西北植物学报，2023，43(4)：0569－0581
Acta Bot. Boreal.-Occident. Sin.

doi：10.7606/j.issn.1000-4025.2023.04.0569 http://xbzwxb.alljournal.net

西葫芦 *NCED* 基因家族鉴定及其响应干旱胁迫分析

刘建汀[1,2,3]，叶新如[1,2,3]，张前荣[1,2,3]，李永平[1,2,3]，温庆放[1,2,3]，朱海生[1,2,3*]

（1 福建省农业科学院 作物研究所，福州 350013；2 福建省蔬菜遗传育种重点实验室，福州 350013；3 福建省蔬菜工程技术研究中心，福州 350013）

摘　要：*NCED* 基因家族成员在调节植物响应干旱胁迫中发挥着关键作用，该研究通过生物信息学技术分析 *NCED* 在西葫芦基因组中的分布、结构及进化，研究家族成员在不同组织中的表达特异性及其对 10% PEG 6000 模拟干旱、0.1 mmol·L^{-1} ABA 激素和自然干旱胁迫的响应，以解析 *NCED* 基因家族的生物学功能。结果表明：(1)从西葫芦全基因组中鉴定出 6 个 *NCED* 家族基因(*CpNCED1*～*6*)，且 6 个基因均不含内含子、分别分布于西葫芦的 1、10、12、14、19 和 20 号共 6 条染色体上。(2)理化性质分析发现，CpNCED1～6 蛋白长度为 569～590 aa，理论分子量在 62.64～65.54 kD 之间。(3)蛋白保守元件分析显示，除 CpNCED3 蛋白在遗传进化过程中出现 3 个基序(motif 12、motif 13 和 motif 15)的缺失外，其余 5 个蛋白都有完整的 16 个 motif 保守基序，且分布在 600 个氨基酸以内，同时大部分 NCED 蛋白序列保守性较高。(4)顺式作用元件分析显示，西葫芦 *CpNCED1*～*6* 基因均含 ABRE、W box、MBS、P-box、TCA-element、CGTCA-motif、TGA-element 和 TGA-box 等潜在的干旱胁迫响应元件。(5)qRT-PCR 分析表明，*CpNCED1*～*6* 基因在西葫芦不同组织中的表达具有组织特异性，其中，*CpNCED4* 和 *CpNCED1* 在茎中的表达量显著高于其他 4 个基因，*CpNCED2*、*CpNCED4*、*CpNCED6* 在花中的表达显著高于其余 3 个基因且 *CpNCED2* 表达量最高，*CpNCED1*～*6* 在果实和叶中的表达量均相对较低；与对照组相比，*CpNCED1*～*6* 受模拟干旱、ABA 激素和自然干旱胁迫均上调表达；伴随干旱胁迫的产生，叶片中脱落酸(ABA)含量逐渐升高，暗示 *CpNCEDs* 在西葫芦干旱胁迫响应与 ABA 的生物合成过程中发挥着正向调控作用。研究发现，6 个 *CpNCED1*～*6* 基因与西葫芦干旱胁迫响应密切相关，且对西葫芦干旱胁迫的响应以及 ABA 生物合成具有重要作用，尤其以 *CpNCED2* 和 *CpNCED4* 基因的作用更为明显。

关键词：西葫芦；*NCED* 基因家族；生物信息学分析；干旱胁迫；表达分析

中图分类号：Q781；Q786；S642.6　　**文献标志码**：A

Genome-wide Identification and Response to Drought Stress of *NCED* Genes Family in Zucchini (*Cucurbita pepo* L.)

LIU Jianting[1,2,3], YE Xinru[1,2,3], ZHANG Qianrong[1,2,3], LI Yongping[1,2,3], WEN Qingfang[1,2,3], ZHU Haisheng[1,2,3*]

(1 Crops Research Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350013, China; 2 Fujian Key Laboratory of Vegetable Genetics and Breeding, Fuzhou 350013, China; 3 Fujian Engineering Research Center for Vegetables, Fuzhou 350013, China)

收稿日期：2022-09-14；**修改稿收到日期**：2023-02-23

基金项目：福建省属公益类科研院所基本科研专项(2021R1031001，2020R1031002)；福建省自然科学基金(2021J01492)；福建省农业科学院科技创新团队(CXTD2021003-1)；国家大宗蔬菜产业体系福州综合试验站(CARS-23-G51)；“5511”协同创新工程(XTCXGC2021003)

作者简介：刘建汀(1988－)，男，在读博士研究生，助理研究员，研究方向为蔬菜育种与生物技术。E-mail：1037850256@qq.com

*通信作者：朱海生，研究员，硕士生导师，研究方向为蔬菜育种与生物技术。E-mail：zhs0246@163.com

Abstract: In view of the key role of *NCED* gene family members in regulating plant response to drought stress, this study analyzed the distribution, structure and evolution of *NCED* gene family from zucchini (*Cucurbita pepo* L.) genome by bioinformatics technology, analyzed the expression specificity of *NCED* gene members in different tissues and their response to simulated drought (10% PEG 6000), hormone (0.1 mmol·L^{-1} ABA) and natural drought (stop watering for 0, 1, 2, 3 and 4 d) stresses to understand the biological functions of *NCED* gene family. Experimental results show that: (1) a total of six *NCED* gene (i.e., *CpNCED1*－*6*) members were identified from the whole genome of zucchini; The six *CpNCEDs* were distributed on chromosome 1, 10, 12, 14, 19 and 20 of zucchini, and none of the *NCED* genes contained intron. (2) Physicochemical properties analysis showed that CpNCED1－6 proteins were 569－590 amino acids, and the theoretical molecular weight ranged from 62.64－65.54 kD. (3) Protein conserved motifs analysis showed that, the CpNCEDs containing 16 complete conserved protein motifs except for the CpNCED3 had three motifs (i.e., motif 12, motif 13 and motif 15) deletion, and CpNCED1－6 proteins conserved elements distributed within 600 amino acids, indicating most of NCED protein sequences were highly conserved. (4) The cis-acting elements analysis of *NCED* gene family upstream promoters (2 500 bp sequence before ATG) showed that the zucchini *CpNCED1*－*6* genes contained potential drought stress response elements such as ABRE, W box, MBS, P-box, TCA-element, CGTCA-motif, TGA-element and TGA-box. (5) Real-time fluorescent quantitative PCR (qRT-PCR) revealed that the expression of *CpNCEDs* gene in different zucchini tissues was tissue specific, among which, the expression levels of *CpNCED4* and *CpNCED1* in stems were significantly higher than those of the other three genes, the expression levels of *CpNCED2*, *CpNCED4* and *CpNCED6* in flowers were significantly higher than those of the other three genes, and the expression level of *CpNCED2* was the highest, while the expression levels of *CpNCED1*－*6* in fruits and leaves were relatively low; The expression levels of six selected family members were induced by simulated drought, ABA hormone and natural drought stresses and increased in different degrees compared with the control group; With the emergence of drought stress, the abscisic acid (i.e., ABA) content gradually increased in leaves; This study found that six *CpNCED1*－*6* genes played important roles in drought stress response and ABA biosynthesis of *C. pepo*, especially *CpNCED2* and *CpNCED4* genes.

Key words: *Cucurbita pepo*; *NECD* gene family; bioinformatic analysis; drought stress; expression analysis

西葫芦(*Cucurbita pepo* L.)为葫芦科南瓜属植物,喜温喜湿,主要食用嫩瓜,皮薄肉厚、富含维生素 C 和葡萄糖等营养物质,其栽培面积不断增加,已成为中国春秋季主要蔬菜种类之一[1]。在西葫芦秋季栽培期间,高温干旱时有发生,对植株幼苗的生长、光合作用、酶活性和干物质积累都形成一定影响,制约了西葫芦产量和品质的提高[2-3],所以对耐干旱西葫芦栽培品种的选育尤为重要。目前,耐干旱品种的选育主要通过常规育种来实现,其育种周期较长,生产上很难迅速满足人们对品种更新换代的需求。因此深入挖掘干旱相关功能基因,并解析其作用机制,对于创制西葫芦抗旱种质资源具有重要意义。虽然西葫芦干旱胁迫相关基因挖掘研究已取得了一定进展[4-5],但基因资源仍然有限,因此,通过抗旱性研究对于进一步提高西葫芦的产量、品质具有重要意义。

