

引用格式:

杨丽红, 席银凯, 王丹, 胡新喜. 马铃薯*StZIP8-like*基因的克隆及镉转运功能分析[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2025, 51(3): 16–23.

YANG L H, XI Y K, WANG D, HU X X. Cloning of *StZIP8-like* gene in potato and analysis of its function in cadmium transport [J]. Journal of Hunan Agricultural University(Natural Sciences), 2025, 51(3): 16–23.

投稿网址: <http://xb.hunau.edu.cn>



马铃薯 *StZIP8-like* 基因的克隆及镉转运功能分析

杨丽红, 席银凯, 王丹, 胡新喜*

(湖南农业大学园艺学院, 湖南 长沙 410128)

摘要: 为了探讨*StZIP8-like*基因的表达模式和功能, 从马铃薯中克隆得到*StZIP8-like*基因的全长序列, 通过生物信息学方法对该基因的结构、理化性质及亲缘关系进行预测; 利用RT-qPCR技术, 分析其在镉胁迫下的表达模式; 构建融合表达载体, 分析*StZIP8-like*蛋白在烟草叶片中的亚细胞定位; 通过酵母异源表达试验, 分析*StZIP8-like*的镉转运功能。结构分析结果表明, *StZIP8-like*序列全长1 044 bp, 编码347个氨基酸, 含有1个ZIP保守结构域及7个跨膜结构域; 系统进化分析结果表明, *StZIP8-like*蛋白与番茄及烟草中的ZIP8蛋白的亲缘关系较近。亚细胞定位结果显示, *StZIP8-like*蛋白定位于细胞质膜; RT-qPCR结果表明, *StZIP8-like*在马铃薯幼苗的根中表达量较高, 并且Cd胁迫诱导下*StZIP8-like*基因在马铃薯根、茎和叶中的表达量均上调; 酵母试验结果显示, *StZIP8-like*过表达的酵母对Cd更加敏感, 具有Cd吸收转运活性。以上结果说明*StZIP8-like*受到Cd胁迫的诱导表达, 可能参与马铃薯吸收Cd的过程。

关键词: 马铃薯; *StZIP8-like*; 镉; 基因表达; 酵母

中图分类号: S532.01

文献标志码: A

文章编号: 1007-1032(2025)03-0016-08

Cloning of *StZIP8-like* gene in potato and analysis of its function in cadmium transport

YANG Lihong, XI Yingkai, WANG Dan, HU Xinxi *

(College of Horticulture, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China)

Abstract: In order to explore the expression pattern and function of the *StZIP8-like* gene, the full-length sequence of the *StZIP8-like* gene was cloned from potato. The structure, physicochemical properties, and genetic relationship of this gene were predicted by bioinformatics methods. The expression pattern of this gene under cadmium(Cd) stress was analyzed using the RT-qPCR technique. A fusion expression vector was constructed to analyze the subcellular localization of the *StZIP8-like* protein in tobacco leaves. Through a yeast heterologous expression experiment, the Cd transport function of *StZIP8-like* was analyzed. The results of structural analysis showed that the full-length sequence of *StZIP8-like* was 1 044 bp, encoding 347 amino acids, containing a ZIP conserved domain and 7 transmembrane domains. Phylogenetic analysis revealed that the *StZIP8-like* protein had a close genetic relationship with the ZIP8 proteins in tomato and tobacco. The results of subcellular localization indicated that the *StZIP8-like* protein was localized in the plasma membrane. The RT-qPCR results showed that *StZIP8-like* was highly expressed in the roots of potato seedlings, and Cd stress induced the upregulation of the expression of the *StZIP8-like* gene in the roots, stems, and leaves of potato. The yeast experiment showed that the yeast with overexpression of *StZIP8-like* was more sensitive to Cd and had Cd absorption and transport activity. The above results indicate that *StZIP8-like* is induced by Cd stress and may be involved in the process of Cd

收稿日期: 2024-08-03

修回日期: 2025-03-27

基金项目: 国家马铃薯产业技术体系(CARS-09-ES16)

作者简介: 杨丽红(1999—), 女, 湖南泸溪县人, 硕士研究生, 主要从事马铃薯镉吸收与转运研究, 3205843099@qq.com; *通信作者, 胡新喜, 博士, 教授, 主要从事马铃薯栽培及分子育种研究, huxinxi163@163.com

absorption in potato.

Keywords: potato; *StZIP8-like*; Cd; gene expression; yeast

马铃薯(*Solanum tuberosum* L.)是世界第四大消费粮食作物, 全球马铃薯年总产量超过 3×10^9 t^[1]。生长在镉富集土壤中的马铃薯, 其光合作用受阻, 块茎产量及品质显著下降、镉含量增加^[2-4]。因此, 研究马铃薯中镉吸收和转运相关的基因, 培育低镉积累的马铃薯品种具有重要意义。

植物没有特异性吸收和转运镉的转运蛋白, 而是通过其他金属离子的转运蛋白来吸收和转运镉^[5]。现已报道的与镉转运相关的蛋白家族包括NRAMP家族^[6]、MTP家族^[7]、P型ATP酶家族^[8]和ZIP家族^[9]等。ZIP转运蛋白分为锌调控转运蛋白(ZRT)和铁调控转运蛋白(IRT)两类, 蛋白长度为309~476个氨基酸, 大部分ZIP蛋白具有8个潜在的跨膜结构域, 且第III和第IV跨膜区之间具有1个富含组氨酸残基的潜在金属结合域^[10]。ZIP蛋白在植物中主要负责 Fe^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Cd^{2+} 等二价金属离子的吸收和转运^[11]。目前, YU等^[12]通过对马铃薯ZIP家族基因进行全基因组综合分析, 已经鉴定出了29个ZIP家族成员。其中*StZIP12*定位于细胞质膜, 基因的表达受到低锌的诱导, 能够提高马铃薯块茎的锌含量^[13]。

