

向日葵 *Trihelix* 转录因子家族鉴定及表达分析

张 曼¹ 董海潇² 田 娟¹ 冯 博¹ 于学鹏¹ 王祉诺¹
张 雷¹ 巴桑平措¹ 李雪英¹ 李慧英¹

(¹ 吉林省白城市农业科学院, 137000, 吉林白城; ² 吉林大学植物科学学院, 130062, 吉林长春)

摘 要 *Trihelix* 基因家族在植物生长发育和逆境胁迫响应中具有重要作用, 但目前缺乏针对向日葵 (*Helianthus annuus* L.) *trihelix* 家族在全基因组水平的系统鉴定与表达特征研究。通过生物信息学方法, 对向日葵 *trihelix* 基因家族进行全基因组鉴定, 并对其染色体定位、基因复制、系统进化、基因结构、保守基序和胁迫条件下的表达模式进行分析。结果表明, 在向日葵基因组中共鉴定到 46 个 *trihelix* 家族成员, 它们不均匀分布在 15 条染色体上。其中有 3 对串联复制基因和 6 对片段复制基因。系统进化分析分为 5 个亚家族, 且同一亚家族的家族成员具有相似的基因结构和保守基序。36 个向日葵 *trihelix* 基因在根、茎、叶、花和芽中具有表达活性。基于转录组测序 (RNA-seq) 数据分析, 29 个 *trihelix* 基因显著响应向日葵列当寄生胁迫。

关键词 向日葵; *Trihelix* 基因家族; 生物信息学; 列当; 表达模式

向日葵列当 (*Orobanche cumana* Wallr.) 是一种寄生在向日葵根系的杂草, 会对向日葵生产造成严重危害。目前, 在我国内蒙古向日葵主产区 (临河、乌拉特前旗和西小召), 列当生理小种的最高级别已达到 F 级^[1]。因此, 利用转基因技术改良向日葵对列当的抗性, 对于选育抗逆性强的向日葵新品种以及提高产量具有重要意义^[2]。*Trihelix* 家族成员在植物应对各种逆境胁迫中发挥重要调控作用。然而, 目前关于其在列当抗性调控机制中的功能研究鲜见报道。

Trihelix 基因家族是植物特有的转录因子家族, 于 20 世纪 80 年代首次从豌豆中分离出来^[3]。该家族成员均含有 3 个连续的 α 螺旋结构域, 该结构域能特异性地与光响应元件 (GT 元件) 的核心序列 5'-GTGTGGTTAATATG-3' 结合, 因而该家族也被称为 GT 因子家族^[4]。已有研究^[5-6]表明, *trihelix* 家族基因在植物生长发育和逆境响应等过程中具有复杂且多样的调控功能。在拟南芥中, *trihelix* 转录因子 *PETAL LOSS* (*PTL*) 的突变会导致萼片扭曲、边缘融合, 并影响花瓣的大小、形状和数量^[5]。玉米 *trihelix* 基因 *ZmGT-3b* 敲除后, 增强了玉米抗稻瘟病的能力, 同时抗旱性显著提高, 但抑制了幼苗的生长, 光合活性也显著降低^[6]。

本研究以向日葵全基因组数据为基础, 系统开

展了 *trihelix* 基因家族的进化关系分析、染色体定位、基因复制、共线性以及组织表达模式分析, 并系统解析了 *trihelix* 基因在列当接种胁迫下的表达模式。研究结果为向日葵 *trihelix* 基因的功能解析及抗逆遗传育种奠定理论基础, 同时也对其他作物寄生杂草的防控研究具有重要的参考价值。

1 材料与方法

1.1 试验材料与试验设计

以本课题组选育的高感列当 F-小种的向日葵自交系 09108A 为试验材料, 向日葵种子用 75% 乙醇消毒 3 min, 用无菌水冲洗 5 次。消毒完成后的种子放置在无菌滤纸上。将包裹种子的滤纸竖起来, 放入装有无菌水 (深约 2 cm) 的塑料杯中。将塑料杯置于光照培养箱中进行培养, 温度为 24 °C。先进行 1 d 暗培养, 随后转为光照培养, 光周期为 14 h/10 h (光照/黑暗), 光照强度为 8000 lx, 温度不变。培养过程中, 定期向塑料杯中添加无菌水, 保持 2 cm 深度。待主根长度超过 10 cm 时, 在根部附近均匀撒布 0.01 g 列当种子, 并在接种后的不同时间点 (0、4、16、24、48 和 72 h) 采集根系样品, 迅速放入液氮中速冻。试验设置 3 次重复。此外, 还对向日葵自交系 09108A 开展了组织特异性表达模式分析: 2024 年 5 月 30 日, 将 09108A 种植于

作者简介: 张曼, 主要从事作物遗传育种研究, E-mail: 18844696509@163.com

李慧英为通信作者, 主要从事向日葵遗传育种研究, E-mail: leahuiy@163.com; 李雪英为共同通信作者, 主要从事作物遗传育种研究, E-mail: lixueying73@163.com

基金项目: 国家特色油料产业技术体系 (CARS-14)

收稿日期: 2025-05-07; 修回日期: 2025-08-19; 网络出版日期: 2025-09-29

白城市农业科学院院内的试验基地；分别采集其六叶期的根、茎、叶、芽以及开花期的管状花等样品，保存于-80℃冰箱中，用于后续 qRT-PCR 试验。

1.2 向日葵 *trihelix* 家族成员的鉴定和理化性质分析

从 NCBI 数据库 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCF_002127325.2/) 获取向日葵基因组数据和 gff 注释文件；在 The Arabidopsis Information Resource 数据库网站 (<https://www.arabidopsis.org/>) 和 Phytozome 网站 (<https://phytozome-next.jgi.doe.gov/>) 分别下载拟南芥和水稻的 *trihelix* 蛋白序列。

采用 2 种方法鉴定向日葵 *trihelix* 家族成员：

(1) 从 Pfam 数据库 (<http://pfam.xfam.org/>) 下载 *trihelix* 基因家族的隐马尔科夫 (HMM) 模型 (PF13837) 文件，使用 HMMsearch 软件进行检索，筛选候选序列；(2) 利用拟南芥 *trihelix* 蛋白序列在向日葵数据库中进行 BLASTP 比对，E 值 $\leq 1 \times 10^{-5}$ 。将筛选获得的蛋白序列分别上传至 Pfam 网站和 NCBI CDD 网站 [7]，确认 Myb/SANT-like DNA-binding 结构域的有无。通过手动剔除缺少完整结构域的序列，从而获得最终的候选蛋白作为后续研究分析使用。

通过 ExPASy 网站 (<https://www.expasy.org/>) 分析理化特性。通过 Plant-mPLoc 网站 (<http://www.csbio.sjtu.edu.cn/bioinf/plant-multi/#>) 预测亚细胞定位 [8]。

1.3 向日葵 *trihelix* 基因家族系统进化树的构建、基因结构和保守基序分析

利用 MEGA v7.0 软件对蛋白序列进行 ClustalW 多序列比对。采用邻接法构建系统进化树，并将进化树文件保存为 Newick 格式。通过 iTOL 网站 (<https://itol.embl.de/>) 美化进化树 [9]。使用 GSDS 2.0 (<https://gsds.gao-lab.org/index.php>) 对

trihelix 基因结构进行可视化。利用 MEME 在线网站 (<https://meme-suite.org/meme/>) 预测保守基序。使用 Jalview 2.10.4b1 软件对蛋白序列进行比对，找出结构域内的保守区域和位点，并生成氨基酸序列比对图片。