9-顺式环氧类胡萝卜素双加氧酶(9-*cis*-epoxycarotenoid dioxygenase, NCED)是植物脱落酸(abscisic acid,ABA)代谢合成途径中的关键基因,广泛参与植物生长发育进程及对非生物胁迫的应答[6]。随着转录组和全基因组测序技术的快速发展,逐渐从谷子(*Setaria italica*)[7]、毛竹(*Phyllostachys edulis*)[8]、桃(*Prunus persica*)[9]等许多高等植物[10-12]中鉴定出 *NCED* 基因。研究表明,植物中的 *NCED* 以多基因家族形式存在,干旱胁迫诱导 *NCED* 基因的表达和内源 ABA 的积累,转基因植株中 *NCED* 基因的过量表达能引起 ABA 积累和耐旱性的增加。拟南芥中鉴定出了 5 个 *NCED* 基因,其中 *AtNCED3*、*AtNCED5*、*AtNCED6* 和 *AtNCED9* 主要负责 ABA 生物合成[13]。水稻(*Oryza sativa*)中已证实 *OsNCED4* 和 *OsNCED5* 基因可以调节干旱胁迫下水稻 ABA 水平和抗逆性[14-15]。亚洲棉(*Gossypium arboreum*)中鉴定出 7 个 *NCED* 基因,为 *GaNCED3a*、*GaNCED3b*、*GaNCED3c*、*GaNCED5a*、*GaNCED5b*、*GaNCED5c* 和 *NCED6*,过表达 *GaNCED3* 基因可以显著提高转基因拟南芥

的抗旱能力[16-17]。近年来，*NCED* 基因克隆与功能鉴定的研究在模式植物和其他的一些作物中已变得日趋成熟，且不断地深入。目前，国内外关于西葫芦 *NCED* 基因克隆研究报道较少[4, 18]。本研究从西葫芦全基因组中克隆获得 *CpNCEDs* 基因家族 6 个成员，分析其家族基因及其启动子序列特征，研究 *CpNCEDs* 基因的表达模式、ABA 含量变化与西葫芦干旱胁迫相关性，为深入研究西葫芦干旱胁迫响应机理奠定基础，也为优质西葫芦品种选育提供技术支持。

1　材料和方法

1.1　材料试剂

试验材料西葫芦（*Cucurbita pepo* L.）品种‘Fumei-6’（父本 F031 × 母本 M016）由福建省蔬菜遗传育种重点实验室福清东张基地保存。植物 DNA 提取试剂盒 FastPure® Plant DNA Isolation Mini Kit、植物 RNA 提取试剂盒 FastPure® Plant total RNA Isolation Kit、RNA 逆转录试剂盒 PrimeScript™ 1st Strand cDNA、DNA Marker（DL 2000）购自 TaKaRa 公司，基因扩增试剂盒 Phanta Max Master Mix、荧光定量试剂盒 ChangesQ™ Universal SYBR qPCR Master Mix、DL2000 plus DNA marker、DNA 快速克隆试剂盒 TA/Blunt-Zero Cloning Kit 购自南京诺唯赞生物科技有限公司，大肠杆菌 DH5& 购自上海唯地生物技术有限公司，其他生化试剂均为国产分析纯级。

1.2　方　法

1.2.1　西葫芦 *NCED* 基因家族的鉴定与克隆　参考植物 DNA 试剂盒说明提取西葫芦样品的 DNA，根据 NCBI（https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=Cucurbita+pepo+NCED）中公布的全基因组测序结果，搜索到的 *CpNCEDs* 基因组信息，依据获得的基因序列信息来设计 cDNA 全长和开放阅读框（open read frame，ORF）引物（表 1）。利用基因扩增试剂盒 Phanta Max Master Mix 进行 ORF 全长克隆，PCR 扩增产物经 1.0% 琼脂糖电泳、纯化、回收后，与 *PCE2 TA/Blunt*-Zero 载体进行连接、转化，PCR 检测后的阳性克隆进行测序。

1.2.2　基因生物信息学分析　系统发育树的最大似然法构建采用 MEGA 7.0 软件；蛋白保守结构域分析及可视化作图采用 MEME（https://meme-suite.org/meme/tools/meme）和 TBtools 软件；蛋白同源性分析采用 DNAMAN 软件；蛋白的一级结构分析采用 ProtParam（http://web.expasy.org/protparam/）和 ProtScale（http://web.expasy.org/protscale/）软件；蛋白二级结构分析采用在线软件 CFSSP（http://www.biogem.org/tool/chou-fasman/）；蛋白三级结构分析采用在线软件 SWISS-MODEL（https://swissmodel.expasy.org/interactive）进行蛋白模板比对，SPDBV 软件构建该蛋白三级结构模型，VMD 软件进行蛋白模型呈现；亚细胞定位分析采用 Wolf Psort Prediction 软件（http://www.genscript.com/psort/wolf_psort.html）。

1.2.3　西葫芦 *NCED* 基因家族表达分析　试验选取颗粒饱满的西葫芦种子，在福建省蔬菜遗传育种重点实验室福清东张基地蔬菜育苗大棚内，播种于 32 孔穴盘中，待其生长至商品期，利用百泰克试剂盒提取西葫芦各组织（根、茎、叶、花和果）的总 RNA，

表 1　引物序列

Table 1　Corresponding primer sequences

试验 Experiment		正向引物 Forward primer（5′→3′）	反向引物 Reverse primer（5′→3′）
ORF 扩增 Amplification	*CpNCED1* F/R	CTTGTTCGCTTCATACTCCGTCTA	TTTCATCCTACTTACATTACCACCC
	CpNCED2 F/R	GCTTCTTCCCCTTCTCCTCCTTGTCTCG	TGTCATCCCTCTGGCAATTTCTCCCTTT
	CpNCED3 F/R	TTTGCCCCAATTATCATCCCTATTTCCA	AGTTCGGAGCTTGACCCTTTAACTCTTC
	CpNCED4 F/R	CTCTTGCTTCTTCTTCGTGGGTCAAATCTGGTT	CAGTAGCTTCAAGCTCCAAAGTCATGGCGTTAA
	CpNCED5 F/R	TCATTGCTCTTTCCCTCACCGCTCCGCCTCTAT	AGCCATCCCACAGGTAATTTCTCCATCCACTCG
	CpNCED6 F/R	TTACTCGTAAACACGAAACTATACTTGCTTATGTC	CCAACAAGAAAACACTAACAACTAAGTAATCATCG
qRT-PCR	*CpNCED1* Fq/Rq	TTTACGGAGACAGAACGG	AGCCCAAACAATCCTCTA
	CpNCED2 Fq/Rq	CACTCTTTGAACCCACCG	TTCGCCAATCGCTTTAGG
	NCED3 Fq/Rq	TACATGGCGATAGCAGAAC	TACCCTCCATCCTCATTCT
	NCED4 Fq/Rq	GGTTTATTTGGGCTGGTC	GGGTGGGCTATCATTGTG
	NCED5 Fq/Rq	GAAGGTGGAAGCGACAGT	AGCCATCCCACAGGTAAT
	NCED6 Fq/Rq	CGCAAACCCATTATTCGA	CAGGCATAGCTGGCACAT
	CpActin Fq/Rq	CACACAGGATACGAGTGG	GCAATATCCTCATACGGTGG

反转录成 cDNA 后，进行 qRT-PCR 分析。西葫芦生长至两叶一心时期，分别用 10% PEG-6000 和 0.1 mmol·L^{-1} ABA 喷洒叶片，于 0、2、4、8 和 12 h 采样，以及停止浇水 0、1、2、3、4 d 作为干旱条件进行处理，分别对叶片进行取样，每个处理 3 个生物学重复，样品取样完成后液氮速冻，−80 ℃保存备用。

根据获得的 *CpNCEDs* 序列设计特异引物（表 1），以西葫芦 *Actin* 为内参基因[19]，参照诺唯赞 ChangesQ™ Universal SYBR qPCR Master Mix 说明书在 QuantStudio 7 Flex 实时荧光定量 PCR 仪上进行 PCR 反应。反应体系为 20 μL：10 μL Master Mix，4 μL cDNA 模板，正反向引物各 0.4 μL，加蒸馏水至 20 μL。PCR 反应程序为：95 ℃预变性 30 s，95 ℃变性 5 s，58 ℃退火 30 s，40 个循环。每个反应重复 3 次。本研究的样品采集与测试均开展 3 次生物学和 3 次技术重复实验。利用 Excel 软件和 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 方法分析西葫芦 *CpNCEDs* 基因的表达量变化。

1.2.4 西葫芦 ABA 含量变化的测定 ABA 含量变化的测定参照本课题组前期的方法进行，主要通过超高效液相色谱（UPLC）和串联质谱（MS/MS）对干旱胁迫（停止浇水 0、1、2、3、4 d）西葫芦叶片的 ABA 进行定性定量分析并采集数据，并利用 SPSS 19.0 数据处理软件中单因素方差分析法对 ABA 含量变化结果做差异显著性分析[4]。

