

## 越南参 *PAL* 基因家族鉴定及 *PvPAL2* 和 *PvPAL4* 功能分析

侯家娥<sup>a,b</sup>, 李健斌<sup>a,b</sup>, 李雷林<sup>a,b</sup>, 艾明涛<sup>a,b</sup>, 唐最奕<sup>a,b</sup>, 崔秀明<sup>a,b</sup>, 刘源<sup>a,b</sup>, 杨千<sup>a,b,①</sup>

(昆明理工大学: a. 生命科学与技术学院, b. 云南省三七资源可持续利用重点实验室, 云南 昆明 650500)

**摘要:** 为探究 *PAL* 基因家族在越南参 (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.) 中的功能, 通过同源比对和隐马尔可夫模型检索对 *PAL* 基因家族成员进行鉴定, 对其相关的理化性质、系统发育关系、基因结构、启动子顺式作用元件、共线性特征、组织特异性表达及其在水杨酸处理下的表达模式进行了系统解析, 并在越南参愈伤组织中对 *PvPAL2* 和 *PvPAL4* 进行了功能验证。结果显示: 在越南参中共鉴定出 4 个 *PAL* 基因, 依据其染色体位置分别将命名为 *PvPAL1*、*PvPAL2*、*PvPAL3*、*PvPAL4*。4 个 *PvPAL* 蛋白的氨基酸数为 712~719, 相对分子质量为 77 732.84~78 236.50, 理论等电点为 pI 6.00 至 pI 6.24。越南参 *PvPAL2* 与 *PvPAL4* 聚在同一个分支, 亲缘关系较近, 且 *PvPAL2* 与 *PvPAL4* 具有相似的外显子和内含子结构。*PvPAL* 启动子区含有大量顺式作用元件, 其中, 非生物和生物胁迫响应元件数量最多。总体上看, *PvPAL* 在大多数组织间的表达水平差异显著 ( $P < 0.05$ )。水杨酸处理 6 h 后, *PvPAL1*、*PvPAL2* 和 *PvPAL4* 表达受到显著诱导。此外, 愈伤组织瞬时过表达显示 *PvPAL2* 与 *PvPAL4* 可促进木质素和类黄酮积累。综上所述, 4 个 *PvPAL* 基因整体保守性较高, 且基因表达水平显著受水杨酸诱导, *PvPAL2* 和 *PvPAL4* 显著促进了木质素和类黄酮的积累, 在越南参生长发育中发挥重要作用。

**关键词:** 越南参; *PAL* 基因家族; 木质素; 类黄酮; 功能分析

中图分类号: Q786; Q943.2; S567.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2026)01-0036-12

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2026.01.04

**Identification of the *PAL* gene family in *Panax vietnamensis* and functional analysis of *PvPAL2* and *PvPAL4*** HOU Jia'e<sup>a,b</sup>, LI Jianbin<sup>a,b</sup>, LI Leilin<sup>a,b</sup>, AI Mingtao<sup>a,b</sup>, TANG Zuiyi<sup>a,b</sup>, CUI Xiuming<sup>a,b</sup>, LIU Yuan<sup>a,b</sup>, YANG Qian<sup>a,b,①</sup> (Kunming University of Science and Technology: a. Faculty of Life Science and Technology, b. Key Laboratory of Sustainable Utilization of *Panax notoginseng* Resources of Yunnan Province, Kunming 650500, China), *J. Plant Resour. & Environ.*, 2026, 35(1): 36-47

**Abstract:** To investigate the functions of the *PAL* gene family in *Panax vietnamensis* Ha et Grushv., *PAL* gene family members were identified through homology alignment and Hidden Markov Model searches, their related physicochemical properties, phylogenetic relationships, gene structures, promoter *cis*-acting elements, collinearity characteristics, tissue-specific expressions, and expression profiles under salicylic acid treatment were systematically analyzed, and functional validation of *PvPAL2* and *PvPAL4* was performed in *P. vietnamensis* callus. The results show that four *PAL* genes are identified in *P. vietnamensis* in total, and named *PvPAL1*, *PvPAL2*, *PvPAL3*, and *PvPAL4*, respectively based on their chromosomal locations. The amino acid numbers of four *PvPAL* proteins are 712-719, their relative molecular masses are 77 732.84-78 236.50, and their theoretical isoelectric points are pI 6.00 to pI 6.24. *PvPAL2* and *PvPAL4* are clustered into the same branch, indicating a close genetic relationship, and *PvPAL2* and *PvPAL4* possess similar exon and intron structures. The promoter regions of *PvPAL* contain numerous *cis*-

收稿日期: 2025-08-21

基金项目: 云南省基础研究计划项目(202401AT070410)

作者简介: 侯家娥(2000—), 女, 云南曲靖人, 硕士研究生, 主要从事药用植物生理学方面的研究。

①通信作者 E-mail: qian1226@vip.sina.com

引用格式: 侯家娥, 李健斌, 李雷林, 等. 越南参 *PAL* 基因家族鉴定及 *PvPAL2* 和 *PvPAL4* 功能分析[J]. 植物资源与环境学报, 2026, 35(1): 36-47.

acting elements, among which, the number of abiotic and biotic stress response elements is the most. Overall, the expression levels of *PvPAL* differ significantly ( $P < 0.05$ ) among most tissues. After 6 h of salicylic acid treatment, the expressions of *PvPAL1*, *PvPAL2*, and *PvPAL4* are significantly induced. Furthermore, the transient overexpression in callus demonstrates that *PvPAL2* and *PvPAL4* can promote the accumulation of lignin and flavonoid. In conclusion, the four *PvPAL* genes exhibit relatively high conservation overall, their expression levels are significantly induced by salicylic acid, and *PvPAL2* and *PvPAL4* significantly promote the accumulation of lignin and flavonoid, playing important roles in the growth and development of *P. vietnamensis*.

**Key words:** *Panax vietnamensis* Ha et Grushv.; *PAL* gene family; lignin; flavonoid; functional analysis

越南参(*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.), 又称南七, 为五加科(Araliaceae)人参属(*Panax* Linn.)植物, 主要分布于越南、中国, 主产于越南老街及中国安徽、四川、贵州、云南等地<sup>[1-2]</sup>。越南参富含皂苷、多糖、多肽、类黄酮、脂肪酸等物质, 其中四环三萜皂苷是越南参的主要活性成分<sup>[3]</sup>, 在抗炎<sup>[4]</sup>、抗肿瘤<sup>[5]</sup>、抑制黑色素形成<sup>[6]</sup>、肝保护<sup>[7]</sup>等方面具有多种药理学作用。越南参多生于海拔 1 500 m 以上的山林中, 生长周期 3~5 a, 因其具有较高的药用价值, 导致过度采挖现象严重, 野生种质资源稀少。当前越南参已在云南省元阳县实现人工种植, 种植面积达 1.33 km<sup>2</sup>, 但在人工密集种植的过程中越南参易受生物和非生物因子的影响, 如由叶枯病原菌 *Neofusicoccum ribis* 引起的叶枯病常年发病率为 20%~30%<sup>[8]</sup>, 导致越南参产量骤减。尽管抗性品种的选育是病害防控的主要手段, 但是在越南参中特定抗性基因的功能研究尚未见报道。

苯丙烷代谢途径与植物的抗病性密切相关<sup>[9]</sup>。苯丙氨酸可被苯丙氨酸解氨酶(PAL)等酶催化形成多种次级代谢产物, 如木质素、黄酮类和木脂素等, 这些代谢物在植物生长发育、抗病性、抗性反应中发挥重要作用<sup>[9-11]</sup>。在苯丙烷代谢途径中, 苯丙氨酸解氨酶是主要的限速酶, 能够将苯丙氨酸转化为肉桂酸<sup>[12-13]</sup>。苯丙氨酸解氨酶在植物防御系统中起重要作用, 除参与苯丙烷代谢物合成外, 还参与植物激素水杨酸(SA)的生物合成, 而水杨酸是植物系统中获得抗性所必需的有机酸<sup>[14-15]</sup>。苯丙氨酸解氨酶存在于高等植物中, 如拟南芥 [*Arabidopsis thaliana* (Linn.) Heynh.]<sup>[16]</sup>、水稻(*Oryza sativa* Linn.)<sup>[17]</sup>、核桃(*Juglans regia* Linn.)<sup>[18]</sup>等。

