

引用格式:

娄惠婕, 朱韬, 罗健铭, 郝晨星, 李益, 袁思婷, 韩健, 马先锋, 曹运琳. 枸橼UDP-糖基转移酶基因家族鉴定及其响应柑橘溃疡病菌侵染的表达模式分析[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2026, 52(2): 74–85.
LOU H J, ZHU T, LUO J M, HAO C X, LI Y, YUAN S T, HAN J, MA X F, CAO Y L. Identification of UDP-glycosyltransferase family genes in *Citrus medica* and their expression patterns in response to *Xanthomonas citri* subsp. *citri* infection[J]. Journal of Hunan Agricultural University(Natural Sciences), 2026, 52(2): 74–85.
投稿网址: <http://xb.hunau.edu.cn>



枸橼UDP-糖基转移酶基因家族鉴定及其响应 柑橘溃疡病菌侵染的表达模式分析

娄惠婕^{1,2}, 朱韬^{1,2}, 罗健铭^{1,2}, 郝晨星^{1,2}, 李益^{1,2}, 袁思婷^{1,2}, 韩健^{3,4}, 马先锋^{1,2,3}, 曹运琳^{1,2,3*}

(1. 湖南农业大学园艺学院 国家柑橘改良中心长沙分中心, 湖南 长沙 410128; 2. 岳麓山实验室, 湖南 长沙 410128; 3. 园艺作物种质创新与新品种选育教育部工程研究中心, 湖南 长沙 410128;
4. 湖南省农业科学院 湖南省园艺研究所, 湖南 长沙 410125)

摘要: 为鉴定枸橼(*Citrus medica*)C-05基因组中的尿苷二磷酸-糖基转移酶(UGT)基因家族成员, 探究UGT基因在抗病、抗逆反应中的作用, 基于枸橼C-05基因组信息对UGT基因家族成员进行鉴定与生物信息学分析, 并对其响应黄单胞杆菌柑橘致病亚种(*Xanthomonas citri* subsp. *Citri*, *Xcc*)侵染和其他胁迫的表达模式进行研究。结果显示: 从枸橼基因组中鉴定到56个CmUGT基因, 这些基因可能广泛参与植物生长发育、激素响应及逆境胁迫; 其编码的CmUGT蛋白可分为11个亚组。基于枸橼C-05和感病种质甜橙(*Citrus sinensis*)叶片转录组数据及RT-qPCR分析发现, *Xcc*侵染可诱导CmUGT20、CmUGT43和CmUGT44基因表达上调, 且其在枸橼C-05中的表达水平显著高于甜橙的; 在涝害胁迫、黄龙病菌与柑橘衰退病毒共侵染条件下, 甜橙UGT43基因的表达量均上调, 揭示柑橘UGT43可能在柑橘抗逆和抗病反应中发挥重要作用。

关键词: 柑橘溃疡病; 枸橼C-05; 尿苷二磷酸-糖基转移酶(UGT); 逆境胁迫

中图分类号: S436.66

文献标志码: A

文章编号: 1007-1032(2026)02-0074-12

Identification of UDP-glycosyltransferase family genes in *Citrus medica* and their expression patterns in response to *Xanthomonas citri* subsp. *citri* infection

LOU Huijie^{1,2}, ZHU Tao^{1,2}, LUO Jianming^{1,2}, HAO Chenxing^{1,2}, LI Yi^{1,2},
YUAN Siting^{1,2}, HAN Jian^{3,4}, MA Xianfeng^{1,2,3}, CAO Yunlin^{1,2,3*}

(1. National Center for Citrus Improvement-Changsha, College of Horticulture, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China; 2. Yuelushan Laboratory, Changsha, Hunan 410128, China; 3. Engineering Research Center for Horticultural Crop Germplasm Creation and New Variety Breeding, Ministry of Education, Changsha, Hunan 410128, China; 4. Hunan Horticultural Research Institute, Hunan Academy of Agricultural Sciences, Changsha, Hunan 410125, China)

Abstract: To identify the members of the UDP-glycosyltransferase(UGT) gene family in the genome of *Citrus medica* C-05 and to explore the roles of UGT genes in disease resistance and stress tolerance, the members of the UGT gene family were characterized and bioinformatic analysis was conducted based on the genomic information of *Citrus medica* C-05, and their expression profiles in response to infection by *Xanthomonas citri* subsp. *citri*(*Xcc*) and other stresses were

收稿日期: 2025-05-27

修回日期: 2025-07-08

基金项目: 湖南省自然科学基金青年学生基础科研项目(2026JJ90319); 湖南省自然科学基金项目(2025JJ60177); 湖南省教育厅科学研究项目(24B0218)

作者简介: 娄惠婕(2000—), 女, 贵州遵义人, 硕士研究生, 主要从事园艺学研究, mili86900658@163.com; *通信作者, 曹运琳, 博士, 讲师, 主要从事柑橘特色种质资源的挖掘利用与新品种选育、柑橘危险性病害的应用基础等研究, yunlincao@hunau.edu.cn

analyzed. The results showed that a total of 56 *UGT* gene family members were identified in the *Citrus medica* genome, which were inferred to be widely involved in plant growth and development, hormone responses, and stress tolerance. The CmUGT proteins were further classified into 11 subgroups. Based on transcriptome data from leaves of resistant *Citrus medica* C-05 and susceptible *Citrus sinensis*, as well as RT-qPCR validation, three genes including *CmUGT20*, *CmUGT43* and *CmUGT44* were significantly upregulated upon *Xcc* infection, and their expression levels in *Citrus medica* C-05 were markedly higher than those in *Citrus sinensis*. The expression of *Citrus sinensis UGT43* gene was found to be upregulated under waterlogging stress and co-infection with *Candidatus Liberibacter asiaticus* and citrus tristeza virus. It was revealed that *UGT43* might play an important role in regulating citrus stress tolerance and disease resistance.

Keywords: citrus bacterial canker; *Citrus medica* C-05; UDP-glycosyltransferase(UGT); adversity stress

柑橘溃疡病是一种严重影响柑橘生产的世界检疫性病害,由黄单胞杆菌柑橘致病亚种(*Xanthomonas citri* subsp. *Citri*, *Xcc*)侵染引发。该病害最早发现于印度阿萨姆等地区^[1],在我国主要分布于广东、广西及湖南等柑橘产区。柑橘溃疡病是一种极易传播且难以根治的病害,可侵染柑橘的枝干、叶片和果实,造成叶片黄化、落叶、枝梢枯萎,削弱树势,严重者可造成果实脱落,影响产量及经济价值^[2-3]。*Xcc*几乎侵染所有栽培柑橘种质,目前主要通过选用无病苗木并配合化学药剂喷施来进行防治,春雷王铜、噁森铜与吡唑醚菌酯等化学品常被用于防治柑橘溃疡病^[4]。过度使用化学药剂危害显著:不仅会对环境造成不良影响,杀菌剂的频繁使用还会使黄单胞菌属产生铜耐药菌株,对果园生态系统的长期稳定及可持续发展构成了威胁。为降低化学药剂带来的抗性风险,开发植物源抑菌剂也是研究热点之一,如菟丝子乙酸乙酯提取物对柑橘溃疡病表现出一定的抑制活性,但抑菌效果有限且未开展田间应用验证^[5]。因此,挖掘柑橘溃疡病抗性基因,通过分子手段培育抗病新品种,才是从根源上降低该病害对柑橘产业影响的关键举措^[6]。

