

王雨青,侯黔东,陈发利,等.甜樱桃HSF基因家族的鉴定及温度胁迫下表达模式分析[J].华中农业大学学报,2025,44(6):195-209.  
DOI:10.13300/j.cnki.hnlkxb.2025.06.020

## 甜樱桃HSF基因家族的鉴定及温度胁迫下表达模式分析

王雨青,侯黔东,陈发利,乔光,文晓鹏

贵州大学生命科学院/农业生物工程研究院/  
山地植物资源保护与保护种质创新教育部重点实验室,贵阳 550025

**摘要** 为探究甜樱桃热休克转录因子(heat shock transcription factors, HSF)在非生物胁迫中的功能,对甜樱桃HSF基因家族成员进行全基因组特征分析,利用qRT-PCR技术分析了HSF基因家族成员在甜樱桃不同器官/组织中的表达谱,以及在高低温胁迫下的应答情况。结果显示,甜樱桃基因组中共有17个HSF,根据在染色体上的位置,依次命名为PavHSF1~PavHSF17,所有成员均为亲水蛋白,且均定位在细胞核中。除6号和8号染色体外,其余染色体均有分布。启动子区域中存在低温等胁迫响应元件,暗示PavHSF可能参与非生物胁迫响应。PavHSF在进化上分为3类和13个亚类,有2对共线性基因对;与单子叶植物的共线性基因对最少。组织特异性表达分析显示,PavHSF在休眠花芽及叶芽中表达量最高,PavHSF3在甜樱桃所有组织中均呈现较高表达水平。在高温胁迫下,PavHSF11、PavHSF13、PavHSF15、PavHSF16表达量显著升高,为主要响应高温的基因;低温胁迫时,PavHSF13、PavHSF15、PavHSF17表达量上升最显著,暗示PavHSF13和PavHSF15为温度胁迫响应转录因子。以上结果表明,PavHSF转录因子广泛参与了甜樱桃的生长发育,且与温度胁迫关系密切。

**关键词** 甜樱桃; HSF转录因子; 基因家族分析; 高温胁迫; 低温胁迫; 表达分析

**中图分类号** S622.5    **文献标识码** A    **文章编号** 1000-2421(2025)06-0195-15

甜樱桃(*Prunus avium* L.)是蔷薇科李属的重要落叶果树,其果实富含可溶性糖、维生素等,具有很高的营养价值<sup>[1]</sup>。对于甜樱桃而言,温度是影响花果质量的一个重要因素,在低温情况下可以保持甜樱桃果实的色泽和甜度,较大的温度波动会加速果实的变质<sup>[2]</sup>。开花之前长期的寒冷和冻害会影响花芽分化的质量,从而降低坐果率及果实品质<sup>[3]</sup>;在花盛开期,长时间的高温和日灼会损伤花器官,导致柱头干瘪、花粉活力下降以及授粉困难或无法完成授粉<sup>[4]</sup>。

热休克转录因子(heat shock transcription factors, HSFs)是植物中常见的转录因子(transcription factors, TFs),在逆境应答中发挥重要作用<sup>[5]</sup>。HSF蛋白在植物中较为保守,蛋白序列的N-末端具有DNA-结合结构域(DNA-binding domain, DBD),在C端具有一个寡聚化结构域(oligomerization domain,

OD)其中包含2个疏水的7-肽重复区域HR-A/B (heptameric hydrophobic repeat regions)、核定位信号(nuclear localization signal, NLS)、核输出信号(nuclear export signal, NES)、激活结构(AHA基序)和阻遏物结构域(Repressor domain, RD)<sup>[6]</sup>。植物HSF以HR-A/B区域特征分为A、B、C三类,其中AHA基序是HSFA而特有的转录激活基序,HSFB和HSFC因缺少AHA基序而不具有转录激活活性<sup>[7]</sup>。HSF的热应激元件(heat stress elements, HSE)是由HS诱导基因TATA-box上游回文结合基序的重复模式构成,通常含有2个以上的HSE基序<sup>[8]</sup>。

在不同物种中HSF基因家族成员数量各不相同,拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中鉴定到21个<sup>[9]</sup>,半夏(*Pinellia ternata*)中有22个<sup>[5]</sup>,桃(*Prunus persica*)中有18个<sup>[10]</sup>。HSF基因家族成员的功能研究已有较多报道。茶树(*Camellia sinensis*)HSF基因家族

收稿日期:2025-03-05

基金项目:国家自然科学基金项目(32060663)

王雨青,E-mail:YujingWang@163.com

通信作者:文晓鹏,E-mail:xpwen@gzu.edu.cn

成员共鉴定到22个,其中,*CsHsf15*和*CsHsf16*在光胁迫和低温胁迫下均具有较高的诱导率,且都含有与光和低温响应相关的顺式作用元件,表明它们可能在耐光和低温胁迫方面发挥潜在作用<sup>[11]</sup>。在康乃馨(*Dianthus caryophyllus*)中鉴定到17个HSF,每个HSF均会受高温和干旱诱导上调表达,其中4个成员*DcaHsf-A2a*、*DcaHsf-A5*、*DcaHsf-B2b*、*DcaHsf-C1*在低温时会被轻微诱导上调表达,表明*DcaHsf*可能在不同的应激反应途径中发挥关键作用<sup>[12]</sup>。在蔷薇科果树苹果(*Malus domestica*)中鉴定到25个HSF,高温下12个HSF的表达量显著升高,仅有*MdHsfA9b*和*MdHsfB4a-b*在温度升高时显著下调<sup>[13]</sup>,说明HSF基因家族成员在植物生长过程中可以通过激活或抑制响应多种胁迫反应。目前对于甜樱桃HSF基因家族的研究尚为空白。因此,本研究对甜樱桃HSF基因家族成员进行分析,利用qRT-PCR技术分析HSF基因家族成员在甜樱桃不同器官/组织中的表达谱,以及对高低温胁迫的应答,旨在为深入解析甜樱桃HSF基因的结构和功能提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 甜樱桃HSF基因的鉴定及理化性质预测

从GDR数据库(<https://www.rosaceae.org/>)下载甜樱桃基因组和gff注释文件(*Prunus avium* cv. 'Tieton' Genome v2.0)。从拟南芥基因组数据库TAIR(<https://www.arabidopsis.org/>)下载拟南芥HSF基因家族成员的蛋白序列,并进行BLASTp比对。从Pfam蛋白家族数据库(<http://pfam.xfam.org>)下载对应于HSF结构域的隐马尔可夫模型文件(PF00447)。使用HMMER 3.0 (<http://hmmer.org/>)软件,利用PF00447从甜樱桃基因组数据库中搜索HSF基因家族成员,使用Pfam和SMART ([https://smart.embl.de/smart/set\\_mode.cgi?NORMAL=1](https://smart.embl.de/smart/set_mode.cgi?NORMAL=1))程序确认HSF的结构域。通过ProtParam在线分析平台(<https://web.expasy.org/protparam/>)对甜樱桃PavHSF蛋白进行相关理化性质分析,包括但不限于氨基酸序列长度、理论等电点(pi)、分子质量(MW)等基础参数,同时解析其不稳定指数、脂肪系数及平均亲疏水性(GRAVY)等特征指标<sup>[14]</sup>。利用Wolf Psort生物信息学工具(<https://wolfsort.hgc.jp/>)对HSF蛋白进行亚细胞定位预测,以置信度最高的预测位置作为最终的预测结果。

为检验鉴定出的成员是否真实存在于甜樱桃,根据其CDS序列设计特异性引物,使用高保真酶PrimeSTAR Max Premix(Takara,日本)进行克隆验证(引物序列见表1)。

### 1.2 甜樱桃HSF基因的系统演化分析

对甜樱桃、拟南芥和梅(*Prunus mume*)<sup>[15]</sup>HSF蛋白序列进行系统发育分析。首先通过ClustalW对PavHSF蛋白进行多序列比对,比对完成后使用MEGA11软件中neighbor-joining(NJ)法构建系统发育进化树,构建参数Bootstrap值设为1 000,使用在线平台iTOL(<https://itol.embl.de/>)进行系统进化树的可视化构建。

使用在线MEME工具(<https://meme-suite.org/meme/>)分析并预测甜樱桃HSF家族成员的基序结构,预测基序数量设置为20,其中基序的最小宽度设置为6,基序的最大宽度设置为50,其他的参数均选择默认。从甜樱桃的基因组注释文件中提取甜樱桃HSF基因的结构,包括编码序列(coding sequence,CDS)和非翻译区(untranslated region,UTR)。最后,使用TBtools v2.138<sup>[16]</sup>进行可视化分析。

### 1.3 甜樱桃HSF基因共线性分析

通过使用BLASTp程序鉴定甜樱桃中的同源HSF基因,其中e值的阈值设置为<e<sup>-5</sup>。使用MCScanX<sup>[17]</sup>默认参数分析甜樱桃HSF基因之间的共线性关系。再使用TBtools对产生的HSF共线性基因对进行可视化调整。

为分析甜樱桃与单子叶植物、模式植物、蔷薇科果树的共线性关系,对其进行物种间共线性分析。拟南芥和水稻(*Oryza sativa*)的基因组序列和相关注释文件通过Phytozome v13网站(<https://phytozome-next.jgi.doe.gov/>)下载。同时利用Ensemble plants在线网站(<https://plants.ensembl.org/index.html>)下载桃(*Prunus persica*) (NCBIv2)和苹果(ASM211411v1)的基因组序列和注释文件。采用MCScanX程序分析甜樱桃与拟南芥、水稻、桃和苹果之间的共线性。

### 1.4 甜樱桃HSF基因启动子中顺式作用元件分析

每个甜樱桃HSF基因家族成员起始密码子上游的2 000 bp被认为是启动子序列。利用TBtools基因组学工具提取甜樱桃PavHSF成员的候选启动子序列,并利用在线预测平台PlantCARE (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>)进行启动子顺式作用元件分析,预测顺式调控元件及