叶亦心^[14]从镉富集地区种植的不同马铃薯品种中, 筛选出块茎镉含量较低的品种‘鄂薯10号’, 经高通量测序技术, 筛选出了镉胁迫响应差异表达基因。因此, 本课题组在前期研究的基础上, 从‘鄂薯10号’中克隆了1个ZIP家族基因*StZIP8-like*, 通过分析其在镉胁迫下的表达模式、亚细胞定位和在酵母中的异源表达, 探究*StZIP8-like*的镉转运功能, 旨在为进一步研究马铃薯ZIP基因家族的生物学功能, 解析马铃薯的镉转运机制提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

以Cd低积累马铃薯品种‘鄂薯10号’为材料。

1.2 马铃薯植株处理

将马铃薯组培苗的茎段转接到MS固体培养基, 于生长室(白昼温度25℃/黑夜温度18℃, 16 h光照/8 h黑暗)中培养。30 d后选取长势基本一致的幼苗移栽于试管中, 以MS液体培养基进行培养, 用60 μmol/L CdCl₂对植株进行处理, 在处理0、4、8、12、24 h时分别采集植株的根、茎、叶, 每组设置3个生物学重复, 用液氮速冻, -80℃保存。

1.3 马铃薯*StZIP8-like*基因的克隆

用Trelief® Hi-Pure Plant RNA Plus Kit试剂盒(北京擎科生物科技股份有限公司)提取‘鄂薯10号’根中总RNA, 用反转录试剂盒(Godenstar™ RT6 cDNA Synthesis Kit Ver.2, 北京擎科生物科技股份有限公司)合成cDNA的第一条链。从马铃薯基因组网站(<http://solanaceae.plantbiology.msu.edu/index.shtml>)下载*StZIP8-like*(Soltu.DM.02G0036 50.1)的CDS序列, 使用SnapGene 7.0设计特异性扩增引物(表1), 并以cDNA为模板扩增*StZIP8-like*的全长序列。扩增程序如下: 95℃预变性3 min; 95℃变性15 s, 53℃退火15 s, 72℃延伸1 min, 35个循环; 72℃再延伸10 min, 4℃保存。对PCR产物进行回收纯化后, 将其连接到克隆载体TA-Blunt-Vector上, 并转化DH5α感受态细胞。于37℃过夜培养后, 挑取阳性单克隆进行测序验证。

表 1 本研究中所使用的引物

Table 1 Primers used in this study

用途	引物名称	序列(5'—3')
基因克隆	<i>StZIP8-like</i> -F	CATGAAGAATAAACGTGTTGC
	<i>StZIP8-like</i> -R	GTCCCATATTAAATCATGGGTAT
荧光定量	qPCR- <i>StZIP8-like</i> -F	GTTGCATAGCTGAGGCGAAA
	qPCR- <i>StZIP8-like</i> -R	CCAGCAGCAGCAGAATTGAA
内参基因	qPCR- <i>StEF1α</i> -F	ATTGGAAACGGATATGCTCCA
	qPCR- <i>StEF1α</i> -R	TCCTTACCTGAACGCCTGTCA
亚细胞定位	EGFP- <i>StZIP8-like</i> -F	ctcgatcaccaaatcgactctagaaATGAAGAATAAACGTGTTGC
	EGFP- <i>StZIP8-like</i> -R	cccttgctcaccatggtaccCACTTTGGCTAAGTGGGCC
酵母异源表达	pYES- <i>StZIP8-like</i> -F	gatccagtggtggaattcATGAAGAATAAACGTGTTGCTTTTTC
	pYES- <i>StZIP8-like</i> -R	accttcgaaggccctctagaTTAGGCCCACTTAGCCAAAAGT

1.4 StZIP8-like蛋白的生物信息学分析

利用NCBI(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)在线工具CD-Search、Expasy(<https://www.expasy.org/>)、Net Phos 3.1(<http://services.healthtech.dtu.dk/services/NetPhos-3.1/>)、TMHMM 2.0(<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/>)、WoLF PSORT(<http://wolfsort.hgc.jp/>)、SOPMA(https://npsa.lyon.inserm.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=/NPSA/npsa_sopma.html)和SWISS-Model(<https://swissmodel.expasy.org/interactive/>)等网站对StZIP8-like蛋白的保守结构域、理化性质、磷酸化位点、跨膜结构域、亚细胞定位、二级结构和三级结构进行预测分析^[15]。在NCBI网站鉴定水稻、烟草和玉米等物种中的同源ZIP8氨基酸序列,利用MEGA 7.0软件采用邻接法(NJ)构建系统进化树,采用DNAMAN 6.0软件进行多序列比对。

1.5 StZIP8-like蛋白的亚细胞定位

用表1中的特异性引物EGFP-StZIP8-like-F/R扩增StZIP8-like的编码序列,在亚细胞定位载体pSuper1300-EGFP的Kpn I和Xba I位点之间导入不含终止密码子的编码序列,再将StZIP8-like-EGFP重组载体的质粒导入菌株GV3101中。用农杆菌瞬时转化法^[16],将其与质膜定位标记(*AtPIP2A-mCherry*)共转化到本氏烟草叶表皮细胞中,48 h后将其置于激光共聚焦显微镜下(Carl Zeiss AG,德国)观察荧光信号。

