

• 药材与资源 •

基于转录组测序分析野生与嫁接酸枣果实及酸枣仁外观性状差异的分子机制及核心基因筛选

焦红红^{1,2}, 张梦圆¹, 靳峰¹, 宋忠兴¹, 李国龙¹, 李婷¹, 高静^{3*}, 唐志书^{1,4*}

1. 陕西中医药大学 陕西中药资源产业化省部共建协同创新中心, 陕西 咸阳 712000
2. 中国中医科学院中药资源中心 道地药材品质保障与资源持续利用全国重点实验室, 北京 100700
3. 陕西中医药大学药学院, 陕西 咸阳 712000
4. 北京中医药大学, 北京 100029

摘要: 目的 探讨不同来源的酸枣 *Ziziphus jujuba* var. *spinosa* 果实及酸枣仁外观形态差异的分子机制及筛选影响其形态发育的核心基因。方法 以野生酸枣及嫁接酸枣的果实、酸枣仁为材料, 利用表型组进行外观形态差异分析; 利用 Illumina HiSeq 平台进行转录组测序, 经过数据质控、组装及基因注释后对差异表达基因 (differentially expressed genes, DEGs) 进行分析及筛选; 利用实时荧光定量 PCR (quantitative real-time PCR, qRT-PCR) 分析核心基因在不同组织部位, 赤霉素 (gibberellin, GA₃) 及干旱胁迫处理后的表达水平。结果 嫁接酸枣果实的横径、纵径及质量, 酸枣仁纵径、仁厚及质量均分别显著高于野生来源酸枣果实及酸枣仁; 转录组分析揭示嫁接酸枣与野生酸枣果实及酸枣仁之间的 DEGs 与对应激的反应、转录调控、植物激素信号转导及苯丙烷类物质生物合成有关。通过 qRT-PCR 筛选出 *WRKY53*、*WRKY40*、*TIFY9*、*NCED3*、*TSJT1*、*NRT3.1*、*BZIP9*、*TEN1*、*BXL1* 和 *LRX4* 等为影响酸枣果实和酸枣仁形态发育的核心 DEGs。150 mg/L GA₃ 处理后 *WRKY53*、*LRX4*、*NRT3.1* 及 *TIFY9* 显著上调, 而 *BZIP9* 及 *NCED3* 显著下调; PEG-6000 干旱胁迫下, *WRKY53*、*WRKY40*、*TEN1*、*TSJT1* 及 *TIFY9* 基因表达显著上调, *BZIP9* 及 *LRX4* 显著下调。结论 初步明确了嫁接酸枣与野生酸枣果实及酸枣仁之间形态差异的分子机制, 并筛选出影响酸枣果实和酸枣仁形态发育的关键候选基因及其在不同胁迫条件下的表达模式, 为酸枣的分子育种、环境适应性研究及资源定向改良提供了理论依据和关键靶点。

关键词: 酸枣; 野生; 嫁接; 果实; 酸枣仁; 赤霉素; 干旱

中图分类号: R282.12 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2026)11-4339-12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.11.021

Molecular mechanisms of phenotypic differences in wild and grafted *Ziziphus jujuba* var. *spinosa* fruits and seeds and core gene identification based on transcriptome sequencing analysis

JIAO Honghong^{1,2}, ZHANG Mengyuan¹, JIN Feng¹, SONG Zhongxing¹, LI Guolong¹, LI Ting¹, GAO Jing³, TANG Zhishu^{1,4}

1. Co-construction Collaborative Innovation Center for Chinese Medicine Resources Industrialization by Shaanxi & Education Ministry, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712000, China
2. State Key Laboratory for Quality Ensurance and Sustainable Use of Dao-di Herbs, National Resource Center for Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China
3. College of Pharmacy, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712000, China
4. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

Abstract: Objective To explore the molecular mechanisms underlying the morphological differences in fruits and seeds of *Ziziphus*

收稿日期: 2025-11-03

基金项目: 中央本级重大增减支项目名贵中药资源可持续利用能力建设项目 (2060302); 陕西省重点研发计划 (2024CY-JQ-41); 现代农业产业技术体系建设专项 (CARS-21); 咸阳市重点研发计划项目 (L2024-ZDYF-ZDYF-SF-0041, L2024-ZDYF-ZDYF-SF-0035)

作者简介: 焦红红, 讲师, 从事分子生药学研究。E-mail: jhh211411@163.com

*通信作者: 唐志书, 教授, 博士生导师, 从事中药资源开发与中药质量分析研究。E-mail: tzs6565@163.com

高静, 副教授, 硕士生导师, 从事中药资源开发与利用研究。E-mail: gaojing@sntcm.edu.cn

jujuba var. *spinosa* from different sources and to identify key genes influencing the morphological variation in *Z. jujuba* var. *spinosa* fruits and seeds. **Methods** Wild and grafted *Z. jujuba* var. *spinosa* fruits and seeds were used as materials. Phenotypic differences in their appearance were analyzed using a phenotypic group approach. Transcriptome sequencing was performed using the Illumina HiSeq platform. After data quality control, assembly, and gene annotation, differentially expressed genes (DEGs) were analyzed and screened. Quantitative real-time PCR (qRT-PCR) was used to assess the expression levels of key genes in different tissues, under gibberellin (GA₃) and drought stress treatments. **Results** The transverse and longitudinal diameters, as well as the weight of grafted *Z. jujuba* var. *spinosa* fruits, were significantly larger than those of wild *Z. jujuba* var. *spinosa* fruits. Similarly, the longitudinal diameter, thickness, and weight of grafted *Z. jujuba* var. *spinosa* seeds were significantly higher than those of wild *Z. jujuba* var. *spinosa* seeds. Transcriptome sequencing revealed that DEGs between grafted and wild *Z. jujuba* var. *spinosa* fruits and seeds were related to stress response, transcriptional regulation, plant hormone signal transduction, and phenylpropanoid biosynthesis. Through qRT-PCR, core DEGs influencing the morphological development of *Z. jujuba* var. *spinosa* fruits and seeds were identified, including *WRKY53*, *WRKY40*, *TIFY9*, *NCED3*, *TSJT1*, *NRT3.1*, *BZIP9*, *TEN1*, *BXL1*, and *LRX4*. After treatment with 150 mg/L GA₃, the expression levels of *WRKY53*, *LRX4*, *NRT3.1*, and *TIFY9* were significantly upregulated, whereas *BZIP9* and *NCED3* were significantly downregulated. Under PEG-6000 drought stress, the expression levels of *WRKY53*, *WRKY40*, *TEN1*, *TSJT1*, and *TIFY9* were significantly upregulated, while those of *BZIP9* and *LRX4* were significantly down-regulated. **Conclusion** This study preliminarily elucidated the molecular mechanisms underlying the morphological differences between grafted and wild *Z. jujuba* var. *spinosa* fruits and seeds. It also identified key candidate genes influencing the morphological development of fruits and seeds and their expression patterns under different stress conditions. These findings provide a theoretical basis and key targets for molecular breeding, environmental adaptability studies, and resource improvement of *Z. jujuba* var. *spinosa*.

Key words: *Ziziphus jujuba* Mill. var. *spinosa* (Bunge) Hu ex H. F. Chow; wild; grafted; fruit; *Ziziphi Spinosa* Semen; gibberellin; drought

酸枣 *Ziziphus jujuba* Mill. var. *spinosa* (Bunge) Hu ex H. F. Chow 属于鼠李科 (Rhamnaceae) 酸枣属 *Ziziphus*, 是一种多年生落叶灌木, 主要分布于我国北方及西北干旱半干旱地区, 如陕西、甘肃、河南、山西、河北等省份^[1]。酸枣的果实及种仁 (酸枣仁) 在食用及药用方面具有重要价值。酸枣果实富含多糖、有机酸及维生素 C, 兼具营养与药用功能, 被广泛用于开发功能性食品和饮料^[2]。酸枣仁作为《中国药典》2025 年版收录的经典中药材, 含有酸枣仁皂苷 A、酸枣仁皂苷 B、斯皮诺素等活性成分, 在调节中枢神经系统功能方面展现显著药理作用, 已成为治疗失眠、焦虑等神经精神疾病的核心药物^[3]。