表1 甜樱桃*PavHSF*基因家族克隆引物  
Table 1 Clone of *Prunus avium* L. *PavHSF* gene family

基因 Gene	正向引物(5'-3') Forward primer	反向引物(5'-3') Reverse primer	扩增产物/bp PCR product	退火温度/°C Tm
<i>PavHSF1</i>	ATGAATTCCGATCACGACCCAG	TTACTTGGACAGGAGGCCAAG	1 068	57
<i>PavHSF2</i>	ATGGAAGGAGCTTCGACTGC	TCAAAAGAGTGAGTGTTTCAGCATCC	1 446	59
<i>PavHSF3</i>	ATGGTGAATCGGCAGCGAAG	TCACCTTCCTGATTGTGTTCCACG	1 239	58
<i>PavHSF4</i>	ATGGATGGAGTGGTGGTGAAG	TCAAGGCTTGGACCTGATTAGATAAC	1 125	60
<i>PavHSF5</i>	ATGGCTCCGACGTCGGTGGAG	TCAATTACACACCCCTCTGATTAGGCC	912	60
<i>PavHSF6</i>	ATGCACCAGCGCCTTTCTT	TCAACTAGCATGAGTGAGGC	1 314	57
<i>PavHSF7</i>	ATGGAGGGCACTCAAGGTGG	TCATTCGGCCGACGAGGCAT	1 129	57
<i>PavHSF8</i>	ATGGCTGCTACAACTTCTTCAGG	TCAGCATCGAACCTTATTGTGATGATC	585	59
<i>PavHSF9</i>	ATGGATGAAGTTCAAGGTGGCG	TCACGTTTCTACTGGAGTAAGATGC	1 239	58
<i>PavHSF10</i>	ATGGGAGGTGCTAATAATAACGGC	TCAAACCCCTTGGTATCTGATGTAAG	1 560	57
<i>PavHSF11</i>	ATGGCGTCGTTGCAGGCCG	TCACCTTCCGAGCTCCAGGCCACG	1 002	60
<i>PavHSF12</i>	ATGGACGGTGTGTGACCAAG	TTATTTGCATTCTTGAGATAGTAAATG	735	61
<i>PavHSF13</i>	ATGAACCCAAAAGACGAGAGCTAC	TCATAGCGGCAGCCAATACAG	537	57
<i>PavHSF14</i>	ATGGCGCAAAGGTCCGTTCC	TCAGTTGCACACCTTCCCGC	897	58
<i>PavHSF15</i>	ATGGAGCGTGGTGATGTTGAGG	TCACACGACCGTCGCTCCTTGAG	672	58
<i>PavHSF16</i>	ATGGTGGTCTCTGAAGCGG	CAATTGGGCCATGCCTTG	1 425	59
<i>PavHSF17</i>	ATGAAAACCCATTCTCAAATTGATT	TTATTTTGGTTACATTGGAGGAAAAA	915	57

其功能,并重点关注胁迫应答、生长发育调控和激素响应等相关元件。最终使用TBtools对相关的顺式元件进行可视化和总结,系统解析启动子区域中的调控特征。

### 1.5 甜樱桃*PavHSF*基因表达的组织特异性分析

组织特异性试验材料采样于贵阳市乌当区百宜镇贵州大学农业生物工程研究院果园大棚,品种为9年生甜樱桃‘布鲁克斯’。在2023年12月—2024年5月陆续完成不同组织部位采样。

不同组织样品包括:休眠叶芽(2023年12月26日)、成熟叶片(2024年3月29日)、3个发育期的花:即休眠花芽(2023年12月26日)、开花前花蕾(2024年3月19日)、盛花期花朵(2024年3月29日),以及3个发育期果实:幼果(2024年4月2日)、转色期果实(2024年4月29日)、成熟果(2024年5月14日)。

2024年6月3日,采集长势均一的带叶枝条,等量分装2份,分别进行高温(48 °C)和低温(4 °C)胁迫处理分析HSF成员的表达模式。高温处理<sup>[18]</sup>:枝条插入等量常温清水中置于48 °C人工气候培养箱中培养,光照强度设置为20 000 lx,湿度为80%,分别于0、6、12、24 h取样;低温处理<sup>[19]</sup>:枝条插入等量常温清水中置于4 °C人工气候培养箱中,保持光照、湿度与高温处理条件一致,于0、3、6、12、24、48 h进行

取样。

以上试验均设置3个生物学重复。所有样品采集后立即投入液氮速冻,于-80 °C保存。使用植物RNA提取试剂盒(Omega,美国)提取RNA,根据StarScript III All-in-one RT Mix with gDNA Remover试剂盒(GenStar,中国)步骤合成cDNA,以700 ng为定量,稀释10倍后置于-20 °C保存。

以Primer Premier 5.0设计荧光定量引物(表2),选择*PavRSP3*和*PavEF1-α2*作为内参基因<sup>[20]</sup>,并设置3个技术重复,使用荧光定量PCR仪(qTOWER 3G,德国)进行荧光定量扩增。用2<sup>-ΔΔCt</sup>法计算*PavHSF*基因家族成员的相对表达量,使用SPSS 26.0软件进行显著性分析,组织特异性分析利用TB-tools绘制热图,温度胁迫响应表达量使用软件Origin 2021绘图。

## 2 结果与分析

### 2.1 甜樱桃HSF基因家族成员鉴定及其理化性质分析

基于GDR数据库,通过生物信息学方法鉴定出17个*PavHSF*基因家族成员,命名为*PavHSF1-PavHSF17*(表3)。分析结果显示,成员间氨基酸数目存在显著差异,*PavHSF10*基因编码519个氨基

表2 qRT-PCR引物  
Table 2 Primers used in quantitative real-time PCR

基因 Gene	正向引物(5'-3') Forward primer	反向引物(5'-3') Reverse primer	扩增产物/bp PCR product	退火温度/°C Tm
PavHSF1	TCAGGCAGCTCAACACCTAT	CAACTCTCCGTCCAATC	201	57
PavHSF2	TGTGCAGAAAAGAACAGAA	GGAAGATGCTAGAGTGA	222	59
PavHSF3	AGTTCTCGATTATTGTTGCC	CTTTCTCTGATCTGTGCCCTGAGG	201	58
PavHSF4	AACTTCTCAAGCTTCATTG	TCTCTCTTCAATCTTCA	235	57
PavHSF5	ACATGCAGCTCACCAAGGA	AATGCCACACCAAAAAA	205	58
PavHSF6	ATCCTTGCTATAACATCAACTTGC	CTCACTCTGCCATCACTATCCCCT	248	59
PavHSF7	CAAGCCAATTCATAGTCATT	AGTAGTTCAAGAAGGAGGT	250	58
PavHSF8	CAGCTTAATACCTACGGGTTCAA	TTCTGTTCCCTGAGGTTCTTGTT	245	56
PavHSF9	GATACCATTGGATGTTGGAGAG	CCAGATGTTGTTCTTGAGGAT	248	57
PavHSF10	AGCAGCAGAATGAGAGCAATAGG	AACTGGATGATGATGAGCCA	249	59
PavHSF11	CCTGCCGGTTAACGGCGCT	TGAGCTGGCGGACGAAGCTA	228	60
PavHSF12	AAACTCCTCAACCTCCTCCTCAT	ACCTCCAATCTCACTCCAAACAA	219	59
PavHSF13	CCAAAAGACGAGAGCTACCCAA	GAAAGCACCAGAGGACCAAGAA	204	58
PavHSF14	CCCGATCAGATCAATCGCATC	TCCCCACCAACACCAACCCCA	244	58
PavHSF15	AGCCTCCCTCGCCCCAGGAG	TAACGGCACCACCAACCATCT	231	60
PavHSF16	GCCTCAGTGTGGATTGTGGAAG	ATGATAAGCAGTGGGCATGTCT	212	60
PavHSF17	GCGTGGAAAGAAGAAATGGAGA	GACGAGGACGACGTTGAGGTTA	206	58

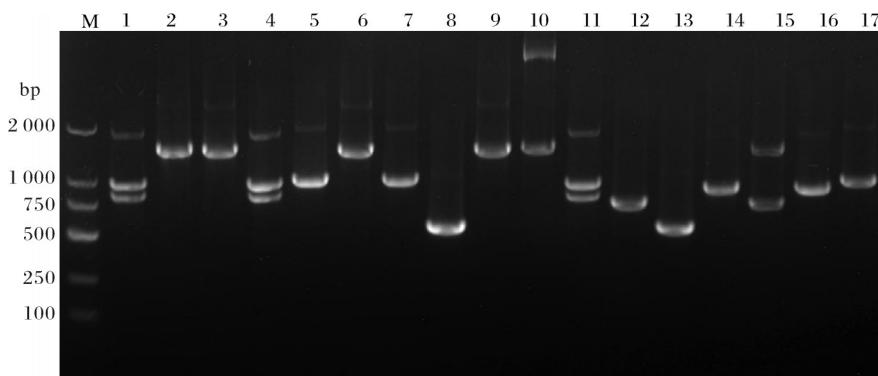
酸, *PavHSF13* 基因仅编码 178 个氨基酸。*PavHSF* 基因家族成员蛋白分子质量为 19.63~56.04 ku。蛋白等电点结果显示, 最大等电点为 8.54 (*PavHSF8*), 最小为 4.25 (*PavHSF13*), 除了 *PavHSF8* 的等电点大于 7, 为碱性蛋白外, 其余 16 个均为酸性蛋白, 且该家族成员的所有蛋白平均亲疏水性均小于 0, 表明该家族的所有蛋白均为亲水蛋白。*PavHSF* 的不稳定系数介于 33.56~66.41, 大部分蛋白不稳定系数高于 40, 属于不稳定蛋白, 仅有 *PavHSF14* 不稳定系数小于 40, 属于稳定蛋白。脂肪

系数为 49.36~78.66。亚细胞定位预测结果显示, 该家族的所有成员均定位于细胞核中。

使用特异性引物, 根据引物的 Tm 值, 以甜樱桃 ‘布鲁克斯’ 花芽 cDNA 为模板进行克隆, 得到预期大小的 17 个条带(图 1), 条带大小与基因组中提取的 CDS 序列长度基本一致, 证明鉴定得到 17 个非冗余成员。

## 2.2 甜樱桃 *PavHSF* 的系统演化分析

将甜樱桃中 17 个 *PavHSF*、21 个拟南芥 *AtHSF* 和 18 个梅 *PmHSF* 的蛋白序列共 56 条进行比对, 由



M 为 DL2000 Marker, 1~17 沸道分别为 *PavHSF1*~*PavHSF17*。M 是 DL2000 Marker, 1~17 泳道是 *PavHSF1*~*PavHSF17*。

图 1 甜樱桃 *PavHSF* 基因家族成员扩增

Fig. 1 Amplification of the *PavHSF* gene family members in sweet cherries

表 3 甜樱桃 *PavHSF* 基因家族成员理化性质Table 3 Physicochemical properties of *PavHSF* gene family members in sweet cherry

