

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-XTX2016016-4-4, CAAS-XTX2016001-5-2, CAAS-XTX2016017)

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-XTX2016016-4-4, CAAS-XTX2016001-5-2, CAAS-XTX2016017)

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 的亲合力。

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 *OsIG1* 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 *ZmIG1* 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 (茎、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 \log_2 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蛋白分别包含327和117个氨基酸残基。萝卜

LBD蛋白分子量为13.062~36.866 kD,预测的等电点介于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 <i>Arabidopsis</i> gene		萝卜基因组		长度(bp) Length of CDS	大小(aa) Size	分子量(kD) Molecular weight	等电点 Isoelectric point
登录号 Accession No.	名称 Gene name	Gene accession No. of radish	登录号				
AT1G07900	<i>LBD1</i>	Rsa10038080		492	163	18.123	8.92
AT1G06280	<i>LBD2</i>	Rsa10041377			199	22.610	9.68
		Rsa10019942			204	23.137	9.76
AT1G16530	<i>LBD3, ASL9</i>	—		—	—	—	—
AT1G31320	<i>LBD4</i>	Rsa10029922		528	175	19.006	8.23
AT1G36000	<i>LBD5</i>	—		—	—	—	—
AT1G65620	<i>LBD6, AS2</i>	Rsa10015759		939	312	34.769	9.30
AT1G72980	<i>LBD7</i>	Rsa10030514		603	200	22.581	8.75
AT2G19510	<i>LBD8</i>	—		—			
AT2G19820	<i>LBD9</i>	—		—			
AT2G23660	<i>LBD10</i>	Rsa10002690		939	312	34.902	4.84
AT2G28500	<i>LBD11</i>	Rsa10020252		720	239	26.105	5.15
		Rsa10028614		714	237	25.849	5.12
		Rsa10037453		741	246	27.527	4.61
AT2G30130	<i>LBD12, ASL5, PCK1</i>	Rsa10032348		576	191	21.141	6.70
		Rsa10007275		579	192	21.349	6.38
		Rsa10016508		588	195	21.725	6.30
AT2G30340	<i>LBD13</i>	Rsa10007291		816	271	29.507	9.13
		Rsa10016519		804	267	28.841	9.35
AT2G31310	<i>LBD14</i>	Rsa10038455		552	183	20.488	5.52
		Rsa10016617		552	183	20.684	5.64
AT2G40470	<i>LBD15, ASL11</i>	Rsa10006762		690	229	25.159	8.77
		Rsa10039100		618	205	22.118	8.56
AT2G42430	<i>LBD16, ASL18</i>	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	<i>LOB1</i>	Rsa10011284		654	217	24.900	6.14
AT2G45420	<i>LBD18</i>	Rsa10039411		663	220	22.324	9.02
		Rsa10006216		693	230	23.662	8.52
AT2G45410	<i>LBD19</i>	Rsa10039410		564	187	20.591	7.18
		Rsa10006218		630	209	23.555	8.17

表 1(续)

