

## 海滨猫尾木叶绿体基因组特征及编码基因 *psbB* 对冷胁迫的响应

廖晓童<sup>1</sup>, 张台民<sup>1</sup>, 李卫锦<sup>1</sup>, 李单凤<sup>1</sup>, 杨勇<sup>2</sup>, 陈光程<sup>1</sup>, 张颖<sup>1\*</sup>

(1. 岭南师范学院 生命科学与技术学院, 红树林生态系统保护与修复重点实验室, 红树林珍稀濒危物种保护与利用工程技术研究中心, 广东 湛江 524048; 2. 海南师范大学 生命科学院, 热带岛屿生态学教育部重点实验室, 海南省热带动植物生态学重点实验室, 海口 571158)

**摘要:** 低温是濒危红树植物海滨猫尾木 (*Dolichandrone spathacea*) 生态修复的重要障碍, 叶绿体及其编码基因密切响应植物冷胁迫, 解析叶绿体基因组及冷胁迫下编码基因 *psbB* 的响应规律有助于该物种的保护与修复。为揭示叶绿体基因组信息, 该研究通过 Illumina NovaSeq 测序平台对海滨猫尾木总 DNA 进行测序、组装、注释和功能分析。为探究冷胁迫下 *psbB* 基因的变化规律, 该研究检测了海滨猫尾木幼苗在不同温度处理下的总叶绿素、丙二醛、脯氨酸、总酚、可溶性蛋白和可溶性糖等生理参数, 同时利用荧光定量 PCR 实验检测了相应处理下叶片 *psbB* 基因的表达水平。结果表明: (1) 海滨猫尾木叶绿体具有典型四分体结构, 基因组大小为 159 139 bp, GC 含量为 37.9%, 编码 133 个基因。其中包括蛋白质编码基因 (88 个), tRNA 基因 (37 个) 和 rRNA 基因 (8 个)。(2) 在系统发育分析中, 海滨猫尾木未能形成单系, 同其他 8 种紫葳科植物聚为一束, 支持率达 100%。(3) 冷胁迫下, 海滨猫尾木幼苗叶片总叶绿素含量随着冷胁迫处理温度的降低呈下降趋势, 而总酚、丙二醛、脯氨酸、可溶性蛋白和可溶性糖含量以及叶绿体编码基因 *psbB* 的相对表达量均随着处理温度的降低呈上升趋势。综上所述, 海滨猫尾木叶绿体基因组特征与紫葳科植物高度保守。在冷胁迫下, 该植物总叶绿素合成受到抑制, 渗透性调节物质的合成受到影响, 同时编码基因 *psbB* 参与了植物冷胁迫下的分子调控。以上研究为提升濒危红树植物抗冷能力分子辅助育种提供前期基础。

**关键词:** 海滨猫尾木, 叶绿体基因组, 系统发育, 冷胁迫, 生理指标, *psbB* 基因

中图分类号: Q943

文献标识码: A

## Characteristics of chloroplast genome and response of *psbB* gene of *Dolichandrone spathacea* under cold stress

LIAO Xiaotong<sup>1</sup>, ZHANG Taimin<sup>1</sup>, LI Weijin<sup>1</sup>, LI Danfeng<sup>1</sup>, YANG Yong<sup>2</sup>,  
CHEN Guangcheng<sup>1</sup>, ZHANG Ying<sup>1\*</sup>

**基金项目:** 海南省重点研发计划项目 (ZDYF2021SHFZ259); 湛江市科技计划项目 (2022A05013); 海南省院士创新平台科研专项 (YSPTZX2022011)

**第一作者:** 廖晓童 (2002—), 学士, 研究方向为濒危红树植物种质资源保护, (E-mail) 769426376@qq.com。

**\*通信作者:** 张颖, 博士, 教授, 硕士生导师, 从事濒危红树植物种质资源保护, (E-mail) Zhangyingred@lingnan.edu.cn。

(1. Lingnan Normal University, Life Science and Technology College, Key Laboratory of Conservation and Restoration of Mangrove Ecosystem, Engineering and Technological Research in Protection and Utilization of Mangrove Rare and Endangered Species, Zhanjiang 524048, Guangdong, China; 2. Hainan Normal University, College of Life Sciences, Ministry of Education Key Laboratory for Ecology of Tropical Islands, Key Laboratory of Tropical Animal and Plant Ecology of Hainan Province, Haikou 571158, China)

**Abstract:** Low temperature is an important obstacle to the ecological restoration of endangered mangrove plant *Dolichandrone spathacea*. Chloroplasts and their coding genes closely respond to plant cold stress. Analyzing chloroplast genome characteristics and understanding the molecular response patterns of *psbB* genes under cold stress can help protect and restore this species. To reveal the chloroplast genome information, this study sequenced the total DNA of *D. spathacea* using the Illumina NovaSeq sequencing platform, and then annotated and functionally analyzed the assembled chloroplast genome. In the meantime, the changes of *psbB* gene in *D. spathacea* seedlings under cold stress was investigated, and physiological parameters such as total chlorophyll, malondialdehyde, proline, total phenols, soluble proteins, and soluble sugars were detected in this study. Further the expression level of *psbB* gene was detected using fluorescence quantitative PCR experiment. The results were as follows: (1) The chloroplast genome of *D. spathacea* exhibits a typical tetrad structure with the length of 159 139 bp, and the total GC content of 37.9%. It encodes a total of 133 genes, including protein-coding genes (88), tRNA genes (37) and rRNA genes (8). (2) Phylogenetic analysis revealed that *D. spathacea* did not form a monophyletic group but instead clustered with eight other Bignoniaceae species, with a support rate of 100%. (3) Under cold stress, the contents of total chlorophyll in the leaves of the *D. spathacea* seedlings decreased with the decrease of treatment temperature, while the contents of total phenol, malondialdehyde, osmotic regulator proline, soluble protein and soluble sugar and the relative expression of *psbB* gene in the seedling leaves increased with the aggravation of cold stress. In summary, the chloroplast genome characteristic of *D. spathacea* is highly conservative in Bignoniaceae family. Under cold stress, the total chlorophyll synthesis of the plant is inhibited, and the synthesis of osmoregulatory substances is affected. At the same time, the *psbB* gene is involved in molecular regulation under plant cold stress. The above research provides a preliminary basis for molecular assisted breeding to improve the cold resistance of endangered mangrove plants.

