

# 芫荽基因组中 NBS-LRR 家族基因的 鉴定及系统演化分析

钱兰华<sup>1</sup>, 孙小芹<sup>2</sup>, 邹鑫<sup>3</sup>, 张艳梅<sup>2,①</sup>

[1. 苏州农业职业技术学院, 江苏 苏州 215008; 2. 江苏省中国科学院植物研究所(南京中山植物园), 江苏 南京 210014;  
3. 苏州市种子管理站, 江苏 苏州 215011]

**摘要:** 基于芫荽(*Coriandrum sativum* Linn.) 基因组测序结果, 利用 BLAST 和 HMMER 软件对芫荽基因组中的 NBS-LRR 家族基因进行鉴定, 分析这些基因在芫荽染色体上的分布情况和复制类型, 对芫荽、旱芹(*Apium graveolens* Linn.) 和野胡萝卜(*Daucus carota* Linn.) 基因组中的 NBS-LRR 家族基因进行系统演化分析, 并对鉴定的 NBS-LRR 家族基因在芫荽根、茎、叶和花中的表达丰度进行比较。结果表明: 在芫荽基因组中共鉴定出 191 个 NBS-LRR 家族基因, 属于 CNL、TNL 和 RNL 3 个亚类, 各包含 122、62 和 7 个基因。有 155 个 NBS-LRR 家族基因被定位到芫荽的 11 条染色体上, 其中, 7 号染色体上的 NBS-LRR 家族基因最多(33), 6 号染色体上的 NBS-LRR 家族基因最少(2); 这些基因可划分成 98 个位点, 包括 72 个单基因位点和 26 个多基因位点, 平均每个位点 1.6 个基因, 其中, 多基因位点分布在 1 号、2 号、3 号、4 号、7 号、9 号和 10 号染色体上, 共包含 83 个 NBS-LRR 家族基因, 平均每个多基因位点 3.2 个基因。在定位到染色体上的 NBS-LRR 家族基因中, 分散重复基因最多(91), 串联重复和近端重复基因较多(分别为 34 和 26), 而片段重复基因最少(4)。系统演化分析结果表明: 芫荽、旱芹和野胡萝卜基因组中的 NBS-LRR 家族基因按照 CNL、TNL 和 RNL 亚类聚成 3 个分支, 并且芫荽、旱芹和野胡萝卜的多数 NBS-LRR 家族基因各自聚集, 说明 NBS-LRR 家族基因在供试 3 个种类分化后发生了物种特异性扩张。芫荽 NBS-LRR 家族基因在不同器官中的表达分析结果显示: 多数 NBS-LRR 家族基因能够在芫荽不同器官中表达, 但表达丰度很低。综上所述, 芫荽基因组中的 NBS-LRR 家族基因较少, 在染色体间分布不均匀, 并且绝大多数 NBS-LRR 家族基因在器官中的表达水平很低。

**关键词:** 芫荽; 植物抗病基因; NBS-LRR 家族基因; 鉴定; 系统演化分析

中图分类号: Q941<sup>+</sup>.2; Q75; S636.9.034 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2021)06-0001-09  
DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2021.06.01

**Identification and phylogenetic analysis on NBS-LRR family genes in genome of *Coriandrum sativum*** QIAN Lanhua<sup>1</sup>, SUN Xiaoqin<sup>2</sup>, ZOU Xin<sup>3</sup>, ZHANG Yanmei<sup>2,①</sup> (1. Suzhou Polytechnic Institute of Agriculture, Suzhou 215008, China; 2. Institute of Botany, Jiangsu Province and Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210014, China; 3. Seed Administrative Station of Suzhou, Suzhou 215011, China), *J. Plant Resour. & Environ.*, 2021, 30(6): 1-9, 66

**Abstract:** Based on genome sequencing result of *Coriandrum sativum* Linn., NBS-LRR family genes in genome of *C. sativum* were identified by using BLAST and HMMER softwares, chromosome distribution status and replication type of these genes in *C. sativum* were analyzed, phylogenetic analysis was conducted for NBS-LRR family genes in genomes of *C. sativum*, *Apium graveolens* Linn., and *Daucus carota* Linn., and expression abundance of the identified NBS-LRR family genes in root, stem, leaf, and

收稿日期: 2021-05-11

基金项目: 江苏现代农业产业技术体系建设项目(JATS[2021]118)

作者简介: 钱兰华(1976—), 女, 江苏兴化人, 本科, 副教授, 主要从事植物病虫害综合防治研究。

①通信作者 E-mail: yanmeizhang@cnbg.net

引用格式: 钱兰华, 孙小芹, 邹鑫, 等. 芫荽基因组中 NBS-LRR 家族基因的鉴定及系统演化分析[J]. 植物资源与环境学报, 2021, 30(6): 1-9, 66.

flower of *C. sativum* were compared. The results show that 191 NBS-LRR family genes are identified from genome of *C. sativum*, belonging to 3 subclasses of CNL, TNL, and RNL, and containing 122, 62, and 7 genes, respectively. There are 155 NBS-LRR family genes located on 11 chromosomes of *C. sativum*, in which, NBS-LRR family genes are the most (33) on No. 7 chromosome, but the fewest (2) on No. 6 chromosome; these genes can be divided into 98 loci, containing 72 single-gene loci and 26 multi-gene loci, with 1.6 genes per locus equally, in which, multi-gene loci distribute on No. 1, No. 2, No. 3, No. 4, No. 7, No. 9, and No. 10 chromosomes, and contain 83 NBS-LRR family genes in total, with 3.2 genes per multi-gene locus equally. Among the NBS-LRR family genes located on chromosomes, dispersed duplication genes are the most (91), tandem duplication and proximal duplication genes are relatively abundant (which are 34 and 26, respectively), while segmental duplication genes are the fewest (4). The phylogenetic analysis result shows that NBS-LRR family genes in genomes of *C. sativum*, *A. graveolens*, and *D. carota* are clustered into 3 branches corresponding to CNL, TNL, and RNL subclasses, and most NBS-LRR family genes of *C. sativum*, *A. graveolens*, and *D. carota* cluster separately, indicating that species-specific expansion of these genes occur after the differentiation of 3 test species. The expression analysis result of NBS-LRR family genes in different organs of *C. sativum* shows that most NBS-LRR family genes can express in different organs of *C. sativum*, but the expression abundance is very low. Taken together, there are few NBS-LRR family genes in genome of *C. sativum*, which are unevenly distributed among chromosomes, and the expression levels of most NBS-LRR family genes in organs are very low.