2 结果与分析

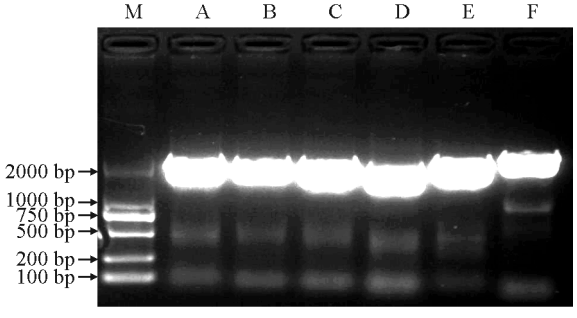
2.1 西葫芦 *CpNCEDs* 基因家族克隆

根据 2018 年公布的西葫芦全基因组（NCBI 登录号：ASM280686v2）*NCED* 基因信息[20]，获取 *NCED* 家族成员基因、编码蛋白及其所在染色体位置，搜索到的 6 个 *NCED* 基因具有全长序列，并包含完整的开放读码框（ORF）。根据它们的染色体分布情况，命名为西葫芦 *CpNCED1*（LOC111792392）、*CpNCED2*（LOC111803113）、*CpNCED3*（LOC111807437）、*CpNCED4*（LOC111809781）、*CpNCED5*（LOC111781088）和 *CpNCED6*（LOC111783358）基因（表 2）。

设计 6 个 *CpNCEDs* 基因序列全长引物，以西葫芦全基因组 DNA 为模板进行 PCR 实验，扩增获得 6 条单一条带（图 1）。测序结果与全基因组数据结果比对一致，各条带对应序列 *CpNCED1*、*CpNCED2*、*CpNCED3*、*CpNCED4*、*CpNCED5* 和 *CpNCED6* 全长分别为 1 911、1 832、1 865、1 686、2 000 和 2 231 bp。同源分析发现，西葫芦 6 个 *CpNCED* 基因序列与拟南芥 *AtNCED2* 核苷酸序列的相似性分别为 86.36%、88.00%、93.75%、84.29%、81.69% 和 87.01%。

2.2 *CpNCEDs* 基因生物信息学分析

2.2.1 *CpNCEDs* 基因编码蛋白分析 西葫芦 *CpNCEDs* 基因编码的 6 个蛋白的基本二级结构分析结果（图 2）表明，*CpNCED* 基因家族编码的蛋白质组成和结构相似，主要由无规则卷曲和延伸链组成，没有 β-折叠结构。通过 SWISS-MODEL 软件对



M. DL2000；A. *CpNCED1*；B. *CpNCED2*；C. *CpNCED3*；D. *CpNCED4*；E. *CpNCED5*；F. *CpNCED6*

图 1 西葫芦 *CpNCED* 基因家族 PCR 扩增

Fig. 1 PCR amplified products of *CpNCED* gene family from *C. pepo*

表 2 西葫芦 *CpNCED* 基因家族理化性质分析

Table 2 Physical and chemical properties analysis of *CpNCED* gene family

基因名称 Gene name	染色体位置 Chromosome position	基因长度 Gene length/bp	氨基酸数 No. of amino acids	分子量 MW/kD	亲水性 GRAVY
CpNCED1	chro01(3359975～3362149)	2 175	586	64.98	−0.269
CpNCED2	chro10(585600～587751)	2 152	588	65.73	−0.384
CpNCED3	chro12(610951～612739)	1 789	569	62.64	−0.235
CpNCED4	chro14(2384409～2386632)	2 224	590	65.54	−0.256
CpNCED5	chro19(7662177～7664502)	2 326	585	65.89	−0.324
CpNCED6	chro20(3068761～3070755)	1 995	588	65.63	−0.268

西葫芦 CpNCEDs 蛋白的三级结构进行建模，并利用 SPDBV 和 VMD1.9.3 软件进行可视化作图，结果如图 3 所示。此外，Wolf Psort 在线软件分析显示，6 个 *CpNCEDs* 基因编码的蛋白均位于叶绿体（chloroplast）中。

2.2.2　CpNCED 蛋白序列比对与分子进化分析

NCED 蛋白序列比对分析表明，CpNCED1（XP_023529573.1）和 CpNCED4（XP_023551972.1）相似

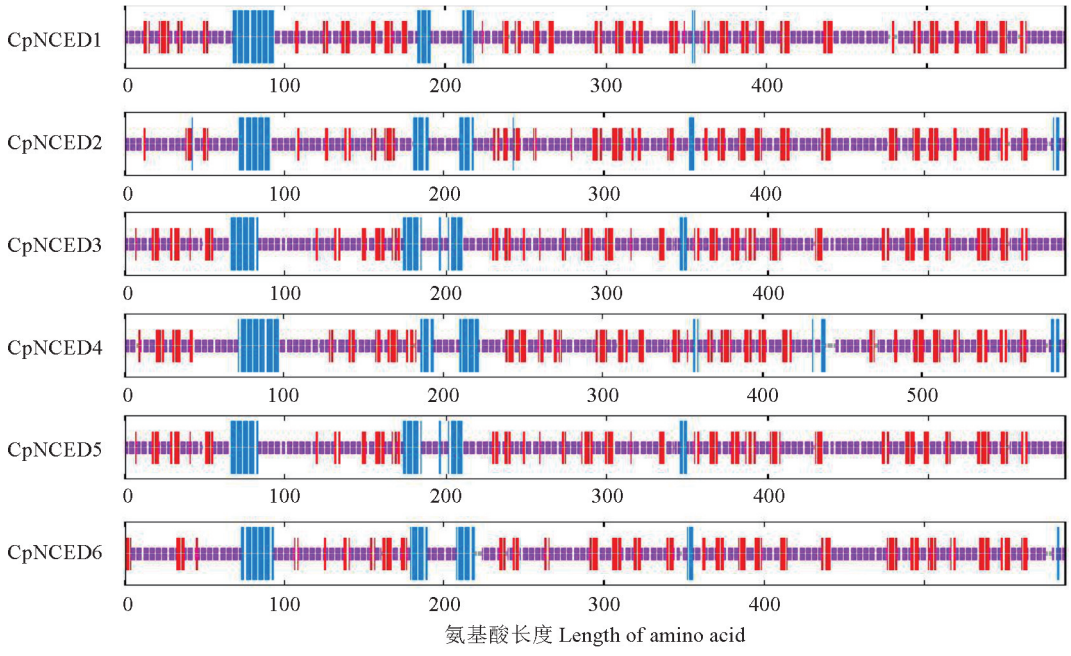
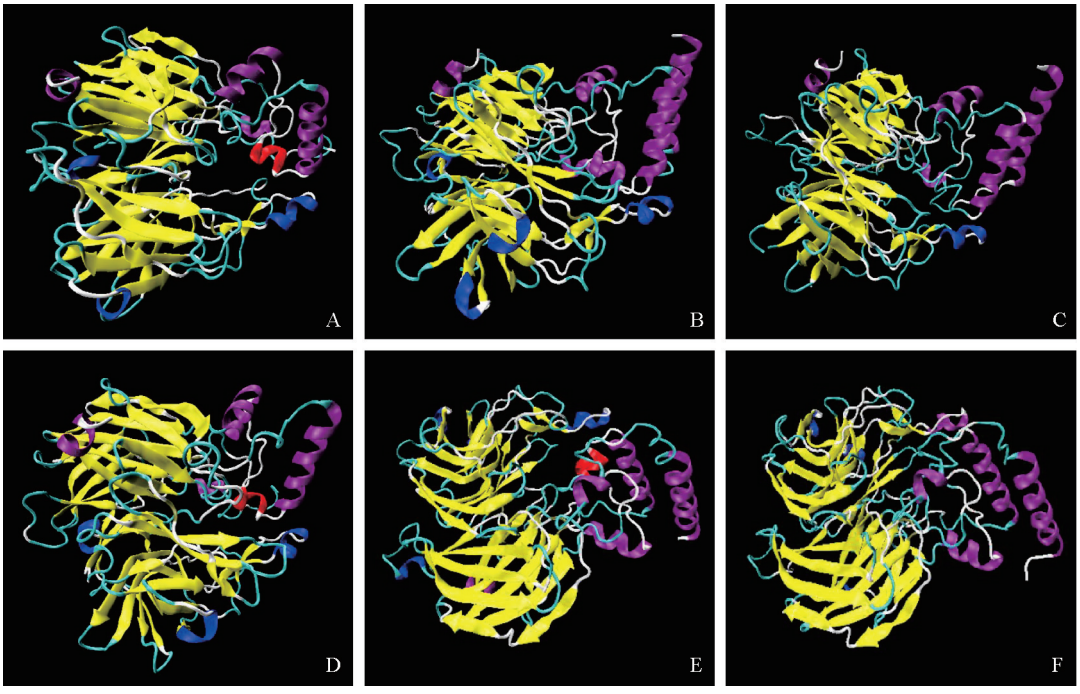


