

任锐, 张涵, 江文洁, 等. 百香果 SPL 转录因子家族成员鉴定及其对低温胁迫的响应[J]. 江苏农业学报, 2024, 40(7): 1320-1329.
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2024.07.019

百香果 SPL 转录因子家族成员鉴定及其对低温胁迫的响应

任锐, 张涵, 江文洁, 潘佳怡, 方庭

(福建农林大学园艺学院/福建农林大学园艺植物遗传育种研究所, 福建 福州 350002)

摘要: SPL(SQUAMOSA 启动子结合类蛋白质)是一类特异存在于植物中的转录因子,参与植物生长发育的多个过程。为明确百香果 SPL 转录因子家族成员特征及其对低温胁迫的响应,本研究利用生物信息学方法和百香果基因组数据,对百香果 SPL 家族基因的结构、染色体分布、共线性关系及其编码蛋白质理化性质、进化关系进行分析,并通过低温和常温处理明确了百香果幼苗叶片 SPL 家族基因的相对表达量差异。结果表明,从百香果基因组中鉴定出 19 个 SPL 家族成员,分布于 7 条染色体上,其中包含 3 对共线性基因对。系统进化分析结果显示该家族分为 9 个亚族。百香果 *PeSPL* 基因启动子区域存在大量激素响应元件和逆境胁迫响应元件。低温胁迫下,百香果 *PeSPL2*、*PeSPL3*、*PeSPL6*、*PeSPL7*、*PeSPL8* 和 *PeSPL9* 6 个基因的相对表达量极显著上升,*PeSPL13* 和 *PeSPL18* 2 个基因的相对表达量显著下降。本研究结果可为进一步揭示百香果 SPL 基因对低温胁迫的响应机制提供依据。

关键词: 百香果; SPL 基因家族; 低温胁迫; 表达分析

中图分类号: S667.9 文献标识码: A 文章编号: 1000-4440(2024)07-1320-10

Identification of SPL transcription factor gene family members and their response to cold stress in passion fruit

REN Rui, ZHANG Han, JIANG Wenjie, PAN Jiayi, FANG Ting

(College of Horticulture, Fujian Agriculture and Forestry University/Institute of Horticultural Plant Genetics and Breeding, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

Abstract: SPL (SQUAMOSA promoter-binding protein-like) is a plant-specific transcription factor that participates in many processes of plant growth and development. In order to clarify the characteristics of SPL transcription factor family members and their response to low temperature stress in passion fruit, bioinformatics methods and genome data of passion fruit were used to analyze the structure, chromosome distribution, collinear relationship of SPL family genes in passion fruit, as well as the physicochemical properties and evolutionary relationship of SPL family genes encoded proteins. The relative expression differences of SPL family genes in the leaves of passion fruit seedlings were clarified by low temperature treatment and normal temperature treatment. The results showed that 19 SPL family members were identified from the genome of passion fruit, which were distributed on seven chromosomes, including three pairs of collinear gene pairs. SPL gene family of passion fruit was divided into nine branches according to results of phylogenetic tree. There were many *cis*-acting elements in the promoter region of *PeSPL* genes of passion fruit, which responded to hormones and stress. Under low temperature stress, the relative expression levels of *PeSPL2*, *PeSPL3*, *PeSPL6*, *PeSPL7*, *PeSPL8* and *PeSPL9* were extremely significantly in-

收稿日期: 2023-10-03

基金项目: 福建省自然科学基金项目(2021J05022); 福建省种业创新与产业化工程项目(zycxny2021010); 福建省高原学科建设经费(102/71201801101)

作者简介: 任锐(1999-), 男, 四川绵阳人, 硕士研究生, 主要从事果树遗传育种方面的研究。(Tel) 15984657508; (E-mail) 1064567258@qq.com

通讯作者: 方庭, (Tel) 15927275983, (E-mail) fangting@fafu.edu.cn

genome of passion fruit, which were distributed on seven chromosomes, including three pairs of collinear gene pairs. SPL gene family of passion fruit was divided into nine branches according to results of phylogenetic tree. There were many *cis*-acting elements in the promoter region of *PeSPL* genes of passion fruit, which responded to hormones and stress. Under low temperature stress, the relative expression levels of *PeSPL2*, *PeSPL3*, *PeSPL6*, *PeSPL7*, *PeSPL8* and *PeSPL9* were extremely significantly in-

creased, and the relative expression levels of *PeSPL13* and *PeSPL18* were significantly decreased. The results of this study can provide a basis for further revealing the response mechanism of passion fruit *SPL* gene to low temperature stress.

Key words: passion fruit; *SPL* gene family; cold stress; expression analysis

SPL (SQUAMOSA 启动子结合类蛋白质) 又称为 SBP-box 蛋白 (SQUAMOSA promoter binding protein), 是绿色植物特有的一类转录因子, 在植物生长发育、激素响应、光信号转导等方面发挥重要作用^[1-2]。1996 年, Klein 等^[3] 从金鱼草中发现并首先分离出 *SPL* 基因 *AmSBP1* 和 *AmSBP2*, 因其编码蛋白质可与花发育基因 *SQUAMOSA* 的启动子结合, 因此被命名为 SQUAMOSA 启动子结合类蛋白质 (SBP)^[4]。

