivator complexes for synergistic activation of heat stress gene expression[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2009, 284(31): 20848–20857.
- [11] GUO M, LIU J H, MA X, et al. The plant heat stress transcription factors (HSFs): Structure, regulation, and function in response to abiotic stresses[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2016, 7: 114.
- [12] SCHARF K D, BERBERICH T, EBERSBERGER I, et al. The plant heat stress transcription factor (Hsf) family: Structure, function and evolution[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2012, 1819(2): 104–119.
- [13] SCHARF K D, ROSE S, ZOTT W, et al. Three tomato genes code for heat stress transcription factors with a region of remarkable homology

- to the DNA-binding domain of the yeast HSF[J]. *The EMBO Journal*, 1990, 9(13): 4495–4501.
- [14] CHEN C J, WU Y, LI J W, et al. TBtools-II: A “one for all, all for one” bioinformatics platform for biological big-data mining[J]. *Molecular Plant*, 2023, 16(11): 1733–1742.
- [15] LESCOT M, DÉHAIS P, THIJS G, et al. PlantCARE, a database of plant *Cis*-acting regulatory elements and a portal to tools for in silico analysis of promoter sequences[J]. *Nucleic Acids Research*, 2002, 30(1): 325–327.
- [16] 郭存, 王奇, 李晓旭, 等. 普通烟草热激转录因子家族的全基因组鉴定与分析[J]. 中国烟草科学, 2022, 43(3): 47–56.
- GUO C, WANG Q, LI X X, et al. Genome-wide identification and systemic analysis of the hsf gene family in *Nicotiana tabacum* L[J]. *Chinese Tobacco Science*, 2022, 43(3): 47–56. (in Chinese)
- [17] 胡亚威, 彭森, 阳灿, 等. 柑橘热应激转录因子的全基因组鉴定及其在柑橘日灼果皮中的表达特性[J]. 果树学报, 2024, 41(12): 2408–2424.
- HU Y W, PENG M, YANG C, et al. Genome-wide identification of *Citrus* heat stress transcription factors and their expression characteristics in *Citrus* sunburned peel[J]. *Journal of Fruit Science*, 2024, 41(12): 2408–2424. (in Chinese)
- [18] 刘丹, 邱长玉, 韦伟, 等. 桑树热激转录因子(Hsf)基因家族克隆及MnHsfA1基因表达模式分析[J]. 南方农业学报, 2023, 54(8): 2320–2329.
- LIU D, QIU C Y, WEI W, et al. Cloning of heat shock transcription factor(Hsf)gene family from mulberry and analysis of MnHsfA1 gene expression pattern[J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2023, 54(8): 2320–2329. (in Chinese)
- [19] SUN Y, LI Y Q, DONG W H, et al. Molecular characterization of a novel mycovirus isolated from *Rhizoctonia solani* AG-1 IA strain 9-11[J]. *Archives of Virology*, 2021, 166(11): 3229–3232.
- [20] ZHOU Y Y, LI Z H, XU C T, et al. Genome-wide analysis of bZIP gene family members in *Pleurotus ostreatus*, and potential roles of PobZIP3 in development and the heat stress response[J]. *Microbial Biotechnology*, 2024, 17(2): e14413.
- [21] HAHN J, KOCH D, NIEHAUS K, et al. Analysis of Gum proteins involved in xanthan biosynthesis throughout multiple cell fractions in a “single-tube” [J]. *Journal of Proteomics*, 2022, 257: 104513.
- [22] WANG L, ZHAO J, FAN Y L. Gene cloning and function analysis of ABP9 protein which specifically binds to ABRE2 motif of maize Cat1 gene[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2002, 47(22): 1871–1875.
- [23] PENG Y, XIONG D, ZHAO L, et al. Chromatin interaction maps reveal genetic regulation for quantitative traits in maize[J]. *Nature Communications*, 2019, 10(1): 2632.
- [24] YAN J K, ZHANG N N, KING F R. Jasmonate Improved Cadmium Resistance in Maize Seedlings by Regulating Spermidine Synthesis[J/OL]. *International Journal of Agriculture and Biology*, 2020, 24(2): 171–178. DOI: 10.17957/IJAB/15.1421.
- [25] HAN D, OH Y, PARK W J. Methyl jasmonate increases activities of aldehyde oxidase and auxin contents in maize (*Zea mays*) [J]. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 2015, 25(1): 314–317.
- [26] TAN J X, MA Y J, ZHONG M, et al. The effect of methyl jasmonate on *Zea mays* tassel development[J]. *Bioscience Journal*, 2016, 32(6): 1472–1481.
- [27] WU X Y, DING C H, BAERSON S R, et al. The roles of jasmonate signalling in nitrogen uptake and allocation in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *Plant, Cell & Environment*, 2019, 42(2): 659–672.
- [28] 牛禹极, 吴锦林, 陈耀阳, 等. 木豆 WD40 基因家族鉴定及响应茉莉酸甲酯的表达分析[J]. 石河子大学学报(自然科学版), 2024, 42(1): 36–46.
- NIU Y J, WU J L, CHEN Y Y, et al. Identification of WD40 gene family in pigeon pea and their expression pattern responded to Methyl Jasmonate[J]. *Journal of Shihezi University (Natural Science)*, 2024, 42(1): 36–46. (in Chinese)
- [29] GUL N, MASOODI K Z, RAMAZAN S, et al. Study on the impact of exogenously applied methyl jasmonate concentrations on *Solanum lycopersicum* under low temperature stress[J]. *BMC Plant Biology*, 2023, 23(1): 437.
- [30] WANG Q, ZHANG Z B, GUO C, et al. Hsf transcription factor gene family in peanut (*Arachis hypogaea* L.): Genome-wide characterization and expression analysis under drought and salt stresses[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2023, 14: 1214732.
- [31] WANG L L, LIU Y H, CHAI G F, et al. Identification of passion fruit HSF gene family and the functional analysis of PeHSF-C1a in response to heat and osmotic stress[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2023, 200: 107800.
- [32] WANG L L, LIU Y H, CHAI M N, et al. Genome-wide identification, classification, and expression analysis of the HSF gene family in pineapple (*Ananas comosus*) [J]. *PeerJ*, 2021, 9: e11329.
- [33] SHAMSHAD A, RASHID M, ZAMAN Q U. In-silico analysis of heat shock transcription factor (OsHSF) gene family in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *BMC Plant Biology*, 2023, 23(1): 395.
- [34] ZHOU M, ZHENG S G, LIU R, et al. Genome-wide identification, phylogenetic and expression analysis of the heat shock transcription factor family in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. *BMC Genomics*, 2019, 20(1): 505.
- [35] YANG X D, ZHU W M, ZHANG H, et al. Heat shock factors in tomatoes: Genome-wide identification, phylogenetic analysis and expression profiling under development and heat stress[J]. *PeerJ*, 2016, 4: e1961.
- [36] DOSSA K, DIOUF D, CISSÉ N. Genome-wide investigation of hsf genes in sesame reveals their segmental duplication expansion and their active role in drought stress response[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2016, 7: 1522.