枸橼(*Citrus medica*)C-05是柑橘属中具有稳定溃疡病抗性的特殊种质,将*Xcc*接种至枸橼C-05叶片后,其接种部位并未呈现典型“火山口”状突起,周边区域也无黄绿色晕圈环绕^[7]。与之相反,枸橼C-05叶片迅速触发过敏性坏死反应,随着病程发展,逐步形成褐变坏死斑。枸橼C-05特异的抗病表现,为探究柑橘溃疡病的发病机制、植物抗病防御途径,以及后续培育高抗病性的柑橘品种,提供了不可多得的种质资源^[8-9]。

植物尿苷二磷酸-糖基转移酶(UDP-glycosyltransferase, UGT)家族在植物的生命活动中具有广

泛而重要的生物学功能,通过对底物的糖基化修饰,UGT家族成员能够影响植物体内各种生物活性分子的性质、功能和分布^[10],进而精细调控植物的生长发育进程及其对环境变化的响应机制^[11-13],包括植物次生代谢、抗逆等多个方面^[14-15]。例如,拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中*UGT76D1*能被*Pseudomonas syringae* pv. tomato DC3000(*Pst* DC3000)诱导表达。该基因超表达导致水杨酸(SA)大量积累,病原体相关基因的表达显著上调并诱发超敏反应^[16]。在水稻(*Oryza sativa* L.)中,*OsF3H03*能与*OsUGT74H4*相互作用,正调控水稻对细菌条斑病的感病性,同时可能通过糖基化修饰负调控SA介导的水稻防御反应^[17]。此外,柑橘*UGT72A*家族成员*CitUGT72AZ4*参与黄酮糖苷的生物合成,其表达水平与柑橘果实中黄酮糖苷的含量密切相关。在茶树(*Camellia sinensis* L.)中,*CsUGT78A14*能够增强黄酮类化合物积累和活性氧清除能力,从而提高植物对冷胁迫的耐受性^[18]。然而,目前枸橼*UGT*基因家族成员仍有待鉴定,而且其响应*Xcc*侵染的表达模式尚不明确。

本研究拟对枸橼*UGT*基因家族成员进行鉴定,并从保守基序、顺式作用元件等方面分析成员特性;结合*Xcc*侵染后抗病种质枸橼C-05和感病种质甜橙(*Citrus sinensis*)的转录组数据,初步筛选出在枸橼C-05中特异性上调的基因,并探究溃疡病相关基因在其他逆境胁迫中的表达模式。

1 材料与方法

1.1 植物材料

本研究选用枸橼C-05、甜橙的无病毒实生苗作为试验材料,将其置于湖南农业大学国家柑橘改良中心长沙分中心的检疫性病害植物病理温室室内进

行培养。

1.2 菌种

本研究采用亚洲A系DL509菌株,该菌株于-80℃低温保存。试验前经LB固体培养基划线活化,挑取单菌落转接至LB液体培养基振荡培养;培养结束后离心收集菌体,以MgCl₂溶液重悬并调整菌液吸光度(OD)至0.6(菌液浓度约10⁹ CFU/mL)。将菌液按照10倍梯度稀释,选取浓度为10⁵ CFU/mL的菌液开展注射接种试验。

1.3 基因组数据

从柑橘泛基因组育种数据库CPBD(<http://citrus.hzau.edu.cn/>)获取枸橼的基因组(版本为RL.v1.0.genome.fa),用于后续生物信息学分析。

1.4 枸橼UGT基因家族的鉴定及生物信息学分析

采用基于隐马尔可夫模型(HMM)的生物信息学方法鉴定枸橼UGT基因。具体而言,从Pfam数据库(<http://pfam.xfam.org/>)中检索到与UGT保守结构域(PF00201)相对应的HMM文件,以该文件为查询序列,利用在线HMMER工具(<https://www.ebi.ac.uk/Tools/hmmer/>)对柑橘蛋白质序列数据库进行HMM检索。同时,对枸橼和拟南芥UGT蛋白序列进行本地BLAST比对。使用NCBI Batch CD-Search工具(期望值 $E < 0.01$)进一步确认所获得的蛋白质序列含有PSPG保守结构域。

整合枸橼与拟南芥的UGT蛋白序列,使用MEGA 11软件进行序列比对并手动修剪;采用邻接法(NJ)构建系统发育树,自举检验(bootstrap)值设置为1 000次重复。将进化树结果上传至ITOL平台(<https://itol.embl.de/>)进行可视化展示,并以不同色带区分UGT蛋白各亚组。

使用ExPASy(<https://www.expasy.org/>)进一步预测分析UGT成员的理化性质,包括蛋白序列长度、蛋白等电点(pI)和相对分子质量(MW)等,以期为后续试验提供参考。

将56个CmUGT蛋白序列上传至MEME Suite网站(<https://meme-suite.org/meme/tools/meme>)并对其进行保守基序分析;根据基因组注释文件构建CmUGT的基因结构图谱,结果均通过TBtools可视化呈现。

从枸橼基因组中提取起始密码子ATG上游2 000 bp的序列,利用Plant CARE软件完成CmUGT启动子的顺式元件组成分析,包括元件类型、数量和具体位置。

1.5 甜橙及枸橼C-05中响应Xcc侵染表达的UGT基因家族转录组分析

从接种Xcc的枸橼C-05及甜橙叶片转录组数据中提取UGT基因表达量标准化指标(FPKM值),使用TBtools软件进行基因表达矩阵热图分析,选择在甜橙和枸橼C-05中差异表达且在枸橼C-05中显著上调的基因进行RT-qPCR验证。

1.6 RT-qPCR引物设计与表达验证

基于NCBI Primer-BLAST工具,针对可能响应Xcc侵染的UGT相关基因设计特异性引物(表1),并采用实时荧光定量PCR仪(Bio-Rad CFX 96 Touch)测定相对表达量,选用EF-1 α 作为内参基因。实验前将cDNA样本浓度统一调整至50 ng/ μ L。

采用2^{- $\Delta\Delta$ C_T}法计算基因相对表达量,运用IBM SPSS Statistics 20进行单因素方差分析,使用GraphPad Prism 9.5绘图。

表1 枸橼UGT候选基因的引物序列

Table 1 Primer sequences of the citron UGT gene	
引物名称	引物序列(5'-3')
qPCR-EF1 α -F	GTAACCAAGTCTGCTGCCAAG
qPCR-EF1 α -R	GACCCAAACACCCAACACATT
qPCR-CmUGT20-F	AGTGATCGGACGGGAAGAGA
qPCR-CmUGT20-R	CCAATTCTCGGGAGGCACTT
qPCR-CmUGT28-F	TCCAAACAAAATGATCGGGCG
qPCR-CmUGT28-R	CGAAGGGAGGTGATACGCAC
qPCR-CmUGT43-F	CCACACCTGAAAGCTTTGGC
qPCR-CmUGT43-R	GGATCGTCTTCGTCCTCCATCC
qPCR-CmUGT44-F	TGTGGTTGGAGTTCGTTGCT
qPCR-CmUGT44-R	TGTTGGCTGATCGCTCCATT

1.7 候选基因在生物胁迫及非生物胁迫下的表达分析

本研究所用转录组数据均下载自NCBI公共数据库[19-20]。利用TBtools的Blast zone功能检索候选基因的同源序列并提取表达量数据,经标准化处理后,借助软件Heatmap模块完成可视化分析。

