



白化菠萝蜜茎2个蛋白激酶和4个转录因子家族分析

张水仙, 王紫璇, 谢柳青, 于旭东, 蔡泽坪, 罗佳佳

引用本文:

张水仙,王紫璇,谢柳青,于旭东,蔡泽坪,罗佳佳. 白化菠萝蜜茎2个蛋白激酶和4个转录因子家族分析[J]. 热带亚热带植物学报, 2023, 31(4): 521–530.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11926/jtsb.4619>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

[东乡野生稻苗期响应低温胁迫的转录组分析](#)

Transcriptome Analysis of Response to Low Temperature Stress in Dongxiang Wild Rice at Seedling Stage
热带亚热带植物学报. 2021, 29(6): 616–625 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4387>

[冰菜盐胁迫下的转录组分析](#)

Transcriptome Analysis of Mesembryanthemum crystallinum under Salt Stress
热带亚热带植物学报. 2019, 27(3): 279–284 <https://doi.org/10.11926/jtsb.3972>

[毛竹APX家族基因鉴定和表达分析](#)

Identification and Expression Analysis of the APX Gene Family in *Phyllostachys edulis*
热带亚热带植物学报. 2020, 28(3): 255–264 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4155>

[毛竹油菜素内酯受体激酶基因的分子特征及表达模式分析](#)

Molecular Characteristics and Expression Analysis of Brassinolide Receptor Kinase Genes in *Phyllostachys edulis*
热带亚热带植物学报. 2018, 26(3): 215–223 <https://doi.org/10.11926/jtsb.3818>

[铁皮石斛WOX转录因子的鉴定和分析](#)

Identification and Analysis of WOX Transcription Factor in *Dendrobium officinale*
热带亚热带植物学报. 2021, 29(3): 301–310 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4294>

[向下翻页，浏览PDF全文](#)

白化菠萝蜜茎 2 个蛋白激酶和 4 个转录因子家族分析

张水仙^{1a}, 王紫璇^{1a}, 谢柳青^{1b}, 于旭东^{1a}, 蔡泽坪^{1a*}, 罗佳佳^{1b,2}

(1. 海南大学, a. 林学院, 热带特色林木花卉遗传与种质创新教育部重点实验室; b. 热带作物学院, 海口 570228; 2. 中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所, 海口 571101)

摘要: 为探究蛋白激酶(PKs)和转录因子(TFs)在白化菠萝蜜(*Artocarpus heterophyllus*)幼苗茎次生长中的表达变化, 基于转录组数据对其差异表达基因(DEGs)进行预测及分类, 并对挑选出的 2 个 PKs 和 4 个 TFs 家族构建系统进化树。结果表明, 胞质类受体激酶(RLCK)-VIII 家族的 DEGs 上下调表达各 4 个, 亮氨酸富集重复类受体激酶(LRR-RLK)-X 家族 Xa 和 Xb-2 分支中的 DEGs 均下调表达, Xb-1 中的均上调, TCP 家族的 20 个 DEGs 中有 15 个上调表达, zf-HD 和 GRF 家族中的大多数 DEGs 上调表达, Alfin-like 家族中的 DEGs 均下调表达。因此, 这表明 6 个家族可能在菠萝蜜茎的次生长过程和应对非生物胁迫中发挥重要作用。

关键词: 菠萝蜜; 茎; 蛋白激酶; 转录因子

doi: 10.11926/jtsb.4619

Analysis on 2 Protein Kinases and 4 Transcription Factors Families in Albino *Artocarpus heterophyllus* Stems

ZHANG Shuixian^{1a}, WANG Zixuan^{1a}, XIE Liuqing^{1b}, YU Xudong^{1a}, CAI Zeping^{1a*}, LUO Jiajia^{1b,2}

