广西植物 Guihaia Aug. 2026, 46(8): 1267-1282 http://www.guihaia-journal.com

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202505020

孙志鹏, 赵懿琛, 2026. 茶树 *DIR* 基因家族鉴定及在炭疽病胁迫下表达模式分析 [J]. 广西植物, 46(8): 1267-1282.
Sun Z P, Zhao Y C, 2026. Identification and expression pattern analysis of *DIR* gene family in *Camellia sinensis* under anthracnose stress [J]. Guihaia, 46(8): 1267-1282.

茶树 *DIR* 基因家族鉴定及在炭疽病胁迫下表达模式分析

孙志鹏[1], 赵懿琛[1,2*]

(1. 贵州大学 生命科学学院, 农业生物工程研究院, 山地植物资源保护与种质创新教育部重点实验室, 贵阳 550025; 2. 贵州大学 茶学院, 贵阳 550025)

摘 要: Dirigent(DIR)蛋白在植物体内参与木质素和木脂素的生物合成过程,在植物生长发育和胁迫应答等过程中发挥重要作用。该研究在茶树(*Camellia sinensis*)全基因组中筛选到 40 个 *CsDIR* 基因,并对该基因家族的理化性质、系统进化树、保守基序、染色体定位、顺式作用元件结构特征和茶炭疽病胁迫下的基因表达模式进行分析。结果表明:(1)进化分析表明,*CsDIR* 基因可分为 3 个亚家族,其启动子区域包含生长素、脱落酸、创伤和病原菌等响应元件。(2)蛋白结构及蛋白保守结构域分析表明,40 个 CsDIR 蛋白均含有由 8 条反向平行 β-折叠组成的 β-桶。此外,39 个 CsDIR 蛋白含有 Dirigent 结构域,1 个 CsDIR 蛋白含有 Dirigent superfamily 结构域。(3)染色体定位及共线性分析结果表明,40 个 *CsDIR* 基因分布在 10 条染色体和 5 个不同的 Contig 上,*CsDIR* 基因家族中有 12 对串联重复基因和 4 对共线性基因。(4)茶炭疽病胁迫下 12 个 *CsDIR* 基因的表达模式分析表明,12 个 *CsDIR* 基因均响应茶炭疽病胁迫。该研究结果为进一步研究 *DIR* 基因家族在茶树应对生物胁迫时的功能提供参考。

关键词: 茶树, *DIR* 基因家族, 结构特征, 理化特性, 表达分析

中图分类号: Q943 **文献标识码**: A **文章编号**: 1000-3142(2026)08-1267-16

Identification and expression pattern analysis of *DIR* gene family in *Camellia sinensis* under anthracnose stress

SUN Zhipeng[1], ZHAO Yichen[1,2*]

(1. *Key Laboratory of Plant Resource Conservation and Germplasm Innovation in Mountainous Region (Ministry of Education), Institute of Agro-Bioengineering, College of Life Sciences, Guizhou University*, Guiyang 550025, China; 2. *College of Tea Sciences, Guizhou University*, Guiyang 550025, China)

Abstract: Dirigent (DIR) proteins play crucial roles in lignin and lignan biosynthesis process, significantly influencing plant growth, development and stress responses. This study identified 40 *CsDIR* genes through genome-wide screening in

收稿日期: 2025-07-30 **接受日期**: 2025-08-26

基金项目: 国家自然科学基金项目(32160077); 贵州省科技计划项目(黔农科院人才专项[2024]02)。

第一作者: 孙志鹏 (1998—),硕士,研究方向为植物基因工程,(E-mail)1572612519@qq.com。

*通信作者: 赵懿琛,博士,教授,研究方向为植物次级信号转导、植物逆境胁迫下的生理生化及植物次生代谢产物生物合成通路等,(E-mail) yczhao@gzu.edu.cn。

Camellia sinensis, and analysed for physicochemical properties, phylogenetic tree, conserved motifs, chromosomal localization, *cis*-acting element structural features, and gene expression patterns of *DIR* gene family under tea anthracnose stress. The results were as follows: (1) Phylogenetic analysis showed that the *CsDIR* genes were divided into three subfamilies, and their promoter regions contained response elements for auxin, abscisic acid, wounding and pathogens. (2) Analysis of protein structures and protein conserved domains confirmed that 40 CsDIRs contained a β-barrel composed of eight antiparallel β-strands. In addition, 39 CsDIRs possessed a Dirigent domain, while one contained a Dirigent superfamily domain. (3) Results of chromosomal localization and collinearity analysis indicated that 40 *CsDIR* genes were distributed across 10 chromosomes and 5 distinct Contigs. Within *CsDIR* gene family, we identified 12 pairs of tandemly duplicated genes and 4 pairs of collinear genes. (4) Expression pattern analysis of 12 *CsDIR* genes under tea anthracnose stress demonstrated that all 12 *CsDIR* genes uniformly responded to tea anthracnose stress. This study provides a foundation for future research on the function of *DIR* gene family in response to biotic stresses in tea plants.

Key words: *Camellia sinensis*, *DIR* gene family, structural features, physicochemical property, expression analysis

茶树(*Camellia sinensis*)是中国具有重要经济价值的多年生木本植物(吴应奇等,2023)。随着茶产业的持续发展,茶叶已跃居全球主要消费饮品之列(Farag et al., 2023)。茶树富含矿物质、糖类及氨基酸等初级代谢产物,此外还富含儿茶素等次级代谢物。这些化合物赋予茶树显著的抗菌活性、抗氧化能力及抗炎镇静等药用特性,不仅有益人体健康,还能通过激活防御机制增强植株对生物与非生物胁迫的抗性。作为典型的叶用经济作物,茶树真菌性叶部病害是导致其品质劣化与产量损失的主要原因之一,对优质茶叶生产构成持续性压力。其中,茶炭疽病作为茶树重要的叶部病害之一,在茶园生态系统中呈广域发生特征,对茶叶产能形成显著威胁(张玉丹等,2023)。茶树对生长环境的变化极为敏感,逆境会严重影响其生长发育及茶叶的产量和品质(徐晓寒等,2022)。

植物为应对生物和非生物胁迫,进化出一系列防御措施,包括氧化裂解、木脂素合成、木质素沉积和脱落酸、茉莉酸等信号途径等,以快速应对复杂的环境,减少损害并争取更多的生存资源(Zulfiqar & Ashraf, 2022)。*Dirigent*(*DIR*)基因编码的蛋白质在木质素合成过程中通过识别特定底物指导木脂素单体偶联形成二聚体,参与木质素的组装。然而,在木脂素合成过程中,DIR 蛋白可指导镜像松柏醇偶联生成木脂素。*DIR* 基因几乎存在于所有维管植物中,作为木质素和木脂素生物合成过程的重要调控因子来调节植物的抗逆反应(Mo et al., 2021)。例如,Shi 等(2012)研究表明,棉花(*Gossypium hirsutum*)*DIR* 家族基因 *GhDIR*1 在棉花中过表达会导致棉花木质素含量增加且提高了其对黄萎病菌(*Verticillium dahliae*)的抗性;大豆(*Glycine max*)接种大豆疫霉菌(*Phytophthora sojae*)后,*GmDIR*22 的表达上调,与野生型相比,过表达 *GmDIR*22 的大豆木脂素总积累量显著增加,对大豆疫霉菌的抗性增强(Li et al., 2017);*PnDIR*1 在三七(*Panax notoginseng*)中的过表达显著提高了参与木质素和木脂素生物合成相关基因的表达,并增强了三七对茄腐镰刀菌(*Fusarium solani*)的抗性(关瑞攀,2018);沉默辣椒(*Capsicum annuum*)*CaDIR*7 基因降低了辣椒根系活性,削弱了辣椒的防御能力,导致辣椒对辣椒疫霉和盐胁迫的耐受性显著降低(Khan et al., 2018);玉米(*Zea mays*)中 *DIR* 家族基因 *ZmESBL* 的突变导致凯氏带受损,芽中 Na^+ 积累增加,并且由于内胚层凯氏带的低木质化而对盐胁迫的敏感性增强(Wang et al., 2022);复苏植物牛耳草(*Boea hygrometrica*)中 *BhDIR*1 基因能够迅速对干旱、冷害和高温等胁迫做出响应,还受乙烯(ethylene, ET)、脱落酸(abscisic acid, ABA)和水杨酸(salicylic acid, SA)等信号分子的调控(吴仁花等, 2008);与未处理茉莉酸甲酯(methyl jasmonate, MeJA)的菘蓝(*Isatis indigotica*)相比,经 MeJA 处理后的菘蓝根中的 *IiDIR*8、*IiDIR*9、*IiDIR*10 和 *IiDIR*16 基因均有不同程度的表达,且 *IiDIR*8 和 *IiDIR*9 基因呈持续上调的趋势(Li et al., 2014)。综上可知,*DIR* 基因在植物应对生物和非生物胁迫时起着重要的作用。

为了解茶树 *DIR* 基因（*CsDIR*）在茶树应对生物胁迫时的作用，本研究以茶树全基因组为材料，采用生物信息学方法和实时荧光定量 PCR 技术，对 *CsDIR* 基因家族进行全基因组鉴定、系统进化树、基因结构、保守结构域和基序、启动子顺式作用元件、种内和种间共线性及生物胁迫响应过程中的表达模式等分析，拟探讨以下问题：（1）*CsDIR* 基因家族成员的理化性质；（2）*CsDIR* 家族成员的基因和蛋白结构、蛋白保守结构域及保守基序分析；（3）*CsDIR* 基因家族成员的染色体定位及其物种内和不同物种间的共线性分析；（4）*CsDIR* 基因家族成员在茶炭疽病胁迫下的表达模式分析。本研究旨在为深入研究 *CsDIR* 基因的功能提供参考依据，也为培育茶树抗逆新品种提供重要基因资源。

1　材料与方法

1.1 材料

实验材料为‘黔茶 1 号’一年生茶树，生长于贵州大学茶学院人工气候室（贵州，贵阳）。培养条件为光照强度 2 000 lx、培养温度（24±2）℃、光照时长 16 h/黑暗时长 8 h，生长健康，无病虫害。所用茶树炭疽病菌为保种于贵州大学茶学院的围小丛壳菌（*Glomerella cingulata*）。