2 结果与分析

2.1 枸橼UGT基因鉴定及UGT蛋白系统发育分析结果

基于枸橼UGT蛋白保守结构域(PF00201)对应的HMM文件,在枸橼基因组中共鉴定到56个UGT基因家族成员。为明确枸橼CmUGT蛋白的进化特征,将其与拟南芥AtUGT蛋白共同构建系统发育

树。结果(图1)表明,AtUGT蛋白和CmUGT蛋白在系统发育树上可分为11个分支(A~C组、E~L组)。其中,A组含11个CmUGT蛋白,B组含3个,C组含1个,E组含11个,F组含2个,G组含4个,H组含2个,I组含2个,J组含3个,K组含1个,L组含15个;D组、M组和N组无CmUGT蛋白;CmUGT55在拟南芥中无近缘蛋白,未分组。

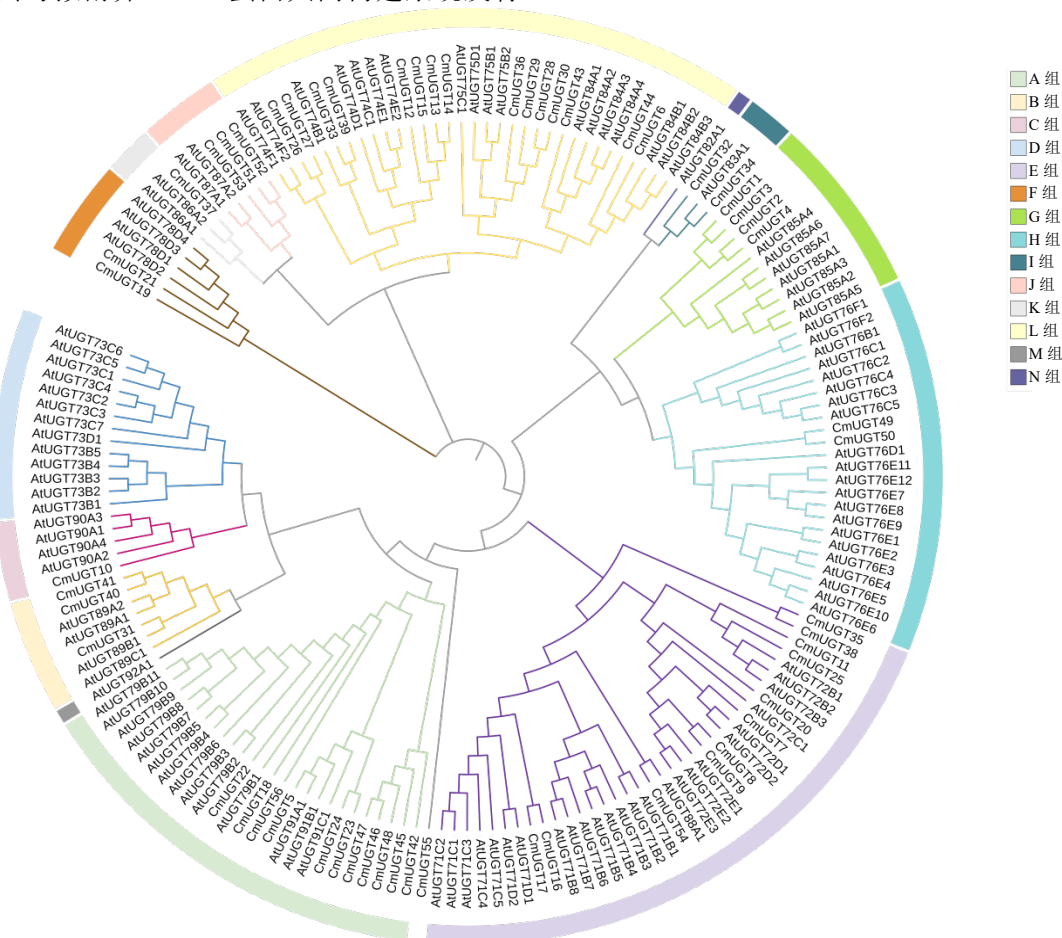


图1 拟南芥和枸橼UGT蛋白的系统发育树

Fig. 1 Phylogenetic tree of *Arabidopsis thaliana* and *Citrus medica* UGT proteins

2.2 枸橼UGT蛋白家族成员理化性质分析结果

由表2可见,CmUGT家族成员的蛋白序列长度呈现显著差异,其氨基酸残基数量范围为138~873 aa,平均值为442.80 aa。CmUGT家族成员的相对分子质量范围为 $1.544 \times 10^4 \sim 9.747 \times 10^4$,平均相对分子质量为 4.939×10^4 ,反映出该家族蛋白在分子大小上存在较大跨度。理论等电点(pI)分析结果表明,CmUGT家族成员的pI为4.69~8.78,pI平均值为5.71。根据pI

可将该家族蛋白划分为酸性蛋白(54个)和碱性蛋白(2个),其中,CmUGT45的pI最高,为8.78,表现出较强的碱性特征;而CmUGT27的pI最低,为4.69,属于酸性蛋白。此外,CmUGT家族成员的不稳定指数范围为26.78~54.16,该指标可用于评估蛋白的稳定性。疏水指数分析结果表明,75%的CmUGT家族成员为亲水蛋白,其疏水指数为负值,表明这些蛋白在水溶液中更倾向于与水分子相互作用,呈现出较好的溶解性。

