植物遗传资源学报 2025，26（6）：1106-1118
Journal of Plant Genetic Resources
DOI：10.13430/j.cnki.jpgr.20241113001

甘薯*IbSAUR76*基因表达特征及互作蛋白筛选

白楠楠[1]，曹艳东[1]，郑亚婷[2]，罗　状[2]，赵彩良[2]，唐锐敏[1]，吴宇浩[3]，
武小平[4]，贾峥嵘[5]，陈　伟[4]，贺立恒[2]，贾小云[1]
（[1]山西农业大学生命科学学院/山西省特用作物遗传和代谢工程研究中心，太谷 030801；[2]山西农业大学农学院/
山西省特用作物遗传和代谢工程研究中心，太谷 030801；[3]山西农业大学棉花研究所，运城 044000；
[4]山西农业大学玉米研究所，忻州 034000；[5]山西农业大学高粱研究所，晋中 030600）

摘要：甘薯［*Ipomoea batatas*（L.）Lam.］易受多种生物和非生物胁迫影响，导致产量和品质下降，因此挖掘抗逆基因并解析其功能机制，对培育甘薯抗逆新品种、保障产业可持续发展至关重要。*SAUR*（*small auxin up RNA*）基因作为生长素信号通路的关键调控因子，在调控植物生长发育和非生物胁迫响应中具有重要作用。本研究首先克隆了*IbSAUR76*基因，通过烟草瞬时表达发现*IbSAUR76*基因编码的蛋白定位于细胞核和细胞膜。组织特异性表达分析显示，*IbSAUR76*基因在甘薯根、茎、叶、叶柄和茎尖组织中均有表达，其中在茎尖中的表达量最高；在60 d、75 d、90 d和105 d块根中均有表达，其中在90 d块根中的达量最高。*IbSAUR76*启动子序列分析发现该基因上游区域包含多个逆境和激素响应相关的顺式作用元件。进一步的qRT-PCR分析显示，*IbSAUR76*响应干旱和盐胁迫，为了深入探究其在甘薯中的分子机制，构建了*IbSAUR76*的诱饵载体，通过mating法从甘薯cDNA酵母文库中筛选获得27个与IbSAUR76相互作用的候选蛋白，并对其中两个与非生物胁迫相关的互作蛋白IbERF2及IbHOS15进行了酵母双杂交回转验证。本研究丰富了对*IbSAUR76*基因功能的认识，为深入解析*IbSAUR76*在甘薯中的功能和作用机制提供了理论基础。

关键词：甘薯；*IbSAUR76*；生长素；互作蛋白

Identification of *IbSAUR76* Gene Expression Profiles and Screening of Interacting Proteins in Sweetpotato

BAI Nannan[1], CAO Yandong[1], ZHENG Yating[2], LUO Zhuang[2], ZHAO Cailiang[2], TANG Ruimin[1],
WU Yuhao[3], WU Xiaoping[4], JIA Zhengrong[5], CHEN Wei[4], HE Liheng[2], JIA Xiaoyun[1]
([1]*College of Life Sciences, Shanxi Agricultural University/Shanxi Engineering Research Center for Genetics and Metabolism of Special Crops, Taigu 030801*; [2]*College of Agriculture, Shanxi Agricultural University/Shanxi Engineering Research Center for Genetics and Metabolism of Special Crops, Taigu 030801*; [3]*Institute of Cotton Research, Shanxi Agricultural University, Yuncheng 044000*; [4]*Maize Research Institute, Shanxi Agricultural University, Xinzhou 034000*; [5]*Sorghum Research Institute, Shanxi Agricultural University, Jinzhong 030600*)

Abstract: Sweetpotato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] is susceptible to various biotic and abiotic stresses that adversely affect its yield and quality. Therefore, identifying stress-responsive genes and elucidating their

收稿日期：2024-11-13　　**网络出版日期：**2025-02-12
URL：https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20241113001
第一作者研究方向为植物重要功能基因的挖掘与应用，E-mail：yonuoqianjin@163.com
通信作者：贾小云，研究方向为薯类作物遗传育种，E-mail：jiaxiaoyun@sxau.edu.cn
基金项目：中央引导地方科技发展资金项目（YDZJSX2024B007）；山西农业大学科技创新提升工程（CXGC2023051，CXGC2023074）；山西省回国留学人员科研资助项目（2021-074）；忻州市科学技术局项目（20220703）；山西省基础研究计划（202403021212098）；山西农业大学杂粮研究院项目（Z120220502）

Foundation projects: The Central Guidance for Local Science and Technology Development Fund Project (YDZJSX2024B007); Science and Technology Innovation Enhancement Programs of Shanxi Agricultural University (CXGC2023051, CXGC2023074); Research Funding Project for Returned Overseas Students in Shanxi Province (2021-074); Projects of Xinzhou Municipal Science and Technology Bureau (20220703); Shanxi Province Basic Research Program (202403021212098); Projects of the Millet Research Institute of Shanxi Agricultural University (Z120220502)

functional mechanisms are crucial for developing stress-resistant cultivars. As key components of auxin signaling pathways, *SAUR* (*small auxin up RNA*) genes play pivotal roles in plant growth, development, and stress adaptation. In this study, the *IbSAUR76* gene was cloned and its encoded protein was demonstrated to localize to the nucleus and membrane via transient expression in tobacco. Tissue-specific expression profiling demonstrated that *IbSAUR76* is ubiquitously expressed in roots, stems, leaves, petioles, and shoot tips (highest in shoot tips), as well as in storage roots at 60, 75, 90, and 105 days post-planting (peak at 90 days). Analysis of the *IbSAUR76* promoter sequence revealed the presence of multiple cis-acting elements associated with stress and hormone responses in the upstream region of the gene. qRT-PCR analysis demonstrated that *IbSAUR76* responds to both drought and salt stress treatments. To elucidate the molecular mechanisms underlying its function in sweetpotato, the *IbSAUR76* bait vector was constructed for yeast two-hybrid screening against a sweetpotato cDNA library using the mating method, leading to the identification of 27 candidate interacting proteins. Two interactors IbERF2 and IbERF15, which are known to be associated with abiotic stress responses, were further validated through yeast two-hybrid reciprocal verification assays. This study enhances the understanding of the *IbSAUR76* gene function and provides a theoretical foundation for in-depth dissection of its role and mechanism of action in sweetpotato.

Key words: sweetpotato; *IbSAUR76*; auxin; interacting protein

甘薯[*Ipomoea batatas* (L.) Lam.]隶属于旋花科番薯属，是一种广泛种植的一年生蔓生草本植物[1]。甘薯作为世界上重要的粮食、饲料及工业原料作物，因具有适应性强、产量高、营养价值高等优良特性而备受瞩目[2]。甘薯含有丰富的碳水化合物（淀粉、单糖及膳食纤维）和生物活性物质（胡萝卜素、花青素与抗坏血酸等）等营养成分[3-4]。在人类饮食体系中，甘薯不仅是能量与营养的重要来源，还具有降低血糖、预防心血管疾病及提升机体免疫等功效[5]。中国作为世界上最大的甘薯生产国[6]，甘薯产量和品质持续受到土壤盐渍化与干旱胁迫的严重制约。这一问题在边际土地种植体系中尤为突出[7]。因此，挖掘甘薯抗逆相关基因并深入探究其功能与作用机制，对于提升甘薯的耐盐耐旱性、保障甘薯产业可持续发展具有重要意义。

生长素（IAA，auxin）是最早被发现的一类植物激素，在植物生长发育过程中发挥着重要的调节作用[8]。生长素早期响应基因家族是生长素信号转导途径中的重要组成部分，包括生长素/吲哚乙酸基因（*Aux/IAA*，*auxin/indole-3-acetic acid*）、酰基酰胺合成酶基因（*GH3*，*gretchen hagEN 3*）和生长素上调小RNA基因（*SAUR*，*small auxin up RNA*）。其中，Aux/IAA基因家族通过特定结构域与生长素响应因子（ARFs，auxin response factors）相互作用，进而抑制ARFs激活基因的转录活性[9]。GH3基因家族通过编码具有生长素氨基酸化合成酶活性的GH3蛋白，参与维持植物生长素的动态平衡，并在植物生长素信号途径、光信号途径及防卫反应中发挥重要作用[10]。SAUR基因家族是植物特有的最大的生长素响应因子家族，包含众多成员，在植物响应生长素信号过程中各自发挥着不同的功能[11]。