1.4 向日葵 *trihelix* 基因家族染色体定位和共线性分析

将向日葵 *trihelix* 蛋白序列进行 BlastP 比对，筛选复制基因，并用 Circos 软件绘制共线关系图。使用 TBtools v2.142 软件 [10] 对向日葵与拟南芥、向日葵与水稻 *trihelix* 家族基因进行共线性分析。

1.5 组织特异性和列当胁迫下表达模式分析

向日葵在组织中的转录组数据来自 GEO 数据库，登录号为 GSE221055；2 份列当抗性差异明显的向日葵材料 (SQ25 和 H22399) 在列当接种胁迫处理后的表达量数据由新疆农业科学院经济作物研究所雷中华老师提供，相关转录组数据见参考文献 [11]。使用 TBtools v2.142 软件 [10] 绘制基因表达水平热图，并使用 DEseq2 软件 [12] 进行差异表达基因分析，筛选条件为 Fold change ≥ 2 且 FDR ≤ 0.05 。

1.6 荧光定量 PCR 检测

利用超纯 RNA 提取试剂盒 (CW6581S, 江苏康为世纪生物科技股份有限公司) 进行总 RNA 的提取。使用 UEIris II RT-PCR System for First-Strand cDNA Synthesis 试剂盒 (R2028, 苏州探研生物科技有限公司) 合成 cDNA。吸取 2 μ L cDNA 溶液作为模板，进行荧光定量 PCR 试验。PCR 反应体系：2 $\times$ SYBR Green qPCR Master Mix 5 μ L，上、下游引物 (10 μ mol/L) 各 0.5 μ L，cDNA 2 μ L，去 RNA 酶的超纯水 2.0 μ L。反应程序：预变性 95℃，10 min；变性 95℃、15 s，退火 60℃、34 s，40 个循环；熔解阶段 95℃、15 s，60℃、1 min，95℃、15 s。引物序列见表 1。采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法计算荧光定量结果。

表 1 qRT-PCR 所需引物
Table 1 Primers required for qRT-PCR

基因名称 Gene name	正向引物 (5'-3') Forward primer (5'-3')	反向引物 (5'-3') Reverse primer (5'-3')
<i>HaTrihelix6</i>	GCCGTGGCAGAGGATGAA	GCCGTATCGGAAACTTGAT
<i>HaTrihelix12</i>	ACGTCGTCTCAGCTCCATC	TCACCGTCATCAGTAAATCCA
<i>HaTrihelix15</i>	TTGAAGCGATTGTGAAAGAG	TGCCGAGACAGACGATAA
<i>HaTrihelix16</i>	ATGACTGAACCTCCACCG	CAAATCCCTCGTCTCCTG
<i>HaTrihelix19</i>	ACAATGCGGGAAGTAGAG	GCGAAGAGCTTAGCGATC
<i>HaTrihelix20</i>	CCACCACAACCGACACCA	CGGATACCGATACAGATACAGGA
<i>HaTrihelix26</i>	ACCCGAACCCTGATGTGA	CCCTCGCCAACTCCTTAT
<i>HaTrihelix27</i>	TGAATGAAACCGCTCTGC	ACCGTTGTGCATCATCCCT
<i>HaTrihelix28</i>	GCCCGCAATGCAGTTATT	GTCGGTTGTGCTGGTGGT
<i>HaTrihelix31</i>	CCACCAAGTCAGCCTCATG	CAGCACTCAGACTCGCAGTT
<i>18S rRNA</i>	CTACCACATCCAAGGAAGGCAG	CGACAGAAGGGACGAGTAAACC

2 结果与分析

2.1 向日葵 *trihelix* 家族成员的鉴定及其编码蛋白的理化性质分析

通过 2 种鉴定方法及保守结构域的验证分析,

最终在向日葵基因组中共鉴定出 46 个 *trihelix* 家族成员。根据染色体定位顺序, 将其命名为 *HaTrihelix1~HaTrihelix46* (表 2)。理化性质分析表明, 向日葵 *trihelix* 蛋白氨基酸数目为 53~916。分子量范围在 6.11~102.44 kDa。等电点分布范围在