(1a. Key Laboratory of Genetics and Germplasm Innovation of Tropical Special Forest Trees and Ornamental Plants, Ministry of Education, College of Forestry; 1b. College of Tropical Crops, Hainan University, Haikou 570228, China; 2. Tropical Crops Genetic Resources Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 571101, China)

Abstract: Protein kinases (PKs) and transcription factors (TFs) are important components of signal transduction, which are involved in the secondary growth of stems. To explore their expression changes in stem secondary growth of albino *Artocarpus heterophyllus* seedlings, the differentially expressed genes (DEGs) of PKs and TFs were predicted and classified based on transcriptome data, and phylogenetic trees were constructed for 2 PKs and 4 TFs families. The results show that the number of up- and down-regulated DEGs in the receptor-like cytoplasmic kinase (RLCK)-VIII family was 4 each. All of DEGs in Xa and Xb-2 branches in leucine-rich repeat receptor kinase (LRR-RLK)-X family were down-regulated, while those in Xb-1 branch were up-regulated. Among 20 DEGs in TCP family, 15 were up-regulated in AAS. And most genes in zf-HD and GRF families were up-regulated, while all DEGs in Alfin-like were down-regulated in AAS. Therefore, it was suggested that six families might play an important role in the secondary growth of *A. heterophyllus* stems and the response to abiotic stress.

Key words: *Artocarpus heterophyllus*; Stem; Protein kinase; Transcription factor

收稿日期: 2022-01-24 接受日期: 2022-05-17

基金项目: 海南省自然科学基金项目(319MS017); 海南大学科研启动基金项目(kyqd1620); 海南大学国家级大学生创新创业训练计划项目(SA2000008501, SA2100001230)资助

This work was supported by the Project for Natural Science in Hainan (Grant No. 319MS017), the Project for Scientific Research Startup in Hainan University (Grant No. kyqd1620), and the Project for National Innovation and Entrepreneurship Training of Hainan University (Grant No. SA2000008501, SA2100001230).

作者简介: 张水仙(1999年生), 本科, 研究方向为野生动物与自然保护地管理。E-mail: 2714891974@qq.com

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: 494266605@qq.com

茎的次生生长是树木茎增粗的主要方式,包括次生木质部和次生韧皮部的形成等一系列过程,与木材形成密切相关^[1]。近年来,植物茎次生生长的研究主要在杨属(*Populus*)植物中开展。Dharma-wardhana 等^[2]研究表明,胡杨(*P. trichocarpa*)部分转录因子(transcription factors, TFs)基因上调表达与茎的次生生长相关,对其生长速度、木材质量等方面起促进作用。Seyfferth 等^[3]确定了白杨(*Temulus tremula*)转录组中与木材相关的基因,并探究了木材形成中与乙烯相关的基因表达网络,然而目前的研究集中在杨属等速生树种。

蛋白激酶(protein kinases, PKs)在细胞信号转导中发挥重要作用,其主要通过使底物蛋白磷酸化的方式将信号逐级放大而引起细胞反应^[4]。植物类受体激酶(receptor-like kinases, RLKs)是 PKs 中重要的一类。RLKs 定位在细胞膜上,典型的 RLKs 调控机制为信号分子与其胞外结构域特异性结合后,激活胞内激酶域进而实现跨膜信号的传导^[5]。茎的次生生长主要依赖于形成层的活动,Agusti 等^[6]通过反向遗传学分析确定了拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中的 RLK 基因 *AtRUL1* 和 *AtMOL1* 以相反的作用调节形成层的活动。TFs 作为一类反式作用因子,能与启动子区域的顺式作用元件特异性结合,调控基因表达^[7]。有研究表明,POPCORONA (PtPCN)转录因子在杨树茎的次生生长过程中能够调控细胞的分化^[8],PtNAC、PtZIP 等转录因子与胡杨茎的次生生长密切相关^[9]。PtGRF9 转录因子通过调节毛果杨(*P. trichocarpa*)细胞壁的生物合成,进而调控茎的次生生长^[10]。但相关研究大多在正常植株中开展,对白化突变体茎次生生长中 PKs 和 TFs 的研究还鲜见报道。