1.2 方法

1.2.1 *CsDIR* 基因家族成员的鉴定和理化性质分析　从 TPIA（http://tpdbtmp.shengxin.ren:81/web/Download）中获取茶树基因组数据。从 Pfam 数据库（http://pfam.xfam.org/）中获得 *DIR* 基因家族的 HMM 模型文件（PF03018）（Mistry et al.，2020），通过 HMMER 3.0 软件筛选茶树基因组中的 CsDIRs 作为初步候选蛋白（E-value<$1e^{-5}$）（Finn et al.，2016）。在删除冗余序列后，利用在线工具 Pfam（http://www.pfam.org/）、SMART（http://smart.embl-heidelberg.de/）对候选蛋白序列进行筛选，最终确定 *CsDIR* 基因家族的成员。通过 ExPASy 在线工具（http://web.expasy.org/protparam/）分析茶树 DIR 家族成员的蛋白质分子量、等电点和亲疏水性等理化特性（Artimo et al.，2012）。利用 WoLF PSORT（https://wolfpsort.hgc.jp/）对 CsDIRs 进行亚细胞定位预测（Horton et al.，2007）。

1.2.2 进化树构建　利用 MEGA 7.0 软件邻接法（neighbor-joining，NJ）对茶树、毛果杨（*Populus trichocarpa*）、水稻（*Oryza sativa*）和拟南芥（*Arabidopsis thaliana*）的 DIR 家族成员的蛋白序列进行系统进化树构建，Bootstrap 设置为 1 000 次重复。将生成的 Newick 文件上传至在线工具 Evolview（https://evolgenius.info//evolview-v2/#login）作图。

1.2.3 蛋白高级结构及 GO 富集分析　利用 Prabi 在线分析软件 secondary structure prediction 模块的 SOPMA（https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=/NPSA/npsa_sopma_f.html）预测茶树 DIR 家族蛋白的二级结构。利用在线工具 SWISS-MODEL（https://swissmodel.expasy.org/）对茶树 DIR 家族蛋白的三级结构进行建模。利用 EggNOG 5.0 数据库（http://eggnog5.embl.de/#/app/home）对 *CsDIR* 基因进行 GO 功能富集分析，并用 TBtools 进行可视化。

1.2.4 基因结构、保守结构域及保守基序分析　利用在线工具 MEME（http://meme-suite.org/）鉴定茶树 DIR 家族蛋白序列的保守基序，基序（motif）数量选择 10（Bailey et al.，2006）。运用 NCBI 的 Batch-CD-Search（https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/bwrpsb/bwrpsb.cgi）导出茶树 DIR 家族成员的保守结构域数据。使用 TBtools 对 *CsDIR* 基因内含子/外显子、保守结构域和保守基序进行可视化（Chen et al.，2020）。

1.2.5 种内和种间共线性分析及染色体定位　利用 MCScanX（Wang et al.，2012）分析拟南芥和茶树及茶树自身具有默认参数的共线块，再利用 TBtools 对共线性文件进行分析，并用 TBtools 中的 Advanced circos 功能绘制茶树的种内和种间共线性图。利用 TBtools 软件对茶树 *DIR* 基因家族的染色体分布进行可视化。

1.2.6 *CsDIR* 基因家族成员启动子顺式作用元件分析　提取 *CsDIR* 基因上游 2 000 bp 核酸序列，使用 PlantCARE 数据库（http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/）对启动子区域的顺式作用元件进行分析，将所得结果文件利用 TBtools 软件进行可视化。

1.2.7 *CsDIR* 基因家族成员在茶树抗病过程中的分析　选取长势一致且健康的茶树上新生叶片，经 75%酒精擦拭 1 次后再用无菌水冲洗 3 次，待叶片

表面水分自然晾干后使用无菌刀片在叶片中部近叶缘区域制造人为伤口,将分离获得的茶炭疽菌菌丝块接种在叶片背面创伤位点,作为实验组。以未接菌处理的野生型为对照组。每个处理组均设置 3 个生物学重复。使用 SteadyPure 植物 RNA 提取试剂盒(湖南艾科瑞生物工程有限公司,AG21019)提取茶树叶片 RNA。使用反转录试剂盒(大连 Takara,RR037A)将总 RNA 反转为 cDNA,利用 NCBI(https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast)分别设计实时荧光定量 PCR(real-time quantitative PCR, qRT-PCR)引物(表 1),内参为茶树 *GAPDH*。使用 SGExcel FastSYBR Mixture 试剂盒[生工生物工程(上海)股份有限公司,B532955]进行 qRT-PCR 分析,检测目的基因和内参基因 Ct 值,3 个生物学重复。使用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算相对表达量并进行分析,利用 Excel 2019 软件整理数据,使用 SPSS 18 软件进行数据的统计,并采用 *t*-test 进行差异显著性分析,运用 GraphPad Prism 9.0 软件制图。

表 1 实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)引物序列

Table 1 Primer sequence for real time quantitative PCR (qRT-PCR)

引物名称 Primer name	引物序列(5′→3′) Primer sequence (5′→ 3′)	引物名称 Primer name	引物序列(5′→3′) Primer sequence (5′→ 3′)
*CsDIR*2-F	ACCATCTTCGCTTTCCATGAC	*CsDIR*30-R	TCGTTGTCGACTGTCATGGG
*CsDIR*2-R	CAGCGATCGAAATGGACCCT	*CsDIR*31-F	CGTCAACGCAAATGGGACAG
*CsDIR*10-F	GGGCTCCAACCCAGTAACTC	*CsDIR*31-R	GTGCCACTGGAGTTGAGTGA
*CsDIR*10-R	ACCCAAGGCAGCATTGAGAA	*CsDIR*32-F	TGATGGACAACCCGCTCAC
*CsDIR*15-F	TACCCACTGTAACTCCTCCTG	*CsDIR*32-R	AGTATCTGCGAGCCAGCCT
*CsDIR*15-R	ATTGACGGCTGGGTTGGTTA	*CsDIR*35-F	GCAAATACAATGGAAGCACCC
*CsDIR*20-F	CGGCATGCTCAATGTGATGG	*CsDIR*35-R	CACTGTATGAGTCTTGGCCT
*CsDIR*20-R	AAGACCTGCCGCGATGTAAA	*CsDIR*38-F	GGCCAAAGCCATCCCAAACGT
*CsDIR*21-F	CGTCTTTGAAACTGGTGGGC	*CsDIR*38-R	ATGTCGTGGAAGTAGAAGTG
*CsDIR*21-R	TGTGATTCTTTCTCGTAACAACGG	*CsDIR*40-F	TCGTGCTTAGTTGTATGCGA
*CsDIR*25-F	TTGGGCGAGCACAAGGATTT	*CsDIR*40-R	GCCGCATTCCACAGTGTTTT
*CsDIR*25-R	TCAGCACCGGCAAAGTTCAT	*GAPDH*-F	CACGGTCAATGGAAGCATCAT
*CsDIR*30-F	CCGCCTCAAGCTCTTCTACC	*GAPDH*-R	GCAGCAGCCTTATCCTTATCAG

2 结果与分析

2.1 *CsDIR* 基因家族成员的基本信息

从茶树中筛选到 40 个 *DIR* 基因(表 2)。根据各基因在染色体上的位置,依次命名为 *CsDIR*1-*CsDIR*40。40 个 *CsDIR* 基因编码的蛋白氨基酸长度为 123(CsDIR25)~381(CsDIR1)个氨基酸,蛋白分子量为 14.40 kDa(CsDIR25)~38.81 kDa(CsDIR1)。预测等电点范围为 4.44(CsDIR1)~10.07(CsDIR34)。除 CsDIR34 属于不稳定蛋白(不稳定性指数大于 40)以外,其余 CsDIRs 属于稳定蛋白。脂溶指数范围为 60.24(CsDIR25)~103.72(CsDIR40)。大部分 CsDIRs 为疏水性蛋白,其中 CsDIR25、CsDIR27、CsDIR28、CsDIR31 和 CsDIR34 为亲水性蛋白。亚细胞定位预测大部分 CsDIRs 定位于叶绿体和细胞外间隙,少数定位于细胞质、液泡和内质网。

2.2 *CsDIR* 家族系统进化分析

为探究茶树 *DIR* 基因家族成员的系统进化关系,利用拟南芥(27 个)、水稻(37 个)、毛果杨(40 个)和茶树(40 个)共 144 个 DIR 蛋白序列构建系统进化树。结果(图 1)显示,DIR 蛋白可分为 5 个亚族(DIR-a、DIR-b/d、DIR-c、DIR-e 和 DIR-g)。茶树 DIR 蛋白分布在 DIR-a、DIR-b/d 和 DIR-e 3 个亚族中,其中 DIR-b/d 亚族包含的 CsDIR 最多(27 个),DIR-a 亚族包含 7 个 CsDIR,DIR-e 亚族包含 6 个 CsDIR。分析 4 个物种 DIR 家族蛋白的进化关系,发现茶树、拟南芥和毛果杨 DIR 蛋白仅在 DIR-a、DIR-b/d 和 DIR-e 3 个亚族中分布,而 DIR-c