**Key words:** *Coriandrum sativum* Linn.; plant disease resistance gene; NBS-LRR family gene; identification; phylogenetic analysis

芫荽 (*Coriandrum sativum* Linn.) 隶属于伞形科 (Apiaceae) 芫荽属 (*Coriandrum* Linn.), 为一种具有强烈气味的草本植物<sup>[1]</sup>, 起源于欧洲地中海地区, 目前在北非、中欧和亚洲种植广泛, 其茎和叶具有特殊的芳香气味, 是世界各地普遍使用的香料<sup>[2]</sup>。新鲜的芫荽被广泛用于中国、泰国、越南等国家的菜品制作; 磨碎的芫荽种子干粉除了在地中海地区用作调味品或香料外, 还是印度人制作咖喱粉的主要成分。此外, 芫荽的根、茎、叶和种子中还含有多种药物活性成分, 具有抑菌、抗氧化、抗炎及抗糖尿病等功效<sup>[2]</sup>, 是很多国家和地区的重要传统药用植物。而且, 芫荽的茎和叶中含有丰富的人体所需的营养元素 (包括蛋白质、脂肪、矿质元素、纤维素、碳水化合物及维生素等), 根部也含有丰富的糠醛、不饱和脂肪酸及萜类等有益于人体健康的化学成分<sup>[3-4]</sup>。

近年来, 随着种植面积不断扩大和重茬种植, 芫荽的病害问题越来越严重, 极大地威胁了芫荽的种植和生产。研究发现, 芫荽的主要病害有软腐病、菌核病、叶枯病、白粉病和病毒病等, 轻则影响产品质量, 重则导致植株成片腐烂, 造成绝产<sup>[5-6]</sup>。迄今为止, 人们尚未发现针对芫荽上述病害的有效防治措施, 极大地阻碍了芫荽的绿色高效生产。因此, 亟需对芫荽的抗病种质资源和功能抗病基因进行发掘和利用, 为芫荽的农业生产提供理论支持。

植物抗病基因 (*R* 基因) 是植物在长期演化过程中形成的一类特殊的功能基因, 其编码的蛋白可识别各种病原体, 使植物体产生抗性。发掘植物抗病基因是植物抗病育种工作的重要前提。自第 1 个植物抗病基因 *Hm1* 从玉米 (*Zea mays* Linn.) 中被克隆以来, 研究者已陆续从不同植物中克隆到 300 多个抗病基因<sup>[7]</sup>。这些基因编码的蛋白结构不同, 可分成不同的家族, 如 RLK/RLP (receptor-like kinases/receptor-like proteins) 家族、Ser/Thr (serine/threonine) 激酶家族和 NBS-LRR (nucleotide-binding site leucine-rich repeat) 家族。超过 60% 的抗病基因属于 NBS-LRR 家族, 该家族基因可对细菌、真菌、病毒和线虫等发挥抗性作用<sup>[7]</sup>。根据基因编码的蛋白氨基端结构域的不同, 可将 NBS-LRR 家族基因分成 3 个亚类, 分别为具有 Toll/白细胞介素-1 受体 (toll/interleukin-1 receptor, TIR) 结构域的 TIR-NBS-LRR (TNL) 亚类、具有不规则卷曲 (coiled-coil, CC) 结构域的 CC-NBS-LRR (CNL) 亚类及具有白粉病抗性基因 8 (resistance to powdery mildew 8, RPW8) 结构域的 RPW8-NBS-LRR (RNL) 亚类<sup>[8]</sup>。

近年来, 随着基因组测序技术的发展, 国内外研究者已对上百种植物基因组的 NBS-LRR 家族基因开展相关研究<sup>[9-12]</sup>, 大大地促进了人们对 NBS-LRR 家族基因的结构特征、作用机制和演化模式的认识。

基于全基因组数据的 NBS-LRR 家族基因鉴定和遗传多样性分析可为植物功能抗病基因发掘提供重要资源,有利于挖掘植物体内新的功能抗病基因,对于植物分子标记辅助育种和功能抗病基因克隆等也具有重要价值。Zhang 等<sup>[13]</sup>基于对水稻(*Oryza sativa* Linn.)基因组中 NBS-LRR 家族基因的分析,对水稻抗性品种的 NBS-LRR 家族基因进行了特异性克隆,发现数十个对水稻稻瘟病发挥抗性的 NBS-LRR 家族基因。Witek 等<sup>[14]</sup>在对马铃薯(*Solanum tuberosum* Linn.)基因组中 NBS-LRR 家族基因分析的基础上,结合目标片段捕获联合三代测序技术从同属植物少花龙葵(*S. americanum* Miller)中成功克隆到晚疫病抗性基因 *Rpi-amr3i*。因此,在全基因组范围内进行 NBS-LRR 家族基因鉴定和分析不但对植物功能抗病基因的克隆具有重要的促进作用,还对从近缘种中克隆功能抗病基因具有重要的参考价值。

目前,芫荽的基因组测序工作已经完成<sup>[15]</sup>,同科植物旱芹(*Apium graveolens* Linn.)和野胡萝卜(*Daucus carota* Linn.)的基因组测序工作也已经完成<sup>[16-17]</sup>。在此基础上,作者利用 BLAST 和 HMMER 软件对芫荽基因组中的 NBS-LRR 家族基因进行了鉴定,对这些基因的结构域组成、染色体分布、复制类型和器官表达进行了分析,并对芫荽、旱芹和野胡萝卜的 NBS-LRR 家族基因进行了系统演化分析,以期对芫荽及其近缘种中抗病基因的筛选和克隆以及抗病分子育种奠定研究基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 数据来源

芫荽基因组序列、注释信息及器官转录组数据均来自芫荽基因组数据库(CGDB, <http://cgdb.bio2db.com/>)。旱芹和野胡萝卜基因组中 NBS-LRR 家族基因的相关数据来自被子植物 NBS-LRR 数据库(ANNA, <https://biobigdata.nju.edu.cn/ANNA/>)。

### 1.2 方法

1.2.1 基因鉴定及结构域组成分析 参照相关研究方法<sup>[7,18]</sup>,从 Pfam 数据库下载 NBS 结构域(登录号 PF00931)的 HMM 模型(隐马尔科夫模型,hidden Markov model);使用 HMMER3 软件中的 hmmsearch 程序,设置 e-value 为 0.000 1,在下载芫荽基因组注释蛋白序列中搜索含有 NB-ARC 结构域的蛋白序

列;以获得的所有蛋白序列为问询序列,使用 BLASTp 程序对芫荽基因组编码的所有蛋白序列进行再次搜索,设置 e-value 为 0.000 1;使用 HMMER3 软件中的 hmmscan 程序,设置 e-value 为 0.000 1,利用 Pfam-A 数据库对获得的序列进行结构域组成鉴定,所有具 NB-ARC 结构域蛋白的编码基因均被认定为 NBS-LRR 家族基因。

根据前期鉴定的拟南芥基因组中 NBS-LRR 家族基因的相关信息<sup>[18]</sup>,建立本地 Blast 数据库;以获得的芫荽 NBS-LRR 家族基因编码的蛋白序列为问询序列,使用 BLASTp 程序进行搜索。根据每条序列在拟南芥中的最佳匹配结果,划分亚类。随后,使用保守结构域搜索工具 Conserved Domain Search (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>) 在 NCBI 数据库中搜索芫荽 NBS-LRR 家族基因编码的氨基酸序列,以鉴定 TIR、CC、RPW8、NBS 和 LRR 结构域及其具体位置。采用同样的方法鉴定下载自 ANNA 数据库的旱芹和野胡萝卜 NBS-LRR 家族基因的结构域组成。

1.2.2 基因染色体分布分析 从下载的芫荽基因组 gff 注释文件中,提取每个 NBS-LRR 家族基因在染色体上的位置。参照 Ameline-Torregrosa 等<sup>[19]</sup>划分 NBS-LRR 家族基因簇的标准,将染色体上间隔小于 250 kb 的 NBS-LRR 家族基因划分为 1 个多基因位点,将超过 250 kb 的 NBS-LRR 家族基因划分为不同的多基因位点,并使用作者编写的 Perl 脚本绘制芫荽 NBS-LRR 家族基因的染色体分布图。