目前, 拟南芥^[5]、水稻^[6]、马尾松^[7]、番茄^[8]、苹果^[9]、草莓^[10] 和甜橙^[11] 等植物中 *SPL* 家族基因的成员已经得到鉴定, 并分别鉴定出 17 个、19 个、11 个、15 个、27 个、14 个、15 个 *SPL* 成员。*SPL* 基因在植物生长发育中起重要的调控作用^[12-18]。*AtSPL8* 通过影响赤霉素 (GA) 合成和花药发育来调节拟南芥生长发育过程^[16]。*AtSPL3* 基因的组成型表达会导致拟南芥植株的花期提前^[5]。*AtSPL2* 和 *AtSPL11* 基因能调控拟南芥的开花过程^[19]。Stone 等^[18] 研究发现, *AtSPL14* 不仅能调控植物对伏马菌素 B1 的抗性, 还能影响到拟南芥的株型结构。此外, *SPL* 基因在植物响应非生物胁迫方面也发挥着重要作用。在拟南芥中过表达中国野生葡萄资源的 *VpSBP16* 基因可提高其耐盐和抗干旱能力^[20]; 拟南芥中 *miR156-SPL9-DFR* 通路协同调控植物生长与非生物胁迫响应之间的关系^[19]; 茶树中多个 *SBP* 基因的表达量在低温处理后呈现显著上调^[21]。

百香果 (*Passiflora edulis* Sims) 是西番莲科西番莲属藤本植物, 又被称作鸡蛋果和西番莲等, 其果实香气浓郁且富含多酚类化合物、生物碱以及黄酮类化合物等多种对人体有益的活性成分, 具有较高的食用价值和药用价值^[22-24]。由于百香果原产于南美洲的热带地区, 抗寒能力较差, 低温冷害已成为世界各国百香果产业发展的重要限制因子^[25-26]。因此, 对百香果 *SPL* 基因家族成员进行鉴定及对其低温胁迫下的表达特征进行分析, 可为百香果 *SPL* 基因的抗寒功能研究及耐低温百香果品种选育提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 植物材料

2023 年 5 月 20 日在福建农林大学园艺植物遗传育种实验室选取 6 株长势基本一致的 3 个月苗龄台农百香果幼苗作为试验材料, 其中 3 株放入人工气候箱进行 4 °C 低温胁迫处理 8 h, 另外 3 株置于 25 °C 环境下培养, 其他条件与低温处理组一致, 8 h 后取各植株中上部叶片, 迅速置于液氮中冷冻, 于 -80 °C 冰箱保存, 用于基因表达模式分析。

1.2 百香果 *SPL* 基因家族成员的鉴定

拟南芥 *SPL* 蛋白序列下载自拟南芥基因组数据库 TAIR (<https://www.arabidopsis.org/>), 百香果基因组序列下载自国家基因库生命大数据平台 (CNGBdb)^[24]。以模式植物拟南芥的 *SPL* 基因的编码蛋白序列为模板, 利用 Tbttools 软件设定 E 值 < 1×10^{-5} , 在百香果的蛋白质数据库^[24] 中进行同源对比, 得到百香果 *SPL* 基因家族候选序列, 进一步利用 NCBI-CCD 和 Pfam 数据库对候选序列进行 SBP-box 结构域完整性的鉴定。

1.3 百香果 *SPL* 家族基因编码蛋白质理化性质及亚细胞定位

利用 Tbttools 软件进行百香果 *SPL* 家族基因编码蛋白质的理化性质预测。利用在线网站 WoLFP-SORT (<https://wolfsort.hgc.jp>) 进行百香果 *SPL* 家族基因编码蛋白质的亚细胞定位。

1.4 百香果 *SPL* 基因家族成员基因结构及蛋白质保守基序分析

利用在线网站 GSDS2.0 (<http://gsds.gao-lab.org/>) 分析百香果 *SPL* 家族基因的结构。利用 MEME 网站 (<https://meme-suite.org/meme/tools/meme>) 分析百香果 *SPL* 家族成员编码蛋白质的保守基序, 并利用 Tbttools 软件进行结果的可视化表达。

1.5 百香果 *SPL* 家族系统进化树构建及分析

设置自展系数 (Bootstrap) 为 1 000 次, 利用 MEGA7 软件采用邻近法 (Neighbor-joining method) 进行百香果和拟南芥的 *SPL* 家族成员系统进化树构建。

1.6 百香果 *SPL* 家族基因染色体定位及共线性分析

利用 TBtools 软件进行百香果 *SPL* 基因的染色体定位和基因共线性分析。

1.7 百香果 *SPL* 家族基因启动子顺式作用元件分析

提取百香果 *SPL* 基因起始密码子前 2 000 bp 片段作为启动子序列,利用 PlantCARE 在线网站 (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>) 进行顺式作用元件预测分析,并利用 TBtools 软件进行数据可视化表达。

1.8 百香果 *SPL* 家族基因低温胁迫响应分析

参照 Redzol 试剂盒[赛百盛(北京)基因技术有限公司]说明书提取台农百香果叶片的总 RNA,并

用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 的质量。使用 Code AH341-01 反转录试剂盒(北京全式金生物技术股份有限公司产品)将台农百香果 RNA 反转录为 cDNA,于 -80 °C 保存备用。以 *Pe60S* 基因^[27] 为内参基因,SYBR Green I Master Mix 为 PCR 扩增预混液[宝日医生物技术(北京)有限公司产品],利用 LightCycler 96 实时定量 PCR 系统(瑞士 Hoffmann-La Roche 有限公司产品)检测常温和低温处理下百香果叶 *SPL* 基因的表达水平,所用引物序列见表 1。使用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法^[28] 计算 *SPL* 基因的相对表达量,利用 SPSS 软件中的 Duncan's 新复极差法进行不同处理 *SPL* 基因相对表达量的差异显著性分析。

表 1 百香果 *SPL* 家族基因实时荧光定量 PCR 引物

Table 1 Primers of quantitative real-time PCR for *SPL* family genes in passion fruit