基因名称 Gene name	基因 ID Gene ID	蛋白 长度/aa Protein length	分子质量/ku Molecular weight	等电点 Isoelectric point	不稳定系数 Instability index	脂肪系数 Aliphatic in- dex	平均亲疏水性 Grand average of hydropathicity	亚细胞定位 Subcellular localization prediction
<i>PavHSF1</i>	FUN_039901-T1	355	41 160.23	5.17	49.20	71.58	-0.80	Nuclear
<i>PavHSF2</i>	FUN_001900-T1	481	53 695.59	5.48	56.32	68.36	-0.75	Nuclear
<i>PavHSF3</i>	FUN_039952-T1	412	46 484.94	4.73	45.82	72.18	-0.66	Nuclear
<i>PavHSF4</i>	FUN_039968-T2	374	41 863.82	4.87	60.42	78.66	-0.55	Nuclear
<i>PavHSF5</i>	FUN_012791-T1	303	33 670.72	5.17	62.99	66.90	-0.62	Nuclear
<i>PavHSF6</i>	FUN_040080-T1	437	49 944.75	5.17	50.18	69.41	-0.74	Nuclear
<i>PavHSF7</i>	FUN_040081-T1	375	42 909.17	5.44	54.26	71.52	-0.70	Nuclear
<i>PavHSF8</i>	FUN_032033-T1	194	22 059.16	8.54	56.05	64.95	-0.61	Nuclear
<i>PavHSF9</i>	FUN_032297-T1	412	46 580.85	5.34	51.49	67.67	-0.77	Nuclear
<i>PavHSF10</i>	FUN_040170-T1	519	56 044.11	4.70	61.10	68.23	-0.58	Nuclear
<i>PavHSF11</i>	FUN_025026-T1	333	36 194.94	4.79	63.74	68.53	-0.67	Nuclear
<i>PavHSF12</i>	FUN_040310-T1	244	28 139.46	5.69	60.43	65.90	-0.88	Nuclear
<i>PavHSF13</i>	FUN_040313-T1	178	19 639.05	4.25	66.41	71.74	-0.20	Nuclear
<i>PavHSF14</i>	FUN_038395-T1	298	33 543.99	5.09	33.56	49.36	-1.03	Nuclear
<i>PavHSF15</i>	FUN_038574-T1	223	24 936.75	4.84	58.01	69.55	-0.71	Nuclear
<i>PavHSF16</i>	FUN_039218-T1	474	52 792.07	5.10	50.38	67.66	-0.67	Nuclear
<i>PavHSF17</i>	FUN_039458-T1	304	34 713.27	6.17	58.59	70.82	-0.58	Nuclear

图2可知,甜樱桃HSF家族成员共分为HSFA、HSFB、HSFC三大类,其中HSFA类蛋白有10个,包括HSFA1(*PavHSF10*)、HSFA2(*PavHSF4*)、HSFA3(*PavHSF13*)、HSFA4(*PavHSF6*、*PavHSF7*、*PavHSF9*)、HSFA5(*PavHSF2*)、HSFA6(*PavHSF1*)、HSFA8(*PavHSF3*)、HSFA9(*PavHSF16*) ; HSFB类蛋白有6个(*PavHSF5*、*PavHSF8*、*PavHSF11*、*PavHSF12*、*PavHSF14*、*PavHSF15*) ; HSFC类蛋白有1个(*PavHSF17*),暗示HSF蛋白在进化过程中发生了功能分化。

### 2.3 甜樱桃 *PavHSF* 基因结构分析

为探究*PavHSF*基因家族成员间的系统发育关系和基因结构的多样性,确定外显子和内含子的分布,进一步对其蛋白序列进行比对。由图3A可知,只有隶属于A3亚类的*PavHSF13*含有1个外显子,C类的*PavHSF17*有5个外显子,其余成员均具有2个外显子。内含子数量差异较大,数量介于0~4个之间。

利用MEME预测了*PavHSF*基因家族的20个保守结构,其长度介于6~50个氨基酸残基。由图3B可知,*PavHSF*基因家族成员间的基序数量差异显著,基序数量介于1~13之间,说明这些蛋白可能具有不同的生理功能与生化特征,同时大多数基因

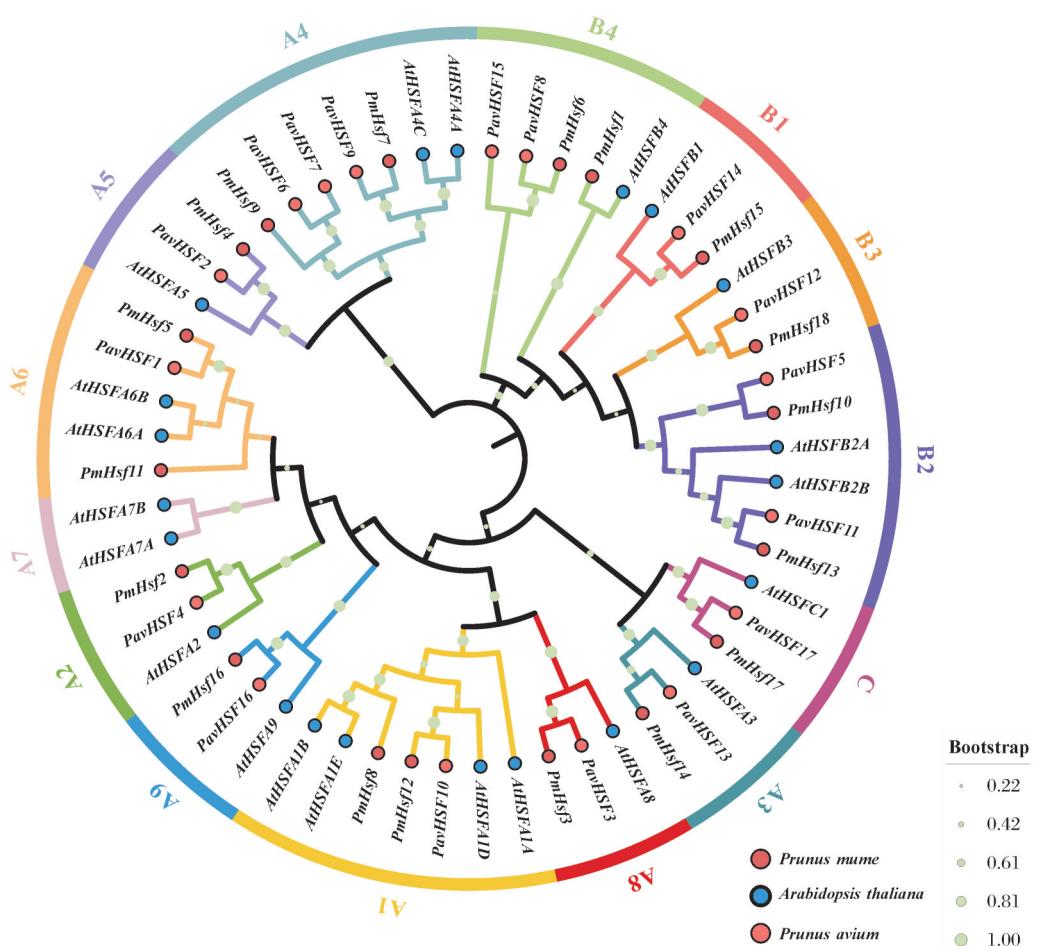
都包含了motif 1、motif 2 和 motif 3,说明这些基因在结构上是相对保守的。

由图3C可知,除了*PavHSF17*和*PavHSF15*外,其他成员均含有HSF\_DNA bind结构域,其中,*PavHSF2*还具有Myosin\_tail\_1 superfamily结构域,而*PavHSF9*则含有TMF\_TATA\_bd superfamily结构域(图3C)。

### 2.4 *PavHSF*染色体定位及基因共线性分析

依据基因在染色体上的定位可以推测其所发挥的生物学功能。由图4可知,在甜樱桃基因组中,*PavHSF*基因家族17个成员分布在6条染色体上,6号和8号染色体上未发现该家族成员,而其余染色体上呈现不均衡性分布,7号染色体上*PavHSF*基因家族成员数量最多,共有6个HSF基因,1号染色体有4个HSF基因,2号染色体有1个HSF基因,在3、4、5号染色体上各有2个该基因家族成员。

为了探究在甜樱桃基因组中HSF基因复制事件的发生,对甜樱桃*PavHSF*基因家族进行物种内共线性分析。由图5可知,在17个*PavHSF*基因家族成员中发现了2对基因具有片段重复,分别为*PavHSF4*、*PavHSF16*和*PavHSF5*、*PavHSF11*,从而推测这2对基因之间曾经发生过复制,可能是同一个基因进化产生的。



图中不同颜色分支代表不同亚类,3个颜色的圆点分别表示3个不同物种。The different color branches in the figure represent different subclass, and the three colored dots represent the three different species, respectively.