*SAUR*基因最初由McClure等[12]在大豆下胚轴中发现，研究证实其表达受生长素诱导调控。在大多数高等植物中，SAUR基因家族成员众多，且在染色体相邻位置呈串联重复状态存在，可能与家族基因复制有关[13]。此外，*SAUR*基因通常不含内含子，编码的蛋白质相对分子质量较小，介于9×10^3到3×10^4之间，易于在细胞内扩散和运输，从而快速到达作用位点发挥生物学功能[14-17]。随着对SAUR基因家族研究的持续深入，对该家族成员功能的认识也越发清晰。*SAUR*基因参与植物生长发育及次级代谢物的合成。例如，Peng等[18]通过对枇杷SAUR基因家族进行全基因组鉴定分析，确定了*EjSAUR22*基因与果实大小相关；拟南芥中过表达*SAUR8*、*SAUR10*和*SAUR16*可促使角果增长[19]，而*SAUR50*可通过抑制2C型蛋白磷酸酶D亚类1（PP2C-D1，protein phosphatase 2c d-clade 1）的蛋白磷酸酶活性进而促进细胞生长[20]；拟南芥中异位表达甜樱桃*PavSAUR55*会导致拟南芥根伸长及花瓣延迟脱落[21]；*OsSAUR39*正调控水稻中花青素的积累[22]；龙眼*DlSAUR63*和*DlSAUR64*通过响应赤霉素（GA3，gibberellins）、水杨酸（SA，salicylic acid）、茉莉酸甲

酯(MeJA, methyl jasmonate)等激素信号而在龙眼体胚发生早期发挥功能[23]。除了在植物生长发育及次级代谢物合成方面的功能,*SAUR*基因还在植物应对干旱、盐等非生物胁迫方面发挥着重要的调控能力。如拟南芥*AtSAUR32*、*AtSAUR41*及花生*AhSAUR3*/*79*、*AhSAUR30*/*96*等在干旱、盐胁迫及低温处理下表现出显著表达变化[24-26]。尽管对*SAUR*基因在许多植物中的功能有一定的了解,但有关*SAUR*基因在甘薯中的研究仍鲜有报道。目前,仅有Mathura等[27]对甘薯基因组进行分析,鉴定出200条*SAUR*基因家族成员序列。

本研究聚焦于甘薯中的*IbSAUR76*基因,旨在通过分析其在甘薯不同组织、不同生长发育阶段及盐和干旱胁迫下的表达特征,结合启动子克隆分析和酵母双杂交技术筛选并鉴定与IbSAUR76互作的蛋白,为进一步揭示*IbSAUR76*在甘薯逆境响应过程中的功能和作用机制奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料为甘薯品种栗子香,种植于山西农业大学试验田。采集生长60 d、75 d、90 d和105 d的栗子香块根,以及生长90 d的根、茎、叶、叶柄、茎尖,每个样品包含3个生物学重复,擦洗干净后进行液氮速冻,于−80℃冰箱保存,以备后续使用。

1.2 试验方法

1.2.1 *IbSAUR76*基因的克隆 利用Trizol试剂提取生长90 d栗子香块根的总RNA,随后采用All-In-One 5× RT MasterMix反转录试剂盒合成cDNA(abm公司),以其为模板扩增*IbSAUR76*的开放阅读框(ORF, open reading frame)序列,引物序列见表1。PCR反应体系为:cDNA 1 μL,正反向引物各2 μL,2× Taq PCR Mix 25 μL,ddH_2O 20 μL,共50 μL,Mix购自赛默飞世尔科技公司。反应条件为95℃预变性5 min;95℃变性30 s,60℃退火30 s,72℃延伸30 s,共35个循环;之后72℃后延伸5 min。利用Axygen DNA片段纯化试剂盒(苏州康宁生命科学公司)纯化回收,将其与pMD™19-T载体(TAKARA公司)在16℃下连接12 h,采用热激法将连接产物转化至DH5α感受态细胞,通过菌落PCR筛选得到阳性克隆,提质粒,送生工生物工程公司进行测序验证。

表1 本研究中引物序列

Table 1 Primer sequences in this study

引物名称 Primer name	引物序列(5′-3′) Primer sequences (5′-3′)	用途 Purpose
IbSAUR76_Sal I_F	GCGTCGACATGGCTAAAGGAGGGAAG	基因克隆
IbSAUR76_Xba I_R	GCTCTAGAACAGGCGTAAAAATCGA	
*IbSAUR76_Eco*R I_F	GGAATTCATGGCTAAAGGAGGGAAG	诱饵载体构建
IbSAUR76_Pst I_R	AACTGCAGACAGGCGTAAAAATCGA	
*IbActin*_F	GACTACCATGTTCCCCGGTA	内参基因
*IbActin*_R	TTGTATGCCACGAGCATCTT	
*IbSAUR76*_F	CCCGGTGTACGTGGGAAAGT	实时荧光定量
*IbSAUR76*_R	CTCGTCCAAGGATTCCGGCT	
T7_F	TAATACGACTCACTATAGGGC	酵母阳性质粒鉴定
3′AD_R	AGATGGTGCACGATGCACAG	
Pro-*IbSAUR76*-F	TGAGGCGTGCTCTGAAATCT	启动子克隆
Pro-*IbSAUR76*-R	TGAAGAAATGAGGTTTGAGG	

1.2.2 IbSAUR76的亚细胞定位分析 将含有EGFP的pC1301-*IbSAUR76*融合表达载体和pC1301-35SN空载体采用液氮冻融法分别转化到农杆菌GV3101中,挑取阳性单克隆接种于25 mL含有卡那霉素和利福平的LB液体培养基中培养至OD_{600}为0.6,接着用25 mL悬浮液(10 mmol/L氯化镁,10 mmol/L 2-吗啉乙磺酸和100 μmol/L乙酰丁香酮)重悬菌体,室温静置4 h后注射至生长4周龄的烟草叶片中,先暗培养24 h,再正常培养48 h(光照16 h/黑暗8 h)后,使用激光共聚焦显微镜进行观察。

1.2.3　*IbSAUR76*在不同生长时期和组织部位的表达分析　利用Trizol试剂分别提取来自3株生长60 d、75 d、90 d和105 d栗子香甘薯苗的块根以及90 d茎、叶、叶柄、茎尖组织的总RNA并反转录为cDNA，且所有样本包含3个生物学重复。以*IbActin*为内参基因（引物序列见表1），通过qRT-PCR分析*IbSAUR76*基因在这些样本中的表达量，体系和程序参照BlasTaq™ 2× qPCR MasterMix试剂盒说明书（abm公司）。所有试验均进行3次技术重复，采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算相对表达量。

1.2.4　*IbSAUR76*在盐和干旱胁迫下的表达分析　从田间剪取生长60 d，长度约10 cm的栗子香枝条，置于1/2霍格兰营养液中进行培养（25℃/16 h光照和22℃/8 h黑暗），培育2周待生长状态一致，将其分为两组，一组置于添加30 % PEG6000的1/2霍格兰营养液中，另一组置于含有200 mmol/L NaCl的1/2霍格兰营养液中，分别进行干旱胁迫和盐胁迫处理。以0 h为对照，分别在处理后的1 h、3 h、6 h、12 h、24 h采集样本，且所有处理均设置3次生物重复。采集的样本在液氮中速冻备用，提取所有样本的RNA并反转录为cDNA。运用qRT-PCR方法分析*IbSAUR76*基因在PEG和NaCl处理（0 h、1 h、3 h、6 h、12 h、24 h）下栗子香叶片中的表达模式。所有试验均进行3次技术重复，采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算相对表达量。

1.2.5　*IbSAUR76*启动子的克隆及分析　*IbSAUR76*启动子序列（*IbSAUR76*基因上游2000 bp的DNA序列）提取自甘薯参考基因组数据库（https://sweetpotato.uga.edu/）。根据所提取序列设计*IbSAUR76*启动子序列的扩增引物（表1），将*IbSAUR76*启动子扩增后的产物纯化、回收后连接至pMD19™-T载体（扩增体系和程序参照1.2.1），转化DH5α，提取质粒后测序。通过PlantCARE（http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/）分析启动子的顺式作用元件。