当植物受到生物胁迫时, 苯丙烷代谢途径会被激活, 苯丙氨酸解氨酶活性迅速增加, 通过产生次级代谢物如酚类和木质素来提高植物对生物胁迫的耐受

性<sup>[19-21]</sup>。植物中的酚类物质不仅可以抵抗病原菌的侵染, 还可以螯合金属离子, 抑制微生物中某些酶的活性, 减少病原菌对植物体的伤害<sup>[22]</sup>。木质素的主要功能则是为细胞壁提供结构和防御性屏障, 在植物抗病过程中起重要作用<sup>[23]</sup>。在水稻中, *PAL8* 通过调节水杨酸和木质素的生物合成和积累来介导对褐飞虱的抗性<sup>[24]</sup>; 在桃 [*Prunus persica* (Linn.) Batsch] 的果实中, PAL 活性通过改变多酚和类黄酮来影响对桃褐腐病的抗性<sup>[25]</sup>。然而, 木质素、类黄酮和总酚含量并不都表现出与 PAL 表达或 PAL 活性相同的变化, 这可能与 PAL 的基因功能多样性有关。例如: 在拟南芥中, *AtMYB75* 诱导 *AtPAL* 表达增加, 导致花青素含量增加, 但木质素含量显著下降<sup>[26]</sup>; 在火炬松 (*Pinus taeda* Linn.) 中, *PtMYB8* 诱导 *PtPAL* 表达增加, 导致木质素含量增加, 但类黄酮含量降低<sup>[27]</sup>。说明在不同的植物中 PAL 基因家族表现出不同的调节作用<sup>[28]</sup>。

目前, 已有很多研究表明 PAL 基因家族在多种植物中能够通过促进木质素和类黄酮的积累来参与植物对多种生物和非生物胁迫的抗性, 但是在越南参中 PAL 基因家族的具体功能还处于空白状态。本研究基于同源比对和隐马尔可夫模型搜索在越南参中鉴定出 4 个 PAL 基因, 对这 4 个基因相关的理化性质、系统发育关系、基因结构、启动子顺式作用元件、组织差异表达水平及其在水杨酸处理下的表达模式进行分析, 并在越南参愈伤组织中过表达 *PvPAL2* 和 *PvPAL4*, 以期为越南参抗性品种的选育提供科学依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

供试越南参来自云南省元阳县越南参种植基地

(北纬 22°53'50"、东经 103°20'08", 海拔 1 691.54 m), 株龄 2 a。将植株移栽至昆明理工大学温室(北纬 24°51'27"、东经 102°51'12", 海拔 1 913.67 m) 适应培养 2 周, 培养温度 (20±2) °C, 空气相对湿度 70%, 光照度 800 lx, 光照时间 16 h · d<sup>-1</sup>。

## 1.2 方法

1.2.1 基因鉴定和表征分析 从拟南芥信息资源 (TAIR, <http://arabidopsis.org>) 获取拟南芥全基因组序列及 PAL 基因家族参考序列, 同时从中国国家基因库 (CNCBdb, <https://db.cngb.org/>) 下载越南参的全基因组数据<sup>[29]</sup>。在 Pfam 数据库 (<http://pfam.xfam.org/>) 查找并下载 PAL 结构域 (编号 PF00221), 通过隐马尔可夫模型 (HMM) 搜索, 在越南参基因组中鉴定出 PAL 基因。

为解析 *PvPAL* 基因的理化性质, 使用 ProtParam 在线工具 (<http://web.expasy.org/protparam/>) 预测 *PvPAL* 的相对分子质量和氨基酸序列的理论等电点, 并使用在线工具 CELLO (<http://cello.ltf.edu.tw/>) 确定 *PvPAL* 的亚细胞定位。

1.2.2 系统发育树构建和多序列比对 使用默认参数的 ClustalW 软件对 4 个候选 *PvPAL*、4 个拟南芥 *AtPAL* 和 9 个水稻 *OsPAL*<sup>[30]</sup> 进行多序列比对。使用 MEGA 12.0 软件构建 *PvPAL* 的系统发育树<sup>[31]</sup>, 采用 LG 模型、全位点分析、最近邻交换算法, 并通过最大似然法构建越南参、拟南芥和水稻 PAL 家族成员的系统发育树, 进行 1 000 次自举重复验证。使用 Interactive Tree Of Life (iTOL) v5 在线网站 (<https://itol.embl.de/>) 将生成的系统发育树可视化。使用 ClustalW 软件进行 *PvPAL* 多序列比对, 使用 GeneDoc 软件将比对结果可视化。

1.2.3 系统发育关系、保守基序和结构域及基因结构分析 使用 MEGA 12.0 软件、ClustalW 软件, 并采用邻接法 (neighbor-joining method) 构建越南参 *PvPAL* 的系统发育树。使用 MEME Suite 5.5.5 在线网站 (<https://meme-suite.org/meme/doc/meme.html>) 分析 *PvPAL* 的保守基序, 基序基数设为 6, 其他参数均为默认值, 获得 MEME.XML 文件; 利用 NCBI 数据库的 Conserved Domain Database (CDD) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/bwrpsb/bwrpsb.cgi>) 预测 *PvPAL* 的结构域, 下载 hitdata 文件, 使用 TBtools-II 软件将保守基序、结构域及对应的基因结构结果进行可视化。

1.2.4 启动子顺式作用元件分析 使用 TBtools-II 软件中的 GXF sequences Extract 模块在越南参 GFF 文件中提取越南参 PAL 基因起始位点上游 2 000 bp 的序列 (即启动子序列); 将提取的序列提交至 PlantCARE 数据库 (<http://www.bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/PlantCARE/html/>), 预测 *PvPAL* 基因启动子的顺式作用元件。使用 TBtools-II 软件对预测结果进行可视化。

1.2.5 共线性分析 使用 TBtools-II 软件中的 MCScanX 程序分析越南参与拟南芥 PAL 基因的种间共线性关系并绘图。

1.2.6 水杨酸处理 将含体积分数 0.005% Silwet L-77 (上海源叶生物技术有限公司) 的 100 μmol · L<sup>-1</sup> 水杨酸 (北京索莱宝科技有限公司) 喷洒到健康、生长状况基本一致的越南参叶面上, 直至完全湿润。对照组喷施等量含体积分数 0.005% Silwet L-77 的乙醇溶液。分别处理 0、3、6、12、24 h 后收集新鲜叶片, 每个时期随机采集 3 株植株的叶片, 视为 3 个重复, 液氮速冻后, -80 °C 保存, 备用。

1.2.7 组织特异性表达分析 选取健康、生长状况基本一致的越南参植株, 木质部、韧皮部及周皮由主根解剖分离, 并采集须根、茎、叶和花, 样品经液氮速冻, 保存于 -80 °C, 备用。利用实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 技术分析 *PvPAL1*、*PvPAL2*、*PvPAL3*、*PvPAL4* 在上述组织中的表达水平。各组织样品均设 3 个重复。

1.2.8 总 RNA 的提取与 qRT-PCR 检测 使用 Trizol 试剂 [宝生物工程 (大连) 有限公司] 从越南参叶中提取总 RNA, 并使用 Prime Script RT 试剂盒 [with gDNA Eraser, 宝生物工程 (大连) 有限公司] 逆转录 1 μg RNA。采用 NCBI 的 Primer-BLAST 设计越南参 *PvPAL* 的 qRT-PCR 引物, 具体引物序列见表 1。所有引物由生工生物工程 (上海) 股份有限公司合成。以越南参 *PvACTIN7* 为内参基因, 采用 qPCR 试剂盒 [宝生物工程 (大连) 有限公司] 进行扩增反应。反应体系总体积 20.0 μL, 包括 TBgreen 10.0 μL、上游和下游引物各 0.6 μL、cDNA 模板 1.0 μL, 用 RNase Free 水补足剩余体积。反应程序: 95 °C 预变性 30 s; 95 °C 变性 10 s, 60 °C 延伸 30 s, 共 40 个循环。每个模板设 3 个重复。采用 2<sup>-ΔΔC<sub>t</sub></sup> 法<sup>[32]</sup> 计算基因的相对表达量。

1.2.9 *PvPAL2*、*PvPAL4* 的克隆 使用高保真 PCR 试

剂盒(南京诺唯赞生物科技有限公司)进行扩增反应。反应体系总体积 50.0  $\mu\text{L}$ , 包括 2 $\times$ Phanta Max Buffer 25.0  $\mu\text{L}$ 、dNTP Mix 1.0  $\mu\text{L}$ 、上游和下游引物各 2.0  $\mu\text{L}$ 、Phanta Max Super - Fidelity DNA Polymerase 1.0  $\mu\text{L}$ 、DNA 模板 2.5  $\mu\text{L}$ , 用 RNase Free 水补足剩余体积。反应程序: 95  $^{\circ}\text{C}$  预变性 3 min; 95  $^{\circ}\text{C}$  变性 15 s、58  $^{\circ}\text{C}$  退

火 15 s、72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 130 s, 共 35 个循环; 72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 5 min。将 PCR 产物通过 EZ-10 柱式 PCR 产物纯化试剂盒(生工生物工程(上海)股份有限公司)纯化得到 *PvPAL2*、*PvPAL4* 的编码序列, 并交由生工生物工程(上海)股份有限公司测序确定 *PvPAL2*、*PvPAL4* 序列的准确性。用于基因克隆的引物序列见表 1。

表 1 越南参 *PvPAL* 的 qRT-PCR 及 *PvPAL2*、*PvPAL4* 克隆和过表达质粒构建的引物信息

Table 1 Primer information for qRT-PCR of *PvPAL*, as well as for cloning and overexpression plasmid construction of *PvPAL2* and *PvPAL4* in *Panax vietnamensis* Ha et Grushv.