图2 甜樱桃(*Prunus avium* L.)、拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)、梅(*Prunus mume*)HSF蛋白的系统发育分析

Fig. 2 Phylogenetic analysis of the HSF proteins of *Prunus avium* L., *Arabidopsis thaliana* and *Prunus mume*

为进一步探究不同物种间 HSF 的进化关系,本研究对甜樱桃与拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)、水稻(*Oryza sativa*)、桃(*Prunus persica*)、苹果(*Malus domestica*)HSF 基因开展共线性分析。由图 6 可知,甜樱桃与其他物种间 HSF 存在不同数量的共线性基因对,与拟南芥、水稻、桃、苹果 HSF 分别存在 13、12、21、34 对共线性基因对。甜樱桃与桃和苹果的共线性基因对最多,符合三者同属蔷薇科植物的特征。甜樱桃与单子叶植物 HSF 的共线性基因偏少,进一步证实了该基因的保守性。

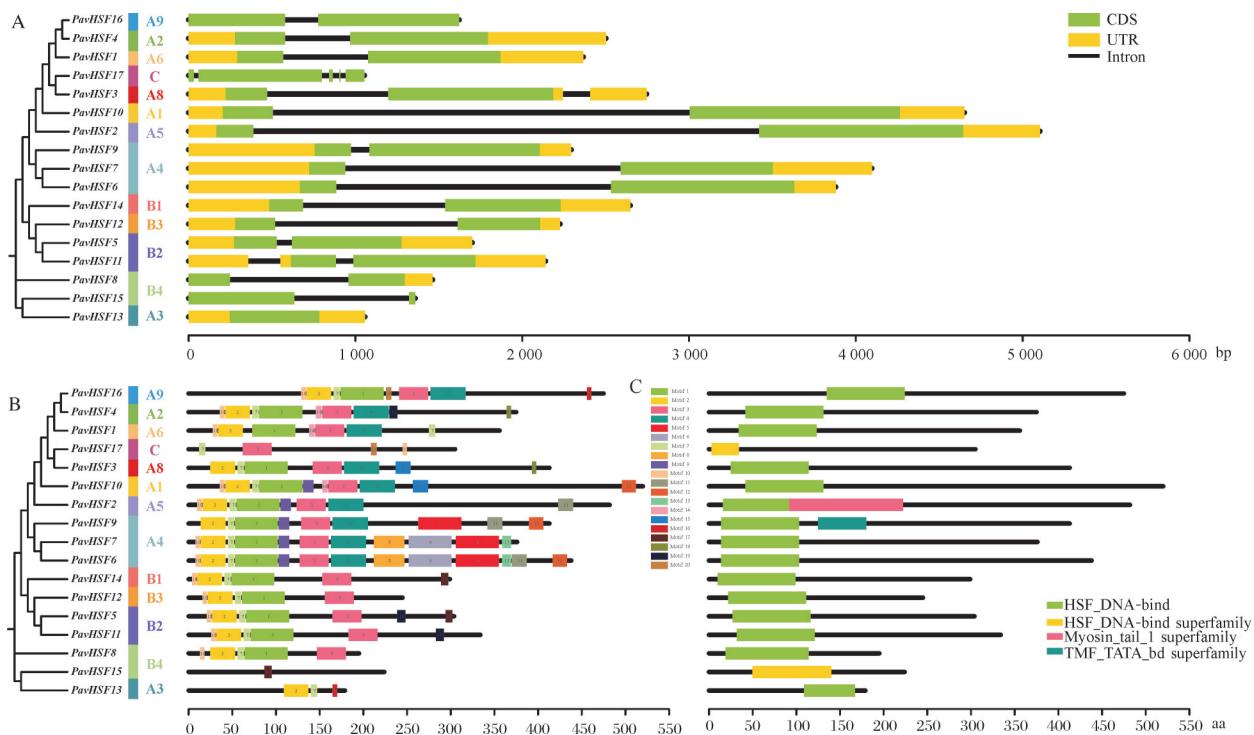
### 2.5 HSF基因家族启动子顺式作用元件分析

在基因上游的启动子顺式作用元件是基因生物学功能的一项参考信息,本研究分析了 *PavHSF* 的上游 2 000 bp 启动子的顺式作用元件。由图 7A 可知,参与生物与非生物胁迫的作用元件数目最多,例如低温响应元件(LTR)、干旱诱导结合位点(MBS)

等,其次是各种与激素响应相关的元件,包括但不限于茉莉酸甲酯响应元件(CGTCA-motif、TGACG-motif)、水杨酸响应元件(TCA-element)等,其中最多的是脱落酸响应元件(ABRE),13 个成员均有该响应元件(图 7B)。顺式作用元件预测的结果进一步说明了 *PavHSF* 可能具有多重的生物学功能,推测 *PavHSF* 可能受激素的诱导调控而响应非生物胁迫。

### 2.6 甜樱桃不同组织中 *PavHSF* 基因的表达模式分析

由图 8 可知,甜樱桃 8 个组织中 *PavHSF* 的表达模式差异较大。*PavHSFA* 中, *PavHSF2*、*PavHSF4*、*PavHSF6*、*PavHSF7*、*PavHSF9*、*PavHSF10* 均是在幼果、休眠花芽和叶芽中有较高表达,而属于 A6 亚类的 *PavHSF1* 和 A9 亚类的 *PavHSF16* 表达水平最低;在 *PavHSFB* 中, *PavHSF5* 和 *PavHSF14* 在休眠



A: *PavHSF* 基因结构, 其中黄色为非编码区UTR, 绿色为外显子编码序列CDS, 黑线为内含子, 底部刻度表示基因长度; B: *PavHSF* 的保守基序, 20个不同颜色的色块代表20个不同的基序; C: *PavHSF* 的保守结构域。A: Gene structures of *PavHSF*, yellow boxes are non-coding regions (UTR), green squares are exon coding sequence (CDS), and black lines are introns. The bottom scale indicates the length of the gene; B: Conserved motif of *PavHSF*, the 20 different color blocks represent 20 different motifs; C: Conserved domain of *PavHSF*.

图3 甜樱桃 *PavHSF* 基因家族基因结构(A)、保守基序(B)及保守结构域(C)分析

Fig. 3 Gene structures(A), conserved motif (B) and conserved domain(C) analysis of sweet cherry *PavHSF* gene family

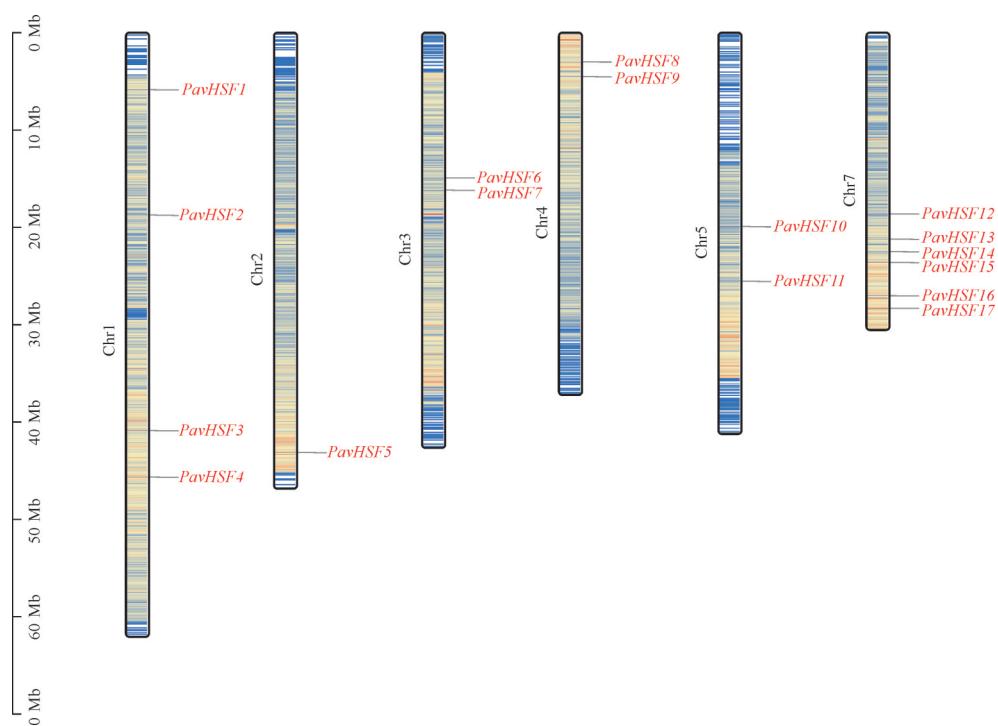
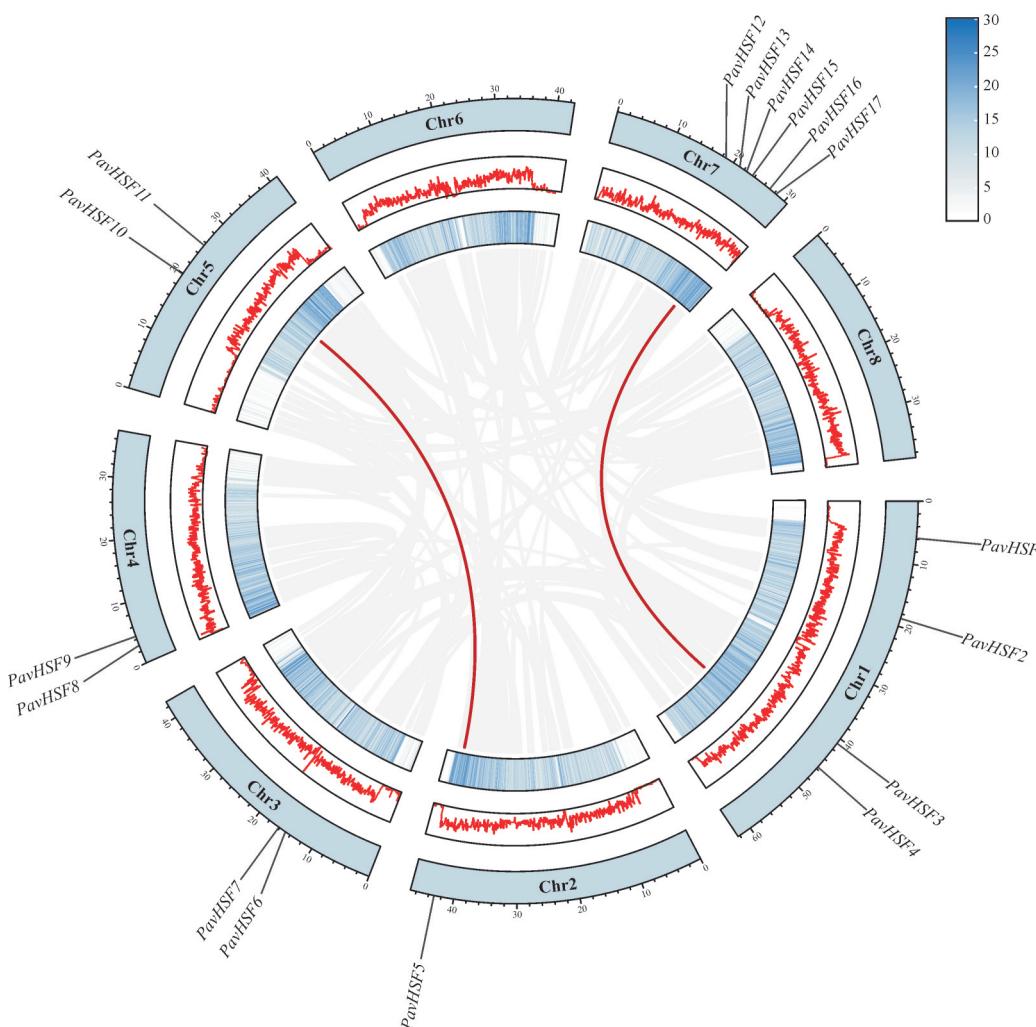


图4 甜樱桃 *PavHSF* 基因家族成员的染色体定位

Fig. 4 Chromosomal localization of sweet cherry *PavHSF* gene family members



蓝色线表示甜樱桃的8条染色体；灰色线代表甜樱桃基因组中的所有共线性基因对，红色线表示甜樱桃PavHSF中的2对共线性基因对。The blue lines represent the eight chromosomes of the sweet cherry; the gray lines represent all collinear gene pairs in the sweet cherry genome, and the red lines represent 2 collinear gene pairs in PavHSF in the sweet cherry.