酸枣仁的主要来源为野生酸枣资源, 但随着失眠、焦虑人员数量的激增, 临床上对于酸枣仁的需求呈现爆发式的增长, 市场上酸枣仁价格急剧上升, 在各方利益的加持下, 野生酸枣资源经历了掠夺式采收与破坏, 导致野生种群数量锐减^[4]。此外, 当前极端气候出现频率增加, 干旱、冷冻等异常环境胁迫引发的表型可塑性使得不同地域的酸枣果实与种仁质量存在显著差异^[5]。因此, 野生酸枣资源的减少以及果实与种仁质量的不稳定, 严重影响药材市场供需平衡, 在药材供应方面产生挑战。

为应对野生酸枣资源危机, 目前市场上出现大量的人工种植酸枣资源, 采用种间嫁接方式进行酸枣栽

培生产, 可以在短时间内显著提高酸枣的产量^[4]。课题组在实地调查及文献调研中发现, 嫁接酸枣果实与野生酸枣果实在外观形态上存在显著差异, 嫁接酸枣果实比野生酸枣形态更大, 外观均一性也明显优于野生酸枣^[6-7]。在“辨状论质”传统中药资源品质评价过程中, 酸枣仁品质以“粒大、饱满、紫红者”为佳^[8]。因此, 明确不同来源的酸枣仁形态是否存在差异及获得调控种仁大小的关键基因, 是提升酸枣仁品质的重要途径。基于此, 本研究结合表型组、转录组及生物信息学方法, 系统分析不同来源的酸枣果实与酸枣仁形态差异的分子机制, 筛选出影响酸枣果实及酸枣仁形态发育的关键基因, 并明确其基因表达模式, 为探索其品质的提升提供理论基础, 同时为酸枣的品种改良、栽培模式优化以及资源可持续利用提供新的研究思路。

1 材料与仪器

1.1 材料

嫁接酸枣及野生嫁接酸枣样品与 2024 年 9 月收集于陕西榆林清涧县 (109.65°E, 37.49°N), 嫁接酸枣砧木为 7 年生大枣树, 酸枣嫁接后树龄为 3 年, 野生酸枣树生长于嫁接酸枣地块边缘, 距离嫁接酸枣树小于 100 m。样品经陕西中医药大学宋忠兴主任医师鉴定为酸枣 *Z. jujuba* Mill. var. *spinosa* (Bunge) Hu ex H. F. Chow 的果实。

1.2 仪器

游标卡尺（规格 0~200 mm，精度 0.01 mm，哈尔滨量具刃具集团有限责任公司）、ME204E 型电子分析天平（精度千分之一，梅特勒-托利多）、ND2000 型微量分光光度计（美国赛默飞世尔科技）、Qubit2.0 型荧光定量计（美国赛默飞世尔科技）、Bioanalyzer 2100 型生物分析仪系统（美国安捷伦科技）、NovaSeq-PE150 型高通量测序系统（美国新英格兰生物实验室）、qTOWER 2.2 型荧光定量 PCR 仪（德国耶拿分析仪器股份公司）。

2 方法

2.1 样品的处理

嫁接及野生酸枣采样时随机选取 3 株长势一致且生长健壮的植株为样树（3 个生物学重复），每个样树采集酸枣果实不少于 100 个，立即置于冰上带回实验室，选取大小和成熟度基本一致的酸枣进行表型分析及 RNA-Seq 分析。用无菌手术刀切除酸枣果肉获得嫁接酸枣果实样品（JJG）及野生酸枣果实样品（QYG），之后剥离出酸枣果核，取出种仁，获得完整的嫁接酸枣仁样品（JJR）及野生酸枣仁样品（QYR），迅速放入液氮中冷冻后，于 -80 °C 冰箱中保存备用。

2.2 酸枣果实及酸枣仁外观性状测定^[9]

2.2.1 横径、纵径及厚度的测定 随机选取 50 个完整无损伤的酸枣果实及酸枣仁，利用游标卡尺测量横向最大长度以获得横径，纵向最大长度以获得纵径；以最大厚度进行测量，获得酸枣仁厚度指标。

2.2.2 质量测定 随机选取 50 个完整无损伤的酸枣果实及仁，利用电子分析天平进行逐一称定质量。

2.2.3 酸枣仁仁形指数 根据横径和纵径结果计算仁形指数（仁形指数 = 果仁纵径/果仁横径）。

2.3 RNA 提取、文库构建与转录组测序

利用 EASYspin Plus 植物 RNA 快速提取试剂盒（RN38，北京艾德莱生物科技有限公司）提取植物样本总 RNA；每个样品取 3 份样本，利用 1% 的琼脂糖凝胶电泳分析 RNA 的完整性；使用 ND2000 型分光光度计检测 RNA 的纯度；利用 Qubit[®]RNA Kit 及 Qubit2.0 荧光计进行 RNA 浓度定量；采用 Bioanalyzer 2100 系统检测 RNA 完整性。文库构建及测序由北京诺禾致源科技股份有限公司完成，库检合格后利用 Illumina NovaSeq-PE150 系统进行 RNA 测序。

2.4 差异表达基因（DEGs）筛选、基因本体（gene ontology, GO）及基因组百科全书（Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG）富集分析

利用 FastQC 软件对下机数据进行过滤获得 clean data 数据；通过 HISAT2 v2.0.5 将 clean data 数据比对到酸枣基因组上^[10]；利用 featureCounts（1.5.0-p3）计算映射到每个基因的读数；利用 DESeq2 R 包（1.20.0）进行嫁接与野生酸枣果实、酸枣仁之间的差异表达分析，使用 Benjamini 和 Hochberg 方法调整 P 值，以矫正后的 $P < 0.05$ ， $|\log_2(\text{fold change})| \geq 1$ 为 DEGs 的筛选标准；利用 Clusterprofiler R 软件包进行 GO 和 KEGG 富集分析，以 $P < 0.05$ 作为显著性富集的阈值。

2.5 qRT-PCR 分析

为了验证转录组数据的可靠性，对候选基因进行 qRT-PCR 分析。利用 Primer3Plus 在线网站（<https://www.primer3plus.com/index.html>）设计特异性 PCR 引物（表 1）。以 JJR、JJG、QYR、QYG 的总 RNA 为模板，利用 Evo M-MLV 反转录预混型试剂盒（AG11728，湖南艾科瑞生物工程有限公司）将 RNA 反转录成单链 cDNA。cDNA 产物用无 DNase 水以 1 : 10 比例稀释后作为模板备用。

表 1 qRT-PCR 引物

Table 1 qRT-PCR primers

基因名称	基因ID	正向引物序列 (5'-3')	反向引物序列 (5'-3')
<i>NRT3.1</i>	ZspiChr5G00102020	GGGTTCTCTTGGCTTCACT	CGCGTAGCATAGCTTTACC
<i>TSJT1</i>	ZspiChr7G00090400	CAGCGGCTCAATTGTTTCG	GACTCATTGTGGTGGGTGT
<i>BZIP9</i>	ZspiChr6G00041380	CGGAATTGGCTCTACAGGAG	CTGTGAATCCATGGTTACGG
<i>LRX4</i>	ZspiChr12G00249270	CGCCCATTTGGTACTACCTC	GCTTGTTTCCAAGCTTGCAAT
<i>TEN1</i>	ZspiChr2G00166520	CCGAGCATTGGTTGCTC	GTTGAGGTCCATGCCATCG
<i>NCED3</i>	ZspiChr1G00006910	GGAATGCCTGGGAAGAACAG	CTGCGATTGCCAAGTAAGC
<i>BXL1</i>	ZspiChr12G00264900	CACTGGAGAAGCTAGACAGC	GAAGAGCCTCAGACCACCAC
<i>WRKY40</i>	ZspiChr6G00038170	CACTGGAGAAGCTAGACAGC	GAAGAGCCTCAGACCACCAC
<i>TIFY9</i>	ZspiChr10G00226280	CTGTGATGAACAACCAGATGG	TGGTCAGAGGAGCACTTTCC
<i>WRKY53</i>	ZspiChr3G00243560	ATCTTCGTACGAAACCCGAG	GGTCTGAATCCTGATCGCTT
<i>UBQ</i>	ZspiChr10G00213160	TGGATGATTCTGGCAAAG	GTAATGGCGGTCAAAGTG

利用 SYBR Green Pro Taq HS 预混型 qPCR 试剂盒 (AG11701, 湖南艾科瑞生物工程有限公司), 在荧光定量梯度 PCR 仪上进行 qRT-PCR 反应。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算基因表达水平^[11], UBQ 为内参基因^[12]。