基因 Gene	引物序列 Primer sequence (5'→3')		用途 Application
	上游引物 Forward primer	下游引物 Reverse primer	
<i>PvActin7</i>	GAGCCAGCCATCGTCTTCGG	GCCTTCACGATTCAGTTCATTG	qRT-PCR
<i>PvPAL1</i>	CAACCCACTGGATCAAGGCT	TTCAAGTGGGTACGACGAGC	
<i>PvPAL2</i>	AGGCTGCCAAAAGCTACAT	CTCGAGACGTCGATCAAGGG	
<i>PvPAL3</i>	TGGGTCACGACAGGATTTG	CATTGCAGCTCTTGTCGCAG	
<i>PvPAL4</i>	CCACATTCAGCAACAAGGGC	TAAATGCTTCCTCGGGGCTG	
<i>PvPAL2</i>	ATGGACTGTGTGGCAACAA	ACATATTGGAAGAGGAGCCCCA	基因克隆 Gene cloning
<i>PvPAL4</i>	ATGGACTGTGTGAAAATGGGC	AGAGATAGGAAGAGGAGCACC	
<i>PvPAL2</i>	tctgatcaagagacagatccATGGACTGTGTGGCAACAA	catcggtgcaactagtgctgacACATATTGGAAGAGGAGCCCCA	过表达质粒构建 Construction of
<i>PvPAL4</i>	tctgatcaagagacagatccATGGACTGTGTGAAAATGGGC	catcggtgcaactagtgctgacAGAGATAGGAAGAGGAGCACC	overexpression plasmid

1.2.10 愈伤组织诱导与增殖 取健康、株龄 2 a 的越南参叶片, 经清水冲洗、表面晾干后, 在超净台使用体积分数 75% 乙醇浸泡 30 s, 无菌水冲洗 3 次, 体积分数 10% NaClO 溶液浸泡 5 min, 无菌水冲洗 5 次。无菌滤纸吸干表面水分, 无菌接种刀切割成小块, 接种至愈伤组织诱导培养基(含有 2  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  2,4-二氯苯氧乙酸、1  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  6-苄氨基嘌呤、30  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  蔗糖、6.5  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  琼脂的 MS 固体培养基)中, 接种后的培养物置于 25  $^{\circ}\text{C}$ 、空气相对湿度 75% 的黑暗环境中培养。30 d 后, 叶片外植体成功诱导出愈伤组织。将诱导获得的愈伤组织转接至增殖培养基(含有 2  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  2,4-二氯苯氧乙酸、1  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  6-苄氨基嘌呤、30  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  蔗糖、0.1  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  聚乙烯吡咯烷酮、7.0  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  琼脂的 MS 固体培养基)中进行扩增培养。培养条件为温度 25  $^{\circ}\text{C}$ 、空气相对湿度 50%、光照度 1 200 lx, 光照时间 10 h  $\cdot$  d $^{-1}$ 。为维持愈伤组织活力, 每隔 45 d 更换 1 次培养基。选取颗粒状、结构紧实的愈伤组织用于后续实验。

1.2.11 农杆菌介导的愈伤组织瞬时转化 使用特异性引物克隆 *PvPAL2*、*PvPAL4* 的核心编码区(CDS)序列, 使用 In-Fusion<sup>®</sup> Snap Assembly Master Mix 连接酶[宝生物工程(大连)有限公司]将含有同源臂的 *PvPAL2*、*PvPAL4* 的 CDS 序列, 通过同源重组连接到

经 *BamH* I 和 *Sal* I 双酶切的 pCAMBIA-1300-eYFP 线性化载体上, 随后将重组产物转入到 DH5 $\alpha$  感受态细胞[生工生物工程(上海)股份有限公司], 加入 900  $\mu\text{L}$  的无抗性 LB 液体培养基, 随后放在 37  $^{\circ}\text{C}$ 、200  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$  的摇床上摇 1 h 后, 吸取 100  $\mu\text{L}$  涂在含有 50  $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  硫酸卡那霉素(北京索莱宝科技有限公司)的 LB 固体培养基(广东环凯微生物科技有限公司)上, 并在温度 37  $^{\circ}\text{C}$ 、空气相对湿度 60% 的培养箱中倒置过夜。第 2 天挑取单菌落进行 PCR 扩增, 将阳性单菌落挑取放入含有 50  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  硫酸卡那霉素的 LB 液体培养基中, 放置在 37  $^{\circ}\text{C}$ 、200  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$  的摇床上直至摇浑, 交由生工生物工程(上海)股份有限公司测序确定 *PvPAL2*、*PvPAL4* 序列的准确性, 最终得到过表达 *PvPAL2*、*PvPAL4* 的质粒。随后, 采用冻融方法将未酶切过的 pCAMBIA-1300-eYFP 质粒(对照, CK)及过表达 *PvPAL2*、*PvPAL4* 的质粒导入农杆菌 GV3101 感受态细胞[生工生物工程(上海)股份有限公司]中。将农杆菌在温度 28  $^{\circ}\text{C}$ 、空气相对湿度 65% 条件下黑暗培养 2 d。将农杆菌的单个菌落接种到 LB 液体培养基中, 并在 28  $^{\circ}\text{C}$ 、180 ~ 220  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$  的摇床上黑暗孵育 24 h。将细菌悬浮液接种到含有相同抗生素的 LB 液体培养基中, 在波长 600 nm 下测定吸光度(OD), OD<sub>600</sub> 值为 0.7 时, 在

5 000 r · min<sup>-1</sup>条件下离心 12 min 收集农杆菌细胞,然后用悬浮液(含有 30 g · L<sup>-1</sup>蔗糖的 1/2 MS 固体培养基)冲洗 1 次。最后将农杆菌悬浮液在 28 ℃、180~220 r · min<sup>-1</sup>的摇床上黑暗孵育 12 h,使 OD<sub>600</sub> 值达到 0.7。

将越南参愈伤组织放入无菌离心管中,向管中加入 OD<sub>600</sub> 值为 0.7 的农杆菌悬浮液至愈伤组织被淹没。轻轻倒置离心管,15 min 后,除去农杆菌悬浮液。将愈伤组织移至共培养培养基(含有 0.1 mg · L<sup>-1</sup>萘乙酸、2 mg · L<sup>-1</sup>6-苄氨基嘌呤、15 mg · L<sup>-1</sup>激动素、100 μmol · L<sup>-1</sup>乙酰丁香酮、30 g · L<sup>-1</sup>蔗糖、6 g · L<sup>-1</sup>琼脂的 MS 固体培养基)中,在温度 28 ℃、空气相对湿度 65% 条件下黑暗培养 2 d。将共培养 2 d 的愈伤组织在含有 500 mg · L<sup>-1</sup>噻孢霉素的 MS 液体培养基中清洗,接种于除菌培养基(含有 300 mg · L<sup>-1</sup>噻孢霉素、50 μg · mL<sup>-1</sup>硫酸卡那霉素、2 mg · L<sup>-1</sup>2,4-二氯苯氧乙酸、1 mg · L<sup>-1</sup>6-苄氨基嘌呤、30 g · L<sup>-1</sup>蔗糖、6.5 g · L<sup>-1</sup>琼脂的 MS 固体培养基)中,每 3 d 转接 1 次,至无菌为止。将筛选到的阳性愈伤组织按照上述方法提取对照以及过表达 *PvPAL2*、*PvPAL4* 的愈伤组织(每个基因 2 个过表达愈伤组织,分别命名为 OE1、OE2,即 2 个生物学重复)的 RNA,并将其反转录为 cDNA,并按照“1.2.8”中的 qRT-PCR 方法对过表达后的 *PvPAL2*、*PvPAL4* 进行基因表达水平分析,采用 2<sup>-ΔΔC<sub>T</sub></sup>法<sup>[32]</sup>计算基因的相对表达量。用于过表达质粒构建的引物见表 1。分别收集对照、OE1、OE2 愈伤组织,每组收集 3 瓶,视为 3 个重复。所有样品收集后立即用液氮速冻,并于 -80 ℃ 冰箱中保存,用于后续物质含量测定。

1.2.12 木质素和类黄酮含量的测定 将愈伤组织在 80 ℃ 烘干至恒质量,研磨,过 30~50 目筛,使用木质素含量检测试剂盒(北京索莱宝科技有限公司)进行越南参愈伤组织木质素含量检测。取 10 mg 粉末进行乙酰化,取 20 μL 上清液与 980 μL 的冰乙酸混合,在波长 280 nm 处测定吸光度,详细步骤及计算按照说明书进行。

使用植物类黄酮含量检测试剂盒(北京索莱宝科技有限公司)进行越南参愈伤组织类黄酮含量检测。称取 0.1 g 粉末,加入 1 mL 体积分数 60% 乙醇,超声(功率 300 W、温度 60 ℃)提取 30 min;在 25 ℃、12 000 r · min<sup>-1</sup> 下离心 10 min,取上清检测,详细步骤及计算按照说明书进行。

### 1.3 数据处理和分析

使用 GraphPad Prism 8 软件进行单因素方差分析及 Tukey 多重比较检验,并绘制 qRT-PCR 与物质含量的柱状图。

## 2 结果和分析

### 2.1 *PvPAL* 基因鉴定及 *PvPAL* 蛋白分析

将越南参与拟南芥的 *PAL* 基因组进行 BLAST 比对,并基于 *PAL* 结构域搜索共鉴定出 4 个 *PvPAL* 基因,根据其染色体位置分别命名为 *PvPAL1*、*PvPAL2*、*PvPAL3*、*PvPAL4*(表 2)。4 个 *PvPAL* 蛋白的氨基酸数为 712~719,相对分子质量为 77 732.84~78 236.50,理论等电点为 pI 6.00 至 pI 6.24,均为酸性蛋白;亚细胞定位结果显示 4 个 *PvPAL* 蛋白均定位于细胞质。

表 2 越南参 *PvPAL* 的理化性质

Table 2 Physicochemical properties of *PvPAL* in *Panax vietnamensis* Ha et Grushv.