1.2.6　*IbSAUR76*基因诱饵载体的构建　以1.2.1中的阳性质粒为模板，用*IbSAUR76_Eco*R I_F和*IbSAUR76_Pst* I_R为引物进行PCR扩增（引物序列见表1，体系和程序参照1.2.1）。将PCR回收产物和空载体pGBKT7质粒双酶切后连接转化至DH5α，挑取阳性菌落，提取质粒后进行PCR鉴定和*Eco*R I和*Pst* I双酶切重组验证。将pGBKT7-*IbSAUR76*重组质粒转入Y2HGold感受态中，培养2~3 d后，挑3~6个单克隆，分别接种到3 mL SD/-Trp液体培养基中，30℃、220 r/min过夜培养，选择阳性菌液进行后续试验。

1.2.7　检测诱饵载体毒性及自激活　将空载体pGBKT7与重组质粒pGBKT7-*IbSAUR76*分别转入Y2HGold酵母感受态中，涂布于SD/-Trp培养基，30℃倒置培养2~3 d，根据酵母菌落的生长状态分析诱饵载体是否具有毒性。将组合一（阳性对照：pGBKT7-53+pGADT7-T）、组合二（阴性对照：pGBKT7-Lam+pGADT7-T）和组合三（诱载体饵：pGBKT7-*IbSAUR76*+pGADT7）分别转入Y2HGold酵母菌株中，涂布DDO（SD/-Leu-Trp）和TDO/X（SD/-His-Leu-Trp+X-α-gal）酵母培养基，30℃倒置培养2~3 d，通过菌落生长情况判断诱饵蛋白是否具有自激活活性。

1.2.8　IbSAUR76互作蛋白的筛选、鉴定及功能分析　将Y2H［pGBKT7-*IbSAUR76*］菌株与甘薯酵母文库菌株共培养，30℃、35 r/min培养24 h，通过显微镜观察酵母结合子状况。随后将菌液涂布于DDO/X（SD/-Leu-Trp+X-α-gal）和TDO（SD/-His-Leu-Trp）培养基，30℃倒置培养3~7 d。挑取DDO/X培养基上变蓝和TDO培养基上生长正常的酵母菌落接种至QDO/X（SD/-His-Leu-Trp-Ade+X-α-gal）培养基上进行复筛，最终得到的蓝色菌落，即为候选互作蛋白阳性菌株。

提取复筛所得阳性克隆的酵母质粒，将其转化至DH5α感受态细胞。挑取单菌落，在含50 mg/mL氨苄的LB液体培养基中过夜培养，提取质粒，用引物T7_F和3′AD_R检测条带大小（引物序列见表1）。选择有条带的质粒测序，将测序所得序列在NCBI网站（https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastn&PAGE_TYPE=BlastSearch&LINK_LOC=blasthome）进行比对，获取候选基因注释。

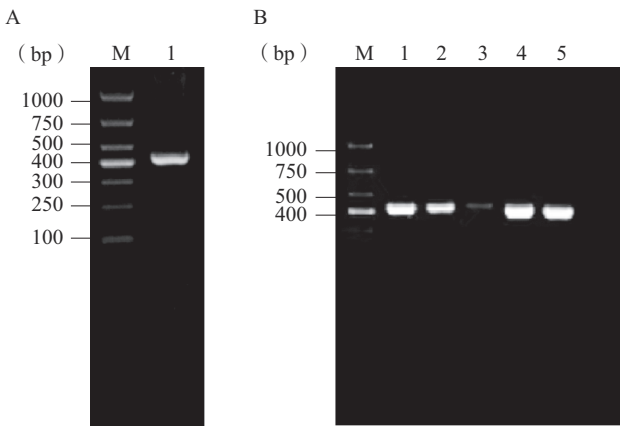
1.2.9　互作蛋白的回转验证　将筛选得到的质粒分别与诱饵载体pGBKT7-*IbSAUR76*质粒共转至Y2HGold感受态，随后将转化菌液以及阴性、阳性对照菌液进行10倍、100倍、1000倍梯度稀释后，分别点板于DDO和QDO/X平板，30℃倒置培养2~3 d后观察菌落生长状况。

2　结果与分析

2.1　*IbSAUR76*基因的克隆

PCR扩增获得*IbSAUR76*基因的ORF，测序验证其长度为408 bp，与预期目标片段大小一致

（图1A）。后续通过菌液PCR筛选阳性克隆，结果显示第2、4、5号菌落的泳道中存在符合预期大小的条带（图1B）。



A：*IbSAUR76*基因ORF序列的扩增，1：*IbSAUR76*基因的PCR产物；B：菌液PCR鉴定，1：阳性对照，2~5：*IbSAUR76*菌液PCR产物；M：DL1000

A: ORF sequence of the *IbSAUR76* gene, 1: PCR product of the *IbSAUR76* gene; B: PCR identification of the pC1301-*IbSAUR76* bacterial solution, 1: Positive control, 2-5: PCR product of *IbSAUR76* bacterial solution

图1 *IbSAUR76*基因的克隆

Fig. 1 Cloning of the *IbSAUR76* gene

2.2 IbSAUR76蛋白定位

为了分析IbSAUR76蛋白的定位情况，将重组质粒pC1301-*IbSAUR76*和pC1301-35SN空载质粒转化农杆菌后，通过烟草瞬时侵染，在激光共聚焦显微镜下观察荧光分布情况，结果表明，注射35S::GFP载体（pC1301-35SN空载体质粒）的烟草细胞内广泛存在绿色荧光，注射35S::*IbSAUR76*::GFP载体（pC1301-*IbSAUR76*重组质粒）的烟草细胞在细胞核和细胞膜的位置显示绿色荧光（图2），表明IbSAUR76蛋白定位在细胞核和细胞膜中。

2.3 *IbSAUR76*基因在甘薯不同组织及不同发育时期的表达分析

为解析*IbSAUR76*在甘薯中的功能，首先对其在甘薯不同组织中的表达进行分析。结果表明，*IbSAUR76*基因在甘薯根、茎、叶、叶柄和茎尖中均有表达，在茎尖中的表达量最高（图3A），而茎尖是分生组织最为活跃的区域，预测*IbSAUR76*基因在细胞分裂过程中发挥作用。此外，本研究分析了*IbSAUR76*基因在块根不同发育时期的表达量，发现其表达量在甘薯块根膨大期（90 d）时达到峰值（图3B），推测*IbSAUR76*可能通过调控细胞膨压或者细胞壁松弛来促进细胞膨大与块根形态建成。

2.4 *IbSAUR76*启动子的克隆及分析

为进一步分析*IbSAUR76*基因可能参与的生物学过程，通过PCR扩增获得*IbSAUR76*基因上游约2000 bp的目标条带（图4），顺式作用元件分析表明，*IbSAUR76*启动子中主要包含光信号（如G-box）、激素（如ABRE）及胁迫响应（如MYB结合位点）等调控元件（表2），预测*IbSAUR76*基因可能参与调控甘薯中激素响应和逆境胁迫应答等生物学过程。