1.2.3 基因复制类型分析 将芫荽基因组注释的所有蛋白序列建立本地蛋白数据库;以芫荽基因组注释的所有蛋白序列为问询序列,使用 BLASTp 程序进行全基因组同源蛋白序列搜索,每条问询序列保留 5 个最佳匹配序列,输出 M8 格式的文件。将获得的结果文件与芫荽基因组 gff 注释文件中的染色体号、基因名、基因起始位置、基因终止位置输入 MCSanX 软件<sup>[20]</sup>进行分析,获得芫荽基因组注释的所有蛋白的共线性信息及复制类型信息。最后,使用 TBtools 软件进行染色体共线性作图<sup>[21]</sup>。

1.2.4 系统演化分析 参照相关研究方法<sup>[22]</sup>进行序列比对和系统发育树构建。根据 HMMER3 软件中 hmmscan 程序的输出文件,提取芫荽所有 NBS-LRR 蛋白 NB-ARC 结构域的氨基酸序列,并采用相同方法提取旱芹和野胡萝卜所有 NBS-LRR 蛋白 NB-

ARC 结构域的氨基酸序列;使用 MEGA7.0 软件中的 ClustalW 程序对 NB-ARC 结构域的氨基酸序列进行比对<sup>[23]</sup>,手动删除序列太短或比对结果较差的序列;使用 ModelFinder 软件选择最佳拟合模型,使用 IQ-TREE 软件采用最大似然法构建系统发育树<sup>[24]</sup>,并采用 UFBoot2 方法进行分支支持率分析<sup>[25]</sup>。

1.2.5 器官表达分析 根据 Song 等<sup>[15]</sup>得到的芫荽根、茎、花和叶等器官转录测序后的基因表达数据,提取 NBS-LRR 家族基因在芫荽不同器官中的表达信息,据此进行比较和分析。

## 2 结果和分析

### 2.1 芫荽 NBS-LRR 家族基因鉴定结果及其与同科植物的比较

研究结果(表 1)表明:在芫荽基因组中共鉴定出 191 个 NBS-LRR 家族基因,约占芫荽全基因组注释基因总数(40 747)的 0.5%,这些基因分属于 CNL、TNL 和 RNL 3 个亚类。其中,CNL 亚类基因有 122 个,占已鉴定的 NBS-LRR 家族基因数的 63.9%;TNL 亚类基因有 62 个,占已鉴定的 NBS-LRR 家族基因数的 32.5%;RNL 亚类基因有 7 个,占已鉴定的 NBS-LRR 家族基因数的 3.7%。根据芫荽各基因编码蛋白的结构域组合,CNL 亚类进一步分成 CNL、CN、NL、N 和 NN 5 个类型,且 N 型基因最多(71),占该亚类基因数的 58.2%;TNL 亚类进一步分成 TNL、TN、NL、N、TNLTN、TNLTNL 和 TNT 7 个类型,且 TNL 型基因最多(26),占该亚类基因数的 41.9%;RNL 亚类进一步分成 RNL、RRN 和 RNRR 3 个类型,且 RNL 型基因最多(5),占该亚类基因数的 71.4%。

将芫荽与同科植物旱芹和野胡萝卜的 NBS-LRR 家族基因进行比较,结果(表 1)表明:3 个种类的 NBS-LRR 家族基因总数差异较大,其中,芫荽的 NBS-LRR 家族基因最多(191),而旱芹的 NBS-LRR 家族基因最少(64)。3 个种类中,CNL 亚类的基因数明显高于 TNL 和 RNL 亚类,但芫荽 CNL 亚类基因在已鉴定的 NBS-LRR 家族基因中的占比明显低于旱芹(73.4%)和野胡萝卜(93.3%)。

### 2.2 芫荽 NBS-LRR 家族基因的染色体定位分析

染色体定位分析结果(图 1)表明:在已鉴定的 191 个芫荽 NBS-LRR 家族基因中,有 155 个基因被定位到芫荽的 11 条染色体上,其余 36 个基因位于

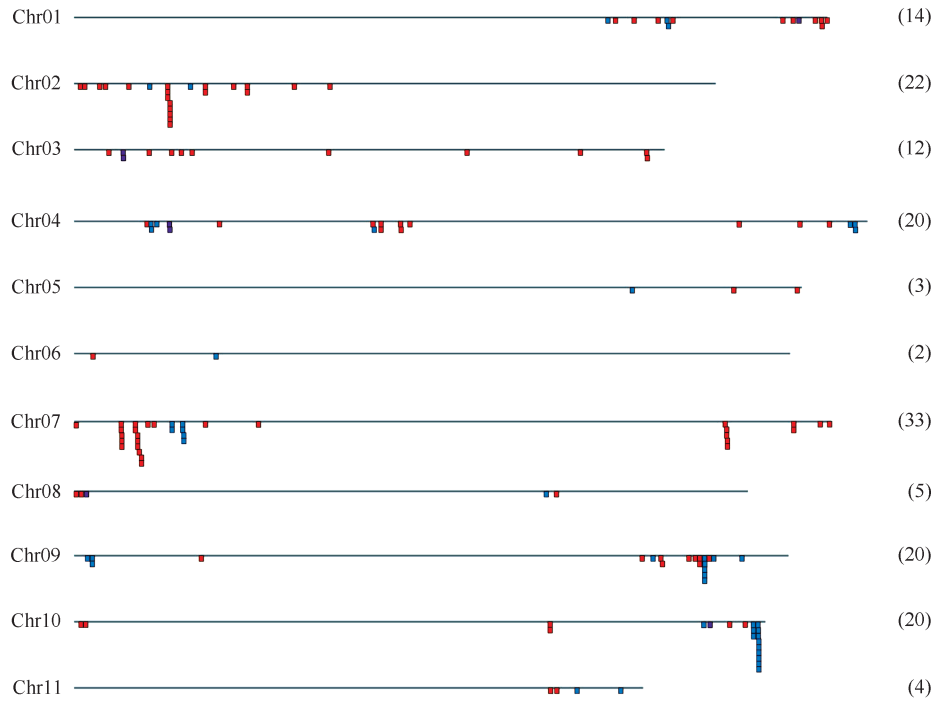
scaffold。值得注意的是,芫荽 NBS-LRR 家族基因在染色体上的分布不均匀,并且,染色体的长度与其所包含的 NBS-LRR 家族基因数无明显关系。1 号、2 号、3 号、4 号、7 号、9 号和 10 号染色体上的 NBS-LRR 家族基因较多(均超过 10 个),而 5 号、6 号、8 号和 11 号染色体上的 NBS-LRR 家族基因却较少(最多只有 5 个)。其中,7 号染色体上的 NBS-LRR 家族基因最多(33),占已鉴定的 NBS-LRR 家族基因数的 17.3%;6 号染色体上的 NBS-LRR 家族基因最少(2),仅占已鉴定的 NBS-LRR 家族基因数的 1.0%。

由图 1 可见:位于 11 条染色体上的 155 个 NBS-LRR 家族基因可划分成 98 个位点,包括 72 个单基因位点和 26 个多基因位点,平均每个位点的基因数为 1.6。多基因位点在 5 号、6 号、8 号和 11 号染色体上未出现,但集中分布在 1 号、2 号、3 号、4 号、7 号、

表 1 芫荽 NBS-LRR 家族基因的分类和结构域组合类型及其与同科植物的比较

Table 1 Classification and domain combination types of NBS-LRR family genes in *Coriandrum sativum* Linn. and their comparison with the same family species

结构域组合类型 Domain combination type	不同种类的基因数 Number of genes in different species		
	芫荽 <i>Coriandrum sativum</i>	旱芹 <i>Apium graveolens</i>	野胡萝卜 <i>Daucus carota</i>
CNL 亚类 CNL subclass	122	47	139
CNL	10	6	16
CN	25	10	57
NL	14	6	8
N	71	24	54
NN	2	1	1
CNCN	0	0	1
CNN	0	0	1
CNNN	0	0	1
TNL 亚类 TNL subclass	62	9	5
TNL	26	4	3
TN	16	2	1
NL	5	4	0
N	11	2	1
TNLTN	1	0	0
TNLTNL	2	0	0
TNT	1	0	0
RNL 亚类 RNL subclass	7	8	5
RNL	5	4	1
RRN	1	0	0
RNRR	1	0	0
RN	0	3	1
N	0	1	1
NL	0	0	1
总计 Total	191	64	149



■: CNL 亚类 CNL subclass; ■: TNL 亚类 TNL subclass; ■: RNL 亚类 RNL subclass. Chr01–Chr11: 染色体编号 No. of chromosome. 括号内数值为分布在对应染色体上的 NBS-LRR 家族基因数 The values in the brackets are number of NBS-LRR family genes distributed on corresponding chromosomes.