**Key words:** *Dolichandrone spathacea*, chloroplast genome, phylogenesis analysis, cold stress, physiological indicators, *psbB* gene

海滨猫尾木 (*Dolichandrone spathacea*) 隶属于紫葳科 (Bignoniaceae) 猫尾木属 (*Dolichandrone*), 是我国典型的半红树植物 (胡启明等, 1987)。其自然分布于海南和广东两省, 2006 年被列入《海南省重点保护野生植物名录》(张颖等, 2021)。该植物拥有重要的生态和药用价值 (田广红等, 2011)。作为中国和东南亚地区传统的药用植物, 海滨猫尾木

在医疗上已被用作治疗糖尿病、癌症和其他疾病的药物 (Akashi et al., 2002)。但是, 海滨猫尾木的濒危状态给其生态价值和药用价值的利用带来了困难。红树植物通常生长在热带和亚热带的海岸潮间带。然而, 近年来频繁发生的低温灾害, 给包括海滨猫尾木在内的红树植物带来了短期、突然的低温伤害 (黄雪松, 2021), 增加了其生态修复工作的难度。

温度是影响植物生长发育的重要影响因子 (Wang et al., 2022), 低温胁迫会对植物叶绿体结构、光合色素含量 (Li et al., 2022) 产生影响。叶绿体拥有相对独立的遗传体系 (邢少辰等, 2008) 是植物特有的细胞器, 对植物的生长发育起着重要作用 (Llorente et al., 2021)。在植物分类与物种水平的系统发育等研究中, 叶绿体基因组由于大小适中, 编码区序列相对保守, 结构比较稳定, 进化速率相对较低 (Xu et al., 2001) 等优点而受到重视。随着测序技术的快速发展, 已公布了超过 1 000 种高等植物的叶绿体基因组全序列 (Liu et al., 2022)。其中对紫葳科多种植物的叶绿体基因组特征进行了全面分析和报道 (Nazareno et al., 2015; Thode et al., 2019; Yaradua et al., 2022; Li et al., 2022), 但目前尚未发现有关海滨猫尾木的相关研究报道。

叶绿体编码基因 *psbB* 属光系统 II 相关基因, 在叶绿体发育中起着关键的作用。在受到逆境胁迫如高温、干旱 (Bi et al., 2016) 和盐胁迫下 (Sehar et al., 2021) 植物叶片中基因 *psbB* 的表达显著升高, 在重金属胁迫下受到抑制 (Li et al., 2020), 但在冷胁迫下该基因的表现如何鲜见报道。因此, 本研究组装、注释获得了海滨猫尾木完整叶绿体基因组并进行了特征分析。对海滨猫尾木幼苗进行冷胁迫处理, 分析生理指标和叶绿体编码基因 *psbB* 的表达特征, 拟探讨以下问题: (1) 海滨猫尾木叶绿体基因组的结构特征; (2) 海滨猫尾木幼苗在冷胁迫下的生理响应; (3) 冷胁迫下叶绿体编码基因 *psbB* 的表达特征, 以期揭示该植物冷胁迫分子响应机制补充内容。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

海滨猫尾木种子采自中国海南岛的三亚铁炉港 (109°32'50" E, 18°14'26" N) 健康、无虫害植株, 同时在海南师范大学标本室保存相应标本 (DC-001)。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 基因组 DNA 提取与测序

将种子在清水中浸泡 24 h, 然后植入含 60% 沙+40% 土壤培养基的塑料箱 (20 cm × 30 cm) 中, 移入苗木培育室 (光照 14 h, 黑暗 10 h, 湿度 60~80%, 温度 25~28 °C) 进行培育。待 4~6 片叶时, 采集幼嫩叶片, DNA 提取试剂盒 (TransGen, 中国) 提取基因组 DNA。并在 Illumina HiSeq 平台 (杭州惠通生物技术公司) 进行末端 150 bp 读数测序。

#### 1.2.2 叶绿体全基因组序列组装、注释及图谱绘制

通过 Fastqc 软件评估原始测序数据质量。在线注释工具 DOGMA (Wyman et al., 2004) 对叶绿体基因组进行注释。通过 ORF 预测, NR 数据库比对, 确定注释结果 (尚明越等, 2023)。用 OGDRAW 软件绘图 (Greiner et al., 2019)。

### 1.2.3 系统发育分析

以拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 和狭叶恋岩花 (*Echinacanthus attenuatus*) 作为外类群, 从 GenBank 数据库下载 8 种紫葳科植物楔叶杯领藤 (*Amphilophium cuneifolium*)、黄葳 (*Anemopaegma chamberlaynii*)、鹰爪藤 (*Dolichandra cynanchoides*)、*Tanaecium tetragonolobum*、*Adenocalymma aurantiacum*、*Nejobertia candolleana*、白花母兰 (*Pleonotoma albiflora*)、硬骨凌霄 (*Tecoma capensis*) 的叶绿体基因组序列。提取 11 种植物叶绿体基因组 45 个共有 CDS 核苷酸序列, 用 MAFFT (v. 7) (Kato et al., 2013) 软件进行序列比对, 分析结果用 MEGA 11 (Koichiro et al., 2021) 软件构建最大似然树。

### 1.2.4 冷胁迫实验及生理指标的测定

待 1.2.1 培育的幼苗长到 8~10 片叶时, 进行不同温度胁迫处理, 每个处理时长 48 h, 温度梯度为: 28 °C/25 °C (CK)、15 °C/12 °C (T1)、10 °C/5 °C (T2) 和恢复 15 °C/12 °C (T3), (光照/黑暗), 每个处理 5 株植物。采集幼苗倒 2~3 对叶测量生理指标, 总叶绿素由上海科艾博生物植物总叶绿素 ELISA 检测试剂盒测定, 丙二醛、脯氨酸、总酚和可溶性糖由索莱宝生物科技有限公司 (北京) 相应微量法试剂盒提取, 用索莱宝生物科技有限公司 (北京) 植物蛋白试剂盒提取可溶性蛋白, 用考马斯亮蓝法测定蛋白含量。