- [37] CHENG Y F, XU X W, DU R, et al. Heat shock transcription factors (Hsfs) in *Taraxacum kok-saghyz* Rodin: Identification, classification, phylogeny and expression analysis[J]. *Current Plant Biology*, 2023, 35: 100307.
- [38] TU J, ABID M, LUO J, et al. Genome-wide identification of the heat shock transcription factor gene family in two kiwifruit species[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2023, 14: 1075013.
- [39] LIU H C, CHARNG Y Y. Common and distinct functions of *Arabidopsis* class A1 and A2 heat shock factors in diverse abiotic stress responses and development[J]. *Plant Physiology*, 2013, 163 (1): 276–290.
- [40] 刘然, 孟祥照, 苑赛男, 等. 小麦热激转录因子 TaHsfA1 亚家族基因的生物学特性及耐热性分析[J]. *农业生物技术学报*, 2022, 30(1): 1–14.
- LIU R, MENG X Z, YUAN S N, et al. Biological characteristics and thermotolerance analysis of heat shock transcription factor TaHsfA1 subfamily genes in wheat(*Triticum aestivum*) [J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2022, 30(1): 1–14. (in Chinese)
- [41] 宋勇泽, 刘汝翠, 朱永胜, 等. 大豆 GmHSF₂1 基因的生物信息学分析[J]. *大豆科技*, 2024(1): 13–20, 58.
- SONG Y Z, LIU R C, ZHU Y S, et al. Bioinformatics analysis of GmHSF₂1 gene in soybean[J]. *Soybean Science & Technology*, 2024(1): 13–20, 58. (in Chinese)
- [42] 邹修为, 岳佳妮, 李志宇, 等. 水稻热激转录因子 HsfA2b 调控非生物胁迫抗性的功能分析[J]. *生物技术通报*, 2024, 40(2): 90–98.
- ZOU X W, YUE J N, LI Z Y, et al. Functional analysis of rice heat shock transcription factor HsfA2b regulating the resistance to abiotic stresses[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2024, 40(2): 90–98. (in Chinese)
- [43] 李冉, 马贞玉, 张世昌, 等. 玉米热激转录因子 ZmHsf06 的耐热功能及其调控通路研究[J]. *农业生物技术学报*, 2024, 32(3): 505–517.
- LI R, MA Z Y, ZHANG S C, et al. Study on thermotolerance function and regulatory pathways of heat shock transcription factor ZmHsf06 in maize(*Zea mays*) [J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2024, 32(3): 505–517. (in Chinese)

(责任编辑: 黄爱萍)