表 2　*CsDIR* 基因家族信息

Table 2　Information of *CsDIR* gene family

基因名称 Gene name	基因 ID Gene ID	氨基酸数目 Number of amino acids	分子量 Relative molecular mass (kDa)	理论等电点 Theoretical pI	不稳定性指数 Instability index	脂溶指数 Aliphatic index	总平均亲水性 Grand average of hydropathicity	亚细胞定位预测 Subcellular localization
*CsDIR*1	CSS0021743	381	38.81	4.44	35.85	93.12	0.171	叶绿体 Chloroplast
*CsDIR*2	CSS0010065	195	21.31	7.08	17.64	91.95	0.010	叶绿体 Chloroplast
*CsDIR*3	CSS0032670	181	19.72	6.65	29.44	92.15	0.050	内质网 Endoplasmic reticulum
*CsDIR*4	CSS0048417	192	20.57	7.92	32.82	95.05	0.118	细胞外间隙 Extracellular space
*CsDIR*5	CSS0020163	192	20.85	7.02	31.69	92.50	0.089	细胞外间隙 Extracellular space
*CsDIR*6	CSS0046097	170	18.82	9.16	33.87	86.53	0.119	液泡 Vacuole
*CsDIR*7	CSS0006406	192	20.48	6.58	31.51	98.59	0.183	细胞外间隙 Extracellular space
*CsDIR*8	CSS0006464	191	20.65	7.72	27.55	92.41	0.068	细胞外间隙 Extracellular space
*CsDIR*9	CSS0048140	189	20.73	6.82	25.89	88.15	0.154	液泡 Vacuole
*CsDIR*10	CSS0000043	171	18.80	7.78	29.03	93.45	0.174	液泡 Vacuole
*CsDIR*11	CSS0030505	188	20.69	5.75	26.09	102.66	0.206	细胞外间隙 Extracellular space
*CsDIR*12	CSS0021710	191	21.17	9.07	22.29	91.88	0.129	液泡 Vacuole
*CsDIR*13	CSS0046463	200	21.94	5.50	31.90	88.25	0.099	叶绿体 Chloroplast
*CsDIR*14	CSS0008829	201	22.01	5.50	32.75	87.81	0.094	叶绿体 Chloroplast
*CsDIR*15	CSS0008636	297	30.69	4.88	29.51	90.30	0.192	细胞质 Cytoplasm
*CsDIR*16	CSS0023753	177	19.31	6.26	24.21	95.14	0.207	叶绿体 Chloroplast
*CsDIR*17	CSS0030481	177	19.22	5.84	21.31	96.78	0.238	叶绿体 Chloroplast
*CsDIR*18	CSS0049928	175	19.26	7.97	26.49	93.49	0.121	叶绿体 Chloroplast
*CsDIR*19	CSS0048755	191	20.89	9.28	10.43	95.92	0.157	细胞质 Cytoplasm
*CsDIR*20	CSS0042357	187	20.54	9.04	37.99	90.16	0.116	叶绿体 Chloroplast
*CsDIR*21	CSS0043959	180	19.69	7.86	20.52	95.72	0.156	叶绿体 Chloroplast
*CsDIR*22	CSS0025951	191	20.83	9.28	13.63	92.88	0.165	细胞质 Cytoplasm
*CsDIR*23	CSS0013337	249	19.69	5.47	33.67	93.29	0.272	细胞外间隙 Extracellular space

续表 2

基因名称 Gene name	基因 ID Gene ID	氨基酸数目 Number of amino acids	分子量 Relative molecular mass (kDa)	理论等电点 Theoretical pI	不稳定性指数 Instability index	脂溶指数 Aliphatic index	总平均亲水性 Grand average of hydropathicity	亚细胞定位预测 Subcellular localization
*CsDIR*24	CSS0028211	191	21.07	9.66	18.49	87.28	0.112	叶绿体 Chloroplast
*CsDIR*25	CSS0018205	123	14.40	5.78	36.96	60.24	−0.365	细胞质 Cytoplasm
*CsDIR*26	CSS0033203	188	20.83	7.84	22.19	84.63	0.088	叶绿体 Chloroplast
*CsDIR*27	CSS0004240	181	20.21	7.72	23.41	75.41	−0.014	叶绿体 Chloroplast
*CsDIR*28	CSS0039034	181	20.21	7.72	23.88	75.41	−0.018	叶绿体 Chloroplast
*CsDIR*29	CSS0020889	188	20.86	7.84	22.19	84.63	0.073	叶绿体 Chloroplast
*CsDIR*30	CSS0046546	182	20.58	5.07	19.28	73.41	0.101	叶绿体 Chloroplast
*CsDIR*31	CSS0024173	185	20.77	6.82	17.71	68.00	−0.128	叶绿体 Chloroplast
*CsDIR*32	CSS0024616	159	17.80	9.47	31.21	90.19	0.051	细胞外间隙 Extracellular space
*CsDIR*33	CSS0019864	177	19.29	9.07	33.28	85.99	0.157	细胞外间隙 Extracellular space
*CsDIR*34	CSS0033209	185	20.20	10.07	43.14	90.65	−0.048	叶绿体 Chloroplast
*CsDIR*35	CSS0026090	198	21.66	8.69	34.51	96.06	0.148	细胞外间隙 Extracellular space
*CsDIR*36	CSS0002646	202	22.65	9.64	39.69	95.59	0.115	细胞外间隙 Extracellular space
*CsDIR*37	CSS0010713	249	25.37	5.47	33.33	92.89	0.262	细胞外间隙 Extracellular space
*CsDIR*38	CSS0009270	191	20.98	9.55	21.60	88.32	0.074	叶绿体 Chloroplast
*CsDIR*39	CSS0010013	191	21.03	9.95	30.06	83.72	0.020	叶绿体 Chloroplast
*CsDIR*40	CSS0018582	188	20.57	6.07	39.58	103.72	0.245	细胞外间隙 Extracellular space

和 DIR-g 仅包含来自单子叶植物水稻的 DIR 蛋白,这些结果表明植物 *DIR* 基因家族的进化伴随单、双子叶植物的分化出现明显的分歧。

2.3 CsDIR 蛋白高级结构分析

为探究茶树 DIR 蛋白的结构特征,对 DIR 蛋白进行二级结构预测(表 3),茶树 DIR 蛋白具有 α-螺旋、延伸链、β-转角和无规则卷曲 4 种结构形式,α-螺旋的比例为 11.28%(CsDIR2)~29.26%(CsDIR11),β-转角的比例为 3.00%(CsDIR13)~6.67%(CsDIR21),延伸链的比例为 19.68%(CsDIR23)~38.22%(CsDIR24),无规则卷曲的比例为 34.04%(CsDIR11)~62.47%(CsDIR1),其中延伸链和无规则卷曲的比例相对较高,两者总比例均占序列的 65%以上。蛋白质三级结构建模如图 2 所示,40 个 DIR 蛋白均含有由 8 条反向平行 β-折叠组成的 β-桶。

2.4 *CsDIR* 基因 GO 功能富集

为更全面地揭示 *CsDIR* 基因潜在功能,利用 EggNOG 5.0 工具对其进行详尽的功能注释和分类(图 3)。*CsDIR* 参与松脂醇生物合成过程、防御反

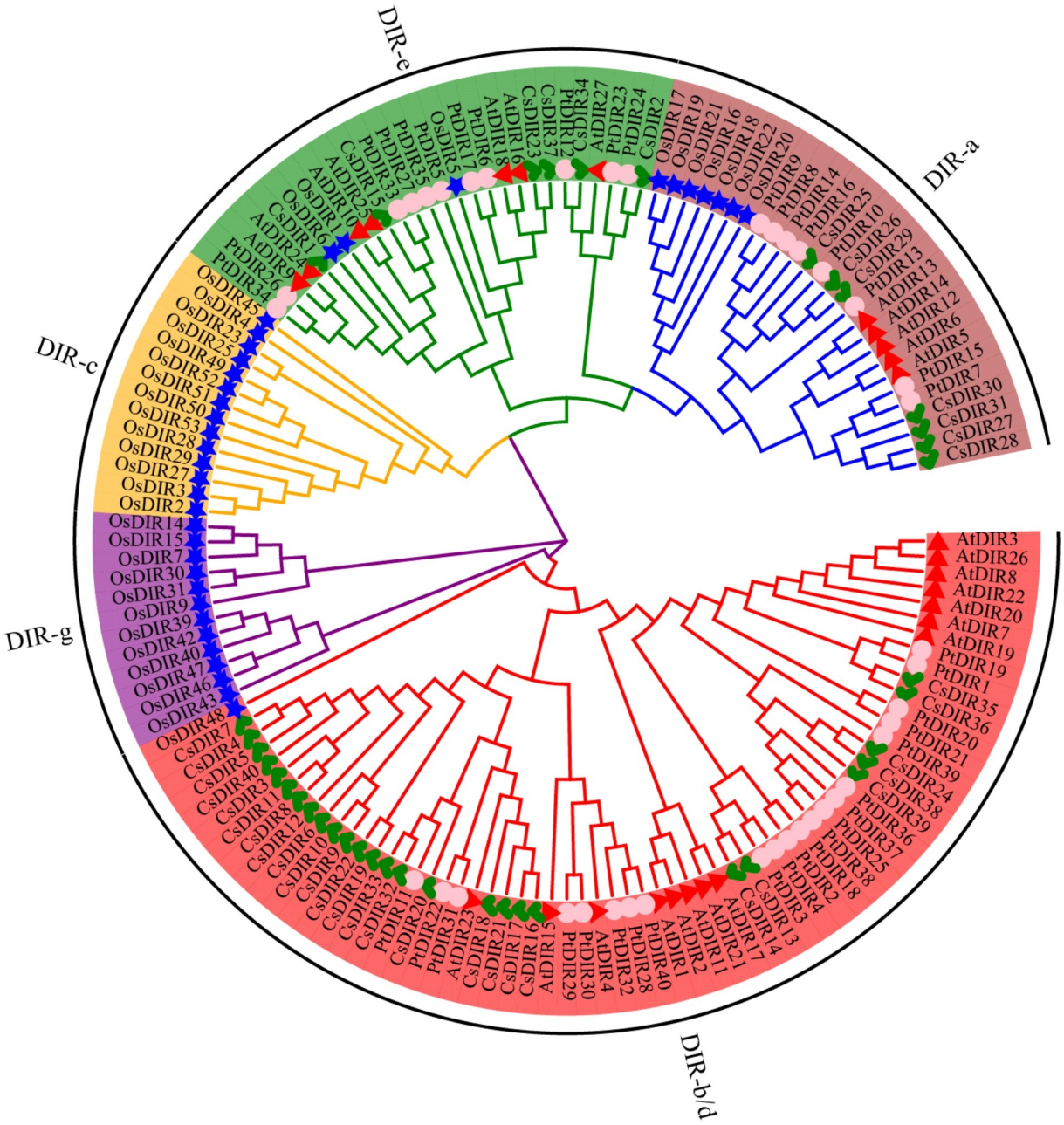


图 1　茶树(Cs)、毛果杨(Pt)、水稻(Os)与拟南芥(At)的 DIR 蛋白系统进化树

Fig. 1　Phylogenetic tree of DIR proteins of *Camellia sinensis* (**Cs**), *Populus trichocarpa* (**Pt**), *Oryza sativa* (**Os**) and *Arabidopsis thaliana* (**At**)