2.6 核心基因蛋白理化性质分析

利用 ExPASy 在线软件 (<http://web.expasy.org/protparam/>) 分析核心基因的蛋白理化性质, 包括氨基酸数量、相对分子质量、稳定性、等电点及亲水性等。利用 WoLF PSORT (<https://wolfsort.hgc.jp/>) 在线预测核心基因蛋白的亚细胞定位。

2.7 核心基因启动子顺式作用元件分析

利用 TBtools 软件提取核心基因起始密码子上游 1 000 bp 序列, 使用 PlantCARE (<https://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>) 在线网站分析其顺式作用元件, 利用 TBtools 进行启动子可视化作图^[13]。

2.8 核心基因响应植物激素赤霉素 (gibberellin, GA₃) 及干旱胁迫的表达分析

2.8.1 核心基因响应干旱胁迫处理分析 从 NCBI-SRA 数据库中下载酸枣幼苗干旱胁迫 (PEG6000 处理) 转录组原始数据 (登录号 SAMN19355494)。(1) 干旱处理的方法: 采用 20% PEG6000 溶液对生长 45 d 的酸枣幼苗进行干旱胁迫处理, 分别在处理 0 (CK)、6、12、48 h 时采集的叶片样本进行转录组测序^[14]。(2) 酸枣幼苗的生长条件: 温度 (25 ± 2) °C, 光照强度 130 μmol/(m²·s)。使用 Fastp 软件对原始测序数据进行质量控制, 获得高质量的 Clean data。利用 HISAT2 v2.0.5 软件将 Clean data 比对至酸枣基因组, 再通过 featureCounts (1.5.0-p3) 软件计算每个基因的映射读数, 根据基因的长度计算每个基因的每千碱基每百万映射读数的片段数 (fragments per Kilobase of transcript per million

mapped reads, FPKM)。

$FPKM = \frac{\text{映射到该基因的片段数} \times 10^9}{\text{总映射读数} \times \text{基因的长度}}$

2.8.2 核心基因响应 GA₃ 处理分析 选取大小一致, 表面无裂痕、籽粒饱满的酸枣种子, 利用 1% 次氯酸钠消毒 10 min, 无菌水冲洗干净后备用; 将无菌滤纸铺于一次型无菌培养皿 (φ=9 cm) 中, 在滤纸上添加 2 mL 150 mg/L GA₃ 溶液; 将灭菌后的酸枣种子置于含有 GA₃ 的滤纸上, 每个皿 10 粒种子, 共处理 6 个皿。23 °C, 16 h 光照/8 h 黑暗条件下培养, 分别于 0 h (TG0) 及 144 h (TG6) 后取酸枣种子样品进行 RNA 提取及 qRT-PCR 分析, 引物及方法同“2.5”项。

2.9 数据处理

使用 SPSS 21.0 软件进行统计学分析, 采用 Student's t-test 进行差异显著性分析, $P < 0.05$ 表示两组间差异有统计学意义; 使用 GraphPad Prism 进行绘图。

3 结果与分析

3.1 不同来源酸枣果实及酸枣仁外观形态差异分析

嫁接酸枣果实 (JJG) 与野生酸枣果实 (QYG) 相比, 果实更大且形态更加均一 (图 1-A); 嫁接酸枣仁 (JJR) 形态也比野生酸枣仁 (QYR) 大 (图 1-B)。JJG 的平均纵径长度、平均横径长度、平均质量均显著大于 QYG; JJR 的平均纵径、平均仁厚度及平均质量均显著高于 QYR 的平均纵径、平均仁厚度及平均质量。JJR 的平均仁形指数为 1.3405 ± 0.0214 , 显著大于 QYR 的平均仁形指数 1.2773 ± 0.0177 (表 2)。以上结果说明, 嫁接来源的酸枣果实及酸枣仁的纵径、横径及质量均显著增加。

3.2 转录组测序质量评估

利用 fastp 软件移除原始数据中含有接头、plo-

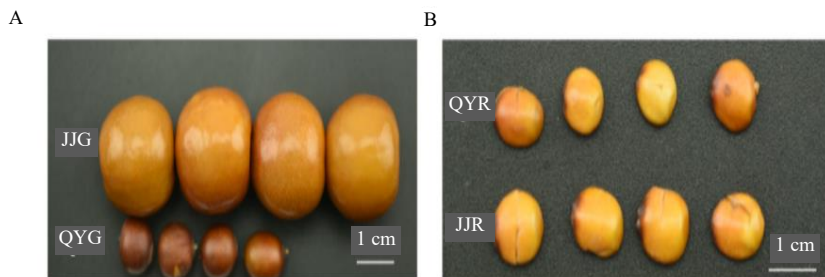


图 1 野生酸枣与嫁接酸枣果实 (A) 及酸枣仁 (B) 外观形态

Fig. 1 Morphological appearance of fruits (A) and seeds (B) of wild and grafted *Z. jujuba* var. *spinosa*

表 2 嫁接酸枣与野生酸枣果实及种子形态差异分析 ($\bar{x} \pm s, n = 50$)

Table 2 Morphological differences in fruits and seeds between grafted and wild *Z. jujuba* var. *spinosa* ($\bar{x} \pm s, n = 50$)

组织	纵径/cm	横径/cm	质量/g	仁厚/cm	仁形指数
JJG	1.672 4±0.037 7	1.496 6±0.017 2	2.719 4±0.092 6	—	—
QYG	1.060 4±0.016 4	0.891 6±0.012 9	0.620 0±0.023 0	—	—
JJR	0.730 4±0.012 8	0.546 8±0.009 1	0.112 9±0.022 5	0.267 6±0.006 1	1.340 5±0.021 4
QYR	0.668 0±0.012 6	0.524 6±0.009 2	0.045 1±0.002 4	0.239 4±0.004 8	1.277 3±0.017 7

N 的 reads 以及低质量的 reads, 最终获得 84.25 GB 的 clean bases。每组取 3 个样品, 测序数据质量评估结果表明, 各样品 Q_{20} 碱基百分比约为 98.0%, Q_{30} 碱基百分比均在 94.1% 以上, GC 含量介于 43.91%~45.24% (表 3); 利用 HISAT2 将

clean reads (原始数据滤过后的 reads 数) 比对到酸枣参考基因组上, Total_map 比对率介于 88.21%~91.69%, Unique_map 比对率介于 86.47%~89.75% (表 3)。以上结果说明测序数据质量较高, 符合后续分析的标准。

表 3 测序数据及比对统计

Table 3 Sequencing data and alignment statistics

样品	clean_bases	$Q_{20}/\%$	$Q_{30}/\%$	GC_pct/%	Total_map (占比/%)	Unique_map (占比/%)
JJG1	7.22G	98.11	94.68	43.91	42 469 684 (88.21)	41 636 217 (86.47)
JJG2	7.24G	98.17	94.99	44.08	43 784 381 (90.77)	42 897 027 (88.93)
JJG3	7.43G	98.17	94.89	44.50	44 986 581 (90.84)	43 893 690 (88.64)
JJR1	7.23G	98.15	94.83	45.03	43 821 058 (90.89)	42 897 346 (88.97)
JJR2	7.06G	98.01	94.42	44.96	43 159 143 (91.66)	42 258 917 (89.75)
JJR3	6.06G	97.96	94.12	44.98	36 895 992 (91.35)	36 160 623 (89.53)
QYG1	6.83G	98.15	94.86	44.73	40 889 458 (89.82)	39 648 795 (87.10)
QYG2	6.95G	98.15	94.87	44.54	41 491 684 (89.57)	40 517 792 (87.46)
QYG3	7.42G	98.34	95.26	44.69	45 089 198 (91.10)	43 902 299 (88.71)
QYR1	6.86G	98.37	95.39	44.96	41 919 584 (91.69)	41 027 250 (89.74)
QYR2	6.99G	98.07	94.56	45.24	42 543 497 (91.24)	41 634 352 (89.29)
QYR3	6.96G	98.10	94.77	45.07	42 185 369 (90.90)	41 322 416 (89.04)

clean_bases 为原始数据过滤后的碱基数; Q_{20} 及 Q_{30} 为 Phred 值大于 20/30 的碱基占总碱基的百分比; GC_pct 为 clean reads 中 G 与 C 占 4 种碱基百分比; Total_map 及 Unique_map 为比对到基因组上的 reads 数及唯一位置的 reads 数。

clean_bases: number of bases after filtering the raw data; Q_{20} and Q_{30} : percentage of bases with a Phred score greater than 20 and 30 relative to the total number of bases, respectively; GC_pct: percentage of G and C bases in the Clean reads out of the four base types; Total_map and Unique_map: number and percentage of reads mapped to the genome and unique locations in the reference genome, respectively.