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

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。

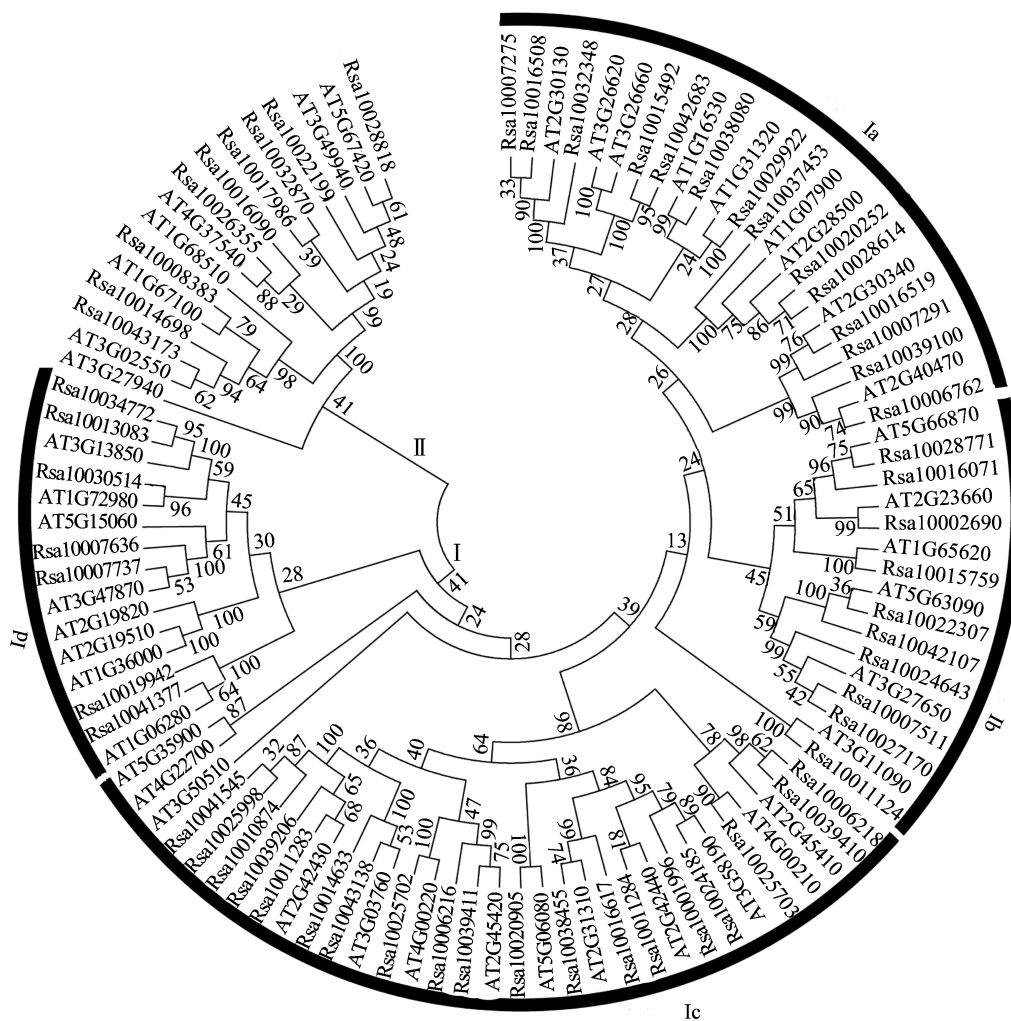


图 2 萝卜与拟南芥 LBD 转录因子的系统进化树