应、催化活性的调控、乙酰辅酶 A 代谢过程、油菜素内酯生物合成过程、甾醇生物合成过程、木质素生物合成等生物学过程(biological process, BP)；主要分子功能(molecular function, MF)涉及介导立体特异性合成、金属离子结合；在细胞组分(cell component, CC)类别中，获得的与细胞成分相关的基因数量相对较少，位于细胞外区域。

2.5 *CsDIR* 基因家族成员的基因结构、蛋白保守结构域及保守基序分析

为进一步探究茶树 *DIR* 基因家族的结构特征，分析 CsDIR 蛋白保守基序，结果(图 4：B)显示，位于同一亚族的 *DIR* 基因家族成员的保守基

表 3 CsDIR 蛋白二级结构

Table 3 Secondary structures of CsDIR proteins

蛋白名称 Protein name	α-螺旋 α-helix (%)	延伸链 Extended strand (%)	β-转角 β-turn (%)	无规则卷曲 Random coil (%)
CsDIR1	13.65	19.95	3.94	62.47
CsDIR2	11.28	31.28	5.64	51.79
CsDIR3	27.07	30.94	4.97	37.02
CsDIR4	22.92	32.29	4.69	40.10
CsDIR5	26.04	30.73	3.12	40.10
CsDIR6	28.24	29.41	4.71	37.65
CsDIR7	26.04	31.77	3.65	38.54
CsDIR8	26.18	31.41	4.71	37.70
CsDIR9	21.16	31.22	5.29	42.33
CsDIR10	23.39	32.75	4.68	39.18
CsDIR11	29.26	31.38	5.32	34.04
CsDIR12	24.61	32.98	4.19	38.22
CsDIR13	24.00	30.00	3.00	43.00
CsDIR14	24.88	29.85	4.98	40.30
CsDIR15	15.82	24.58	5.72	53.87
CsDIR16	25.42	32.20	4.52	37.85
CsDIR17	22.60	35.03	5.65	36.72
CsDIR18	23.43	33.71	5.71	37.14
CsDIR19	24.61	33.51	4.71	37.17
CsDIR20	19.79	35.83	3.74	40.64
CsDIR21	21.67	36.11	6.67	35.56
CsDIR22	25.65	34.55	5.24	34.55
CsDIR23	22.89	19.68	5.22	52.21
CsDIR24	12.57	38.22	4.71	44.50
CsDIR25	21.95	37.40	5.69	34.96
CsDIR26	23.94	29.79	5.85	40.43
CsDIR27	15.47	34.25	6.08	44.20
CsDIR28	16.02	34.81	4.42	44.75
CsDIR29	24.47	28.72	4.79	42.02
CsDIR30	14.84	33.52	5.49	46.15
CsDIR31	19.46	34.59	4.86	41.08
CsDIR32	20.75	31.45	3.77	44.03
CsDIR33	18.64	33.33	3.39	44.63
CsDIR34	22.16	26.49	3.24	48.11
CsDIR35	23.23	32.83	5.05	38.89
CsDIR36	25.25	32.67	3.96	38.12
CsDIR37	22.09	21.29	3.61	53.01
CsDIR38	18.32	34.03	4.71	42.93
CsDIR39	20.42	33.51	5.76	40.31
CsDIR40	28.19	31.91	5.32	34.57

序较为相似。CsDIRs 包含 3~7 个保守基序,绝大部分 CsDIRs 均含有 Motif 1(38 个)(图 4:B)。*CsDIR* 基因编码的蛋白质序列结构域分析(图 4:C)显示,除 CsDIR34 含有 1 个 Dirigent superfamily 结构域以外,其余 CsDIRs 蛋白序列均含有 1 个保守的 Dirigent 结构域,其中 CsDIR1 还含有 1 个 PHA03247 superfamily 结构域。对 *CsDIR* 基因家族成员结构进行分析(图 4:D)显示,大部分 *CsDIR* 基因(29 个)无内含子,仅有 1 个外显子,有 9 个 *CsDIR* 基因(*CsDIR*3、*CsDIR*6、*CsDIR*10、*CsDIR*16、*CsDIR*17、*CsDIR*18、*CsDIR*20、*CsDIR*21、*CsDIR*32)含有 1 个内含子和 2 个外显子,有 2 个 *CsDIR* 基因(*CsDIR*25、*CsDIR*40)含有 2 个内含子和 3 个外显子,其中 *CsDIR*11 含有 3 个内含子和 4 个外显子。

2.6 *CsDIR* 基因家族成员的染色体定位及共线性分析

CsDIR 基因家族成员在染色体上的位置(图 5:A)显示,33 个 *CsDIR* 基因以不均匀的方式分布在茶树 10 条染色体,7 个 *CsDIR* 基因分布在 5 个不同的 Contig 上。第 3 号染色体上分布的基因最多(12 个基因),第 6 号染色体上分布 7 个基因,第 12 号染色体上分布 5 个基因,第 14 和第 15 号染色体均分布 2 个基因,第 1、第 2、第 4、第 9 和第 10 号染色体均分布 1 个基因,Contig514 和 Contig866 上均分布 2 个 *DIR* 基因,其余 3 个 Contig 各分布 1 个 *DIR* 基因。*CsDIR* 基因家族中有 12 对串联重复基因共 21 个基因,分别为 *CsDIR*4 与 *CsDIR*5、*CsDIR*6 与 *CsDIR*7、*CsDIR*7 与 *CsDIR*8、*CsDIR*8 与 *CsDIR*9、*CsDIR*11 与 *CsDIR*12、*CsDIR*13 与 *CsDIR*14、*CsDIR*16 与 *CsDIR*17、*CsDIR*25 与 *CsDIR*26、*CsDIR*26 与 *CsDIR*27、*CsDIR*28 与 *CsDIR*29、*CsDIR*30 与 *CsDIR*31、*CsDIR*35 与 *CsDIR*36,占 *CsDIR* 基因的比例为 21/40 = 52.5%。表明在 *CsDIR* 基因进化过程中,串联复制可能起着重要作用。

物种内共线性分析检测出 4 对共线性基因,*CsDIR*1 和 *CsDIR*15、*CsDIR*3 和 *CsDIR*22、*CsDIR*13 和 *CsDIR*14、*CsDIR*25 和 *CsDIR*30(图 5:B)。这 8 个 *CsDIR* 基因是基因复制的结果,表明全基因组片段的复制对茶树基因组中 *DIR* 基因家族成员数量的增加起到重要作用。为进一步分析不同物种中 *CsDIR* 基因家族的系统发育历史,绘制茶树与拟南芥的同源性关系图,茶树与拟南芥中的 17 对

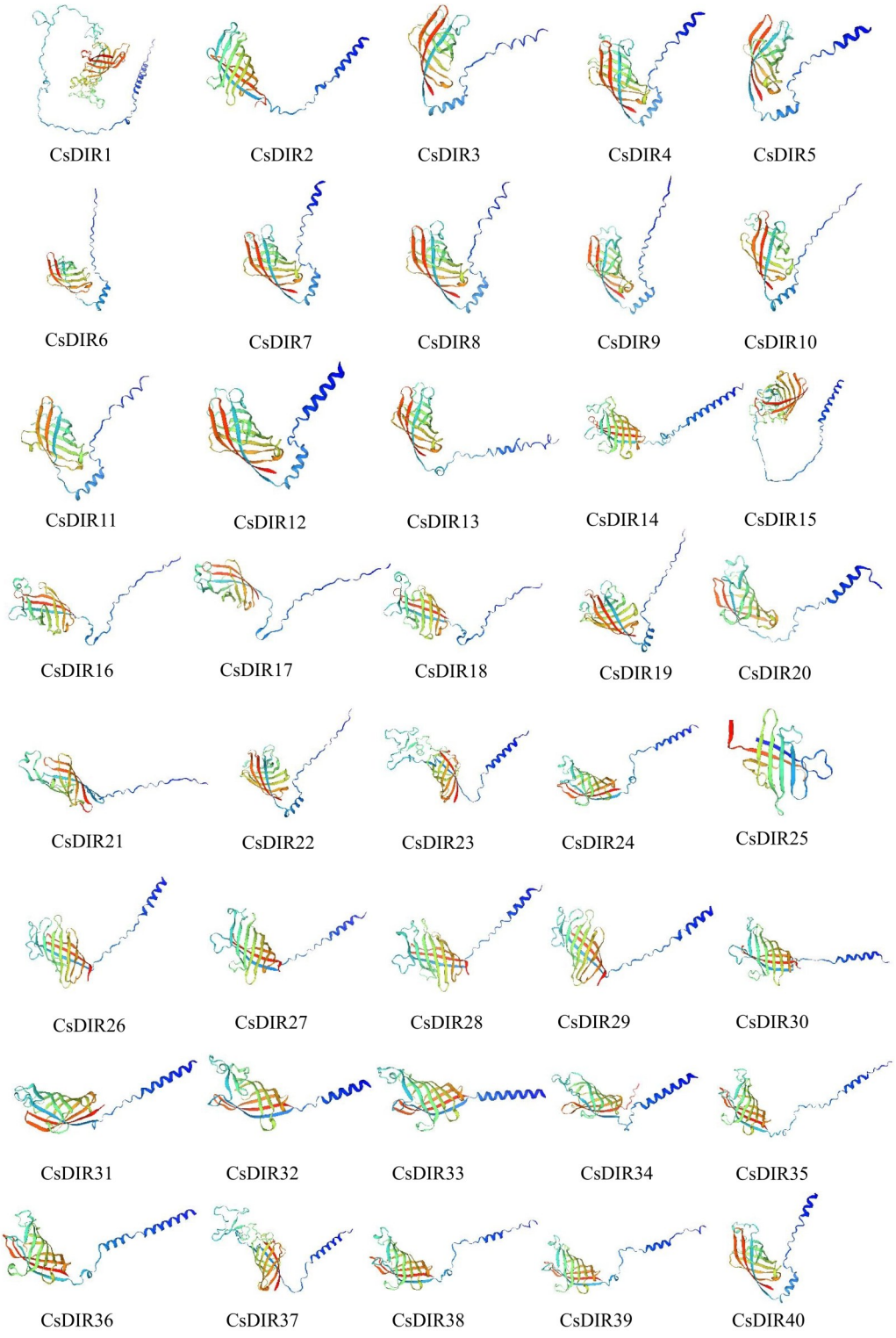
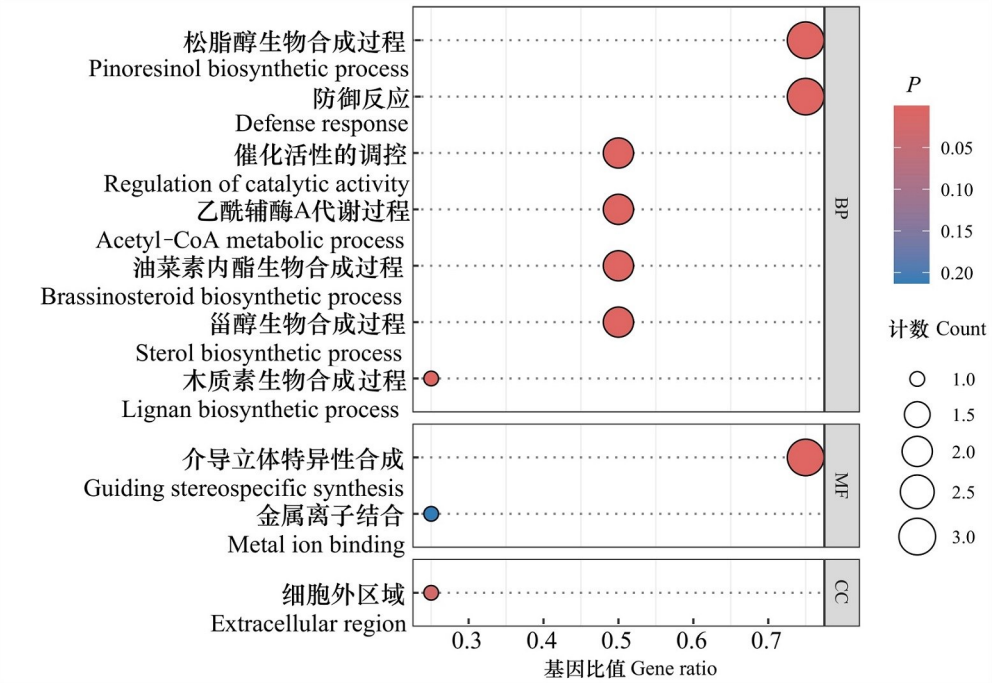