表 2 向日葵 *trihelix* 家族蛋白的理化性质

Table 2 Physicochemical properties of *trihelix* family protein in sunflower

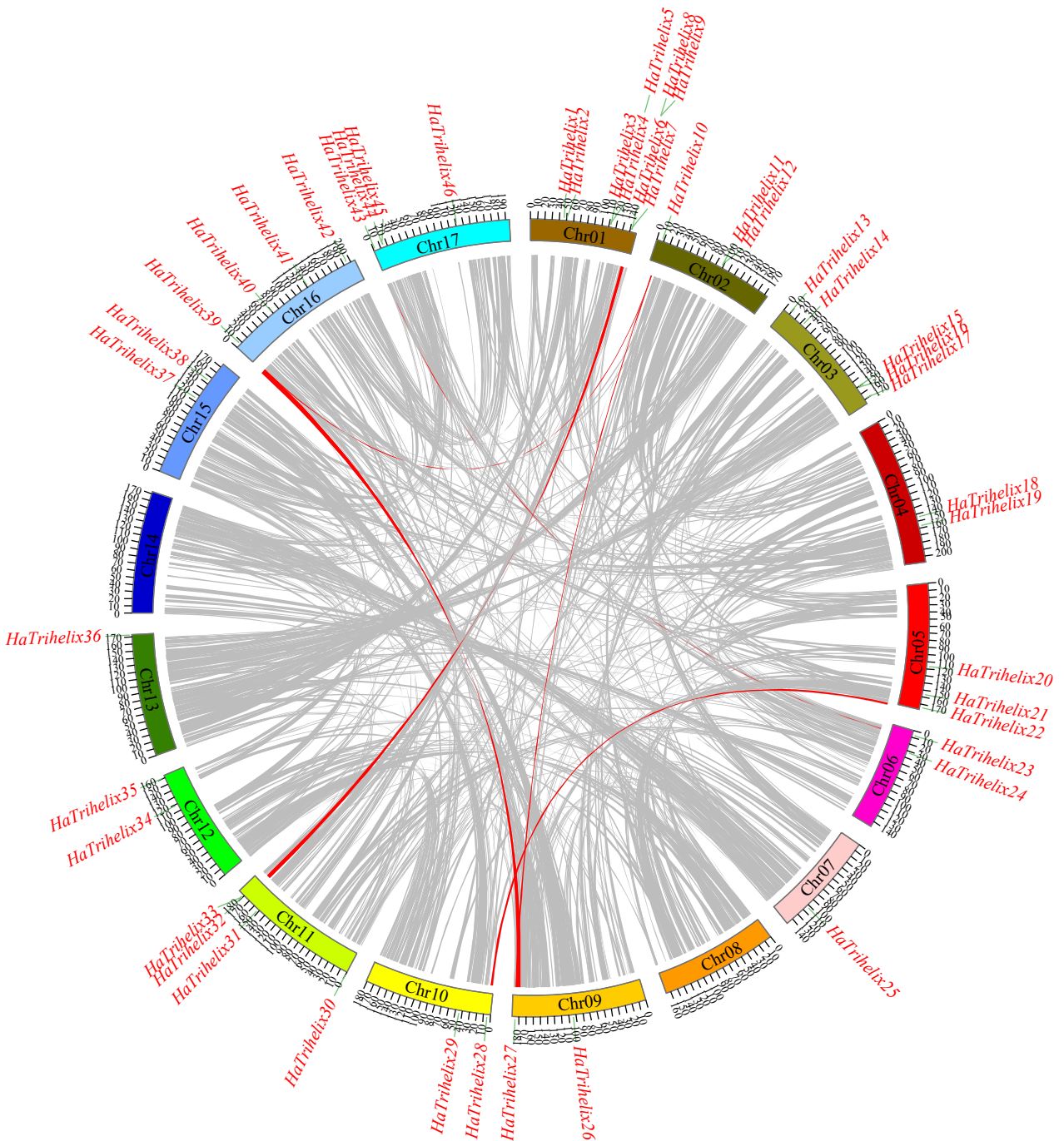
基因名称 Gene name	基因登录号 Gene ID	氨基酸数目 Amino acid number	分子量 Molecular weight (kDa)	等电点 Isoelectric point	不稳定系数 Instability index	亲水系数 Hydrophilicity coefficient	亚细胞定位预测 Subcellular location prediction
<i>HaTrihelix1</i>	HanXRQr2_Chr01g0009681	251	30.12	7.44	57.26	-1.127	细胞核
<i>HaTrihelix2</i>	HanXRQr2_Chr01g0010711	306	33.75	8.19	46.31	-0.802	细胞核
<i>HaTrihelix3</i>	HanXRQr2_Chr01g0028301	290	33.40	8.60	54.58	-0.883	叶绿体、细胞核
<i>HaTrihelix4</i>	HanXRQr2_Chr01g0028311	347	38.41	8.88	48.68	-0.801	细胞核
<i>HaTrihelix5</i>	HanXRQr2_Chr01g0031811	371	42.72	5.57	47.30	-1.065	细胞核
<i>HaTrihelix6</i>	HanXRQr2_Chr01g0041281	546	62.21	8.28	49.09	-0.622	叶绿体、细胞核
<i>HaTrihelix7</i>	HanXRQr2_Chr01g0041321	188	20.81	9.24	34.10	-0.713	细胞核
<i>HaTrihelix8</i>	HanXRQr2_Chr01g0041331	517	56.29	7.52	32.24	-0.449	叶绿体
<i>HaTrihelix9</i>	HanXRQr2_Chr01g0041541	426	49.22	7.46	60.04	-0.763	叶绿体、细胞核
<i>HaTrihelix10</i>	HanXRQr2_Chr02g0047701	390	44.23	4.63	42.36	-1.203	细胞核
<i>HaTrihelix11</i>	HanXRQr2_Chr02g0064991	53	6.11	7.26	36.06	-0.743	细胞核
<i>HaTrihelix12</i>	HanXRQr2_Chr02g0065041	593	65.41	6.04	61.03	-0.859	细胞核
<i>HaTrihelix13</i>	HanXRQr2_Chr03g0088951	379	44.61	4.55	41.14	-1.195	细胞核
<i>HaTrihelix14</i>	HanXRQr2_Chr03g0095111	916	102.44	8.26	47.23	-0.391	叶绿体
<i>HaTrihelix15</i>	HanXRQr2_Chr03g0123561	248	27.74	4.54	57.25	-0.617	细胞核
<i>HaTrihelix16</i>	HanXRQr2_Chr03g0124371	315	36.67	8.66	61.91	-1.210	细胞核
<i>HaTrihelix17</i>	HanXRQr2_Chr03g0132841	380	42.89	10.08	42.61	-0.979	细胞核
<i>HaTrihelix18</i>	HanXRQr2_Chr04g0169001	596	66.77	6.10	87.15	-1.220	细胞核
<i>HaTrihelix19</i>	HanXRQr2_Chr04g0172241	369	41.03	9.89	59.84	-0.763	细胞核
<i>HaTrihelix20</i>	HanXRQr2_Chr05g0216931	494	52.72	8.45	37.93	-0.142	叶绿体
<i>HaTrihelix21</i>	HanXRQr2_Chr05g0227381	339	38.80	4.99	50.22	-1.011	细胞核
<i>HaTrihelix22</i>	HanXRQr2_Chr05g0236141	650	72.51	7.50	72.61	-0.979	细胞核
<i>HaTrihelix23</i>	HanXRQr2_Chr06g0242381	375	42.34	6.80	42.90	-0.893	叶绿体、细胞核
<i>HaTrihelix24</i>	HanXRQr2_Chr06g0253741	373	42.14	6.28	37.49	-0.643	叶绿体、细胞核
<i>HaTrihelix25</i>	HanXRQr2_Chr07g0299811	412	46.36	10.00	73.35	-1.217	细胞核
<i>HaTrihelix26</i>	HanXRQr2_Chr09g0382641	249	28.48	10.28	26.94	-1.052	叶绿体、细胞核
<i>HaTrihelix27</i>	HanXRQr2_Chr09g0415361	352	40.65	4.55	42.12	-1.334	细胞核
<i>HaTrihelix28</i>	HanXRQr2_Chr10g0420111	632	70.22	6.29	75.62	-0.956	细胞核
<i>HaTrihelix29</i>	HanXRQr2_Chr10g0430831	239	28.97	8.65	71.37	-1.215	细胞核
<i>HaTrihelix30</i>	HanXRQr2_Chr11g0466401	290	33.40	8.60	54.58	-0.883	叶绿体、细胞核
<i>HaTrihelix31</i>	HanXRQr2_Chr11g0505381	309	34.94	9.43	41.31	-0.877	叶绿体、细胞核
<i>HaTrihelix32</i>	HanXRQr2_Chr11g0515851	411	46.36	6.02	53.48	-1.042	细胞核
<i>HaTrihelix33</i>	HanXRQr2_Chr11g0516471	424	48.17	7.83	45.52	-0.859	细胞质、过氧化物酶体
<i>HaTrihelix34</i>	HanXRQr2_Chr12g0555331	296	33.83	9.04	65.97	-1.024	细胞核
<i>HaTrihelix35</i>	HanXRQr2_Chr12g0564671	304	34.18	5.03	61.58	-0.782	细胞核
<i>HaTrihelix36</i>	HanXRQr2_Chr13g0619331	510	59.83	6.59	59.59	-1.035	细胞核
<i>HaTrihelix37</i>	HanXRQr2_Chr15g0709391	393	44.78	8.24	47.19	-0.932	细胞核
<i>HaTrihelix38</i>	HanXRQr2_Chr15g0715481	430	49.47	6.33	55.32	-0.881	细胞核
<i>HaTrihelix39</i>	HanXRQr2_Chr16g0726631	362	41.50	4.47	33.58	-1.129	细胞核
<i>HaTrihelix40</i>	HanXRQr2_Chr16g0741871	273	32.45	5.78	56.67	-1.149	细胞核
<i>HaTrihelix41</i>	HanXRQr2_Chr16g0753561	422	48.34	6.33	63.42	-0.872	细胞核
<i>HaTrihelix42</i>	HanXRQr2_Chr16g0774461	273	30.76	5.13	49.31	-0.806	细胞核
<i>HaTrihelix43</i>	HanXRQr2_Chr17g0779611	345	39.11	9.44	31.35	-0.766	叶绿体
<i>HaTrihelix44</i>	HanXRQr2_Chr17g0786401	254	28.67	5.60	44.26	-0.729	细胞核
<i>HaTrihelix45</i>	HanXRQr2_Chr17g0786421	252	28.38	5.59	43.24	-0.728	细胞核
<i>HaTrihelix46</i>	HanXRQr2_Chr17g0814401	368	40.99	10.06	60.70	-0.867	细胞核

4.47~10.28。38 个成员的不稳定系数>40.00，为稳定蛋白。所有蛋白的亲水性系数均为负值，表明其普遍具有亲水特性。亚细胞定位预测发现，41 个成员主要定位于细胞核。

2.2 向日葵 *trihelix* 家族成员的染色体定位和共线性分析

46 个 *trihelix* 家族成员不均匀地分布于 15 条染

色体上，染色体 8 和染色体 14 上无分布。染色体 1 上含有 *trihelix* 基因的数量最多（9 个）；染色体 3 上含有 5 个 *trihelix* 基因，染色体 11、染色体 16 和染色体 17 上各有 4 个 *trihelix* 基因；其他染色体上分布的较少，多为 1~3 个 *trihelix* 基因（图 1）。利用 MCSanX 软件对向日葵 *trihelix* 家族成员进行复制事件分析，结果发现，*trihelix* 基因家族中存在 3



红色字体的基因为串联复制基因对，长红线表示片段复制基因对。
Genes shown in red are tandem duplication genes pairs, and the long red line indicates gene pairs involved in segmental duplication.