3.3 DEGs 分析

3.3.1 DEGs 数量分析 分别使用 featureCounts (1.5.0-p3) 及 DESeq2R 包对基因进行定量分析及组间 DEGs 分析, 结果显示, QYG 与 JJG 相比 DEGs 为 3 695 个, 其中上调 DEGs 为 2 366 个, 下调 DEGs 为 1 329 个; 而 JJR 与 QYR 相比, DEGs 个数最少, 仅为 879 个, 包括 539 个上调 DEGs, 340 个下调 DEGs。酸枣果实与酸枣仁之间 DEGs 数量较多, 其中 JJR vs JJG 中有 10 832 个 DEGs, QYR vs QYG 有 10 287 个 DEGs (图 2-A)。维恩图分析结果显示: 在 4 个比较组合 (QYG vs JJG、QYR vs JJR、JJR vs JJG 及 QYR vs QYG) 中,

共有 122 个差异表达基因为所有组合的共有基因 (图 2-B), 这些基因可能是引起酸枣果实和酸枣仁形态差异的核心基因。

3.3.2 DEGs 功能及通路富集分析 利用 clusterProfiler 软件对 4 个比较组合 QYR vs QYG、QYG vs JJG、JJR vs JJG 及 QYR vs JJR 间的 DEGs 进行 GO 功能富集及 KEGG 通路富集分析。结果表明, 酸枣果实与酸枣仁, 比较组合中的 DEGs 主要与有机氮化合物生物合成过程 (organonitrogen compound biosynthetic process)、碳水化合物代谢过程 (carbohydrate metabolic process)、跨膜转运蛋白活

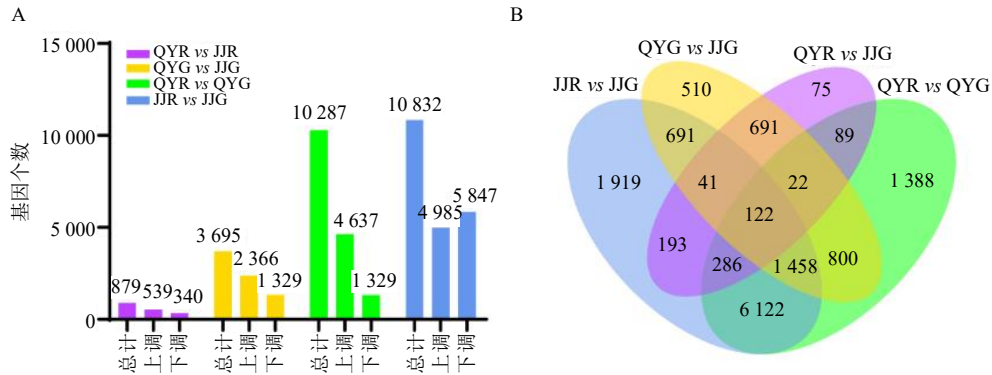


图 2 野生酸枣与嫁接酸枣果实及酸枣仁之间差异表达基因个数 (A) 及共有差异表达基因分析 (B)

Fig. 2 Number of differentially expressed genes (A) and analysis of shared differentially expressed genes (B) between wild and grafted *Z. jujuba* var. *spinosa* fruits and seeds

性 (transmembrane transporter activity) 及转录调控活性 (transcription regulator activity) 有关; 嫁接酸枣与野生酸枣果实及酸枣仁之间的 DEGs 主要与对应激的反应 (response to stimulus)、转录调控 (regulation of transcription, DNA-templated)、细胞大分子生物合成

过程的调控 (regulation of cellular macromolecule biosynthetic process) 及跨膜转运蛋白活性 (transmembrane transporter activity) 有关 (图 3)。

KEGG 富集结果表明, QYR vs QYG、QYG vs JJG、JJR vs JJG 及 QYR vs JJR 比较组合中,

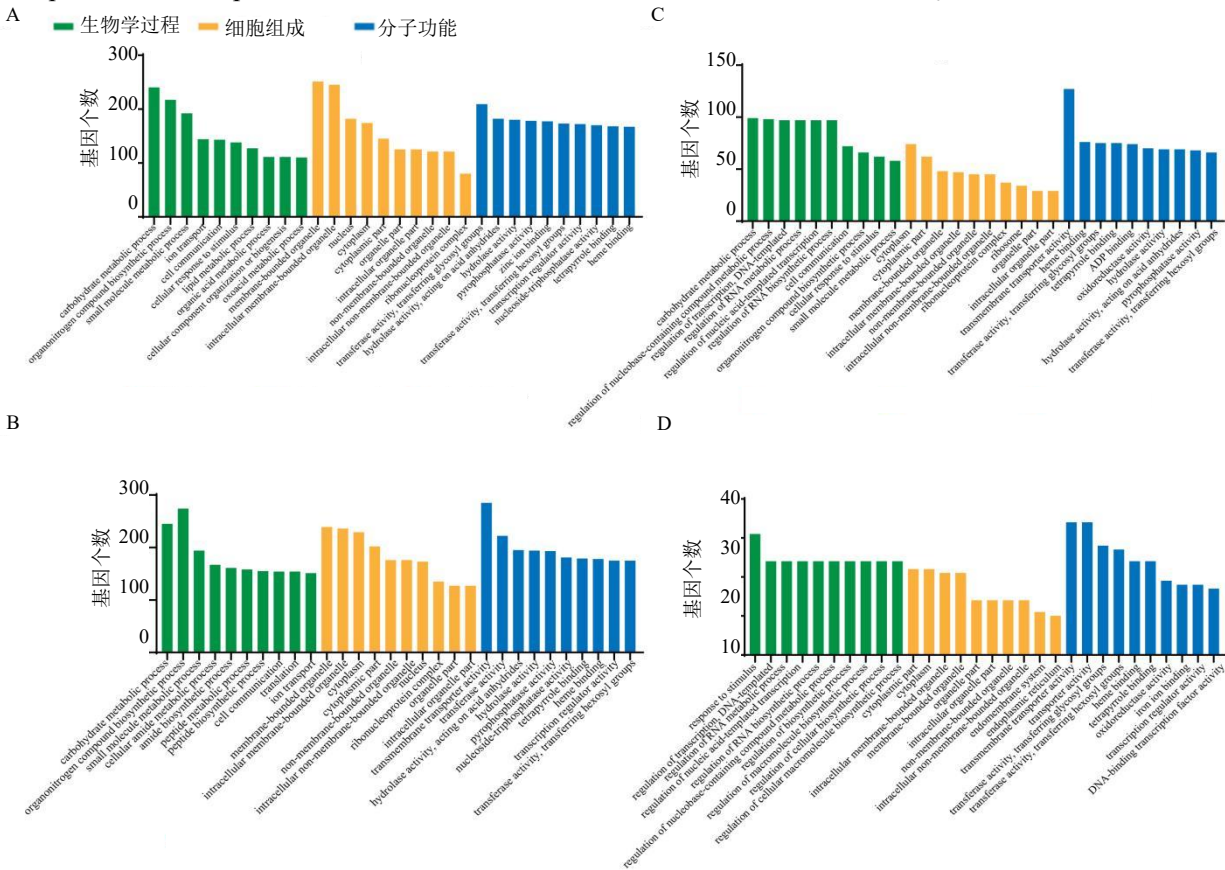


图 3 QYR vs QYG (A)、JJR vs JJG (B)、QYG vs JJG (C) 及 QYR vs JJR (D) 差异表达基因 GO 富集分析

Fig. 3 GO enrichment analysis of differentially expressed genes in QYR vs QYG(A), JJR vs JJG(B), QYG vs JJG(C), and QYR vs JJR(D)

DEGs 主要富集到内质网蛋白质加工 (protein processing in endoplasmic reticulum)、植物激素信号转导 (plant hormone signal transduction)、

苯丙烷类物质生物合成 (phenylpropanoid biosynthesis) 及植物-病原体互作 (plant-pathogen interaction) 中 (图 4)。

