萝卜全基因组中 LBD 基因家族成员的鉴定与分析

刘同金,张晓雪,张晓辉,王海平,邱 杨,宋江萍,李锡香(中国农业科学院蔬菜花卉研究所/农业部园艺作物生物学与种质创制重点实验室,北京100081)

摘要: LBD 基因家族是植物所特有的一类转录因子,在植物生长发育过程中起到非常重要的作用。本研究利用生物信息学方法,从萝卜基因组中鉴定出分布于9条染色体上的59个 LBD 基因。该家族成员结构比较简单,内含子数均不超过3个。萝卜 LBD 基因可分为两大类,分别包含50个和9个成员。它们在染色体上的分布不均匀,1号染色体上基因数目最多,有18个,而7号和8号染色体分别仅有1个 LBD 基因。对它们在不同组织和发育时期的表达模式研究发现,该基因家族具有一定的时空表达特异性,预测其参与萝卜不同的发育过程。本研究为萝卜 LBD 基因家族的功能分析奠定了基础。

关键词: 萝卜; LBD 基因家族; 系统进化; 基因表达

Genome-wide Characterization of the LBD Gene Family in Radish

LIU Tong-jin, ZHANG Xiao-xue, ZHANG Xiao-hui, WANG Hai-ping, QIU Yang, SONG Jiang-ping, LI Xi-xiang

(Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences/Key Laboratory of Biology and Genetic Improvement of Horticultural Crops, Ministry of Agriculture, Beijing 100081)

Abstract: LBD gene family is a plant-specific transcription factors and plays very important role in plant development. In this study, 59 *LBD* genes were identified using bioinformatic approach and they were found on 9 chromosomes of radish genome. The radish *LBD* genes have simple genomic organization with the intron numbers being less than 3. These *LBD* genes could be classified into 2 classes according to the phylogeny relationship, including 50 and 9 members, respectively. The number of radish *LBD*s on chromosomes was different. For instance, eighteen members were found on chromosome 1, while only one member was found on chromosome 7 and 8. The expression patterns of radish *LBD* genes in different tissues and development stages showed spatial and temporal differences, implying the functional specificity. Thus, these results will become helpful for the functional characterization of the LBD genes family.

Key words: radish; LBD gene family; phylogenetic evolution; expression profile

LBD(Lateral organ boundaries domain)基因家族是植物所特有的一类转录因子,最先在拟南芥中被报道^[1],参与调控植物侧生器官发育、激

素积累、花青素和氮素代谢等^[2-3]。LBD蛋白依据N端保守结构域的不同可分为两类:I类同时含有一个类似锌指的保守结构域CX2CX6CX3C

收稿日期: 2018-05-03 修回日期: 2018-05-30 网络出版日期: 2018-09-06

URL: http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20180905.1656.004.html

第一作者研究方向为蔬菜种质资源, E-mail: tongjinliu@163.com; 张晓雪为共同第一作者

通信作者: 李锡香, 研究方向为蔬菜种质资源, E-mail: lixx@163.com

基金项目:"十三五"国家重点研发计划课题(2016YFD0100204-2);中国博士后科学基金项目(2017M620971);国家科技资源共享服务平台(NICGR2018-15);农作物种质资源保护项目;中国农业科学院科技创新工程协同创新任务(CAAS-XTCX2016016-4-4, CAAS-XTCX2016001-5-2, CAAS-XTCX2016017)

Foundation project: National Key Research and Development Program of China (2016YFD0100204-2), China Postdoctoral Science Foundation Funded Project (2017M620971), National Infrastructure for Crop Germplasm Resources (NICGR2018-15), Project of Crop Germplasm Resources Protection, Science and Technology Innovation Program of the Chinese Academy of Agricultural Sciences (CAAS-XTCX2016016-4-4, CAAS-XTCX2016001-5-2, CAAS-XTCX2016017)

和一个亮氨酸拉链类似基序LX6LX3LX6L,而II类仅含CX2CX6CX3C结构域。研究认为,CX2CX6CX3C基序在与DNA结合的过程中发挥作用,而LX6LX3LX6L基序可能参与蛋白质的互作「1.4],LBD与bHLH蛋白的互作会降低LBD蛋白与DNA的亲和力。

目前,在模式植物拟南芥中已有多个LBD家 族基因的功能获得了解析。AtLOB(AtASL4)在侧 生组织近轴端基部特异性表达,参与叶片早期发 育的调控[1]。AtLBD6(AtAS2)不仅能通过抑制近 轴区域的细胞增殖,使叶片的近-远轴面对称发育 形成平展叶,还可与AS1和JAG协同约束花器官 中边界细胞的分化,调控花发育进程^[5-6]。LBD10 在拟南芥花粉发育过程中起重要作用^[7]。LBD15 调控 WUSCHEL(WUS)的表达和顶端分生组织 细胞分化^[8]。AtLBD16、AtLBD18和AtLBD29参 与调控侧根发育,也是植株再生过程中愈伤组织 形成的重要调控因子^[9-11]。AtLBD20参与COI 依赖性的茉莉酮酸酯(JA)介导的植物抗病响 应[12]。AtLBD27在拟南芥小孢子发生、花粉发育 和细胞的不对称分裂过程中发挥重要作用[13-14]。 AtLBD30 调控胚胎发生和器官发育[15]。AtLBD36 参与叶的形态建成及花瓣发育[14,16]。AtLBD37、 AtLBD38和AtLBD39参与植物花青素的生物合 成与氮素代谢[17]。其他植物中,也有LBD家族 基因功能研究的报道。苹果 MdLBD13 抑制花 青素合成和氮素吸收^[18]。水稻 OsIGI 参与水稻 花器官数目和雌配子的发育[19]; OsLBD12-1通 过抑制 AGO10 的表达负向调控顶端分生组织的 大小^[20]; OsCrl1 调控不定根发生^[21]; OsLBD3-7 可以通过调节泡状细胞,影响叶片卷曲[22]; 过表达 OsLBD37 和 OsLBD38 延迟水稻抽穗时间,提 高产量[23]。玉米 ZmIGI 调控雌配子发育和叶片轴 向分化^[19,23-25]。尽管近年来 LBD 基因的功能研究已 有了重要进展,但仍有大部分基因的功能是未知的。