菠萝蜜(*Artocarpus heterophyllus*)是优质的木材树种,能够带来良好的经济效益。白化突变体已被运用在杂交育种、分子标记等诸多方面。本课题组前期考察中发现了白化菠萝蜜苗(albino *Artocarpus heterophyllus* seedling, AAS),并对其次生生长茎进行了结构解剖观察,其次生木质部、次生韧皮部及周皮的厚度均减小^[11],且次生木质部导管和次生韧皮部筛管的孔径和面积减小,密度增大^[12],这说明白化现象对菠萝蜜茎的次生生长具有负面影响。然而在细胞信号转导中起重要作用的 PKs 和 TFs 基因表达如何变化还需深入分析。

因此,本研究对白化菠萝蜜苗次生生长茎中

PKs 和 TFs 的差异表达基因(DEGs)进行预测及分类,并通过构建系统进化树等方法对挑选出的 2 个 PKs 和 4 个 TFs 家族进行分析,为研究植物白化对茎 PKs 和 TFs 的影响提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料

菠萝蜜(*Artocarpus heterophyllus*)采自海南省儋州市海南大学儋州校区。菠萝蜜母株具有隐性的白化突变,且子代能分离出白化(AAS)和正常幼苗^[13],以分离出的正常幼苗作为对照(CK)。将萌发 40 d 的 AAS 与 CK 次生生长茎置于液氮中速冻保存(-196 °C),送华大基因公司进行 RNA 提取、文库构建和测序。

1.2 转录组数据来源

次生生长茎 DEGs 的编码序列(coding sequence, CDS)、蛋白序列及基因表达量(fragments per kilobase million, FPKM)从谢柳青等^[14]获取, SRA 数据库登录号为 PRJNA611876。43 881 个 DEGs 的表达差异均在 2 倍以上,且 Q-value<0.001。

1.3 菠萝蜜 PKs 和 TFs 预测

将菠萝蜜 DEGs 的 CDS 上传到 ITAK (<http://itak.feilab.net/cgi-bin/itak/index.cgi>)网站进行 PKs 和 TFs 预测。对预测结果进行统计,分析 PKs 和 TFs 家族中上下调基因的数量并绘制柱状图。

1.4 多序列比对及系统进化树的构建

拟南芥蛋白序列或基因信息从 TAIR (<https://www.arabidopsis.org/>)数据库获得。进化树的构建采用 MEGA 6.05 软件,用 Clustal W 将拟南芥和菠萝蜜蛋白进行多序列比对。以邻接法(neighbor-joining, NJ)建树,设置 Boot-strap 为 1 000,模式为 Poisson model,缺口设为 Pairwise deletion。

1.5 各家族 DEGs 的表达分析

通过在线网站 Expression Heatmapper (<http://www2.heatmapper.ca/expression/>)将样品的 FPKM 进行可视化处理。采用 Row Z-score 标准化方法绘制热图。

2 结果和分析

2.1 PKs 和 TFs 的数量和长度

本研究选取前期研究^[14]得到的 43 881 个 DEGs,对其中 PKs 和 TFs 相关基因进行分析。结果表明,

PKs 中上、下调 DEGs 分别为 517 和 873 个, 其中 26 个(IV)仅在 AAS 中表达, 67 个(I)仅在 CK 中表达。TFs 中上、下调 DEGs 分别为 865 和 773 个, 其中 34

个(IV)仅在 AAS 中表达, 43 个(I)仅在 CK 中表达(图 1: A, B)。仅在 AAS 中表达的 PKs 和 TFs 基因长度中位数均最小, 分别为 2 262 和 1 251.5 bp(图 1: C, D)。