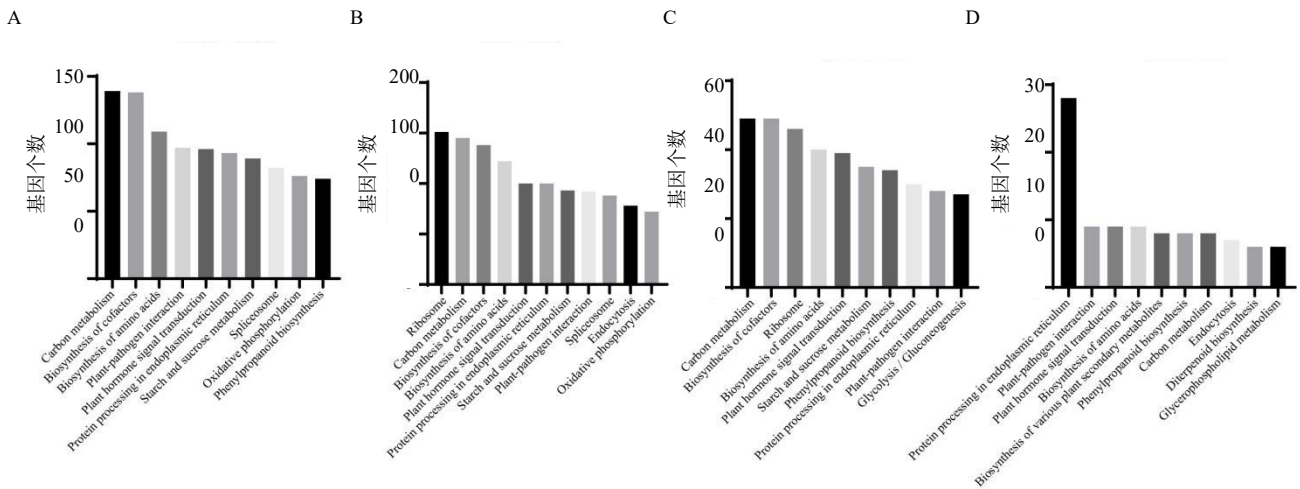


图 4 QYR vs QYG (A)、JJR vs JJG (B)、QYG vs JJG (C) 及 QYR vs JJR (D) 差异表达基因 KEGG 富集分析
Fig. 4 KEGG enrichment analysis of differentially expressed genes in QYR vs QYG (A), JJR vs JJG (B), QYG vs JJG (C), and QYR vs JJR (D)

3.3.3 影响酸枣果实及酸枣仁形态差异的核心基因挖掘及 qRT-PCR 验证 通过对 QYR 与 QYG、QYG 与 JJG、JJR 与 JJG 以及 QYR 与 JJR 比较组合中共有的可以注释到基因功能的 88 个 (34 个基因为未知功能) 基因, 过滤掉低丰度的表达基因 (FKPM 在所有组织中小于 1 的基因) 后对其基因功能进行文献检索, 结合转录组中 DEGs 主要与对应对激的反应、转录调控、植物激素信号转导有关的结果, 最终获得 10 个核心基因, 分别为愈伤形成 (*TSJT1*)、氮吸收 (*NRT3.1*)、细胞形态发育 (*BZIP9*)、植物激素 ABA (*NCED3*)、JA (*TIFY9*)、干细胞 (*TEN1*)、细胞壁扩展 (*LRX4*, *BXL1*) 及串扰生长与防御平衡 (*WRKY40*, *WRKY53*) 相关基因。基因表达谱显示, JJR 与 QYR 相比, *TSJT1*、*NRT3.1*、*BZIP9* 在 JJR 中的表达水平显著高于 QYR, 而 *NCED3*、*TIFY9*、*TEN1*、*LRX4*、*BXL1*、*WRKY40* 及 *WRKY53* 在 QYR 中的表达水平显著高于 JJR。JJG 与 QYG 相比, *TSJT1*、*BZIP9* 在 JJG 中的表达水平显著高于 QYG, 其余基因在 QYG 中的表达水平显著高于 JJG (图 5-A)。

为了验证 RNA-seq 结果准确性, 对候选的影响酸枣果实及酸枣仁外观形态差异的 10 个 DEGs 进行 qRT-PCR 验证。结果表明, 这些 DEGs 的基因表达水平的上调和下调趋势与 RNA-seq 结果一致 (图 5-B), 同时拟合曲线进一步证实 RNA-seq 结果的

准确性 (图 5-C)。

3.4 核心基因蛋白理化性质分析

蛋白理化性质结果表明, 核心基因编码的蛋白质氨基酸长度在 119 (*TEN1*)~781 (*BXL1*); 60% 的蛋白属于稳定蛋白 (不稳定指数小于 50); 蛋白 pI 在 5.49~9.33。WRKY40、WRKY53、BZIP9 蛋白主要定位于细胞核, 其余蛋白定位于细胞质、线粒体中 (表 4)。

3.5 核心基因启动子区顺式作用元件分析

为了进一步研究核心基因的功能, 揭示其在酸枣果实及酸枣仁生长、发育中的作用机制, 对 10 个基因上游启动子区序列进行顺式作用元件预测分析。启动子是基因表达调控的关键区域, 其顺式作用元件决定了基因在何种条件下被激活或抑制。结果表明, 核心基因的启动子区存在多种与植物激素响应 (如 ABA、茉莉酸甲酯、生长素、GA₃ 和水杨酸)、植物生长发育 (如光响应、分生组织激活、生物钟调控) 以及非生物与生物胁迫 (如厌氧诱导、干旱、低温、防御和应激反应) 相关的顺式作用元件 (图 6)。这些元件的存在不仅揭示了基因在植物形态发育中的潜在调控功能, 还为理解其在复杂环境胁迫条件下的适应性响应提供了重要线索, 为进一步的功能验证和应用研究奠定基础。

3.6 核心基因响应植物激素 GA₃ 的表达谱分析

GA₃ 是影响植物果实及种子生长、发育的关键

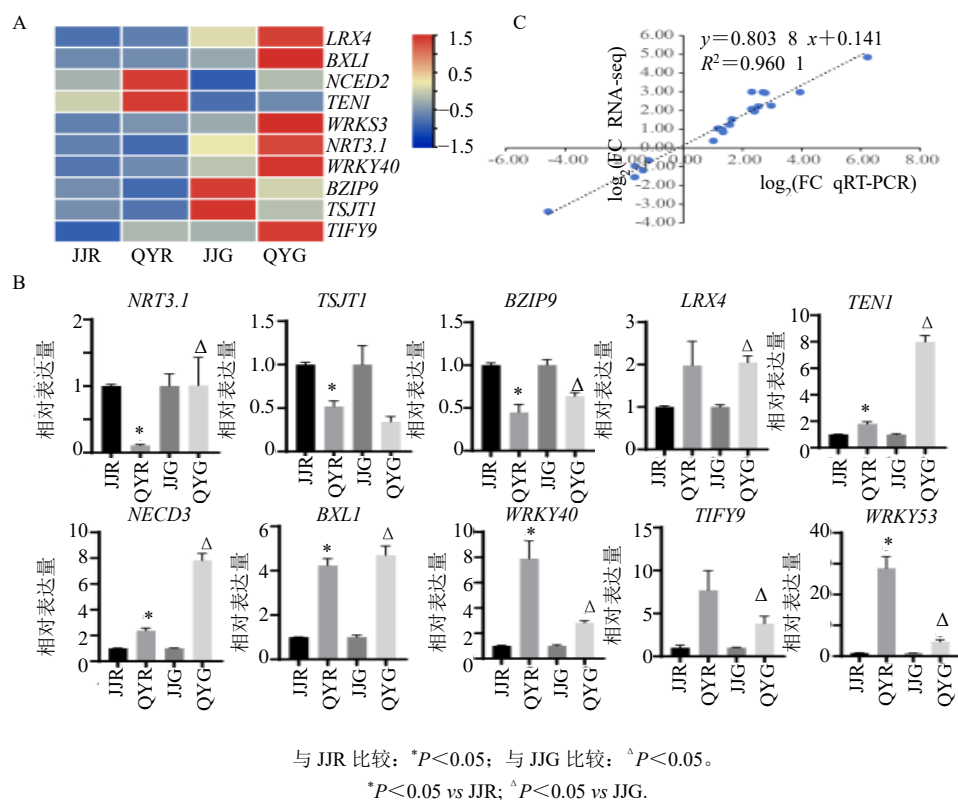


图 5 核心基因表达谱 (A)、qRT-PCR (B) 及拟合曲线 (C) ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 5 Core gene expression profile (A), qRT-PCR (B), and fitted curve (C) ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