随着测序技术的发展和测序价格的降低,多个物种已完成了全基因组测序,为 LBD 基因家族在全基因组水平的鉴定和功能研究奠定了基础。拟南芥、水稻、玉米、杨树、番茄、辣椒、烟草、葡萄中分别发现 43、35、44、57、46、56、45、98 个 LBD 蛋白^[3,26-32],但萝卜 LBD 基因家族的全基因组鉴定尚未见有研究报道。萝卜是我国重要的蔬菜作物,基因组序列也已公布^[33]。萝卜基因组水平 LBD 基因家族的鉴定、结构与表达分析,将为进一步研究该家族成员的

生物学功能奠定基础。

1 材料与方法

1.1 萝卜 LBD 家族成员的鉴定

白萝卜36-2的全基因组测序由本课题组完成^[33]。将蛋白序列构建本地BLAST数据库,以Pfam数据库(http://pfam.xfam.org)中LBD结构域(DUF260,PF03195)为模型,利用Perl程序筛选含有该结构域的蛋白序列;同时以下载自TAIR(http://arabidopsis.org/)的拟南芥LBD蛋白序列执行本地BLAST搜索。合并以上结果,经删除冗余序列,SMART网站(http://smart.embl-heidelberg.de/)确认LBD结构域(CX2CX6CX3C)的有无,最终获得萝卜LBD基因家族序列。利用ExPASy(http://web.expasy.org/protparam/)在线软件对萝卜LBD蛋白的分子量和等电点进行预测。以萝卜LBD基因比对TAIR数据库,获取同源性最高的拟南芥LBD序列信息。

1.2 系统发育树构建及保守结构域分析

利用 Clustal W 对萝卜 LBD 蛋白序列进行多序列比对, Mega 6.0 的邻接法(NJ, Neighbor-Joining)构建系统发育树, Bootstrap设置为 1000 次。利用DNAMAN 软件进行保守域序列比对分析。

1.3 基因结构及染色体定位分析

使用 perl 程序解析 萝卜基因组信息文件 (assembly gff3 file),确定 LBD 基因的染色体位置和结构信息,使用 MapInspect 软件进行染色体定位作图; GSDS (http://gsds.cbi.pku.edu.cn/) 在线工具进行基因外显子 - 内含子作图[34]。

1.4 萝卜 LBD 基因的组织表达模式分析

白皮白肉萝卜 36-2 的 5 个不同发育时期(芽期、破肚期、肉质根膨大前期、膨大盛期和成熟期),绿皮红肉萝卜心里美 2 个发育时期(膨大前期、成熟期)的肉质根、白萝卜 36-2 的 5 个不同组织(臺、愈伤组织、花、叶和角果)的转录组数据由本实验室前期测序完成。LBD 成员基因表达量(FPKM)经log₂ 均一化处理,利用 HemI 1.0 软件进行转录组数据表达热图的绘制^[35]。

2 结果与分析

2.1 萝卜 LBD 家族成员鉴定

利用生物信息学方法,从白萝卜36-2基因组中鉴定出59个LBD转录因子家族成员(表1),均含有LOB特征结构域(CX2CX6CX3C)。最长

(Rsa10028771)和最短(Rsa10042683)的萝卜LBD LBD蛋白分子量为13.062~36.866 kD,预测的等电蛋白分别包含327和117个氨基酸残基。萝卜 点介于4.61~9.76之间(表1)。

表 1 萝卜中 LBD 转录因子家族信息

Table 1 Information of LBD transcription factor gene family in radish

拟南芥基因 Arabidopsis gene		萝卜基因组 登录号	长度(bp)	大小(aa)	分子量(kD)	等电点
登录号 Accession No.	名称 Gene name	Gene accession No. of radish	Length of CDS	Size	Molecular weight	Isoelectric point
AT1G07900	LBD1	Rsa10038080	492	163	18.123	8.92
AT1G06280	LBD2	Rsa10041377		199	22.610	9.68
		Rsa10019942		204	23.137	9.76
AT1G16530	LBD3, ASL9	_	_	_	_	_
AT1G31320	LBD4	Rsa10029922	528	175	19.006	8.23
AT1G36000	LBD5	_	_	_	_	_
AT1G65620	LBD6, AS2	Rsa10015759	939	312	34.769	9.30
AT1G72980	LBD7	Rsa10030514	603	200	22.581	8.75
AT2G19510	LBD8	_	_			
AT2G19820	LBD9	_	_			
AT2G23660	LBD10	Rsa10002690	939	312	34.902	4.84
AT2G28500	LBD11	Rsa10020252	720	239	26.105	5.15
		Rsa10028614	714	237	25.849	5.12
		Rsa10037453	741	246	27.527	4.61
AT2G30130	LBD12, ASL5, PCK1	Rsa10032348	576	191	21.141	6.70
		Rsa10007275	579	192	21.349	6.38
		Rsa10016508	588	195	21.725	6.30
AT2G30340	LBD13	Rsa10007291	816	271	29.507	9.13
		Rsa10016519	804	267	28.841	9.35
AT2G31310	LBD14	Rsa10038455	552	183	20.488	5.52
		Rsa10016617	552	183	20.684	5.64
AT2G40470	LBD15, ASL11	Rsa10006762	690	229	25.159	8.77
		Rsa10039100	618	205	22.118	8.56
AT2G42430	LBD16, ASL18	Rsa10011283	750	249	26.958	8.42
		Rsa10039206	747	248	26.730	8.20
		Rsa10041545	849	282	30.717	8.33
		Rsa10025998	849	282	30.717	8.33
		Rsa10010874	849	282	30.717	8.33
AT2G42440	LOB1	Rsa10011284	654	217	24.900	6.14
AT2G45420	LBD18	Rsa10039411	663	220	22.324	9.02
		Rsa10006216	693	230	23.662	8.52
AT2G45410	LBD19	Rsa10039410	564	187	20.591	7.18
		Rsa10006218	630	209	23.555	8.17