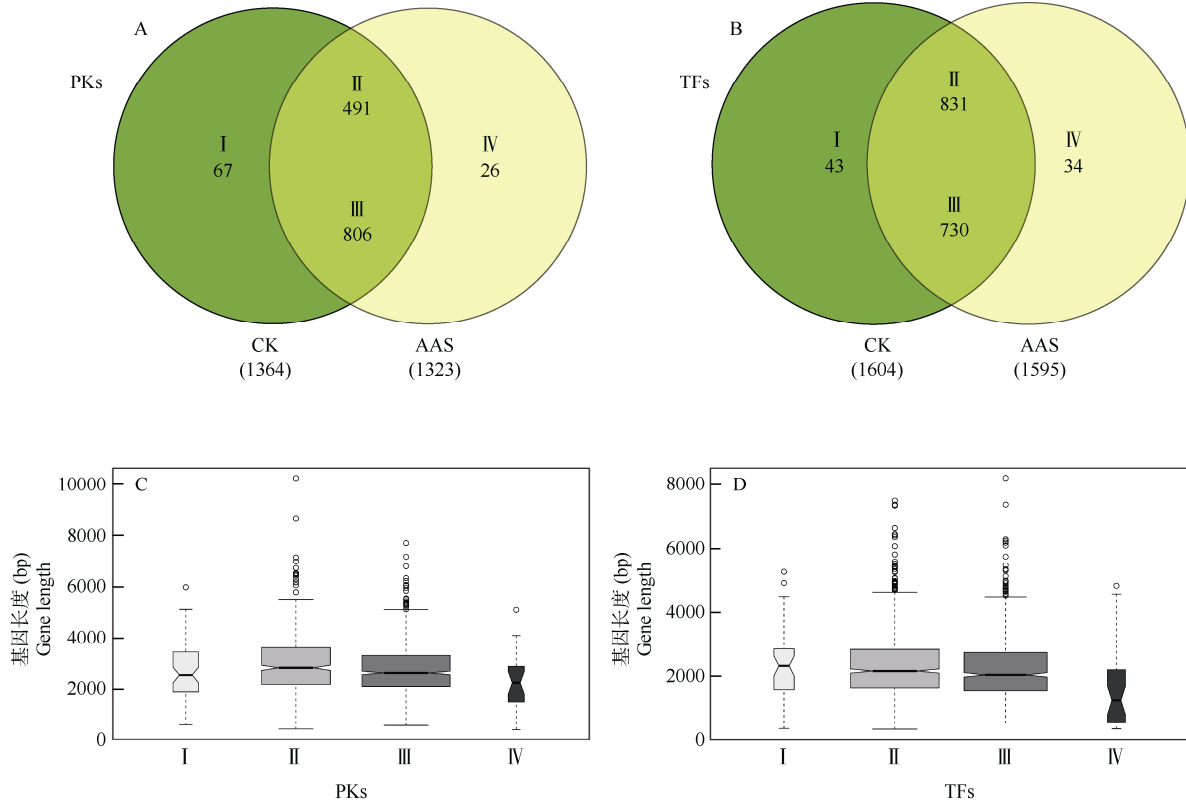


图 1 PKs 和 TFs 中 DEGs 数量(A, B)和长度(C, D)。I: 仅在 CK 中表达; II: CK 和 AAS 共有且在 AAS 中上调表达; III: CK 与 AAS 共有且在 AAS 中下调表达; IV: 仅在 AAS 中表达。

Fig. 1 Number (A, B) and length (C, D) of DEGs in PKs and TFs. I: Only expressed in CK; II: Common in CK and AAS and up-regulated in AAS; III: Common in CK and AAS and down-regulated in AAS; IV: Only expressed in AAS.