### 1.2.5 基因 *psbB* 在冷胁迫植株中的表达

使用诺维赞公司试剂盒 (FastPure plant Total RNA Isolation Kit) 提取海滨猫尾木叶片总 RNA。cDNA 由 Takara 公司 (PrimeScript™ FAST RT) 试剂盒合成。根据 *psbB* 基因序列使用 Primer 6.0 软件设计引物。引物序列分别为, 上游引物 *psbB*-F: 5'-AGAGATAAAGAAGGGCGTGAGC-3', 下游引物 *psbB*-R: 5'-CCATTGAGTTCGCCGCAT-3'; 内参基因为拟南芥 *U6* 基因, *U6*-F: 5'-ACATCCGATAAAATTGGAACGA-3', 下游引物 *U6*-R: 5'-TTTTTTTGGACCATTCTCGAT-3'; 根据北京全式金 Perfectstart Green qPCR 试剂盒说明书三步法进行荧光定量 PCR 验证实验, 94 °C 30 s, 1 个循环, 94 °C 5 s, 60 °C 15 s, 72 °C 10 s, 40 个循环, 反应体系 20 μL。

## 2 结果与分析

### 2.1 叶绿体基因组结构特征

如图 1 所示的海滨猫尾木叶绿体基因组四分体结构, 全长 159 139 bp, GC 含量 37.9%, AT 含量 62.1%, 具有明显的 AT 偏向性。2 个大小相同、方向相反的反向重复区 (IRs) 分隔出

大单拷贝区（LSC）和小的单拷贝区（SSC），IRs、LSC、SSC 长度分别为 30 234、86 036、12 635 bp。

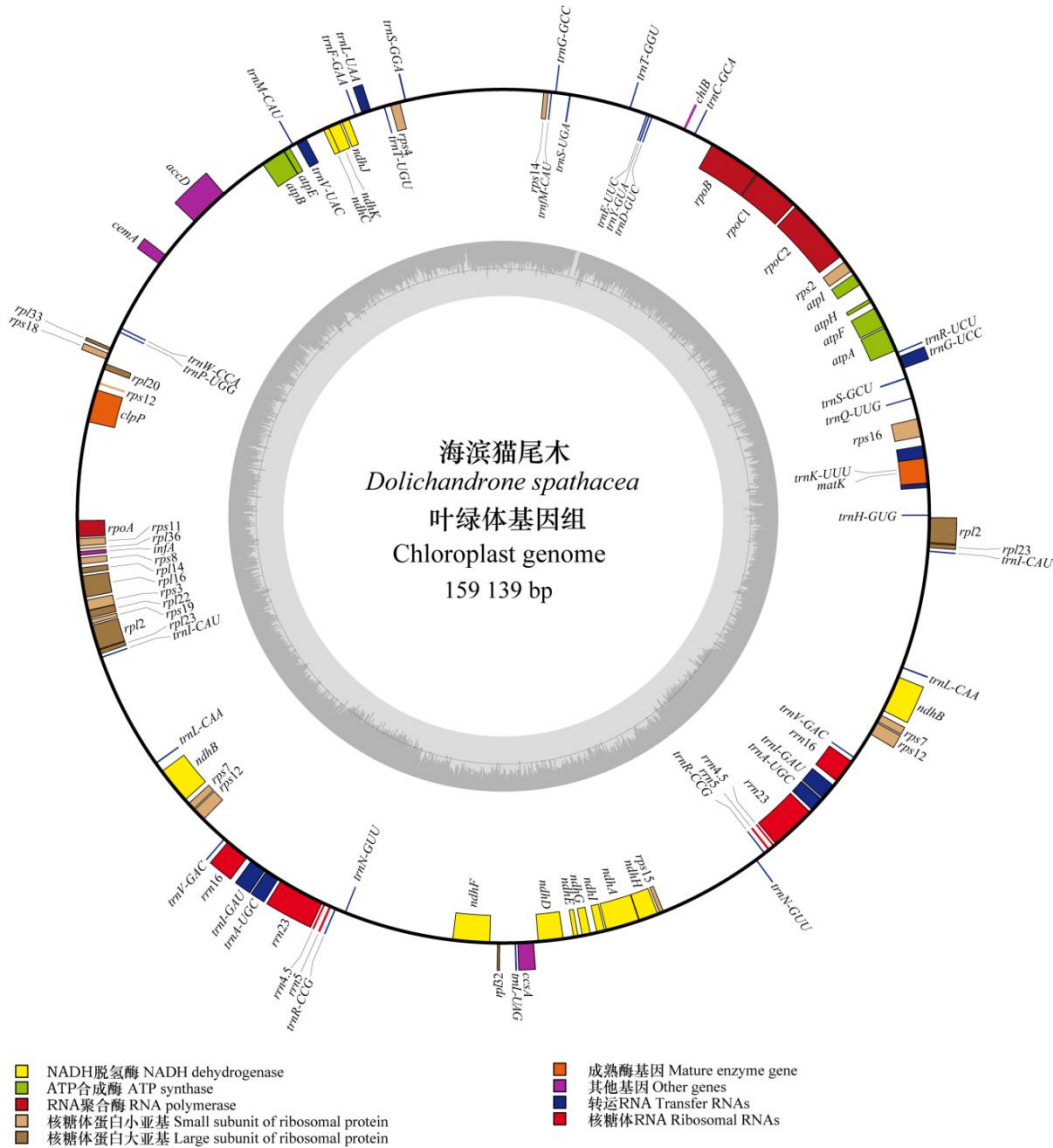


图 1 海滨猫尾木叶绿体基因组图谱

Fig. 1 Chloroplast genome map in *Dolichandrone spathacea*

## 2.2 叶绿体基因组功能及分类

共有 133 个基因被注释到该叶绿体基因组中，包括蛋白编码基因（88 个）、rRNA 基因（8 个）和 tRNA 基因（37 个），根据功能注释基因可分为 4 大类（表 1）。在这些基因中，有 6 个蛋白质编码基因、9 个 tRNA 编码基因和 4 个 rRNA 编码基因位于 IR 区。18 个基因具有内含子，其中基因 *rps12*、*clpP*、*ycf3* 含有 2 个内含子（表 1）。

表 1 海滨猫尾木叶绿体基因组注释信息

Table 1 Annotation information of chloroplast genome in *Dolichandrone spathacea*