表 1(续)

拟南芥基因 Arabidopsis gene		萝卜基因组 登录号	长度(bp)	大小(aa)	分子量(kD)	等电点
登录号	名称	Gene accession No. of	Length of CDS	Size	Molecular weight	Isoelectric point
Accession No.	Gene name	radish				
AT3G03760	LBD20	Rsa10014633	831	276	29.113	7.90
		Rsa10043138	831	276	29.370	8.37
AT3G11090	LBD21	Rsa10011124	549	182	19.691	7.15
AT3G13850	LBD22	Rsa10013083	789	262	29.865	5.89
		Rsa10034772	795	264	30.061	5.48
AT3G26620	LBD23	Rsa10015492	375	124	13.923	9.34
		Rsa10042683	354	117	13.062	9.21
AT3G26660	LBD24	_	_			
AT3G27650	LBD25	Rsa10007511	408	135	14.956	8.27
		Rsa10024643	408	135	15.053	7.80
		Rsa10027170	408	135	14.948	8.92
AT3G27940	LBD26	_	_			
AT3G47870	LBD27, SCP	Rsa10007737	975	324	36.866	5.35
		Rsa10007636	519	172	19.680	9.11
AT3G50510	LBD28	_	_			
AT3G58190	LBD29, ASL16	Rsa10024185	678	225	24.696	6.42
		Rsa10001996	660	219	24.065	6.42
AT4G00220	LBD30, JLO	Rsa10025702	684	227	23.994	7.20
AT4G00210	LBD31	Rsa10025703	681	226	24.681	6.18
AT4G22700	LBD32	_	_			
AT5G06080	LBD33	Rsa10020905	567	188	21.200	6.18
AT5G15060	LOB2	_	_			
AT5G35900	LBD35	_	_			
AT5G66870	LBD36, ASL1	Rsa10028771	984	327	36.370	6.67
		Rsa10016071	969	322	35.500	6.64
AT5G67420	LBD37, ASL39	Rsa10022199	750	249	27.245	9.26
		Rsa10028818	768	255	27.691	8.42
		Rsa10016090	729	242	26.157	8.48
AT3G49940	LBD38	Rsa10032870	750	249	27.288	8.37
		Rsa10017986	726	241	26.501	8.48
AT4G37540	LBD39	Rsa10026355	741	246	26.873	8.81
AT1G67100	LBD40	Rsa10008383	453	150	16.616	9.13
AT3G02550	LBD41	Rsa10014698	816	271	28.956	8.41
		Rsa10043173	591	196	20.733	9.61
AT1G68510	LBD42	_	_			
AT5G63090	LOB3	Rsa10042107	555	184	20.160	8.55
		Rsa10022307	549	182	20.045	8.87

以 萝卜的 LBD 候 选 基 因 蛋 白 序 列 比 对 TAIR 数据库,获得了在拟南芥中的同源性最高 基 因(表1)。 其 中, LBD3, ASL9(AT1G16530)、 LBD5(AT1G36000)、LBD8(AT2G19510)、LBD9(AT2G19820)、LBD24(AT3G26660)、LBD26(AT3G27940)、LBD28(AT3G50510)、LBD32(AT4G22700)、LOB2(AT5G15060)、LBD35(AT5G35900)、LBD42(AT1G68510)共 11 个 拟 南 芥 LBD 家族基因在萝卜基因组中未鉴定到其同源

基因。在萝卜基因组中,有12个*LBD*基因仅存在1个拷贝,15个*LBD*基因存在2个拷贝,4个*LBD*基因存在3个拷贝,而拟南芥*LBD16、ASL18*基因在萝卜基因组中的同源基因的拷贝数达5个,发生了明显的基因扩张。