1.6 StZIP8-like基因的表达模式分析

参照StZIP8-like基因测序结果设计qPCR-StZIP8-like-F/R引物(表1),以Cd胁迫处理的马铃薯幼苗为材料,在LightCycle 96荧光定量仪(Roche,瑞士)上使用SYBR实时荧光定量试剂盒(2×T5 Fast qPCR Super Mix,北京擎科生物科技股份有限公司)进行RT-qPCR。以马铃薯*StEF1α*为内参基因,每个样品重复3次,通过 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法计算该基因的相对表达量^[17]。用SPSS软件对数据进行单因素方差分析,用GraphPad软件作图。

1.7 StZIP8-like酵母异源表达分析

根据酵母表达载体pYES2载体序列和酶切位点EcoR I和Hind III,利用软件SnapGene设计同源重组引物pYES-StZIP8-like-F/R(表1)。采用同源重组技

术,将克隆获得的StZIP8-like基因序列连接到线性化的pYES2载体,转入DH5 α 感受态,经验证获取含有重组载体pYES2-StZIP8-like的目的菌株。通过LiAc/PEG转化法,将pYES2及pYES2-StZIP8-like质粒导入Cd敏感型酵母突变体菌株 Δycf (BY4741, Mata, his3 Δ 1, leu2 Δ , met15 Δ 0, ura3 Δ 0, YDR135c::kanMX4),涂布在SG-Ura选择培养基(6.7 g/L的无氮氨基酸YNB, 1.15 g/L DO Supplement-ura、2%半乳糖和1.5%琼脂, pH为5.8)上生长3~5 d,经PCR鉴定得到阳性转化菌株。

将表达pYES2-StZIP8-like及空载pYES2的酵母扩大培养,测定OD_{600 nm},并按照0.400 0、0.040 0、0.004 0和0.000 4的浓度依次对菌液进行稀释。每个浓度取10 μ L的菌液,在分别含有0、10、20 μ mol/L Cd的SG-Ura固体培养基上点板,于30 $^{\circ}$ C倒置培养3~5 d后,记录菌株的生长情况^[18]。为了测定酵母的生长曲线,将酵母菌株添加至含20 μ mol/L Cd的SG-Ura液体培养基(25 mL)中培养,调节菌液初始OD_{600 nm}为0.4,在0~54 h内每6 h记录1次OD_{600 nm}^[7]。此外,参考PENG等^[6]的方法,酵母菌株用含10 μ mol/L Cd的SG-Ura液体培养基培养48 h,收集菌液,经洗涤、干燥及消解后,在ICP-MS仪(珀金埃尔默,北京)上测定酵母中的Cd浓度。

2 结果分析

2.1 马铃薯StZIP8-like基因的克隆

根据马铃薯基因组数据库中的基因序列设计特异性扩增引物PCR,以‘鄂薯10号’的cDNA为模板,扩增StZIP8-like基因的全长序列,得到1条长约1 000 bp的目的条带(图1)。经测序,发现StZIP8-like基因的碱基长度为1 044 bp,编码含347个氨基酸的蛋白质。

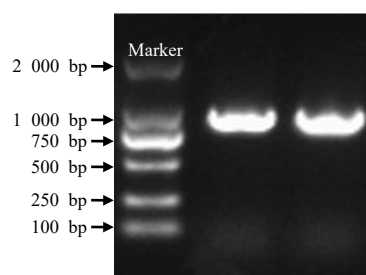


图1 马铃薯StZIP8-like基因的克隆

Fig.1 Cloning of StZIP8-like gene in potato

2.2 StZIP8-like蛋白的生物信息学分析

StZIP8-like蛋白保守结构域分析结果表明,该蛋白在25~348氨基酸位点之间含有1个非常保守ZIP结构域。理化性质分析结果表明,StZIP8-like蛋白的相对分子质量为37 122.75,蛋白分子式为C₁₆₉₉H₂₇₁₂N₄₂₄O₄₇₃S₁₈,理论等电点(pI)为6.50,不稳定指数为44.29,脂肪系数为111.35,氨基酸残基总

平均疏水系数(GRAVY)为0.553,属于弱酸性、不稳定亲水性蛋白。利用在线网站NetPhos v 3.1分析StZIP8-like蛋白的磷酸化位点,发现StZIP8-like蛋白含有34个磷酸化位点,其中包括22个丝氨酸磷酸化位点、11个苏氨酸磷酸化位点及1个酪氨酸磷酸化位点(图2)。

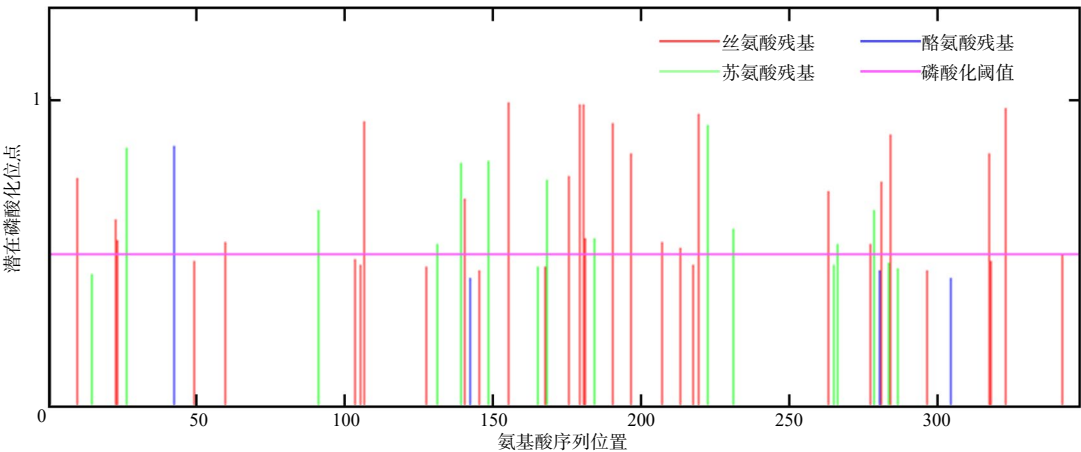


图2 StZIP8-like蛋白磷酸化位点分析结果
Fig.2 Analysis of potential phosphorylation sites in StZIP8-like protein