基因	正向序列(5'→3')	反向序列(5'→3')
<i>Pe60S</i>	AGGTGGGTAACAGGATTATC	TGGCTGTCTTTTGGTGCTG
<i>PeSPL1</i>	GCCCTTCTGCAGGTGGAG	ATGCAGGTTTCGGAGGGC
<i>PeSPL2</i>	ACCCAATTCGTGAGCGGG	ACATACCGCACGGCTCAC
<i>PeSPL3</i>	GCCACGTCCAATCCCAA	AGCTTCGTCTCCCGGAT
<i>PeSPL4</i>	ACCGGACGTGCTCTCTCT	CATGCAACGCAGCGCTAG
<i>PeSPL5</i>	CAAGGAGCCAGCGTCCAA	GCTGGGCCAGGAACCAAG
<i>PeSPL6</i>	GGATCCCCTTCCACGTGC	GGACACCTCCTCGTTGC
<i>PeSPL7</i>	TCCTCATCATGACGCCGC	CCCTGAATGCTGGCAGCT
<i>PeSPL8</i>	GACTCAGCCCAAGCCTGG	CTTCCACCTGGCACCTGG
<i>PeSPL9</i>	TTGGCAGCCCAGTACAGC	AGCAACCCCTGGCAATCC
<i>PeSPL10</i>	AGGAACGGGTACGGGTGA	AGCAGAACAGCACTCGCA
<i>PeSPL11</i>	ACGCATCCAGAACTCCGC	AGCACAGCCAGAATGCGA
<i>PeSPL12</i>	ACGCATCCAGAACTCCGC	AGCACAGCCAGAATGCGA
<i>PeSPL13</i>	TGGACATAACCGGCGTCCG	TCACAGCCCAAGCAGAGC
<i>PeSPL14</i>	AGCAACGCTTTTGCCAGC	TAAACGTCGCCGCAACT
<i>PeSPL15</i>	GCAGCCTTTTGCCAGCA	CGGCTTGACCTTCTGCA
<i>PeSPL16</i>	TGGGATGGCAGGCAACAG	ACTTGGAACAGCGGAGC
<i>PeSPL17</i>	GGCGAGGGGAAAAGGACC	CCGGCAGCACTGGTTTCT
<i>PeSPL18</i>	AGGAACGGGTACGGGTGA	AGCAGAACAGCACTCGCA
<i>PeSPL19</i>	ACGCATCCAGAACTCCGC	AGCACAGCCAGAATGCGA

2 结果与分析

2.1 百香果 *SPL* 基因家族成员的鉴定

在百香果基因组中共筛选得到 19 个 *SPL* 家族基因,根据其在染色体上的排列顺序分别命名为 *PeSPL1*~*PeSPL19*(表 2)。百香果 *SPL* 家族基因编码

蛋白质的氨基酸数量为 141~1 078 个,相对分子量和等电点分别为 1.613×10^4 ~ 11.971×10^4 和 5.32~9.40,不稳定系数为 41.03~66.19,脂溶指数和亲水性指数分别为 40.14~89.89 和 -1.211~-0.046。除 *PeSPL10* 蛋白定位于细胞质,*PeSPL12* 蛋白定位于叶绿体,其他百香果 *SPL* 家族蛋白均定位于细胞核。

表 2 百香果 SPL 家族基因编码蛋白质理化性质及亚细胞定位

Table 2 Physicochemical properties and subcellular localization of proteins encoded by SPL family genes in *Passiflora edulis*

基因名称	基因登录号	编码蛋白质理化性质及亚细胞定位						
		氨基酸数量 (个)	相对分子量 ($\times 10^4$)	等电点	不稳定系数	脂溶指数	亲水性指数	亚细胞定位
<i>PeSPL1</i>	ZX.01G0031280	1 078	11.971	8.14	61.83	79.11	-0.482	细胞核
<i>PeSPL2</i>	ZX.01G0036050	977	10.827	5.93	44.38	82.52	-0.369	细胞核
<i>PeSPL3</i>	ZX.01G0037860	266	3.023	9.04	64.13	55.08	-0.968	细胞核
<i>PeSPL4</i>	ZX.01G0037870	411	4.527	9.40	41.44	70.07	-0.555	细胞核
<i>PeSPL5</i>	ZX.01G0068510	550	5.926	8.15	52.41	68.95	-0.481	细胞核
<i>PeSPL6</i>	ZX.01G0071260	384	4.260	8.74	58.04	61.25	-0.727	细胞核
<i>PeSPL7</i>	ZX.01G0079100	419	4.535	9.01	59.39	61.74	-0.517	细胞核
<i>PeSPL8</i>	ZX.01G0099620	410	4.458	8.84	55.93	56.88	-0.671	细胞核
<i>PeSPL9</i>	ZX.01G0108100	402	4.463	9.17	60.83	60.90	-0.754	细胞核
<i>PeSPL10</i>	ZX.01G0118020	271	3.153	9.11	59.11	89.89	-0.046	细胞质
<i>PeSPL11</i>	ZX.01G0137510	487	5.360	6.34	49.24	77.06	-0.463	细胞核
<i>PeSPL12</i>	ZX.01G0137590	541	5.950	6.74	43.85	82.87	-0.309	叶绿体
<i>PeSPL13</i>	ZX.02G0023960	382	4.178	8.30	41.03	55.16	-0.685	细胞核
<i>PeSPL14</i>	ZX.02G0025830	141	1.613	7.64	66.19	40.14	-1.211	细胞核
<i>PeSPL15</i>	ZX.03G0011950	206	2.255	9.31	48.14	52.09	-0.969	细胞核
<i>PeSPL16</i>	ZX.05G0004870	482	5.295	7.27	58.93	67.34	-0.659	细胞核
<i>PeSPL17</i>	ZX.06G0012530	175	1.925	5.32	53.21	57.94	-0.598	细胞核
<i>PeSPL18</i>	ZX.07G0021970	562	6.235	9.08	54.02	66.48	-0.594	细胞核
<i>PeSPL19</i>	ZX.09G0018480	206	2.277	9.13	57.55	50.63	-1.049	细胞核