2.2 萝卜 LBD 家族基因结构及系统进化分析

为了解萝卜 *LBD* 基因的系统进化关系,利用其蛋白全长构建系统进化树(图1)。结果显示,59个萝卜 *LBD* 基因可分成 I、II 两类,分别含有50个和

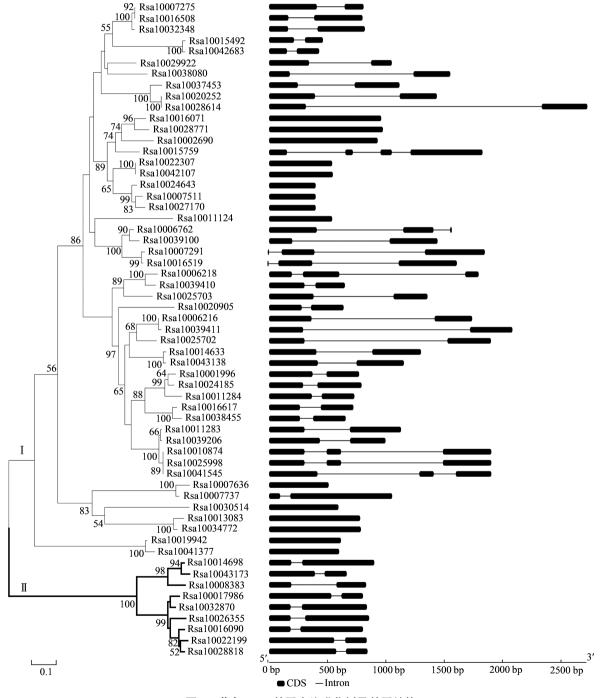


图 1 萝卜 LBD 基因家族进化树及基因结构

Fig.1 The phylogenetic tree and exon distribution of LBD family in radish

9个基因;同一*LBD*基因的不同拷贝聚在一起。对家族成员的基因结构分析显示,萝卜*LBD*基因结构相对简单,内含子数均在3个以内,其中15个基因不含内含子,36个基因含有1个内含子,7个基因含有2个内含子,仅1个基因含有3个内含子。进一步分析发现,萝卜*LBD*基因II类均仅含1个内含子,I类中聚类关系较近的基因具有相似的外显子-

内含子结构(图1)。为进一步分析萝卜LBD基因家族成员与拟南芥同源基因的进化关系,构建了萝卜与拟南芥*LBD*基因的系统进化树(图2)。根据进化树聚类结果,可将萝卜*LBD*基因 I 类细分为 4个亚类: Ia、Ib、Ic 和 Id,分别包含 14、10、19 和 7个LBD家族成员。

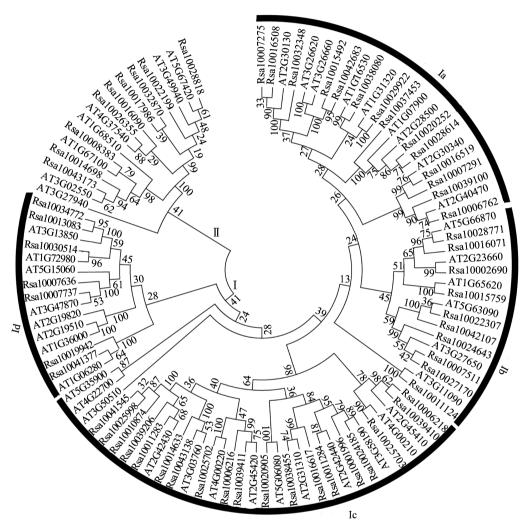


图 2 萝卜与拟南芥 LBD 转录因子的系统进化树

Fig. 2 The unrooted phylogenetic tree of LBD transcription factors in radish and Arabidopsis

2.3 萝卜 LBD 基因家族染色体定位分析

根据基因位置信息将鉴定出的 59 个 *LBD* 基因 定位在萝卜的 9 条染色体上(图 3)。它们在染色体 上不均匀分布,其中 1 号染色体上基因数目最多,含有 18 个 *LBD* 成员,其次是 4 号染色体分布有 15 个 *LBD* 基因,3 号和 6 号染色体分别仅有 2 个 *LBD* 基因,7 号和 8 号染色体分别仅有 1 个 *LBD* 基因。

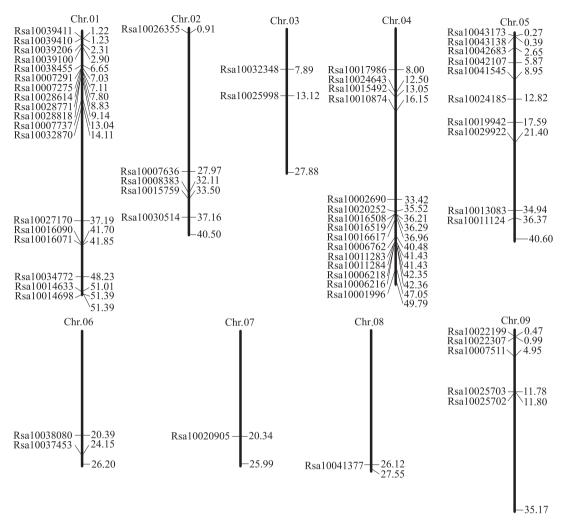
2.4 萝卜 LBD 蛋白序列的保守性分析

通过比对分析 59 个萝卜 LBD 蛋白的 LOB 保守结构域发现,萝卜 LBD 蛋白含有 1 个由 45 个氨

基酸组成的保守的 Cx2Cx6Cx3C 基序(图 4),在与 DNA 结合的过程中发挥作用。Class I 的 LBD 基因成员 C 端含有赖氨酸组成的类似亮氨酸拉链的 Lx6Lx3Lx6L 螺旋卷曲二级结构,可能参与蛋白质的互作,而 9个 Class II 成员均无此结构域(图 4)。

2.5 萝卜 *LBD* 基因组织表达分析

为明确萝卜LBD家族基因的组织和时期特异性表达,利用课题组前期完成的白萝卜36-2芽期、破肚期、膨大前期、膨大盛期、成熟期的肉质根



图左侧为 LBD 基因名称,右侧为基因在染色体上的位置(Mb)

The LBD genes names are shown on the left margin and there locations (Mb) are shown on the right margin of each chromosome