图 1 芫荽 NBS-LRR 家族基因在染色体上的分布  
Fig. 1 Distribution of NBS-LRR family genes on chromosomes of *Coriandrum sativum* Linn.

9 号和 10 号染色体上, 这 7 条染色体上的多基因位点共包含 83 个 NBS-LRR 家族基因, 平均每个多基因位点的基因数为 3.2。其中, 最大的多基因位点位于 10 号染色体, 包含 9 个 TNL 亚类基因。

### 2.3 芫荽 NBS-LRR 家族基因的复制类型分析

对定位于染色体的芫荽 NBS-LRR 家族基因的复制类型进行分析, 结果(表 2)表明: 分散重复基因最多(91), 占已定位的 NBS-LRR 家族基因数的 58.7%; 串联重复基因较多(34), 近端重复基因也较多(26), 分别占已定位的 NBS-LRR 家族基因数的 21.9% 和 16.8%; 片段重复基因最少(4), 仅占已定位的 NBS-LRR 家族基因数的 2.6%, 并且, 这 4 个基因被分成 2 对。

### 2.4 芫荽 NBS-LRR 家族基因的系统演化分析

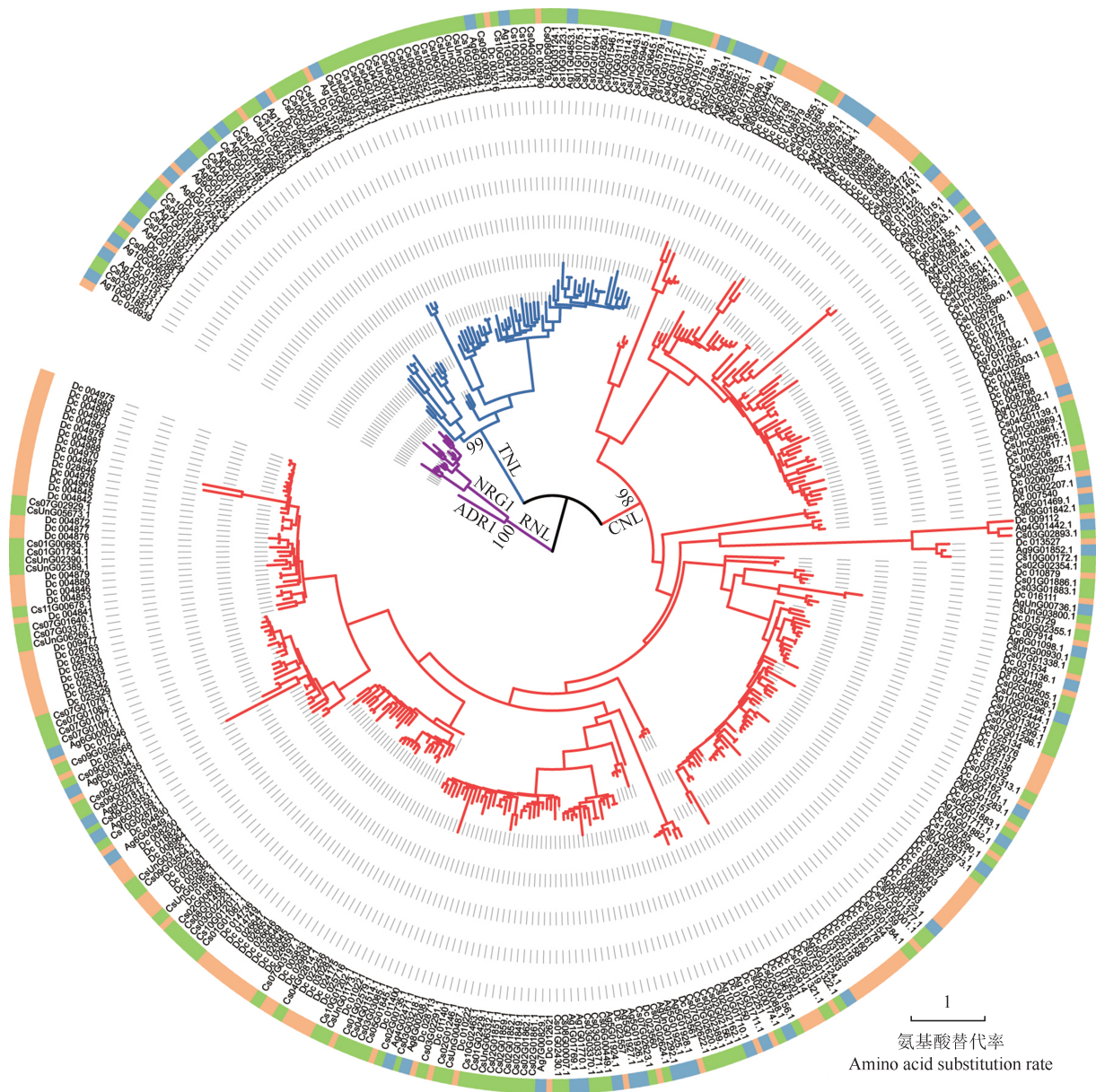
模型检测发现, JTT+F+R6 模型是构建芫荽、旱芹和野胡萝卜的 NBS-LRR 家族基因系统发育树的最优模型。在此基础上, 采用最大似然法构建 3 个种类 NBS-LRR 家族基因的系统发育树, 结果见图 2。由图 2 可见: 3 个种类的 NBS-LRR 家族基因在系统

发育树上聚成 3 个分支, 分别对应 NBS-LRR 家族的 TNL 亚类、CNL 亚类和 RNL 亚类, 且这 3 个分支的支持率均较高。RNL 亚类分支可进一步分成 ADR1 和 NRG1 2 个小分支, 其中, ADR1 小支包含 3 个种类的 4 个 NBS-LRR 家族基因, 而 NRG1 小支包含 3 个种类的 16 个 NBS-LRR 家族基因。总体来看, 芫荽、旱芹和野胡萝卜的多数 NBS-LRR 家族基因各自聚集。

表 2 芫荽 NBS-LRR 家族基因的复制类型  
Table 2 Duplication types of NBS-LRR family genes in *Coriandrum sativum* Linn.

复制类型 <sup>1)</sup> Duplication type <sup>1)</sup>	不同亚类基因数 Gene number of different subclasses			
	CNL	TNL	RNL	总计 Total
DSD	66	22	3	91
PD	16	10	0	26
TD	17	15	2	34
SD	2	0	2	4
总计 Total	101	47	7	155

<sup>1)</sup> DSD: 分散重复 Dispersed duplication; PD: 近端重复 Proximal duplication; TD: 串联重复 Tandem duplication; SD: 片段重复 Segmental duplication.