基因类别	基因分组	基因名称
Category of gene	Group of gene	Name of gene
自我复制相关基因 Self-replicating related gene	核糖体蛋白大亚基 Large subunit of ribosomal protein	<i>rpl14, rpl16*, rpl2*(2), rpl20, rpl22, rpl23(2), rpl32, rpl33, rpl36</i>
	核糖体蛋白小亚基 Small subunit of ribosomal protein	<i>rps11, rps12**(2), rps14, rps15, rps16*, rps18, rps19, rps2, rps3, rps4, rps7(2), rps8</i>
	RNA 聚合酶 RNA Polymerase	<i>rpoA, rpoB, rpoC1*, rpoC2</i>
	核糖体 RNA Ribosomal RNAs	<i>rrn16(2), rrn23(2), rrn4.5(2), rrn5(2)</i>
	转运 RNA Transfer RNAs	<i>trnA-UGC*(2), trnC-GCA, trnD-GUC, trnE-UUC, trnF-GAA, trnG-GCC, trnG-UCC*, trnH-GUG, trnI-CAU(2), trnI-GAU*(2), trnK-UUU*, trnL-CAA(2), trnL-UAA*, trnL-UAG, trnM-CAU, trnN-GUU(2), trnP-UGG, trnQ-UUG, trnR-CCG(2), trnR-UCU, trnS-GCU, trnS-GGA, trnS-UGA, trnT-GGU, trnT-UGU, trnV-GAC(2), trnV-UAC*, trnW-CCA, trnY-GUA, trnY-M-CAU</i>
	光系统 I Photosystem I	<i>psaA, psaB, psaC, psaI, psaJ</i>
	光系统 II Photosystem II	<i>psbA, psbB, psbC, psbD, psbE, psbF, psbH, psbI, psbJ, psbK, psbL, psbM, psbN, psbT, psbZ</i>
	NADH 脱氢酶 NADH dehydrogenase	<i>ndhA*, ndhB*(2), ndhC, ndhD, ndhE, ndhF, ndhG, ndhH, ndhI, ndhJ, ndhK</i>
	细胞色素 b/f 复合体 Cytochrome b/f complex	<i>petA, petB*, petD*, petG, petL, petN</i>
	ATP 合成酶 ATP synthase	<i>atpA, atpB, atpE, atpF*, atpH, atpI</i>
二磷酸核酮糖羧化酶大亚基 RubisCo large subunit	<i>rbcl</i>	
光叶绿素还原酶 Photochlorophyll reductase subunit	<i>chlB</i>	
成熟酶基因 Mature enzyme gene	<i>matK</i>	
蛋白酶基因 Protease gene	<i>clpP**</i>	
包裹膜蛋白基因	<i>cemA</i>	

ChinaXiv:202411.00081v1

	Envelop membrane protein	
	乙酰辅酶 A 羧化酶的亚基	<i>accD</i>
	Subunit of acetyl-CoA-carboxylase	
	c 型细胞色素合成基因	<i>ccsA</i>
	Type c cytochrome synthesis gene	
	转录起始因子	<i>infA</i>
	Transcription initiation factor	
未知功能基因	假定叶绿体阅读框	<i>ycf1(2), ycf12, ycf2(2), ycf3**, ycf4</i>
Gene of unknown function	Hypothetical chloroplast reading frames	
	gene	

注：\* 表示含有 1 个内含子，\*\*表示含有 2 个内含子。

Note: \* indicates containing one intron, \*\* indicates containing two introns.

### 2.3 系统发育分析

为确定海滨猫尾木的系统发育位置，以狭叶恋岩花和拟南芥为外类群，结合已公布的 8 种紫葳科植物，共计 11 个叶绿体基因组序列进行分析（图 2），显示 9 个紫葳科植物构成一个单系分支，显著区别于外类群，具有 100% 支持率。海滨猫尾木与光梓藤属植物 *Neojobertia candolleana*、白花母兰以及硬骨凌霄的亲缘关系最近，但未聚为一支，支持率 100%。

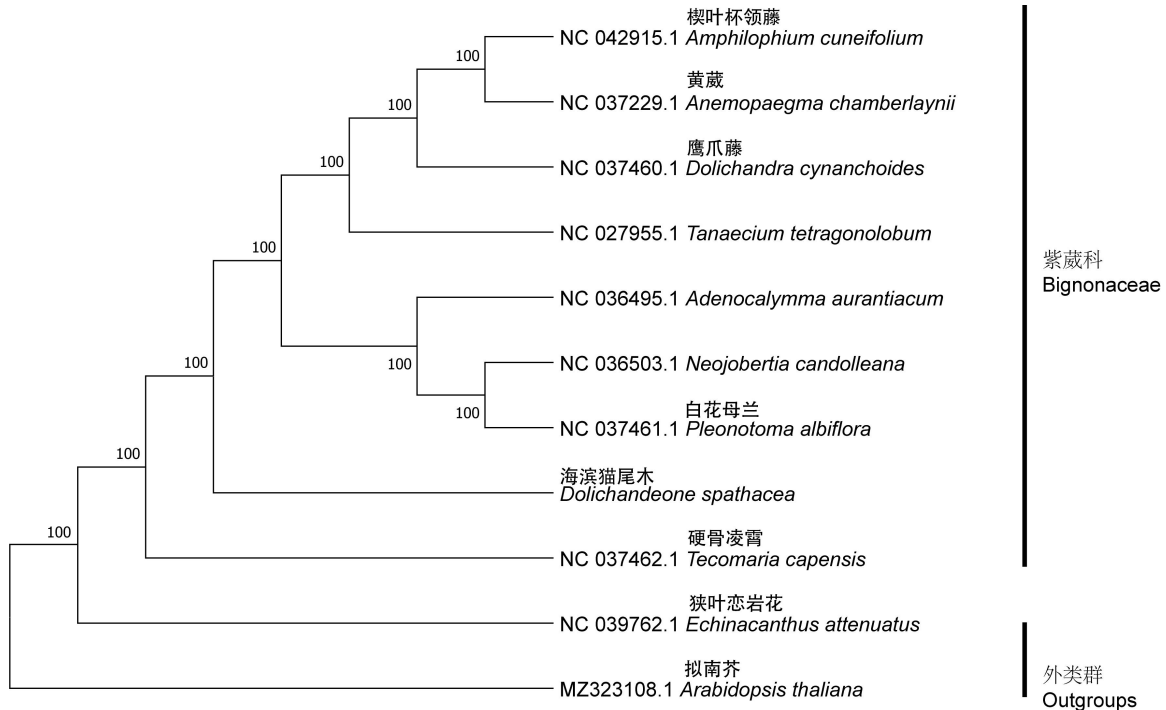


图 2 基于共有 CDS 构建紫葳科植物叶绿体基因组 ML 系统发育树

Fig. 2 ML phylogenetic trees of *Dolichandrone* with other species based on common CDS in chloroplast genome