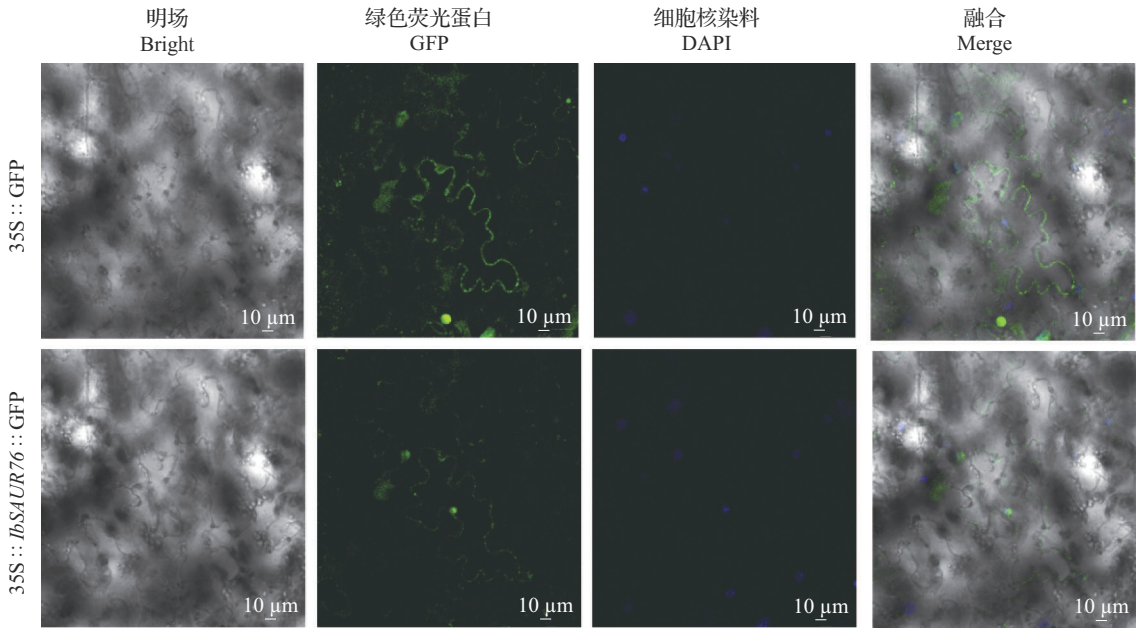
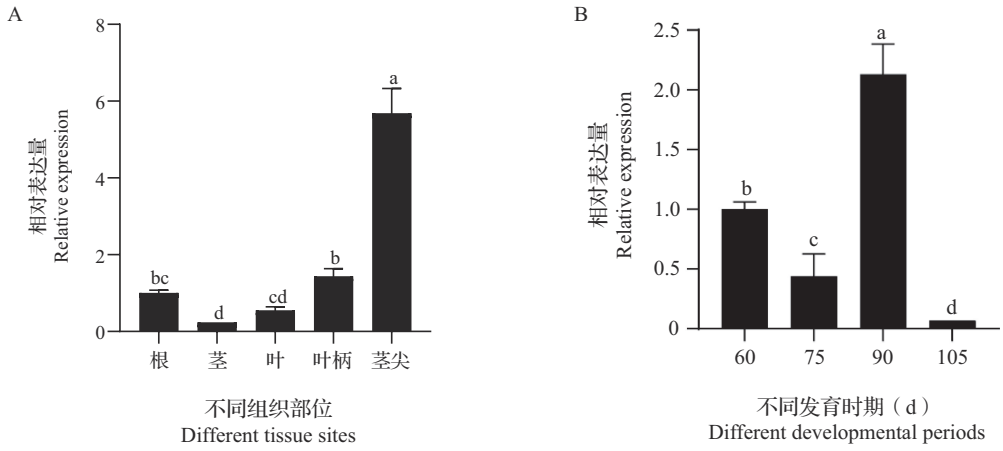


图2 IbSAUR76蛋白在烟草中的亚细胞定位

Fig. 2 Subcellular localization of IbSAUR76 protein in tobacco

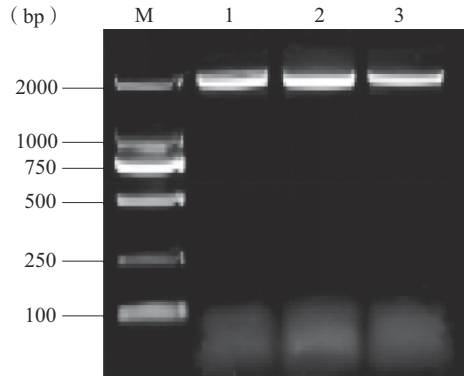


不同小写字母表示在P<0.05水平差异显著；下同

Different lowercase letters indicate significant differences at the $P < 0.05$ level; The same as below

图3　*IbSAUR76*在不同组织（A）和不同发育时期（B）的表达分析

Fig. 3　Analysis of the expression properties of *IbSAUR76* in different tissues (A) and different developmental stages (B) of sweetpotato



1~3：*IbSAUR76*启动子的PCR产物，M：DL2000

1-3: PCR product of the *IbSAUR76* promoter

图4　*IbSAUR76*启动子序列的扩增

Fig. 4　Amplification of the promoter sequence of the *IbSAUR76*

表2　*IbSAUR76*启动子序列的顺式作用元件分析

Table 2　*Cis*-element in the sequence of *IbSAUR76* promoter

元件名 Element	序列 Sequence	功能 Function	数量 Number
WRE3	CCACCT	伤口响应元件	1
WUN-motif	AAATTTCTT	损伤响应元件	2
STRE	AGGGG	应激响应元件	6
box S	AGCCACC	响应发育与环境	1
ERE	ATTTCATA	乙烯响应元件	1
FP56	TCCCCATTTTACCCCT	植物基因调控元件	1
TCA-element	CCATCTTTTT	参与水杨酸反应性的顺式作用元件	2
TGACG-motif	TGACG	参与MeJA响应性的顺式作用调节元件	1
ABRE	ACGTG	参与脱落酸反应性的顺式作用元件	1

表2（续）

元件名 Element	序列 Sequence	功能 Function	数量 Number
MRE	AACCTAA	金属响应元件	1
Box 4	ATTAAT	参与光响应性的保守DNA模块的一部分	3
G-box	CACGTC	参与光反应性的顺式作用调节元件	1
MYB	TAACCA/TAACTG	MYB转录因子的结合位点	9
MBS	CAACTG	参与干旱诱导的MYB结合位点	1
W box	TTGACC	WRKY结合位点	2
as-1	TGACG	TGA结合位点	1
MYC	CATTTG	MYC转录因子结合位点	4

2.5 干旱和盐胁迫诱导甘薯*IbSAUR76*的表达

为了探究*IbSAUR76*基因在甘薯逆境胁迫中的功能，分析了*IbSAUR76*基因在盐（200 mmol/L NaCl）和干旱（30% PEG6000）胁迫下的表达水平。结果显示，*IbSAUR76*基因在两种胁迫下的表达量均显著上调，且在24 h时达到峰值，分别为对照（0 h）的5.7倍和34.9倍（图5）。

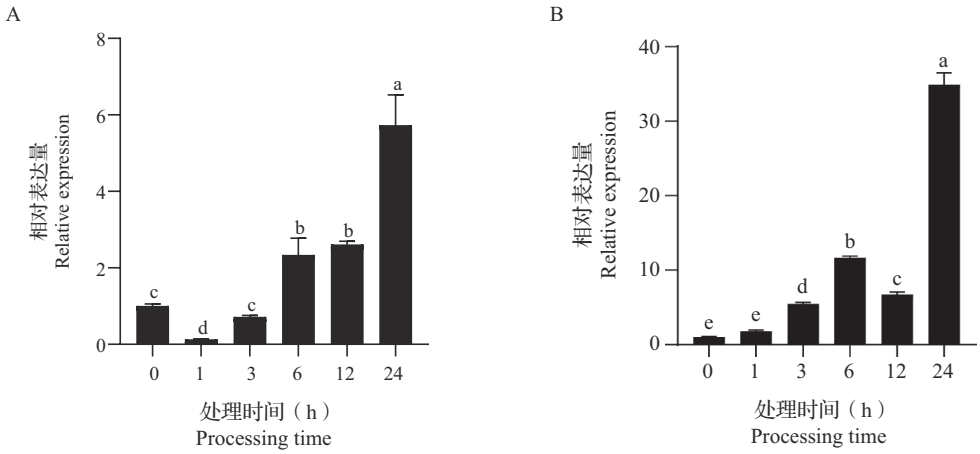


图5 *IbSAUR76*在盐胁迫（A）和干旱胁迫（B）下的表达分析

Fig. 5 *IbSAUR76* expression under salt (A) and drought (B) of sweetpotato

2.6 *IbSAUR76*诱饵载体的构建

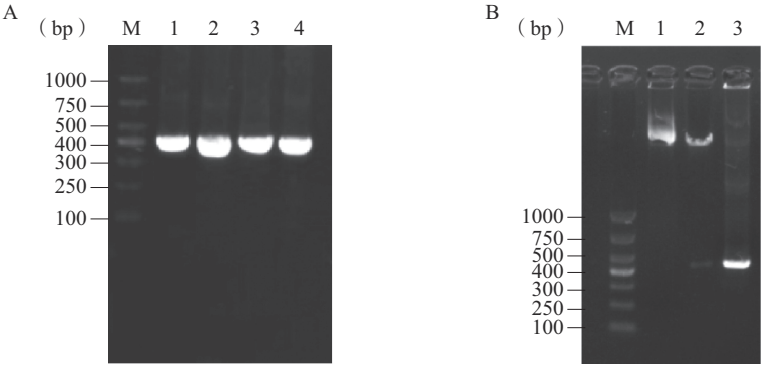
重组质粒pGBKT7-*IbSAUR76*经PCR验证显示条带单一，大小为408 bp（图6A），且双酶切（*Eco*R I/*Pst* I）产物与目的片段大小一致（图6B），表明诱饵载体构建成功。之后将诱饵载体转化至Y2HGold酵母感受态中，挑选阳性菌株进行后续实验。