2.2 百香果 SPL 家族基因结构和保守基序 (Motif) 分析

PeSPL 家族基因的结构如图 1 所示。从图中可以看出, *PeSPL* 所有成员均含有内含子和外显子, 但内含子和外显子数量存在较大的差异。 *PeSPL3*、*PeSPL14*、*PeSPL15*、*PeSPL19* 基因各有 1 个内含子, *PeSPL5*、*PeSPL6*、*PeSPL7*、*PeSPL13*、*PeSPL17* 基因各有 2 个内含子, *PeSPL4*、*PeSPL9*、*PeSPL11*、*PeSPL16* 基因各有 3 个内含子, *PeSPL10*、*PeSPL12* 基因各有 5 个内含子, *PeSPL8*、*PeSPL18*、*PeSPL1*、*PeSPL2* 基因分别有 4 个、6 个、9 个和 10 个内含子。 *PeSPL1* 和 *PeSPL2* 基因分别含有 10 个和 11 个外显子, *PeSPL8*、*PeSPL10*、*PeSPL12* 和 *PeSPL18* 基因含有 5~7 个外显子, 其他 13 个基因含有 2~4 个外显子。 *PeSPL* 基因编码蛋白质含有 2~10 个保守基序 (Motif1~Motif10), 其中 *PeSPL11* 和 *PeSPL12* 含有全部 10 个保守基序, 而 *PeSPL17* 蛋白仅有 2 个保守基序 (Mo-

tif1 和 Motif3), 所有基因编码蛋白质均包含保守基序 Motif1 和 Motif3 (图 2)。

2.3 百香果 SPL 家族成员系统进化树构建及分析

拟南芥和百香果 *SPL* 家族基因编码蛋白质的系统进化树如图 3 所示。从图中可以看出, 整个进化树被分为 9 个亚族。除 VII 亚族之外, 其余 8 个亚族都含有百香果 *SPL* 家族成员。其中, I、V、VIII 和 IX 亚族中均含有 3 个百香果 *SPL* 家族成员, 数量最多; 其次是 II、IV 和 VI 亚族, 均含有 2 个百香果 *SPL* 家族成员; III 亚族中仅含有 1 个百香果 *SPL* 家族成员。

2.4 百香果 SPL 家族基因的染色体定位与共线性分析

百香果 *SPL* 家族基因的染色体定位和共线性关系如图 4 所示。19 个 *PeSPL* 基因定位在百香果的 7 条染色体上。其中, 1 号染色体上分布得最多, 有 12 个成员, 2 号染色体上有 2 个成员, 3 号、5 号、

6 号、7 号和 9 号染色体上各有 1 个成员。19 个 *PeSPL* 基因间存在 3 对共线性基因对 (*PeSPL16* 与 *PeSPL18*、*PeSPL6* 与 *PeSPL9*、*PeSPL7* 与 *PeSPL8*)。