图 2　CsDIR 蛋白三级结构

Fig. 2　Tertiary structures of CsDIR proteins

基因之间呈共线性关系(图 5:C)。其中,*CsDIR*1 与拟南芥中的 4 个 *DIR* 基因存在共线性关系,*CsDIR*25 和 *CsDIR*30 分别与拟南芥中的 3 个 *DIR* 基因存在共线性关系,*CsDIR*15 和 *CsDIR*22 分别与



BP. 生物学过程；**MF**. 分子功能；**CC**. 细胞组分。
BP. Biological process; **MF**. Molecular function; **CC**. Cell component.

图 3 *CsDIR* 基因的 GO 功能富集分析
Fig. 3 GO function enrichment analysis of *CsDIR* genes

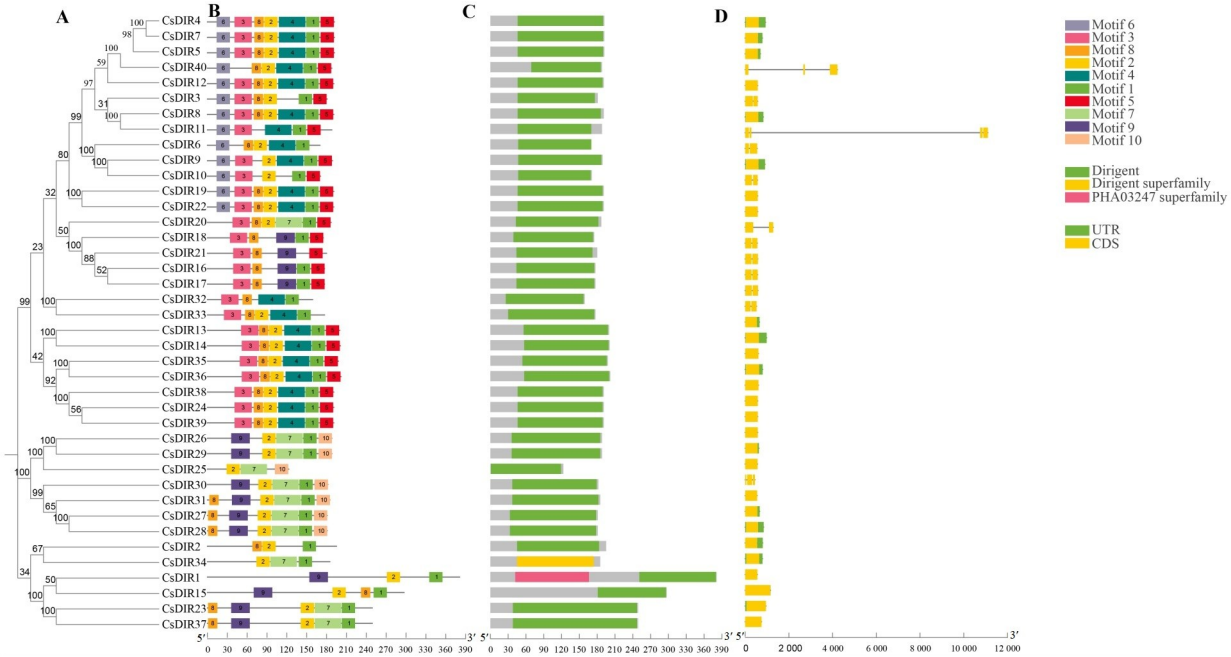
拟南芥中的 2 个 *DIR* 基因存在共线性关系。上述结果表明这 17 对基因可能在 *DIR* 基因家族进化过程中发挥了重要作用。

2.7 *CsDIR* 基因家族成员启动子顺式作用元件分析

为研究 *CsDIR* 基因家族的调控作用，对 *CsDIR* 基因上游 2 000 bp 启动子区域的顺式作用元件进行预测和分析（图 6）。40 个 *CsDIR* 基因启动子共筛选到 15 种启动子顺式作用元件。植物激素和胁迫响应元件在该家族基因启动子区域中分布广泛。其中，28 个 *CsDIR* 基因启动子区域均含有乙烯响应元件（ERE），26 个 *CsDIR* 基因启动子区域含有脱落酸响应元件（ABRE），25 个 *CsDIR* 基因启动子区域含有茉莉酸响应元件（CGTCA-motif），22 个 *CsDIR* 基因启动子区域含有创伤响应元件（WUN-motif），20 个 *CsDIR* 基因启动子区域含有病原菌响应元件（W-box），18 个 *CsDIR* 基因启动子区域含有赤霉素响应元件（GARE-motif、P-box 和 TATC-box），11 个 *CsDIR* 基因启动子区域含有低温响应元件（LTR），9 个 *CsDIR* 基因启动子区域含有水杨酸响应元件（TCA-element），9 个 *CsDIR* 基因启动子区域含有防御和应激反应元件（TC-rich），8 个 *CsDIR* 基因启动子区域含有干旱响应元件（MBS），7 个 *CsDIR* 基因启动子区域含有生长素响应元件（TGA-element 和 AuxRR-core），仅 *CsDIR*38 启动子区域具有光响应及茉莉酸信号交叉调控元件（G-Box），表明大多数 *CsDIR* 基因具有响应激素和环境胁迫的顺式作用元件。

2.8 *CsDIR* 基因家族成员在炭疽病害胁迫下的表达模式

为探究 *CsDIR* 基因在茶树应对茶炭疽病害胁迫时的作用，本研究选取 DIR-a 亚族的 *CsDIR*25、*CsDIR*30 和 *CsDIR*31，DIR-b/d 亚族的 *CsDIR*10、*CsDIR*20、*CsDIR*21、*CsDIR*32、*CsDIR*35、*CsDIR*38 和 *CsDIR*40，DIR-e 亚族的 *CsDIR*2 和 *CsDIR*15 共 12 个基因。通过 qRT-PCR 技术分析 12 个 *CsDIR* 基因在茶树接种茶炭疽菌后不同时间的表达模式。结果（图 7）显示，除 *CsDIR*2 以外，其余 *CsDIR* 基因相对表达量均随着接种时间的增加呈先升高后下降的趋势，在第 3 天时达到峰值。其中，*CsDIR*10、



A. CsDIR 家族成员的系统进化树；**B**. CsDIRs 保守基序；**C**. CsDIRs 保守结构域；**D**. *CsDIRs* 基因结构。

A. Phylogenetic tree of CsDIR family members; **B**. Conserved motifs of CsDIRs; **C**. Conserved domains of CsDIRs; **D**. Gene structures of *CsDIRs*.