利用网站WoLF PSORT预测蛋白的亚细胞定位,发现StZIP8-like蛋白定位于质膜;利用TMHMM 2.0在线网站预测蛋白跨膜结构域,发现StZIP8-like

蛋白含有7个跨膜结构域(图3)。推测StZIP8-like可能是1个质膜定位蛋白。

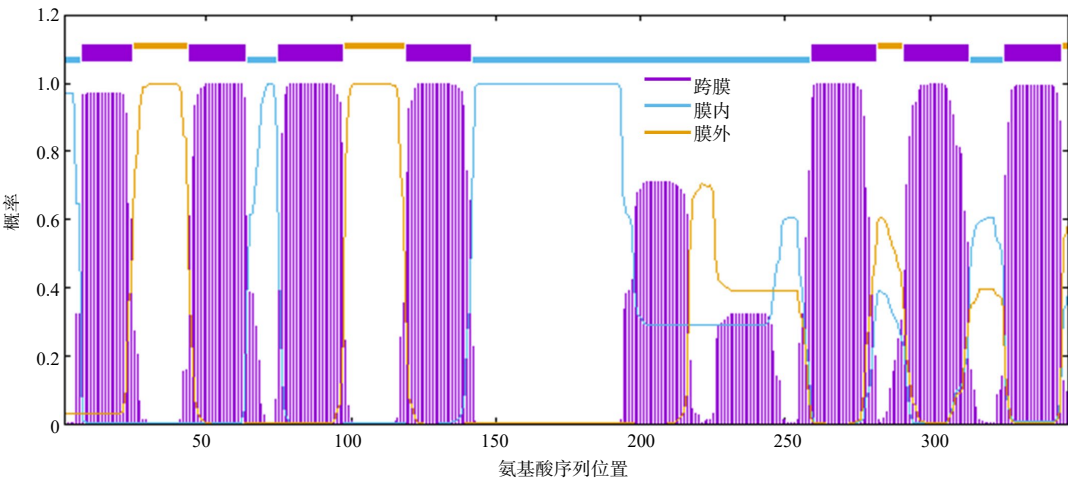


图3 StZIP8-like蛋白跨膜结构域的预测结果
Fig.3 The transmembrane domain prediction for StZIP8-like protein

在SOPMA网站上对*StZIP8-like*基因编码蛋白的二级结构进行预测(图4(a)),结果显示StZIP8-like蛋白中 α 螺旋氨基酸残基数为188个,占比54.02%;延伸链氨基酸残基数为38个,占比10.92%;无规则

卷曲氨基酸残基数为122个,占比35.06%。进一步使用SWISS-Model网站预测蛋白的三级结构,如图4(b)所示,该蛋白的 α 螺旋的氨基酸残基占比最高,与二级结构的预测结果一致。

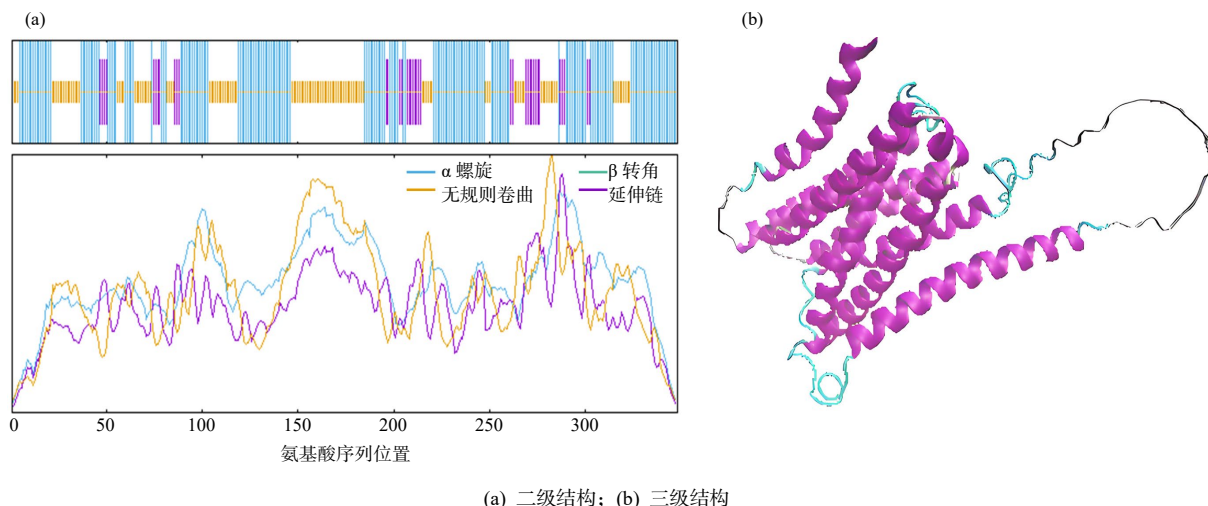


图4 StZIP8-like蛋白二级和三级结构的预测结果

Fig. 4 Secondary and tertiary structure prediction for StZIP8-like protein

将StZIP8-like蛋白的氨基酸序列与马铃薯、水稻、番茄、辣椒、烟草、大麦、小麦、玉米、高粱和二穗短柄草中的ZIP8蛋白的氨基酸序列构建进化树, 结果发现StZIP8-like蛋白与番茄SIZIP8蛋白、