上述共线性关系说明百香果 *SPL* 基因家族在进化过程中发生了基因复制,从而导致百香果 *SPL* 家族基因的多样性。

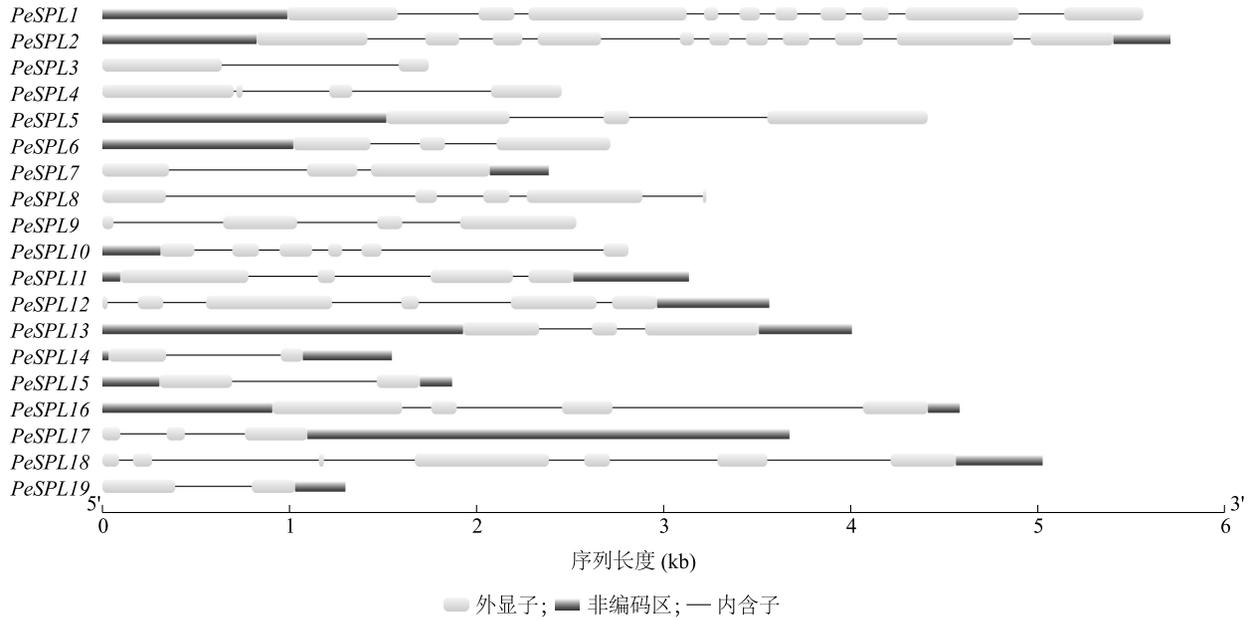


图 1 百香果 *SPL* 家族基因的结构分析

Fig.1 Structure analysis of *SPL* family genes in *Passiflora edulis*

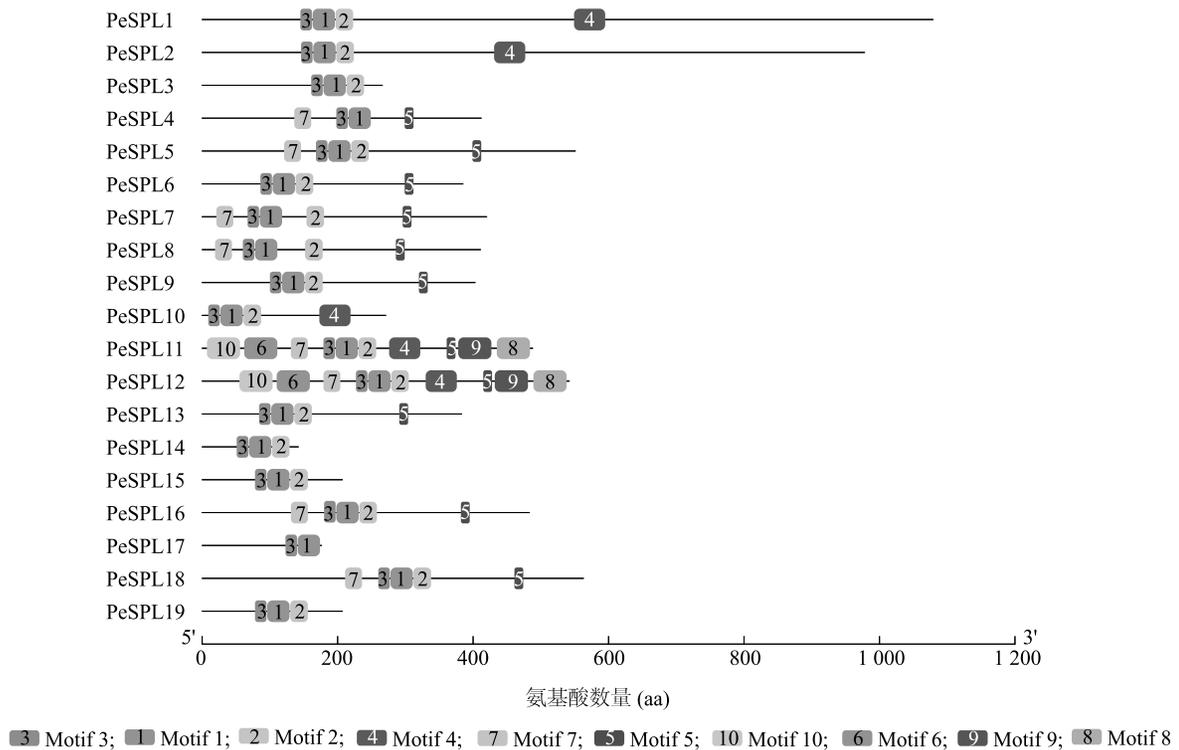
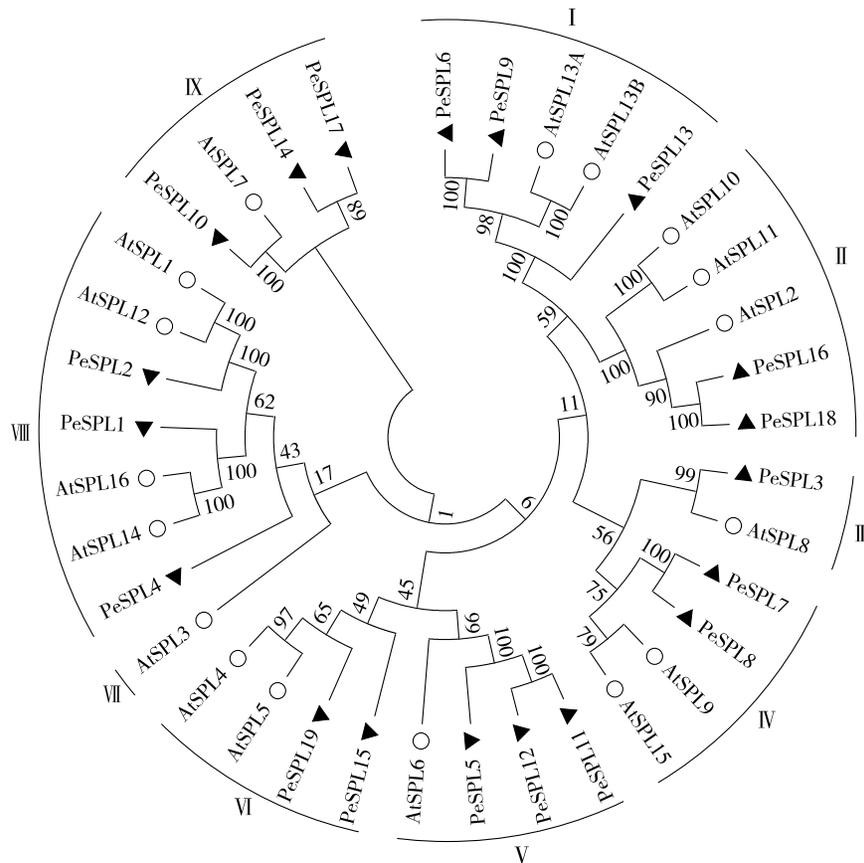