## 2.4 冷胁迫对海滨猫尾木的影响

### 2.4.1 冷胁迫对植物表型的影响

由图 3 可知，28 °C/25 °C (CK) 处理后的海滨猫尾木幼苗株型健康挺拔，叶色浓绿，生长状态最佳；15 °C/12 °C (T1) 处理 48 h 后，叶色转黄，部分植株叶片出现轻度萎焉；10 °C/5 °C (T2) 处理 48 h 时后所有植株叶片严重萎焉；但经过 15 °C/12 °C (T3) 恢复培养 48 h 后，植株表现不同程度的恢复。

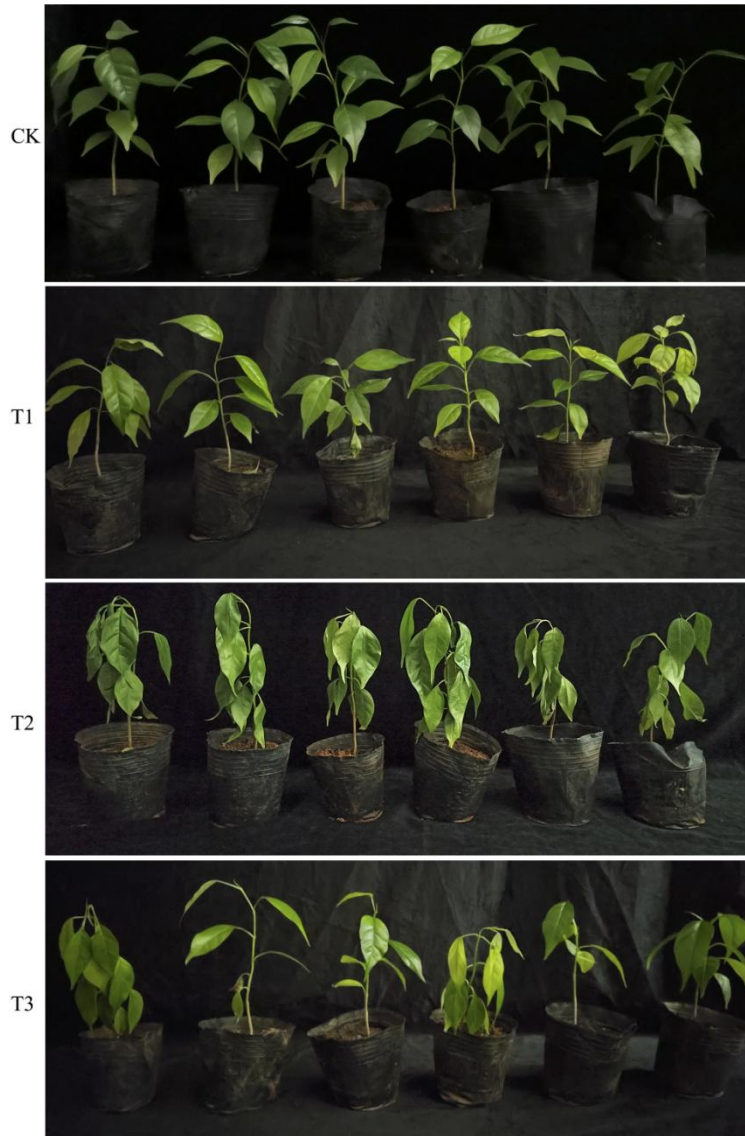


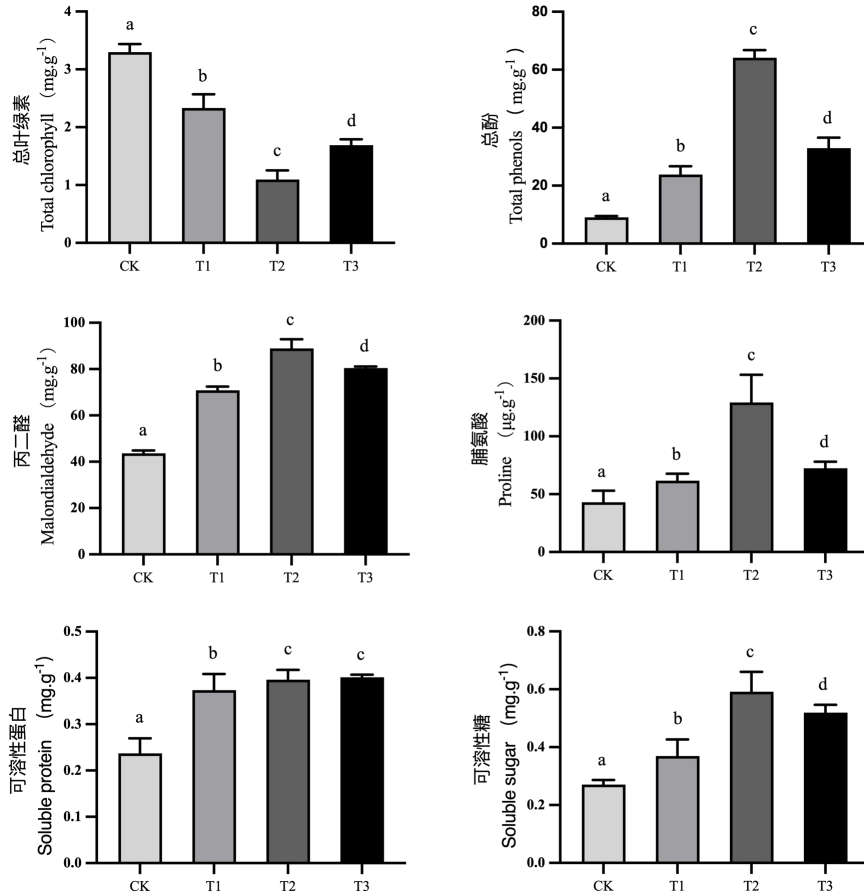
图 3 海滨猫尾木经冷胁迫处理后的形态变化

Fig. 3 Morphological changes of *Dolichandrone spathacea* under cold stress treatment

### 2.4.2 低温胁迫对生理指标的影响

由图 4 可知，海滨猫尾木幼苗叶片的总叶绿素含量随着处理温度的降低呈下降趋势，在 T2 时达到最低值，经过 T3 (15 °C/12 °C 恢复培养 48 h) 时，总叶绿素含量显著升高；渗透性

调节物质总酚、丙二醛、脯氨酸、可溶性蛋白和可溶性糖的含量均随着处理温度的降低呈上升趋势，当温度在 T2 时达到最大值，在 T3 时显著下降，但可溶性蛋白含量除外。



不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。下同。

Different lowercase letters indicate significant differences ( $P < 0.05$ ). The same below.