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。

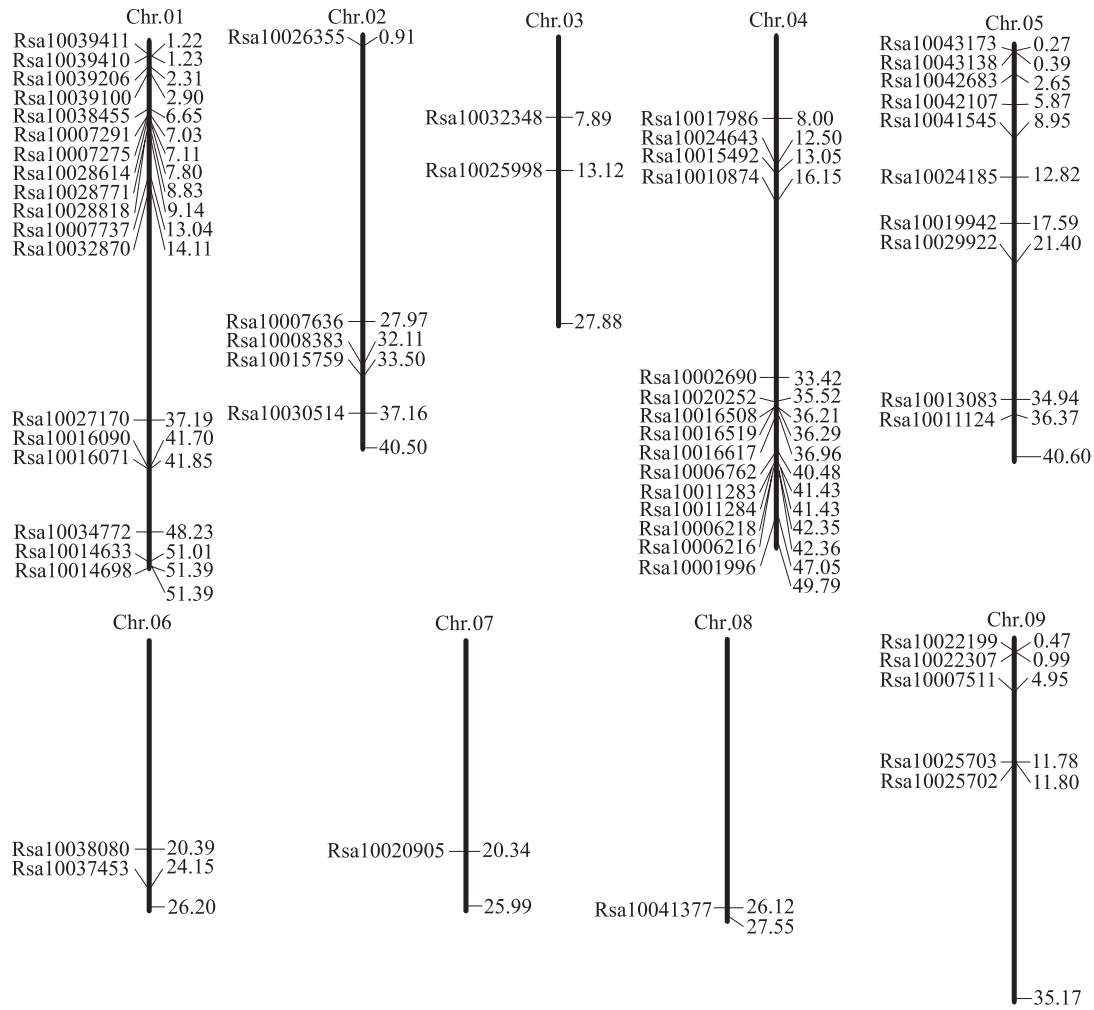
2.4 萝卜 LBD 蛋白序列的保守性分析

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 and 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