表 4 核心基因的蛋白理化性质分析

Table 4 Analysis of physicochemical properties of core gene proteins

基因	相对分子质量	不稳定指数	亲水性	等电点	氨基酸数目	亚细胞定位
<i>NRT3.1</i>	22 656.99	25.64	-0.054	9.33	205	高尔基体:4.5、细胞膜:3.5、液泡:3、内质网:3
<i>TSJT1</i>	24 487.75	32.86	0.014	5.81	228	细胞质:9、细胞核:3、叶绿体:1、线粒体:1
<i>BZIP9</i>	38 379.34	51.51	-0.682	5.49	349	细胞核: 14
<i>LRX4</i>	80 918.20	100.01	-0.435	6.53	751	叶绿体:5、细胞核:5、液泡:2
<i>TEN1</i>	13 187.95	27.38	-0.161	8.08	119	线粒体:7、叶绿体:3、细胞核:1.5、细胞质:1.5
<i>NCED3</i>	69 778.17	44.31	-0.344	6.71	630	叶绿体: 11、细胞核: 3
<i>BXL1</i>	84 792.86	32.79	-0.122	8.89	781	细胞质:3.5、线粒体:3、E.R.:3, 叶绿体:1、细胞膜:1、液泡:1、过氧化物酶体
<i>WRKY4</i>	34 698.02	42.63	-0.542	8.14	316	细胞核:12、细胞质:1
<i>TIFY9</i>	23 222.39	57.38	-0.436	9.15	210	细胞核:8.5、细胞质:2.5、叶绿体:1
<i>WRKY5</i>	43 607.65	50.63	-0.859	5.90	391	细胞核: 13、叶绿体: 1

激素之一^[15], 且核心基因启动子区存在 GA 响应元件, 为了进一步解析关键基因的功能, 利用 GA₃ 处理酸枣种子, 研究其核心基因对于 GA₃ 的响应。结果表明, 与 0h 对照相比, *WRKY53*、*LRX4*、*NRT3.1* 和 *TIFY9* 基因在处理 144 h 后表达水平显著上调, 而 *BZIP9* 和 *NCED3* 基因的表达显著下调 (图 7), 说明 *WRKY53*、*LRX4* 等基因可以响应 GA₃ 进而参与形态发育的建成。

3.7 核心基因响应干旱胁迫下的表达谱分析

酸枣通常生长在干旱地区^[1], 其品质易受极端干旱等环境胁迫的影响^[5], 且生物信息学分析预测核心基因启动子区具有干旱、抵御胁迫等响应元件, 因此对核心基因在干旱胁迫下的表达谱进行分析。结果表明, *TSJT1*、*TIFY9*、*TEN1*、*WRKY40* 及 *WRKY53* 在干旱胁迫处理 6h 后表达水平显著升高, 而 *BZIP9* 及 *LRX4* 表达量显著下降; 处理 12h 后,

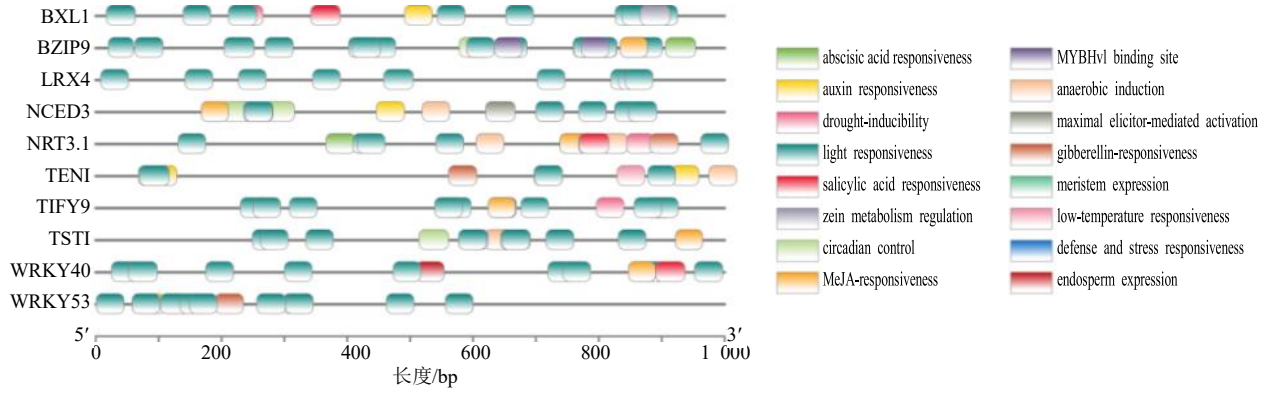
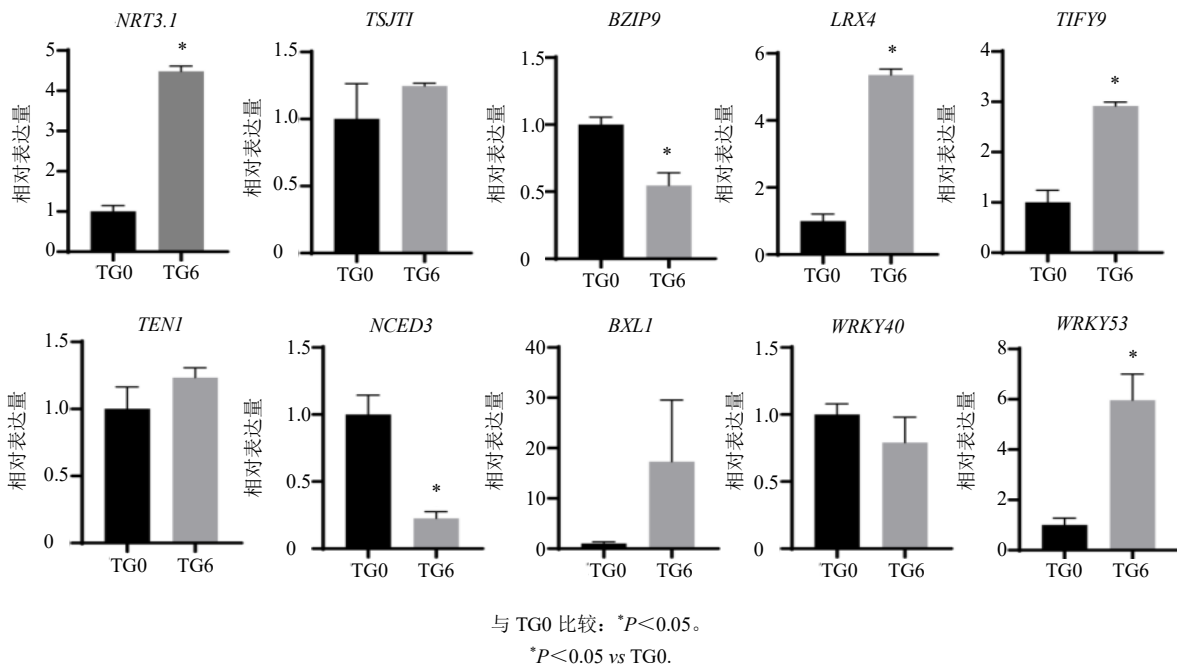


图6 核心基因启动子顺式作用元件分析

Fig. 6 Cis-acting element analysis of core gene promoters



与 TG0 比较: * $P < 0.05$ 。
* $P < 0.05$ vs TG0.