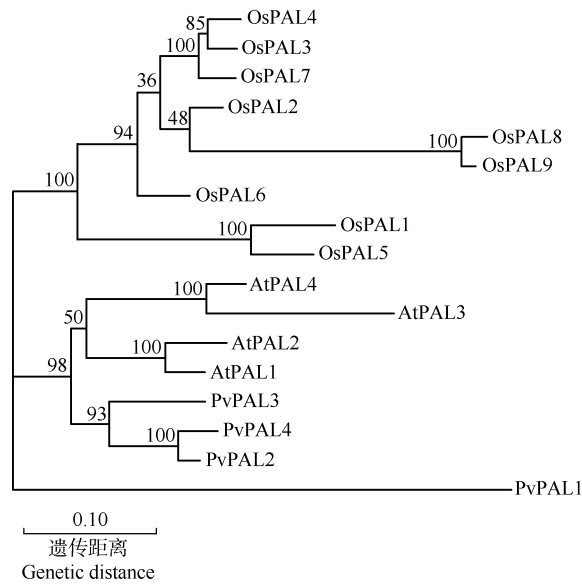
基因 Gene	基因 ID Gene ID	染色体位置 Chromosomal location	氨基酸数 Number of amino acid	相对分子质量 Relative molecular mass	理论等电点 Theoretical isoelectric point	亚细胞定位 Subcellular localization
<i>PvPAL1</i>	Pvi03G002744.t1	Chr3	712	78 236.50	pI 6.24	细胞质 Cytoplasm
<i>PvPAL2</i>	Pvi04G002463.t1	Chr4	712	77 880.03	pI 6.12	细胞质 Cytoplasm
<i>PvPAL3</i>	Pvi05G000023.t1	Chr5	719	78 099.32	pI 6.13	细胞质 Cytoplasm
<i>PvPAL4</i>	Pvi10G015264.t1	Chr10	713	77 732.84	pI 6.00	细胞质 Cytoplasm

### 2.2 *PvPAL* 的系统发育树构建和多序列比对分析

系统发育分析结果(图 1)显示:越南参 *PvPAL* 与拟南芥 *AtPAL* 关系较近,与水稻 *OsPAL* 关系较远,其中 *PvPAL2* 与 *PvPAL4* 聚在同一个分支,二者可能

具有相似的生物学功能。此外,*PvPAL1* 单独为一个分支,表明 *PvPAL1* 与另 3 个 *PvPAL* 的亲缘关系较远。

多序列比对结果(图 2)显示:4 个 *PvPAL* 的氨基酸



Os: 水稻 *Oryza sativa* Linn.; At: 拟南芥 *Arabidopsis thaliana* (Linn.) Heynh.; Pv: 越南参 *Panax vietnamensis* Ha et Grushv. 分支上数值为自展值 The values on the branches are bootstrap values.

图 1 越南参 PvPAL 的系统发育分析  
Fig. 1 Phylogenetic analysis of PvPAL in *Panax vietnamensis* Ha et Grushv.

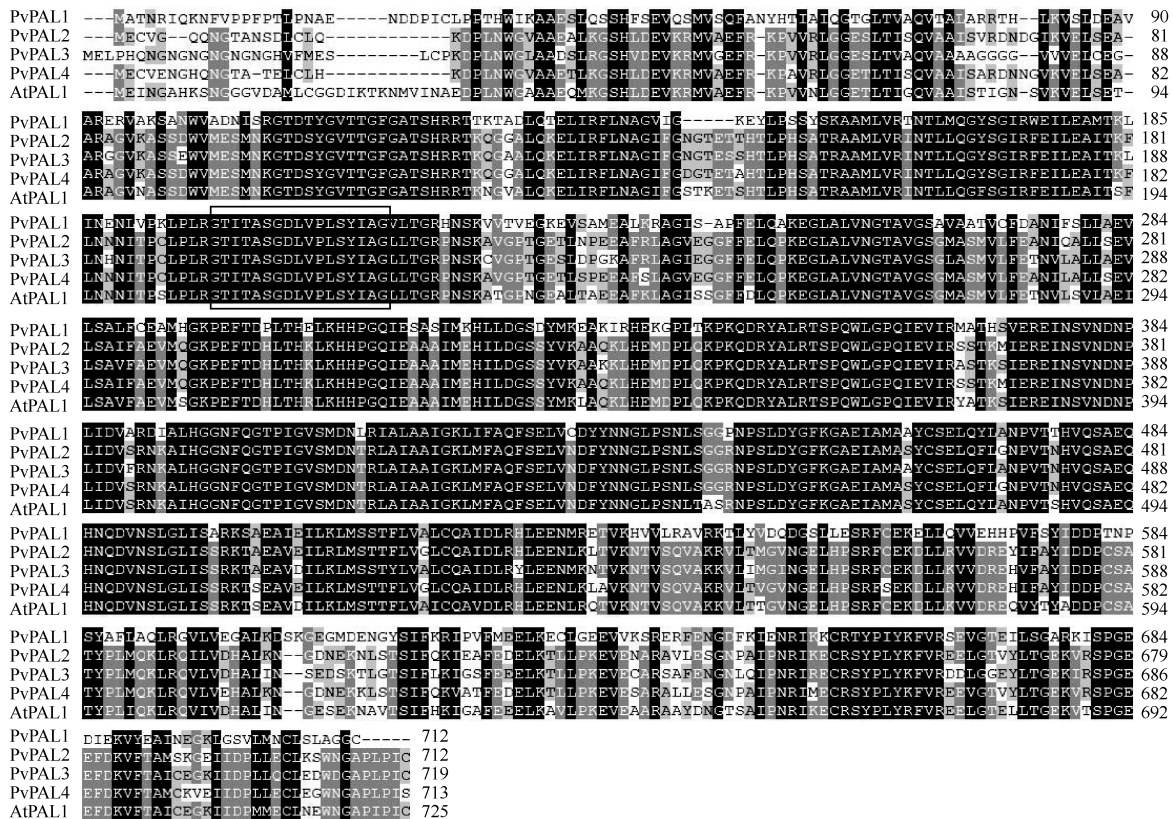
序列均含有 PAL 的活性位点 GTTASGDLVPLSYIAG, 该位点包含高度保守的亚甲基咪唑啉酮 (MIO) 亲电基团, 由 Ala-Ser-Gly 组成, 表明 PvPAL 的结构域序列高度保守。

### 2.3 PvPAL 的系统发育关系、保守基序和结构域及 PvPAL 基因结构分析

系统发育树 (图 3-A) 显示: 越南参 PvPAL2 与 PvPAL4 聚在同一个分支, 亲缘关系较近, 二者与 PvPAL1 亲缘关系较远。进一步分析发现 4 个 PvPAL 蛋白含有 6 个位置一致的 motif (图 3-B) 和 1 个 PLN02457 保守结构域 (图 3-C), 且每个 PvPAL 均含有 6 个保守基序 (图 3-E)。PvPAL 基因结构分析结果 (图 3-D) 显示: *PvPAL2*、*PvPAL3* 和 *PvPAL4* 具有相似的外显子和内含子结构, 均含 1 个内含子和 2 个外显子, 而 *PvPAL1* 仅含有 1 个外显子。这些结果表明 *PvPAL* 基因家族成员的保守性整体较高。

