

张 雨, 马文娟, 丁怡如, 等. 莴苣 SBP 转录因子基因家族鉴定及其在茎用莴苣茎膨大期的表达分析[J]. 江苏农业学报, 2024, 40(10):1923-1932.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2024.10.017

莴苣 SBP 转录因子基因家族鉴定及其在茎用莴苣茎膨大期的表达分析

张 雨, 马文娟, 丁怡如, 柳天义, 廉荣齐, 黄 莹
(临沂大学农林科学学院, 山东 临沂 276000)

摘要: SBP 家族基因在植物生长发育过程中具有重要作用。为明确茎用莴苣 SBP 家族基因染色体分布、启动子顺式作用元件、茎膨大期表达特征及其编码蛋白质的理化性质, 本研究以拟南芥 SBP 蛋白氨基酸序列为参考筛选鉴定莴苣 SBP 家族基因, 进行莴苣 SBP 家族基因的染色体定位、进化树构建、启动子顺式作用元件分析, 构建其编码蛋白质的互作网络, 并利用转录组测序技术及实时荧光定量 PCR 分析茎用莴苣茎膨大期 SBP 家族基因的表达模式。结果表明, 在莴苣基因组中共鉴定到 27 个 SBP 基因, 可分为 7 个亚族, 不均匀分布于 8 条染色体上。多个 SBP 转录因子与植物开花相关蛋白 LFY、乙烯响应转录因子(TOE2、TOE3、SMZ、SNZ) 存在互作。在茎用莴苣茎膨大过程中, 13 个 SBP 基因的表达模式存在差异。随着茎用莴苣茎的膨大, *LsSBP25* 的表达量呈增加趋势, 而 *LsSBP10*、*LsSBP22* 的表达量逐步降低。本研究结果可为进一步探究莴苣 SBP 家族基因在莴苣生长发育过程中的作用提供基础。

关键词: 莴苣; SBP 家族转录因子; 茎膨大期; 表达模式

中图分类号: S636.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2024) 10-1923-10

Identification of lettuce SBP transcription factor gene family and its expression analysis in stem expansion stage of stem lettuce

ZHANG Yu, MA Wenjuan, DING Yiru, LIU Tianyi, LIAN Rongqi, HUANG Ying
(College of Agriculture and Forestry, Linyi University, Linyi 276000, China)

Abstract: SBP family genes play important roles in the growth and development process of plants. In order to identify the chromosomal distribution, promoter *cis*-acting elements, expression characteristics in stem expansion stage and the physicochemical properties of proteins encoded by SBP family genes, the lettuce SBP family genes were screened and identified based on the amino acid sequence of SBP protein in *Arabidopsis thaliana*. The chromosome localization, evolutionary tree construction and promoter *cis*-acting element analysis of SBP family genes in lettuce were performed, and the interaction network of proteins encoded by SBP family genes was constructed. The expression patterns of SBP family genes were analyzed by transcriptome sequencing and quantitative real-time PCR. The results showed that there were 27 SBP genes in lettuce, and they could be classified into seven subgroups. The SBP genes were unevenly distributed on eight chromosomes. Some SBP transcription factors

收稿日期: 2023-10-08

基金项目: 山东省自然科学基金项目(ZR2020QC156); 国家自然科学基金青年项目(32102405); 大学生创新创业训练计划项目(X202310452399、X202110452278)

作者简介: 张 雨(2002-), 女, 山东菏泽人, 本科生, 主要从事蔬菜分子生物学研究。(E-mail) 1291539023@qq.com

通讯作者: 黄 莹, (E-mail) hyhappy1314@163.com

tion network of proteins encoded by SBP family genes was constructed. The expression patterns of SBP family genes were analyzed by transcriptome sequencing and quantitative real-time PCR. The results showed that there were 27 SBP genes in lettuce, and they could be classified into seven subgroups. The SBP genes were unevenly distributed on eight chromosomes. Some SBP transcription factors

could interact with flowering related protein LFY, ethylene response transcription factors (TOE2, TOE3, SMZ, SNZ). The expression patterns of 13 *SBP* genes were changed in stem expansion stage of stem lettuce. The expression levels of *LsSBP25* increased during the process of stem enlargement, while the expression levels of *LsSBP10* and *LsSBP22* decreased during the process of stem enlargement. The results of this study can provide a basis for further investigation of the role of *SBP* family genes in the growth and development of lettuce.

Key words: lettuce; *SBP* family transcription factor; stem expansion stage; expression patterns

莴苣 (*Lactuca sativa*), 分为叶用莴苣 (生菜) 和茎用莴苣 (莴笋), 属菊科莴苣属一年生或二年生蔬菜。叶用莴苣是一种非常重要的绿叶蔬菜, 具有消炎利尿的功效; 茎用莴苣含有丰富的维生素、矿物质及叶酸、 β -胡萝卜素、叶黄素和抗氧化物等活性物质, 是一种经济价值和营养价值都很高的蔬菜^[1-2]。目前对叶用莴苣的研究广泛且深入, 但对茎用莴苣的研究主要集中在栽培技术以及种质资源遗传多样性等方面^[3]。茎的生长过程直接影响茎用莴苣产量和品质, 因此系统分析茎用莴苣茎膨大机理对于提高茎用莴苣产量和品质具有重要的价值。但迄今为止, 茎用莴苣茎膨大的调控机理还未被阐明。