2.7 诱饵载体的毒性和自激活检测

为检测诱饵载体的毒性和自激活效应，将pGBKT7-*IbSAUR76*菌株和空载体pGBKT7菌株分别涂布于SD/-Trp平板上培养。结果显示，两个酵母菌株均能在SD/-Trp平板上正常生长，且菌落大小和数目无明显差别（图7），说明诱饵载体表达的融合蛋白对酵母细胞没有毒性。将阳性对照质粒（pGBKT7-53+pGADT7-T）、阴性对照质粒（pGBKT7-Lam+pGADT7-T）以及诱饵载体（pGBKT7-*IbSAUR76*+pGADT7）的酵母菌株分别涂布于DDO和TDO/X酵母固体培养基。结果显示，转入诱饵载体的酵母菌株在DDO固体培养基上可以生长，而在TDO/X固体培养基上不生长，阳性对照在DDO和TDO/X培养基上均能正常生长且能在TDO/X培养基上变蓝，阴性对照在DDO上正常生长，而在TDO/X上不能生长（图8），表明（pGBKT7-*IbSAUR76*+pGADT7）质粒成功转入Y2HGold酵母感受态细胞，且诱饵载体无自激活活性。

2.8 IbSAUR76互作蛋白的筛选及功能注释

将pGBKT7-*IbSAUR76*酵母菌株与甘薯cDNA酵母文库菌株共培养，显微镜观察菌液中酵母结合子的细胞形态。结果显示，大部分酵母结合子细胞呈现“米奇头”或“三叶草”形状（图9A）。将上述菌液涂布于DDO/X、TDO培养基进行初筛，QDO/X培养基复筛，共获得27个候选基因（图9B）。

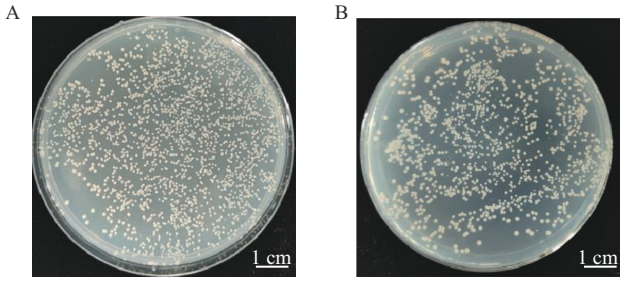


A：pGBKT7-*IbSAUR76*重组质粒的PCR鉴定，1~4：*IbSAUR76*的PCR产物；B：pGBKT7-*IbSAUR76*重组质粒的酶切验证，1：pGBKT7-*IbSAUR76*重组质粒，2：pGBKT7-*IbSAUR76*重组质粒双酶切产物，3：*IbSAUR76*的PCR产物；M：DL1000

A：PCR characterization of the pGBKT7-*IbSAUR76* recombinant plasmid，1-4：PCR product of *IbSAUR76*；B：Restriction enzyme digestion verification of pGBKT7-*IbSAUR76* recombinant vector，1：pGBKT7-*IbSAUR76* recombinant plasmid，2：Double enzyme digestion product of pGBKT7-*IbSAUR76* recombinant plasmid，3：PCR product of *IbSAUR76*

图6　pGBKT7-*IbSAUR76*诱饵载体的构建

Fig. 6　Construction of the pGBKT7-*IbSAUR76* bait vector

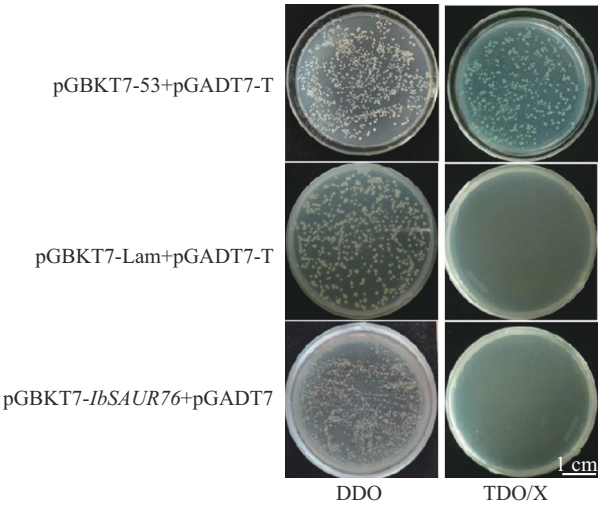


A：pGBKT7-*IbSAUR76*诱饵菌株涂布的生长情况；B：pGBKT7空载体菌株涂布的生长情况

A：Growth of the coated pGBKT7-*IbSAUR76* bait strain；B：Growth of the coated pGBKT7 empty vector strain

图7　pGBKT7-*IbSAUR76*诱饵载体毒性检测

Fig. 7　Toxicity detection of pGBKT7-*IbSAUR76* bait vector



阴性对照：pGBKT7-Lam+pGADT7-T；阳性对照：pGBKT7-53+pGADT7-T；诱饵载体：pGBKT7-*IbSAUR76*+pGADT7

Negative control：pGBKT7-Lam+pGADT7-T；Positive control：pGBKT7-53+pGADT7-T；Bait carrier：pGBKT7-*IbSAUR76*+pGADT7

图8　pGBKT7-*IbSAUR76*诱饵载体自激活检测

Fig. 8　Detection of self-activation of the bait vector pGBKT7-*IbSAUR76*

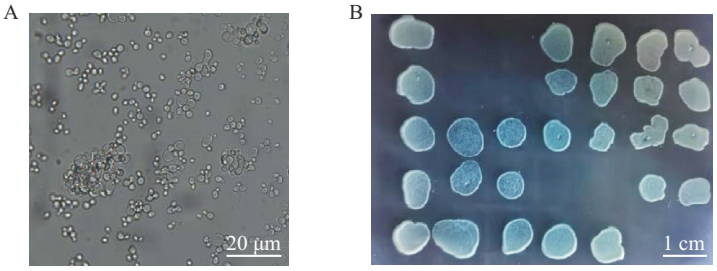


图9 酵母结合子细胞(A)及复筛结果(B)

Fig. 9 Yeast zygote cells (A) and the rescreening result (B)

提取筛选得到的27个互作酵母质粒,转入DH5α大肠感受态扩增并测序,经NCBI比对后,得到27个与植物生长发育、逆境响应、次生代谢以及细胞基础生命活动相关的蛋白(表3)。