图 3 萝卜 LBD 转录因子的染色体定位

Fig.3 The chromosomal positions of the LBD transcription factors in radish

及臺、愈伤组织、花、叶片和角果及红肉萝卜心里美 膨大前期和成熟期肉质根的转录组表达数据,绘制 了萝卜 LBD 家族基因的表达热图(图 5)。结果显 示,不同LBD基因在不同组织中的表达模式有显 著差异。Rsa10041377、Rsa10015759、Rsa10007737 仅在花中表达,这些基因可能在花的形态建成 过程中发挥了重要作用。其中, Rsa10015759和 Rsa10007737 分别是拟南芥AtLBD6(AS2)和 AtLBD27(SCP)的同源基因(表1),而研究表明, AtLBD6参与花发育进程的调控[5-6], AtLBD27在 拟南芥小孢子发生、花粉发育过程中发挥重要作 用[13-14],因此推测这两个基因在萝卜中的同源基因 可能具有相似的生物学功能。Rsa10041377是拟 南芥 LBD2 的同源基因,目前尚未见有拟南芥该基 因功能研究的报道。Rsa10028771主要在萝卜愈 伤组织中表达,而其拟南芥同源基因 AtLBD36 参

与叶片形态建成和花序结构[14,16],这可能是该基因 在进化过程中产生了新的功能。拟南芥 AtLBD16、 AtLBD18 和 AtLBD29 参与调控侧根发育和植株 再生过程中愈伤组织的形成[9-11],但萝卜中这些 基因的同源基因在本研究的组织中均未检测到表 达。Rsa10025702主要在萝卜角果中表达,其拟 南芥同源基因 AtLBD30 参与胚胎发生和器官发 育的调控[15],推测萝卜中该基因可能参与角果或 种子的发育过程。LBD家族多个基因可能参与 了萝卜肉质根的发育(图5),其中Rsa10007511、 Rsa10024643 和 Rsa10014698 在 肉 质 根 膨 大 前 期表达量最高。AtLBD38参与植物花青素的 生物合成与氮素代谢[17],其萝卜中的同源基因 Rsa10032870 仅在红肉萝卜心里美肉质根表达, 推测其可能参与心里美萝卜肉质根花青素的生物 合成。

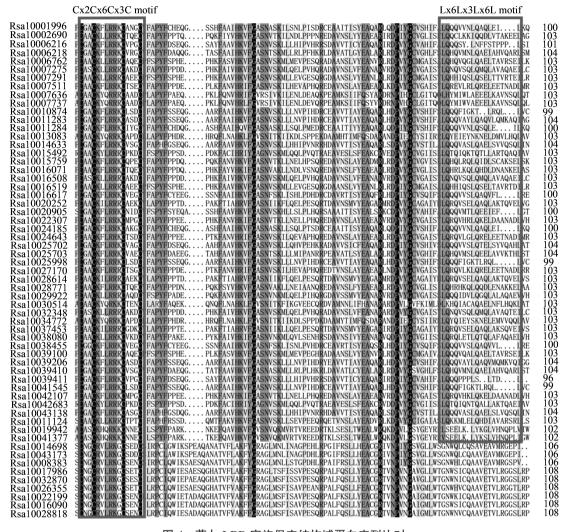


图 4 萝卜 LBD 家族保守结构域蛋白序列比对

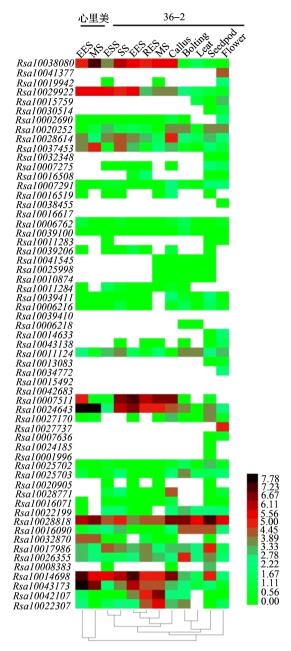
Fig.4 Multi-alignment of conserved motif sequences of the LBD family in radish

3 讨论

萝卜全基因组测序完成以后,已有多个基因家族功能分析的报道,如 WRKY^[36]、NAC^[37]、MADS-Box^[38]基因家族等。LBD 转录因子是植物中特有的一类基因家族,在植物侧生器官发育、激素积累、逆境响应、花青素和氮素代谢等途径中发挥了重要作用^[2-3]。本研究通过对萝卜进行全基因组生物信息学分析,鉴定出2类共59个LBD蛋白家族成员,其家族成员数量与拟南芥(43个)、水稻(35个)、玉米(44个)、杨树(57个)、番茄(46个)、辣椒(56个)、烟草(45个)、葡萄(98个)相近^[3,26-32],其数量的多少与基因组的大小并不呈比例关系。

研究表明,不同物种间同源基因在进化过程中多数保留了相同或相似的功能。模式植物拟南芥LBD基因家族多个成员的功能已得到验证,本研究以萝卜的LBD 候选基因蛋白序列比对 TAIR 数据

库,获得了在拟南芥中同源性最高的基因(表1),这 为预测萝卜该基因家族的功能提供了可靠的依据。 本研究还发现 11 个拟南芥 LBD 家族基因在萝卜基 因中未鉴定到其同源基因,这些基因可能在进化过 程中丢失;此外,由于目前萝卜基因组尚有 26.84% 的序列未被拼接出来,因此基因组组装和基因注释 的局限性也可能是导致本研究中部分拟南芥 LBD 基因在萝卜中未鉴定到同源基因的原因。有12个 LBD 基因在萝卜基因组中仅存在 1 个拷贝,其余的 有2个以上拷贝,拟南芥 LBD16, ASL18 基因的同 源基因在萝卜基因组中的拷贝数达5个,说明在漫 长的进化过程中该家族出现了基因复制事件。萝卜 中的 LBD 家族基因在 9 条染色体上分布并不均匀, 1号染色体上基因数目最多,有18个,而7号和8 号染色体分别仅有1个LBD基因。萝卜LBD基因 结构相对简单,内含子数目少于3个,这与前人报道 的拟南芥等植物研究结果类似。



ESS: 芽期; SS: 破肚期; EES: 膨大前期; RES: 膨大盛期; MS: 成熟期; Callus: 愈伤组织; Bolting: 薹; Leaf: 叶; Seedpod: 角果; Flower: 花