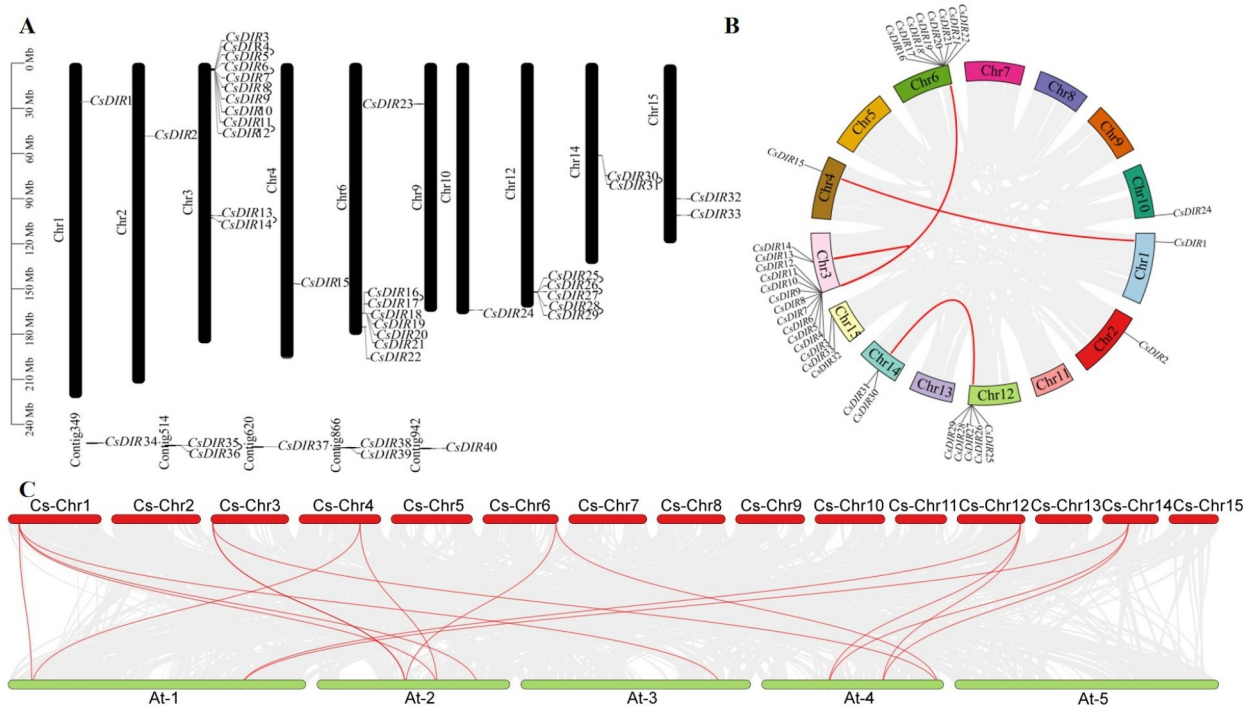
图 4　*CsDIR* 基因家族成员的基因结构、蛋白保守结构域及保守基序分析

Fig. 4　Gene structures, protein conserved domains and conserved motifs of *CsDIR* gene family members

*CsDIR*20、*CsDIR*21、*CsDIR*30 和 *CsDIR*40 相对表达量在接种 3 d 后上调了 100 倍以上。其中，接种 3 d 后 *CsDIR*10 基因相对表达量是接种 0 d 的 345.68 倍，接种 3 d 后 *CsDIR*20 基因相对表达量是接种 0 d 的 263.19 倍，接种 3 d 后 *CsDIR*21 基因相对表达量是接种 0 d 的 328.73 倍，接种 3 d 后 *CsDIR*30 基因相对表达量是接种 0 d 的 100.32 倍，接种 3 d 后 *CsDIR*40 基因相对表达量是接种 0 d 的 121.65 倍，表明这 5 个基因可能在茶树抗茶炭疽病过程中起到非常重要的作用。*CsDIR*2 基因的相对表达量随着接种时间的增加呈下降趋势，表明 *CsDIR*2 基因在茶树抗茶炭疽病过程中可能起到负调控作用。

3　讨论与结论

DIR 基因家族调控木质素和木脂素生物合成过程中氧化偶合反应的立体选择和位置选择，在植物响应生物胁迫和非生物胁迫时发挥重要作用（陈煜等，2022）。目前，已从多种植物中鉴定到 *DIR* 基因，如紫花苜蓿（*Medicago sativa*）（52 个）（马永龙等，2025）、谷子（*Setaria italica*）（41 个）（赵玉雪等，2024）、拟南芥（27 个）（Kim et al.，2012）、辣椒（24 个）（Khan et al.，2018）和菘蓝（19 个）（Li et al.，2014）。本研究在茶树基因组中筛选获得 40 个 *DIR* 基因，表明不同物种间 *DIR* 数量存在较大差异。理化性质分析发现，97.5% 的 CsDIR 蛋白是稳定蛋白，表明它们可能在应对长期的逆境胁迫时发挥重要作用。此外，87.5% 的 CsDIR 蛋白是疏水蛋白，表明它们可能定位于细胞的膜系统，如叶绿体或内质网膜等，这与玉米（秦涛等，2025）中相关研究结果相似。亚细胞定位结果显示，CsDIRs 定位在叶绿体、细胞外间隙、细胞质、液泡和内质网中，这表明 CsDIR 家族可能在不同环境下发挥不同的生物学功能，在紫花苜蓿（马永龙等，2025）和马铃薯（*Solanum tuberosum*）（张益瑄等，2025）的有关研究中同样有此结论。本研究发现茶树 *DIR* 家族存在 12 对串联重复基因，占所有基因的 52.5%。拟南芥中串联重复基因占比为 60%，进化过程中 *DIR* 基因家族的扩展在不同



A. *CsDIR* 家族成员染色体定位；**B**. *CsDIRs* 种内共线性分析；**C**. 茶树和拟南芥 *DIR* 基因家族成员的种间共线性分析。
A. Chromosomal localization of *CsDIR* family members; **B**. Intraspecific colinearity analysis of *CsDIRs*; **C**. Interspecific colinearity analysis of *DIR* gene family members between *Camellia sinensis* and *Arabidopsis thaliana*.

图 5 *CsDIR* 基因家族成员染色体定位分析及物种间共线性分析

Fig. 5 Chromosomal localization analysis and interspecific colinearity analysis of *CsDIR* gene family members

物种之间不同。串联重复在茶树和拟南芥的 *DIR* 家族扩增中发挥了重要作用。

茶树 DIRs 仅分布在 3 个亚族中(DIR-a、DIR-b/d 和 DIR-e),其中 DIR-b/d 亚族包含成员最多,该结果与同属于双子叶植物的拟南芥和毛果杨 DIRs 的系统进化分组情况相似,而 DIR-c 和 DIR-g 这两个亚族只含有水稻 DIRs,这表明单子叶植物水稻和双子叶植物茶树、毛果杨和拟南芥在分化后可能具有不同的进化模式。Liu 等(2021)研究表明,在棉花中,DIR-b/d 亚族基因占比高达 75% 以上,远大于云杉(*Picea asperata*)(34.3%)(Ralph et al., 2007)、水稻(20.4%)和辣椒(50.0%),说明 DIR-b/d 亚族在棉花中进化较快,在棉花应对逆境胁迫过程中可能具有重要作用。本研究中,茶树的 DIR-b/d 亚族基因占比为 67.5%,也大于云杉和水稻等,说明 DIR-b/d 亚族在茶树应对逆境胁迫过程中也可能具有重要作用。同一亚族 CsDIRs 保守基序的分布和排列相似,一些保守基序特异性地存在于一些 DIR 亚族中,导致了 DIR-a、DIR-b/d 和 DIR-e 亚族之间的分化,保守基序的特异性可能与同一亚族成员间的功能保守性相关。上述结果与毛果杨和透骨草(*Phryma leptostachya*)(Pei et al., 2023)保守基序的分布和排列结果相似。大部分茶树 *DIR* 家族成员仅含有 1 个外显子,无内含子,这与马铃薯(张益瑄等,2025)、紫花苜蓿(马永龙等,2025)和谷子(赵玉雪等,2024)*DIR* 家族的基因结构类似。CsDIR 蛋白的延伸链和无规则卷曲占比较高,这与厚朴(*Houpoea officinalis*)(张柏年等,2024)和朝仓花椒(*Zanthoxylum piperitum* var. *inerme*)(陈炳竹等,2020)DIR 蛋白的二级结构预测结果一致,延伸链和无规则卷曲赋予蛋白质高度柔性和构象可变性并提高空间利用效率,使其能够与多种底物结合并参与多样的生物学过程。CsDIR 蛋白均含有保守的由 8 条反向平行的 β-折叠组成的 β-桶,这与透骨草和木豆(*Cajanus cajan*)(Dokka et al., 2024)DIR 蛋白的三