图 4 冷胁迫下海滨猫尾木叶片总叶绿素、总酚、丙二醛、脯氨酸、可溶性蛋白和可溶性糖含量的变化

Fig. 4 Changes of total chlorophyll, total phenols, malondialdehyde, proline, soluble protein and soluble sugar contents in leaves of *Dolichandrone spathacea* under cold stress

#### 2.4.3 基因 *psbB* 在冷胁迫植株中的表达

由图 5 可知，叶绿体编码基因 *psbB* 的相对表达量在冷胁迫下随着温度梯度的降低呈逐步上升趋势，当植株经历 T2 温度处理后再进行 T3 温度恢复培养时，基因 *psbB* 的相对表达量显著下降但仍高于第一次 15 °C/12 °C (T1) 处理时的相对表达量。

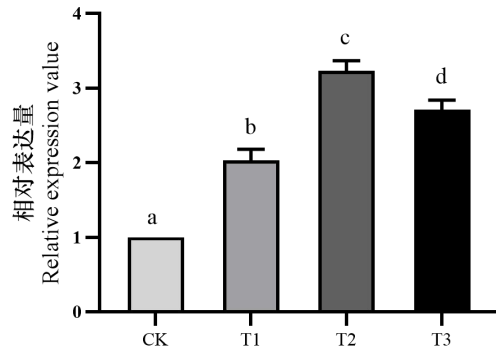


图 5 冷胁迫下基因 *psbB* 的相对表达量  
Fig. 5 Relative expression value of *psbB* gene under cold stress

## 3 讨论

### 3.1 叶绿体基因组序列特征

叶绿体基因组是可以独立于核基因组外进行遗传的一套基因组，有遗传多样性和单亲遗传限制以及异交重组等特点，近年来成为植物系统发育研究、药用植物驯化、改良和基因工程的重要对象（Gao et al., 2022；郭冉昊等，2023）。海滨猫尾木叶绿体基因组是第一个被揭示的紫葳科红树植物叶绿体基因组。高等植物叶绿体基因组长度通常在 120~180 kb 间，编码基因一般为 100~130 个，其中编码蛋白质基因可达 80~88 个（Zhang et al., 2019）。海滨猫尾木叶绿体基因组的长度、编码基因数目和种类与其他紫葳科植物的研究结果一致，符合叶绿体基因组高度保守的特性（Nazareno et al., 2015; Thode et al., 2019; Yaradua et al., 2022; Li et al., 2022）。通过共有 CDSs 构建系统发育树，海滨猫尾木与其他紫葳科植物聚为一枝，此结果与经典分类结果相同（胡启明等，1987），说明叶绿体基因组可以提供比传统分子标记更多的信息，能够提供更高分辨率的遗传分析成为传统植物分类的有力支撑（Zhang et al., 2023）。

### 3.2 海滨猫尾木在冷胁迫下的生理响应

叶绿素作为光合作用的基础可以反映植物整体的光合速率，而光合速率是反映植物抗逆性以及生长状况的重要因素（冯峻等，2024），低温胁迫的加剧会导致最大净光合速率和光饱和点下降（武辉等，2014），因此叶绿素含量变化可以一定程度反映植物的抗逆性情况。在冷胁迫下叶绿素合成受到抑制，同时分解速度加快，光合速率下降导致光合作用变弱（任延靖等，2020）。本研究发现，海滨猫尾木幼苗在冷胁迫下，随着温度的降低，叶绿素含量随之下降，当温度回升时，叶绿素含量随之回升，这也表明短时间（48 h 内）的冷害对红树植物伤害是可恢复的，这一发现对该濒危红树植物的迁地保护具有指导意义。

冷胁迫会使植物细胞膜受到破坏，从而使膜脂过氧化而产生脯氨酸，同时产生的丙二醛含

量越高，膜脂过氧化程度加剧（安孝莹等，2024）。丙二醛具有细胞毒性，本研究发​​现冷胁迫程度越剧烈，丙二醛含量就越高，与柏科植物随着逆境胁迫程度的加深，丙二醛含量的变化趋势一致（姚红等，2013）。受到冷胁迫时，植物体内脯氨酸会增加，以减轻细胞所受侵害（Wang et al., 2022）。脯氨酸可以增强植物抗逆性，起到清除自由基、保护酶和细胞结构以及调节胞质渗透压的作用（Zhu et al., 2024）。在冷胁迫下，海滨猫尾木植株叶片脯氨酸含量呈上升趋势，随着温度的回升脯氨酸含量下降，这与茶树受低温胁迫后脯氨酸含量的变化趋势相同（薄晓培等，2016），说明起源热带的植物拥有相似的通过调节脯氨酸含量来促进植物冷胁迫适应的能力。可溶性糖、可溶性蛋白与植物细胞的渗透压浓度成正相关，与水势成负相关，较高浓度的可溶性糖和可溶性蛋白能降低植物受冷害的程度（Ren et al., 2023）。海滨猫尾木叶片中的可溶性糖和可溶性蛋白含量随着温度的降低而呈上升趋势，与3种护坡植物（何云等，2012）的研究结果一致，可溶性蛋白含量的变化趋势与澳洲坚果（*Macadamia integrifolia*）（岳海等，2010）的研究结果一致，以上植物表现出相似的温度适应调控机制。海滨猫尾木对一定程度的冷胁迫有较好的适应能力，这可能也是该濒危红树植物能够在温度低于原生地的珠海淇澳岛红树林湿地迁地保护成功（田广红等，2011）的内部原因。

### 3.3 海滨猫尾木在冷胁迫下叶绿体基因组编码基因的反应

叶绿体基因组编码的光合系统基因、自我复制基因、生物合成基因等功能基因在植物适应温度变化中起着重要作用，而这些基因的表达在冷胁迫下发生改变。转录组分析显示，紫花苜蓿（*Medicago sativa*）冷敏感品种中 tRNA 基因显著上调，*rps7*、*rpl32* 和 *ndhB* 基因下调，耐寒品种中叶绿体编辑基因 *ycf1*、*ycf2* 和 *ndhF* 的编辑效率降低，这可能与叶绿体通过光合作用储存养分来抵御寒冷有关（Zhang et al., 2024）。海滨猫尾木叶片中基因 *psbB* 的表达量随着冷胁迫程度的加深而上调，同是热带植物的油茶（*Camellia oleifera*）基因 *psbS* 的表达量也有类似的表现（Wu et al., 2020）。说明基因 *psbB* 在海滨猫尾木冷胁迫响应中起到较为重要的作用，该基因有望应用到该物种提升抗冷能力的分子辅助育种工作中。