SBP 转录因子 (Squamosa promoter binding protein-like, *SBP*) 家族, 也称为 *SPL* 家族, 是发现较晚且仅存在于植物中的 1 个转录因子家族, 具有高度保守的 *SBP* 结构域, 参与植物生长发育过程及对非生物胁迫的响应^[4-5]。苹果 *MdSPL13* 基因过表达能显著提高苹果耐盐性^[6]。水稻 *OsSPL10* 基因能正向调控毛状体的形成, 负向调控水稻植株的耐盐性^[7]。Li 等^[8]研究发现桑树老叶中 *SPL* 基因的表达量高于新叶, 且 *MnSPL7* 可促进 *MnTT2L2* 基因的转录进而调控儿茶素合成相关基因的表达, 从而应对植食现象。*SPL9* 和 *SPL15* 可以调控拟南芥发育过程^[9]。春兰、黄石斛、天麻等植物中 *SPL* 转录因子功能富集于植物花和茎的发育^[10]。十字花科芥菜型油菜 *SPL* 基因在花和茎中存在差异表达, *BjuSPL3a-B*、*BjuSPL2b_B* 和 *BjuSPL2c_A* 基因在花中显著表达; *BjuSPL3b_B* 和 *BjuSPL10a_A* 基因在营养生长期的茎节中高表达^[11]。目前人们对拟南芥^[12]、水稻^[13]、小麦^[14]、大麦^[15]、茶树^[16]、苜蓿^[17]、黑胡椒^[18]、甜橙^[19]等植物中 *SBP* 家族基因全基因组水平的鉴定和分析已有一些研究, 但对莴苣 *SBP* 家族基因的鉴定分析较少。由于茎是茎用莴苣的可食部分, 因此分析鉴定茎用莴苣 *SBP* 家族基因并探究其在茎膨大过程中的作用机理对茎用莴苣的高产栽培

和优质品种选育尤为重要。本研究以莴苣全基因组数据库及本试验测定的茎膨大期转录组数据为依据, 鉴定莴苣 *SBP* 家族基因, 并分析莴苣 *SBP* 家族基因的染色体定位、启动子顺式作用元件, 构建系统进化树, 明确其编码蛋白质的理化性质, 分析其在茎用莴苣茎膨大时期的表达模式, 旨在为深入探究茎用莴苣 *SBP* 家族基因的调控机制奠定基础。

1 材料与方法

1.1 莴苣 *SBP* 家族基因鉴定及其编码蛋白质的理化性质分析

以拟南芥 *SBP* 氨基酸序列作为参考序列, 利用 BLASTP 在线网站 (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastp&PAGE_TYPE=BlastSearch&LINK_LOC=blasthome) 对莴苣基因组数据库 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCF_002870075.4/) 进行检索, 初步筛选出莴苣 *SBP* 家族基因。利用 Pfam 数据库、SMART 数据库和 NCBI 保守域数据库进行保守域的验证, 以确保筛选的 *SBP* 家族基因编码的蛋白质均含有该家族特有的结构域。利用 ExPASy 在线网站进行莴苣 *SBP* 家族基因编码蛋白质的理化性质分析。

1.2 莴苣 *SBP* 家族基因序列比对及进化树分析

采用 MEGA7.0 软件对莴苣、拟南芥、水稻 *SBP* 家族基因进行多序列比对, 并构建莴苣、拟南芥、水稻 *SBP* 家族基因进化树。

1.3 染色体定位分析

利用 NCBI 在线数据库检索莴苣 *SBP* 家族基因在染色体上的具体位置, 并利用 Mapchart 软件绘制莴苣 *SBP* 家族基因染色体分析图。

1.4 *SBP* 转录因子互作网络图

以拟南芥 *SBP* 家族转录因子为参考, 通过 STRING 在线网站预测莴苣 *SBP* 转录因子间及其与其他蛋白质可能存在的相互作用。

1.5 莴苣 *SBP* 基因启动子顺式作用元件分析

利用 NCBI 数据库获取莴苣 *SBP* 家族基因启动

子碱基序列(起始密码子 ATG 上游2 000 bp),通过 PlantCARE 在线网站进行启动子顺式作用元件预测,利用 TBtools 软件进行启动子顺式作用元件可视化。

1.6 莴苣茎膨大期 SBP 家族基因表达模式分析

以莴苣品种永安红为材料,于 2023 年 2 月进行种子催芽,并种植于临沂大学试验温室中,种植期间按照常规栽培措施进行莴苣的栽培管理。肉质茎开始膨大后,采用游标卡尺测定肉质茎的最大粗度,当肉质茎最大粗度分别达到为 1 cm(S1)、2 cm(S2)、3 cm(S3)、4 cm(S4)时,采集

最粗茎段样品速冻于液氮中,每个时期采集 10 棵莴苣,设置 3 次生物学重复。将采集的 4 个时期样品进行转录组测序(NCBI: PRJNA844256)分析差异表达的 SBP 家族基因。为验证转录组数据的准确性,进一步选取 G6 和 G7 亚族的 SBP 基因进行荧光定量 PCR 分析(Quantitative real-time PCR, qRT-PCR)。qRT-PCR 分析中以莴苣 *LsTIP41* 基因为内参基因,反应程序及相对表达量计算参照文献[20]进行。本研究中所用引物见表 1。

表 1 荧光定量 PCR 分析所用引物

Table 1 Primers used in the quantitative real-time PCR (qRT-PCR)