图 1 向日葵 *trihelix* 基因家族的共线性分析
Fig.1 Collinearity analysis of *trihelix* gene family in sunflower

对串联复制基因，9 个家族成员之间形成了 6 对片段复制基因。

为解析向日葵与其他物种 *trihelix* 基因的进化关系及功能保守性，对向日葵、拟南芥和水稻的种

间共线性关系进行分析。结果显示，向日葵 *trihelix* 基因与拟南芥、水稻分别存在 8 对和 6 对共线基因（图 2）。与水稻相比，向日葵与拟南芥之间的亲缘关系更加密切。

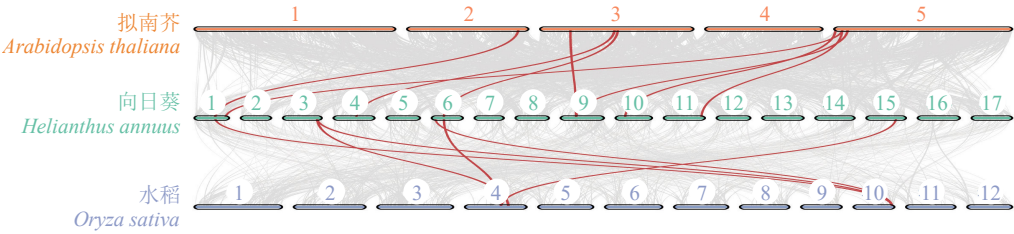


图 2 3 个物种间 *trihelix* 家族基因共线性分析
Fig.2 Collinearity analysis of *trihelix* family genes among three species

2.3 向日葵 *trihelix* 基因家族系统进化分析

基于邻接法构建系统发育树，向日葵 *trihelix* 家族被划分为 GT-1、GT-2、SH4、GT γ 和 SIP1 共 5

个亚家族，且在不同亚家族中的分布不均匀（图 3）。其中，SIP1 亚家族成员数量最多，其次为 GT-2，SH4 亚家族含有 7 个成员，GT-1 亚家族含有 6 个

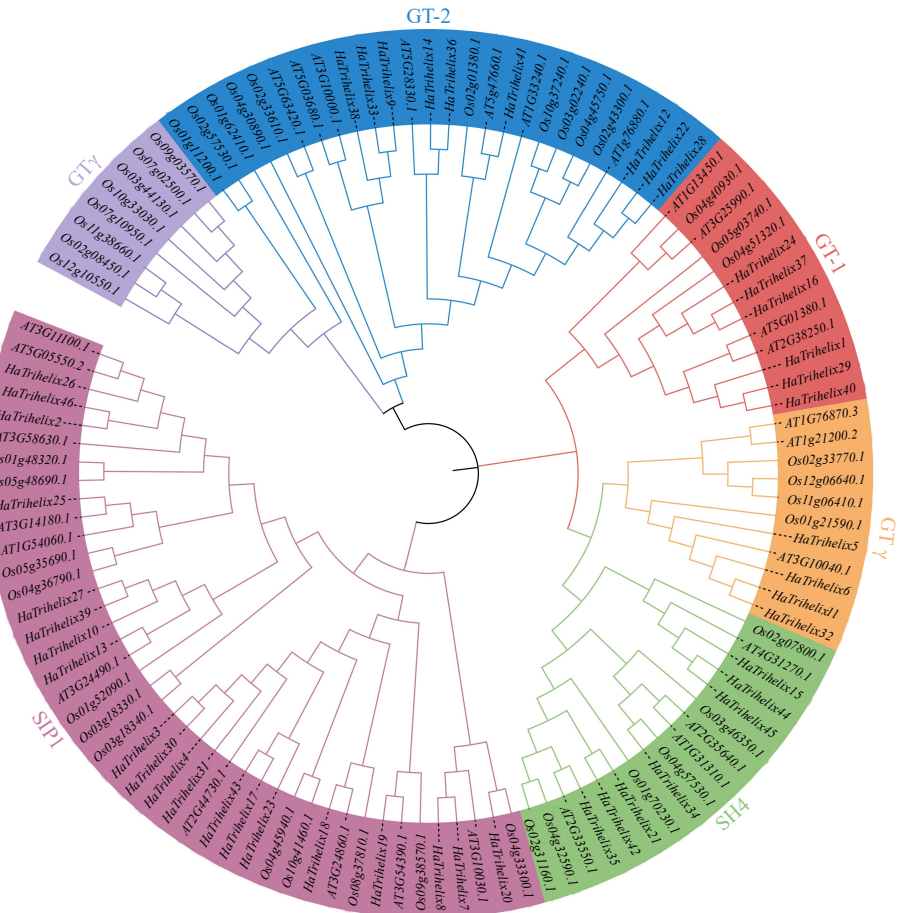


图 3 向日葵、拟南芥和水稻 *trihelix* 基因家族的系统进化树分析
Fig.3 Phylogenetic tree analysis of *trihelix* genes among *Helianthus annuus*, *Arabidopsis thaliana* and *Oryza sativa*