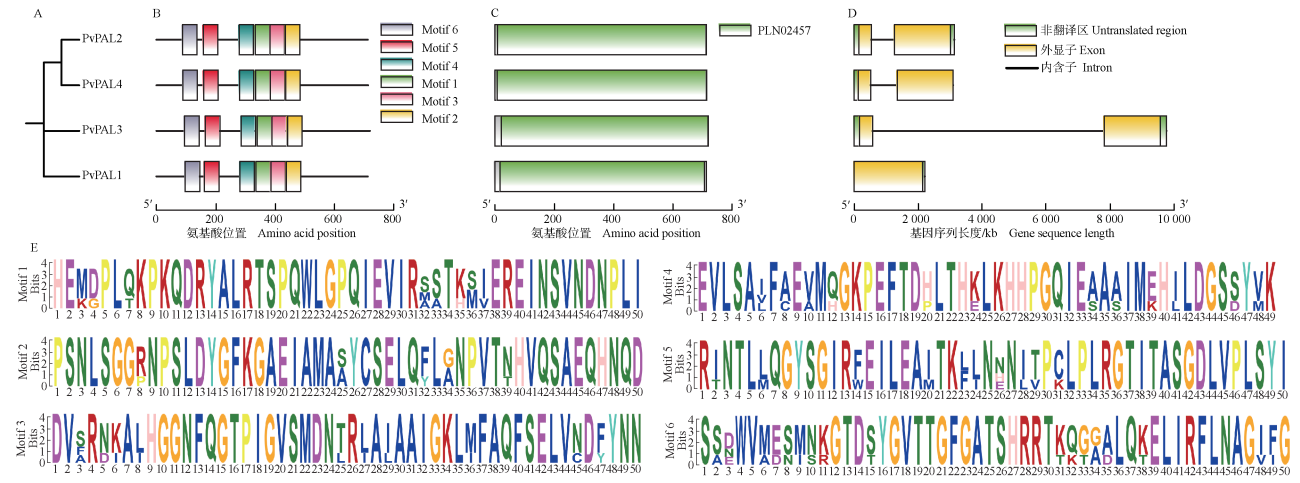
### 2.4 PvPAL 启动子区的顺式作用元件分析

结果 (表 3) 显示: *PvPAL* 启动子区含有大量顺式



Pv: 越南参 *Panax vietnamensis* Ha et Grushv.; At: 拟南芥 *Arabidopsis thaliana* (Linn.) Heynh. 方框内表示 PAL 的活性位点 The box indicates the active site of PAL.

图 2 越南参 PvPAL 的多序列比对分析  
Fig. 2 Multiple sequence alignment analysis of PvPAL in *Panax vietnamensis* Ha et Grushv.



A: 系统发育树 Phylogenetic tree; B: 保守基序 Conserved motif; C: 保守结构域 Conserved domain; D: 基因结构 Gene structure; E: 保守基序的氨基酸序列 Amino acid sequence of the conserved motif.

图 3 越南参 *PvPAL* 的系统发育树、保守基序和保守结构域及 *PvPAL* 基因结构分析  
 Fig. 3 Analysis of phylogenetic tree, conserved motifs, and conserved domains of *PvPAL* and gene structure of *PvPAL* in *Panax vietnamensis* Ha et Grushv.

表 3 越南参 *PvPAL* 启动子区的顺式作用元件数量  
 Table 3 Number of *cis*-acting elements in the promoter region of *PvPAL* in *Panax vietnamensis* Ha et Grushv.

顺式作用元件 <sup>1)</sup> <i>Cis</i> -acting element <sup>1)</sup>	各基因中顺式作用元件数量 Number of <i>cis</i> -acting elements in each gene				顺式作用元件 <sup>1)</sup> <i>Cis</i> -acting element <sup>1)</sup>	各基因中顺式作用元件数量 Number of <i>cis</i> -acting elements in each gene			
	<i>PvPAL1</i>	<i>PvPAL2</i>	<i>PvPAL3</i>	<i>PvPAL4</i>		<i>PvPAL1</i>	<i>PvPAL2</i>	<i>PvPAL3</i>	<i>PvPAL4</i>
非生物和生物胁迫响应 Abiotic and biotic stress response					CGTCA-motif	2	1	1	0
ARE	0	4	0	1	TATC-box	0	1	0	0
CCAAT-box	0	2	2	0	TCA-element	0	1	2	0
DRE core	1	0	0	0	TGA-element	0	2	1	1
MBS	1	0	0	1	植物生长和发育响应 Plant growth and development response				
MYB	10	2	6	1	AAGAA-motif	3	0	1	1
Myb	1	0	1	1	AE-box	2	0	0	0
MYC	3	5	0	1	Box-4	6	8	4	1
Myc	1	0	0	1	CARE	0	0	0	1
MYB recognition site	0	2	2	0	CAT-box	0	0	0	1
STRE	2	1	3	3	circadian	1	0	0	0
WUN-motif	6	0	0	2	G-BOX	0	0	1	0
W-box	2	3	0	1	G-box	1	1	4	4
WRE3	0	3	1	1	GATA-motif	0	0	0	1
植物激素响应 Phytohormone response					GT1-motif	5	0	0	1
ABRE	1	2	4	2	GA-motif	1	1	0	0
AuxRR-core	0	0	1	0	TCT-motif	0	0	2	2
as-1	2	1	1	0					

<sup>1)</sup> ARE: 厌氧诱导响应元件 Anaerobic induction response element; CCAAT-box; MYBHv1 结合位点 MYBHv1 binding site; DRE core; 脱水响应元件 Dehydrate response element; MBS: MYB 结合位点 MYB binding site; MYB; 胁迫响应元件 Stress response element; Myb; 干旱响应元件 Drought response element; MYC; 低温响应元件 Low temperature response element; Myc; 胁迫响应元件 Stress response element; MYB recognition site; 胁迫响应元件 Stress response element; STRE: 胁迫响应元件 Stress response element; WUN-motif; 创伤响应元件 Wound response element; W-box; WRKY 转录因子结合位点 WRKY transcription factor binding site; WRE3: 水杨酸响应元件 3 Salicylic acid response element 3; ABRE: 脱落酸响应元件 Abscisic acid response element; AuxRR-core; 生长素响应元件 Auxin response element; as-1: 激活序列-1 Activation sequence-1; CGTCA-motif; 茉莉酸甲酯响应元件 Methyl jasmonate response element; TATC-box; 赤霉素响应元件 Gibberellin response element; TCA-element; 水杨酸响应元件 Salicylic acid response element; TGA-element; 生长素响应元件 Auxin response element; AAGAA-motif; 光响应元件 Light response element; AE-box; 光响应元件 Light response element; Box-4; 光响应元件 Light response element; CARE; 细胞应激响应元件 Cell stress response element; CAT-box; 与分生组织表达相关的元件 Element associated with meristematic expression; circadian; 昼夜节律响应元件 Circadian response element; G-BOX; 光响应、昼夜节律响应元件 Light response and circadian response elements; G-box; 光响应、昼夜节律响应元件 Light response and circadian response elements; GATA-motif; GATA 转录因子结合位点 Binding site for GATA transcription factors; GT1-motif; 光响应元件 Light response element; GA-motif; 光响应元件 Light response element; TCT-motif; 光响应元件 Light response element.

作用元件, 这些元件大致可以分为非生物和生物胁迫响应元件、植物激素响应元件、植物生长和发育响应元件。其中, 非生物和生物胁迫响应元件数量最多, 包括 MYB、MYC、STRE 和 WUN-motif 等顺式作用元件。 *PvPAL1*、*PvPAL2*、*PvPAL3*、*PvPAL4* 含有的非生物和生物胁迫响应元件分别为 27、22、15、13 个。植物生长和发育响应元件主要包括 Box-4、G-box、GT1-motif 等顺式作用元件, 其中 *PvPAL2*、*PvPAL3*、*PvPAL4* 含有的植物生长和发育响应元件数量相近, *PvPAL2* 含有 10 个, *PvPAL3*、*PvPAL4* 均含有 12 个。植物激素

响应元件主要包括 ABRE、as-1、TCA-element 等顺式作用元件, 其中 *PvPAL2*、*PvPAL3* 含有的植物激素响应元件较多。

### 2.5 越南参与拟南芥 *PAL* 基因共线性分析

共线性分析结果显示(图 4): 越南参与拟南芥有 4 对 *PAL* 基因存在共线性。 *PvPAL2* 与 *AtPAL1*、*AtPAL2* 为共线性基因, *PvPAL2* 与 *AtPAL1*、*AtPAL2* 属于同源基因; *PvPAL3*、*PvPAL4* 与 *AtPAL1* 也为共线性基因, *PvPAL3*、*PvPAL4* 与 *AtPAL1* 也属于同源基因。说明越南参与拟南芥 *PAL* 基因的同源性较高。

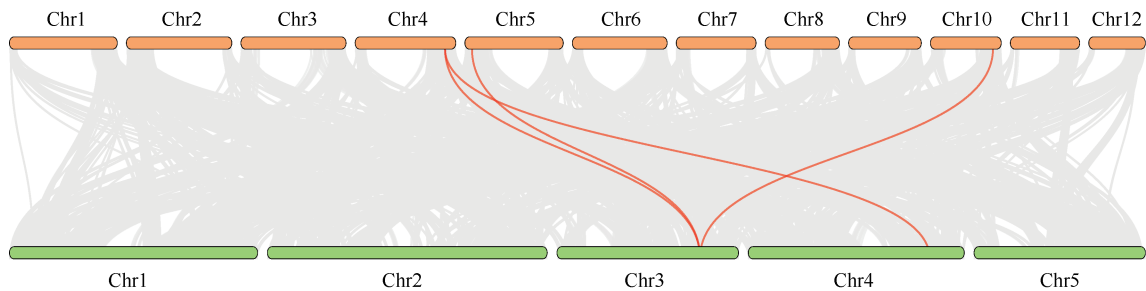


图 4 越南参与拟南芥 *PAL* 基因共线性分析

Fig. 4 Collinearity analysis of *PAL* gene in *Panax vietnamensis* Ha et Grushv. and *Arabidopsis thaliana* (Linn.) Heynh.