图 2 百香果 *SPL* 家族成员蛋白质保守基序分析

Fig.2 Conservation motif analysis of proteins of passion fruit *SPL* family members



I ~ IX为亚家族序号,图中数据表示自展值。

图3 百香果、拟南芥 SPL 家族成员的系统进化树

Fig.3 Phylogenetic tree of SPL family in passion fruit (*Passiflora edulis*) and *Arabidopsis thaliana*

2.5 百香果 SPL 家族基因启动子顺式作用元件分析

百香果 SPL 家族基因启动子顺式作用元件如图 5 所示。从图中可以看出,19 个 *PeSPL* 基因启动子均具有光响应元件。大多数 *PeSPL* 基因启动子具有激素响应元件,如生长素响应元件、茉莉酸甲酯响应元件、脱落酸(ABA)响应元件等,*PeSPL10* 基因启动子具有 5 个生长素响应元件和 12 个茉莉酸甲酯响应元件,*PeSPL11* 基因启动子上含有 7 个脱落酸响应元件。百香果 SPL 基因的启动子中,还存在大量与逆境胁迫响应相关的元件,如低温响应元件、干旱诱导响应元件等。除 *PeSPL14* 基因外,其他 *PeSPL* 基因启动子均具有厌氧诱导元件,*PeSPL4* 基因启动子中有 4 个低温响应元件,*PeSPL8* 基因启动子中有 3 个干旱诱导响应元件。

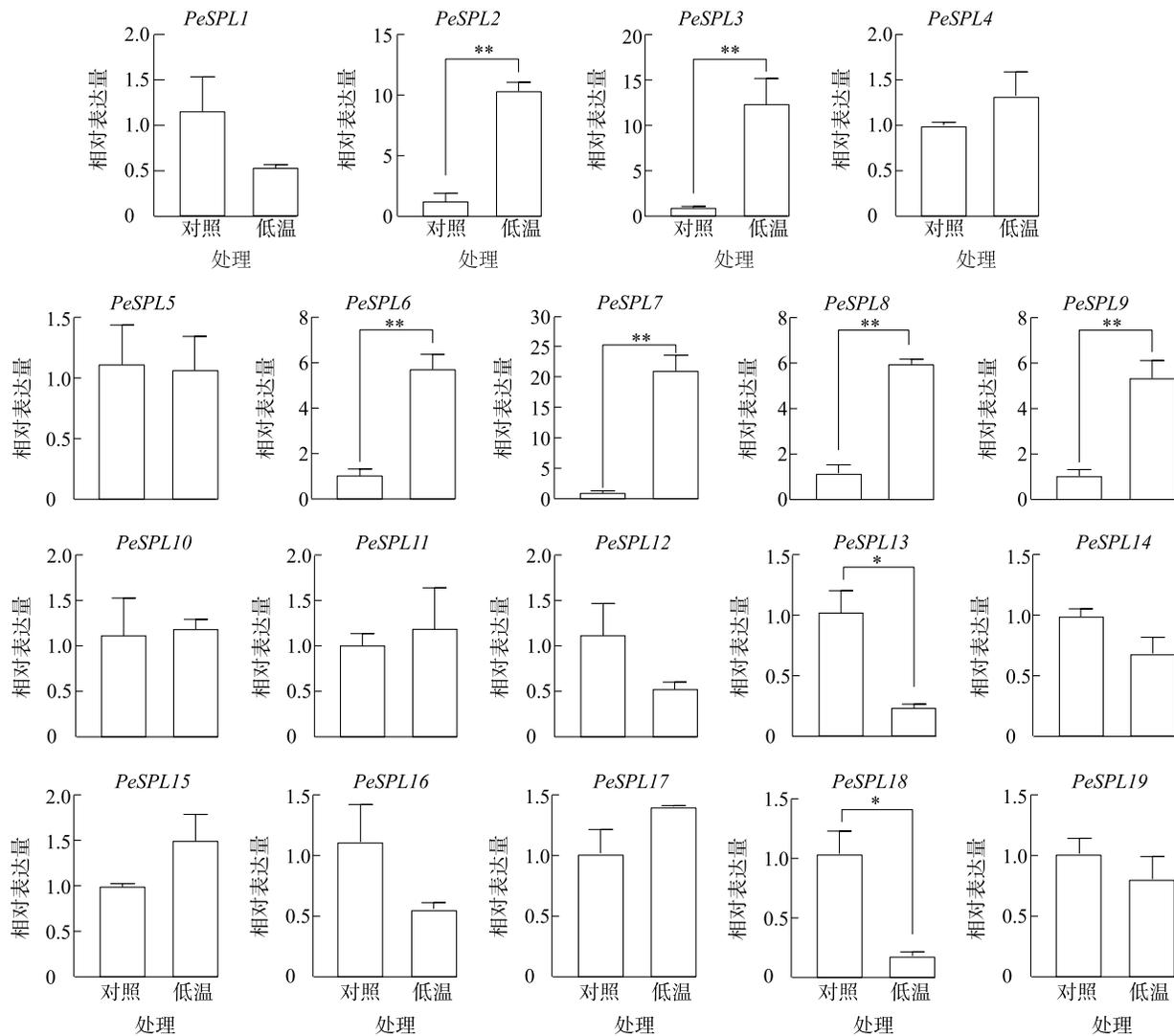
2.6 百香果 SPL 基因家族在低温胁迫条件下的表达分析

低温胁迫下,百香果 SPL 家族基因的相对表达

量如图 6 所示。从图中可以看出,8 个 *PeSPL* 基因的相对表达量在低温处理后呈现显著或极显著变化,其中 *PeSPL2*、*PeSPL3*、*PeSPL6*、*PeSPL7*、*PeSPL8* 和 *PeSPL9* 6 个基因的相对表达量极显著上升,*PeSPL13* 和 *PeSPL18* 2 个基因的相对表达量显著下降,说明这些基因可能参与了百香果响应低温的过程。