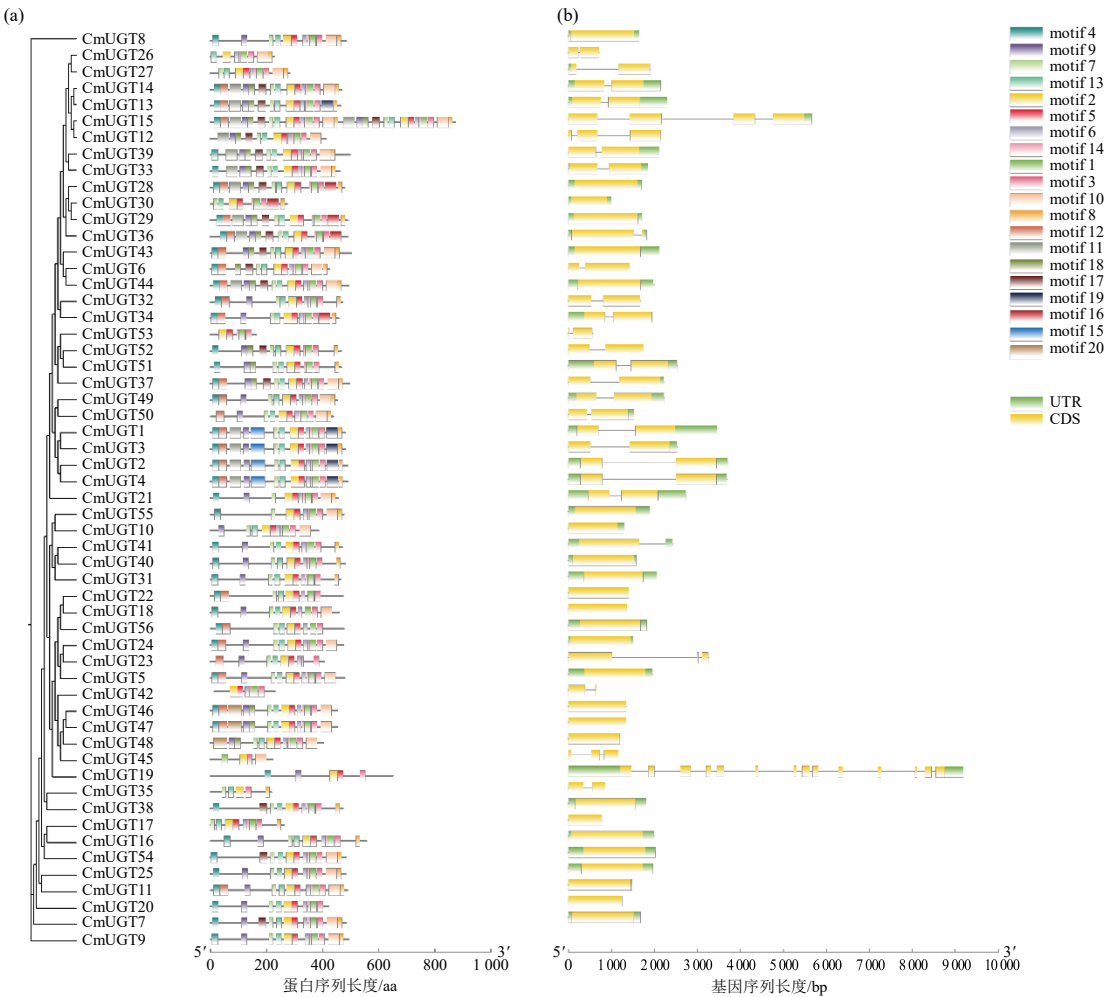
表2 CmUGT蛋白理化性质

Table 2 Physical and chemical properties of CmUGT protein						
理化指标	分布范围	最大值	平均值	最小值 对应蛋白	最大值 对应蛋白	分类统计
氨基酸序列长度/aa	138~873	873	442.80	CmUGT23	CmUGT15	—
相对分子质量/10 ⁴	1.544~9.747	9.747	4.939	CmUGT23	CmUGT15	—
等电点(pI)	4.69~8.78	8.78	5.71	CmUGT27	CmUGT45	酸性蛋白54个, 碱性蛋白2个
不稳定系数	26.78~54.16	54.16	41.76	CmUGT45	CmUGT49	稳定蛋白23个, 不稳定蛋白33个
疏水指数	-0.391~0.170	0.170	-0.114	CmUGT29	CmUGT46	亲水蛋白42个, 疏水蛋白14个
带负电残基数/aa	15~116	116	54	CmUGT23	CmUGT15	—
带正电残基数/aa	15~84	84	43	CmUGT23	CmUGT15	—

2.3 枸橼糖基转移酶基因家族成员保守基序和基因结构分析结果

本研究中, 共鉴定出20个柑橘特异性保守基序(motif)(图2), 这些基序可能参与UGT蛋白特定功能的行使或结构稳定性的维持。由图2(a)可见, 每个

UGT蛋白包含多种基序组合, 反映了蛋白结构的复杂性和功能的多样性。由图2(b)可见, 非翻译区(UTR)和编码区(CDS)的分布和长度在56个*CmUGT*中变化多样, 不同的结构可能影响*CmUGT*表达水平、转录本稳定性以及最终翻译出的蛋白的结构和功能。



(a) 基于56个CmUGT蛋白质序列构建的系统发育树及蛋白保守结构域; (b) *CmUGT*基因结构

图2 枸橼UDP-糖基转移酶基因家族成员的保守基序和基因结构

Fig. 2 Conserved motifs and gene structures of members of the citron UDP-glycosyltransferase gene family

由图2还可知: motif 2和motif 3在所有UGT蛋白中均广泛存在, 结合结构域预测结果(图3), 证实这2个基序对应UGT家族的保守结构域PSPG-box。该结构域作为CmUGT家族的关键功能结构域, 在底

物识别、糖基供体结合以及催化反应等过程中发挥着核心作用^[21], 其高度保守性反映了CmUGT家族成员在进化过程中的功能约束。

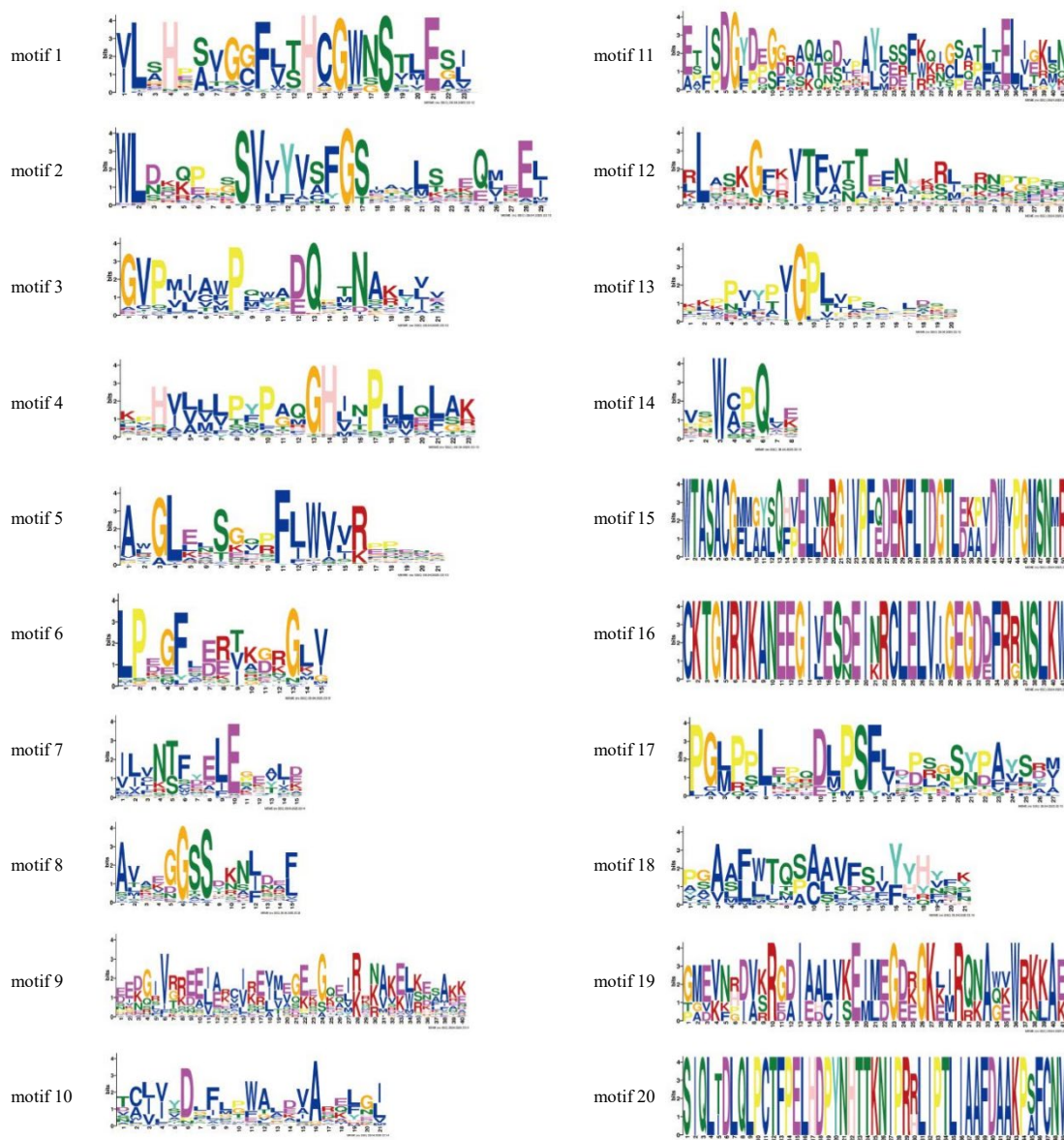


图3 枸橼UGT蛋白家族成员20个保守基序的氨基酸序列

Fig. 3 Amino acid sequences of 20 conserved motifs from citrus UGT family proteins