■: 芫荽 *Coriandrum sativum* Linn.; ■: 旱芹 *Apium graveolens* Linn.; ■: 野胡萝卜 *Daucus carota* Linn. —: CNL 亚类 CNL subclass; —: TNL 亚类 TNL subclass; —: RNL 亚类 RNL subclass. 分支上的数值表示 UFBoot2 支持率 The values on the branches represent UFBoot2 support rates.

图2 采用最大似然法构建的芫荽、旱芹和野胡萝卜 NBS-LRR 家族基因的系统发育树  
Fig. 2 Phylogenetic tree of NBS-LRR family genes in *Coriandrum sativum* Linn., *Apium graveolens* Linn., and *Daucus carota* Linn. constructed by maximum likelihood method

## 2.5 芫荽 NBS-LRR 家族基因的器官表达分析

对芫荽根、茎、叶、花 4 个不同器官的转录组数据进行分析,结果(表 3)表明:在已鉴定的 191 个芫荽 NBS-LRR 家族基因中,多数 NBS-LRR 家族基因能够在芫荽各器官中表达,但表达水平很低,并有 23 个基因在所有器官中未表达。其中,147 个基因在根中表达,141 个基因在茎中表达,144 个基因在叶中表

达,146 个基因在花中表达。经计算,芫荽 NBS-LRR 家族基因在根、茎、叶和花中的平均表达丰度 (FPKM)分别为 1.57、1.59、1.59 和 0.68。值得注意的是,个别 NBS-LRR 家族基因的表达丰度相对较高,如:RNL 亚类中的 Cs08G00288.1 基因,该基因在 4 个器官中的平均表达丰度为 27.34,在茎中的表达丰度最高,达 48.9。

表 3 芫荽 NBS-LRR 家族基因在不同器官中的表达情况  
Table 3 Expression pattern of NBS-LRR family genes in different organs of *Coriandrum sativum* Linn.

基因编号 No. of gene	亚类 Subclass	在不同器官中的表达丰度 (FPKM) Expression abundance in different organs (FPKM)				基因编号 No. of gene	亚类 Subclass	在不同器官中的表达丰度 (FPKM) Expression abundance in different organs (FPKM)			
		根 Root	茎 Stem	叶 Leaf	花 Flower			根 Root	茎 Stem	叶 Leaf	花 Flower
CNL 亚类 CNL subclass						Cs07G01082.1	CN	1.32	0.00	0.86	0.11
Cs01G00685.1	N	0.01	0.00	0.02	0.00	Cs07G01083.1	N	2.14	0.00	1.07	0.38
Cs01G00861.1	N	0.00	0.00	0.00	0.00	Cs07G01283.1	CN	0.48	2.83	2.75	2.11
Cs01G01015.1	N	0.00	0.00	0.02	0.13	Cs07G01284.1	CN	6.42	6.57	5.02	2.55
Cs01G01087.1	CNL	1.28	0.44	1.15	0.34	Cs07G01296.1	N	0.01	0.00	0.14	0.13
Cs01G01734.1	N	0.00	0.00	0.00	0.00	Cs07G01299.1	CN	0.06	0.00	0.02	0.00
Cs01G01886.1	CNL	0.00	0.00	0.00	0.00	Cs07G01302.1	CN	0.08	0.01	0.02	0.04
Cs01G02267.1	N	0.33	0.84	0.22	0.35	Cs07G01313.1	N	0.05	0.83	0.61	0.45
Cs01G02429.1	N	1.90	3.47	1.14	0.62	Cs07G01321.1	CN	2.30	3.03	4.11	0.30
Cs01G02430.1	N	4.34	9.34	2.09	1.26	Cs07G01322.1	N	0.46	1.16	0.98	0.00
Cs01G02579.1	N	1.63	1.11	3.40	0.16	Cs07G01338.1	CN	0.84	1.78	3.59	0.19
Cs02G00156.1	CN	1.58	1.23	1.40	1.25	Cs07G01377.1	CN	1.38	2.70	4.64	0.71
Cs02G00174.1	NL	0.53	0.97	4.48	0.03	Cs07G01640.1	N	0.00	0.00	0.00	0.00
Cs02G00735.1	N	1.85	1.47	0.43	0.45	Cs07G01843.1	NL	3.26	1.13	6.09	0.61
Cs02G00806.1	CN	9.62	7.58	2.25	1.68	Cs07G02620.1	N	0.42	1.57	4.05	0.93
Cs02G01246.1	N	2.29	1.61	0.70	0.69	Cs07G02622.1	CN	2.81	4.51	8.44	4.23
Cs02G01849.1	N	0.04	0.40	1.01	0.70	Cs07G02623.1	N	0.19	1.15	0.61	0.08
Cs02G01851.1	N	0.60	1.50	1.33	1.89	Cs07G02624.1	N	1.14	1.66	1.30	1.24
Cs02G01852.1	N	0.01	0.01	0.11	0.00	Cs07G02625.1	N	0.81	1.01	0.52	1.27
Cs02G01858.1	N	0.14	0.77	0.88	0.50	Cs07G02928.1	N	0.00	0.19	0.00	0.08
Cs02G01859.1	N	0.92	5.27	2.11	1.87	Cs07G02929.1	CN	0.00	0.00	0.00	0.00
Cs02G01860.1	N	0.11	0.51	0.69	0.04	Cs07G03197.1	N	0.00	0.00	0.00	0.00
Cs02G01861.1	N	0.00	0.00	0.00	0.00	Cs07G03376.1	N	0.27	0.01	0.00	0.01
Cs02G01862.1	N	0.60	0.01	0.57	0.02	Cs08G00007.1	NN	0.05	0.07	0.27	0.00
Cs02G02156.1	NL	0.00	0.02	0.01	0.00	Cs08G00140.1	N	0.00	0.00	0.00	0.00
Cs02G02162.1	NL	0.01	0.00	0.01	0.08	Cs08G01458.1	N	0.50	0.00	0.00	0.33
Cs02G02304.1	N	1.68	1.28	0.00	0.01	Cs09G00448.1	NL	16.09	12.50	21.33	4.23
Cs02G02354.1	NL	5.36	2.83	0.98	0.19	Cs09G01842.1	CNL	3.98	3.57	3.05	3.45
Cs02G02355.1	CN	4.19	0.95	0.79	0.02	Cs09G02255.1	CNL	0.10	0.06	0.24	0.01
Cs02G02444.1	N	0.00	0.00	0.07	0.07	Cs09G02275.1	CNL	0.34	0.20	0.57	0.03
Cs02G02505.1	N	1.08	2.60	2.81	0.44	Cs09G03257.1	NL	0.18	0.00	0.09	0.01
Cs03G00925.1	N	14.72	16.00	10.14	6.06	Cs09G03331.1	CNL	0.25	0.06	1.20	0.03
Cs03G01883.1	NL	1.95	3.07	3.27	0.93	Cs09G03353.1	NL	1.36	1.39	0.51	0.21
Cs03G02223.1	N	0.13	2.64	6.76	0.91	Cs09G03355.1	N	0.11	0.51	0.05	0.00
Cs03G02291.1	N	0.04	0.00	0.00	0.11	Cs09G03564.1	CNL	0.01	0.01	0.01	0.00
Cs03G02389.1	CNL	0.00	0.00	0.00	0.00	Cs10G00172.1	NL	1.72	1.44	1.41	0.84
Cs03G02893.1	NL	0.88	3.29	1.05	2.91	Cs10G00243.1	NL	4.26	0.05	0.01	0.10
Cs03G03085.1	N	0.00	0.00	0.06	0.00	Cs10G01201.1	N	0.00	0.00	0.00	0.00
Cs03G03218.1	N	0.00	0.00	0.00	0.00	Cs10G01202.1	N	0.00	0.00	0.00	0.00
Cs03G03370.1	N	0.00	0.02	0.31	0.19	Cs10G02463.1	N	0.63	0.00	0.00	0.00
Cs03G03371.1	N	0.58	0.13	0.73	0.09	Cs10G02878.1	CN	0.40	3.39	1.86	1.40
Cs04G01139.1	N	1.39	0.35	1.07	0.64	Cs11G00678.1	N	0.00	0.00	0.00	0.00
Cs04G01514.1	N	0.02	0.01	0.00	0.00	Cs11G00690.1	CNL	0.21	0.54	0.19	0.22
Cs04G01851.1	N	5.88	0.00	0.00	0.00	CsUnG00487.1	N	0.13	0.14	0.07	0.06
Cs04G01882.1	NL	0.00	0.00	0.00	0.00	CsUnG00930.1	N	0.05	0.51	0.56	0.07
Cs04G01883.1	CN	0.00	0.00	0.00	0.00	CsUnG00931.1	NL	0.16	0.84	0.52	0.12
Cs04G01955.1	N	1.96	0.96	3.71	0.78	CsUnG01173.1	N	0.00	0.03	0.00	0.00
Cs04G01956.1	N	0.48	0.27	0.37	0.20	CsUnG02389.1	N	0.15	0.21	0.64	0.00
Cs04G02003.1	N	0.00	0.00	0.00	0.01	CsUnG02390.1	CN	0.50	0.20	0.84	0.06
Cs04G02438.1	N	1.01	0.06	0.12	0.02	CsUnG02517.1	N	0.94	1.14	1.18	2.07
Cs04G02673.1	CN	1.14	0.51	2.46	0.05	CsUnG02859.1	N	5.50	0.72	3.13	0.13
Cs04G02814.1	CN	0.02	0.02	0.00	0.03	CsUnG02860.1	N	4.84	0.66	4.20	0.10
Cs05G01845.1	N	2.62	0.45	0.26	0.09	CsUnG02861.1	N	0.00	0.09	0.04	0.02
Cs05G02504.1	N	4.16	0.00	0.15	0.00	CsUnG03755.1	CN	0.33	0.00	0.00	0.00
Cs06G00449.1	N	0.00	0.00	0.00	0.08	CsUnG03800.1	CNL	4.13	5.68	8.98	1.11
Cs07G00001.1	CN	0.07	0.11	0.23	0.02	CsUnG03866.1	N	0.00	0.02	0.00	0.01
Cs07G01077.1	CN	0.74	0.77	0.12	0.46	CsUnG03867.1	N	0.25	4.80	0.28	1.72
Cs07G01079.1	N	2.53	3.07	0.26	0.99	CsUnG03869.1	N	0.33	0.45	0.20	1.55
Cs07G01081.1	CN	0.01	0.02	1.54	0.04	CsUnG04636.1	N	1.48	0.07	0.13	0.09