#### 图5 甜樱桃PavHSF基因家族物种内共线性分析

Fig. 5 Within-species collinearity of the sweet cherry PavHSF gene family

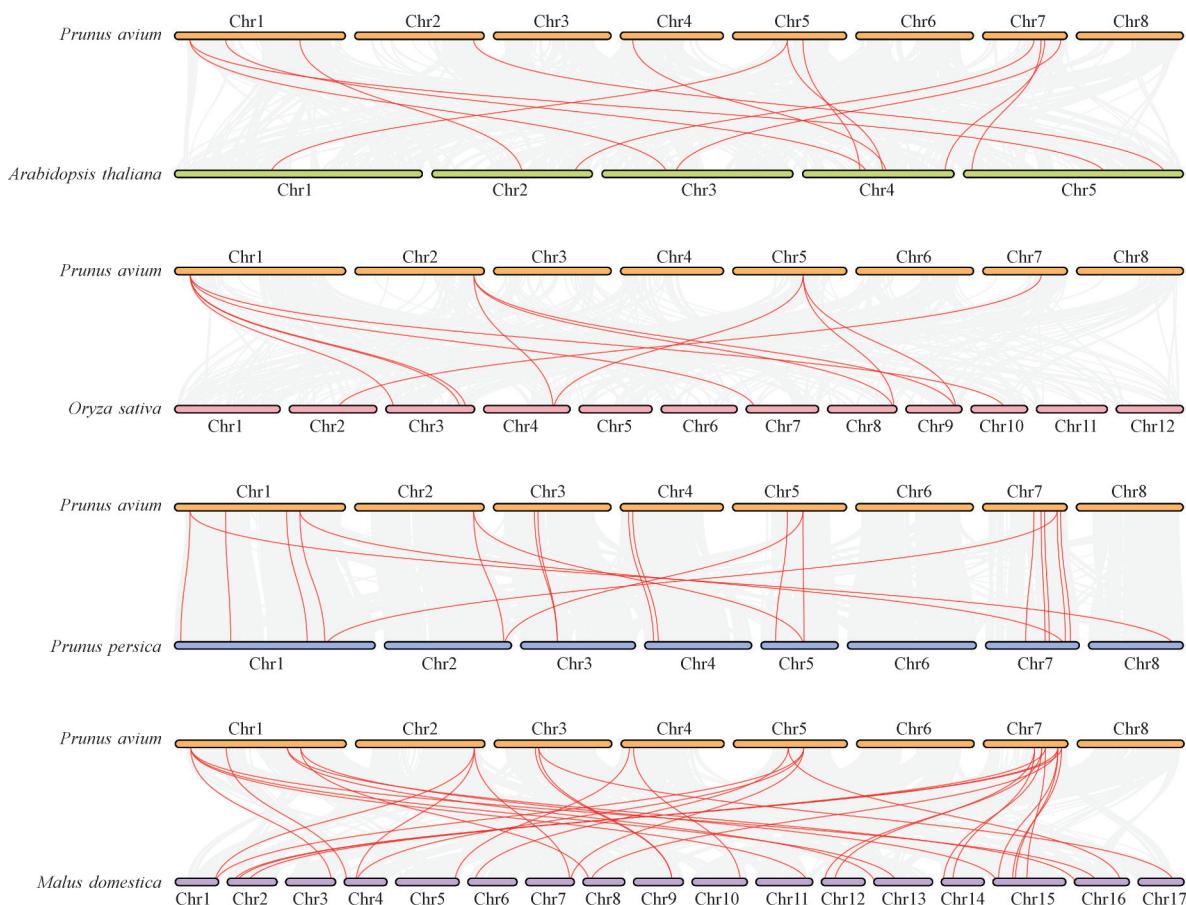
花芽、叶芽和幼果中均具有较高表达水平，*PavHSF15*在所有组织中的表达水平均相对较低；*PavHSF15*中的唯一成员*PavHSF17*在8个组织中均呈现低表达。*PavHSF3*在所有组织中均高表达，推测该成员可能在甜樱桃多个生长发育过程中均可发挥作用。与之相反，*PavHSF1*、*PavHSF15*、*PavHSF16*、*PavHSF17*在所有组织中的表达水平较低。总体来说，*PavHSF*在幼果、休眠花芽和叶芽中表达量较高，而在成熟叶片、开花前花蕾和完整花中的表达量相对较低。

#### 2.7 甜樱桃PavHSF对温度胁迫的响应

由图9可知，48℃高温胁迫处理下，*PavHSF*基因家族成员的表达水平普遍呈上升趋势。具体而言，随处理时间延长，*PavHSF1*、*PavHSF8*、

*PavHSF10*、*PavHSF11*、*PavHSF12*、*PavHSF13*、*PavHSF15*整体上呈现持续升高的趋势；而*PavHSF4*、*PavHSF5*、*PavHSF7*表达水平呈现先升高再降低的趋势；其他成员的表达水平随处理时间的增加出现波动，处理6 h时表达量显著上升，12 h时降低，随后24 h时再次升高，其中*PavHSF11*、*PavHSF13*、*PavHSF15*、*PavHSF16*在高温处理下表达量显著增加，受高温胁迫影响较大，推测这4个成员是响应高温胁迫的关键基因。

由图10可知，4℃低温胁迫处理下，*PavHSF12*表达水平显著降低，与高温处理下表达水平相反。*PavHSF13*、*PavHSF15*、*PavHSF17*表达量分别显著升高65、40、50倍，推测*PavHSF13*、*PavHSF15*和*PavHSF17*为应对低温环境的主要成员。其他大部



拟南芥(At)、水稻(Os)、桃(Pp)、苹果(Md)与甜樱桃(Pav)中HSF的共线性关系;橙色方块(Chr1~Chr8)为甜樱桃的染色体;绿色方块(Chr1~Chr5)为拟南芥的染色体;粉色方块(Chr1~Chr12)为水稻的染色体;蓝色方块(Chr1~Chr8)为桃的染色体;紫色方块(Chr1~Chr17)为苹果的染色体。The collinearity of PavHSF in Arabidopsis (At), rice (Os), peach (Pp), apple (Md) and sweet cherry (Pav); the orange squares (Chr1-Chr8) are the chromosomes of sweet cherries; the green squares (Chr1-Chr5) are chromosomes of *Arabidopsis thaliana*; the pink squares (Chr1-Chr12) are the chromosome of rice; the blue squares (Chr1-Chr8) are the peach chromosomes; the purple squares (Chr1-Chr17) are the chromosomes of the apple.

图6 甜樱桃与其他物种间HSF基因的共线性分析

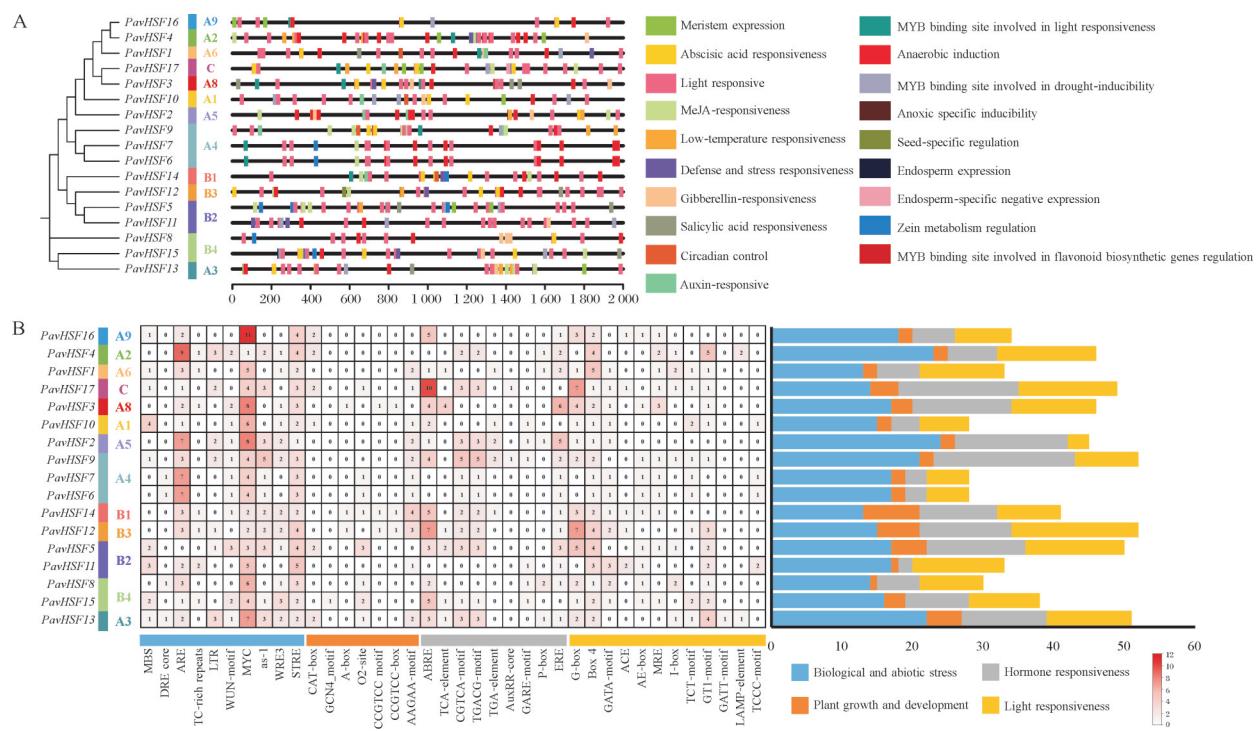
Fig. 6 Syntenic relationship of the HSF genes between sweet cherry and other species

分成员表达量在12 h前无明显变化或稍降低,12 h后逐渐升高,推测细胞可能优先激活冷休克蛋白(cold shock proteins, CSPs)<sup>[21]</sup>及其他应激通路,间接激活HSF以促进伴侣蛋白(HSP)的表达,从而上调HSF。