基因	正向引物序列(5'→3')	反向引物序列(5'→3')
<i>LsSBP10</i>	ACACAATCGGACCATTCAACAACCA	TGGCGGTGATGATGACAGAAGAGA
<i>LsSBP11</i>	TGATGAAGTGAAGCGGAGTTGTAGG	GATGACGATGACGATGATGTTGTGA
<i>LsSBP13</i>	GGCGGAGGATGACTTCGTGAAC	CGACGGTTGTGATCTGCCAATCTT
<i>LsSBP14</i>	GATGATGATGAGAACTTCGGAGAGG	ATAACAAC TGAGCCTTGGAAATGAA
<i>LsSBP15</i>	CCAGCAGTGTAGTCGGTTCCAT	GAAGATGACAGAAGAGAGGGAGCAT
<i>LsSBP16</i>	ACCTCAGCTCGCAAGTCT	CAACTGTCTGTGGCTGTGTCTGT
<i>LsSBP22</i>	GGCTGAAC TTGGCTGGACATACG	ACGATGGACGCCTTGAGTGAA
<i>LsSBP25</i>	GCGACTTTCTTTGTGGAGTTTGTT	TGGCAACAAC TGCTGTCTTGGAAT
<i>LsTIP41</i>	GAGAGATTGCTGGAGGGAACCTA	CCTTTGACTGATGATGTTTGGAA

2 结果与分析

2.1 莴苣 SBP 家族基因及其编码蛋白质理化性质

在莴苣基因组数据库中共鉴定到 27 个 SBP 家族基因,分别命名为*LsSBP1*~*LsSBP27*(表 2)。27 个 SBP 基因的开放阅读框长度为 252~4 086 bp;编码的蛋白质氨基酸残基数为 83~1 361 个,相对分子量为 9 394.56~150 845.17,等电点为 5.67~9.78,酸性氨基酸占比 9.1%~19.6%,碱性氨基酸占比 8.2%~14.5%,脂肪族氨基酸占比 37.25%~81.04%,芳香族氨基酸占比 3.6%~9.6%,总平均疏水性为 -1.136~-0.336。

2.2 莴苣 SBP 家族基因进化树

莴苣、拟南芥、水稻 SBP 家族基因系统进化树如图 1 所示。59 个 SBP 基因(15 个拟南芥 SBP 基因,27 个莴苣 SBP 基因,17 个水稻 SBP 基因)可划分为 G1~G7 7 个亚族。其中 G1 亚族含有最多的 SBP 家族成员,包括 *AtSPL2*、*AtSPL10*、*AtSPL11*、*LsSBP1*、

LsSBP2、*LsSBP3*、*OsSPL3*、*OsSPL4* 等 16 个成员;G2 亚族含有 14 个 SBP 家族成员,包括 *AtSPL1*、*AtSPL7*、*OsSPL1*、*OsSPL6*、*LsSBP6*、*LsSBP20* 等。G4 和 G5 亚族分别含有 6 个和 5 个 SBP 基因。G6 亚族含有 *LsSBP10*、*LsSBP13*、*LsSBP15*、*LsSBP16*、*LsSBP22* 5 个莴苣 SBP 基因。*LsSBP11*、*LsSBP14* 和 *LsSBP25* 属于 G7 亚族。G3 亚族仅含 *AtSPL4* 和 *AtSPL5* 2 个 SBP 基因,无莴苣 SBP 家族基因。

2.3 莴苣 SBP 家族基因在染色体上的分布

莴苣 SBP 家族基因的染色体定位分布如图 2 所示。27 个莴苣 SBP 基因分布于 8 条染色体上。其中,染色体 4 上分布数量最多,有 *LsSBP9*、*LsSBP10*、*LsSBP11*、*LsSBP12*、*LsSBP13*、*LsSBP14*、*LsSBP15* 等 7 个 *LsSBP* 基因。染色体 1 上分布 6 个 *LsSBP* 基因。染色体 3、染色体 6、染色体 7 和染色体 8 上各有 2 个 *LsSBP* 基因,染色体 5 与染色体 9 上各有 3 个 *LsSBP* 基因。染色体 2 上没有 *LsSBP* 基因。

表 2 莴苣 SBP 家族基因编码的蛋白质氨基酸组成成分及理化性质

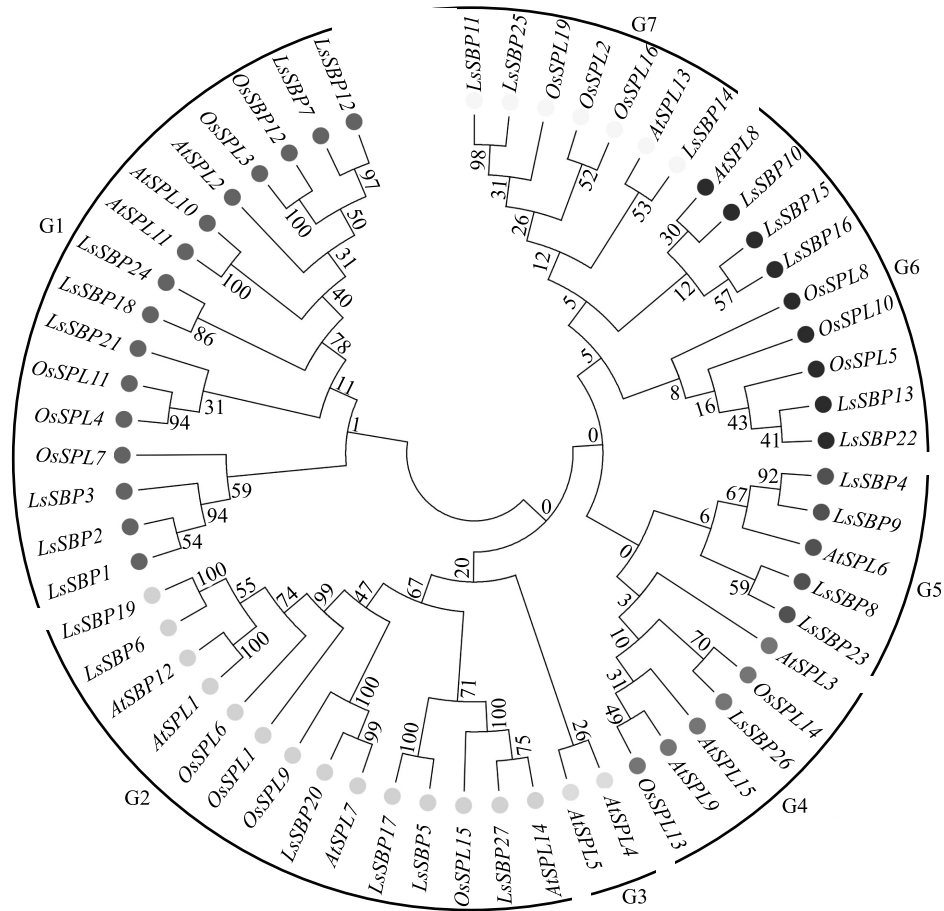
Table 2 Amino acid composition and physicochemical properties of proteins encoded by SBP family genes in *Lactuca sativa*