2.4 枸橼糖基转移酶基因家族成员顺式作用元件分析结果

顺式作用元件包括启动子、增强子、调控序列和可诱导元件等, 是调控基因表达、影响生物体各

项生理活动的关键要素^[22]。对枸橼UGT基因家族成员的顺式作用元件进行分析, 共鉴定出与植株生长发育、激素及逆境胁迫等相关的18类顺式作用元件, 其数量与具体位置分布见图4。



(a) *CmUGT*基因启动子中各顺式作用元件分布位置; (b) *CmUGT*基因中顺式作用元件的数量分布

图4 枸橼糖基转移酶基因家族成员的顺式作用元件分析结果

Fig. 4 Cis-acting element analysis result of members of the citron glycosyltransferase gene family

由图4(a)可见, *CmUGT*基因启动子区域顺式作用元件种类多样, 参与光响应的Box 4和G-Box、参与厌氧响应的ARE及胁迫响应相关的MYB、MYC结合位点等元件几乎分布于所有*CmUGT*基因的启动子序列中。激素响应元件在*CmUGT*家族成员中分布广泛, 这些元件可能参与植物激素信号转导, 调节*CmUGT*基因表达。例如, 赤霉素信号通过GARE-motif元件调控相关糖基转移酶基因表达, 影响植物的生长进程; 而脱落酸信号在逆境条件下通过ABRE元件调节基因表达, 参与植物的抗逆反应^[23]。结果(图4)显示, 激素对*CmUGT*基因表达调控具有重要意义。不同*CmUGT*基因在顺式作用元件的种类和数量上存在差异(图4(b)), 这可能反映了它们在表

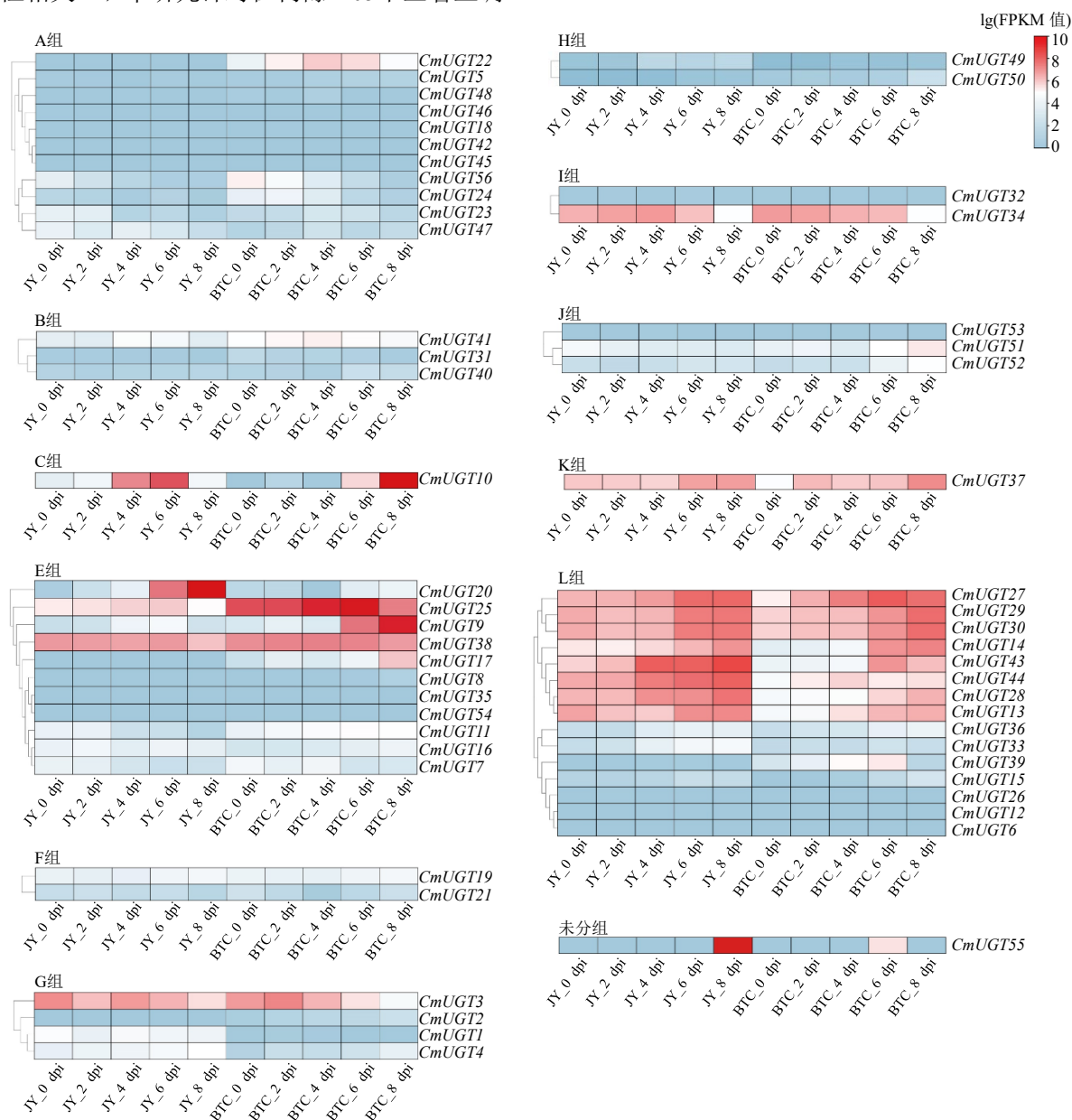
达调控机制上的复杂性差异。

2.5 枸橼UGT基因受Xcc诱导表达的热图及趋势分析结果

利用感病种质甜橙和抗病种质枸橼C-05叶片转录组测序数据, 对枸橼56个*CmUGT*基因的表达变化进行系统分析。结果(图5)显示, *CmUGT9*、*CmUGT22*在甜橙中的同源基因受*Xcc*诱导特异性上调, 其表达水平明显高于枸橼C-05的; *CmUGT14*、*CmUGT27*、*CmUGT29*、*CmUGT37*和*CmUGT38*在这2个种质中均受*Xcc*诱导表达。在接种后2~8 d, 枸橼C-05中*CmUGT28*、*CmUGT43*和*CmUGT44*受*Xcc*诱导特异性上调且维持高表达水平, *CmUGT20*的相对表达量在接种后6~8 d持续升高, 且其表达水平均显

著高于同时期甜橙的(图5)。研究表明,在枸橼C-05和甜橙中差异表达的候选基因可能与柑橘溃疡病抗病性相关^[24],本研究针对在枸橼C-05中显著上调

表达的4个基因即*CmUGT20*、*CmUGT28*、*CmUGT43*和*CmUGT44*,进行下一步分析。



JY表示枸橼C-05; BTC表示甜橙; 0 dpi表示未接种*Xcc*; 2 dpi、4 dpi、6 dpi、8 dpi分别表示接种*Xcc*后2、4、6、8 d。

图5 枸橼*CmUGT*受*Xcc*诱导表达的热图

Fig. 5 Heatmap of the expression of members of the citron *CmUGT* genes induced by *Xcc*