### 2.6 *PvPAL* 在不同组织中的表达水平

结果(图 5)显示: 越南参 *PvPAL1* 在叶中的相对表达量最高, 在木质部的相对表达量最低。 *PvPAL2*、*PvPAL3* 和 *PvPAL4* 在茎中的相对表达量最高, *PvPAL2* 和 *PvPAL4* 在木质部和韧皮部的相对表达量较低, 而 *PvPAL3* 在叶中的相对表达量最低。总体上

看, *PvPAL* 在大多数组织间的表达水平差异显著 ( $P < 0.05$ )。

### 2.7 水杨酸对 *PvPAL* 表达的影响

结果显示(图 6): 100  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  水杨酸处理下, 越南参 *PvPAL1*、*PvPAL2* 和 *PvPAL4* 的相对表达量在处理 6 h 升至最高, 且显著 ( $P < 0.05$ ) 高于处理 0 h, 在

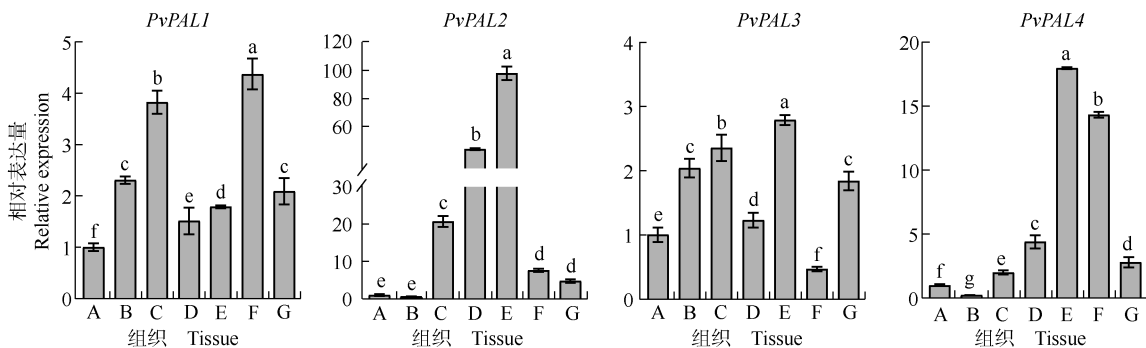
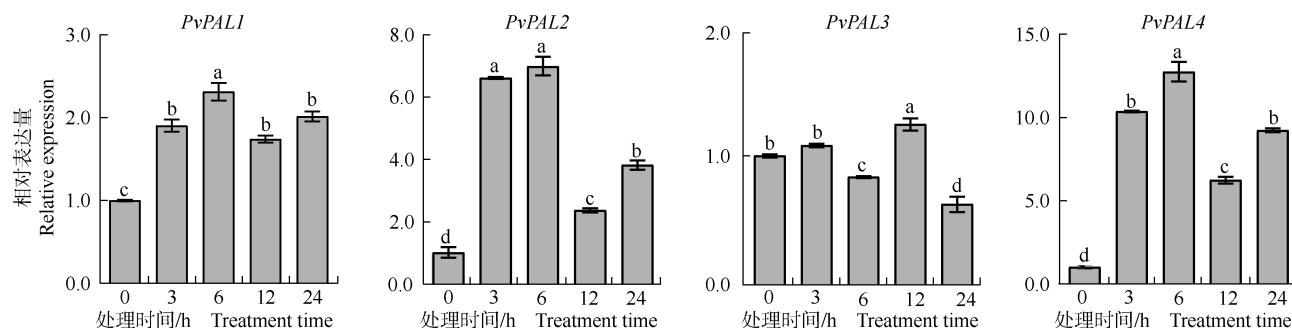


图 5 越南参 *PvPAL* 在不同组织中的表达水平

Fig. 5 Expression levels of *PvPAL* in different tissues of *Panax vietnamensis* Ha et Grushv.

处理 12 h 显著下降, 在处理 24 h 总体显著上升; 水杨酸处理 3、6、12、24 h 的 *PvPAL1*、*PvPAL2* 和 *PvPAL4* 相对表达量均显著高于处理 0 h。 *PvPAL3* 的相对表达

量在处理 12 h 达到最高, 在处理 24 h 显著下降。整体上看, 外源水杨酸处理能够显著诱导多个 *PvPAL* 基因的表达, 其中以 *PvPAL1*、*PvPAL2* 和 *PvPAL4* 3 个



同一图中柱子上方不同小写字母表示不同处理时间间差异显著 ( $P < 0.05$ ) Different lowercases above the bars in the same graph indicate the significant differences ( $P < 0.05$ ) between different treatment times.

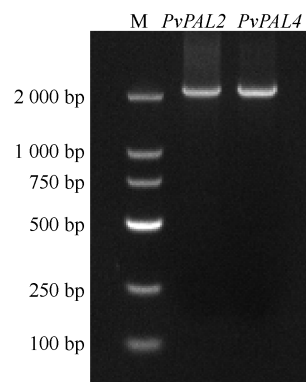
图 6 水杨酸处理后越南参叶片 *PvPAL* 表达水平分析

Fig. 6 Analysis of the expression levels of *PvPAL* in leaves of *Panax vietnamensis* Ha et Grushv. after salicylic acid treatment

基因的响应较为显著。

## 2.8 *PvPAL2* 和 *PvPAL4* 的功能验证

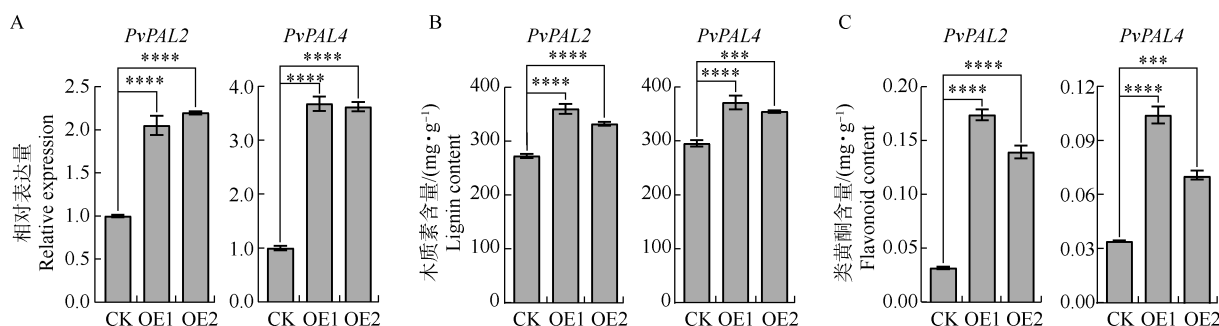
基于越南参 *PvPAL2* 与 *PvPAL4* 亲缘关系最近, 且 *PvPAL2*、*PvPAL4* 的表达水平显著受水杨酸诱导, 因此选取 *PvPAL2*、*PvPAL4* 进行功能验证。结果(图 7)显示: *PvPAL2*、*PvPAL4* 开放阅读框(ORF)分别为 2 139 和 2 142 bp。与对照相比, 过表达基因的愈伤组织中 *PvPAL2*、*PvPAL4* 的相对表达量均在 0.000 1 水平显著增加(图 8-A)。与对照相比, *PvPAL2*、*PvPAL4* 过表达愈伤组织中的木质素和类黄酮含量均在 0.001 水平上显著增加(图 8-B, C)。这些结果表明 *PvPAL2*、*PvPAL4* 可能是调控越南参木质素和类黄酮生物合成的关键结构基因。



M: DL2000 DNA marker.

图 7 越南参 *PvPAL2*、*PvPAL4* 的 PCR 结果

Fig. 7 PCR results of *PvPAL2* and *PvPAL4* in *Panax vietnamensis* Ha et Grushv.



\*\*\*:  $P < 0.001$ ; \*\*\*\*:  $P < 0.0001$ . CK: 对照 The control; OE1, OE2: 过表达基因的愈伤组织 Induced callus with overexpressed gene.