 $ESS: seedling\ stage, SS: splitting\ stage, EES: early\ expanding\ stage, \\RES: rapid\ expanding\ stage, MS: mature\ stage$

图 5 萝卜 LBD 基因表达模式

Fig.5 The expression profile of the radish *LBD* genes

基因的组织表达模式与其功能特征密切相关。本研究利用萝卜转录组数据分析了 LBD 家族基因在肉质根的 5 个不同发育时期、薹、愈伤组织、花、叶片和角果的表达情况(图 5)。发现不同 LBD 基因在不同组织中的表达模式有显著差异,根据基因的表达模式及与拟南芥同源基因的对应关系,初步预测了部分基因的功能,例如 Rsa10015759 和

Rsa10007737 仅在花中表达,它们分别是拟南芥参 与花发育相关的 AtLBD6(AS2)和 AtLBD27(SCP) 的同源基因[5-6,13-14],推测其在萝卜中具有相似的生 物学功能。Rsa10032870 仅在红肉萝卜心里美肉质 根表达,其拟南芥同源基因 AtLBD38 参与植物花青 素的生物合成与氮素代谢^[17],推测 Rsa10032870 可 能参与心里美萝卜肉质根花青素的生物合成。我们 同时还发现有些 LBD 基因可能在进化过程中产生 了新的功能,如 Rsa10028771 主要在萝卜愈伤组织 中表达,而其拟南芥同源基因 AtLBD36 参与叶片形 态建成和花发育过程[14,16],推测该基因的功能与拟 南芥 AtLBD36 不同。此外,多个 LBD 基因在本研 究的不同组织和肉质根不同发育时期中均未检测到 表达,这可能是因为不同 LBD 基因功能存在冗余, 在进化过程中部分基因发生沉默,也可能是这些基 因在本研究的组织和时期以外的组织或时期表达 发挥功能。Chalfun-Junior等[16]发现AtLBD36与 AtLBD6(AtAS2)存在功能冗余,单一的AtLBD36 缺失突变不会引起表型的变异。Kim 等[14]研究结 果也表明,拟南芥AtLBD10、AtLBD22、AtLBD25, AtLBD27 和 AtLBD36 在调控拟南芥花粉发育过程 中具有时空表达特异性。

本研究通过对萝卜 LBD 转录因子的全基因组鉴定与拟南芥同源基因的对应分析及表达分析,预测了部分萝卜 LBD 转录因子的功能,为 LBD 基因家族调控萝卜生长发育的研究奠定了基础。这些基因的具体功能需要进一步的试验验证。

参考文献

- [1] Shuai B, Reynaga-Peña C G, Springer P S. The lateral organ boundaries gene defines a novel plant-specific gene family. Plant Physiology, 2002, 129 (2): 747-761
- [2] 卢寰,时振英. 高等植物特有的 LBD 基因的分子生物学功能研究进展. 植物生理学报, 2013, 49(9): 833-846 Lu H, Shi Z Y.Research progress on the molecular function of plant-specific LBD gene.Plant Physiology Journal, 2013, 49(9): 833-846
- [3] 孙亭亭, 龚达平, 张磊, 陈雅琼, 赵维, 向小华, 孙玉合. 普通烟草 LBD 基因家族的全基因组序列鉴定与表达分析. 植物遗传资源学报, 2016, 17(2): 316-325
 Sun T T, Gong D P, Zhang L, Chen Y Q, Zhao W, Xiang X H, Sun Y H.Genome-wide sequence identification and expression analysis of the LBD gene family in *Nicotiana tabacum*. Journal of Plant Genetic Resources, 2016, 17(2): 316-325
- 4] Majer C, Hochholdinger F.Defining the boundaries: structure and function of LOB domain proteins. Trends in Plant Science,

- 2011, 16(1): 47-52
- [5] Semiarti N U A J, Ueno Y, Tsukaya H, Iwakawa H, Machida C, Machida Y.The ASYMMETRIC LEAVES2 gene of Arabidopsis thaliana regulates formation of a symmetric lamina, establishment of venation and repression of meristem-related homeobox genes in leaves. Development, 2001, 128 (10): 1771
- [6] Iwakawa H, Iwasaki M, Kojima S, Ueno Y, Soma T, Tanaka H, Semiarti E, Machida Y, Machida C.Expression of the *ASYMMETRIC LEAVES2* gene in the adaxial domain of Arabidopsis leaves represses cell proliferation in this domain and is critical for the development of properly expanded leaves. Plant Journal, 2010, 51 (2): 173-184
- [7] Kim M J, Kim M, Kim J.Combinatorial interactions between LBD10 and LBD27 are essential for male gametophyte development in Arabidopsis.Plant Signaling & Behavior, 2015, 10 (8): e1044193
- [8] Sun X D, Feng Z H, Meng L S, Zhu J, Geitmann A. Arabidopsis ASL11/LBD15 is involved in shoot apical meristem development; and regulates WUS expression. Planta, 2013, 237 (5): 1367-1378
- [9] Fan M, Xu C, Xu K, Hu Y.LATERAL ORGAN BOUNDARIES DOMAIN transcription factors direct callus formation in Arabidopsis regeneration.Cell Research, 2012, 22 (7): 1169
- [10] Han W L, Nan Y K, Dong J L, Kim J.LBD18/ASL20 regulates lateral root formation in combination with LBD16/ASL18 downstream of ARF7 and ARF19 in Arabidopsis.Plant Physiology, 2009, 151 (3): 1377-1389
- [11] Okushima Y, Fukaki H, Onoda M, Theologis A, Tasaka M.ARF7 and ARF19 regulate lateral root formation via direct activation of LBD/ASL genes in Arabidopsis.Plant Cell, 2007, 19 (1):
- [12] Thatcher L F, Powell J J, Aitken E A, Kazan K, Manners J M.The lateral organ boundaries domain transcription factor LBD20 functions in Fusarium wilt susceptibility and jasmonate signaling in Arabidopsis.Plant Physiology, 2012, 160 (12): 407-418
- [13] Kim M J, Kim M, Lee M R, Park S K, Kim J.LATERAL ORGAN BOUNDARIES DOMAIN (LBD) 10 interacts with SIDECAR POLLEN/LBD27 to control pollen development in Arabidopsis.Plant Journal for Cell & Molecular Biology, 2015, 81 (5): 794-809
- [14] Kim M, Kim M J, Pandey S, Kim J.Expression and protein interaction analyses reveal combinatorial interactions of LBD transcription factors during Arabidopsis pollen development. Plant & Cell Physiology, 2016, 57 (11): 2291-2299
- [15] Rast M I, Simon R.Arabidopsis JAGGED LATERAL ORGANS acts with ASYMMETRIC LEAVES2 to coordinate KNOX and PIN expression in shoot and root meristems.Plant Cell, 2012, 24 (7): 2917-2933
- [16] Chalfun-Junior A, Franken J, Mes J J, Marsch-Martinez N,