2.6 *CmUGT*响应柑橘溃疡病菌侵染的RT-qPCR验证结果

RT-qPCR结果(图6)表明,在*Xcc*诱导下,*CmUGT20*、*CmUGT28*、*CmUGT43*和*CmUGT44*这4个基因的表达水平在2个种质中均有不同程度的升高。接种*Xcc*后,枸橼C-05中*CmUGT20*、*CmUGT43*、*CmUGT44*基因的相对表达量均显著高于甜橙的,且

在入侵后期维持在相对较高的表达水平;在6 dpi时这3个基因的相对表达量达到最高。接种*Xcc*后,*CmUGT28*基因的相对表达量在甜橙及枸橼C-05中均有一定程度的上调,但其在2个种质中的差异并不显著。据此推测,*CmUGT20*、*CmUGT43*、*CmUGT44*可能在枸橼C-05抵御*Xcc*入侵及定殖过程中发挥一定作用。

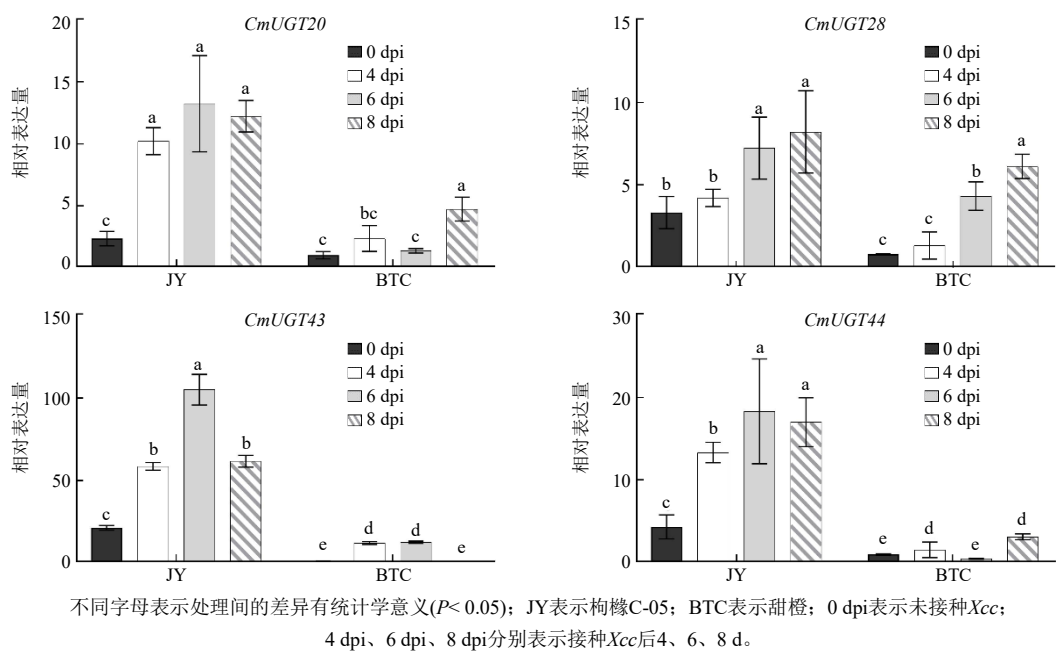


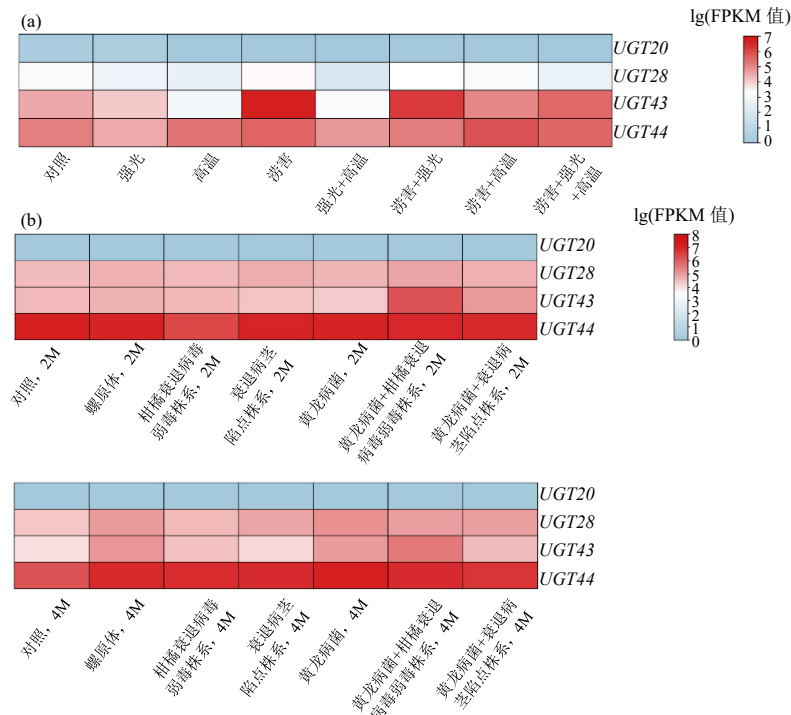
图6 不同柑橘种质UGT候选基因响应柑橘溃疡病菌侵染的表达水平

Fig. 6 Expression levels of *UGT* candidate genes in different citrus germplasm in response to *Xcc* infestation in citrus

2.7 *CmUGT*在非生物胁迫及生物胁迫下的表达分析结果

在柑橘遭受生物胁迫及非生物胁迫的转录组数据中,对4个候选基因进行检索及比对,分析其表达模式。结果(图7)表明, *UGT20*、*UGT28*和*UGT44*在各处理组与对照组中的相对表达量变化较小,推

测这3个基因在植株响应高温、涝害及黄龙病菌侵染的相关通路中的参与度较低。在柑橘植株受到涝害胁迫以及涝害和强光共同胁迫的情况下, *UGT43*的相对表达量较对照组有明显上调趋势。在卡里佐枳橙(*Poncirus trifoliata* × *C. sinensis*)砧木上分别接种柑橘衰退病毒(citrus tristeza virus, CTV)不同分离



2 M和4 M分别代表嫁接后2个月、4个月。

(a) 非生物胁迫; (b) 生物胁迫

图7 *CmUGT*响应非生物胁迫及生物胁迫下的表达分析

Fig. 7 Expression analysis of candidate *CmUGT* in response to abiotic stresses and biotic stresses

株系、柑橘螺原体(*Spiroplasma citri*)、黄龙病菌(*Candidatus Liberibacter asiaticus*, CLas),同时设置多种病菌混合接种处理,对接穗样品开展转录组测序分析。结果表明(图7),黄龙病菌与柑橘衰退病毒弱毒株系共同接种后进行嫁接处理,接穗样品中*UGT43*的相对表达量在接种后2个月和4个月均上调,且接种后2个月的相对表达量显著高于对照组的,表明其在柑橘应对此类生物胁迫时发挥作用,可能参与相关抗逆抗病通路。