图7 核心基因在 GA_3 处理下的基因表达水平变化 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 7 Analysis of gene expression levels of core genes under GA_3 treatment ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

TSJTI、*TIFY9*、*TEN1*、*BXL1*、*WRKY40* 及 *WRKY53* 基因表达量显著升高, *LRX4* 表达量显著下降; 处理 48 h 后, *TIFY9* 及 *WRKY40* 基因表达量显著上升(图 8)。以上结果初步说明 *WRKY40* 及 *WRKY53* 等基因可能通过响应干旱胁迫, 调节植物生长、发育过程, 从而影响酸枣果实和酸枣仁的形态特征。

3.8 核心基因蛋白互作网络分析

利用 String 数据库 (<http://string-db.org>) 对 10 个核心基因进行蛋白互作网络分析。结果表明, *WRKY40* 是蛋白互作网络中的核心节点, 并与 *WRKY53* 及 *TIFY9* 蛋白存在显著的互作关系。此外, *WRKY40* 通过 *WRKY63* 或 *NAC055* 蛋白与 ABA 生物合成的关键酶基因 *NCED3* 发生相互作用。*TEN1* 蛋

白则与 *RALFL22* 蛋白相互作用, *RALFL22* 进一步与 *BXL1* 蛋白发生关联(图 9)。以上结果说明, 转录因子 *WRKY40*、*WRKY53*、*TEN1* 及 *TIFY9* 可能是影响酸枣果实及酸枣仁形态发育的核心基因。

4 讨论

酸枣具有极高的食用及药用价值, 其叶、花、果肉、树皮、根、根皮、酸枣仁(种子)皆可入药, 尤以酸枣仁入药研究报道最为全面。河北邢台被认为是酸枣仁的道地产区, 其品质以“粒大、饱满、紫红者”为佳^[8]。本研究通过分析不同来源的酸枣仁形态差异及分子机制, 筛选可能调控酸枣仁形态发育的关键基因。最终鉴定获得可能影响酸枣仁形态建成的关键基因, 包括 *WRKY53*、*WRKY40*、*bZIP9*

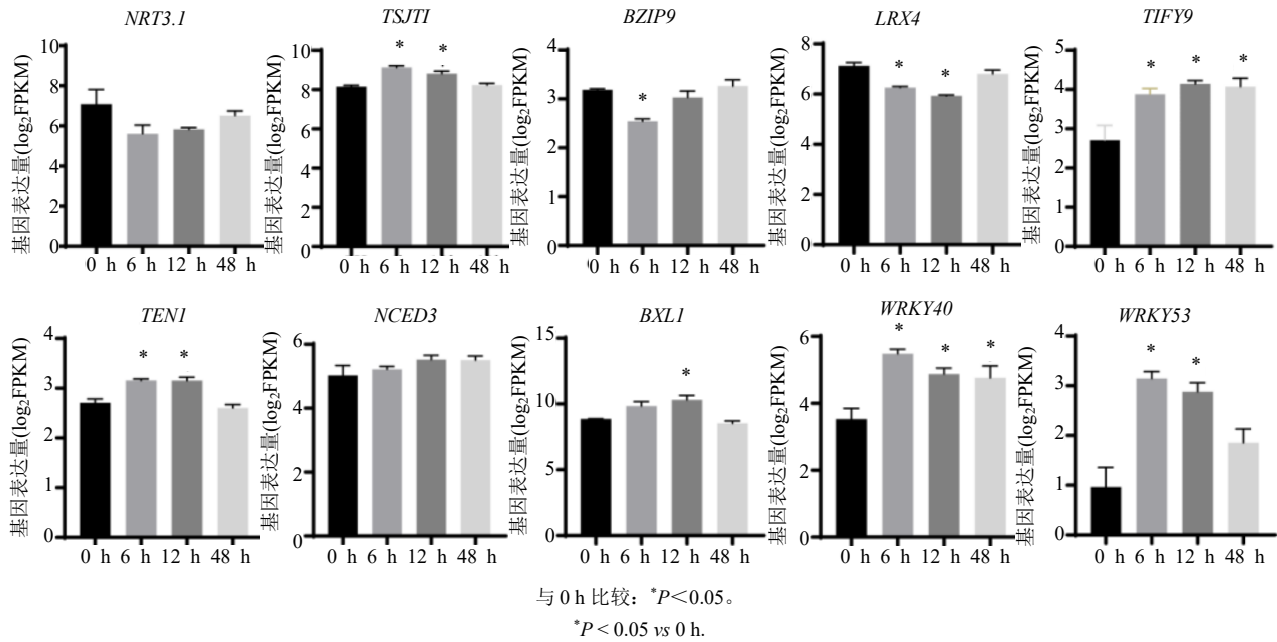


图 8 核心基因在不同时间干旱胁迫后的基因表达水平分析 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 8 Analysis of gene expression levels of core genes under drought stress at different time points ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

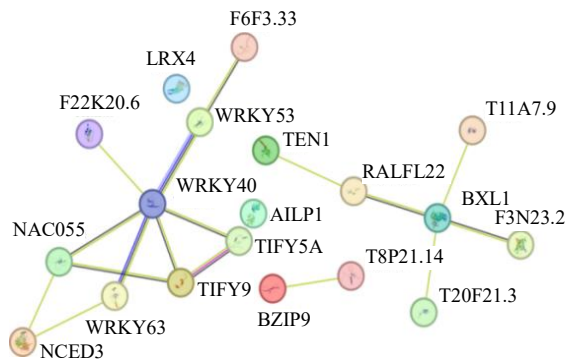


图 9 影响酸枣果实及酸枣仁形态差异关键基因蛋白互作网络

Fig. 9 Protein interaction network affecting morphological differences of *Z. jujuba* var. *spinosa* fruits and seeds

转录因子, *TIFY9*、*TEN1*、*LRX4* 等功能基因和 *NCED3* 等代谢酶基因。这些基因在转录因子介导的种子大小及防御调控、细胞壁重塑促进的生长与防御、干细胞基因调控的损伤修复等过程中发挥协同作用, 共同影响酸枣的生长与发育。

WRKY53 及 *WRKY40* 是调控种子大小及防御的核心转录因子, 目前已在水稻中构建了生长与防御基因调控网络。其中, *OsGIF1* 与转录因子 *OsWRKY53* 的相互作用可调控水稻的籽粒长度和耐盐性^[16]; *OsWRKY53* 通过油菜素内酯激素信号途径和丝裂原激活蛋白激酶途径及 *GW5-WRKY53-SGW5* 模块调控水稻籽粒大小并提高产量^[17-18]。此

外, *WRKY53* 及 *TIFY9* 还通过增强水稻对细菌性病原的防御能力, 间接影响其生长与发育^[19-20]。*NCED3* 为植物防御激素 ABA 生物合成途径中的关键限速酶^[21], *WRKY40* 转录因子则是 ABA 信号途径的下游负应答因子, *WRKY40* 突变后表现为对 ABA 的高敏感性^[22]。

本研究发现来源于嫁接酸枣仁与野生酸枣仁中 *WRKY53*、*WRKY40*、*NCED3* 和 *TIFY9* 的表达水平存在显著差异, 且 *WRKY53*、*WRKY40* 及 *TIFY9* 基因可以响应干旱胁迫及 *GA₃* 诱导, 表达水平显著上升, 表明以 *WRKY53* 和 *WRKY40* 转录因子为核心的生长与防御调控网络可能是影响嫁接酸枣仁形态差异的重要机制。在基因蛋白互作预测结果中也表明, *WRKY40*、*WRKY53*、*TEN1* 及 *TIFY9* 蛋白存在复杂的互作关系。同时, *WRKY53* 可以参与调控红豆杉中异黄酮的生物合成^[23], *WRKY40* 可能参与番茄中三萜成分角鲨烯的生物合成^[24]。酸枣仁中的指标性化学成分为斯皮诺素及酸枣仁皂苷 A、酸枣仁皂苷 B, 以 *WRKY40*、*WRKY53* 转录因子为核心基因网络, 是否会协同调控酸枣仁形态发育、防御及指标性化学成分的生物合成, 后期将进一步进行验证分析。

此外, 嫁接酸枣仁与野生酸枣仁之间与细胞壁、氮吸收和干细胞损伤修复相关的基因表达水平存在差异, 说明这些基因也可能间接参与酸枣形态

发育的调控。细胞壁作为植物生长、发育及防御的关键物理屏障，其重塑在植物免疫及生长中起着重要作用，如葡萄中的细胞壁重塑蛋白 BXL1 能够通过去除阿拉伯糖和木糖侧链，提升对灰葡萄球菌的免疫^[25]；拟南芥中的 *AtLRX1* 和 *AtLRX2* 则在根毛细胞壁的发育中发挥重要作用^[26]。氮是植物生长所必需的大量营养元素，嫁接可以影响植物对氮的吸收能力，如甜瓜嫁接后对硝酸盐吸收速率和活性发生变化，与硝酸盐转运蛋白 *CmoNRT2.1* 促进甜瓜对硝酸盐的吸收有关^[27]，拟南芥中的 *AtNRT2.1* 参与缺氮条件下幼苗根毛对 NO_3^- 和 NH_4^+ 的吸收^[28]。干细胞是植物各种组织和器官细胞的最终来源，维持干细胞生态位及染色体完整性对于植物的生长发育至关重要^[29]。*TEN1* 是调控端粒稳定性及染色体完整性的关键基因，突变后端粒对热应激的敏感性增加，且拟南芥的根尖干细胞发育受抑制，导致根长缩短^[30-31]。以上基因可以作为酸枣分子育种中重点关注的靶标基因。