- Pereira A, Angenent G C. ASYMMETRIC LEAVES2-LIKE1 gene, a member of the AS2/LOB family, controls proximal-distal patterning in Arabidopsis petals. Plant Molecular Biology, 2005, 57 (4): 559-575
- [17] Rubin G, Tohge T, Matsuda F, Saito K, Scheible W R.Members of the LBD family of transcription factors repress anthocyanin synthesis and affect additional nitrogen responses in Arabidopsis.Plant Cell, 2009, 21 (11): 3567-3584
- [18] Li H H, Liu X, An J P, Hao Y J, Wang X F, You C X.Cloning and elucidation of the functional role of apple MdLBD13, in anthocyanin biosynthesis and nitrate assimilation.Plant Cell Tissue & Organ Culture, 2017 (4): 1-13
- [19] Zhang J, Tang W, Huang Y, Niu X L, Zhao Y, Han Y, Liu Y S.Down-regulation of a *LBD*-like gene, *OsIG1*, leads to occurrence of unusual double ovules and developmental abnormalities of various floral organs and megagametophyte in rice.2015, 66 (1): 99-112
- [20] Ma W W, Wu F Q, Sheng P, Wang X L, Zhang Z, Zhou K N, Zhang H, Hu J L, Lin Q B, Cheng Z J, Wang J L, Zhu S S, Zhang X, Guo X P, Wang H Y, Wu C Y, Zhai H Q, Wan J M.The LBD12-1 transcription factor suppresses apical meristem size by repressing Argonaute 10 expression. Plant Physiology, 2016, 173 (1): 801-811
- [21] Inukai Y, Sakamoto T, Uequchi-Tanaka M, Shibata Y, Gomi K, Umemura I, Hasegawa Y, Ashikari M, Kitano H, Matsuoka M. Crown rootless I, which is essential for crown root formation in rice, is a target of an AUXIN RESPONSE FACTOR in auxin signaling. Plant Cell, 2005, 17 (5): 1387-1396
- [22] Li C, Zou X, Zhang C, Shao Q, Liu J, Liu B, Li H, Zhao T. OsLBD3-7 overexpression induced adaxially rolled leaves in rice. PLoS One, 2016, 11 (6): e0156413
- [23] Li C, Zhu S, Zhang H, Chen L, Cai M, Wang J, Chai J, Wu F, Cheng Z, Guo X, Zhang X, Wan J.OsLBD37 and OsLBD38, two class II type LBD proteins, are involved in the regulation of heading date by controlling the expression of Ehd1 in rice. Biochemical and biophysical research communications, 2017, 486 (3): 720-725
- [24] Liu H, Wang S, Yu X J, Yu J, He X, Zhang S, Shou H, Wu P.ARL1, a LOB-domain protein required for adventitious root formation in rice.Plant Journal, 2010, 43 (1): 47-56
- [25] Evans M M S.The *indeterminate gamethophyte1* gene of maize encodes a LOB domain protein required for embryo sac and leaf development.Plant Cell, 2007, 19 (1); 46-62
- [26] Matsumura Y, Iwakawa H, Machida Y, Machida C. Characterization of genes in the ASYMMETRIC LEAVES2/LATERAL ORGAN BOUNDARIES (AS2/LOB) family in *Arabidopsis thaliana*, and functional and molecular comparisons between AS2 and other family members.Plant Journal, 2010, 58 (3): 525-537
- [27] Yang Y, Yu X, Wu P.Comparison and evolution analysis of two

- rice subspecies LATERAL ORGAN BOUNDARIES domain gene family and their evolutionary characterization from Arabidopsis. Molecular Phylogenetics & Evolution, 2006, 39 (1): 248-262
- [28] Zhang Y M, Zhang S Z, Zheng C C.Genomewide analysis of LATERAL ORGAN BOUNDARIES Domain gene family in *Zea mays*. Journal of Genetics, 2014, 93 (1): 79-91
- [29] Zhu Q H, Guo A Y, Gao G, Zhong Y F, Xu M, Huang M, Luo J.DPTF: a database of poplar transcription factors. Bioinformatics, 2007, 23 (10): 1307-1308
- [30] 王小非,刘鑫,苏玲,孙永江,张世忠,郝玉金,由春香.番茄LBD基因家族的全基因组序列鉴定及其进化和表达分析.中国农业科学,2013,46(12):2501-2513
 Wang X F, Liu X, Su L, Sun Y J, Zhang S Z, Hao Y J, You C X.Identification, evolution and expression analysis of the LBD gene family in tomato.Scientia Agricultura Sinica, 2013,46 (12):2501-2513
- [31] 郑忠凡,张亚利,胡灿,戴雄泽,刘峰,袁祖华.辣椒全基因组中 LBD 转录因子的鉴定与表达分析.园艺学报,2016,43 (4):683-694