图 2　NCED 蛋白二级结构分析

Fig. 2　Analysis of secondary structure of NCED proteins



A－F 分别代表 CpNCED1、CpNCED2、CpNCED3、CpNCED4、CpNCED5 和 CpNCED6 蛋白三级结构

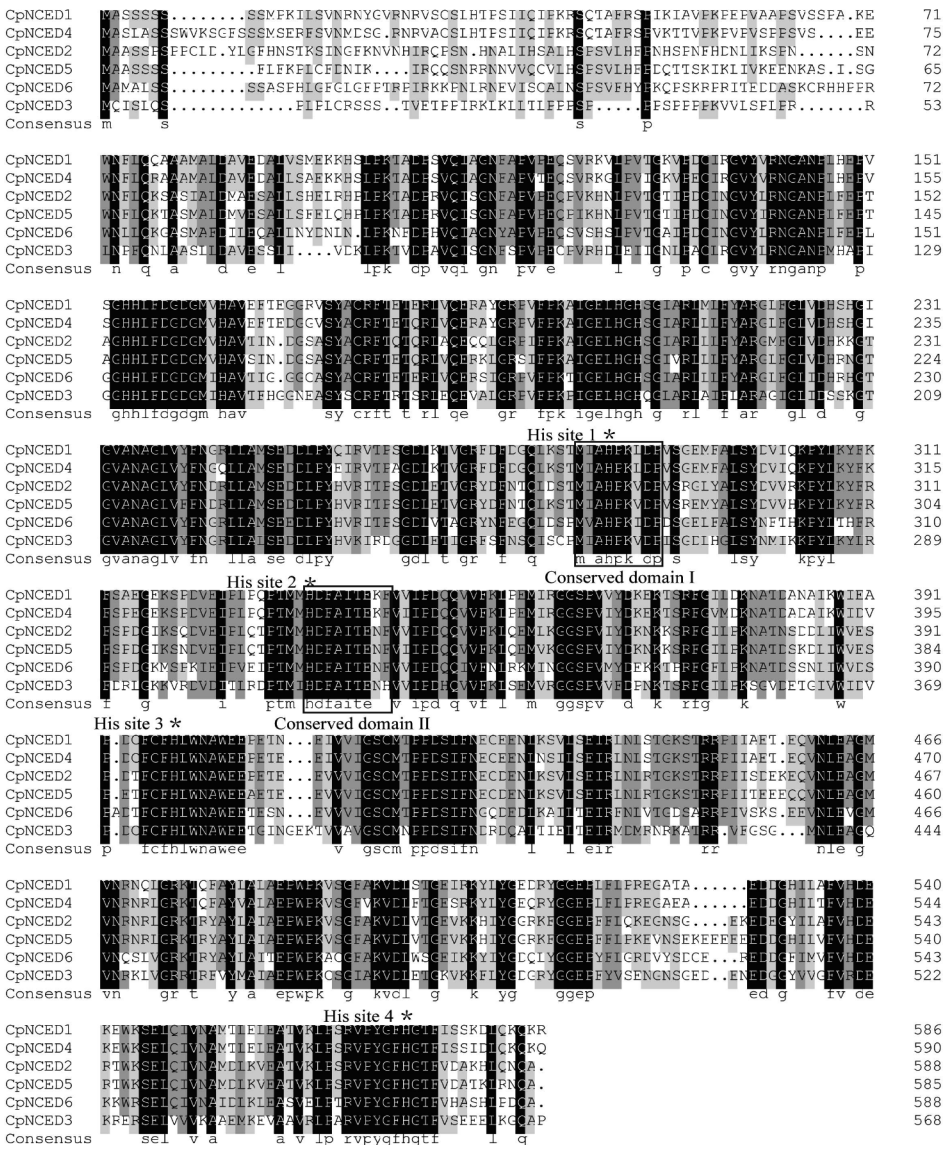
图 3　NCED 蛋白三级结构预测

The letters from A to F represent the tertiary structure of CpNCED1, CpNCED2, CpNCED3, CpNCED4, CpNCED5 and CpNCED6 proteins, respectively

Fig. 3　Prediction of three-dimensional structure of NCED proteins

性较高，达到 90.15%（E 值为 0）；CpNCED2（XP_023543156.1）和 CpNCED5（XP_023517280.1）相似性较高，达到 85.36%（E 值为 0）；CpNCED3 与其他 5 个 CpNCED 的相似性较低，推测其保守结构域 motif 发生较大的变异。Pfam 分析发现，6 个 CpNCED 均含有 4 个保守的组氨酸位点，以及 2 个 NCED 蛋白保守结构域[M(I/V)AHPK(I/V)DP]和[HDFAITE(N/K)(F/H)]，体现出 NCED 蛋白进化过程中的保守性，也暗示西葫芦 *CpNCEDs* 基因家族编码蛋白功能的多样性（图 4）。

进一步分析 CpNCEDs 蛋白亲缘关系，结果（图 5）表明，西葫芦 6 个 CpNCEDs 存在 2 个亚家族，即 CpNCED1、CpNCED4 与 CpNCED2、CpNCED3、CpNCED5、CpNCED6 属于 2 个不同的 CpNCED 蛋白亚家族。分析发现，西葫芦 CpNCEDs 与葫芦科作物印度南瓜（*Cucurbita maxima*）、中国南瓜（*Cucurbita moschata*）、冬瓜（*Benincasa hispida*）等聚为一类，亲缘关系较近，与大戟科的蓖麻（*Ricinus communis*）、木薯（*Manihot esculenta*）和巴西橡胶树（*Hevea brasiliensis*）的亲缘关系较远，可见不同植物的 NCED 系统进化关系具有明显的种属特征。值得注意的是，从蛋白系统发育树中也可以发现，



星号部分表示 CpNCEDs 蛋白保守的组氨酸活性位点，方框表示 CpNCEDs 中的 2 个保守结构域

图 4 西葫芦 CpNCEDs 蛋白序列多重比对

The black asterisks represent the conserved histidine active sites of CpNCEDs, and the boxes represent the two conserved domains of CpNCEDs

Fig. 4 Multiple sequence alignment of CpNCEDs proteins in *C. pepo*

CpNCED3 在遗传进化过程中发生了较大变异，与其他 22 个 NCED 蛋白处于不同的分支。

2.2.3　*CpNCED* 基因家族保守基序分析　分析西葫芦 *NCED* 基因编码蛋白的保守基序 motif（图 6），总共鉴定出 16 个保守 motif，即 motif 1 ～ motif 16（表 3），除 *CpNCED3* 外，每个 *NCED* 都有完整的 16 个 motif 保守基序，且分布在 600 个氨基酸以内，同时大部分的 NCED 蛋白序列保守性较高。结合同源进化分析发现，由于 388～390 位增加 3 个氨基酸（甘氨酸 G、谷氨酸 E 和赖氨酸 K）位点，以及 391 位的谷氨基酸 E 替换为苏氨酸 T（图 4），可能导致 *CpNCED3* 发生 3 处 motifs（motif 12、motif 13 和 motif 15）缺失，推测 *CpNCED3* 基因编码的 CpNCECD3 进化过程中发生了较大的蛋白结构变异。

2.3　*CpNCED* 基因家族启动子分析

利用 TBtools 从西葫芦全基因组中获取了西葫芦 *CpNCEDs* 基因启动子序列，并采用在线分析数据库 PlantCare 发现西葫芦 *CpNCEDs* 基因启动子中有大量不同顺式作用元件的存在，暗示 6 个 *CpNCED* 基因可能参与不同的生理代谢调控途径。在西葫芦 *CpNCEDs* 基因上游的启动子 2 500 bp 区域总共预测到 1 418 个顺式作用元件，并对光反应、环境压力、生长发育、激素反应、转录因子结合位点和其他功能有关 254 个顺式作用元件进行了分析（表 4），其中最为丰富的是光响应调控元件，包括 2 个 ACE、6 个 TCCC-motif、2 个 GA-motif、4 个 TCT-motif、5 个 GATA-motif、13 个 GT1-motif、49 个 Box 4 和 58 个 G box。除此之外，有 23 个赤霉素响应调控元件，包括 GARE-motif、P-box 和 TATC-box；33 个生长素响应调控元件，包括 TGA-element、