### 3 讨论

甜樱桃作为一种重要的经济果树,高低温胁迫会影响其花芽分化,导致产量减少、经济收益降低。植物HSF是重要的转录因子,参与调节各种胁迫响应基因的表达,对多种非生物胁迫的耐受响应起关键作用<sup>[22]</sup>。HSF家族成员通常会通过识别并靶向热激元件HSE从而激活相关下游基因的表达,调控植物的耐热性<sup>[23]</sup>。

本研究首次在甜樱桃中鉴定了17个HSF基因家族成员(*PavHSF1~PavHSF17*),成员数量小于番茄(*Solanum lycopersicum* L.)<sup>[24]</sup>、棉花(*Gossypium hirsutum*)<sup>[25]</sup>、白菜(*Brassica rapa pekinensis*)<sup>[26]</sup>,但是与蔷薇科草莓(*Fragaria × ananassa*)、中国李(*Prunus salicina* Lindl.)和桃<sup>[27]</sup>的数量十分相近。甜樱桃17个*PavHSF*在基因结构上高度相似(图2),且通过物种间共线性分析(图5)发现,甜樱桃与桃和苹果的共线性基因对最多,符合三者都为蔷薇科植物的特征,甜樱桃HSF与单子叶植物的共线性基因偏少,进一步表明HSF在植物中的进化较为保守。通过定量分析进一步揭示了其在高温和低温胁迫下的动态表达特征。HSFA1类转录因子有一个独特的功能,其作为获得性耐热性的主调节器,不能被任何



A: *PavHSF* 启动子上游 2 000 bp 顺式作用元件分析, 其中不同颜色方块代表不同的作用元件; B: 启动子区域内顺式作用元件数量统计, 其中蓝色方块代表响应生物与非生物胁迫的元件, 灰色代表激素响应元件, 橙色代表植物生长响应元件, 黄色代表光响应元件。A: Analysis of *cis*-acting elements of 2 000 bp upstream of *PavHSF* promoter, where different color squares represent different acting elements; B: Statistics of *cis*-acting elements in each member promoter region, where blue squares represent elements responding to biotic and abiotic stresses, gray represents hormone response elements, orange represents plant growth response elements, and yellow represents light response elements.

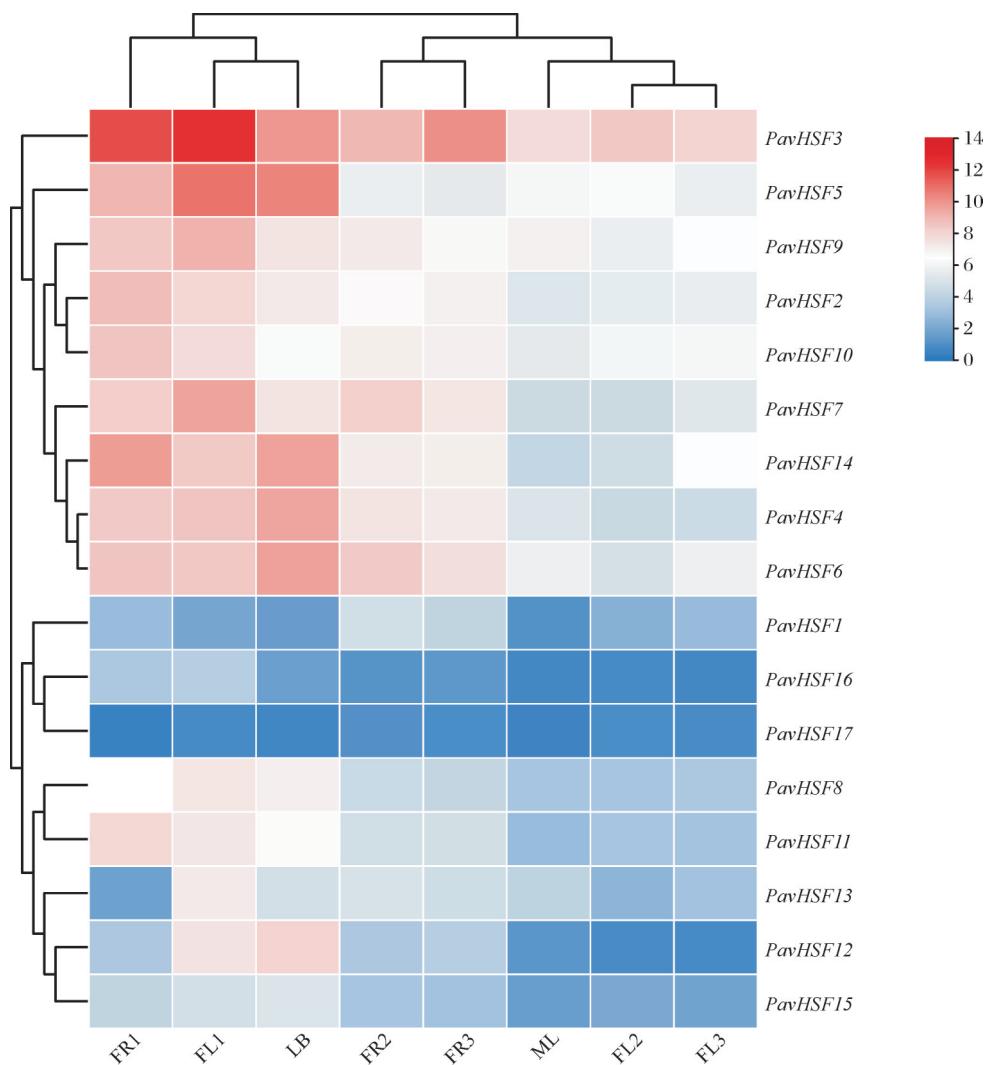
图 7 甜樱桃 *PavHSF* 上游启动子序列的顺式作用元件分析

Fig. 7 *Cis*-acting elements of the promoter sequence upstream of the sweet cherry *PavHSF* gene

其他 HSF 取代<sup>[8]</sup>, HSFA2 对诱导的高水平耐热性的关键作用不仅取决于这种 HSF 在胁迫植物中的丰度, 而且还取决于与 HSFA1 的异源寡聚化, HSFA1 和 HSFA2 这 2 种蛋白共同形成了一种 HSP 编码基因的超激活复合物, 其活性远高于单独的 2 种 HSFs<sup>[28]</sup>。而在甜樱桃中, *PavHSF10* (HSFA1) 和 *PavHSF4* (HSFA2) 在高温 48 °C 时均会表现出明显的升高, 因此猜测 *PavHSF10* 和 *PavHSF4* 可以形成超激活复合物, 从而增加了耐热性。值得注意的是, 不同 *PavHSF* 成员在温度胁迫响应中表现出显著的功能分化。例如, 在 48 °C 高温处理下, *PavHSF11*、*PavHSF13*、*PavHSF15* 和 *PavHSF16* 的表达量显著升高, 其中 *PavHSF13* 和 *PavHSF15* 在高温和低温胁迫下均被强烈诱导(高温处理 24 h 时分别上调约 30 倍和 20 倍, 低温处理 48 h 时分别上调约 65 倍和 40 倍)。这表明这 2 个基因可能具有双重温度响应特性, 既能参与耐热响应, 又可能在冷胁迫信号通路中发挥关键作用。而在枇杷 (*Eriobotrya japonica* Lindl.) 果树中<sup>[29]</sup>, *EjHSF1* 也具有对温度的双重响

应, 可以通过 HSP 途径参与应答冷害和木质化。这种双重响应可能反映了果树对复杂气候环境的适应性进化。相关研究发现小麦 (*Triticum aestivum* L.) HSF 基因 *TaHSFA6f* 在 40 °C 和 4 °C 处理下均有显著的上调。其可能通过调控下游 HSPs 和抗氧化基因的表达, 协同应对高温、低温等多种胁迫<sup>[30]</sup>。此外, *PavHSF17* 在低温胁迫下的表达量显著升高, 但在高温处理中表达波动较小, 暗示 *PavHSF17* 的功能可能更偏向于冷胁迫响应。而结合系统进化分析, HSFC 类成员在蔷薇科中相对保守, 但其功能在甜樱桃中可能进一步特化, 成为低温信号通路的调控因子。这一结果为解析 HSF 基因在不同温度胁迫下的功能分化提供了新视角。

组织特异性表达分析显示, *PavHSF* 多数普遍在休眠花芽 (FL1)、叶芽 (LB) 及幼果 (FR1) 中表达量较高, 而在成熟叶片 (ML) 和盛花期花朵 (FL3) 中表达水平较低。例如, *PavHSF3* 在所有组织中均高表达, 暗示其可能在甜樱桃基础生理过程中具有广泛调控作用, 可能参与基础胁迫应答。而 *PavHSF2*、



ML:成熟叶片;LB:叶芽;FL1:休眠花芽;FL2:开花前花蕾;FL3:盛开花朵;FR1:幼果;FR2:转色期果;FR3:成熟果。ML: Mature leaf; LB: Leaf buds; FL1: Dormant flower bud; FL2: Flower bud before flowering; FL3: Blooming flowers; FR1: Small fruit; FR2: Fruit of red-fleshed; FR3: Ripe fruit.