及茎、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。

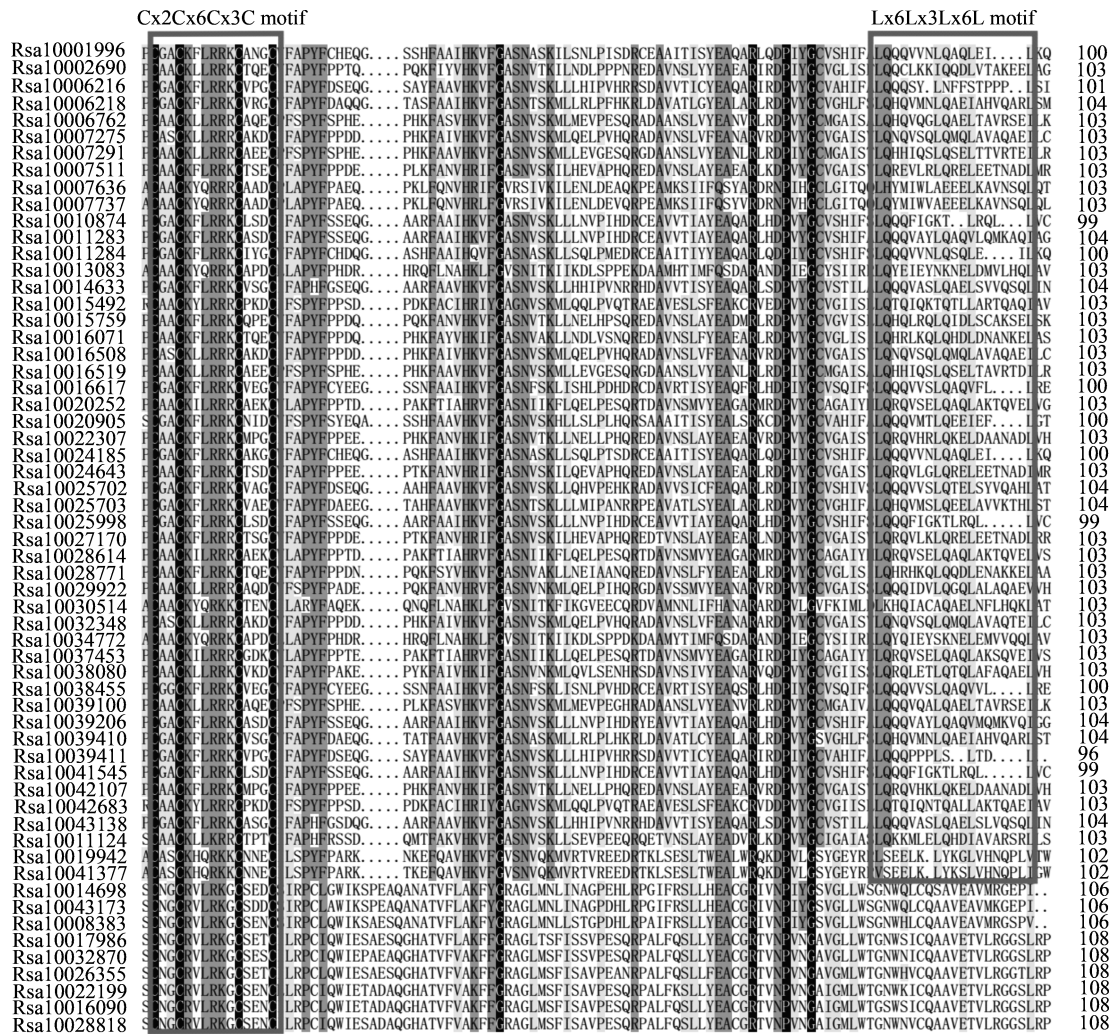


图4 萝卜 LBD 家族保守结构域蛋白序列比对

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组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。

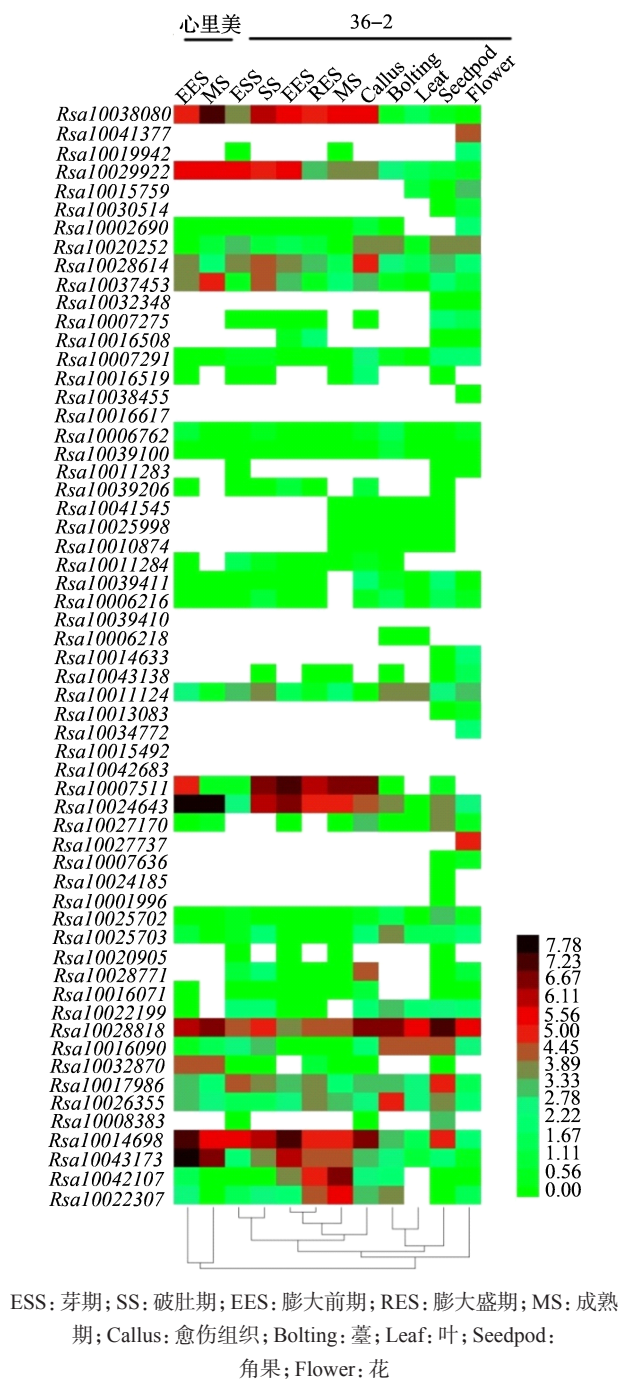


图5 萝卜LBD基因表达模式

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): 118-130
- [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, Ueuchi-Tanaka M, Shibata Y, Gomi K, Umemura I, Hasegawa Y, Ashikari M, Kitano H, Matsuoka M. *Crown rootless1*, 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 gametophyte1* 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