3 结论与讨论

SPL 基因家族已经被证明在植物胚胎发育^[29]、果实成熟^[30]以及逆境胁迫响应^[19-21]中发挥重要作用。本研究利用同源比对与结构域筛选相结合的方法从百香果基因组中鉴定出 19 个 *PeSPL* 家族基因。19 个 *PeSPL* 的外显子数目为 2~11 个,差异较大,这与苹果^[9]和甜橙^[11]等作物中 SPL 家族成员外显子数目差异大的特征一致。本研究还发现部分同属于一个进化亚族的 *PeSPL* 基因的结构亦存在差异,例如 *PeSPL2* 和 *PeSPL4*、*PeSPL10*



* 和 ** 分别表示处理间差异显著 ($P < 0.05$) 和差异极显著 ($P < 0.01$)。

图 6 低温胁迫条件下百香果 SPL 家族基因的表达分析

Fig.6 Expression analysis of SPL family genes under low temperature stress in *Passiflora edulis*

和 *PeSPL14*、*PeSPL16* 和 *PeSPL18*, 原因可能是同一亚族内的不同基因在进化过程中出现了外显子的丢失或增加。此外, *PeSPL* 蛋白的氨基酸长度差异也较大, 这可能会导致该基因家族成员的功能多样性。

系统发育分析结果显示百香果和拟南芥 *SPL* 家族成员可以分为 9 个亚族, 与甜橙一致^[11]。部分百香果 *SPL* 成员与拟南芥 *SPL* 成员亲缘关系较近, 例如 *PeSPL5*、*PeSPL11* 和 *PeSPL12* 与 *AtSPL6* 聚为 1 类。Padmanabhan 等^[31]的研究结果表明, 拟南芥 *AtSPL7* 基因在植物抗病过程中发挥重要作用, 推测与 *AtSPL7* 位于进化树同一亚族的 *PeSPL10* 也有类似

功能。对百香果 *SPL* 家族成员的染色体定位发现, 除 4 号和 8 号染色体外, 其余 7 条染色体上均有 *PeSPL* 基因, 其中 1 号染色体上最多, 共有 12 个。进一步的共线性分析结果表明, *PeSPL* 家族基因存在 3 对共线性基因, 表明该家族在物种进化中存在基因复制现象。本研究结果可为深入理解百香果 *SPL* 家族基因的进化过程提供理论参考。

SPL 基因家族在响应植物逆境胁迫过程中发挥重要功能。如水稻的 *OsSPL3* 基因通过正向调控 *OsWRKY71* 基因的表达进而响应低温胁迫^[32], *SPL9* 基因的过表达可提高 *CBF2* 基因的表达量进而增强拟南芥植株的抗寒性^[33]。本研究发现, 百香果 *SPL*

家族基因启动子上存在大量低温、干旱等逆境响应相关的顺式作用元件;实时定量 PCR 分析亦发现低温胁迫下有 8 个基因的相对表达量发生了显著或极显著变化,推测这些基因可能参与了百香果低温响应过程。本研究结果可为进一步解析百香果 *SPL* 基因的功能和作用机制、明确百香果 *SPL* 基因对低温胁迫的响应机制提供基础和依据。

参考文献:

- [1] 汪先菊,张绍宇,徐 泽,等. 桃 *SPL* 基因家族成员鉴定及基因表达与果实发育的相关性分析[J]. 农业生物技术学报,2020,28(9):1521-1534.
- [2] FENG X, WANG Y, ZHANG N, et al. Systematic identification, evolution and expression analysis of the *SPL* gene family in sugarcane (*Saccharum spontaneum*) [J]. Tropical Plant Biology, 2021, 14(3):313-328.
- [3] KLEIN J, SAEDLER H, HUIJSER P. A new family of DNA binding proteins includes putative transcriptional regulators of the *Antirrhinum majus* floral meristem identity gene *SQUAMOSA* [J]. Molecular and General Genetics, 1996, 250:7-16.
- [4] BIRKENBIHL R P, JACH G, SAEDLER H, et al. Functional dissection of the plant-specific SBP-domain: overlap of the DNA-binding and nuclear localization domains [J]. Journal of Molecular Biology, 2005, 352(3):585-596.
- [5] CARDON G H, HOHMANN S, NETTESHEIM K, et al. Functional analysis of the *Arabidopsis thaliana* SBP-box gene *SPL3*: a novel gene involved in the floral transition [J]. The Plant Journal, 1997, 12(2):367-377.
- [6] XIE K B, WU C Q, XIONG L Z. Genomic organization, differential expression, and interaction of *SQUAMOSA* promoter-binding-like transcription factors and microRNA156 in rice [J]. Plant Physiology, 2006, 142(1):280-293.
- [7] 王春昱,范付华. 马尾松 *SPL* 基因家族鉴定及其响应低磷胁迫的表达分析[J]. 农业生物技术学报,2023,31(3):509-517.
- [8] SALINAS M, XING S, HOHMANN S, et al. Genomic organization, phylogenetic comparison and differential expression of the SBP-box family of transcription factors in tomato [J]. Planta, 2012, 235(6):1171-1184.
- [9] LI J, HOU H, LI X, et al. Genome-wide identification and analysis of the *SBP-box* family genes in apple (*Malus × domestica* Borkh.) [J]. Plant Physiol Biochem, 2013, 70:100-114.
- [10] XIONG J S, ZHENG D, ZHU H Y, et al. Genome-wide identification and expression analysis of the *SPL* gene family in woodland strawberry *Fragaria vesca* [J]. Genome, 2018, 61(9):675-683.
- [11] 杨 杰,陈 蓉,胡文娟,等. 甜橙 *SPL* 基因家族的鉴定及其在成花诱导中的表达分析[J]. 西北植物学报,2022,42(1):48-56.
- [12] YU N, CAI W J, WANG S, et al. Temporal control of trichome distribution by microRNA156-targeted *SPL* genes in *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant Cell, 2010, 22(7):2322-2335.
- [13] WU G, POETHIG R S. Temporal regulation of shoot development in *Arabidopsis thaliana* by *miR156* and its target *SPL3* [J]. Development, 2006, 133(18):3539-3547.
- [14] WANG H, NUSSBAUM-WAGLER T, LI B, et al. The origin of the naked grains of maize [J]. Nature, 2005, 436(7051):714-719.
- [15] ZHANG Y, SCHWARZ S, SAEDLER H, et al. *SPL8*, a local regulator in a subset of gibberellin-mediated developmental processes in *Arabidopsis* [J]. Plant Mol Biol, 2007, 63(3):429-439.
- [16] UNTE U S, SORENSEN A M, PESARESI P, et al. *SPL8*, an SBP-box gene that affects pollen sac development in *Arabidopsis* [J]. Plant Cell, 2003, 15(4):1009-1019.
- [17] ERIKSSON M, MOSELEY JL, TOTTEY S, et al. Genetic dissection of nutritional copper signaling in *Chlamydomonas* distinguishes regulatory and target genes [J]. Genetics, 2004, 168(2):795-807.
- [18] STONE J M, LIANG X, NEKL E R, et al. *Arabidopsis AtSPL14*, a plant-specific SBP-domain transcription factor, participates in plant development and sensitivity to fumonisin B1 [J]. The Plant Journal, 2005, 41(5):744-754.
- [19] CUI L, SHAN J, SHI M, et al. The *miR156-SPL9-DFR* pathway coordinates the relationship between development and abiotic stress tolerance in plants [J]. Plant Journal, 2014, 80(6):1108-1117.
- [20] HOU H, JIA H, YAN Q, et al. Overexpression of a *SBP-Box* gene (*VpSBP16*) from Chinese wild vitis species in *Arabidopsis* improves salinity and drought stress tolerance [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2018, 19(4):940.
- [21] ZHANG D, HAN Z, LI J, et al. Genome-wide analysis of the *SBP-box* gene family transcription factors and their responses to abiotic stresses in tea (*Camellia sinensis*) [J]. Genomics, 2020, 112(3):2194-2202.
- [22] 陈 媚,刘迪发,徐 丽,等. 西番莲研究进展 [J]. 中国南方果树, 2020, 49(6):182-189.
- [23] 徐 青,安 松,李玉娇,等. 不同产地紫果百香果主要功能成分含量及抗氧化活性研究 [J]. 中国果树, 2023(5):76-83.
- [24] MA D, DONG S, ZHANG S, et al. Chromosome-level reference genome assembly provides insights into aroma biosynthesis in passion fruit (*Passiflora edulis*) [J]. Molecular Ecology Resources, 2021, 21(3):955-968.
- [25] 韦晓霞,王小安,陈 瑾,等. 百香果低温胁迫转录组及茉莉酸代谢基因分析 [J]. 核农学报, 2021, 35(4):815-825.
- [26] LIANG J, FANG Y, AN C, et al. Genome-wide identification and expression analysis of the *bHLH* gene family in passion fruit (*Passiflora edulis*) and its response to abiotic stress [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2022, 225:389-403.
- [27] MUNHOZ C F, SANTOS A A, ARENHART R A, et al. Analysis of plant gene expression during passion fruit-*Xanthomonas axonopodis* interaction implicates lipoxygenase 2 in host defence [J]. Annals of Applied Biology, 2015, 167(1):135-155.
- [28] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expres-

- sion data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method [J]. *Methods*, 2001, 25:402-408.
- [29] NODINE M D, BARTEL D P. MicroRNAs prevent precocious gene expression and enable pattern formation during plant embryogenesis[J]. *Genes & Development*, 2010, 24(23):2678-2692.
- [30] MANNING K, TÖR M, POOLE M, et al. A naturally occurring epigenetic mutation in a gene encoding an SBP-box transcription factor inhibits tomato fruit ripening[J]. *Nature Genetics*, 2006, 38(8):948-952.
- [31] PADMANABHAN M S, MA S, BURCH-SMITH T M, et al. Novel positive regulatory role for the SPL6 transcription factor in the N TIR-NB-LRR receptor-mediated plant innate immunity [J]. *PLoS Pathogens*, 2013, 9(3):e1003235.
- [32] ZHOU M Q, TANG W. MicroRNA156 amplifies transcription factor-associated cold stress tolerance in plant cells [J]. *Molecular Genetics and Genomics*, 2019, 294(2):379-393.
- [33] ZHAO J L, SHI M, YU J, et al. SPL9 mediates freezing tolerance by directly regulating the expression of *CBF2* in *Arabidopsis thaliana* [J]. *BMC Plant Biology*, 2022, 22:59.

(责任编辑:石春林)