图 8 越南参 *PvPAL2*、*PvPAL4* 在愈伤组织中的过表达分析(A)及其对木质素(B)和类黄酮(C)含量的影响

Fig. 8 Analysis of overexpression (A) of *PvPAL2* and *PvPAL4* in callus tissue of *Panax vietnamensis* Ha et Grushv. and their effects on lignin (B) and flavonoid (C) contents

### 3 讨论和结论

为应对复杂的生物与非生物环境压力,植物进化出精细的次级代谢合成途径,包括苯丙烷、萜类及生物碱代谢途径等。其中,苯丙烷代谢途径以苯丙氨酸为前体,可合成酚类和木质素等多种具有重要生理功能的次级代谢产物<sup>[33-34]</sup>。在该途径中,*PAL* 基因家族作为关键调控酶基因,在木质素、可溶性酚类以及类黄酮(如花青素)等多种酚类化合物的合成过程中发挥核心作用。这些代谢产物不仅参与植物正常生长发育的调控,还在植物响应环境胁迫时承担重要防御功能<sup>[35]</sup>。不同植物物种中 *PAL* 基因家族成员数量存在差异,如拟南芥有 4 个,番茄有 5 个,水稻则有 9 个<sup>[36-38]</sup>。在越南参中鉴定出 4 个 *PvPAL* 基因。这些基因编码蛋白质的氨基酸长度、相对分子质量及理论等电点与拟南芥 *AtPAL* 相近。4 个 *PvPAL* 均定位于细胞质,与已有研究中 *PAL* 蛋白的定位一致<sup>[39]</sup>,表明 *PAL* 可能是在细胞质中执行生物学功能。

系统发育树显示:越南参、拟南芥和水稻中的 *PAL* 分别紧密地聚在一起,且无交叉分布,表明越南参、拟南芥和水稻的 *PAL* 虽源于共同祖先,但在物种分化后发生了扩张。值得注意的是,越南参中的 *PvPAL2*、*PvPAL3*、*PvPAL4* 与拟南芥中的 *AtPAL1*、*AtPAL2*、*AtPAL3*、*AtPAL4* 亲缘关系较近,而 *AtPAL1*、*AtPAL2*、*AtPAL4* 已被证实参与木质素和类黄酮的合成<sup>[40]</sup>,据此推测 *PvPAL2*、*PvPAL3*、*PvPAL4* 可能具有类似功能。然而,*PvPAL1* 在系统发育树中位于相对独立的分支,其表达模式也与其他成员存在差异,提示 *PvPAL* 基因家族成员在越南参中可能发生了功能分化,关于 *PvPAL1* 的特有功能可进行进一步研究。*PAL* 基因家族在植物中高度保守,鉴定到的 4 个 *PvPAL* 蛋白均含有由 Ala-Ser-Gly 构成的 MIO 亲电基序,这是该家族的特征序列<sup>[41-42]</sup>。蛋白质保守基序分析进一步显示 4 个 *PvPAL* 蛋白均包含相同的 6 个保守基序,共线性分析也表明越南参与拟南芥的 *PAL* 基因为同源基因,共同印证了 *PAL* 家族在进化上的保守性。

在拟南芥中,*AtPAL1* 和 *AtPAL2* 在茎中高表达并参与调控木质素合成<sup>[43]</sup>。本研究中,*PvPAL2*、*PvPAL3*、*PvPAL4* 在越南参茎中相对表达量最高,提示其可能参与茎部木质素的合成。水杨酸(SA)作为信

号分子,可诱导 *PAL* 基因表达并促进苯丙烷代谢,进而增加酚类与苯丙素的积累<sup>[44]</sup>。本研究中,*PvPAL1*、*PvPAL2* 和 *PvPAL4* 的表达均显著( $P < 0.05$ )受水杨酸诱导,暗示 SA-*PAL* 模块是连接越南参病原侵染信号与木质素、类黄酮等物理、化学防御物质合成的枢纽。未来的研究可通过病原接种实验验证 *PvPAL2*、*PvPAL4* 在越南参抗病性中的核心贡献。

多项研究结果表明:*PAL* 通过调控酚类和木质素的合成参与植物对环境胁迫的响应。例如:拟南芥 *PAL1/PAL2* 双突变体中木质素含量显著降低,导致其抗逆性下降<sup>[17]</sup>;而在小麦(*Triticum aestivum* Linn.)中过表达 *PAL1* 可显著提高类黄酮积累,增强对禾谷孢囊线虫的抗性<sup>[45]</sup>。在越南参愈伤组织中过表达 *PvPAL2* 和 *PvPAL4*,发现两者均能促进木质素和类黄酮的积累,与拟南芥 *AtPAL1*、*AtPAL2*、*AtPAL4* 功能<sup>[40]</sup>相似。因此,*PvPAL2*、*PvPAL4* 作为苯丙烷代谢途径的关键基因,参与木质素和类黄酮的合成,是未来分子育种改良越南参抗逆性与药用品质的潜在靶点。

综上所述,本研究在越南参基因组中系统鉴定出 4 个 *PvPAL* 基因,这些基因整体保守性较高,可能在越南参生长发育中发挥重要作用。*PvPAL2*、*PvPAL4* 亲缘关系最近,且其对应基因的表达水平显著受水杨酸诱导,在愈伤组织中过表达 *PvPAL2*、*PvPAL4* 显著促进了木质素和类黄酮的积累。*PvPAL* 的基因功能分化与 SA 信号通路的关系值得深入探讨,可为未来解析越南参次级代谢调控网络及选育抗性、优质品种提供坚实的理论依据与新的思路。

#### 参考文献:

- [1] 魏春雁. 越南人参的化学成分和药理作用[J]. 特产研究, 2001, 23(1): 57-61.
- [2] 线小云, 李葵秀, 李满桥, 等. 人参属药用植物种质资源研究进展[J]. 中草药, 2025, 56(1): 360-373.
- [3] NGUYEN H M, NGUYEN H T, WIN N, et al. Antimelanogenic activity of ocotillol-type saponins from *Panax vietnamensis* [J]. Chemistry and Biodiversity, 2020, 17(5): e2000037.
- [4] LE Q U, LAY H L, WU M C, et al. Phytoconstitue and biological activities of *Panax vietnamensis* (Vietnamese ginseng): a precous ginseng and call for further research—a systematic review [J]. Natural Product Communications, 2018, 13(10): 1381-1384.
- [5] CHIRIKOVA N K, OLENNIKOV D N, GRIGOREV R O, et al. Acylquinic acids, flavonoids, and maltol *O*-glucoside from *Panax vietnamensis*[J]. Chemistry of Natural Compounds, 2019, 55(6): 1161-1163.
- [6] LE T H V, LEE S Y, KIM T R, et al. Processed Vietnamese