续表3 Table 3 (Continued)

基因编号 No. of gene	亚类 Subclass	在不同器官中的表达丰度 (FPKM) Expression abundance in different organs (FPKM)				基因编号 No. of gene	亚类 Subclass	在不同器官中的表达丰度 (FPKM) Expression abundance in different organs (FPKM)			
		根 Root	茎 Stem	叶 Leaf	花 Flower			根 Root	茎 Stem	叶 Leaf	花 Flower
CsUnG04727.1	N	0.42	0.00	0.00	0.00	Cs09G02072.1	NL	0.00	0.04	0.00	0.01
CsUnG05085.1	CN	0.00	0.00	0.00	0.03	Cs09G03511.1	TNL	5.87	1.55	3.51	0.91
CsUnG05673.1	CN	0.27	0.26	0.23	0.02	Cs09G03521.1	TNL	0.41	0.63	0.10	0.57
CsUnG06269.1	CN	0.03	0.03	0.02	0.02	Cs09G03522.1	N	0.47	1.06	0.06	0.54
CsUnG06332.1	NN	0.00	0.01	0.00	0.00	Cs09G03523.1	TNL	4.45	2.77	1.15	1.87
RNL 亚类 RNL subclass						Cs09G03524.1	TNL	0.64	0.56	0.26	0.48
Cs01G01927.1	RNL	3.37	9.37	4.37	3.20	Cs09G03673.1	TN	0.08	1.24	6.57	0.63
Cs03G01313.1	RNL	6.72	13.73	6.26	4.25	Cs09G04477.1	TNL	3.44	4.12	7.07	1.22
Cs03G01323.1	RNL	1.27	3.14	1.64	0.82	Cs10G01902.1	TNL	0.11	0.02	0.01	0.12
Cs04G01331.1	RRN	0.83	8.86	0.14	1.88	Cs10G03075.1	TNL	4.00	0.06	0.17	0.10
Cs04G01332.1	RNRR	4.92	1.82	0.41	0.37	Cs10G03076.1	TNL	0.01	8.98	3.92	8.82
Cs08G00288.1	RNL	24.44	43.28	30.13	11.51	Cs10G03077.1	TNL	2.77	1.28	1.70	0.92
Cs10G01933.1	RNL	2.08	1.34	2.38	0.49	Cs10G03111.1	TNLTNL	3.20	3.92	3.30	2.33
TNL 亚类 TNL subclass						Cs10G03112.1	TN	7.66	7.39	8.63	4.35
Cs01G00645.1	TN	0.00	0.00	0.24	0.00	Cs10G03113.1	TNLTN	3.26	2.91	3.04	1.54
Cs01G01071.1	TN	0.00	0.27	0.40	0.13	Cs10G03114.1	TNL	4.34	3.16	4.23	1.46
Cs01G01075.1	TNL	0.02	0.61	0.69	0.19	Cs10G03119.1	TN	2.03	0.17	0.82	0.01
Cs02G01564.1	N	0.00	0.00	0.00	0.00	Cs10G03120.1	TNT	1.39	0.05	0.36	0.05
Cs02G02075.1	N	8.08	3.29	4.24	0.27	Cs10G03122.1	TNLTNL	0.92	0.00	0.01	0.08
Cs04G01150.1	TNL	0.00	0.00	0.00	0.00	Cs10G03123.1	TN	9.79	4.95	27.57	3.70
Cs04G01152.1	TNL	0.34	0.01	0.13	0.01	Cs10G03124.1	TN	0.00	1.24	2.42	1.94
Cs04G01209.1	TNL	0.02	0.17	0.12	0.27	Cs11G00764.1	N	0.00	0.00	0.00	0.00
Cs04G01854.1	N	2.39	3.56	1.26	1.11	Cs11G01023.1	TN	0.00	0.00	0.00	0.00
Cs04G03061.1	TNL	1.63	1.02	0.18	1.90	CsUnG00374.1	N	0.00	0.00	0.03	0.00
Cs04G03111.1	TN	1.31	0.31	0.09	0.02	CsUnG01178.1	N	0.00	0.19	0.11	1.70
Cs04G03112.1	NL	0.55	1.45	0.72	0.77	CsUnG01946.1	NL	0.94	0.40	0.50	0.06
Cs05G01546.1	TN	0.10	0.03	0.01	0.00	CsUnG01951.1	TNL	0.00	0.00	0.00	0.00
Cs06G01608.1	TNL	1.69	1.09	0.91	0.74	CsUnG02024.1	TNL	8.77	0.02	0.00	0.00
Cs07G01509.1	NL	3.39	3.78	1.97	1.81	CsUnG02025.1	TNL	0.15	0.09	0.06	0.21
Cs07G01510.1	TN	2.72	3.19	1.91	1.77	CsUnG02026.1	TNL	0.49	0.06	0.00	0.04
Cs07G01567.1	NL	3.33	1.00	0.75	0.15	CsUnG02820.1	TN	0.05	0.00	0.01	0.00
Cs07G01569.1	TNL	4.00	0.44	0.02	0.03	CsUnG05080.1	N	0.79	0.15	0.20	0.02
Cs07G01570.1	TNL	2.24	0.64	0.40	0.46	CsUnG05084.1	TN	0.04	0.00	0.00	0.00
Cs07G01571.1	TNL	2.30	0.15	0.02	0.00	CsUnG05943.1	N	0.00	0.00	0.00	0.00
Cs08G01379.1	TNL	0.00	0.00	0.00	0.17	CsUnG05945.1	TN	0.00	0.00	0.02	0.00
Cs09G00093.1	TNL	0.59	1.04	3.91	0.08	CsUnG06452.1	TN	0.00	0.00	0.00	0.00
Cs09G00150.1	TN	0.02	0.00	0.00	0.00	CsUnG06453.1	N	0.00	0.00	0.00	0.00
Cs09G00151.1	N	0.00	0.00	0.00	0.03	CsUnG06539.1	TNL	0.98	7.77	7.23	3.73