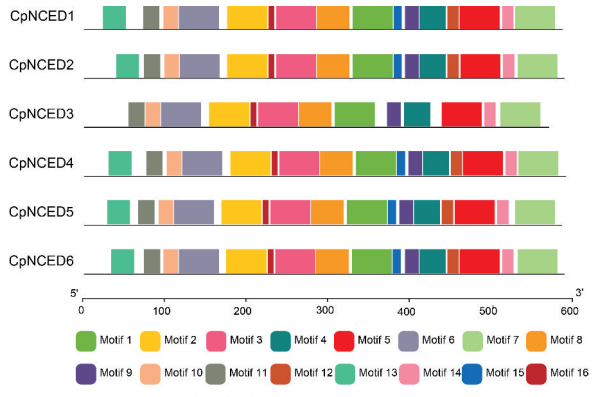


图 6　西葫芦 CpNCED 家族保守基序分析

Fig. 6　Gene structure analyses of CpNCED family in *C. pepo*

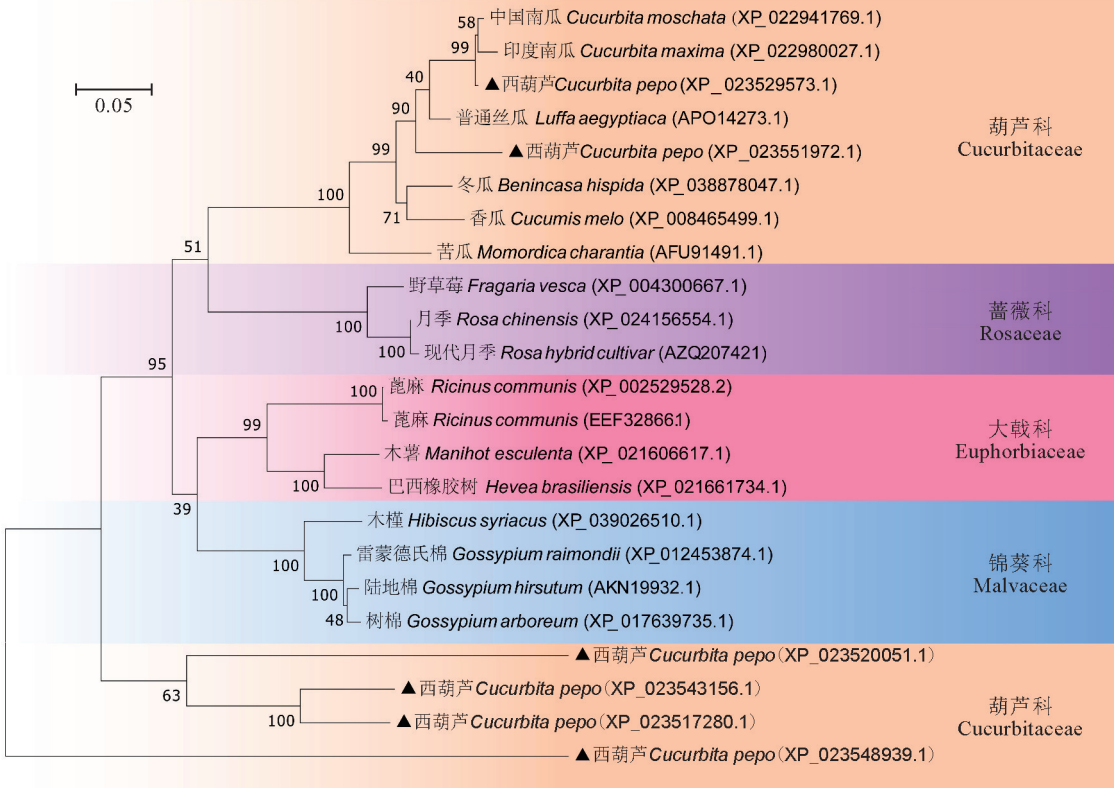


图 5　基于最大释然法构建 NCED 蛋白系统发育树

Fig. 5　Phylogenetic tree of NCED proteins of *C. pepo* constructed by maximum likelihood method

表 3 西葫芦中预测的 CpNCED 基序的一致序列

Table 3 Consensus sequence of predicted CpNCED motifs in *C. pepo*

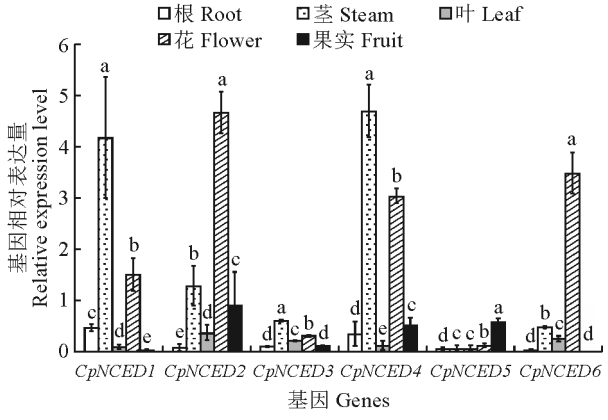
基序 Motif	E 值 E value	长度 Width	位点数 Sites	最佳比对结果 Best possible match
Motif1	5.9e-152	50	6	PTMMHDFAITENFVVIPDQQVVFKLPEMIRGGSPVIYDKNKTSRFGILPK
Motif2	2.5e-147	50	6	SYACRFTETZRLVQERALGRPVFPKAIGELHGHSGIARLLLFYARGLFGL
Motif3	3.4e-142	50	6	NAGLVYFNGRLLAMSEDDLPYHVRITPSGDLETVGRYDFBGQLKSTMIAH
Motif4	6.5e-087	33	6	VVVIGSCMTPPDSIFNECDENLKSVLSEIRLNL
Motif5	5.1e-139	50	6	VNLEAGMVNRNRLGRKTRYAYLAIAEPWPKVSGFAKVDLVTGEVKKYJYG
Motif6	1.6e-137	50	6	VPEQPVRHNLPVTGTIPDCIRGVYLRNGANPLFEPVAGHHLFDGDGMVHA
Motif7	2.6e-130	50	6	EDDGHILAFVHDEKEWKSELQIVNAMDLKLEATVKLPSRVPYGFHGTFVS
Motif8	4.3e-088	41	6	PKVDPVSGELYALSYDVIQKPYLKYFRFSPDGEKSPDVEIP
Motif9	1.6e-063	18	6	DTFCFHLWNAWEEPETEE
Motif10	7.4e-041	19	6	HPLPKTADPRVQIAGNFAP
Motif11	2.0e-033	21	6	WNFLQKAAAMALDAVESALLS
Motif12	2.7e-017	15	5	TGKSTRRPIISETEQ
Motif13	1.1e-014	29	5	NNVVSCALHSPSVJHFPKQSQTAFRSPIK
Motif14	3.6e-013	15	6	RYGGEPFFLPREGNS
Motif15	1.3e-010	11	5	NATDSDDJIWV
Motif16	5.4e-008	8	6	DHSHGTGV

TGA-box、AuxRR-core 和 AuxRE；26 个水杨酸响应调控元件（TCA-element）；41 个茉莉酸响应调控元件，包括 CGTCA-motif；分析发现，除 *CpNCED6* 外，*CpNCED1*、*CpNCED2*、*CpNCED3*、*CpNCED4* 和 *CpNCED5* 启动子上游均含 ABA 响应调控元件 ABRE（ABA-Responsive Element），以及 29 个干旱响应（MBS）、低温响应调控元件（LTR）和 WRKY 转录因子结合元件（W box）。

2.4 *CpNCED* 基因家族表达分析

2.4.1 不同组织中表达分析 图 7 表明，*CpNCED1*、*CpNCED2*、*CpNCED3*、*CpNCED4*、*CpNCED5* 和 *CpNCED6* 基因在西葫芦根、茎、叶、花和果实中均有表达，但其表达模式不同。在茎中，*CpNCED4* 的表达量较高，其次为 *CpNCED1* 和 *CpNCED2*；在花中，*CpNCED2* 基因的表达较高，其次为 *CpNCED6* 和 *CpNCED4*，而 *CpNCED1*、*CpNCED3* 和 *CpNCED5* 中的表达量较低；果实中 CpNCED2 基因的表达量要高于其他 5 个 *CpNCEDs* 基因；分析发现，6 个 *CpNCEDs* 基因在根和叶片组织中的表达量相对较低（图 7）。

2.4.2 干旱胁迫下的表达模式分析 利用荧光定量 PCR 分析在干旱和模拟干旱胁迫处理 0、2、4、8 和



不同小写字母表示组织间基因表达差异显著性（$P<0.05$）

图 7 西葫芦不同组织中 *CpNCED* 基因的表达

Different normal letters indicate significant differences of gene expression in different tissues ($P<0.05$)

Fig. 7 Expression levels of *CpNCEDs* in different tissues of *C. pepo*

12 h 时 *CpNCEDs* 基因家族表达情况（图 8），6 个 *NCED* 基因表达模式存在一定差异，激素处理（0.1 mmol·L^{-1} ABA）下，各基因总体呈现先上调后下调的表达趋势，其中，*CpNCED1*、*CpNCED4* 和 *CpNCED6* 呈现先上调后下调表达趋势，在 2 h 的表达量最高，*CpNCED2* 也呈先上调后下调表达趋