烟草NtZIP8蛋白的亲缘关系较近(图5(a)). 通过进一步的氨基酸序列比对发现, 它们的氨基酸序列相似性较高(图5(b)), 说明其可能具有相似的生物学功能。

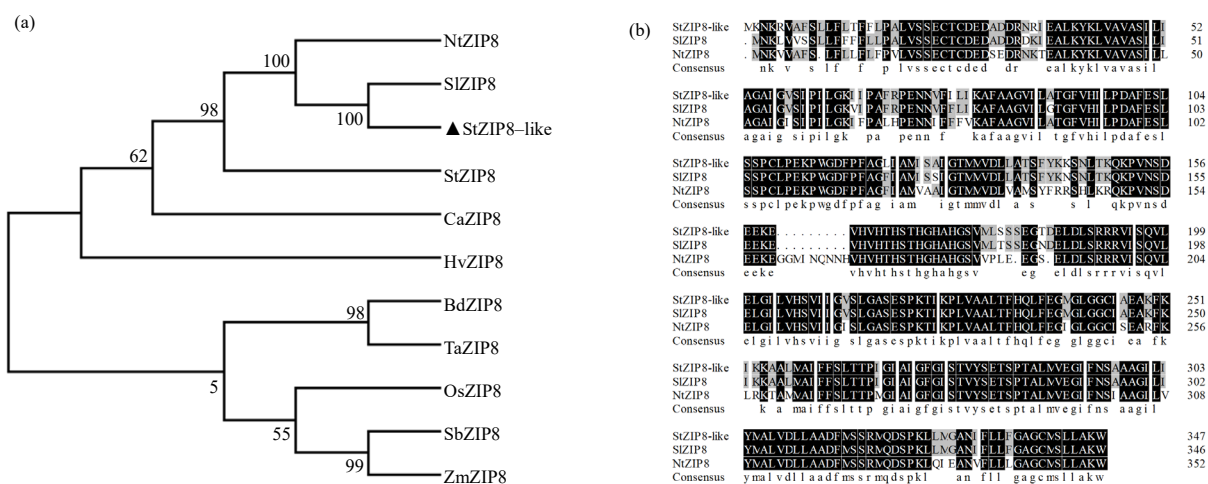


图5 StZIP8-like的系统发育分析结果

Fig.5 Phylogenetic analysis of StZIP8-like

StZIP8蛋白登录号为PGSC0003DMG400013109^[12]、OsZIP8蛋白登录号为LOC4342782^[19]、SIZIP8蛋白登录号为LOC101252338^[20]、CaZIP8蛋白登录号为LOC107870471^[21]、NtZIP8蛋白登录号为LOC107782418^[22]、HvZIP8蛋白登录号为LOC123414214^[23]、TaZIP8蛋白登录号为TraesCS2A02G143400.1^[24]、ZmZIP8蛋白登录号为LOC100281849^[25]、SbZIP8蛋白登录号为LOC8069132和BdZIP8蛋白登录号为LOC100822361^[26]。

(a) StZIP8-like蛋白的系统进化树; (b) StZIP8-like与同源蛋白SIZIP8、NtZIP8的氨基酸序列比对结果

2.3 StZIP8-like蛋白的亚细胞定位

为了确认StZIP8-like蛋白的亚细胞定位, 用EGFP的空载体作为阳性对照, 将StZIP8-like-EGFP与质膜标记AtPIP2A-mCherry在烟草叶肉细胞中共

表达, 共聚焦显微镜下观察到StZIP8-like-EGFP和AtPIP2A-mCherry的荧光信号重叠(图6), 说明StZIP8-like是1个质膜蛋白, 这与预测的结果一致。

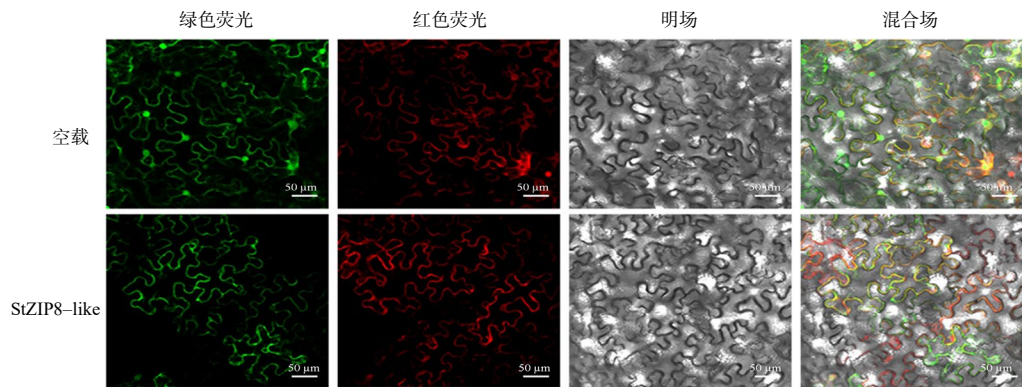


图 6 *StZIP8-like* 蛋白的亚细胞定位结果
Fig.6 Subcellular localization of *StZIP8-like* protein