基因	基因识别号	开放阅读 框长度 (bp)	编码的蛋白质理化性质							
			氨基 酸数 (aa)	相对分子量	等电点	酸性氨基 酸比例 (%)	碱性氨基 酸比例 (%)	脂肪族氨 基酸比例 (%)	芳香族氨 基酸比例 (%)	总平均 疏水性
LsSBP1	Lsat_1_v5_gn_1_128400	396	131	14 895.62	8.80	18.4	13.8	37.25	6.9	-1.066
LsSBP2	Lsat_1_v5_gn_1_128420	396	131	14 972.74	8.23	17.5	13.8	39.47	6.9	-1.046
LsSBP3	Lsat_1_v5_gn_1_128440	396	131	14 856.57	8.24	16.8	14.5	41.68	6.9	-0.975
LsSBP4	Lsat_1_v5_gn_1_14540	768	255	28 842.54	9.13	14.2	8.2	58.47	8.7	-0.682
LsSBP5	Lsat_1_v5_gn_1_30300	654	217	24 291.70	9.31	15.2	12.5	75.44	5.1	-0.650
LsSBP6	Lsat_1_v5_gn_1_39821	2 844	947	105 915.58	6.11	10.9	9.8	80.99	8.1	-0.372
LsSBP7	Lsat_1_v5_gn_3_31000	1 116	371	41 514.14	8.88	12.4	9.4	59.33	7.5	-0.799
LsSBP8	Lsat_1_v5_gn_3_37960	507	168	18 638.03	9.18	19.6	9.0	45.36	3.6	-0.976
LsSBP9	Lsat_1_v5_gn_4_113241	1 038	345	39 054.96	8.25	11.3	8.4	69.74	7.2	-0.593
LsSBP10	Lsat_1_v5_gn_4_1141	849	282	31 127.74	9.78	11.3	9.9	57.09	6.5	-0.699
LsSBP11	Lsat_1_v5_gn_4_184960	957	318	35 652.73	9.20	12.5	8.2	54.56	8.1	-0.821
LsSBP12	Lsat_1_v5_gn_4_421	1 323	440	48 662.75	8.61	11.2	8.2	55.34	8.9	-0.758
LsSBP13	Lsat_1_v5_gn_4_44160	861	286	32 056.19	8.60	10.5	8.7	51.54	8.3	-0.900
LsSBP14	Lsat_1_v5_gn_4_52201	345	114	12 846.25	5.67	15.8	9.7	35.79	4.4	-1.135
LsSBP15	Lsat_1_v5_gn_4_81541	603	200	22 408.00	8.95	12.5	8.5	51.65	8.0	-0.740
LsSBP16	Lsat_1_v5_gn_5_12360	1 212	403	44 263.10	8.54	9.2	11.6	51.56	6.7	-0.788
LsSBP17	Lsat_1_v5_gn_5_173240	387	128	14 316.14	9.02	16.4	13.3	47.19	3.9	-1.079
LsSBP18	Lsat_1_v5_gn_5_81161	876	291	32 839.23	6.99	11.0	8.9	56.29	7.2	-0.818
LsSBP19	Lsat_1_v5_gn_6_117840	2 799	932	103 936.45	6.63	11.4	9.4	79.77	6.9	-0.437
LsSBP20	Lsat_1_v5_gn_6_14240	2 316	771	86 288.67	6.34	11.1	8.3	81.04	6.7	-0.336
LsSBP21	Lsat_1_v5_gn_7_11040	1 575	524	57 884.65	8.79	11.2	9.2	53.84	7.8	-0.613
LsSBP22	Lsat_1_v5_gn_7_11081	756	251	28 251.76	6.94	10.4	10.4	68.45	7.2	-0.605
LsSBP23	Lsat_1_v5_gn_8_134640	507	168	19 125.24	8.99	17.2	12.5	45.89	6.0	-1.136
LsSBP24	Lsat_1_v5_gn_8_70141	1 038	345	38 692.50	8.55	12.2	8.4	63.88	8.9	-0.527
LsSBP25	Lsat_1_v5_gn_9_23041	252	83	9 394.56	8.35	13.2	9.6	56.27	9.6	-0.514
LsSBP26	Lsat_1_v5_gn_9_28021	1 047	348	37 161.08	7.66	9.1	9.8	59.68	7.7	-0.599
LsSBP27	Lsat_1_v5_gn_9_48121	4 086	1 361	150 845.17	6.95	11.2	11.0	76.00	7.1	-0.498

2.4 SBP 转录因子互作网络

莴苣 SBP 转录因子互作网络如图 3 所示。多个 LsSBP 转录因子 (LsSBP1、LsSBP2、LsSBP3、LsSBP4、LsSBP13、LsSBP22、LsSBP17、LsSBP27、LsSBP26)与植物花发育相关蛋白 LFY 存在相互作用^[21]。除了 LFY 外, SPL4 (或 LsSBP1、LsSBP2、LsSBP3)转录因子与 AP2 类型的乙烯响应转录因子(TOE2、TOE3、SMZ、SNZ)、花发育相关 MADS-box