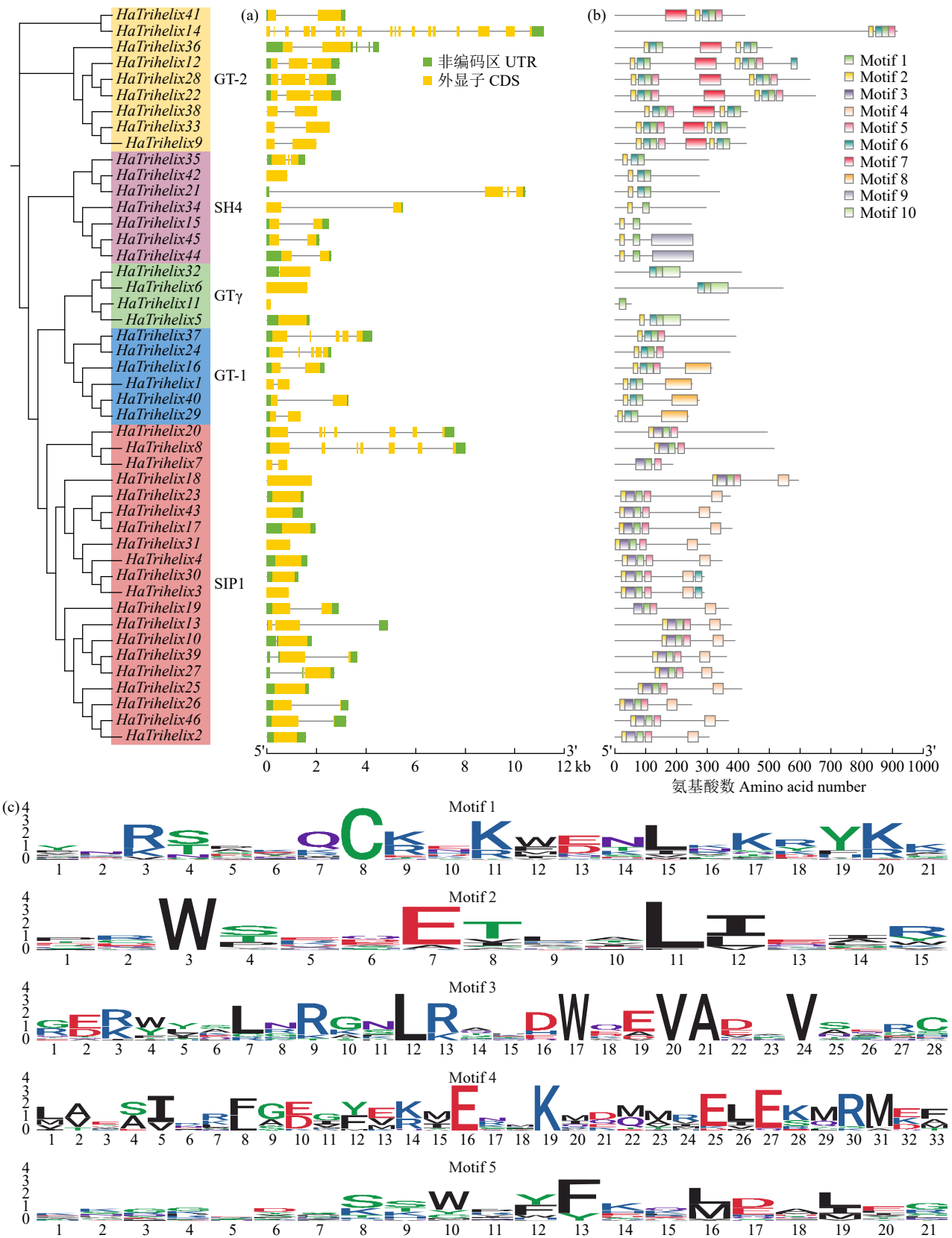
成员，而 GT γ 亚家族仅含有 4 个成员。

2.4 向日葵 *trihelix* 基因结构与保守基序分析

如图 4a 所示，除 *HaTrihelix8*、*HaTrihelix13*、

HaTrihelix14、*HaTrihelix20*、*HaTrihelix21*、*HaTrihelix34*、*HaTrihelix36* 和 *HaTrihelix37* 基因长度大于 4 kb 外，其他 36 个向日葵 *trihelix* 基因长度

均在 4 kb 以内。约 89.13% 的成员外显子数量在 1~3 个，仅有 5 个成员 (*HaTrihelix8*、*HaTrihelix14*、*HaTrihelix20*、*HaTrihelix24* 和 *HaTrihelix37*) 的外显子数量在 3 个以上。保守基序分析发现，Motif 1 存在于所有家族成员中 (图 4b 和 4c)。不同亚家族的成员也含有各自独有的基序。大部分 SIP1 亚家族的成员也含有各自独有的基序。大部分 SIP1 亚家族



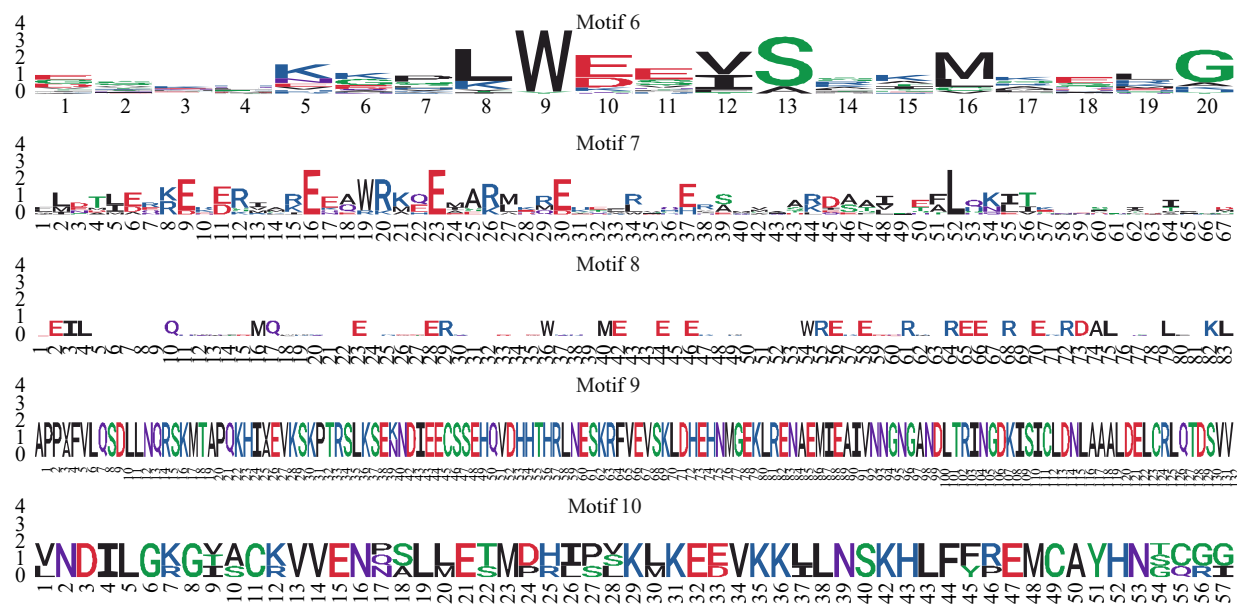


图 4 向日葵 *trihelix* 家族成员基因结构和保守基序分析

Fig.4 Gene structure and motif analysis of sunflower *trihelix* family members

成员（除 *HaTrihelix7*、*HaTrihelix8* 和 *HaTrihelix20* 外）特异性含有 Motif 4。除 *HaTrihelix11* 外，3 个 GT γ 亚家族成员均包含 Motif 10（图 4b）。

基于 DNAMAN 多序列比对分析（图 5）发现，向日葵 *trihelix* 家族的所有蛋白均包含典型的三螺旋结构特征。在 3 个串联螺旋结构中，有 5 个氨基酸位点几乎没有发生变异：螺旋 1（Helix 1）中的色氨酸（tryptophan, W）和亮氨酸（leucine, L）、螺旋 2（Helix 2）的色氨酸以及螺旋 3（Helix 3）的半胱氨酸（cystine, C）和亮氨酸（图 5）。4 个