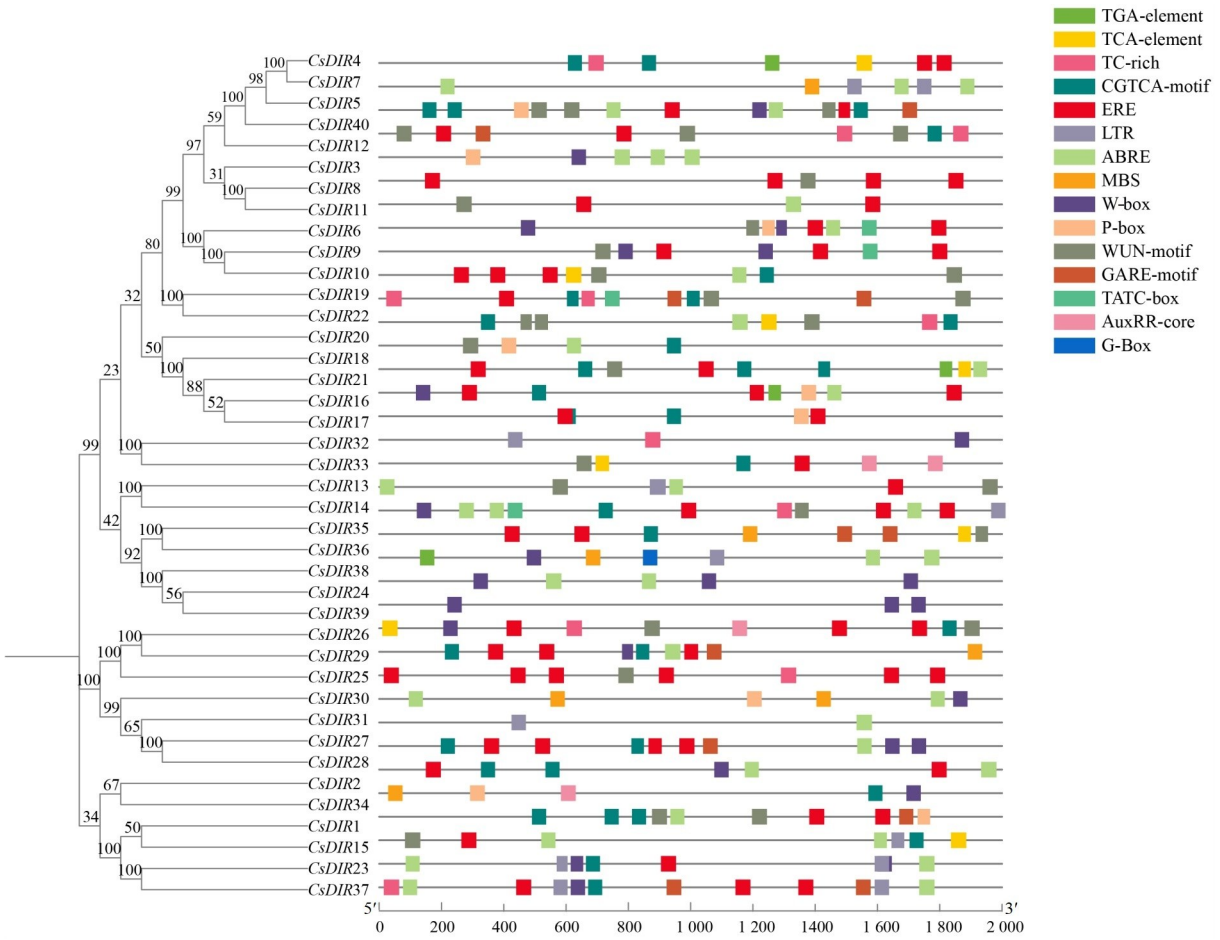
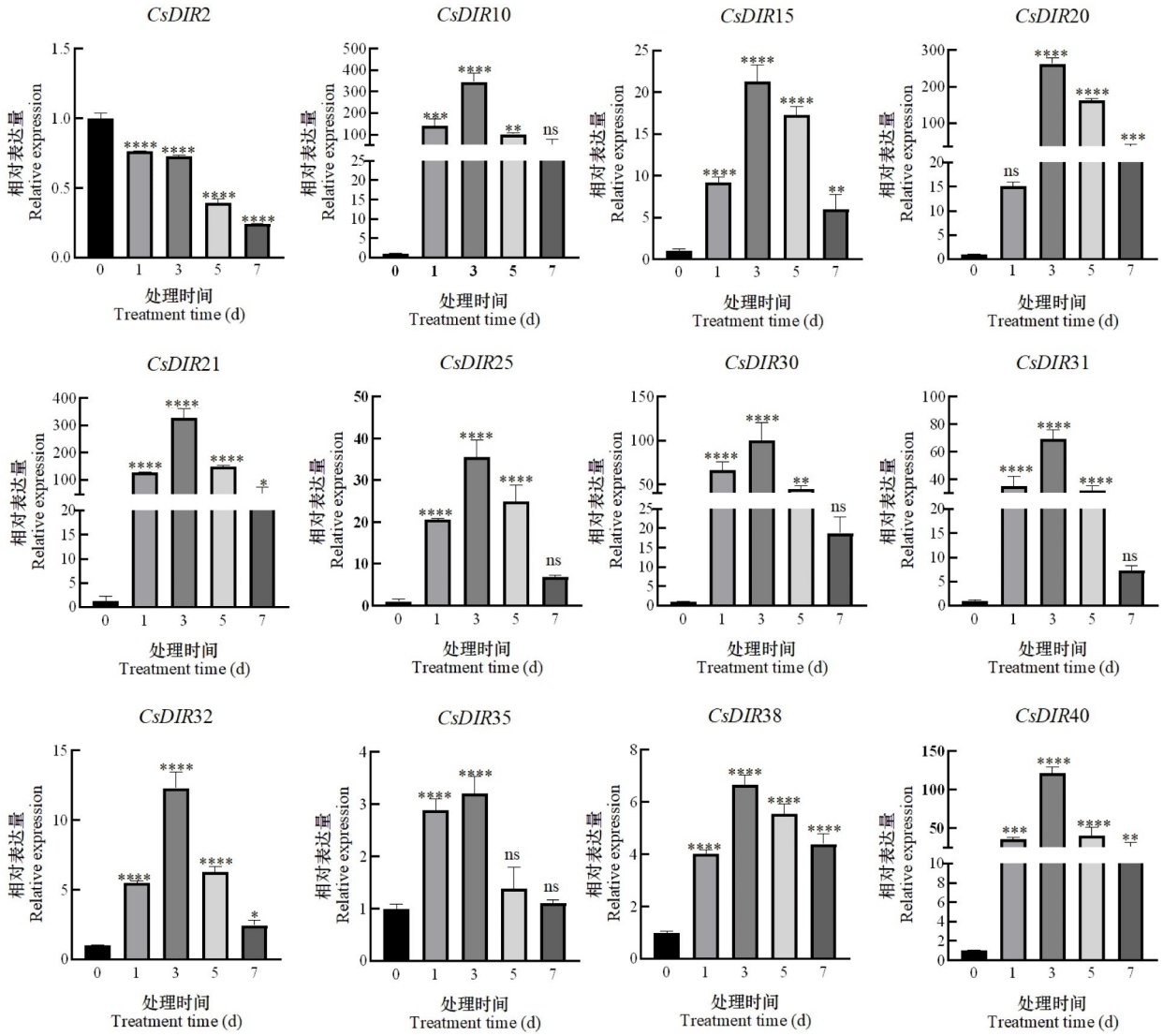


图 6　*CsDIR* 基因家族成员的启动子顺式作用元件

Fig. 6　Promoter *cis*-acting elements of *CsDIR* gene family members

级结构建模结果吻合，大部分 CsDIR 蛋白还具有 N 端尾部结构，这一结构可使其更高效地发挥底物引导作用。

本研究分析 *CsDIR* 家族成员接种茶炭疽菌后的表达模式发现，11 个 *CsDIRs* 基因在接种 1 d 后即被诱导表达，且在接种 3 d 时达到最大值，总体呈现先增高后降低的趋势。与本研究结果相似的是，大豆中的 *GmDIR22*（Li et al.，2017）、辣椒中的 *CaDIR7*（Khan et al.，2018）和三七中的 *PnDIR1*（关瑞攀，2018）等在植物抵抗病原菌侵害过程中同样发挥正向调控作用。沙金兰等（2025）研究发现，受炭疽病侵染的辣椒中与木质素合成相关的基因（如 *CaLAC1*、*CaLAC3*、*CaLAC13*、*CaLAC14* 和 *CaLAC18*）的表达量明显上调。大部分 DIR 家族蛋白均参与木脂素和木质素的合成（Ma & Liu，2015），本研究同样发现受炭疽病侵染后的茶树中与木质素合成相关的基因（如 *CsDIR10*、*CsDIR20*、*CsDIR21*、*CsDIR30* 和 *CsDIR40*）的表达量明显上调，推测这些基因可能与茶树的抗病应激反应密切相关，在炭疽病侵染时期，这几个基因存在一定的协同效应，共同抵御炭疽病的侵染。*CsDIR* 基因的 GO 富集分析表明，这些家族基因涉及防御反应、油菜素内酯、甾醇、木质素和松脂醇生物合成。王茹苹（2024）研究表明，接种青枯菌（*Ralstonia solanacearum*）后 *NbDIR27* 沉默的植物叶叶盘的叶绿素含量较野生型显著下降，过表达植物的叶片出现叶绿素的增加。提高茶树叶片的叶绿素含量，为增强茶树的抗病能力奠定了良好的物质基础（徐超等，2024）。亚细胞定位预测 CsDIRs 大多数定位于叶绿体，说明 CsDIRs 可能在光合作用中发挥重要作用以抵御炭疽病侵染。*CsDIR* 家族基因启动子还存在众多响应激素，以及参与生物胁



数值为基于 3 次重复实验的平均值±标准差。每个点与 0 d 组进行比较,并使用 *t* 检验计算显著性(ns 表示没有显著性差异, * 表示 $P<0.05$, ** 表示 $P<0.01$, *** 表示 $P<0.001$, **** 表示 $P<0.000\ 1$)。

Values are $\bar{x}\pm s$ based on 3 repeated experiments. Each point and 0 d group is compared and significance is calculated using the *t*-test(ns indicates no significant difference, * indicates $P<0.05$, ** indicates $P<0.01$, *** indicates $P<0.001$, **** indicates $P<0.000\ 1$).

图 7 *CsDIR* 基因家族部分成员在茶炭疽病处理下的定量表达分析

Fig. 7 Quantitative expression analysis of some members of *CsDIR* gene family under tea anthracnose treatment

迫与非生物胁迫的顺式作用元件,说明 *CsDIR* 基因在茶树生长发育与非生物胁迫方面发挥着重要作用。如需全面解读茶树 *DIR* 基因对逆境响应的表达模式,可结合启动子的生物学功能作进一步的关联分析和鉴定。

本研究筛选获得 40 个茶树 *DIR* 基因,预测并分析其进化树关系、基因和蛋白的结构、亚细胞定位及茶炭疽病胁迫下表达模式分析等,为进一步探究茶树 *DIR* 基因家族功能特性提供一定的理论依据。

参考文献:

Artimo P, Jonnalagedda M, Arnold K, et al., 2012. ExPASy: SIB bioinformatics resource portal [J]. Nucleic Acids Research, 40(Web Server Issue): W597-W603.

Bailey T L, Williams N, Misleh C, et al., 2006. MEME:

discovering and analyzing DNA and protein sequence motifs [J]. Nucleic Acids Research, 34 (Web Server Issue): W369-W373.

Chen B Z, Wang R Y, Zhao Y C, et al., 2020. Identification and analysis of *DIR* gene family in *Zanthoxylum piperitum* DC. var. *inerme* Makino [J]. Journal of Mountain Agriculture and Biology, 39(2): 21-26. [陈炳竹, 王润英, 赵懿琛, 等, 2020. 朝仓花椒 DIR 基因家族的鉴定及分析 [J]. 山地农业生物学报, 39(2): 21-26.]