2.2 PKs 和 TFs 家族分类和基因数量

在预测的 1 390 个 PKs DEGs 中, RLK 超家族有 747 个, 占 53.74%, 其中 RLCK-RLK、LRR-RLK 的 DEGs 数量较多, 共有 390 个, 占 RLK 总数的 52.21% (图 2: A)。根据蛋白序列(下同), RLCK-RLK 的 DEGs 被划分为 12 个亚家族, RLCK-RLK-VIIa-2 的数量最多(51 个), RLCK-RLK-VIII 是 DEGs 上下调表达各占 50% 的 4 个家族中基因数最多的, 且其亚组内基因表达差异明显(图 2: B)。LRR-RLK 的 DEGs 被划分为 14 个亚家族, LRR-RLK-XI-1 中的数量最多(43 个), 以上调表达的居多。而 LRR-RLK-Xa 和 LRR-RLK-Xb-2 的 DEGs 均下调表达(图 2: C)。在预测的 1 638 个 TFs DEGs 中, 上调表达(865 个)比下调表达(773 个)的多。且有 11 个家族中上调的 DEGs 均超过 70%, 其中 TCP 中的 DEGs 数量最多

(20 个), 且大多数上调表达。zf-HD 中上调的 DEGs 占总数的 92.31%, GRF 中的均上调表达。此外, 有 6 个家族中下调的 DEGs 数量超过各自所含总数的 70%, 其中 Alfin-like 中的 DEGs 均下调表达(图 2: D)。综上, 预测到 RLCK-RLK-VIII、LRR-RLK-X、TCP、zf-HD、GRF 和 Alfin-like 中的 DEGs 数量相对较多, 且这 6 个家族中的 DEGs 上下调表达差异显著(或亚组内基因表达差异明显), 故选择其进行后续分析。

2.3 RLCK-RLK-VIII 和 LRR-RLK-X 受体激酶家族分析

RLCK-VIII 家族中共预测到 8 个 DEGs, 主要聚于 2 个分支, 其中, *CL5339.C5*、*CL5339.C6*、*CL5339.C7*、*CL5339.C9*、*CL5339.C17* 与 *AtCARK6*、*AT3G59350* 聚为一支, 除 *CL5339.C17* 外的 DEGs 均在 AAS 中下调表达。而另一支中的 *CL4080.C2*、*CL4080.C6*、