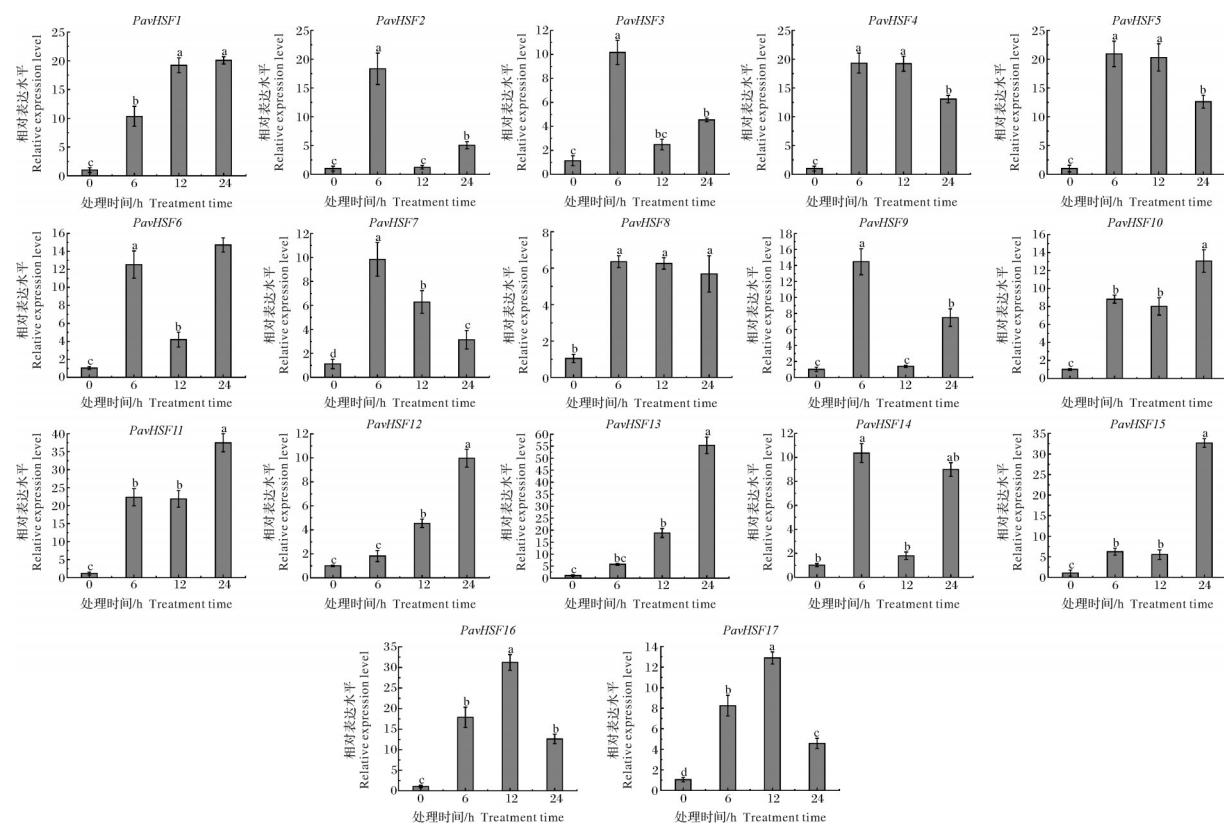
图8 *PavHSF*在甜樱桃8个不同组织中的表达模式

Fig. 8 Expression pattern of *PavHSF* in eight different tissues of sweet cherry

*PavHSF6*、*PavHSF14*等在幼果中高表达,可能与果实早期发育中的细胞分裂和分化相关。值得注意的是,休眠花芽中多个*PavHSF*的高表达(如*PavHSF5*、*PavHSF7*)可能与其对低温环境的适应有关,甜樱花芽分化需经历冬季积累足够的低温以打破自然休眠,而HSF基因在此过程中可能通过调控伴侣蛋白(如HSPs)的表达,保护花芽细胞免受低温损伤。这一结果与启动子分析中发现的低温响应元件(LTR)和非生物胁迫元件(如MBS)相吻合,进一步支持了*PavHSF*在甜樱桃抗逆中的核心地位。

在植物中,启动子区域中的顺式作用元件可能会在发育过程或胁迫应答时结合特定的转录因子而发挥作用<sup>[31]</sup>,在*PavHSF*的启动子中含有低温响应

元件(LTR)、干旱诱导结合位点(MBS)等非生物胁迫相应作用元件和大量激素响应元件,例如茉莉酸甲酯(CGTCA-motif)、脱落酸(ABRE)、水杨酸(TCA-element)等元件,暗示*PavHSF*可能通过激素信号通路参与胁迫应答。例如拟南芥中ABA信号传导途径转录因子ABI3可以通过调控*AtHsfA9*提高耐热性<sup>[32]</sup>。在花生(*Arachis hypogaea* L.)、小麦中均发现HSF中的成员可以调控植物响应干旱和盐胁迫<sup>[33-34]</sup>。此外,在卷心菜(*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis*)和水稻(*Oryza sativa* L.)中发现HSF可以调节植物对低温的抗性,抵御低温胁迫<sup>[35-36]</sup>。本研究结果表明,*PavHSF*在甜樱桃响应高低温胁迫时发挥重要的调控作用,结合定量分析,筛选出*PavHSF13*、



不同小写字母表示处理间差异显著( $P<0.05$ )，下同。Different lowercase letters indicate significance difference among treatments ( $P<0.05$ ) , the same as below.

图9 48 °C高温处理下甜樱桃PavHSF的表达模式

Fig. 9 Expression pattern of sweet cherry PavHSF treated under 48 °C high temperature

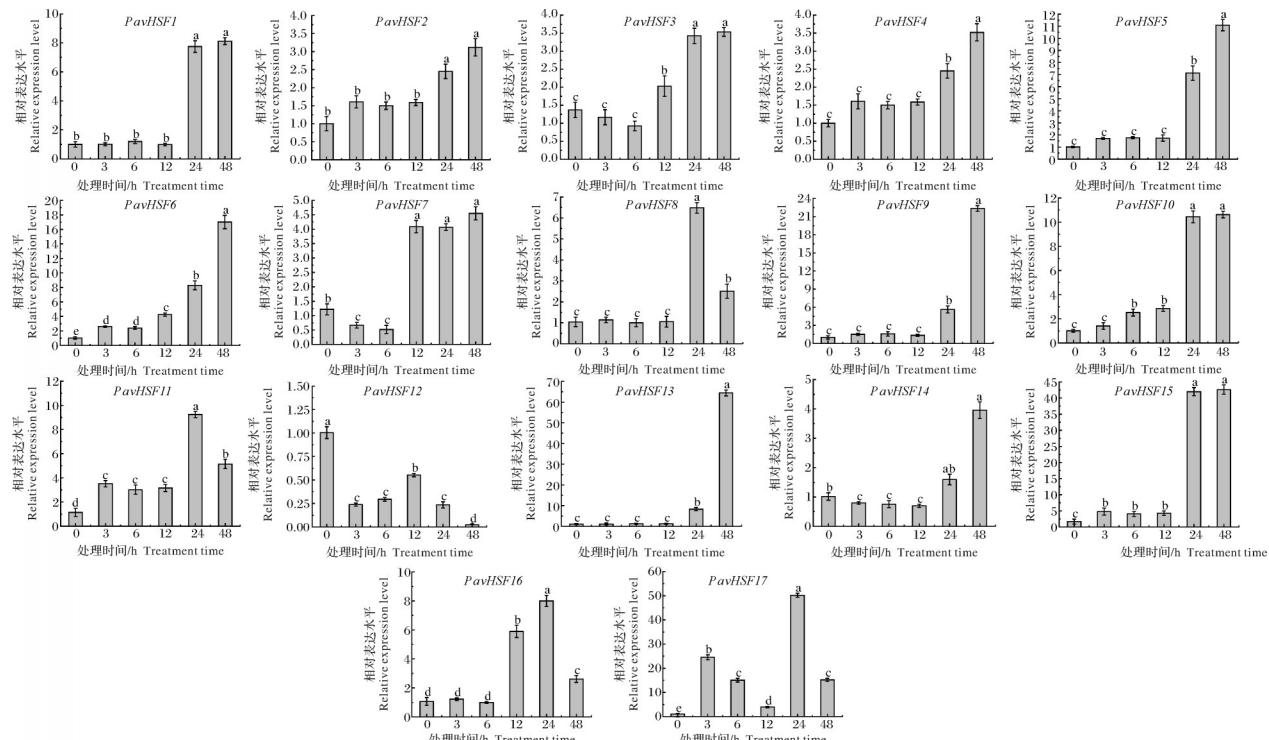


图10 4 °C低温处理下甜樱桃PavHSF的表达模式

Fig. 10 Expression pattern of sweet cherry PavHSF treated under 4 °C low temperature

*PavHSF15* 和 *PavHSF17* 等关键候选基因,但本研究尚未对关键候选基因进行深入研究,未来可通过对关键候选基因进行遗传转化,探究其在温度胁迫下的功能,深入研究其响应温度胁迫的分子机制。