蛋白 AGL8 等存在相互作用,表明 LsSBP1、LsSBP2、LsSBP3 可能参与了莴苣花发育过程。多个 SBP 转录因子如 SPL2 (或 LsSBP7、LsSBP12、LsSBP18、LsSBP24)、SPL16 (或 LsSBP5)、SPL6 (或 LsSBP4、LsSBP9)、SPL1-2(或 LsSBP6、LsSBP19)、SPL14(或 LsSBP17、LsSBP27)、SPL4 (或 LsSBP1、LsSBP2、LsSBP3)、SPL8(或 LsSBP13、LsSBP22)及 SPL10(或 LsSBP21)与硒结合蛋白 SBP2 均存在相互作用。



LsSBP1~LsSBP27 为莴苣 *SBP* 家族基因; *AtSPL1~AtSPL15* 为拟南芥 *SPL (SPB)* 家族基因; *OsSPL1~OsSPL17* 为水稻 *SPL (SPB)* 家族基因。
图 1 莴苣、拟南芥、水稻 *SBP* 家族基因系统进化树

Fig.1 Phylogenetic tree of *SBP* family genes in *Lactuca sativa*, *Arabidopsis thaliana* and *Oryza sativa*

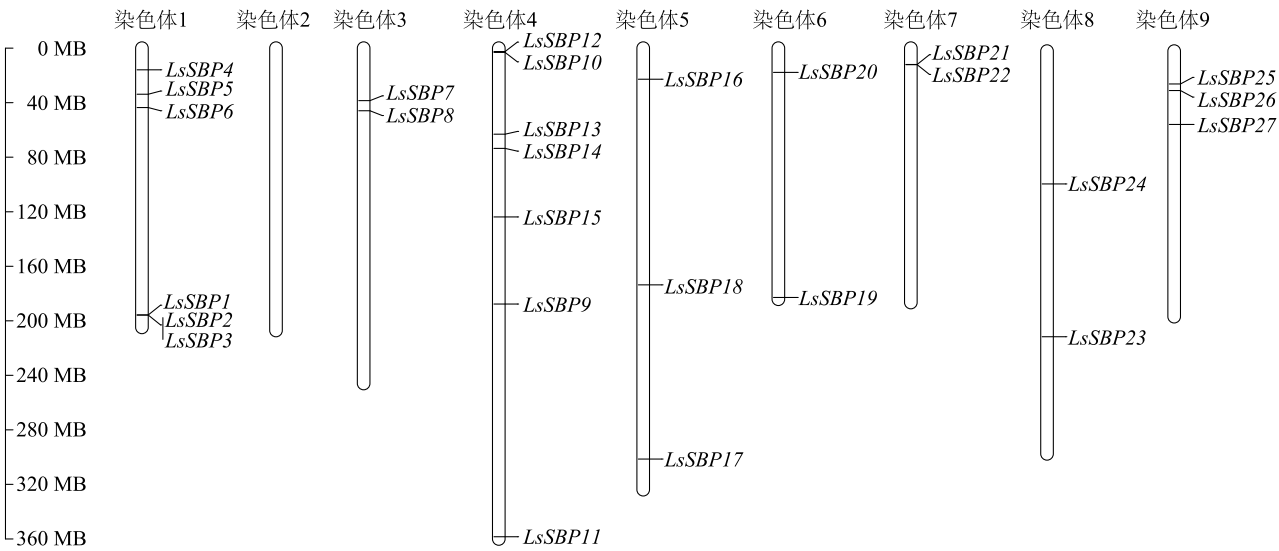


图 2 莴苣 *LsSBP* 基因染色体定位
Fig.2 Chromosomal localization of *LsSBP* genes in *Lactuca sativa*