### 3 讨 论

本研究在芫荽基因组中共鉴定出 191 个 NBS-LRR 家族基因,这些基因属于 CNL、TNL 和 RNL 3 个亚类,其中, CNL 和 TNL 亚类基因占绝大多数(96.4%),而 RNL 亚类基因较少,只有 3.7%,与绝大多数被子植物 NBS-LRR 家族基因的亚类组成一致<sup>[8]</sup>,这可能是由于 CNL 和 TNL 亚类基因编码的蛋白通过识别特定病原入侵而发挥作用,并且,这 2 个亚类基因在与病原长期“军备竞赛式”的演化历程中经历了剧烈的扩张,在很多被子植物基因组中保存了数十到数百个成员;而 RNL 亚类基因编码的蛋白并不参与病原识别,只是在抗病信号传导过程中发挥作

用,在植物基因组中的拷贝数较少<sup>[8]</sup>。值得注意的是,芫荽基因组中 CNL 亚类的基因数约是 TNL 亚类的 2 倍,该研究结果支持 Shao 等<sup>[8]</sup>在被子植物演化尺度研究中对 NBS-LRR 家族基因演化模式的研究结论,即 CNL 亚类基因在被子植物祖先中分化形成了较多分支,并在演化过程中经历了持续扩张;而 TNL 亚类基因在被子植物祖先中分化形成的分支相对较少,且在演化过程中未扩张。然而,芫荽同科植物旱芹和野胡萝卜基因组中 CNL 亚类的基因数分别约是 TNL 亚类的 5 和 28 倍,这与芫荽基因组中 2 个亚类基因的比例存在极大差异,可能是因为各亚类基因在科以下水平的种类分化过程中经历了不同的演化模式<sup>[8]</sup>,具体原因有待进一步探索。

本研究获得的芫荽基因组中的 NBS-LRR 家族



基因较少(191),远低于水稻(498)和大豆[*Glycine max* (Linn.) Merr.](465)等农作物<sup>[8]</sup>。研究发现,NBS-LRR 家族基因多基因位点的形成与基因的串联复制有关<sup>[26]</sup>。在芫荽基因组中已定位的 155 个 NBS-LRR 家族基因中,串联复制基因仅占21.9%,明显低于紫苜蓿(*Medicago sativa* Linn.)(45.2%)、菜豆(*Phaseolus vulgaris* Linn.)(52.5%)和大豆(35.1%)基因组中串联复制基因所占比例<sup>[26]</sup>。Song 等<sup>[15]</sup>发现,在伞形科的共同祖先中发生过 2 次基因组加倍,而在芫荽基因组中仅检测到 2 对片段重复 NBS-LRR 家族基因,说明大量片段重复 NBS-LRR 家族基因可能在芫荽物种形成过程中丢失。据此推测,串联重复 NBS-LRR 家族基因缺乏以及大量的片段重复 NBS-LRR 家族基因丢失可能是芫荽基因组中 NBS-LRR 家族基因较少的主要原因。另外,芫荽基因组中属于散在复制的分散重复和近端重复 NBS-LRR 家族基因分别有 91 和 26 个,占芫荽基因组中已定位的 NBS-LRR 家族基因数的 75.5%,说明芫荽的 NBS-LRR 家族基因复制类型以散在复制为主。

芫荽 NBS-LRR 家族基因在不同器官中的表达分析结果表明:芫荽多数 NBS-LRR 家族基因在各器官中的表达水平较低,这与抗病基因的诱导性表达特征<sup>[27]</sup>相符。抗病基因具有独特的生物学功能,其高表达可能造成蛋白异常激活,进而引发植物体发生细胞坏死等免疫反应,对植物的正常生长发育造成危害<sup>[27]</sup>。因此,从演化角度来看,很多抗病基因仅在病原入侵时具备表达必要性,在无病原侵染状态下大量抗病基因的低表达是植物抗病基因的适应性演化结果,达到降低适应性代价的目的。另外,芫荽 NBS-LRR 家族基因在根、茎和叶中的平均表达丰度(FPKM)较为接近,无明显差异,但在花中的平均表达水平明显低于其他器官,说明植物抗病基因在繁殖器官中的表达水平更低<sup>[22]</sup>。

#### 参考文献:

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志: 第五十五卷 第一分册[M]. 北京: 科学出版社, 1979: 89-91.
- [2] LARIBI B, KOUKI K, M'HAMDI M, et al. Coriander (*Coriandrum sativum* L.) and its bioactive constituents[J]. *Fitoterapia*, 2015, 103: 9-26.
- [3] 刘香荣, 鲁海波, 朱海泉, 等. 芫荽的研究进展[J]. *中国调味品*, 2012, 37(6): 17-19.
- [4] 徐悦, 单承莺, 马世宏, 等. 芫荽的研究进展与开展展望[J]. *中国野生植物资源*, 2017, 36(1): 40-44.