表 4　西葫芦 *CpNCEDs* 启动子顺式作用元件分析

Table 4　Analysis of *CpNCEDs* promoter elements

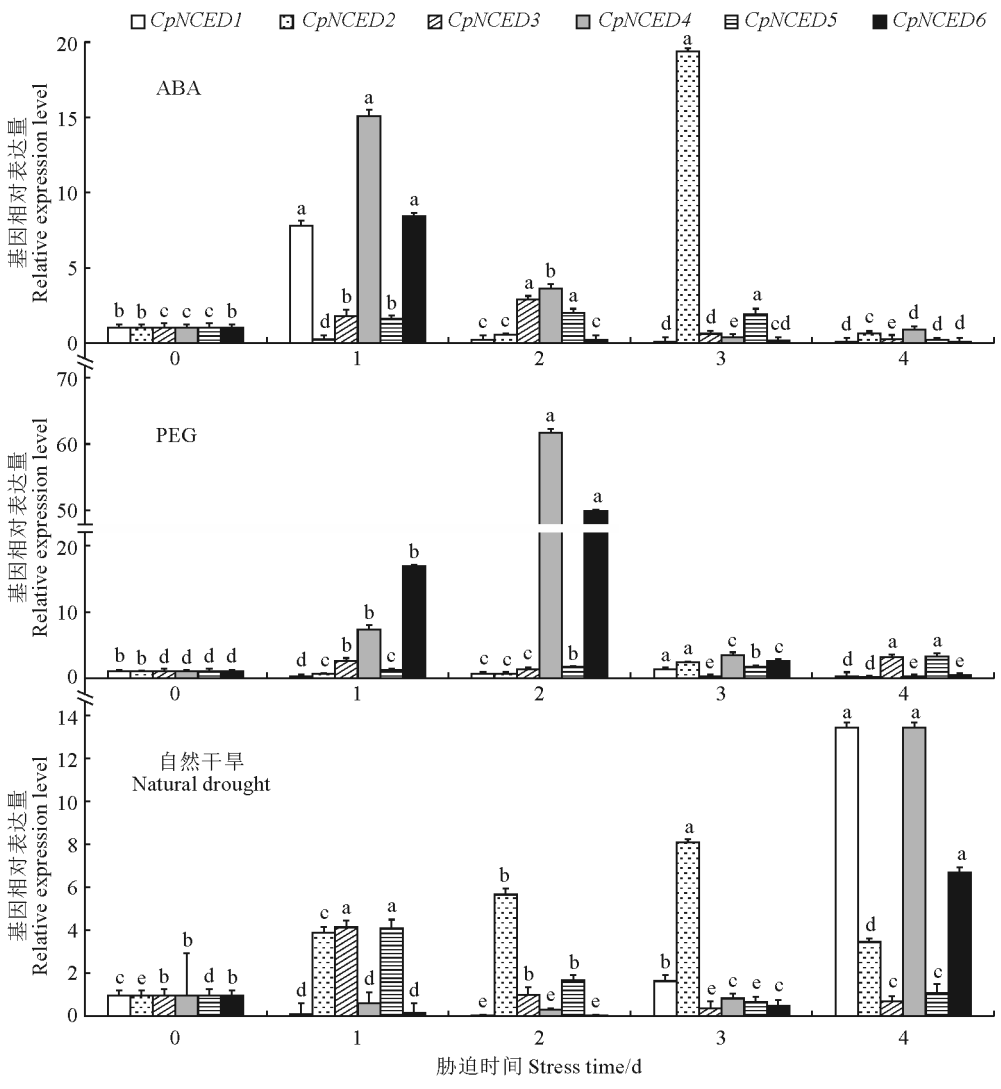
功能 Function	顺式元件 *cis*-element	启动子中元件数量 Numbers of *cis*-elements					
		NCED1	*NCED2*	*NCED3*	*NCED4*	*NCED5*	*NCED6*
脱落酸诱导顺式作用 *cis*-acting element involved in the abscisic acid responsiveness	ABRE	7	5	24	7	7	0
光调控 Light responsive element	ACE	1	0	1	0	0	0
	TCCC-motif	2	2	0	1	0	1
	GA-motif	0	0	1	1	0	0
	TCT-motif	0	1	1	2	0	0
	GATA-motif	2	0	0	0	0	3
	GT1-motif	2	1	0	3	1	6
	G box	8	6	26	10	8	0
光应答的保守 DNA 组成部分 Part of a conserved DNA moduleinvolved in light responsiveness	Box 4	5	14	7	6	8	9
厌氧诱导必需 *cis*-acting regulatory element essential for the anaerobic induction	ARE	4	4	0	0	4	0
分生组织表达调控 Regulatory element related to meristem expression	CAT-box	0	0	0	1	0	0
低温响应 *cis*-acting element involved in low-temperature responsiveness	LTR	1	2	1	0	1	1
生物和非生物胁迫应答，结合 WRKY 类转录因子 Biotic and abiotic stress responses, combined with WRKY transcription factors	W box	1	2	3	1	1	0
干旱诱导 MYB 结合位点 MYB binding site involved in drought-inducibility	MBS	1	0	1	4	0	1
细胞周期调控 *cis*-acting element involved in cell cycle regulation	MSA-like	0	0	1	0	0	0
玉米醇溶蛋白代谢调控 *cis*-acting regulatory element involved in zein metabolism regulation	O2-site	0	1	0	0	0	0
赤霉素诱导 Gibberellin-responsive element	P-box	1	0	0	0	0	0
水杨酸响应 *cis*-acting element involved in salicylic acid responsiveness	TCA-element	1	0	1	0	0	0
生长素诱导 Auxin-responsive element	TGA-box	0	0	2	0	0	0
	TGA-element	1	1	0	1	2	0
茉莉酸甲酯诱导 *cis*-acting regulatory element involved in the MeJA-responsiveness	CGTCA-motif	1	1	3	8	3	1

势，并在 8 h 的表达丰度最高；模拟干旱（10% PEG 6000）胁迫下，*CpNCEDs* 在 12 h 以内的表达量较对照组（0 h）整体上调，相比较之下，*CpNCED2* 和 *CpNCED4* 基因对于 PEG 6000 的敏感性更高，在 4 h 达到峰值，分别为对照组的 50 和 60 倍；干旱处理（停止浇水 0、1、2、3、4 d）下，*CpNCED1*、*CpNCED4* 和 *CpNCED6* 在 12 h 以内的表达量呈逐渐上调表达趋势，均在停止浇水 5 d 时的表达量达到最高，*CpNCED2*、*CpNCED3* 和 *CpNCED5* 的表达量呈现上调后下调的表达趋势，*CpNCED2* 在 3 d 的表达丰度最高，*CpNCED3* 和 *CpNCED5* 则在 1 d 表达量达到最高。

进一步对干旱胁迫下西葫芦叶片中的 ABA 含量测定发现，随着干旱胁迫天数增加，其中的 ABA 含量逐渐升高，并达到了极显著水平（$P<0.05$）（图 9，A）。对干旱胁迫下 *CpNCEDs* 表达和 ABA 含量相关性分析发现，*CpNCED2* 基因的表达量与 ABA 含量变化的相关性较高（$R^2=0.6654$）（图 9，B）。

3　讨　论

生产过程中，干旱胁迫是限制作物产量和品质的主要因素，脱落酸 ABA 的合成对于植物调节气孔开闭及响应干旱胁迫反应中起关键作用，*NCED* 基因家族编码的 9-顺式-环氧类胡萝卜素双加氧酶是高等植物通过类胡萝卜素途径从头合成（*de novo*）细胞内 ABA 的限速酶[21]。因此，发掘并明确 *NCED* 基因家族在干旱胁迫条件下的表达模式，对于西葫芦抗旱机制研究及其新品种选育具有重要意义。本研究从西葫芦全基因组中鉴定得到 6 个 *CpNCEDs* 基因家族成员均具有完整的阅读框，这些 *CpNCEDs* 基因均匀分布在 6 条不同染色体上，编码的 CpNCED 蛋白的理论分子量大小介于 62.64