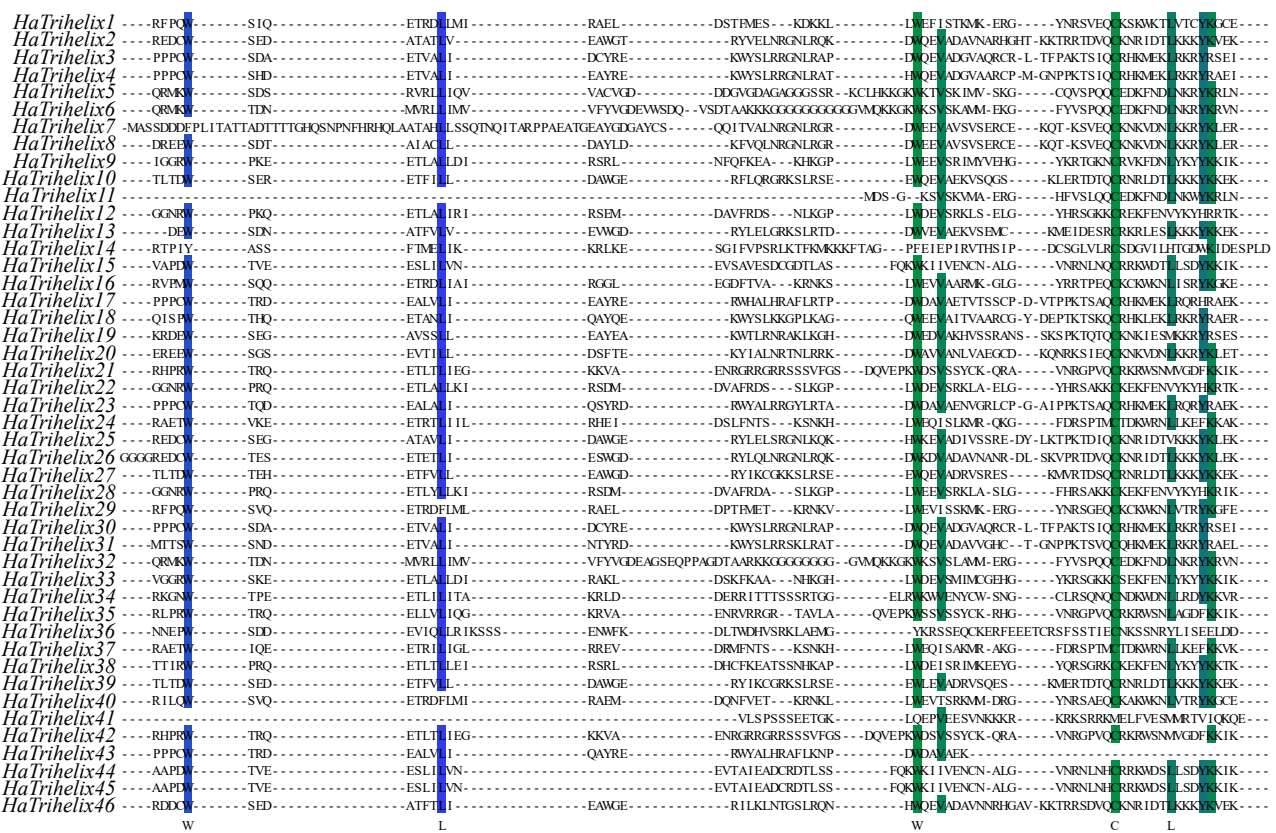


图 5 向日葵 *trihelix* 转录因子三螺旋结构域氨基酸序列比对

Fig.5 Multiple sequence alignment of triple helix domains of sunflower *trihelix* transcription factors

保守基序 (Motif1/2/3/6) 与三螺旋结构相对应：Motif2 为 Helix 1, Motif 6 为 Helix 2, Motif 3 覆盖 Helix 1 和 Helix 2, 而 Motif 1 构成 Helix 3 (图 4b、图 4c 和图 5)。

2.5 向日葵 *trihelix* 基因的组织表达模式

基于 NCBI 公共转录组数据库, 本研究系统解析了向日葵 *trihelix* 基因家族在根、茎、叶、花和芽中的表达情况。结果表明, 36 个 *trihelix* 基因在向日葵不同器官中检测到表达活性, 但其表达水平

在不同组织中呈现显著差异 (图 6a)。根据表达模式聚类可划分为 5 类, 只有类群 I 基因在根、茎和芽中具有相对较高的表达。类群 II 基因在 2 种组织 (根和芽) 中表达水平较高。此外, 还有部分基因只在特定的组织中相对高表达, 类群 III 基因只在花中具有较高的表达量, 类群 IV 基因只在芽中呈现显著的表达优势, 而类群 V 基因只在茎中高表达。上述组织特异性表达模式结果表明, 类群 III、IV 和 V 基因分别在花、芽和茎的生长和发育过程中发挥特

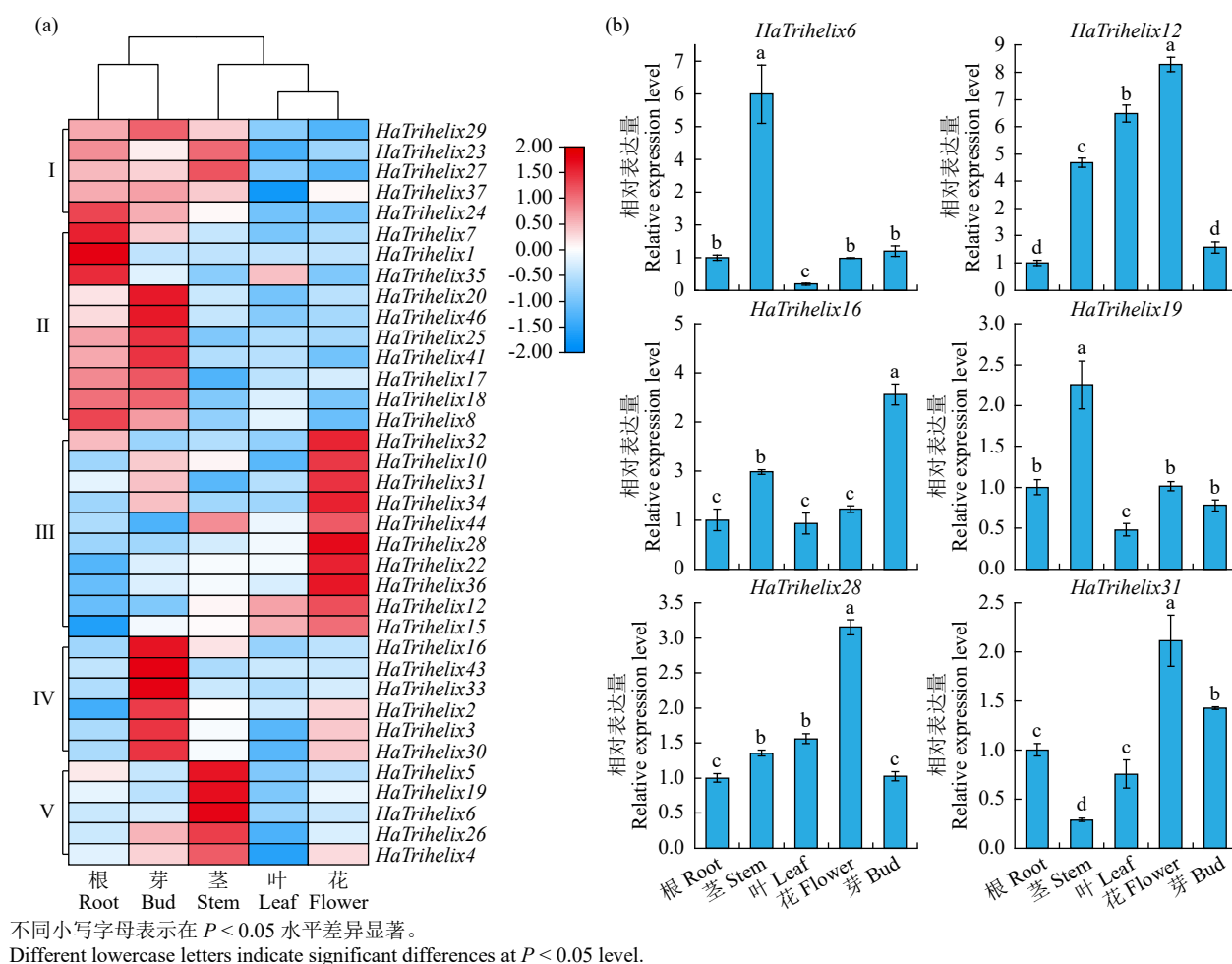


图 6 向日葵 *trihelix* 家族基因组织表达模式分析
Fig.6 Analysis of tissue expression patterns of *trihelix* family genes in sunflower