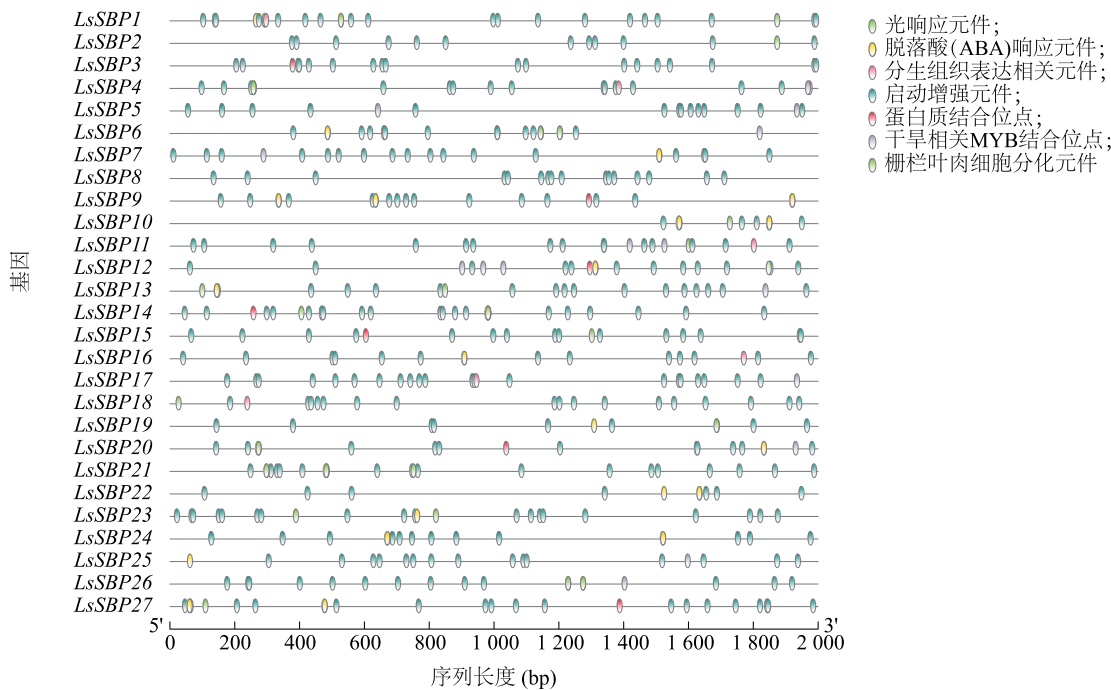
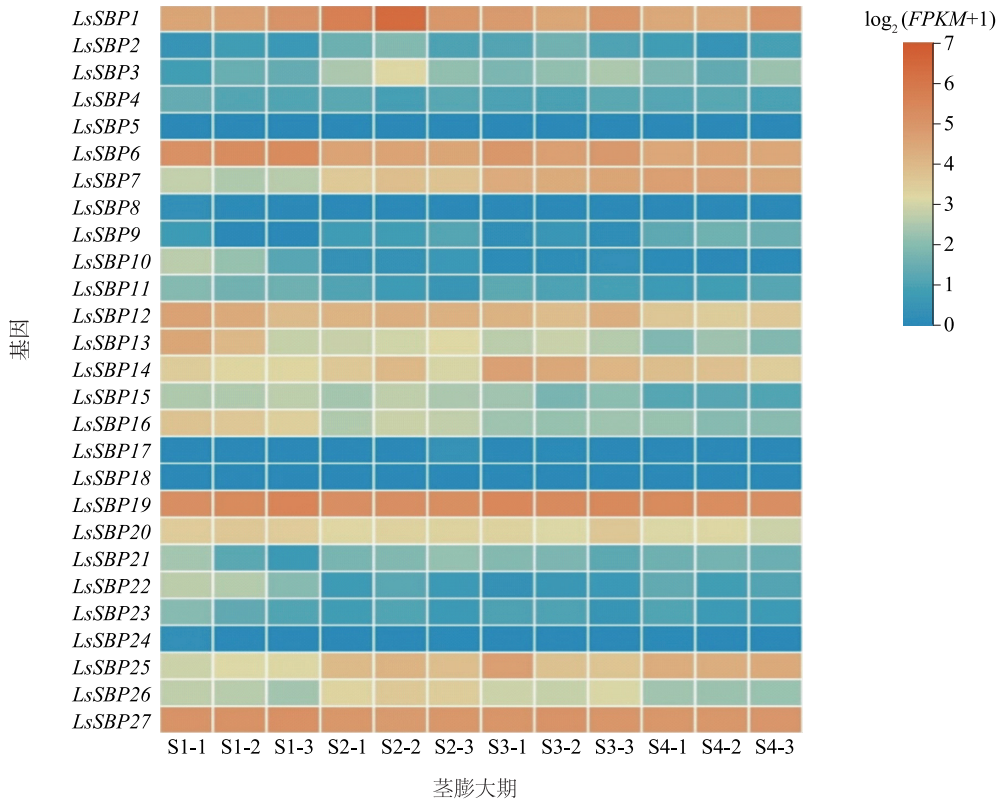


图4 莴苣 SBP 家族基因启动子的顺式作用元件

Fig.4 Cis-acting elements of SBP family gene promoters in lettuce



S1-1~S1-3 为茎粗 1 cm 时样本;S2-1~S2-3 为茎粗 2 cm 时样本;S3-1~S3-3 为茎粗 3 cm 时样本;S4-1~S4-3 为茎粗 4 cm 时样本。*FPKM*:每 1×10^6 映射片段的外显子模型的每 1 000 个碱基片段数。

图5 茎膨大过程中茎用莴苣 SBP 基因的表达热图

Fig.5 Expression heat map of SBP genes in stem lettuce during stem enlargement

比较低。

茎膨大期 8 个 *SBP* 基因 (*LsSBP10*、*LsSBP11*、*LsSBP13*、*LsSBP14*、*LsSBP15*、*LsSBP16*、*LsSBP22*、*LsSBP25*) 的相对表达量变化如图 6 所示。从图中可以看出,在茎膨大初期(S1),*LsSBP10* 和 *LsSBP22* 的表达量较高,在茎膨大中后期(S2~S4)表达量均明显降低;而 *LsSBP14* 和 *LsSBP25* 在茎膨大中后期(S2~

S4)的表达量明显高于茎膨大初期(S1)。随着茎的膨大,*LsSBP16* 的表达量呈降低趋势。茎膨大过程中,*LsSBP13* 和 *LsSBP15* 的表达量呈先增加后减少的趋势;*LsSBP11* 的表达量呈波动变化,在 S3 时最高。总体来看,实时荧光定量 PCR 的基因表达特征与转录组分析结果基本一致。

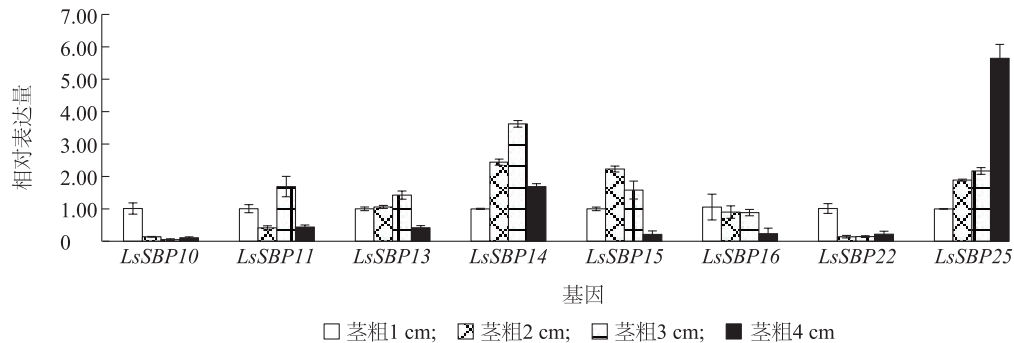


图 6 茎膨大过程中部分莴苣 *SBP* 基因的相对表达量

Fig.6 The relative expression of some *SBP* genes in lettuce during stem enlargement