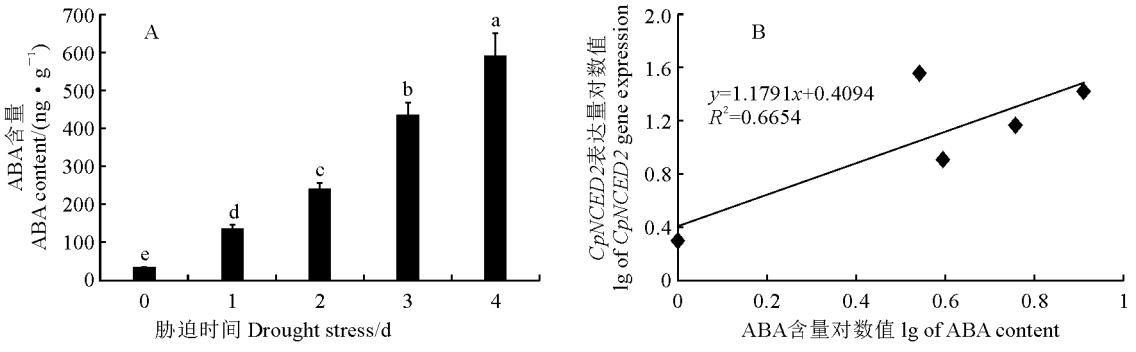


不同小写字母表示不同时间同一基因表达差异显著($P<0.05$)

图 8 不同胁迫条件下的 *CpNCED* 基因相对表达量分析

Different normal letters represent significant differences in the expression of the same *CpNCED* gene at different stress time points ($P<0.05$)

Fig. 8 Analysis of the relative expression of *CpNCED* genes under different stresses



A. 干旱胁迫下 ABA 含量变化，不同小写字母表示 ABA 含量变化的差异显著性($P<0.05$)；B. 干旱胁迫下 *CpNCED2* 基因表达与 ABA 含量变化相关性

图 9 干旱胁迫下的 ABA 含量变化分析

A. Analysis of ABA content under drought stress, different normal letters indicated significant differences in ABA content ($P<0.05$); B. Correlation analysis between *CpNCED2* gene expression and ABA content changes under drought stress

Fig. 9 Analysis of ABA content of *CpNCED* genes under drought stress

～65.54 kD 之间，但不含内含子，这些序列特征与其他植物中 *NCED* 基因及其编码蛋白的组成和结构类似[7]。亚细胞定位预测分析发现，6 个 CpNCEDs 蛋白亚细胞定位于叶绿体的可能性最大，这与前人的研究结果 NCED 蛋白主要定位于叶绿体的结果一致[22]，提示 ABA 生物合成途径主要发生在西葫芦的叶片组织器官中[23]。

通过对西葫芦 *NCED* 基因家族启动子（上游 2 500 bp）分析发现，*CpNCEDs* 基因的启动子区域含有多个与植物激素和逆境胁迫相关的顺式作用元件，包括 ABRE（ABA 响应元件）、W box（WRKY 转录因子结合元件）、MBS（干旱响应 MYB 结合元件）、P-box（GA 响应元件）、TCA-element（SA 响应元件）、CGTCA-motif（MeJA 响应元件）、TGA-element 和 TGA-box（生长素响应元件）等，暗示 *CpNCEDs* 基因可通过 ABA[24]、GA[25]、SA[26]、MeJA[27]和 Auxin[28]等激素响应途径或与 WRKY 和 MYB 转录因子结合，并在西葫芦逆境胁迫中起重要的调控作用。研究表明，ABRE 是 ABA 响应元件，ABA 可通过调节气孔开闭或者促进根系对水分吸收等途径来调控植物对干旱胁迫的适应性，启动子上游 ABA 反应元件 ABRE，ABRE 可被 AREB/ABF 家族以及密切相关的 ABI5 转录因子识别，并转录调控抗旱基因的 *AREB/ABF* 和 *ABI5* 的表达，从而提高植物的耐旱能力[29-30]。值得注意的是，本研究中 *CpNCED6* 基因启动子上游不含 ABRE 顺式作用元件，推测 *CpNCED6* 对干旱胁迫的响应为非 ABA 依赖型诱导基因或者通过与其他 CpNCED 蛋白形成复合体参与干旱胁迫反应[31]。根据前人研究报道，以及本研究中 4 个 *NCED* 基因启动子上游含有的 MBS 顺式作用元件，推测 *CpNCED1*、*CpNCED3*、*CpNCED4* 和 *CpNCED6* 可能与 MYB 转录因子结合并调控基因的表达来提高西葫芦的抗旱性能[32]。此外，*CpNCED1*、*CpNCED2*、*CpNCED3*、*CpNCED4* 和 *CpNCED5* 启动子上游含有与 WRKY 转录因子结合的 W box 元件，但两者之间的相互作用关系有待进一步挖掘和分析。

荧光定量 PCR 分析表明，获得的 6 个 *CpNCEDs* 基因具有组织表达特异性，但其表达模式不同，*CpNCED1*、*CpNCED3* 和 *CpNCED4* 在茎中高表达，*CpNCED2* 和 *CpNCED6* 在花中表达量最高，而 *CpNCED5* 在果实中表达量最高，这与拟南芥 *AtNCEDs*[13]、陆地棉 *GhNCEDs*[17]和桃 *PpNCEDs*[9]基因的组织表达特性相似，也暗示着 *CpNCEDs* 基因可能在西葫芦存在多种生物学功能。值得注意的是，在正常条件下，西葫芦 *CpNCEDs* 基因在叶片中的表达量相对较低，但能够受外源 ABA 和干旱胁迫诱导上调表达。本研究表明，在干旱和模拟干旱胁迫处理条件下，6 个 *CpNCEDs* 基因表达模式存在一定差异，激素 ABA、PEG 6000 以及干旱胁迫处理后，各 *CpNCED* 基因总体呈现上调表达趋势，但其表达模式不同。分析发现，*CpNCED3* 基因对于 3 种胁迫处理的敏感性较低，这可能与 CpNCED3 蛋白为 5′端的 motif 13 和 3′端的 motif 13 和 motif 15 基序的变异有关，推测 CpNCEDs 蛋白在该区域具有重要的生物学功能。*CpNCED2* 和 *CpNCED4* 对于外源 ABA 处理更为敏感，而 *CpNCED4* 和 *CpNCED6* 基因对于 PEG 的敏感性更高，是同期对照组的 50 和 60 倍。在干旱处理下，*CpNCED1* 和 *CpNCED4* 则呈现较高表达丰度；进一步对干旱胁迫下西葫芦叶片中的 ABA 含量测量发现，随着干旱胁迫天数增加，其内源 ABA 含量逐渐升高，并达到了极显著水平；但各个 *CpNCED* 基因的表达与 ABA 含量变化趋势不完全一致，其中相关性较高的为 *CpNCED2*（$R^2=0.6654$），推测几个 *CpNCEDs* 基因协同参与了 ABA 的代谢合成途径，从而暗示西葫芦干旱胁迫响应及其防御作用机制较为复杂[33-34]。

综上所述，本研究发现 6 个 *CpNCEDs* 基因与西葫芦干旱胁迫响应密切相关，*CpNCED* 基因家族成员对西葫芦干旱胁迫的响应以及 ABA 生物合成具有重要作用，尤其以 *CpNCED2* 和 *CpNCED4* 基因的作用更为明显。但 *CpNCEDs* 基因家族如何通过调节 ABA 的代谢合成从而响应干旱胁迫调控作用需进一步功能验证。

参考文献：

[1] 张 欣，陈军宏，薛应钰. 西葫芦 *CpMYB-TRF1* 基因克隆和表达模式分析[J]. 植物生理学报，2022，**58**(2)：281-293.
ZHANG X，CHEN J H，XUE Y Y. Cloning and expression analysis of *CpMYB-TRF1* gene in *Cucurbita pepo*[J]. *Plant Physiology Journal*，2022，**58**(2)：281-293.

[2] YASAR F，UZAL O，KOSE S，*et al*. Enzyme activities of certain pumpkin (*Cucurbita* spp.) species under drought stress[J]. *Fresenius Environmental Bulletin*，2014，**23**(4)：1 093-1 099.

[3] SEYMEN M，YAVUZ D，DURSUN A，*et al*. Identification of drought-tolerant pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) genotypes associated with certain fruit characteristics，seed yield，and quality[J]. *Agricultural Water Management*，2019，**221**：150-159.

[4] 刘建汀，曾美娟，温文旭，等. 西葫芦 9-顺式-环氧类胡萝卜素双加氧酶 CpNCED2 基因的克隆及其干旱响应模式研究[J]. 核农学报，2021，**35**(8)：1 751-1 760.
LIU J T，ZENG M J，WEN W X，*et al*. Cloning and drought response pattern of *CpNCED2*，a 9-*cis*-epoxycarotenoid dioxygenase gene from zucchini (*Cucurbita pepo* L.)[J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*，2021，**35**(8)：1 751-1 760.

[5] 赵 茜. 南瓜干旱胁迫相关基因的转录组分析[J]. 黑龙江农业科学，2020，(10)：25-30.
ZHAO Q. Transcriptome analysis of pumpkin under drought stress[J]. *Heilongjiang Agricultural Sciences*，2020，(10)：25-30.