定的作用。

qRT-PCR 试验结果显示, 6 个 *trihelix* 家族成员在向日葵根、茎、叶、花和芽中的表达趋势与图 6b 中组织表达分析结果相一致。

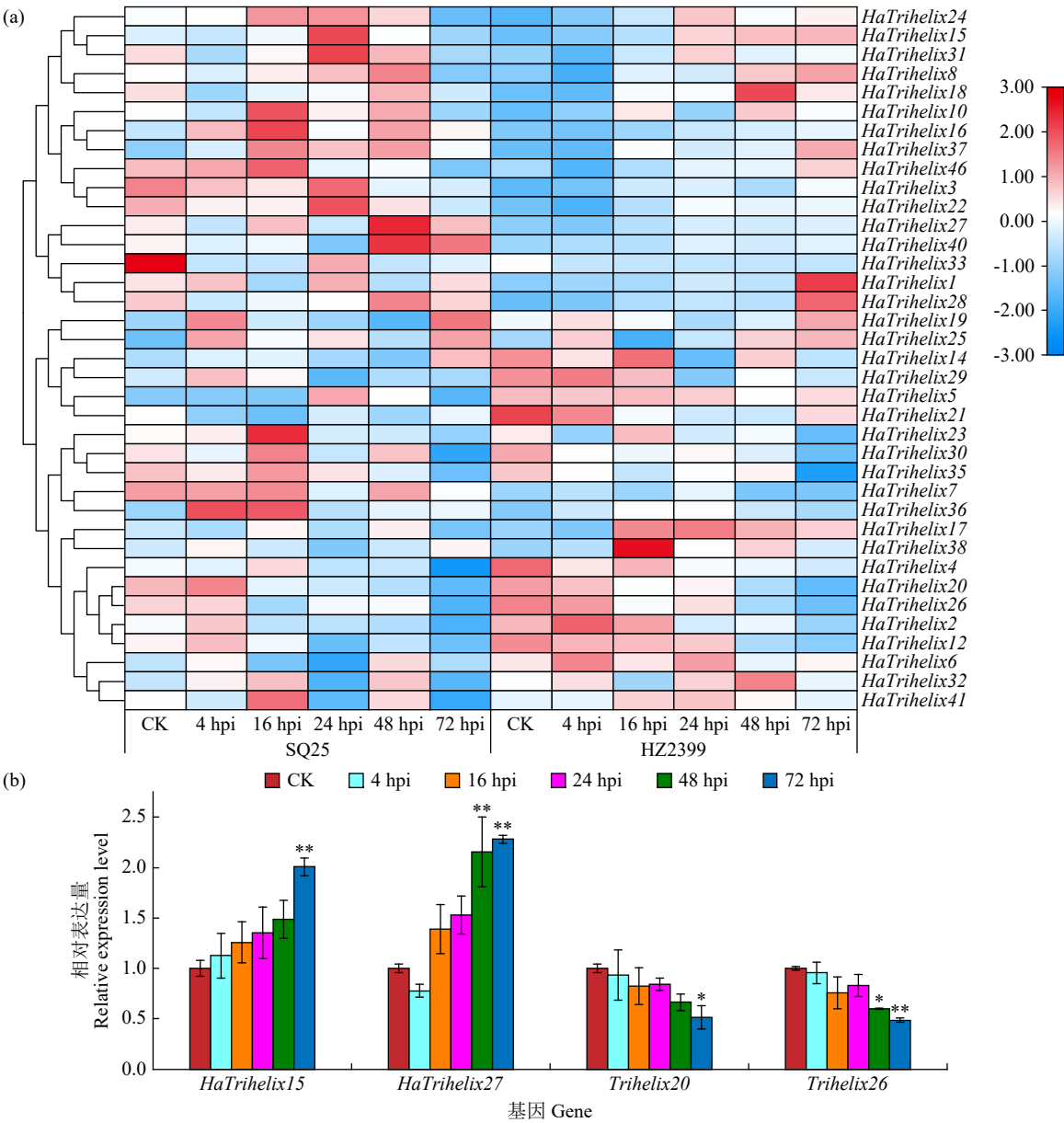
2.6 向日葵列当接种后 *trihelix* 基因表达模式

46 个向日葵 *trihelix* 基因中, 有 9 个基因未检测到表达量。其余 37 个差异表达的 *trihelix* 基因中, 29 个基因在接种不同时间点的表达量发生了显著

变化 (图 7a)。与 0 hpi (CK) 相比, 14 个向日葵 *trihelix* 基因 (*HaTrihelix1*、*HaTrihelix3*、*HaTrihelix8*、*HaTrihelix10*、*HaTrihelix18*、*HaTrihelix16*、*HaTrihelix19*、*HaTrihelix22*、*HaTrihelix25*、*HaTrihelix27*、*HaTrihelix28*、*HaTrihelix37*、*HaTrihelix40* 和 *HaTrihelix46*) 在向日葵敏感和抗列当材料中均随着接种时间的延长显著上调, 但抗列当材料的表达增幅较感病材料高 2 倍以上。此外,

有 15 个 *trihelix* 基因的表达模式在 2 类材料中呈现显著差异：10 个基因（*HaTrihelix2*、*HaTrihelix4*、*HaTrihelix5*、*HaTrihelix6*、*HaTrihelix12*、*HaTrihelix14*、*HaTrihelix20*、*HaTrihelix21*、*HaTrihelix26* 和 *HaTrihelix29*）在敏感材料中的表达持续下调，而在抗列当材料中的表达量在 48 hpi 降至最低，72 hpi 显著回升至峰值水平；2 个基因

（*HaTrihelix7* 和 *HaTrihelix36*）在 2 类材料中的表达均呈先升后降趋势，但抗列当材料在 72 hpi 胁迫时出现第 2 次表达峰值；3 个 *trihelix* 基因（*HaTrihelix15*、*HaTrihelix24* 和 *HaTrihelix31*）的表达量在感病材料中随着接种时间的延长呈现增长模式，而在抗列当材料中表现出“升—降—升”的表达模式。



hpi 为接种后小时数；“*”： $P < 0.05$ ，“**”： $P < 0.01$ 。
hpi indicates hour post inoculation.

图 7 向日葵 *trihelix* 家族基因在列当胁迫下的表达分析
Fig.7 Expression analysis of sunflower *trihelix* family genes under *O. cumana* stress

2.7 qRT-PCR 验证向日葵 *trihelix* 基因在列当胁迫下表达水平
为了验证转录组测序结果的可靠性，本研究从

敏感自交系中筛选出 4 个显著差异表达的 *trihelix* 基因进行荧光定量 PCR 试验。结果显示，2 个 *trihelix* 基因（*HaTrihelix15* 和 *HaTrihelix27*）的表达水平随

着列当接种时间的延长呈上调趋势, 而 2 个 *trihelix* 基因 (*HaTrihelix20* 和 *HaTrihelix26*) 的表达量呈现持续下调, 这 4 个基因的表达模式与转录组表达趋势基本一致(图 7b)。以上结果表明, 向日葵 *trihelix* 基因在向日葵响应列当接种胁迫的分子调控网络中具有重要作用。

3 讨论

Trihelix 基因家族是近年来倍受关注的一个基因家族^[13]。在本研究中, 通过生物信息学分析, 从向日葵全基因组中共鉴定出 46 个 *trihelix* 基因。这一数量超过了拟南芥、水稻、荞麦、番茄和菊花等植物中的 *trihelix* 基因数量, 表明在不同物种的进化过程中, 该基因家族成员可能经历了基因的分化与扩增以适应环境的变化^[14-16]。在本研究中鉴定到了 3 对串联复制基因和 6 对片段复制基因, 这些数据表明, 片段复制和串联复制共同驱动了向日葵 *trihelix* 基因家族的扩张。值得注意的是, 仅鉴定出 9 个基因来源于片段复制事件。类似的现象也出现在大豆和水稻 *trihelix* 基因家族中^[17-18], 表明这些物种中超过一半的 *trihelix* 基因可能并非源自同一个祖先, 这可能是该基因家族成员数量产生差异的一个重要原因。