2.4 *StZIP8-like*基因在镉胁迫下的表达模式

培养0 h条件下，通过分析*StZIP8-like*基因在马铃薯苗期不同组织中的表达情况，发现*StZIP8-like*在根、茎和叶中均有表达，且在根中的表达量高于其他组织的。在Cd胁迫(60 μmol/L)条件下，不同处理时间下*StZIP8-like*基因在根、茎和叶中的表达模式存在差异。如表2所示，Cd胁迫8 h时，*StZIP8-like*在根中的相对表达量达最大值，约为0 h的1.6倍；

表 2 Cd 胁迫下 *StZIP8-like* 基因的相对表达量

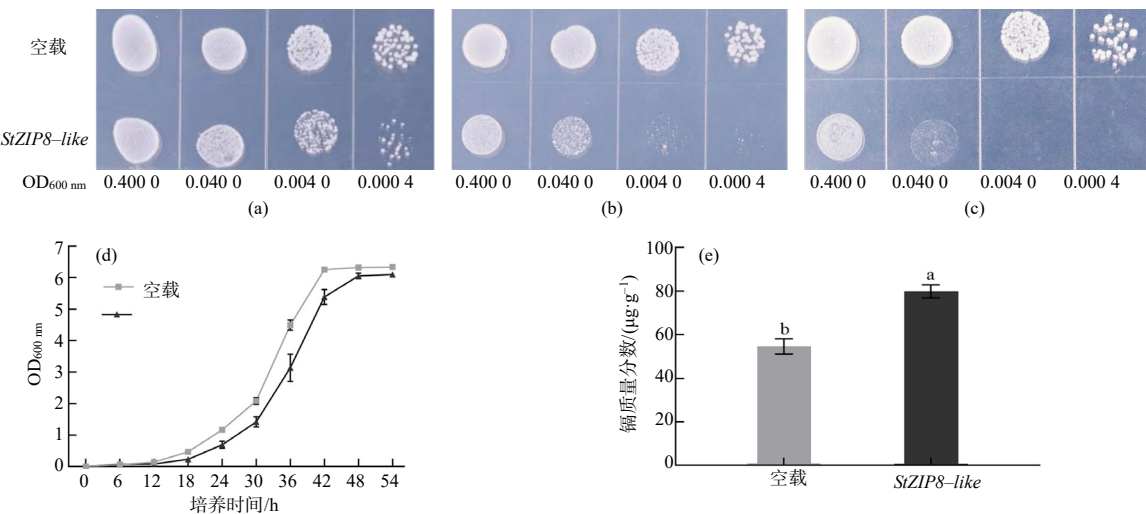
处理时间/h	相对表达量/($\times 10^{-3}$)		
	根	茎	叶
0	(2.10 $\pm$ 0.35)b	(0.57 $\pm$ 0.25)c	(0.75 $\pm$ 0.18)c
4	(3.01 $\pm$ 0.07)a	(1.59 $\pm$ 0.08)b	(2.69 $\pm$ 0.54)a
8	(3.35 $\pm$ 0.21)a	(2.84 $\pm$ 0.06)a	(2.60 $\pm$ 0.56)a
12	(1.47 $\pm$ 0.25)bc	(1.54 $\pm$ 0.07)b	(4.09 $\pm$ 0.27)a
24	(1.24 $\pm$ 0.12)c	(1.44 $\pm$ 0.21)b	(2.16 $\pm$ 0.36)b

注：同列不同字母处理间的差异有统计学意义($P < 0.05$)。

胁迫8 h时，在茎中的相对表达量也达到最大值，约为0 h的5.0倍，显著高于其他时间处理的；胁迫12 h时，在叶中的相对表达量达到最大值，约为0 h的5.5倍。以上结果说明*StZIP8-like*的表达受到Cd胁迫的诱导。

2.5 *StZIP8-like*在酵母中的功能分析

将pYES2-*StZIP8-like*载体转化至Cd敏感型酵母突变株 Δycf 中，对其进行不同浓度Cd处理，以进一步分析*StZIP8-like*的Cd转运活性。结果显示，在含有0 μmol/L Cd的SG培养基上， Δycf -pYES2和 Δycf -*StZIP8-like*在不同稀释梯度下的长势基本一致；与转入空载的酵母相比，在含有10、20 μmol/L Cd的培养基上， Δycf -*StZIP8-like*的生长受到明显抑制(图7(b)、图7(c))。生长曲线结果表明，20 μmol/L Cd处理12 h后，表达*StZIP8-like*基因的酵母生长速度逐



a、b表示处理间的差异有统计学意义($P < 0.05$)。

(a) 添加了0 μmol/L CdCl₂的平板；(b) 添加了10 μmol/L CdCl₂的平板；(c) 添加了20 μmol/L CdCl₂的平板；
(d) 在添加20 μmol/L Cd的培养基中的生长曲线；(e) 10 μmol/L Cd处理48 h的酵母细胞中的Cd含量

图7 *StZIP8-like*在酵母细胞中的Cd转运活性
Fig.7 Cd transport activity of *StZIP8-like* in yeast

渐变慢(图7(d))。此外,用10 $\mu\text{mol/L}$ Cd处理48 h后,收集酵母菌体,测量酵母中Cd含量,发现携带 Δycf -*StZIP8-like*的酵母中的Cd含量显著高于对照的(图7(e))。这说明马铃薯*StZIP8-like*在突变体酵母 Δycf 中参与Cd吸收,证明了*StZIP8-like*具有Cd转运功能。

3 结论与讨论

植物对Cd运输机制包括横向运输和纵向运输。纵向运输途径通过木质部和韧皮部,实现Cd从根向茎的转运;横向运输通过共质体和质外体途径,将Cd运输至植物根、茎和叶细胞中^[27]。质外体途径中Cd从细胞壁和细胞间隙转运;共质体途径则利用胞间连丝在细胞间运输Cd,涉及离子的跨膜转运^[5]。