本研究通过表型组分析明确了嫁接与野生酸枣果实及酸枣仁在外观形态上的差异，即嫁接酸枣的果实横径、纵径及质量，以及酸枣仁的纵径、仁厚及质量均显著高于野生来源。RNA-seq 揭示嫁接与野生酸枣之间 DEGs 主要与应激反应、转录调控、植物激素信号转导及苯丙烷类物质生物合成等有关。这些功能富集的 DEGs 为深入理解嫁接与野生酸枣形态差异的分子基础提供科学依据。通过 qRT-PCR 筛选出 10 个核心 DEGs，包括 *WRKY53*、*WRKY40*、*TIFY9*、*NCED3*、*TSJT1*、*NRT3.1*、*BZIP9*、*TEN1*、*BXL1* 及 *LRX4*。这些基因不仅与酸枣果实及酸枣仁的形态发育密切相关，还表现出对干旱胁迫和 GA_3 处理的显著响应，表明它们可能通过响应干旱胁迫和 GA_3 信号，调节植物的生长发育过程，从而影响酸枣果实和酸枣仁的形态特征。

本研究初步阐明了嫁接与野生酸枣果实及酸枣仁形态差异的分子机制，并获得形态差异的关键候选基因，为酸枣的分子育种及资源定向改良提供重要的理论依据与关键靶点。然而，由于酸枣遗传转化体系构建困难、周期漫长等因素，筛选的关键基因功能尚未在体内得到进一步验证。未来的研究将致力于优化转基因方法，验证候选基因的生物学功能，并重点关注其对酸枣仁指标性化学成分的影响，为优质酸枣资源品质提升提供科学依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 李智慧, 刘淑怡, 李旭茂, 等. 不同酸枣种质资源药用成分含量测定及优良资源筛选 [J]. 中药材, 2024, 47(3): 654-660.
- [2] 刘巧红, 朱国栋, 李会涛. 酸枣在功能食品中的应用研究进展 [J]. 现代食品, 2024(19): 43-49.
- [3] 解玉军, 李泽, 崔小芳, 等. 酸枣化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中成药, 2021, 43(5): 1269-1275.
- [4] 录亿隆, 樊勇, 刘莹, 等. 酸枣研究进展及发展对策 [J]. 中国果树, 2024(12): 1-7.
- [5] 郑强卿, 李鹏程, 陈奇凌, 等. 干旱胁迫下不同产地酸枣抗性生理指标综合评价 [J]. 新疆农业科学, 2017, 54(4): 618-625.
- [6] Wu M, Guo H C, Zhao M W, et al. DNA barcoding identification of grafted *Semen Ziziphi Spinosae* and transcriptome study of wild *Semen Ziziphi Spinosae* [J]. *PLoS One*, 2023, 18(12): e0294944.
- [7] Kong Y X, He S L, Ma D L, et al. Chemical composition determination and transcriptomic analyses provide insight into the differences between wild and grafted *Semen Ziziphi Spinosae* [J]. *BMC Genom*, 2024, 25(1): 978.
- [8] 吴贻谷. 中华本草: 精选本 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1998: 56.
- [9] 郑其枫. 基于“表观性状-化学组分”的酸枣仁品质评判指标体系研究 [D]. 天津: 天津中医药大学, 2022.
- [10] Li K, Chen R H, Abudoukayoumu A, et al. Haplotype-resolved T2T reference genomes for wild and domesticated accessions shed new insights into the domestication of jujube [J]. *Hortic Res*, 2024, 11(5): uhae071.
- [11] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C_t}$ method [J]. *Methods*, 2001, 25(4): 402-408.
- [12] Zhang C M, Huang J, Li X G. Identification of appropriate reference genes for RT-qPCR analysis in *Ziziphus jujuba* Mill [J]. *Sci Hortic*, 2015, 197: 166-169.
- [13] Chen C J, Chen H, Zhang Y, et al. TBtools: An integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data [J]. *Mol Plant*, 2020, 13(8): 1194-1202.
- [14] Li M, Zhang C X, Hou L, et al. Multiple responses contribute to the enhanced drought tolerance of the autotetraploid *Ziziphus jujuba* Mill. var. *spinosa* [J]. *Cell Biosci*, 2021, 11(1): 119.
- [15] Koryznicenė D, Jurkonienė S, Žalnierius T, et al. *Heracleum sosnowskyi* seed development under the effect of exogenous application of GA_3 [J]. *PeerJ*, 2019, 7: e6906.
- [16] Wang Y Y, Chen W X, Xing M, et al. Wild rice GL12 synergistically improves grain length and salt tolerance in

- cultivated rice [J]. *Nat Commun*, 2024, 15: 9453.
- [17] Tian X J, He M L, Mei E Y, *et al.* WRKY53 integrates classic brassinosteroid signaling and the mitogen-activated protein kinase pathway to regulate rice architecture and seed size [J]. *Plant Cell*, 2021, 33(8): 2753-2775.
- [18] Abbas W, Shalmani A, Zhang J, *et al.* The GW5-WRKY53-SGW5 module regulates grain size variation in rice [J]. *New Phytol*, 2024, 242(5): 2011-2025.
- [19] Xie W Y, Ke Y G, Cao J B, *et al.* Knock out of transcription factor WRKY53 thickens sclerenchyma cell walls, confers bacterial blight resistance [J]. *Plant Physiol*, 2021, 187(3): 1746-1761.
- [20] John Lilly J, Subramanian B. Gene network mediated by WRKY13 to regulate resistance against sheath infecting fungi in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *Plant Sci*, 2019, 280: 269-282.
- [21] Ma Q B, Xia Z L, Cai Z D, *et al.* GmWRKY16 enhances drought and salt tolerance through an ABA-mediated pathway in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Front Plant Sci*, 2019, 9: 1979.
- [22] Ahmad R, Liu Y T, Wang T J, *et al.* GOLDEN2-LIKE transcription factors regulate WRKY40 expression in response to abscisic acid [J]. *Plant Physiol*, 2019, 179(4): 1844-1860.
- [23] Wang J Q, Li L, Wang Z H, *et al.* Integrative analysis of the metabolome and transcriptome reveals the molecular regulatory mechanism of isoflavonoid biosynthesis in *Ormosia henryi* Prain [J]. *Int J Biol Macromol*, 2023, 246: 125601.
- [24] Lindo L, Cardoza R E, Lorenzana A, *et al.* Identification of plant genes putatively involved in the perception of fungal ergosterol-squalene [J]. *J Integr Plant Biol*, 2020, 62(7): 927-947.
- [25] Guzha A, McGee R, Scholz P, *et al.* Cell wall-localized BETA-XYLOSIDASE4 contributes to immunity of *Arabidopsis* against *Botrytis cinerea* [J]. *Plant Physiol*, 2022, 189(3): 1794-1813.
- [26] Draeger C, Ndinyanka Fabrice T, Gineau E, *et al.* *Arabidopsis* leucine-rich repeat extensin (LRX) proteins modify cell wall composition and influence plant growth [J]. *BMC Plant Biol*, 2015, 15(1): 155.
- [27] Hou S A, Zhu Y L, Wu X F, *et al.* Scion-to-rootstock mobile transcription factor CmHY5 positively modulates the nitrate uptake capacity of melon scion grafted on squash rootstock [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(1): 162.
- [28] Ma H P, Zhao J C, Feng S, *et al.* Heterologous expression of nitrate assimilation related-protein DsNAR2.1/NRT3.1 affects uptake of nitrate and ammonium in nitrogen-starved *Arabidopsis* [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(11): 4027.
- [29] Leehy K A, Lee J R, Song X Y, *et al.* Meristem disorganization1 Encodes TEN1, an essential telomere protein that modulates telomerase processivity in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell*, 2013, 25(4): 1343-1354.
- [30] Lee J R, Xie X Y, Yang K L, *et al.* Dynamic interactions of *Arabidopsis* TEN1: Stabilizing telomeres in response to heat stress [J]. *Plant Cell*, 2016, 28(9): 2212-2224.
- [31] Wang B X, Shi X W, Gao J B, *et al.* SCARECROW maintains the stem cell niche in *Arabidopsis* roots by ensuring telomere integrity [J]. *Plant Physiol*, 2023, 192(2): 1115-1131.

[责任编辑 时圣明]