系统发育树分析结果显示, 与拟南芥一致, 向日葵 *trihelix* 基因被划分成 GT-1、GT-2、SIP1、SH4 和 GTy 共 5 个亚家族。这些亚家族基因的外显子数量差异明显。其中, GT-1 亚家族的外显子数量最多, 这与小麦^[16]和荞麦^[19]的研究结果一致。对保守基序进行分析发现, 向日葵 *trihelix* 家族所有成员均包含 1 个高度保守的基序 Motif 1, 表明该家族具有较高的进化保守性。此外, 各个亚家族的基因还具有其独特的基序类型, 这与大豆^[17]、人参^[20]和毛竹^[21]等物种对 *trihelix* 家族基因的研究结论高度一致。

目前, *trihelix* 家族基因的生物学功能在向日葵列当接种胁迫中的作用鲜见报道。本研究分析了 2 个列当抗性差异明显的向日葵自交系在与列当互作胁迫响应过程中 *trihelix* 家族基因表达情况。结果表明, 29 个 *trihelix* 基因在不同接种时间的表达量存在显著差异。qRT-PCR 验证结果表明, 向日葵敏感材料 09108A 中 4 个 *trihelix* 基因在列当互作胁迫下的表达量发生了明显变化。这些结果为进一步解析向日葵 *trihelix* 基因在列当互作胁迫响应中发挥的具体功能和调控机制提供了理论依据和基因资源, 对提

升向日葵的抗列当能力和培育抗列当能力更强的向日葵新品种提供理论基础。

4 结论

本研究共鉴定了向日葵 *trihelix* 基因家族的 46 个成员, 这些基因不均匀地分布在 15 条染色体上。根据系统进化树将该家族分为 5 个亚家族。向日葵 *trihelix* 家族基因在根、茎、叶、芽和花等器官中的表达具有组织特异性。通过多组学整合分析及荧光定量 PCR 试验, 发现在列当接种胁迫下, 29 个基因表现出显著的差异表达, 推测该家族基因在向日葵生长发育和列当接种胁迫的逆境响应过程中发挥重要的作用。

参考文献

- [1] 张明, 黄绪堂, 关洪江, 等. 向日葵抗 F-列当小种分子标记筛选. 现代农业科技, 2021(4): 96-97, 107.
- [2] 张之为, 孙学桃, 解国华, 等. 不同浓度甲氧咪草烟处理对向日葵列当寄生的影响. 作物杂志, 2024(6): 226-231.
- [3] Yu C Y, Cai X F, Ye Z B, et al. Genome-wide identification and expression profiling analysis of *trihelix* gene family in tomato. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2015, 468(4): 653-659.
- [4] 肖洁. 小麦 *Trihelix* 基因家族鉴定、表达分析及 *TaGT-75* 基因的功能研究. 武汉: 华中科技大学, 2020.
- [5] Kaplan-Levy R N, Quon T, O'Brien M, et al. Functional domains of the PETAL LOSS protein, a trihelix transcription factor that represses regional growth in *Arabidopsis thaliana*. Plant Journal, 2014, 79(3): 477-491.
- [6] Zhang Q Q, Zhong T, Xu M L, et al. GT factor ZmGT-3b is associated with regulation of photosynthesis and defense response to *Fusarium graminearum* infection in maize seedling. Frontiers in Plant Science, 2021, 12: 724133.
- [7] Lu S N, Wang J Y, Chitsaz F, et al. CDD/SPARCLE: the conserved domain database in 2020. Nucleic Acids Research, 2019, 48(D1): 265-268.
- [8] Chou K C, Shen H B. Plant-mPLOC: a top-down strategy to augment the power for predicting plant protein subcellular localization. PLOS One, 2010, 5(6): e11335.
- [9] Letunic I, Bork P. Interactive tree of life (iTOL): an online tool for phylogenetic tree display and annotation. Bioinformatics, 2007, 23(1): 127-128.
- [10] 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. Molecular Plant, 2023, 16(11): 1733-1742.
- [11] 黄启秀, 向理军, 张黎, 等. 基于 WGCNA 挖掘向日葵抗列当关键基因. 分子植物育种, 2022, 20(8): 2617-2628.
- [12] Love M I, Huber W, Anders S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. Genome Biology, 2014, 15(12): 550.
- [13] Liu F, Sun X L, Sheng O, et al. Genome-wide analysis of the trihelix gene family reveals that MaGT21 modulates fruit ripening by regulating the expression of *MaACO1* in *Musa acuminata*. Plant Physiology and Biochemistry, 2024, 216:

- 109089.
- [14] 周颖君, 王浩, 纪剑辉, 等. 植物 *Trihelix* 转录因子家族的分类、结构和功能研究进展. 河北农业科学, 2015, 54(22): 5501-5503, 5547.
- [15] Song A P, Wu D, Fan Q Q, et al. Transcriptome-wide identification and expression profiling analysis of chrysanthemum *Trihelix* transcription factors. International Journal of Molecular Sciences, 2016, 17(2): 198.
- [16] Xiao J, Hu R, Gu T, et al. Genome-wide identification and expression profiling of *trihelix* gene family under abiotic stresses in wheat. BMC Genomics, 2019, 20(1): 287.
- [17] Liu W, Zhang Y W, Li W, et al. Genome-wide characterization and expression analysis of soybean *trihelix* gene family. Peer J, 2020, 8: e8753.
- [18] Li J M, Zhang M H, Sun J, et al. Genome-wide characterization and identification of *trihelix* transcription factor and expression profiling in response to abiotic stresses in rice (*Oryza sativa* L.). International Journal of Molecular Sciences, 2019, 20(2): 251.
- [19] Ma Z T, Liu M Y, Sun W J, et al. Genome-wide identification and expression analysis of the *trihelix* transcription factor family in tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum*). BMC Plant Biology, 2019, 19(1): 344.
- [20] 赵昱琳. 人参 *Trihelix* 转录因子基因家族分析及其低温胁迫下的表达研究. 长春: 吉林农业大学, 2021.
- [21] Gao H Y, Huang R, Liu J, et al. Genome-wide identification of *trihelix* genes in Moso bamboo (*Phyllostachys edulis*) and their expression in response to abiotic stress. Journal of Plant Growth Regulation, 2019, 38(4): 1127-1140.

Identification and Expression Analysis of *Trihelix* Transcription Factor Family in Sunflower

Zhang Man¹, Dong Haixiao², Tian Juan¹, Feng Bo¹, Yu Xuepeng¹, Wang Zhinuo¹,
Zhang Lei¹, Basangpingcuo¹, Li Xueying¹, Li Huiying¹

(¹Baicheng Academy of Agricultural Sciences, Baicheng 137000, Jilin, China;

²College of Plant Science, Jilin University, Changchun 130062, Jilin, China)

Abstract *Trihelix* transcription factors play important roles in plant growth, development, and various stress responses. However, few studies have been conducted on the systematic identification and expression characteristics of *trihelix* gene family in sunflower (*Helianthus annuus* L.). In this study, based on bioinformatics methods, the *trihelix* genes in sunflower genome were identified and characterized, and chromosomal localization, duplication events, phylogenetic analysis, gene structures, conserved motifs and expression patterns under stress conditions were analyzed. The results showed that a total of 46 *trihelix* genes were identified in the sunflower genome, unevenly distributed across 15 chromosomes. Among them, three pairs of tandemly duplicated genes and six pairs of segmentally duplicated genes were detected. According to phylogenetic analysis, sunflower *trihelix* family was divided into five subfamilies, and the members of the same subfamily have similar gene structures and conserved motifs. Thirty-six sunflower *trihelix* genes were expressed in all five organs (root, stem, leaf, flower and bud). Based on transcriptome sequencing (RNA-seq) data, 29 *trihelix* genes significantly responded to *Orobancha cumana* Wallr. stress.

Key words Sunflower; *Trihelix* gene family; Bioinformatics; *Orobancha cumana* Wallr.; Expression pattern