ZIP转运蛋白是最一类常见的跨膜转运蛋白,广泛存在于细菌、真菌、植物和哺乳动物中,参与金属离子的吸收和运输^[28]。酵母ZRT1和拟南芥AtIRT1是最早发现的ZIP家族成员,ZRT1为酵母的锌摄取转运蛋白,AtIRT1为拟南芥的铁转运蛋白^[29-30]。AtZIP1和AtZIP2参与拟南芥Mn的转运过程,AtZIP1和AtZIP2敲除品系在缺Mn时根系发育迟缓,高锰胁迫时耐受性增强,根系Mn积累量显著增加^[31]。NtZIP11定位于质膜,是烟草的Zn转运蛋白^[32]。目前关于马铃薯ZIP家族蛋白的研究较少,而对水稻ZIP蛋白功能的研究较为深入,已鉴定出18个ZIP家族成员。学者们通过酵母异源表达试验证明,*OsIRT1*及*OsIRT2*介导Cd吸收^[33]; *OsZIP5*、*OsZIP9*和*OsZIP7*介导Zn、Cd转运^[34-35]; *OsZIP11*介导Fe转运^[32]。*OsZIP1*定位于质膜及内质网,是一种外排蛋白,可以缓解水稻受到Zn、Cu和Cd胁迫的伤害^[36]。

本研究克隆了马铃薯*StZIP8-like*基因,其开放阅读框全长1 044 bp,编码347个氨基酸,*StZIP8-like*蛋白包含1个ZIP保守结构域。氨基酸结构分析结果表明,*StZIP8-like*蛋白与大多数ZIP转运蛋白一样,也定位于质膜,含有7个跨膜结构域。系统进化树分析结果表明,*StZIP8-like*蛋白与番茄、烟草蛋白的序列相似性较高,且马铃薯、番茄、烟草都属于茄科植物,说明其具有相似的生物学功能。表达模式分析结果显示,*StZIP8-like*在马铃薯根中表达量较高,并受到Cd胁迫的显著诱导。酵母异源互补结果表明,*StZIP8-like*对Cd非常敏感,可能参与马铃薯对Cd的吸收。不同物种中ZIP8基因的功能差异较

大,如*OsZIP8*过表达使水稻根中的Zn积累增加,茎和种子中的Zn含量降低^[19]。*SmZIP8*过表达则增加烟草对Cd胁迫的耐受性^[37]。

本研究完成了对马铃薯*StZIP8-like*基因的克隆及序列特征、表达模式和Cd转运活性分析,但对于*StZIP8-like*具体功能和作用机制尚不清楚,在后期的研究工作中,将通过转基因植株来进一步验证*StZIP8-like*基因响应Cd胁迫的调控机制和功能。

参考文献:

- [1] MAHGOUB H M, EISA G A, YOUSSEF M H. Molecular, biochemical and anatomical analysis of some potato(*Solanum tuberosum* L.) cultivars growing in Egypt[J]. Journal, Genetic Engineering and Biotechnology, 2015, 13(1): 39-49.
- [2] CHEN Z F, ZHAO Y, GU L, et al. Accumulation and localization of cadmium in potato(*Solanum tuberosum*) under different soil Cd levels[J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2014, 92(6): 745-751.
- [3] 李佩华. 铅、镉胁迫对马铃薯叶绿素含量及细胞超微结构的影响[J]. 湖北农业科学, 2015, 54(16): 3974-3978.
- [4] 邓禄军, 夏锦慧, 卢扬. 不同浓度镉处理对马铃薯块茎产量及品质的影响[J]. 黑龙江农业科学, 2013(10): 42-44.
- [5] SONG Y, JIN L, WANG X J. Cadmium absorption and transportation pathways in plants[J]. International Journal of Phytoremediation, 2017, 19(2): 133-141.
- [6] PENG F, WANG C, ZHU J S, et al. Expression of TPNRAMP5, a metal transporter from Polish wheat (*Triticum polonicum* L.), enhances the accumulation of Cd, Co and Mn in transgenic *Arabidopsis* plants[J]. Planta, 2018, 247(6): 1395-1406.
- [7] 李丹丹. 马铃薯金属耐受蛋白(StMTPs)核心特征分析及StMTP8耐镉功能验证[D]. 贵阳: 贵州大学, 2022.
- [8] LIU H, ZHAO H X, WU L H, et al. Heavy metal ATPase 3(HMA3) confers cadmium hypertolerance on the cadmium/zinc hyperaccumulator *Sedum plumbizincicola*[J]. The New Phytologist, 2017, 215(2): 687-698.
- [9] ZHENG X, CHEN L, LI X F. *Arabidopsis* and rice showed a distinct pattern in ZIPs genes expression profile in response to Cd stress[J]. Botanical Studies, 2018, 59(1): 22.
- [10] 李素贞, 陈茹梅. ZIP蛋白在植物中的功能分析[J]. 生物技术通报, 2018, 34(11): 1-7.
- [11] GUERINOT M L. The ZIP family of metal transporters[J]. Biochimica et Biophysica Acta(BBA)-Biomembranes, 2000, 1465(1/2): 190-198.
- [12] YU R M, CHANG Y N, SONG Y J, et al. Genome-wide identification and expression analysis of the zinc