- ginseng: preliminary results in chemistry and biological activity[J]. *Journal of Ginseng Research*, 2014, 38: 154–159.
- [7] LE H K, PHAN T T, NGUYEN T M N, et al. A new sesquiterpene lactone from the leaves of *Panax vietnamensis* Ha et Grushv. (Vietnamese ginseng) [J]. *Natural Product Research*, 2023, 37(21): 3580–3587.
- [8] 艾明涛, 李雷林, 侯家娥, 等. 越南人参应答 *Neofusicoccum ribis* 侵染的生理指标检测及 *N. ribis* 生理特性的鉴定[J]. 昆明理工大学学报(自然科学版), 2024, 49(6): 133–142.
- [9] DONG N Q, LIN H X. Contribution of phenylpropanoid metabolism to plant development and plant-environment interactions[J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2021, 63(1): 180–209.
- [10] LI W, YANG Y, QIAO C, et al. Functional characterization of phenylalanine ammonia-lyase and cinnamate 4-hydroxylase-encoding genes from *Lycoris radiata*, a galanthamine producing plant [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 117: 1264–1279.
- [11] 邓路长, 崔丽娜, 杨麟, 等. 玉米苯丙氨酸解氨酶家族基因的鉴定与纹枯病的抗病分析[J]. 分子植物育种, 2019, 17(3): 891–897.
- [12] HAGEL J M, KRIZEVSKI R, MARSOLAIS F, et al. Biosynthesis of amphetamine analogs in plants [J]. *Trends in Plant Science*, 2012, 17(7): 404–412.
- [13] JONES D H. Phenylalanine ammonia-lyase: regulation of its induction, and its role in plant development [J]. *Phytochemistry*, 1984, 23(7): 1349–1359.
- [14] NUGROHO L H, VERBERNE M C, VERPOORTE R. Activities of enzymes involved in the phenylpropanoid pathway in constitutively salicylic acid-producing tobacco plants [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2002, 40: 755–760.
- [15] CHAMAN M E, COPAJA S V, ARGANDOÑA V H. Relationships between salicylic acid content, phenylalanine ammonia-lyase (PAL) activity, and resistance of barley to aphid infestation [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, 51: 2227–2231.
- [16] HUANG J, GU M, LAI Z, et al. Functional analysis of the Arabidopsis *PAL* gene family in plant growth, development, and response to environmental stress [J]. *Plant Physiology*, 2010, 153: 1526–1538.
- [17] 曾嘉丽, 边建民, 徐杰, 等. 水稻 *PAL* 基因的全基因组分析及胁迫表达研究 [J]. 基因组学与应用生物学, 2018, 37(9): 3881–3888.
- [18] YAN F, LI H, ZHAO P. Genome-wide identification and transcriptional expression of the *PAL* gene family in common walnut (*Juglans regia* L.) [J]. *Genes*, 2019, 10(1): 46.
- [19] CHEZEM W R, MEMON A, LI F S, et al. SG2-type R2R3-MYB transcription factor MYB15 controls defense-induced lignification and basal immunity in Arabidopsis [J]. *The Plant Cell*, 2017, 29: 1907–1926.
- [20] DIXON R A, PAIVA N L. Stress-induced phenylpropanoid metabolism [J]. *The Plant Cell*, 1995, 7: 1085–1097.
- [21] ZHOU K, HU L, LI Y, et al. MdUGT88F1-mediated phloridzin biosynthesis regulates apple development and *Valsa* Canker resistance [J]. *Plant Physiology*, 2019, 180: 2290–2305.
- [22] SHARMA A, SHAHZAD B, REHMAN A, et al. Response of phenylpropanoid pathway and the role of polyphenols in plants under abiotic stress [J]. *Molecules*, 2019, 24: 2452.
- [23] LIU Q, LUO L, ZHENG L. Lignins: biosynthesis and biological functions in plants [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, 19: 335.
- [24] HE J, LIU Y, YUAN D, et al. An R2R3 MYB transcription factor confers brown planthopper resistance by regulating the phenylalanine ammonia-lyase pathway in rice [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2020, 117(1): 271–277.
- [25] HAN P, WEI Y, JIANG S, et al. *N*-Acetyl-D-glucosamine inhibition of hexokinase results in downregulation of the phenylpropanoid metabolic pathway and decreased resistance to brown rot in peach fruit [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2022, 70: 3917–3928.
- [26] BHARGAVA A, MANSFIELD S D, HALL H C, et al. MYB75 functions in regulation of secondary cell wall formation in the Arabidopsis inflorescence stem [J]. *Plant Physiology*, 2010, 154: 1428–1438.
- [27] BOMAL C, BEDON F, CARON S, et al. Involvement of *Pinus taeda* *MYB1* and *MYB8* in phenylpropanoid metabolism and secondary cell wall biogenesis: a comparative *in planta* analysis [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2008, 59: 3925–3939.
- [28] BARROS J, DIXON R A. Plant phenylalanine/tyrosine ammonia-lyases [J]. *Trends in Plant Science*, 2020, 25(1): 66–79.
- [29] YANG Z, LI X, YANG L, et al. Comparative genomics reveals the diversification of triterpenoid biosynthesis and origin of ocotillol-type triterpenes in *Panax* [J]. *Plant Communications*, 2023, 4: 100591.
- [30] GHO Y S, KIM S J, JUNG K H. Phenylalanine ammonia-lyase family is closely associated with response to phosphate deficiency in rice [J]. *Genes and Genomics*, 2020, 42(1): 67–76.
- [31] KUMAR S, STECHER G, SULESKI M, et al. MEGA12: Molecular Evolutionary Genetic Analysis Version 12 for adaptive and green computing [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2024, 41(12): msae263.
- [32] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using realtime quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta C_T}$  method [J]. *Methods*, 2001, 25: 402–408.
- [33] BELHADJ A, SAIGNE C, TELEF N, et al. Methyl jasmonate induces defense responses in grapevine and triggers protection against *Erysiphe necator* [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006, 54: 9119–9125.
- [34] WANG K, JIN P, HAN L, et al. Methyl jasmonate induces resistance against *Penicillium citrinum* in Chinese bayberry by

- priming of defense responses [J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2014, 98: 90–97.
- [35] MACDONALD M J, D'CUNHA G B. A modern view of phenylalanine ammonia lyase[J]. *Biochemistry and Cell Biology*, 2007, 85: 273–282.
- [36] GUO J, WANG M H. Characterization of the phenylalanine ammonia-lyase gene (*SIPAL5*) from tomato (*Solanum lycopersicum* L.) [J]. *Molecular Biology Reports*, 2009, 36: 1579–1585.
- [37] HAMBERGER B, ELLIS M, FRIEDMANN M, et al. Genome-wide analyses of phenylpropanoid related genes in *Populus trichocarpa*, *Arabidopsis thaliana*, and *Oryza sativa*: the *Populus* lignin toolbox and conservation and diversification of angiosperm gene families [J]. *Canadian Journal of Botany*, 2007, 85: 1182–1201.
- [38] WANNER L A, LI G, WARE D, et al. The phenylalanine ammonia-lyase gene family in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Molecular Biology*, 1995, 27: 327–338.
- [39] 胡迪, 罗晓伟, 王宇贤, 等. 桃儿七苯丙氨酸解氨酶的基因克隆及其酶活分析[J]. *生物工程学报*, 2023, 39(7): 2818–2838.
- [40] OLSEN K M, LEA U S, SLIMESTAD R, et al. Differential expression of four *Arabidopsis* PAL genes; *PAL1* and *PAL2* have functional specialization in abiotic environmental-triggered flavonoid synthesis [J]. *Journal of Plant Physiology*, 2008, 165: 1491–1499.
- [41] SONG J, WANG Z. Molecular cloning, expression and characterization of a phenylalanine ammonia-lyase gene (*SmPAL1*) from *Salvia miltiorrhiza* [J]. *Molecular Biology Reports*, 2009, 36: 939–952.
- [42] 陈勋, 刘畅宇, 陈娅, 等. 灰毡毛忍冬 *LmPAL1* 基因的克隆及表达分析[J]. *中草药*, 2019, 50(1): 178–187.
- [43] RAES J, ROHDE A, CHRISTENSEN J H, et al. Genome-wide characterization of the lignification toolbox in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiology*, 2003, 133(3): 1051–1071.
- [44] CHEN J Y, WEN P F, KONG W F, et al. Effect of salicylic acid on phenylpropanoids and phenylalanine ammonia-lyase in harvested grape berries [J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2006, 40(1): 64–72.
- [45] ZHANG H, HUANG Q, YI L, et al. PAL-mediated SA biosynthesis pathway contributes to nematode resistance in wheat [J]. *The Plant Journal*, 2021, 107: 698–712.

(责任编辑: 郭严冬)

(上接第 35 页 Continued from page 35)

- [27] 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: 402–408.
- [28] 王兴, 于晶, 杨阳, 等. 低温条件下不同抗寒性冬小麦内源激素的变化 [J]. *麦类作物学报*, 2009, 29(5): 827–831.
- [29] 王楚侨, 黄一梅, 罗弦, 等. 外源 ABA 对低温胁迫下火龙果苗活性氧代谢的影响 [J]. *西北植物学报*, 2023, 43(8): 1344–1351.
- [30] LU Y, HU L F, YU L, et al. Physiological and transcriptomic analysis revealed that the accumulation of reactive oxygen species caused the low temperature sensitivity of *Liriodendron × sinoamericanum* [J]. *Plant Science*, 2024, 342: 112020.
- [31] 付鑫, 张艳艳, 车豪杰, 等. 水杨酸参与嫁接诱导的黄瓜幼苗耐冷性 [J]. *植物生理学报*, 2022, 58(12): 2386–2400.
- [32] 钱晚青, 安聪, 庄黎丽. 高羊茅赤霉素受体家族成员鉴定及其在不同逆境下的表达模式分析 [J]. *草地学报*, 2024, 32(6): 1719–1728.
- [33] SHI B W, ZHENG L L, WANG Y F, et al. Transcriptomic profiling reveals key genes underlying cold stress responses in *Camphora* [J]. *Life*, 2025, 15(2): 319.
- [34] YU Q H, ZHENG Q L, LIU C, et al. Phosphorylation-dependent *VaMYB4a* regulates cold stress in grapevine by inhibiting *VaPIF3* and activating *VaCBF4* [J]. *Plant Physiology*, 2025, 197(2): kiaf035.
- [35] CHEN H, HAN C, CUI L M, et al. Transcriptome analysis of antioxidant system response in *Styrax tonkinensis* seedlings under flood-drought abrupt alternation [J]. *BMC Plant Biology*, 2024, 24(1): 413.
- [36] 高圆圆, 雍清青, 左杰, 等. 低温胁迫下不同倍性滇山茶植物激素含量变化及其相关基因的表达分析 [J]. *植物生理学报*, 2025, 61(2): 201–213.
- [37] 李敖, 郑旭, 聂瑞宁, 等. 丛枝菌根真菌对 NaCl 胁迫下核桃幼苗根系生理及矿质元素吸收的影响 [J]. *植物资源与环境学报*, 2024, 33(6): 22–23.
- [38] PARK J W, BENATTI T R, MARCONI T, et al. Cold responsive gene expression profiling of sugarcane and *Saccharum spontaneum* with functional analysis of a cold inducible *Saccharum* homolog of NOD26-like intrinsic protein to salt and water stress [J]. *PLoS ONE*, 2015, 10(5): e0125810.
- [39] NI L J, XU Y, WANG Z Q, et al. Integrated metabolomics and transcriptomics reveal that *HhERF9* positively regulates salt tolerance in *Hibiscus hamabo* Siebold & Zuccarini [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2024, 213: 108843.
- [40] PARK S Y, FUNG P, NISHIMURA N, et al. Abscisic acid inhibits PP2Cs via the PYR/PYL family of ABA-binding START proteins [J]. *Science*, 2009, 324(5930): 1068–1071.

(责任编辑: 张明霞)