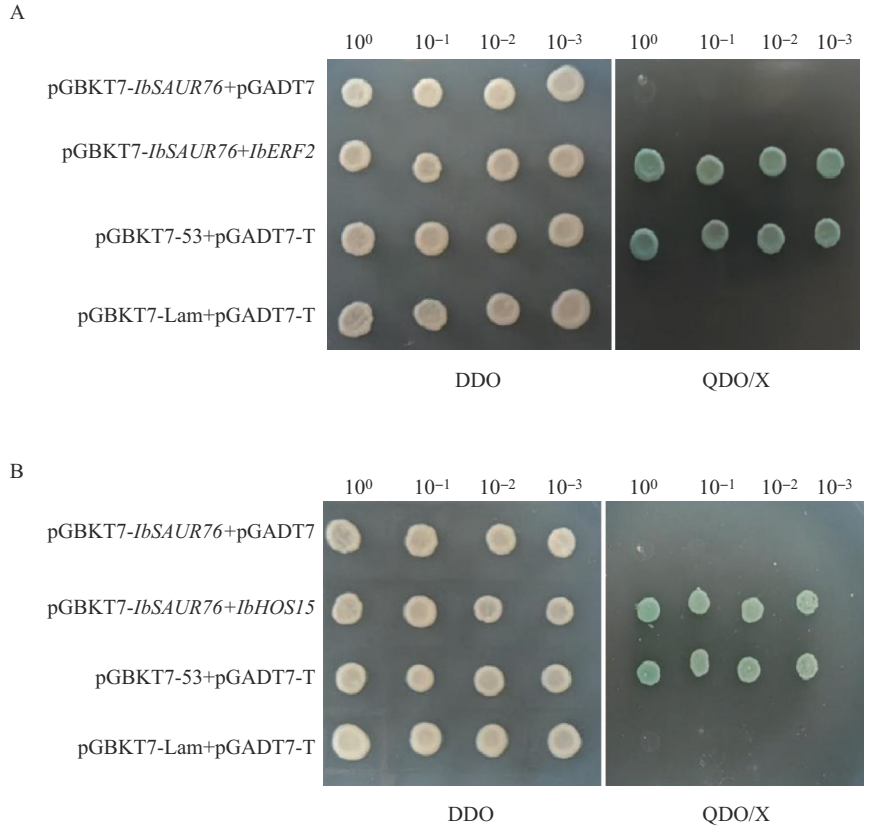
表3 IbSAUR76部分候选互作蛋白功能注释

Table 3 Functional annotation of partial candidate IbSAUR76-interacting proteins

编号 Number	蛋白名称 Protein name	蛋白登记号 Protein number	功能注释 Function annotations
1	烯醇化酶-1	XM_031263895.1	参与糖酵解途径
2	磷酸-2-脱氢-3-脱氧庚糖酸醛缩酶1	XM_031260192.1	参与糖代谢途径
3	磷酸葡萄糖变位酶	XM_031261241.1	参与糖代谢途径
4	NADH氧化还原酶1β亚复合物亚基9	XM_019331359.1	参与电子传递,维持能量代谢
5	E3泛素-蛋白连接酶RMA1H1蛋白	XM_031242048.1	调控蛋白质降解与信号转导
6	含锌指CCCH结构域蛋白55蛋白	XR_002054885.1	参与细胞内应激反应
7	钙调蛋白结合蛋白25	XM_031246399.1	参与钙信号传导及细胞生长、分化、运动
8	光依赖性短下胚轴10样蛋白	XM_031237619.1	调控植物光形态建成及生长发育
9	金属硫蛋白	MG001450.1	参与重金属解毒、维持微量元素平衡、抗氧化
10	乙烯响应因子2	XM_031258555.1	参与植物生长发育及响应胁迫反应
11	螺旋-环-螺旋4	KU744525.1	参与细胞分化及信号通路的过程
12	高表达渗透响应基因15蛋白	XM_031269105.1	调节渗透压保护细胞免受损伤
13	SCR1蛋白	XM_031265932.1	参与植物生长发育及响应胁迫反应
14	泛素-结合酶E2 28酶	XM_031257686.1	调控蛋白质稳态
15	锰超氧化物歧化酶	L77078.1	清除超氧阴离子,维持细胞代谢与生存
16	谷氧还蛋白-C9	XM_031235466.1	调控氧化还原反应保护细胞
17	NADH脱氢酶[泛醌]黄素蛋白2	XM_031265566.1	参与电子链传递,调节细胞内氧化还原平衡
18	类囊体膜蛋白slr0575蛋白	XM_031253362.1	参与膜结构稳定和光合电子传递
19	细胞色素c氧化酶亚基5b	XM_031234624.1	参与电子传递为细胞产生能量

2.9 互作蛋白的酵母双杂交验证

选择与非生物胁迫相关的2个候选蛋白乙烯响应因子(ERF2, ethylene-responsive transcription factor 2)和高表达渗透响应基因15蛋白(HOS15, high expression of osmotically responsive gene 15)进行酵母双杂交回转验证。结果显示,转化后的酵母细胞在DDO培养基上均能生长,说明诱饵和猎物质粒均成功转入酵母细胞,在TDO/X培养基上,阴性对照(pGBKT7-Lam+pGADT7-T)不能生长,而分别转化了含候选基因*IbERF2*和*IbHOS15*的酵母细胞均能生长且变蓝(图10),进一步验证了IbERF2和IbHOS15两个候选蛋白与IbSAUR76的互作关系。



A：pGBKT7-*IbSAUR76*与pGADT7-*IbERF2*质粒的回转验证结果；B：pGBKT7-*IbSAUR76*与pGADT7-*IbHOS15*质粒的回转验证结果；阳性对照：pGBKT7-53+pGADT7-T；阴性对照：pGBKT7-Lam+pGADT7-T、pGBKT7-*IbSAUR76*+pGADT7

A: Results of rotation verification of pGBKT7-*IbSAUR76* and pGADT7-*IbERF2* plasmids; B: Results of rotation verification of pGBKT7-*IbSAUR76* and pGADT7-*IbHOS15* plasmids; Positive control: pGBKT7-53+pGADT7-T; Negative control: pGBKT7-Lam+pGADT7-T, pGBKT7-*IbSAUR76*+pGADT7

图10　IbSAUR76与IbERF2和IbHOS15的酵母双杂交验证

Fig. 10　Yeast two-hybrid validation of IbSAUR76 with IbERF2 and IbHOS15

3　讨论

甘薯作为一种重要的粮食和经济作物，因适应性强、营养丰富而在农业生产中占据重要地位。在长期的自然选择和人工培育过程中，甘薯积累了大量的抗逆基因，*IbBBX24*通过激活过氧化物酶基因*IbPRX17*的表达来清除活性氧从而增强甘薯对盐和干旱胁迫的耐受性[7]；*IbC3H18*通过调控脱落酸（ABA，abscisic acid）信号传导、光合作用和离子传输等途径提高甘薯的抗逆性[28]；在烟草过表达*IbMYB330*可通过提高超氧化物歧化酶（SOD，superoxide dismutase）、过氧化物酶（POD，peroxidase）、抗坏血酸（APX，ascorbate peroxidase）等胁迫相关基因的转录水平和活性来提高其抗盐和抗旱能力[29]；在拟南芥中过表达*IbMYB48*可通过上调与ABA生物合成、茉莉酸（JA，jasmonic acid）生物合成等相关基因的表达来增强其耐盐性和耐旱性[30]，这些抗逆基因的存在为甘薯在复杂多变的环境中生存和发展提供了重要的遗传基础，也为进一步开展甘薯的抗逆性研究以及品种改良提供了关键的基因资源。早期响应生长素*SAUR*基因家族大部分成员是植物生长素信号转导途径的关键调节因子，同时在调控植物的生长发育及非生物胁迫过程中同样发挥着重要作用。例如，SAUR15与细胞表面受体样激酶油菜素内酯不敏感1（BRI1，brassinosteroid-insensitive 1）相互作用促进了拟南芥的器官发育[31]，Zhang等[32]利用RT-qPCR分析发现，*AcoSAUR12/24/50*在盐和干旱处理应答中发挥着积极作用。然而，目前有关甘薯中*SAUR*基因功能的研究还很少。

本研究以甘薯*IbSAUR76*基因为研究对象，在分析*IbSAUR76*的组织特异性时发现*IbSAUR76*在茎尖中含量最高。茎尖作为分生组织最为活跃的区域，其内生长素含量相对较高，鉴于*SAUR*基因的表达通常受生长素诱导而上调，推测在甘薯茎尖分生组织中，高浓度的生长素可能诱导*IbSAUR76*基因的表达，从而来满足细胞快速分裂、伸长和分化

的需求。而在不同发育时间的表达分析中发现*IbSAUR76*在90 d的甘薯块根中的表达量最高，暗示其可能在甘薯块根的生长发育、水分养分吸收以及与土壤环境的相互作用中扮演重要角色。为进一步探究*IbSAUR76*的功能，克隆并分析了其启动子序列，发现*IbSAUR76*启动子中包含多个逆境和激素响应元件，表明*IbSAUR76*可能与甘薯的生长发育和逆境胁迫响应相关。胁迫试验发现，在PEG6000和NaCl处理下，*IbSAUR76*的表达量均增加，且均在24 h达到峰值，表明该基因在甘薯的抗逆性中发挥一定的作用。进而构建了*IbSAUR76*的诱饵载体并利用mating法从甘薯cDNA酵母文库中筛选到了27个与IbSAUR76相互作用的候选蛋白。这些互作蛋白涉及植物生长发育、逆境响应及细胞基础活动等多个方面，进一步丰富了我们对*IbSAUR76*基因功能的认识。