## 4 结论

海滨猫尾木叶绿体基因组特征在紫葳科植物中高度保守。生理响应实验表明，冷胁迫会抑制海滨猫尾木总叶绿素的合成，促进渗透调节物质总酚、脯氨酸、可溶性糖、可溶性蛋白含量的增加，促进毒性物质丙二醛含量的增多。通过荧光定量 PCR 实验发现海滨猫尾木叶片中叶绿体编码基因 *psbB* 的相对表达量会随着冷胁迫程度的加深而升高。以上研究可为科学制定海滨猫尾木叶绿体基因工程选育耐冷植物材料提供前期支撑。

### 参考文献：

AKASHI H, GOJOBORI T, 2002. Metabolic efficiency and amino acid composition in the proteomes

of *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*[J]. Proceeding of the National Academy of Sciences, 99: 3695-3700.

- AN XY, JIANG T, WANG HJ, et al., 2024. Cold resistance evaluation of five walnut resources in Qinhuangdao [J/OL]. *Molecular Plant Breeding*, 1-15[2024-08-22]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20240313.1531.014.html>. [安孝莹, 姜涛, 王海静, 等, 2024. 秦皇岛 5 份核桃资源的抗寒性评价 [J/OL]. *分子植物育种*, 1-15[2024-08-22]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20240313.1531.014.html>.]
- BI A, FAN JB, HU ZR, et al., 2016. Differential acclimation of enzymatic antioxidant metabolism and photosystem II photochemistry in tall fescue under drought and heat and the combined stresses[J]. *Frontiers in Plant Science*, 7: 453.
- FENG J, MA HC, LUO ZP, et al., 2024. Evaluation on cold resistance of different clonal seedlings of *Pinus armand* Franch. under low temperature stress [J]. *Journal of Sichuan Agricultural University*, 42(2): 378-387. [冯峻, 马焕成, 罗正平, 等, 2024. 低温胁迫下华山松不同无性系幼苗抗寒性评价 [J]. *四川农业大学学报*, 42(2): 378-387. ]
- FU XP, WANG MX, CUI L, et al., 2016. Evaluation on correlations of three kinds of osmo regulation substances in tea fresh leaves with low temperature during winter and spring respectively and their difference among cultivars [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 49(19): 3807-3817. [薄晓培, 王梦馨, 崔林, 等, 2016. 茶树 3 类渗透调节物质与冬春低温相关性及其品种间的差异评价 [J]. *中国农业科学*, 49(19): 3807-3817. ]
- GAO Y, THIELE W, SALEH O, et al., 2022. Chloroplast translational regulation uncovers nonessential photosynthesis genes as key players in plant cold acclimation [J]. *The Plant Cell*, 34(5): 2056-2079.
- GREINER S, LEHWARK P, BOCK R, 2019. Organellar Genome DRAW (OGDRAW) version 1.3.1: expanded toolkit for the graphical visualization of organellar genomes [J]. *Nucleic Acids Research*, 47: 59-64.
- GUO RH, ZHAO SW, MI FG, et al., 2023. Chloroplast genome analysis of an erect semi-wild soybean [J]. *Acta Agrestia Sinica*, 31(11): 3334-3342. [郭冉昊, 赵淑文, 米福贵, 等, 2023. 直立型半野生大豆叶绿体基因组分析 [J]. *草地学报*, 31(11): 3334-3342. ]
- HE Y, LI XW, GONG W, 2012. Response of membrane permeability and soluble carbohydrate of three native petrophile plants to low temperature stress [J]. *Journal of Sichuan Agricultural University*, 30(1): 42-45. [何云, 李贤伟, 龚伟, 2012. 3 种岩石边坡护坡植物叶片质膜透性和可溶性糖含量对低温胁迫的响应 [J]. *四川农业大学学报*, 30(1): 42-45. ]
- HU QM, LI ZX, XING FW, et al., 1987. *Dolichandrone spathacea* —— a mangrove plant recently discovered in China [J]. *Guihaia*, 7(4): 303-304. [胡启明, 李泽贤, 邢福武, 1987. 红树林植物海滨猫尾木在我国首次发现 [J]. *广西植物*, 7(4): 303-304. ]
- HUANG XS, CHEN YL, MO WH, et al., 2021. Climate change and its influence in Beibu Gulf mangrove biome of Guangxi in past 60 years [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 41(12): 5026-5033. [黄雪松, 陈燕丽, 莫伟华, 等, 2021. 近 60 年广西北部湾红树林生态区气候变化及其影响因素 [J]. *生态学报*, 41(12): 5026-5033. ]
- KATO H, STANDLEY DM, 2013. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 30(4): 772-80.
- KOICHIRO T, GLEN S, SUDHIR K, 2021. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 38(7): 3022-3027.
- LI F, LIU Y, WANG J, et al., 2022. Comparative analysis of chloroplast genome structure and phylogenetic relationships among six taxa within the genus *Catalpa* (Bignoniaceae) [J]. *Frontiers in Genetics*, 13: 845619.
- LI HY, LIU XF, WASSIE M, et al., 2020. Selenium supplementation alleviates cadmium-induced damages in tall fescue through modulating antioxidant system, photosynthesis efficiency, and gene expression[J]. *Environmental Science and Pollution Research International*, 27(9): 9490-9502.
- LI Q, LUO Y, SHA A, et al., 2023. Analysis of synonymous codon usage patterns in mitochondrial