3 讨论

本研究中,通过系统分析枸橼*UGT*基因家族成员,发现其分布于11个分支(A~C组、E~L组)中,与拟南芥*UGT*家族的分类体系较一致,但缺乏D、M、N组成员,未发现新组成员。值得注意的是,拟南芥D组成员*UGT73C*已被证实参与类黄酮-O-糖苷的生物合成^[25],枸橼中该亚组的完全缺失暗示其可能演化出替代性的糖基化调控途径,也可能源于不同物种对次生代谢需求的适应性选择^[26-27]。H组包含2个成员,与拟南芥*UGT76*亚组邻近,该亚组在拟南芥中被证实与水杨酸(SA)的糖基化修饰相关,可能通过调控SA的活性形式平衡免疫与生长。在柑橘研究领域,学者们对克里曼丁橘(*Citrus clementina*)基因组中的*CitUGT*基因家族开展了深入探究,共鉴定出136个*CitUGT*基因^[28]。该家族不仅包含在拟南芥中报道的14个保守分组(A~N组),还包括在桃、葡萄等物种中发现的4个新分组(O~R组)。本研究发现,*CmUGT55*在拟南芥中未检索到同源基因,其是否与其他物种中新分组的基因存在亲缘关系,仍有待后续验证。此外,本研究观察到*UGT*基因家族L组发生明显扩张,该组共包含15个成员,成员数量显著高于其他进化分支的。结合柑橘类植物富含萜类化合物(如柠檬苦素)和酚类(如类黄酮)等物质的特性^[29-30]可知,这种基因家族的规模化扩张可能与柑橘属植物适应特殊生态位的进化过程密切相关。类似现象在大豆(*Glycine max*)*UGT*基因家族中也有报道,大豆中*UGT*基因通过扩张(如*GmUGT73C20*和*GmUGT88E19*)实现异黄酮糖基化途径的多样化,从而提高代谢产物的环境适应性^[31]。结合2个不同抗感性柑橘种质接种*Xcc*后的叶片转录组数据,发现*CmUGT43*和*CmUGT44*这2个L组成员在抗病种质枸

橼C-05中可被*Xcc*诱导特异性上调表达,后续将重点探究二者是否能通过功能分化参与一些特异性代谢产物的糖基化修饰,进而参与枸橼C-05对柑橘溃疡病的抗性调控过程。此外,植物在受到生物胁迫(如病原菌侵染)或非生物胁迫(如低温、干旱)时,基因启动子区域的关键作用元件可与相应转录因子结合,启动基因表达,促进植物发生防御反应,如合成抗逆相关的代谢产物,增强植物对逆境的耐受性等^[32-34]。本研究发现,核心启动子元件、逆境胁迫及激素响应等顺式作用元件在*CmUGT*基因中分布广泛,如参与胁迫响应的MYB、MYC结合位点,参与厌氧响应的ARE等元件。据此推测,逆境胁迫和激素诱导在调控*CmUGT*表达以应对环境变化的过程中发挥重要作用(图4)。

探究柑橘溃疡病抗病、感病品种的生理差异,对深入解析其抗性机制具有重要意义^[35-36]。本研究选取抗病种质枸橼C-05和感病种质甜橙,基于接种*Xcc*后不同时间点的叶片转录组数据,分析筛选出枸橼C-05中4个对*Xcc*侵染呈特异性响应的候选基因即*CmUGT20*、*CmUGT28*、*CmUGT43*、*CmUGT44*,并对这些基因在不同抗感性种质之间的表达进行RT-qPCR验证,发现*CmUGT20*、*CmUGT43*、*CmUGT44*在枸橼C-05中受*Xcc*诱导显著上调,而在易感种质甜橙中无明显响应,且不同抗性品种受影响强度及响应时间存在较大差异,由此推测这些基因在*Xcc*入侵时可能对其产生影响。此外,极端温度(高温)、强光、涝害等也会影响柑橘生长,干扰植株光合作用、水分和养分吸收等生理过程,进而影响其产量与品质^[37-38];感染柑橘衰退病毒(CTV)可导致树体生长受抑制、枝干凹陷,严重时可导致植株死亡^[39-40]。对4个候选*CmUGT*基因在柑橘遭受上述胁迫时的表达水平进行分析,发现基因*UGT43*参与柑橘对涝害、黄龙病菌与柑橘衰退病毒共侵染等胁迫的响应过程。研究^[41]表明,宽皮橘(*Citrus mandarins*)中*CitLGT*与*CmUGT43*序列高度相似,其转录水平与柑橘体内柠檬苦素葡萄糖苷含量变化趋势一致,说明*CitLGT*可通过转录调控介导果实中柠檬苦素苷元向柠檬苦素葡萄糖苷的转化。柠檬苦素是柑橘类植物抵御外界生物侵害的重要防御物质,不仅能对病原菌、昆虫等产生毒害作用,抑制多种病原菌的生长和侵染,还能干扰昆虫的取食和

繁殖行为^[42-43], 后续将重点研究*CmUGT43*是否参与柠檬苦素代谢调控, 以及该基因与枸橼溃疡病抗性进化的内在关联, 并借助基因编辑技术解析基因功能, 以期为柑橘抗逆育种提供参考。

4 结论

本研究在抗柑橘溃疡病种质枸橼C-05中共鉴定出56个尿苷二磷酸-糖基转移酶(UGT)基因家族成员, 系统发育分析结果表明, 枸橼*CmUGT*基因可划分为11个分支(A~C组、E~L组), 广泛参与植物生长发育、激素响应及逆境胁迫。通过对比枸橼C-05和感病种质甜橙叶片转录组数据并经RT-qPCR验证发现, *CmUGT20*、*CmUGT43*和*CmUGT44*这3个基因受*Xcc*诱导上调表达, 且其在枸橼C-05中的表达水平显著高于甜橙的。进一步分析公共转录组数据发现, *CmUGT43*可响应涝害胁迫, 且其在黄龙病菌与柑橘衰退病毒共侵染条件下亦呈现上调表达。以上结果表明, 柑橘*UGT43*可能在柑橘抗逆和抗病反应中发挥重要作用。

参考文献:

- [1] NAQVI S A H, WANG J, MALIK M T, et al. Citrus canker: distribution, taxonomy, epidemiology, disease cycle, pathogen biology, detection, and management: a critical review and future research agenda[J]. *Agronomy*, 2022, 12(5): 1075.
- [2] 王志静, 吴黎明, 宋放, 等. 柑橘溃疡病发生规律及综合防治技术[J]. *湖北农业科学*, 2020, 59(24): 122-123, 127.
- [3] 罗旭钊, 朱韬, 郝晨星, 等. 湖南柑橘溃疡病菌的多态性鉴定及致病力分析[J]. *湖南农业大学学报(自然科学版)*, 2022, 48(6): 691-698.
- [4] 刘乐, 黄晓峰, 何孙军, 等. 柑橘溃疡病几种常用杀菌剂田间药效比较[J]. *中国南方果树*, 2025, 54(2): 56-59.
- [5] 廖石榴, 尹维, 廖晓兰, 等. 苋菜乙酸乙酯提取物对柑橘溃疡病菌的抑制及机理研究[J]. *湖南农业大学学报(自然科学版)*, 2017, 43(5): 544-550.
- [6] 李强, 祁静静, 窦万福, 等. 柑橘超量表达CsNBS-LRR通过SA信号途径增强对溃疡病抗性[J]. *园艺学报*, 2020, 47(5): 817-826.
- [7] 朱志媚, 谭李梅, 徐静, 等. 枸橼种质对柑橘溃疡病的抗性鉴定[J]. *中国果树*, 2021(1): 43-49, 110-111.
- [8] DENG Z N, XU L, LI D Z, et al. Screening *Citrus* genotypes for resistance to canker disease(*Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*)[J]. *Plant Breeding*, 2010, 129(3): 341-345.
- [9] FU H Y, ZHAO M M, XU J, et al. Citron C-05 inhibits both the penetration and colonization of *Xanthomonas citri* subsp. *citri* to achieve resistance to citrus canker disease[J]. *Horticulture Research*, 2020, 7(1): 58.
- [10] PARRA-ROJAS J P, LARGO-GOSENS A, CARRASCO T, et al. New steps in mucilage biosynthesis revealed by analysis of the transcriptome of the UDP-rhamnose/UDP-galactose transporter 2 mutant[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2019, 70(19): 5071-5088.
- [11] 宋小凤. 茶树EGCG生物合成基因*CsLAR*和*CsUGT84A*的转录调控机制研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2022.
- [12] LIU X G, LIN C L, MA X D, et al. Functional characterization of a flavonoid glycosyltransferase in sweet orange(*Citrus sinensis*)[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2018, 9: 166.
- [13] 陈欣, 付锐锐, 张鸿, 等. 药用植物中UGT家族研究进展[J]. *生物资源*, 2018, 40(5): 443-449.
- [14] 姚宇, 顾佳珺, 孙超, 等. 植物类黄酮UDP-糖基转移酶研究进展[J]. *生物技术通报*, 2022, 38(12): 47-57.
- [15] YANG Q, ZHANG Y C, QU X L, et al. Genome-wide analysis of UDP-glycosyltransferases family and identification of UGT genes involved in abiotic stress and flavonol biosynthesis in *Nicotiana tabacum*[J]. *BMC Plant Biology*, 2023, 23(1): 204.
- [16] HUANG X X, ZHU G Q, LIU Q, et al. Modulation of plant salicylic acid-associated immune responses via glycosylation of dihydroxybenzoic acids[J]. *Plant Physiology*, 2018, 176(4): 3103-3119.
- [17] WU T, ZHANG H M, YUAN B, et al. Ta2b targets and activates the expression of OsF3H_{03g} to hijack OsUGT74H4 and synergistically interfere with rice immunity[J]. *The New Phytologist*, 2022, 233(4): 1864-1880.
- [18] ZHAO M Y, JIN J Y, GAO T, et al. Glucosyltransferase CsUGT78A14 regulates flavonols accumulation and reactive oxygen species scavenging in response to cold stress in *Camellia sinensis*[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2019, 10: 1675.
- [19] MCNEIL C J, ARAUJO K, GODFREY K, et al. Effects of two citrus tristeza virus isolates on sweet orange(*Citrus sinensis*) propagated on a citrus tristeza virus tolerant rootstock: a metabolomics and transcriptomics approach[J]. *ACS Agricultural Science & Technology*, 2021, 1(4): 407-416.
- [20] BALFAGÓN D, ZANDALINAS S I, DOS REIS DE OLIVEIRA T, et al. Reduction of heat stress pressure and activation of photosystem II repairing system are crucial for citrus tolerance to multiple abiotic stress combination[J]. *Physiologia Plantarum*, 2022, 174(6): 341-345.

- e13809.
- [21] WU B P, LIU X H, XU K, et al. Genome-wide characterization, evolution and expression profiling of UDP-glycosyltransferase family in pomelo(*Citrus grandis*) fruit[J]. BMC Plant Biology, 2020, 20(1): 459.
- [22] 宋想, 王璐瑶, 富博晓, 等. 高等植物启动子元件鉴定与合成研究进展[J]. 植物学报, 2024, 59(5): 691–708.
- [23] 徐金龙, 张文静, 向凤宁. 植物盐胁迫诱导启动子及其顺式作用元件研究进展[J]. 植物生理学报, 2021, 57(4): 759–766.
- [24] 罗健铭, 缪绸雨, 韩健, 等. 枸橼过氧化物酶基因家族鉴定及其响应柑橘溃疡病菌感染表达分析[J]. 植物病理学报, 2024, 54(6): 1142–1157.
- [25] YONEKURA-SAKAKIBARA K, HANADA K. An evolutionary view of functional diversity in family 1 glycosyltransferases[J]. The Plant Journal: for Cell and Molecular Biology, 2011, 66(1): 182–193.
- [26] 吕中睿, 刘宏, 张国昀, 等. 沙棘UGT基因家族的全基因组鉴定与表达分析[J]. 林业科学研究, 2021, 34(6): 9–19.
- [27] REHMAN H M, NAWAZ M A, SHAH Z H, et al. Comparative genomic and transcriptomic analyses of Family-1 UDP glycosyltransferase in three *Brassica* species and *Arabidopsis* indicates stress-responsive regulation[J]. Scientific Reports, 2018, 8: 1875.
- [28] LIAO B, LIU X J, LI Y J, et al. Functional characterization of a highly efficient UDP-glucosyltransferase CitUGT72AZ4 involved in the biosynthesis of flavonoid glycosides in citrus[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2025, 73(9): 5450–5464.
- [29] 张海朋, 刘翠华, 刘园, 等. 柑橘中挥发性萜类物质代谢研究进展[J]. 园艺学报, 2020, 47(8): 1610–1624.
- [30] 涂勋良, 阳姝婷, 吴忠旺, 等. HPLC法同时测定柠檬果实中11种类黄酮含量[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2016, 42(5): 543–548.
- [31] YIN Q G, SHEN G A, DI S K, et al. Genome-wide identification and functional characterization of UDP-glucosyltransferase genes involved in flavonoid biosynthesis in *Glycine max*[J]. Plant & Cell Physiology, 2017, 58(9): 1558–1572.
- [32] 胡雅丹, 伍国强, 刘晨, 等. MYB转录因子在调控植物响应逆境胁迫中的作用[J]. 生物技术通报, 2024, 40(6): 5–22.
- [33] WANG X P, NIU Y L, ZHENG Y. Multiple functions of MYB transcription factors in abiotic stress responses[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(11): 6125.
- [34] VISWANATH K K, KUO S Y, TUC W, et al. The role of plant transcription factors in the fight against plant viruses[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(9): 8433.
- [35] 龙琴, 谢宇, 许兰珍, 等. 溃疡病菌感染早期柑橘细胞程序性死亡的响应特征及机制[J]. 园艺学报, 2020, 47(6): 1047–1058.
- [36] 葛红娟, 龙桂友, 戴素明, 等. 冰糖橙与枸橼C-05对溃疡病菌生长特性的影响[J]. 中国农业科学, 2015, 48(7): 1383–1391.
- [37] 唐超兰, 马小川, 李泽航, 等. 淹渍胁迫对柑橘若干生理特性的影响[J]. 分子植物育种, 2021, 19(9): 3096–3103.
- [38] VIVES-PERIS V, GÓMEZ-CADENAS A, PÉREZ-CLEMENTE R M. Proline accumulation and antioxidant response are crucial for citrus tolerance to UV-B light-induced stress[J]. Plant Biology, 2024, 26(4): 521–531.
- [39] 黄训才, 邓子牛, 胡春华, 等. 柑橘主要病毒病的RT-PCR法鉴定[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2006, 32(3): 273–276.
- [40] 易龙, 陈毅群, 李双花, 等. 柑橘衰退病毒感染对‘赣南早’脐橙植株组织结构及光合作用的影响[J]. 果树学报, 2020, 37(4): 574–581.
- [41] KITAM, HIRATA Y, MORIGUCHI T, et al. Molecular cloning and characterization of a novel gene encoding limonoid UDP-glucosyltransferase in *Citrus*[J]. FEBS Letters, 2000, 469(2/3): 173–178.
- [42] 王劲松, 蒋永波, 谭美龄, 等. 柠檬籽中类柠檬苦素反胶团萃取工艺优化及抑菌活性分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(10): 154–163.
- [43] 赵小娜, 关纪兰, 田祥涛, 等. 柑橘果实苦味物质研究进展[J]. 食品科学, 2025, 46(10): 368–377.

责任编辑: 伍锦花