## 参考文献 References

- [1] 张素敏,杨巍,王柏松,等.12个甜樱桃品种果实品质特征评价[J].食品研究与开发,2022,43(20):73-82.ZHANG S M, YANG W, WANG B S, et al. Evaluation of fruit quality characteristics of 12 sweet cherry varieties [J]. Food research and development, 2022, 43 (20) : 73-82 (in Chinese with English abstract).
- [2] XIN Y, LIU Z Z, ZHANG Y W, et al. Effect of temperature fluctuation on colour change and softening of postharvest sweet cherry[J].RSC advances,2021,11(37):22969-22982.
- [3] YU R R, HOU Q D, DENG H, et al. Overexpression of *PavHIPP16* from *Prunus avium* enhances cold stress tolerance in transgenic tobacco [J/OL]. BMC plant biology, 2024, 24 (1):536[2025-03-05].https://doi.org/10.1186/s12870-024-05267-2.
- [4] 卞磊,李妍,魏琬晴,等.甜樱桃花期日灼对产量的影响[J].农学学报,2024,14(10):42-46.BIAN L, LI Y, WEI W Q, et al. The impact of sunburn during flowering period on yield of sweet cherry [J]. Journal of agriculture, 2024, 14 (10) : 42-46 (in Chinese with English abstract).
- [5] 尤倩,刘晓,刘梦梦,等.半夏热激因子HSF家族基因鉴定及生物信息分析[J].园艺学报,2024,51(10):2371-2385.YOU Q, LIU X, LIU M M, et al. Identification and bioinformatics analysis of the HSF family gene in *Pinellia ternata* [J]. Acta horticulturae sinica, 2024, 51(10):2371-2385(in Chinese with English abstract).
- [6] JIJIANG L Y, HU W J, QIAN Y X, et al. Genome-wide identification, classification and expression analysis of the *Hsf* and *Hsp70* gene families in maize[J/OL].Gene, 2021, 770:145348[2025-03-05].https://doi.org/10.1016/j.gene.2020.145348.
- [7] 伍国强,张佳乐,魏明.热激转录因子HSF调控植物非生物胁迫响应的作用机制[J].中国草地学报,2024,46(8):123-136.WU G Q, ZHANG J L, WEI M. The mechanisms of heat shock transcription factors (HSF) regulating plant response to abiotic stress [J]. Chinese journal of grassland, 2024, 46 (8) : 123-136(in Chinese with English abstract).
- [8] SCHARF K D, BERBERICH T, EBERSBERGER I, et al. The plant heat stress transcription factor (Hsf) family: structure, function and evolution [J]. Biochimica et biophysica acta (BBA)-gene regulatory mechanisms, 2012, 1819(2):104-119.
- [9] NOVER L, BHARTI K, DÖRING P, et al. *Arabidopsis* and the heat stress transcription factor world: how many heat stress transcription factors do we need? [J]. Cell stress & chaperones, 2001, 6(3):177-189.
- [10] TAN B, YAN L, LI H N, et al. Genome-wide identification of HSF family in peach and functional analysis of *PpHSF5* involvement in root and aerial organ development[J/OL]. PeerJ, 2021, 9: e10961 [2025-03-05]. https://doi. org/10.7717/ peerj.10961.
- [11] LI G M, SHI X Y, LIN Q M, et al. Genome-wide identification and expression analysis of heat shock transcription factors in *Camellia sinensis* under abiotic stress [J/OL]. Plants, 2025, 14 (5) : 697 [2025-03-05]. https://doi. org/10.3390/ plants14050697.
- [12] LI W, WAN X L, YU J Y, et al. Genome-wide identification, classification, and expression analysis of the *Hsf* gene family in carnation (*Dianthus caryophyllus*) [J/OL]. International journal of molecular sciences, 2019, 20(20):5233[2025-03-05]. https://doi.org/10.3390/ijms20205233.
- [13] GIORNO F, GUERRIERO G, BARIC S, et al. Heat shock transcriptional factors in *Malus domestica*: identification, classification and expression analysis[J/OL].BMC genomics, 2012, 13: 639 [2025-03-05]. https://doi. org/10.1186/1471-2164-13-639.
- [14] 闫艺薇,田洁.大蒜NAC基因家族的鉴定与低温表达分析[J].中国农业科技导报,2023,25(4):67-76.YAN Y W, TIAN J. Identification and expression analysis of NAC gene family under low temperature in *Allium sativum* L.[J].Journal of agricultural science and technology, 2023, 25(4):67-76 (in Chinese with English abstract).
- [15] WAN X L, YANG J, GUO C, et al. Genome-wide identification and classification of the *Hsf* and *sHsp* gene families in *Prunus mume*, and transcriptional analysis under heat stress [J/OL]. PeerJ, 2019, 7: e7312 [2025-03-05]. https://doi. org/10.7717/peerj.7312.
- [16] CHEN C J, 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.
- [17] KRZYWINSKI M, SCHEIN J, BIROL I, et al. Circos: an information aesthetic for comparative genomics [J]. Genome research, 2009, 19(9):1639-1645.
- [18] 孟祥丽.五种不同甜樱桃砧木旱涝和高温胁迫适应性评价[D].金华:浙江师范大学,2011.MENG X L. Adaptability evaluation of five different sweet cherry rootstocks under drought, flood and high temperature stress [D]. Jinhua: Zhejiang Normal University, 2011 (in Chinese with English abstract).
- [19] HOU Q D, SHEN T J, YU R R, et al. Functional analysis of sweet cherry *PavbHLH106* in the regulation of cold stress[J/OL].Plant cell reports, 2023, 43(1):7[2025-03-05].https://doi.org/10.1007/s00299-023-03115-5.
- [20] 仇志浪,何美乾,文壮,等.甜樱桃花芽不同发育时期内参基因的筛选与验证[J].种子,2020,39(2):37-43.QIU Z L, HE

- M Q, WEN Z, et al. Selection and validation of reference genes in sweet cherry flower bud at different development stages [J]. *Seed*, 2020, 39(2):37-43(in Chinese with English abstract).
- [21] GUO P, LIU A, QI Y T, et al. Genome-wide identification of cold shock proteins (CSPs) in sweet cherry (*Prunus avium* L.) and exploring the differential responses of *PavCSP1* and *PavCSP3* to low temperature and salt stress [J]. *Genes & genomics*, 2024, 46(9):1023-1036.
- [22] GUO M, LIU J H, MA X, et al. The plant heat stress transcription factors (HSFs): structure, regulation, and function in response to abiotic stresses [J/OL]. *Frontiers in plant science*, 2016, 7: 114 [2025-03-05]. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00114>.
- [23] IKEDA M, MITSUDA N, OHME-TAKAGI M. *Arabidopsis* HsfB1 and HsfB2b act as repressors of the expression of heat-inducible Hsfs but positively regulate the acquired thermotolerance [J]. *Plant physiology*, 2011, 157(3):1243-1254.
- [24] FRAGKOSTEFANAKIS S, RÖTH S, SCHLEIFF E, et al. Prospects of engineering thermotolerance in crops through modulation of heat stress transcription factor and heat shock protein networks [J]. *Plant, cell & environment*, 2015, 38(9): 1881-1895.
- [25] WANG J, SUN N, DENG T, et al. Genome-wide cloning, identification, classification and functional analysis of cotton heat shock transcription factors in cotton (*Gossypium hirsutum*) [J/OL]. *BMC genomics*, 2014, 15(1):961 [2025-03-05]. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-961>.
- [26] HUANG X Y, TAO P, LI B Y, et al. Genome-wide identification, classification, and analysis of heat shock transcription factor family in Chinese cabbage (*Brassica rapa pekinensis*) [J]. *Genetics and molecular research*, 2015, 14(1):2189-2204.
- [27] QIAO X, LI M, LI L T, et al. Genome-wide identification and comparative analysis of the heat shock transcription factor family in Chinese white pear (*Pyrus bretschneideri*) and five other Rosaceae species [J/OL]. *BMC plant biology*, 2015, 15: 12 [2025-03-05]. <https://doi.org/10.1186/s12870-014-0401-5>.
- [28] CHAN-SCHAMINET K Y, BANIWAL S K, BUBLAK D, et al. Specific interaction between tomato HsfA1 and HsfA2 creates hetero-oligomeric superactivator complexes for synergistic activation of heat stress gene expression [J]. *Journal of biological chemistry*, 2009, 284(31):20848-20857.
- [29] ZENG J K, LI X, ZHANG J, et al. Regulation of loquat fruit low temperature response and lignification involves interaction of heat shock factors and genes associated with lignin biosynthesis [J]. *Plant, cell & environment*, 2016, 39(8):1780-1789.
- [30] BI H H, MIAO J N, HE J Q, et al. Characterization of the wheat heat shock factor TaHsfA2e-5D conferring heat and drought tolerance in *Arabidopsis* [J/OL]. *International journal of molecular sciences*, 2022, 23 (5) : 2784 [2025-03-05]. <https://doi.org/10.3390/ijms23052784>.
- [31] WANG R F, ZHONG Y T, LIU X T, et al. *Cis*-regulation of the amino acid transporter genes *ZmAAP2* and *ZmLHT1* by *ZmPHR1* transcription factors in maize ear under phosphate limitation [J]. *Journal of experimental botany*, 2021, 72(10) : 3846-3863.
- [32] KOTAK S, VIERLING E, BÄUMLEIN H, et al. A novel transcriptional cascade regulating expression of heat stress proteins during seed development of *Arabidopsis* [J]. *The plant cell*, 2007, 19(1):182-195.
- [33] WANG Q, ZHANG Z B, GUO C, et al. Hsf transcription factor gene family in peanut (*Arachis hypogaea* L.): genome-wide characterization and expression analysis under drought and salt stresses [J/OL]. *Frontiers in plant science*, 2023, 14: 1214732 [2025-03-05]. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1214732>.
- [34] BI H H, ZHAO Y, LI H H, et al. Wheat heat shock factor TaHsfA6f increases ABA levels and enhances tolerance to multiple abiotic stresses in transgenic plants [J/OL]. *International journal of molecular sciences*, 2020, 21(9) : 3121 [2025-03-05]. <https://doi.org/10.3390/ijms21093121>.
- [35] LIU A L, ZOU J, ZHANG X W, et al. Expression profiles of class A rice heat shock transcription factor genes under abiotic stresses [J]. *Journal of plant biology*, 2010, 53(2):142-149.
- [36] MA J, XU Z S, WANG F, et al. Genome-wide analysis of HSF family transcription factors and their responses to abiotic stresses in two Chinese cabbage varieties [J]. *Acta physiologica plantarum*, 2014, 36(2):513-523.

## Identification of *HSF* gene family in sweet cherry and its expression profiles under temperature stress

WANG Yuqing, HOU Qiandong, CHEN Fali, QIAO Guang, WEN Xiaopeng

College of Life Sciences / Institute of Agro-bioengineering / Ministry of Education Key Laboratory of Plant Resource Conservation and Germplasm Innovation in Mountainous Regions, Guizhou University, Guiyang 550025, China

**Abstract** Sweet cherry (*Prunus avium* L.) is an important economic fruit tree, and the quality of its flower bud is greatly affected by temperature. The characteristics of whole genome of the heat shock transcription factors (HSF) family in sweet cherry were identified, and the expression profiles of the *HSF* gene family members in different organs/tissues of sweet cherry and their responses under high and low temperature stresses were analyzed using qRT-PCR technology. The results showed that there were 17 *HSF* members in the genome of sweet cherry, named as in sequence from *PavHSF1* to *PavHSF17* based on the locations on chromosomes. All members of this family are hydrophilic proteins localized in the nucleus, and distributed on chromosomes except for the chromosome 6 and 8. There were low temperature and other stress responsive elements in the promoter region, indicating that *PavHSF* may be involved in the response to abiotic stress. *PavHSF* can be divided into 3 categories and 13 subtypes in evolution, with 2 pairs of collinear gene. The number of gene pairs collined with monocotyledonous plants is the least. The results of analyzing tissue-specific expression showed that *PavHSF* members had the highest level of expression in dormant flower buds and leaf buds, while *PavHSF3* was highly expressed in all tissues of sweet cherry. The expression of *PavHSF11*, *PavHSF13*, *PavHSF15* and *PavHSF16* under the high temperature was significantly increased, indicating that they are main genes responding to the high temperature. The expression of *PavHSF13*, *PavHSF15* and *PavHSF17* under the low temperature increased most significantly, indicating that they are transcription factors responding to the low temperature. It is indicated that *PavHSF* family is widely involved in the growth and development of sweet cherry, and closely related to the temperature stress. It will provide a basis for further cloning genes and studying functions of HSF family in sweet cherry.

**Keywords** sweet cherry; heat shock transcription factors; gene family analysis; high temperature stress; low temperature stress; expression analysis

(责任编辑:葛晓霞)