特别地，本研究注意到一些已被证实的与植物抗逆性相关的蛋白，如高表达渗透响应基因15蛋白（HOS15，high expression of osmotically responsive gene 15）、乙烯响应因子2（ERF2，ethylene-responsive transcription factor 2）、E3泛素-蛋白连接酶RMA1H1蛋白（Rma1H1，E3 ubiquitin-protein ligase RMA1H1）、SCR1（Scarecrow protein 1）、谷氧还蛋白-C9（GRX-C9，glutaredoxin-C9）和锰超氧化物歧化酶（MnSOD，manganese superoxide dismutase）等。HOS15在植物中是一个多功能的蛋白，目前其功能研究主要集中于拟南芥。研究表明，拟南芥*HOS15*不仅通过抑制*GI*（*GIGANTEA*）基因表达调控开花时间[33-34]，还参与干旱[35]和低温胁迫[36]。然而，截止目前，尚未见有关甘薯中*IbHOS15*基因功能的研究。ERF作为一种乙烯响应因子，已有很多研究报道其参与果实的成熟、衰老及脱落等发育过程，同时也响应生物和非生物胁迫[37-40]。有关甘薯*IbERF2*的相关研究仅有一项，即Kim等[41]从甘薯悬浮培养细胞和脱水处理的纤维根的表达序列标签（EST，expressed sequence tags）文库中分离并鉴定了*IbERF1*和*IbEFR2*基因，它们响应盐和干旱等胁迫并能激活烟草叶片中防御基因的表达。Rma1H1通过抑制水通道蛋白的运输和蛋白酶体降解增强拟南芥的抗旱性[42]。SCARECOW、GRX-C9和MnSOD主要通过氧化还原稳态、清除细胞内活性氧自由基来保护细胞免受氧化损伤[43-45]。通过回转验证进一步表明IbSAUR76与IbERF2和IbHOS15互作，推断IbSAUR76可能通过与这些蛋白的相互作用，直接或间接参与植物对环境胁迫的响应，但是具体的调控机制还需要进一步研究。

此外还发现了一些与植物代谢相关的蛋白，如烯醇化酶-1（ENO1，enolase 1）、核苷二磷酸激酶1（NDPK1，nucleoside diphosphate kinase 1）和磷酸葡萄糖变位酶（PGM，phosphoglucomutase）等，这些蛋白在糖酵解、莽草酸合成及细胞周期调控等过程中发挥重要作用[46-48]，特别是PGM作为糖代谢途径的关键酶，可以间接影响植物对环境胁迫的响应[49]。

综上所述，这些研究结果不仅有助于深入解析*IbSAUR76*参与植物生长发育及逆境响应的分子调控网络与作用机制，还为培育甘薯抗逆新品种提供了理论基础和基因资源。未来将进一步探讨IbSAUR76与这些互作蛋白的具体作用机制，以及如何利用这些基因资源提高甘薯的抗逆性。同时也将继续挖掘甘薯中的其他抗逆基因，为甘薯的遗传改良和抗逆性育种提供新的思路和方法。

参考文献

[1] 叶欣. 因地制宜发展甘薯产业. 新农业，2023(24)：13-14
Ye X. Develop the sweet potato industry according to local conditions. New Agriculture，2023(24)：13-14

[2] 郭慧慧，潘祥华，蒋元斌，林丛发，徐绍翔. 甘薯耐盐性研究进展. 江苏农业科学，2024，52(8)：23-31
Guo H H，Pan X H，Jiang Y B，Ling C F，Xu S X. Research progress of salt tolerance of sweet potato. Jiangsu Agricultural Sciences，2024，52(8)：23-31

[3] Lee H，Kim H S. Isolation and physicochemical property of individual parenchyma cells from mealy sweet potato. Food Science and Biotechnology，2019，29(4)：521-529

[4] Wang A，Li R，Ren L，Gao X，Zhang Y，Ma Z，Ma D，Luo Y. A comparative metabolomics study of flavonoids in sweet potato with different flesh colors (*Ipomoea batatas* (L.) Lam). Food Chemistry，2018，260：124-134

[5] 陈锐. 甘薯活性成分的功能及提取方法研究进展. 中国食品工业，2023 (8)：90-92
Chen R. Progress on function and extraction methods of active ingredients of sweet potato. China Food Industry，2023 (8)：90-92

[6] 王欣，李强，曹清河，马代夫. 中国甘薯产业和种业发展现状与未来展望. 中国农业科学，2021，54(3)：483-492
Wang X，Li Q，Cao Q H，Ma D F. Current status and future prospective of sweetpotato production and seed industry in China. Scientia Agricultura of Sinica，2021，54(3)：483-492

[7] Zhang H，Wang Z，Li X，Gao X，Dai Z，Cui Y，Zhi Y，Liu Q，Zhai H，Gao S，Zhao N，He S. The *IbBBX24-IbTOE3-IbPRX17* module enhances abiotic stress tolerance by scavenging reactive oxygen species in sweet potato. New

Phytologist，2022，233(3)：1133-1152

[8] 季雨佳，赵琳. 植物生长素响应基因*SAUR*的功能及其在大豆中的研究进展. 大豆科技，2024(1)：32-38
Ji Y J，Zhao L. The function of plant auxin response gene *SAUR* and its research progress in soybean. Soybean Science Technology，2024 (1)：32-38

[9] Luo J，Zhou J J，Zhang J Z. *Aux/IAA* gene family in plants：molecular structure，regulation，and function. International Journal of Molecular Sciences，2018，19(1)：259

[10] Wang H，Tian C E，Duan J，Wu K. Research progresses on *GH3s*，one family of primary auxin-responsive genes. Plant Growth Regulation，2008，56：225-232

[11] 刘超逸，王宇航. 植物生长素响应基因*SAUR*研究进展. 中国农学通报，2024，40(18)：83-89
Liu C Y，Wang Y H. Plant auxin responsive gene *SAUR*：A review. China Agricultural Science Bulletin，2024，40 (18)：83-89

[12] McClur B A，Guilfoyle T. Characterization of a class of small auxin-inducible soybean polyadenylated RNAs. Plant Molecular Biology，1987，9(6)：611-623

[13] 朱宇斌，孔莹莹，王君晖. 植物生长素响应基因*SAUR*的研究进展. 生命科学，2014，26(4)：407-413
Zhu Y B，Kong Y Y，Wang J H. Research advances in auxin-responsive *SAUR* genes. Life Sciences，2014，26(4)：407-413

[14] Ma X，Dai S，Qin N，Zhu C，Qin J，Li J. Genome-wide identification and expression analysis of the *SAUR* gene family in foxtail millet (*Setaria italica* L.). BMC Plant Biology，2023，23(1)：31

[15] 翟含含，翟宇杰，田义，张叶，杨丽，温陟良，陈海江. 桃*SAUR*家族基因分析及*PpSAUR5*功能鉴定. 园艺学报，2023，50(1)：1-14
Zhai H H，Zhai Y J，Tian Y，Zhang Y，Yang L，Wen Z L，Chen H J. Genome-wide identification of peach *SAUR* gene family and characterization of *PpSAUR5* gene. Acta Horticulturae Sinica，2023，50(1)：1-14

[16] Chen Y，Ma X，Xue X，Liu M，Zhang X，Xiao X，Lai C，Zhang Z，Lai Z，Lin Y. Genome-wide analysis of the *SAUR* gene family and function exploration of *DlSAUR32* during early longan somatic embryogenesis. Plant Physiology and Biochemistry，2023，195：362-374

[17] Wang M，Manzoor M A，Wang X，Feng X，Zhao Y，He J，Cai Y. Comparative genomic analysis of *SAUR* gene family，cloning and functional characterization of two genes (*PbrSAUR13* and *PbrSAUR52*) in *Pyrus bretschneideri*. International Journal of Molecular Sciences，2022，23(13)：7054

[18] Peng Z，Li W，Gan X，Zhao C，Paudel D，Su W，Lv J，Lin S，Liu Z，Yang X. Genome-wide analysis of *SAUR* gene family identifies a candidate associated with fruit size in Loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.). International Journal of Molecular Sciences，2022，23(21)：13271

[19] van Mourik H，van Dijk A D J，Stortenbeker N，Angenent G C，Bemer M. Divergent regulation of Arabidopsis *SAUR* genes：A focus on the *SAUR10*-clade. BMC Plant Biology. 2017，17(1)：245

[20] Wang J，Sun N，Zhang F，Yu R，Chen H，Deng X W，Wei N. *SAUR17* and *SAUR50* differentially regulate PP2C-D1 during apical hook development and cotyledon opening in *Arabidopsis*. Plant Cell，2020，32(12)：3792-3811

[21] Hou Q D，Hong Y，Wen Z，Shang C Q，Li Z C，Cai X W，Qiao G，Wen X P. Molecular characterization of the *SAUR* gene family in sweet cherry and functional analysis of *PavSAUR55* in the process of abscission. Journal of Integrative Agriculture，2023，22(6)：1720-1739