- transporter protein ZIP family in potato(*Solanum tuberosum*)[J]. International Journal of Agriculture and Biology, 2020, 24(6): 1533–1542.
- [13] 索海翠, 刘计涛, 王丽, 等. 马铃薯锌转运蛋白基因 *StZIP12* 调控锌吸收功能[J]. 作物学报, 2023, 49(7): 1994–2001.
- [14] 叶亦心. 马铃薯品种与器官镉积累差异的生理和分子机制研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2021.
- [15] 秦玉芝, 邢铮, 潘妃, 等. 马铃薯光响应 *StR2R3-MYB1* 基因的克隆与表达分析[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2015, 41(4): 378–384.
- [16] 张悦婧, 李颖, 王娟娟, 等. 不同转化条件对3种农杆菌GFP基因在本氏烟草中瞬时表达的影响[J]. 植物研究, 2022, 42(1): 121–129.
- [17] 王丽, 王万兴, 索海翠, 等. 马铃薯多酚氧化酶基因家族生物信息学及表达分析[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2019, 45(6): 601–610.
- [18] JIANG Y L, CHEN X, CHAI S Y, et al. *TpIRT1* from Polish wheat(*Triticum polonicum* L.) enhances the accumulation of Fe, Mn, Co, and Cd in Arabidopsis[J]. Plant Science, 2021, 312: 111058.
- [19] LEE S, KIM S A, LEE J, et al. Zinc deficiency-inducible *OsZIP8* encodes a plasma membrane-localized zinc transporter in rice[J]. Molecules and Cells, 2010, 29(6): 551–558.
- [20] 巩元勇, 赵丽华, 闫飞. 番茄ZIP基因家族全基因组鉴定及表达模式分析[J]. 东北农业科学, 2023, 48(2): 42–48, 109.
- [21] AHMAD I, RAWOOF A, PRIYANKA, et al. Diversity and expression analysis of ZIP transporters and associated metabolites under zinc and iron stress in *Capsicum*[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2023, 196: 415–430.
- [22] PALUSIŃSKA M, BARABASZ A, KOZAK K, et al. Zn/Cd status-dependent accumulation of Zn and Cd in root parts in tobacco is accompanied by specific expression of ZIP genes[J]. BMC Plant Biology, 2020, 20(1): 37.
- [23] TIONG J, MCDONALD G, GENC Y, et al. Increased expression of six ZIP family genes by zinc(Zn) deficiency is associated with enhanced uptake and root-to-shoot translocation of Zn in barley(*Hordeum vulgare*)[J]. The New Phytologist, 2015, 207(4): 1097–1109.
- [24] LI S, LIU Z H, GUO L L, et al. Genome-wide identification of wheat ZIP gene family and functional characterization of the *TaZIP13-B* in plants[J]. Frontiers in Plant Science, 2021, 12: 748146.
- [25] MONDAL T K, AHMAD GANIE S, RANA M K, et al. Genome-wide analysis of zinc transporter genes of maize(*Zea mays*)[J]. Plant Molecular Biology Reporter, 2014, 32(2): 605–616.
- [26] IVANOV R, BAUER P. Sequence and coexpression analysis of iron-regulated ZIP transporter genes reveals crossing points between iron acquisition strategies in green algae and land plants[J]. Plant and Soil, 2017, 418(1): 61–73.
- [27] LI H, LUO N, LI Y W, et al. Cadmium in rice: transport mechanisms, influencing factors, and minimizing measures[J]. Environmental Pollution, 2017, 224: 622–630.
- [28] GAITHER L A, EIDE D J. Eukaryotic zinc transporters and their regulation[J]. Biometals, 2001, 14(3/4): 251–270.
- [29] ZHAO H, EIDE D. The yeast *ZRT1* gene encodes the zinc transporter protein of a high-affinity uptake system induced by zinc limitation[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1996, 93(6): 2454–2458.
- [30] EIDE D, BRODERIUS M, FETT J, et al. A novel iron-regulated metal transporter from plants identified by functional expression in yeast[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1996, 93(11): 5624–5628.
- [31] MILNER M J, SEAMON J, CRAFT E, et al. Transport properties of members of the ZIP family in plants and their role in Zn and Mn homeostasis[J]. Journal of Experimental Botany, 2013, 64(1): 369–381.
- [32] KOZAK K, PAPIERNIAK A, BARABASZ A, et al. NtZIP11, a new Zn transporter specifically upregulated in tobacco leaves by toxic Zn level[J]. Environmental and Experimental Botany, 2019, 157: 69–78.
- [33] NAKANISHI H, OGAWA I, ISHIMARU Y, et al. Iron deficiency enhances cadmium uptake and translocation mediated by the Fe²⁺ transporters OsIRT1 and OsIRT2 in rice[J]. Soil Science and Plant Nutrition, 2010, 52(4): 464–469.
- [34] TAN L T, ZHU Y X, FAN T, et al. *OsZIP7* functions in xylem loading in roots and inter-vascular transfer in nodes to deliver Zn/Cd to grain in rice[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2019, 512(1): 112–118.
- [35] 职帅, 李畅, 陈景光, 等. 锌铁转运蛋白基因 *OsZIP5* 和 *OsZIP9* 参与水稻 Zn²⁺ 和 Cd²⁺ 的吸收和转运[J]. 分子植物育种, 2021, 19(1): 137–148.
- [36] LIU X S, FENG S J, ZHANG B Q, et al. OsZIP1 functions as a metal efflux transporter limiting excess zinc, copper and cadmium accumulation in rice[J]. BMC Plant Biology, 2019, 19(1): 283.
- [37] ZOU J H, HAN J H, WANG Y R, et al. Cytological and physiological tolerance of transgenic tobacco to Cd stress is enhanced by the ectopic expression of *SmZIP8*[J]. Plant Science, 2022, 319: 111252.

责任编辑: 毛友纯

英文编辑: 罗 维