- genomes of nine *Amanita* species [J]. *Frontiers in Microbiology*, 14: 1134228.
- LI WJ, GAO SP, LEI T, et al., 2022. Transcriptome analysis revealed a cold stress-responsive transcription factor, PaDREB1A, in *Plumbago auriculata* that can confer cold tolerance in transgenic *Arabidopsis thaliana* [J]. *Frontiers in Plant Science*, 13: 760460.
- LIU W, GUO W, CHEN S, et al., 2022. A high-quality reference genome sequence and genetic transformation system of *Aralia elata* [J]. *Frontiers in Plant Science*, 13: 822942.
- LLORENTE B, SEGRETIN ME, GIANNINI E, et al., 2021. Homecoming: rewinding the reductive evolution of the chloroplast genome for increasing crop yields [J]. *Nature Communications*, 18;12(1): 6734.
- NAZARENO AG, CARLSEN M, LOHMANN LG, 2015. Complete chloroplast genome of *Tanaecium tetragonolobum*: the first Bignoniaceae plastome [J]. *PLoS ONE*, 10(6): e0129930.
- REN M, MAO G, ZHENG H, et al., 2023. Growth changes of tomato seedlings responding to sodium salt of  $\alpha$ -naphthalene acetic acid and potassium salt of fulvic acid [J]. *Scientific Reports*, 13(1): 4024.
- REN YJ, GUO YT, ZHAO ML, 2020. Research progress of response to low temperature stress in plant [J]. *Molecular Plant Breeding*, 18(14): 4775-4781. [任延靖, 郭怡婷, 赵孟良, 2020. 植物应答低温胁迫的研究进展 [J]. *分子植物育种*, 18(14): 4775-4781.]
- SAHNG MY, WANG JL, ZHOU Y, et al., 2023. Analysis of chloroplast genome structure and phylogeny of endangered *Dendrobium devonianum* [J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 54(19): 6424-6433. [尚明越, 王嘉乐, 周莹, 等, 2023. 濒危紫皮石斛叶绿体基因组结构及系统发育分析 [J]. *中草药*, 54(19): 6424-6433.]
- SEHAR Z, IQBAL N, KHAN IR, et al., 2021. Ethylene reduces glucose sensitivity and reverses photosynthetic repression through optimization of glutathione production in salt-stressed wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. *Scientific Reports*, 11(1): 12650.
- THODE VA, LOHMANN LG, 2019. Comparative chloroplast genomics at low taxonomic levels: a case study using *Amphilophium* (Bignoniaceae, Bignoniaceae)[J]. *Frontiers in Plant Science*, 10: 796.
- TIAN GH, LI G, YANG XB, et al., 2011. Study on Introduction of *Dolichandrone spathacea* on Qi'ao Island [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 39(16): 9618-9619. [田广红, 李攻, 杨雄邦, 等, 2011. 珠海淇澳岛海滨猫尾木的引种栽培研究 [J]. *安徽农业科学*, 39(16): 9618-9619.]
- WANG J, ZHAO Y, MA Z, et al., 2022. Hydrogen sulfide treatment alleviates chilling injury in Cucumber fruit by regulating antioxidant capacity, energy metabolism and proline metabolism [J]. *Foods*, 11(18): 2749.
- WANG XP, SONG QP, LIU Y, et al., 2022. The network centered on ICEs play roles in plant cold tolerance, growth and development [J]. *Planta*, 255(4): 81.
- WU H, DAI HF, ZHANG JS, et al., 2014. Responses of photosynthetic characteristics to low temperature stress and recovery treatment in cotton seedling leaves [J]. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 38(10): 1124-1134. [武辉, 戴海芳, 张巨松, 等, 2014. 棉花幼苗叶片光合特性对低温胁迫及恢复处理的响应 [J]. *植物生态学报*, 38(10): 1124-1134.]
- WU LL, LI J, LI Z, et al., 2020. Transcriptomic analyses of *Camellia oleifera* 'Huaxin' leaf reveal candidate genes related to long-term cold stress [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(3): 846.
- WYMAN SK, JANSEN RK, BOORE JL, 2004. Automatic annotation of organellar genomes with DOGMA[J]. *Bioinformatics*, 20(17): 3252-3255.
- XING SC, CLARKE JL, 2008. Progress in chloroplast genome analysis [J]. *Progress in Biochemistry and Biophysics*, 35(1): 21-28. [邢少辰, CLARKE JL, 2008. 叶绿体基因组研究进展 [J]. *生物化学与生物物理进展*, 35(1): 21-28.]
- XU DH, ABE J, KANAZAWA A, 2001. Identification of sequence variations by PCR-RFLP and its application to the evaluation of cpDNA diversity in wild and cultivated soybeans[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 102(5): 683-688.
- YAO H, 2013. The research of physiological and biochemical characteristics related to cold resistance in four Cupressaceae varieties [D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University: 1-35. [姚红,

2013. 四个柏科植物品种抗寒性生理生化研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学: 1-35.]
- YARADUA SS, YESSOUFOU K, 2022. The complete chloroplast genome of *Hypoestes forskalii* (Vahl) R. Br: insights into comparative and phylogenetic analyses within the tribe Justiceae [J]. *Genes* (Basel), 13(12): 2259.
- YUE H, LI GH, LI GW, et al., 2010. Studies on cold resistance of different macadamia cultivars [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 37(1): 31-38. [岳海, 李国华, 李国伟, 等, 2010. 澳洲坚果不同品种耐寒特性的研究[J]. 园艺学报, 37(1): 31-38.]
- ZAHNG Y, CHEN GC, ZHONG CR, 2021. Research on endangered mangrove species and recovery status in China [J]. *Journal of Applied Oceanography*, 40(1):142-153. [张颖, 陈光程, 钟才荣, 2021. 中国濒危红树植物研究与恢复现状[J]. 应用海洋学学报, 40(1): 142-153.]
- ZHANG TX, CHEN XH, YAN W, et al., 2024. Comparative analysis of chloroplast pan-genomes and transcriptomics reveals cold adaptation in *Medicago sativa* [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(3): 1776.
- ZHANG W, ZHANG Z, LIU B, et al., 2023. Comparative analysis of 17 complete chloroplast genomes reveals intraspecific variation and relationships among *Pseudostellaria heterophylla* (Miq.) Pax populations [J]. *Frontiers in Plant Science*,14: 1163325.
- ZHANG Y, ZHANG JW, YANG Y, et al., 2019. Structural and comparative analysis of the complete chloroplast genome of a mangrove plant: *Scyphiphora hydrophyllacea* Gaertn. f. and related Rubiaceae species[J]. *Forests*, 10: 1000.
- ZHU SX, ZHAO W, SHENG Y, et al., 2024. Integrated transcriptome and metabolomics analyses revealed key functional genes in *Canna indica* under Cr stress [J]. *Scientific Reports*, 14(1): 14090.