Chen C J, Chen H, Zhang Y, et al., 2020. TBtools: an integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data [J]. Molecular Plant, 13(8): 1194-1202.

Chen Y, Liu J S, Mu X L, et al., 2022. Research progress in *DIR* gene of lignan biosynthesis in medicinal plants [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 47(11): 2890-2898. [陈煜, 刘久石, 穆新路, 等, 2022. 药用植物中木脂素生物合成 *DIR* 基因研究进展 [J]. 中国中药杂志, 47(11): 2890-2898.]

Dokka N, Tyagi S, Ramkumar M K, et al., 2024. Genome-wide identification and characterization of DIRIGENT gene family (*CcDIR*) in pigeonpea (*Cajanus cajan* L.) provide insights on their spatial expression pattern and relevance to stress response [J]. Gene, 914: 148417-148429.

Farag M A, Elmetwally F, Elghanam R, et al., 2023. Metabolomics in tea products; a compile of applications for enhancing agricultural traits and quality control analysis of *Camellia sinensis* [J]. Food Chemistry, 404: 134628.

Finn R D, Coggill P, Eberhardt R Y, et al., 2016. The Pfam protein families database: towards a more sustainable future [J]. Nucleic Acids Research, 44(D1): D279-D285.

Guan R P, 2018. Molecular mechanism of *Dirigent* genes involved in the interaction of *Panax notoginseng-Fusarium solani* [D]. Kunming: Kunming University of Science and Technology. [关瑞攀, 2018. *Dirigent* 基因参与三七—茄腐镰刀菌互作的分子机理研究 [D]. 昆明: 昆明理工大学.]

Horton P, Park K J, Obayashi T, et al., 2007. WoLF PSORT: protein localization predictor [J]. Nucleic Acids Research, 35(Web Server Issue): W585-W587.

Khan A, Li R J, Sun J T, et al., 2018. Genome-wide analysis of dirigent gene family in pepper (*Capsicum annuum* L.) and characterization of *CaDIR*7 in biotic and abiotic stresses [J]. Scientific Reports, 8(1): 5500.

Kim K W, Moinuddin S G A, Atwell K M, et al., 2012. Opposite stereoselectivities of dirigent proteins in *Arabidopsis* and *Schizandra* species [J]. Journal of Biological Chemistry, 287(41): 33957-33972.

Li N H, Zhao M, Liu T F, et al., 2017. A novel soybean dirigent gene *GmDIR*22 contributes to promotion of lignan biosynthesis and enhances resistance to *Phytophthora sojae* [J]. Frontiers in Plant Science, 8: 1185.

Li Q, Chen J F, Xiao Y, et al., 2014. The dirigent multigene family in *Isatis indigotica*: gene discovery and differential transcript abundance [J]. BMC Genomics, 15(1): 388.

Liu Z W, Wang X F, Sun Z W, et al., 2021. Evolution, expression and functional analysis of cultivated allotetraploid cotton *DIR* genes [J]. BMC Plant Biology, 21(1): 89.

Ma Q H, Liu Y C, 2015. TaDIR137, a dirigent protein from wheat, promotes lignan biosynthesis and enhances pathogen resistance [J]. Plant Molecular Biology Reporter, 33(1): 143-152.

Ma Y L, Wang X T, Li X H, et al., 2025. Identification and analysis of members of the *DIR* gene family in alfalfa [J]. Pratacultural Science, 42(12): 3069-3085. [马永龙, 王晓彤, 李小红, 等, 2025. 紫花苜蓿 *DIR* 基因家族成员的鉴定与分析 [J]. 草业科学, 42(12): 3069-3085.]

Mistry J, Chuguransky S, Williams L, et al., 2020. Pfam: The protein families database in 2021 [J]. Nucleic Acids Research, 49(D1): D412-D419.

Mo F L, Zhang N, Qu Y W, et al., 2021. Molecular characterization, gene evolution and expression analysis of the F-Box gene family in tomato (*Solanum lycopersicum*) [J]. Genes, 12(3): 417.

Pei Y K, Cao W H, Yu W W, et al., 2023. Identification and functional characterization of the dirigent gene family in *Phryma leptostachya* and the contribution of *PlDIR*1 in lignan biosynthesis [J]. BMC Plant Biology, 23(1): 291.

Qin T, Wang H, Zhao Z X, et al., 2025. Genome-wide identification of the *DIR* gene family in maize and functional characterization of *ZmDIR*17 gene in grain development [J]. Acta Agriculturae Shanghai, 41 (3): 1-15. [秦涛, 王慧, 赵志雄, 等, 2025. 玉米 *DIR* 基因家族的全基因组鉴定及 *ZmDIR*17 基因在籽粒发育中的功能解析 [J]. 上海农业学报, 41(3): 1-15.]

Ralph G S, Jancsik S, Bohlmann J, et al., 2007. Dirigent proteins in conifer defense Ⅱ: Extended gene discovery, phylogeny, and constitutive and stress-induced gene expression in spruce (*Picea* spp.) [J]. Phytochemistry, 68(14): 1975-1991.

Sha J L, Shuai L, Yin F L, et al., 2025. Genome-wide identification of laccase gene family and responses to *Colletotrichum* infection in postharvest pepper [J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 39(12): 2643-2654. [沙金兰, 帅良, 殷菲胧, 等, 2025. 辣椒漆酶基因家族的鉴定及其对炭疽菌侵染的响应 [J]. 核农学报, 39(12): 2643-2654.]

Shi H Y, Liu Z H, Zhu L, et al., 2012. Overexpression of cotton (*Gossypium hirsutum*) *dirigent1* gene enhances lignification that blocks the spread of *Verticillium dahliae* [J]. Acta Biochimica et Biophysica Sinica, 44(7): 555-564.

Wang R P, 2024. Expression of *StDIR27* regulated by transcription factor *StTCP14* enhances resistance to *Ralstonia solanacearum* [D]. Taiyuan: Shanxi Normal University. [王茹苹, 2024. 转录因子 *StTCP14* 调控 *StDIR27* 表达增强对青枯菌的抗性 [D]. 太原: 山西师范大学.]

Wang Y P, Tang H B, DeBarry J D, et al., 2012. MCScanX: a toolkit for detection and evolutionary analysis of gene synteny and collinearity [J]. Nucleic Acids Research, 40(7): e49.

Wang Y Y, Cao Y B, Liang X Y, et al., 2022. A dirigent family protein confers variation of Casparian strip thickness and salt tolerance in maize [J]. Nature Communications, 13(1): 2222.

Wu R H, Wang L L, Wang Z, et al., 2008. Cloning and expression of the guidance protein gene of the resurrection plant *Boea hygrometrica* [J]. Progress in Natural Science, 18(10): 1111-1118. [吴仁花, 王丽丽, 王智, 等, 2008. 复苏植物牛耳草引导蛋白基因的克隆与表达 [J]. 自然科学进展, 18(10): 1111-1118.]

Wu Y Q, Song X F, Deng J T Y, et al., 2023. Isolation and transcription activation analysis of *CsbHLH71* gene in *Camellia sinensis* [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 43(1): 37-44. [吴应奇, 宋小凤, 邓见田烨, 等, 2023. 茶树 *CsbHLH71* 基因克隆及转录活性分析 [J]. 西北植物学报, 43(1): 37-44.]

Xu C, Zhang H Y, Wu M Z, et al., 2024. Effect of excellent biocontrol agents on tea anthracnose and its underlying disease resistance mechanism [J]. Journal of Agricultural Catastrophology, 14(10): 34-36. [徐超, 张红岩, 巫茂珍, 等, 2024. 优良生防菌剂对茶树炭疽病的影响及其抗病机理 [J]. 农业灾害研究, 14(10): 34-36.]

Xu X H, Ye X L, Xing A Q, et al., 2022. Functional analysis of small GTPase gene *CsRAC5* in *Camellia sinensis* under abiotic stresses [J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 45(3): 503-510. [徐晓寒, 叶小丽, 邢安琪, 等, 2022. 非生物胁迫下茶树小 G 蛋白基因 *CsRAC5* 的功能分析 [J]. 南京农业大学学报, 45(3): 503-510.]

Zhang B N, Zhao M H, Tian H, et al., 2024. Mining and bioinformatics analysis of Houpo (*Houpoea officinalis*) *Dirigent* gene families [J]. Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine, 42(1): 189-193, 275-277. [张柏年, 赵明海, 田徽, 等, 2024. 厚朴 *Dirigent* 基因家族的挖掘与生物信息学分析 [J]. 中华中医药学刊, 42(1): 189-193, 275-277.]

Zhang Y D, Tan L, Ren Z H, et al., 2023. Screening, identification and determination of antagonistic actinomycetes strain against tea anthracnose [J]. Chinese Journal of Biological Control, 39(3): 646-656. [张玉丹, 谭琳, 任佐华, 等, 2023. 茶炭疽病拮抗链霉菌的筛选鉴定与拮抗能力测定 [J]. 中国生物防治学报, 39(3): 646-656.]

Zhang Y X, Ma Y, Wang T T, et al., 2025. Genome-wide identification and expression profiles of *DIR* gene family in potato [J]. Biotechnology Bulletin, 41(3): 123-136. [张益瑄, 马宇, 王童童, 等, 2025. 马铃薯 *DIR* 家族全基因组鉴定及表达模式分析 [J]. 生物技术通报, 41(3): 123-136.]

Zhao Y X, Ren X J, Li Y, et al., 2024. Genome-wide identification of *Dirigent* gene family and analysis in *Setaria italica* [J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 38(9): 1647-1660. [赵玉雪, 任学军, 李云, 等, 2024. 谷子 *Dirigent* 家族基因鉴定与分析 [J]. 核农学报, 38(9): 1647-1660.]

Zulfiqar F, Ashraf M, 2022. Proline alleviates abiotic stress induced oxidative stress in plants [J]. Journal of Plant Growth Regulation, 42(8): 4629-4651.

(责任编辑 周翠鸣)