3 讨论

SBP 是植物重要的转录因子。目前,多个物种的 *SBP* 家族转录因子已经得到鉴定。其中,拟南芥基因组大小(核苷酸碱基对数量)为 125 Mb,含有 16 个 *SBP* 转录因子;蓝莓基因组大小约为 570 Mb,含有 20 个 *SBP* 转录因子;二穗短柄草基因组大小为 272 Mb,含有 18 个 *SBP* 转录因子;番茄基因组大小约 800 Mb,含有 15 个 *SBP* 转录因子;苹果基因组大小约为 742 Mb,含有 18 个 *SBP* 转录因子^[22-25]。本研究中莴苣基因组大小约为 2.5 Gb,鉴定到 27 个 *SBP* 转录因子。上述结果表明,植物基因组的大小不能直接决定本物种 *SBP* 转录因子的数量。

SBP (又称 *SPL*) 转录因子在植物花青素生物合成以及铜离子过量、盐胁迫、温度胁迫和干旱胁迫等响应过程中发挥重要作用^[26-28]。拟南芥 *AtSPL3* 参与光周期过程从而影响拟南芥开花进程^[27],*AtSPL8* 参与拟南芥雌雄蕊的发育,*SPL8* 突变后导致拟南芥花粉囊发育异常^[28-29]。过表达 *OsSPL14* 能促进水稻穗分化进程而提高水稻产量^[30]。*OsSPL16* 参与水稻籽粒形状的调控及稻米品质的形成过程^[31]。玉米 *SBP* 基因能调控侧根原基发育从而影响玉米的产量性状^[32]。相对其他转录因子家族,*SBP* 转录

因子家族的发现相对较晚,因此其生物学功能研究尚不充分。本研究结果表明,茎膨大中后期莴苣 *LsSBP14* 和 *LsSBP25* 的表达水平明显高于茎膨大初期。随着茎的膨大,*LsSBP25* 的表达水平持续增加,说明 *LsSBP25* 在茎膨大过程中可能起着正向调控的作用;而 *LsSBP10* 和 *LsSBP22* 在茎膨大中后期的表达水平明显低于茎膨大初期,说明这 2 个基因在茎膨大过程中可能起着负向调控的作用。

SBP 转录因子具有与 *miRNA* 互补的识别位点,因此 *miRNA* 可以作为上游调控因子调控 *SBP* 转录因子的表达^[33]。拟南芥中 10 多个 *AtSPL* 被报道为 *miRNA156* 的潜在靶基因,*miRNA156* 可通过调控下游靶标的 *SBP* 转录因子参与多种非生物胁迫(盐、寒冷、干旱)及生物胁迫(病原菌侵染)响应过程^[34-35]。*SPL* 转录因子通过 *miR156f-OsSPL7-OsGH3.8* 通路调节水稻分蘖数和株高^[36]。拟南芥 *AtSPL14*、*AtSPL1*、*AtSPL12* 在抵抗毒素及耐热过程中发挥着重要作用^[37-38]。系统进化树分析结果表明,参与茎膨大的 *LsSBP11*、*LsSBP14*、*LsSBP25* 基因同属于 G7 亚族,但其对茎膨大的调控机制尚不明确,有待进一步分析。

4 结论

在莴苣基因组中共鉴定到 27 个 *SBP* 家族基

因,可分为7个亚族,不均匀分布在8条染色体上。莴苣茎膨大增粗过程中,13个SBP基因的表达水平发生明显变化,其中*LsSBP25*基因的表达水平在茎膨大中后期的表达水平明显高于茎膨大初期,说明该基因可能正向调控莴苣茎膨大增粗过程,而*LsSBP10*和*LsSBP22*基因的表达水平在茎膨大初期表达量较高,中后期表达量较低,说明这2个基因在茎膨大增粗过程可能起着负向调控作用。

参考文献:

- [1] YANG X, GIL M I, YANG Q C, et al. Bioactive compounds in lettuce;highlighting the benefits to human health and impacts of preharvest and postharvest practices[J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety,2022,21(1):4-45.
- [2] 赵盈盈,秦晓晓,韩莹琰,等. 莴苣 *LsMYB44* 基因的克隆及表达分析[J]. 北京农学院学报,2022,37(2):39-44.
- [3] 王丽慧,张广楠,孙雪梅,等. 24 份茎用莴苣种质资源表型性状的遗传多样性分析[J]. 分子植物育种,2020,18(19):6530-6538.
- [4] XIE X, YUE S, SHI B, et al. Comprehensive analysis of the SBP family in blueberry and their regulatory mechanism controlling chlorophyll accumulation[J]. Frontier in Plant Science,2021,12:703994.
- [5] LI Z W, YANG Y J, CHEN B, et al. Genome-wide identification and expression analysis of *SBP-box* gene family reveal their involvement in hormone response and abiotic stresses in *Chrysanthemum nankingense*[J]. Peer J,2022,10:e14241.
- [6] MA Y, XUE H, ZHANG F, et al. The miR156/SPL module regulates apple salt stress tolerance by activating MdWRKY100 expression[J]. Plant Biotechnology Journal,2021,19(2):311-323.
- [7] LAN T, ZHENG Y L, SU Z L, et al. *OsSPL10*, a SBP-box gene, plays a dual role in salt tolerance and trichome formation in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Genes Genomes Genetic,2019,9(12):4107-4114.
- [8] LI H S, MA B, LUO Y W, et al. The mulberry *SPL* gene family and the response of MnSPL7 to silkworm herbivory through activating the transcription of *MnTT2L2* in the catechin biosynthesis pathway[J]. International Journal of Molecular Science,2022,23(3):1141.
- [9] SCHWARZ S, GRANDE A, BUJDOSO N S, et al. The microRNA regulated SBP-box genes *SPL9* and *SPL15* control shoot maturation in *Arabidopsis*[J]. Plant Molecular Biology,2008,67(1/2):183-195.
- [10] ZHAO X, ZHANG M, HE X, et al. Genome-wide identification and expression analysis of the *SPL* gene family in three orchids [J]. International Journal of Molecular Science,2023,24(12):10039.
- [11] GAO J, PENG H, CHEN F, et al. Genome-wide identification and characterization, phylogenetic comparison and expression profiles of SPL transcription factor family in *B. juncea* (Cruciferae) [J]. PLoS One,2019,14(11):e0224704.
- [12] ZHENG C, YE M, SANG M, et al. A regulatory network for miR156-SPL module in *Arabidopsis thaliana* [J]. International Journal of Molecular Science,2019,20(24):6166.
- [13] 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.
- [14] ZHU T, LIU Y, MA L L, et al. Genome-wide identification, phylogeny and expression analysis of the *SPL* gene family in wheat[J]. BMC Plant Biology,2020,20(1):420.
- [15] 蔡 倩,赵甜甜,刘梦迪,等. 大麦 SBP 转录因子的鉴定与表达分析[J]. 麦类作物学报,2020,40(1):65-74.
- [16] ZHANG D Y, HANZ L, LI J Q, 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.
- [17] WANG Y Z, RUAN Q, ZHU X L, et al. Identification of Alfalfa *SPL* gene family and expression analysis under biotic and abiotic stresses[J]. Science Reports,2023,13(1):84.
- [18] LI J, FAN R, WU B D, et al. Genome-wide identification and functional exploration of *SBP-box* gene family in black pepper (*Piper nigrum* L) [J]. Genes,2021,12(11):1740.
- [19] SONG N, CHENG Y L, PENG W Y, et al. Genome-wide characterization and expression analysis of the *SBP-box* gene family in sweet orange (*Citrus sinensis*) [J]. International Journal of Molecular Science,2021,22(16):8918.
- [20] HUANG Y, LI Y, LIU Z, et al. Combined analysis of the transcriptome and metabolome provides insights into the fleshy stem expansion mechanism in stem lettuce[J]. Frontier in Plant Science,2022,13:1101199.
- [21] YAMAGUCHI N. LEAFY, a pioneer transcription factor in plants: a mini-review[J]. Frontier in Plant Science,2021,12:701406.
- [22] CARDON G, HOHMANN S, KLEIN J, et al. Molecular characterization of the *Arabidopsis* SBP-box genes[J]. Gene,1999,237:91-104.
- [23] TRIOATHIR K, OVERBEEK W, SINGH J. Global analysis of SBP gene family in *Brachypodium distachyon* reveals its association with spike development[J]. Science Report,2020,10(1):15032.
- [24] 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 Physiology Biochemistry,2013,70:100-114.
- [25] 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.
- [26] LIU Y H, ASLAM M, YAO L A, et al. Genomic analysis of SBP gene family in *Saccharum spontaneum* reveals their association with

- vegetative and reproductive development [J]. BMC Genomics, 2021, 22: 767.
- [27] 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]. Plant Journal, 1997, 12(2): 367-377.
- [28] 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.
- [29] XING S, SALINAS M, GARCIA-MOLONA A, et al. *SPL8* and miR156-targeted SPL genes redundantly regulate *Arabidopsis* gynoecium differential patterning [J]. Plant Journal, 2013, 75(4): 566-577.
- [30] MIURA K, IKEDA M, MATSUBARA A, et al. *OsSPL14* promotes panicle branching and higher grain productivity in rice [J]. Nature Genetics, 2010, 42(6): 545-549.
- [31] WANG S, WU K, YUAN Q, et al. Control of grain size, shape and quality by *OsSPL16* in rice [J]. Nature Genetics, 2012, 44(8): 950-954.
- [32] CHUCK G S, BROWN P J, MEELEY R, et al. Maize SBP-box transcription factors unbranched2 and unbranched3 affect yield traits by regulating the rate of lateral primordia initiation [J]. Proceedings of National Academy Sciences, 2014, 111(52): 18775-18780.
- [33] WAHEED S, ZENG L. The critical role of miRNAs in regulation of flowering time and flower development [J]. Genes, 2020, 11(3): 319.
- [34] LI C, LU S. Molecular characterization of the *SPL* gene family in *Populus trichocarpa* [J]. BMC Plant Biology, 2014, 14: 131.
- [35] YAMAGUCHI A, ABE M. Regulation of reproductive development by non-coding RNA in *Arabidopsis*: to flower or not to flower [J]. Journal Plant Research, 2012, 125(6): 693-704.
- [36] DAI Z, WANG J, YANG X, et al. Modulation of plant architecture by the miR156f-OsSPL7-OsGH3.8 pathway in rice [J]. Journal of Experimental Botany, 2018, 69(21): 5117-5130.
- [37] STIONE 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]. Plant Journal, 2005, 1(5): 744-754.
- [38] CHAO L M, LIU Y Q, CHEN D Y, et al. *Arabidopsis* transcription factors SPL1 and SPL12 confer plant thermotolerance at reproductive stage [J]. Molecular Plant, 2017, 10(5): 735-748.

(责任编辑:石春林)