- [5] KHARE M N, TIWARI S P, SHARMA Y K. Disease problems in the cultivation of coriander (*Coriandrum sativum* L.) and their management leading to production of high quality pathogen free seed [J]. *International Journal of Seed Spices*, 2017, 7(1): 1-7.
- [6] 张立微, 张景涛, 张丽苗, 等. 芫荽软腐病原菌生物学特性与药剂筛选[J]. *黑龙江农业科学*, 2015(7): 62-65.
- [7] KOURELIS J, VAN DER HOORN R A L. Defended to the nines: 25 years of resistance gene cloning identifies nine mechanisms for R protein function[J]. *The Plant Cell*, 2018, 30(2): 285-299.
- [8] SHAO Z Q, XUE J Y, WU P, et al. Large-scale analyses of angiosperm nucleotide-binding site-leucine-rich repeat genes reveal three anciently diverged classes with distinct evolutionary patterns [J]. *Plant Physiology*, 2016, 170(4): 2095-2109.
- [9] 李爽, 高英, 杨光, 等. 野生二粒小麦 NBS-LRR 类抗病基因家族的鉴定及其表达分析[J]. *麦类作物学报*, 2021, 41(6): 680-688.
- [10] 毕楚韵, 黄小芳, 周丽香, 等. 三浅裂野牵牛 NBS-LRR 类抗病基因的鉴定和分析[J]. *分子植物育种*, 2021, 19(9): 2826-2836.
- [11] LIU Y, ZENG Z, ZHANG Y M, et al. An angiosperm NLR atlas reveals that NLR gene reduction is associated with ecological specialization and signal transduction component deletion [J]. *Molecular Plant*, 2021, 14: 2015-2031.
- [12] XUE J Y, ZHAO T, LIU Y, et al. Genome-wide analysis of the nucleotide binding site leucine-rich repeat genes of four orchids revealed extremely low numbers of disease resistance genes [J]. *Frontiers in Genetics*, 2020, 10: 1286.
- [13] ZHANG X, YANG S, WANG J, et al. A genome-wide survey reveals abundant rice blast *R*-genes in resistant cultivars [J]. *Plant Journal*, 2015, 84(1): 20-28.
- [14] WITEK K, JUPE F, WITEK A I, et al. Accelerated cloning of a potato late blight-resistance gene using RenSeq and SMRT sequencing [J]. *Nature Biotechnology*, 2016, 34(6): 656-660.
- [15] SONG X, WANG J, LI N, et al. Deciphering the high-quality genome sequence of coriander that causes controversial feelings [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2020, 18(6): 1444-1456.
- [16] LI M Y, FENG K, HOU X L, et al. The genome sequence of celery (*Apium graveolens* L.), an important leaf vegetable crop rich in apigenin in the Apiaceae family [J]. *Horticulture Research*, 2020, 7: 9.
- [17] WANG F, WANG G L, HOU X L, et al. The genome sequence of 'Kurodagosun', a major carrot variety in Japan and China, reveals insights into biological research and carrot breeding [J]. *Molecular Genetics and Genomics*, 2018, 293(4): 861-871.
- [18] ZHANG Y M, SHAO Z Q, WANG Q, et al. Uncovering the dynamic evolution of nucleotide-binding site-leucine-rich repeat (NBS-LRR) genes in Brassicaceae [J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2016, 58(2): 165-177.

(下转第 66 页 Continued on page 66)

## 3 讨论和结论

挥发油和黄酮类物质是柠檬中颇具应用价值的次生代谢产物。次生代谢产物是植物在长期进化过程中与环境相互作用的结果,但次生代谢产物在植物中含量很低,提高植物中次生代谢产物含量对该类成分的应用具有现实意义。本研究通过比较连续6个月浇灌不同质量浓度黄腐酸或腐植酸钠后柠檬品种‘云柠1号’叶中总黄酮含量发现,与空白组相比,浇灌黄腐酸和腐植酸钠总体上对柠檬品种‘云柠1号’叶中总黄酮含量具有一定的提升作用,但不同月份及不同质量浓度黄腐酸和腐植酸钠处理组的作用水平存在差异,表现为 $1.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 腐植酸钠处理组在处理前期的提升作用较好,而 $0.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 黄腐酸处理组处理后期的提升作用较好。

## 参考文献:

- [1] MYNENI S C B, BROWN J T, MARTINEZ G A, et al. Imaging of humic substance macromolecular structures in water and soils[J]. *Science*, 1999, 286(5443): 1335-1337.
- [2] 李 双. 腐植酸: 为开启生物刺激素第5次农业生产资料变革大门举旗定标[J]. *腐植酸*, 2021(1): 7-13.
- [3] 成绍鑫. 腐植酸类物质概论[M]. 北京: 化学工业出版社, 2007: 1.
- [4] 张 瑜, 王若楠, 邱小倩, 等. 腐植酸对植物生长的促进作用[J]. *腐植酸*, 2018(2): 5-9.
- [5] SINGH N, YARLA N S, SIDDIQI N J, et al. Features, pharmacological chemistry, molecular mechanism and health benefits of lemon[J]. *Medicinal Chemistry*, 2021, 17(3): 187-202.
- [6] 刘 浩, 周闲容, 于晓娜, 等. 作物种质资源品质性状鉴定评价现状与展望[J]. *植物遗传资源学报*, 2014, 15(1): 215-221.
- [7] NOSHAD M, BEHBAHANI B A, JOOYANDEH H, et al. Utilization of *Plantago major* seed mucilage containing *Citrus limon* essential oil as an edible coating to improve shelf-life of buffalo meat under refrigeration conditions [J]. *Food Science and Nutrition*, 2021, 9: 1625-1639.
- [8] 李冬梅. 中国柠檬产业竞争力及其影响因素分析[D]. 武汉: 华中农业大学经济管理学院, 2014: 18-33.
- [9] 何孝英, 朱春华, 李进学, 等. 腐植酸叶面肥对柠檬叶挥发油的含量、化学成分组成及抗氧化活性的影响[J]. *植物资源与环境学报*, 2017, 26(4): 54-59, 83.
- [10] 昆明理工大学, 寻甸县云峰化工有限责任公司, 任万云, 等. 褐煤氧化降解生产腐植酸及其盐的方法: 200810233669.X [P]. 2009-05-06.
- [11] 王丽丽, 林清霞, 宋振硕, 等. 分光光度法测定茶叶中总黄酮含量[J]. *茶叶学报*, 2021, 62(1): 1-6.
- [12] 段传人, 王伯初, 徐世荣. 环境应力对植物次生代谢产物形成的作用[J]. *重庆大学学报*, 2003, 26(10): 67-71.
- (责任编辑: 张明霞)
- 
- (上接第9页 Continued from page 9)
- [19] AMELINE-TORREGROSA C, WANG B B, O'BLENESS M S, et al. Identification and characterization of nucleotide-binding site-leucine-rich repeat genes in the model plant *Medicago truncatula* [J]. *Plant Physiology*, 2008, 146(1): 5-21.
- [20] WANG Y, TANG H, DEBARRY J D, et al. MCSanX: a toolkit for detection and evolutionary analysis of gene synteny and collinearity[J]. *Nucleic Acids Research*, 2012, 40(7): e49.
- [21] CHEN C, CHEN H, ZHANG Y, et al. TBtools: an integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data[J]. *Molecular Plant*, 2020, 13(8): 1194-1202.
- [22] ZHANG Y M, CHEN M, SUN L, et al. Genome-wide identification and evolutionary analysis of NBS-LRR genes from *Dioscorea rotundata*[J]. *Frontiers in Genetics*, 2020, 11: 484.
- [23] KUMAR S, STECHER G, TAMURA K. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2016, 33(7): 1870-1874.
- [24] KALYAANAMOORTHY S, MINH B Q, WONG T K F, et al. ModelFinder: fast model selection for accurate phylogenetic estimates[J]. *Nature Methods*, 2017, 14(6): 587-589.
- [25] MINH B Q, NGUYEN M A T, VON HAESLER A. Ultrafast approximation for phylogenetic bootstrap[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2013, 30(5): 1188-1195.
- [26] SHAO Z Q, ZHANG Y M, HANG Y Y, et al. Long-term evolution of nucleotide-binding site-leucine-rich repeat genes: understanding gained from and beyond the legume family[J]. *Plant Physiology*, 2014, 166(1): 217-234.
- [27] CAMBIAGNO D A, TORRES J R, ALVAREZ M E. Convergent epigenetic mechanisms avoid constitutive expression of immune receptor gene subsets [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2021, 12: 703667.
- (责任编辑: 佟金凤)