[22] Kant S，Rothstein S. Auxin-responsive *SAUR39* gene modulates auxin level in rice. Plant Signaling & Behavior，2009，4(12)：1174-1175

[23] 傅卓然，李卓蕴，陈燕，张舒婷，赖钟雄，林玉玲. 龙眼体胚发生早期*SAUR63/64*基因克隆及表达分析. 西北植物学报，2022，42(12)：1991-2002
Fu Z R，Li Z Y，Chen Y，Zhang S T，Lai Z X，Lin Y L. Cloning and expression analysis of *SAUR63/64* during the early somatic embryogenesis of dimocarpus longan. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica，2022，42(12)：1991-2002

[24] He Y，Liu Y，Li M，Lamin-Samu A T，Yang D，Yu X，Izhar M，Jan I，Ali M，Lu G. The *Arabidopsis* SMALL AUXIN UP RNA32 protein regulates ABA-mediated responses to drought stress. Frontiers in Plant Science，2021，12：625493

[25] Qiu T，Qi M，Ding X，Zheng Y，Zhou T，Chen Y，Han N，Zhu M，Bian H，Wang J. The *SAUR41* subfamily of *SMALL AUXIN UP RNA* genes is abscisic acid inducible to modulate cell expansion and salt tolerance in *Arabidopsis thaliana* seedlings. Annals of Botany，2020，125(5)：805-819

[26] Liu Y，Xiao L，Chi J，Li R，Han Y，Cui F，Peng Z，Wan S，Li G. Genome-wide identification and expression of *SAUR* gene family in peanut (*Arachis hypogaea* L.) and functional identification of *AhSAUR3* in drought tolerance. BMC Plant Biology，2022，22(1)：178

[27] Mathura S R，Sutton F，Bowrin V. Genome-wide identification，characterization，and expression analysis of the sweet potato (*Ipomoea batatas* [L.] Lam.) ARF，Aux/IAA，GH3，and *SAUR* gene families. BMC Plant Biology，2023，23 (1)：622

[28] Zhang H，Gao X，Zhi Y，Li X，Zhang Q，Niu J，Wang J，Zhai H，Zhao N，Li J，Liu Q，He S. A non-tandem CCCH-type zinc-finger protein，IbC3H18，functions as a nuclear transcriptional activator and enhances abiotic stress tolerance in sweet potato. New Phytologist，2019，223(4)：1918-1936

[29] Wang C，Lei J，Jin X，Chai S，Jiao C，Yang X，Wang L. A sweet potato MYB transcription factor *IbMYB330* enhances tolerance to drought and salt stress in transgenic tobacco. Genes (Basel). 2024，15(6)：693

[30] Zhao H，Zhao H，Hu Y，Zhang S，He S，Zhang H，Zhao N，Liu Q，Gao S，Zhai H. Expression of the sweet potato MYB

transcription factor *IbMYB48* confers salt and drought tolerance in *Arabidopsis*. Genes (Basel), 2022, 13(10): 1883

[31] Li M, Liu C, Hepworth S R, Ma C, Li H, Li J, Wang S M, Yin H. SAUR15 interaction with BRI1 activates plasma membrane H^+-ATPase to promote organ development of *Arabidopsis*. Plant Physiologist, 2022, 189(4): 2454-2466

[32] Zhang Y, Ye T, She Z, Huang S, Wang L, Aslam M, Qin R, Wang X, Qin Y, Niu X. *Small Auxin Up RNA* (*SAUR*) gene family identification and functional genes exploration during the floral organ and fruit developmental stages in pineapple (*Ananas comosus* L.) and its response to salinity and drought stresses. International Journal of Biological Macromolecules, 2023, 237: 124061

[33] Ahn G, Park H J, Jeong S Y, Shin G I, Ji M G, Cha J Y, Kim J, Kim M G, Yun D J, Kim W Y. HOS15 represses flowering by promoting GIGANTEA degradation in response to low temperature in *Arabidopsis*. Plant Communication, 2023, 4(4): 100570

[34] Park H J, Baek D, Cha J Y, Liao X, Kang S H, McClung C R, Lee S Y, Yun D J, Kim W Y. HOS15 interacts with the histone deacetylase HDA9 and the evening complex to epigenetically regulate the floral activator GIGANTEA. Plant Cell, 2019, 31(1): 37-51

[35] Ali A, Yun D J. HOS15: A missing link that fine-tunes ABA signaling and drought tolerance in *Arabidopsis*. Plant Signaling & Behavior, 2020, 15(7): 1770964

[36] Lim C J, Park J, Shen M, Park H J, Cheong M S, Park K S, Baek D, Bae M J, Ali A, Jan M, Lee S Y, Lee B H, Kim W Y, Pardo J M, Yun D J. The histone-modifying complex PWR/HOS15/HD2C epigenetically regulates cold tolerance. Plant Physiology and Biochemistry, 2020, 184(2): 1097-1111

[37] Yang H, Sun Y, Wang H, Zhao T, Xu X, Jiang J, Li J. Genome-wide identification and functional analysis of the *ERF2* gene family in response to disease resistance against *Stemphylium lycopersici* in tomato. BMC Plant Biology, 2021, 21(1): 72

[38] 许世达, 耿兴敏, 王露露. 植物乙烯响应因子(ERF)的结构、功能及表达调控研究进展. 浙江农林大学学报, 2021, 38(3): 624-633
Xu S D, Geng X M, Wang L L. A review of the structure, function and expression regulation ofethylene response factors (ERF) in plant. Journal of Zhejiang Agriculture & Forestry University, 2021, 38(3): 624-633

[39] Li S J, Xie X L, Liu S C, Chen K S, Yin X R. Auto-and mutual-regulation between two *CitERFs* contribute to ethylene-induced citrus fruit degreening. Food Chemistry, 2019, 299: 125163

[40] Koyama T, Sato F. The function of *ETHYLENE RESPONSE FACTOR* genes in the light-induced anthocyanin production of *Arabidopsis thaliana* leaves. Plant Biotechnology, 2018, 35(1): 87-91

[41] Kim Y H, Jeong J C, Park S, Lee H S, Kwak S S. Molecular characterization of two ethylene response factor genes in sweet potato that respond to stress and activate the expression of defense genes in tobacco leaves. Journal of Plant Physiology, 2012, 169(11): 1112-1120

[42] Lee H K, Cho S K, Son O, Xu Z, Hwang I, Kim W T. Drought stress-induced Rma1H1, a RING membrane-anchor E3 ubiquitin ligase homolog, regulates aquaporin levels via ubiquitination in transgenic Arabidopsis plants. Plant Cell, 2009, 21(2): 622-641

[43] Fu J, Zhang X, Liu J, Gao X, Bai J, Hao Y, Cui H. A mechanism coordinating root elongation, endodermal differentiation, redox homeostasis and stress response. Plant Journal, 2021, 107(4): 1029-1039

[44] Cassier-Chauvat C, Marceau F, Farci S, Ouchane S, Chauvat F. The glutathione system: A journey from cyanobacteria to higher eukaryotes. Antioxidants (Basel), 2023, 12(6): 1199

[45] Candas D, Li J J. MnSOD in oxidative stress response-potential regulation via mitochondrial protein influx. Antioxidants and Redox Signaling, 2014, 20(10): 1599-1617

[46] Andriotis V M, Kruger N J, Pike M J, Smith A M. Plastidial glycolysis in developing Arabidopsis embryos. New Phytologist, 2010, 185(3): 649-662

[47] Herrmann K M. The shikimate pathway as an entry to aromatic secondary metabolism. Plant Physiology, 1995, 107(1): 7-12

[48] Prabu G, Thirugnanasambantham K, Mandal A K. Structural and docking studies of a nucleoside diphosphate kinase 1 (CsNDPK1) from tea [*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2012, 168(7): 1907-1916

[49] 李丽杰, 胥佳静, 吴雯霏, 陈鑫, 朱林慧, 徐增富, 倪军. 拟南芥葡萄糖磷酸变位酶(*PGM*)基因调控植株耐盐性的功能研究. 基因组学与应用生物学, 2023, 42(5): 471-480
Li L J, Xu J J, Wu W F, Chen X, Zhu L H, Xu Z F, Ni J. Functional study on the regulation of salt tolerance by *gl ucose phosphate mutase* (*PGM*) gene in *Arabidopsis thaliana*. Genomics and Applied Biology, 2023, 42(5): 471-480