 Zheng Z F, Zhang Y L, Hu C, Dai X Z, Liu F, Yuan Z H.Genome-wide identification and expression analysis of LBD transcription factor in pepper.Acta Horticulturae Sinica, 2016,43 (4):683-694
- [32] Cao H, Liu C Y, Liu C X, Zhao Y L, Xu R R.Genomewide analysis of the lateral organ boundaries domain gene family in

- Vitis vinifera. Journal of Genetics, 2016, 95 (3): 515-526
- [33] Zhang X H, Yue Z, Mei S Y, Qiu Y, Yang X H, Chen X H, Cheng F, Wu Z Y, Sun Y Y, Jing Y, Liu B, Shen D, Wang H P, Cui N, Duan Y D, Wu J, Wang J L, Gan C X, Wang J, Wang X W, Li X X.A *de novo* genome of a Chinese radish cultivar. Horticultural Plant Journal, 2015, 1 (3): 155-164
- [34] Hu B, Jin J, Guo A Y, Zhang H, Luo J, Gao G.GSDS 2.0: an upgraded gene feature visualization server. Bioinformatics, 2015, 31 (8): 1296
- [35] Deng W, Wang Y, Liu Z, Cheng H, Xue Y.HemI: A toolkit for illustrating heatmaps.PLoS One, 2014, 9 (11): e111988
- [36] Karanja B K, Fan L, Xu L, Wang Y, Zhu X, Tang M, Wang R, Zhang F, Muleke E M, Liu L.Genome-wide characterization of the WRKY gene family in radish (*Raphanus sativus* L.) reveals its critical functions under different abiotic stresses. Plant Cell Reports, 2017, 36 (11): 1757-1773
- [37] Karanja B K, Xu L, Wang Y, Muleke E M, Jabir B M, Xie Y, Zhu X, Cheng W, Liu L.Genome-wide characterization and expression profiling of NAC transcription factor genes under abiotic stresses in radish (*Raphanus sativus* L.).Peer Journal, 2017, 5: e4172
- [38] Li C, Wang Y, Xu L, Nie S, Chen Y, Liang D, Sun X, Karanja B K, Luo X, Liu L.Genome-wide characterization of the MADS-Box gene family in Radish (*Raphanus sativus* L.) and assessment of its roles in flowering and floral organogenesis. Frontiers in Plant Science, 2016, 7: 1390

(上接167页)

- [19] Hinderhofer K, Zentgraf U.Identification of a transcription factor specifically expressed at the onset of leaf senescence. Planta, 2001, 213 (3): 469-473
- [20] Derlande L, Oliver J, Peeters N, Feng D X, Khounlotham M, Boucher C, Somssich I, Genin S, Marco Y.Physical interaction between RRS1-R, a protein conferring resistance to bacterial wilt, and PopP2, a type III effector targeted to the plant nucleus. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2003, 100 (13): 8024-8029
- [21] Huang Y, Li M Y, Wu P, Xu Z S, Que F, Wang F, Xiong A S.Members of WRKY Group III transcription factors are important in TYLCV defense signaling pathway in tomato (Solanum lycopersicum).BMC Genomics, 2016, 17(1): 788
- [22] Pandey S P, Smossich I E.The role of WRKY transcription factors in plant immunity.Plant Physiology, 2009, 150 (4): 1648-1655
- [23] Liu S A, Kracher B, Ziegler J, Birkenbihl R P, Somssich I E.Negative regulation of ABA signaling by WRKY33 is critical for Arabidopsis immunity towards *Botrytis cinerea*.eLife, 2015, 4: e07295
- [24] 张京,刘旭.大麦种质资源描述规范和数据标准.北京:中国 农业出版社,2006: 52-53 Zhang J, Liu X.Descriptors and data standard for barley

- (*Hordeum vulgare* L.). Beijing: published by China Agriculture Press, 2006: 52-53
- [25] Xiao Y H, Liu D P, Zhang G X, Tong H N, Chu C C.Brassinosteroids regulate OFP1, a DLT interacting protein, to modulate plant architecture and grain morphology in rice.Plant Science, 2017, 8: 1698
- [26] Rushton P J, Somssich I E, Ringler P, Shen Q J.WRKY transcription factors. Trend in Plant Science, 2010, 15 (5): 247-258
- [27] 王磊,高晓清,朱苓华,周永力,黎志康. 植物 WRKY 转录因 子家族基因抗病相关功能的研究进展. 植物遗传资源学报, 2011,12(1):80-85
 - Wang L, Gao X Q, Zhu L H, Zhou Y L, Li Z K.Advances in research on function of WRKY transcription factor genes in plant resistance. Journal of Plant Genetic Resources, 2011, 12 (1); 80-85
- [28] 李颖波, 郭桂梅, 刘成洪, 何婷, 高润红, 徐红卫, 陈志伟, 陆瑞菊, 黄剑华. 大麦 HvLECl 基因的克隆及其表达特征分析. 植物遗传资源学报, 2016, 17(4): 732-737
 Li Y B, Guo G M, Liu C H, He T, Gao R H, Xu H W, Chen Z W, Lu R J, Huang J H. Cloning and expression characterization of HvLECl in Hordeum valgare L.. Journal of Plant Genetic

Resources, 2016, 17 (4): 732-737