[6] WANG P F，LU S Y，ZHANG X Y，*et al*. Double NCED isozymes control ABA biosynthesis for ripening and senescent regulation in peach fruits[J]. *Plant Science*，2021，**304**：110 739.

[7] 程鸿燕，郭 昱，马芳芳，等. 谷子 *NCED* 基因家族鉴定及其干旱胁迫响应表达模式分析[J]. 江苏农业科学，2019，**47**(1)：40-44.
CHENG H Y，GUO Y，MA F F，*et al*. Genome-wide identification and drought stress-responsive expression analysis of *NCED* genes in *Setaria italica*[J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*，2019，**47**(1)：40-44.

[8] 徐 胤，胡秋涛，侯 丹，等. 毛竹 *NCED* 基因家族的全基因组鉴定及表达分析[J]. 农业生物技术学报，2021，**29**(6)：1 061-1 072.
XU Y，HU Q T，HOU D，*et al*. Genome-wide identification and expression analysis of *NCED* gene family in *Phyllostachys edulis*[J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*，2021，**29**(6)：1 061-1 072.

[9] 张泽华，万淑媛，李 琴，等. 桃 PpNCED 家族成员鉴定与表达特性分析[J]. 西北农业学报，2021，**30**(10)：1 495-1 503.
ZHANG Z H，WAN S Y，LI Q，*et al*. Identification and expression analysis of PpNCED family members in *Prunus persica*[J]. *Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica*，2021，**30**(10)：1 495-1 503.

[10] 王小龙，刘凤之，史祥宾，等. 葡萄 NCED 基因家族进化及表达分析[J]. 植物学报，2019，**54**(4)：474-485.
WANG X L，LIU F Z，SHI X B，*et al*. Evolution and expression of NCED family genes in *Vitis vinifera*[J]. *Chinese Bulletin of Botany*，2019，**54**(4)：474-485.

[11] GAN Z Y，SHAN N，FEI L Y，*et al*. Isolation of the 9-*cis*-epoxycarotenoid dioxygenase (*NCED*) gene from kiwifruit and its effects on postharvest softening and ripening[J]. *Scientia Horticulturae*，2020，**261**：109 020.

[12] LENG P，ZHANG G L，LI X X，*et al*. Cloning of 9-*cis*-epoxycarotenoid dioxygenase (*NCED*) gene encoding a key enzyme during abscisic acid (ABA) biosynthesis and ABA-regulated ethylene production in detached young persimmon calyx[J]. *Chinese Science Bulletin*，2009，**54**(16)：2 830-2 838.

[13] TAN B C，JOSEPH L M，DENG W T，*et al*. Molecular characterization of the *Arabidopsis* 9-*cis* epoxycarotenoid dioxygenase gene family[J]. *The Plant Journal*：*for Cell and Molecular Biology*，2003，**35**(1)：44-56.

[14] HWANG S G，LEE C Y，TSENG C S. Heterologous expression of rice 9-*cis*-epoxycarotenoid dioxygenase 4 (OsNCED4) in *Arabidopsis* confers sugar oversensitivity and drought tolerance[J]. *Botanical Studies*，2018，**59**(1)：2.

[15] HUANG Y，JIAO Y，XIE N K，*et al*. *OsNCED5*，a 9-*cis*-epoxycarotenoid dioxygenase gene，regulates salt and water stress tolerance and leaf senescence in rice[J]. *Plant Science*，2019，**287**：110 188.

[16] CAI X，JIANG Z X，TANG L Y，*et al*. Genome-wide characterization of carotenoid oxygenase gene family in three cotton species and functional identification of *GaNCED3* in drought and salt stress[J]. *Journal of Applied Genetics*，2021，**62**(4)：527-543.

[17] 蔡 肖，王海涛，李兴河，等. 亚洲棉 NCED3 基因克隆及其抗旱功能分析[J]. 核农学报，2022，**36**(9)：1 713-1 722.
CAI X，WANG H T，LI X H，*et al*. Cloning and functional analysis of NCED3 on drought resistance in *Gossypium arboreum*[J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*，2022，**36**(9)：1 713-1 722.

[18] 吴洁芳，纪 凯，冷 平，等. 西葫芦果实 *CpNCED1* 基因 3′端的克隆及其表达分析[J]. 中国农业大学学报，2010，**15**(5)：25-30.
WU J F，JI K，LENG P，*et al*. Clonging and analysis of *CpNCED1* gene in zucchini[J]. *Journal of China Agricultural University*，2010，**15**(5)：25-30.

[19] 刘建汀，朱海生，王　彬，等. 西葫芦 *CpActin* 内参基因的分离及其作为内参基因的初步应用[J]. 植物遗传资源学报，2019，**20**(1)：188-198.
LIU J T，ZHU H S，WANG B，*et al*. Isolation of *CpActin* gene from *Cucurbita pepo* L. and it's preliminary application as an internal standard[J]. *Journal of Plant Genetic Resources*，2019，**20**(1)：188-198.

[20] MONTERO-PAU J，BLANCA J，BOMBARELY A，*et al*. De novo assembly of the zucchini genome reveals a whole-genome duplication associated with the origin of the Cucurbita genus[J]. *Plant Biotechnology Journal*，2018，**16**(6)：1 161-1 171.

[21] FREY A，EFFROY D，LEFEBVRE V，*et al*. Epoxycarotenoid cleavage by NCED5 fine-tunes ABA accumulation and affects seed dormancy and drought tolerance with other NCED family members[J]. *The Plant Journal*：*for Cell and Molecular Biology*，2012，**70**(3)：501-512.

[22] PEI X X，WANG X Y，FU G Y，*et al*. Identification and functional analysis of 9-*cis*-epoxy carotenoid dioxygenase (NCED) homologs in *G. hirsutum*[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*，2021，**182**：298-310.

[23] WU P M，LENG Y，LI S W. Transcriptome profiling provides new insights into ABA-mediated genes and pathways in leaves，stems，and roots of mung bean seedlings[J]. *Plant Growth Regulation*，2022，**98**(3)：569-587.

[24] MUHAMMAD ASLAM M，WASEEM M，JAKADA B H，*et al*. Mechanisms of abscisic acid-mediated drought stress responses in plants[J]. *International Journal of Molecular Sciences*，2022，**23**(3)：1 084.

[25] BATOOL M，EL-BADRI A M，HASSAN M U，*et al*. Drought stress in *Brassica napus*：Effects，tolerance mechanisms，and management strategies[J]. *Journal of Plant Growth Regulation*，2022：1-25.

[26] HE R R，ZHUANG Y，CAI Y M，*et al*. Overexpression of 9- *cis*-epoxycarotenoid dioxygenase cisgene in grapevine increases drought tolerance and results in pleiotropic effects [J]. *Frontiers in Plant Science*，2018，**9**：970.

[27] SUN T T，ZHANG J K，ZHANG Q，*et al*. Exogenous application of acetic acid enhances drought tolerance by influencing the MAPK signaling pathway induced by ABA and JA in apple plants[J]. *Tree Physiology*，2022，**42**(9)：1 827-1 840.

[28] GAINES T A. The quick and the dead：A new model for the essential role of ABA accumulation in synthetic auxin herbicide mode of action[J]. *Journal of Experimental Botany*，2020，**71**(12)：3 383-3 385.

[29] WAADT R，SELLER C A，HSU P K，*et al*. Plant hormone regulation of abiotic stress responses[J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*，2022，**23**(10)：680-694.

[30] NI Z Y，LIU N，YU Y H，*et al*. The cotton 70-kDa heat shock protein *GhHSP70-26* plays a positive role in the drought stress response[J]. *Environmental and Experimental Botany*，2021，**191**：104 628.

[31] CHEN C T，LU C T，TZEN J T C，*et al*. Physiological properties and molecular regulation in different edamame cultivars under drought stress[J]. *Agronomy*，2021，**11**(5)：939.

[32] TANG Y H，BAO X X，ZHI Y L，*et al*. Overexpression of a MYB family gene，*OsMYB6*，increases drought and salinity stress tolerance in transgenic rice[J]. *Frontiers in Plant Science*，2019，**10**：168.

[33] DU C X，LI H，LIU C，*et al*. Understanding of the postgerminative development response to salinity and drought stresses in cucumber seeds by integrated proteomics and transcriptomics analysis[J]. *Journal of Proteomics*，2021，**232**：104 062.

[34] LI Z Z，LIAN Y H，GONG P，*et al*. Network of the transcriptome and metabolomics reveals a novel regulation of drought resistance during germination in wheat[J]. *Annals of Botany*，2022，**130**(5)：717-735.

（编辑：宋亚珍）