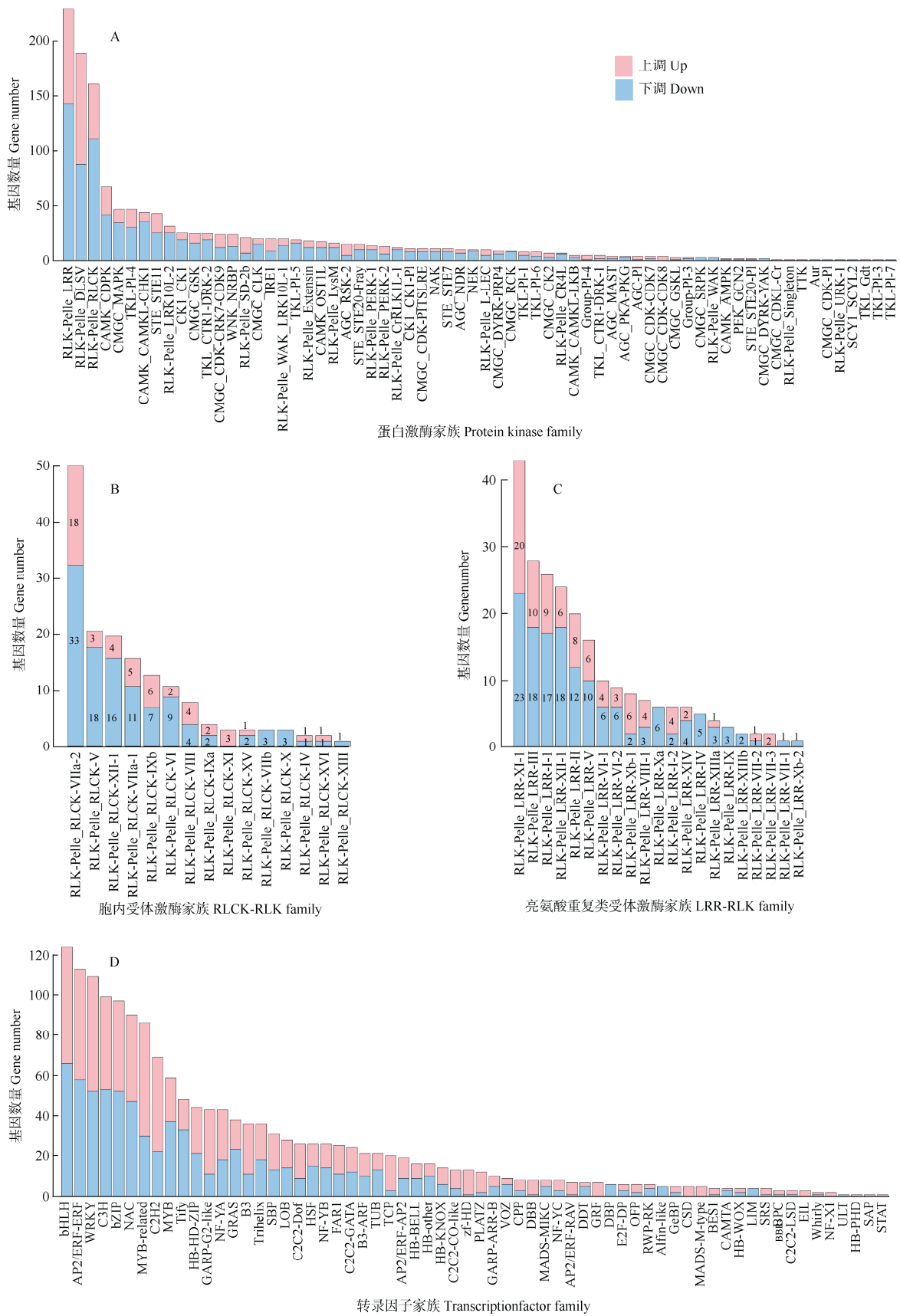


图 2 不同家族中的 DEGs 数量。A: PKs 家族; B: RLCK-RLK 家族; C: LRR-RLK 家族; D: TFs 家族。

Fig. 2 Number of DEGs in different families. A: PKs family; B: RLCK-RLK family; C: LRR-RLK family; D: TFs family.

CL4080.C7 均上调表达(图 3: A, B)。I 分支中的 RLCK-RLK-VIII 基因家族成员 DEGs 在 AAS 中下调表达的居多, 而 II 分支中则均上调表达。

对预测的 LRR-RLK DEGs 进行分析, 结果表明, 在 LRR-RLK-Xa 中, CL13534.C1、CL13534.C4、CL13534.C2、CL13534.C5、CL5687.C1、CL5687.C6 与 *AtBIR1* 为同源基因, 且均在 AAS 中下调表达。在 LRR-RLK-Xb-1 中, CL8679.C4、CL8679.C2、CL8679.C1、CL8679.C3 与 *AtBRL2* 为直系同源基因, 且均上调表达。CL1221.C22、UG47918、CL10364.C2 分别与 *AtEMS1*、*AtPSY1R*、*AtNILR1* 为直系同源基因,

CL1221.C22、UG47918 上调表达, 而 CL10364.C2 下调表达, 且被认为属于 RLK-LRR-Xb-2。UG10544 和 UG10746 与 *AT5G42440* 聚为一支, 均下调表达(图 3: C, D)。表达分析表明, LRR-RLK-Xa 和 LRR-RLK-Xb-2 中的 DEGs 均下调表达, 而 LRR-RLK-Xb-1 的均上调表达。

2.4 TCP 和 zf-HD 转录因子家族分析

TCP 家族同源性分析结果表明(图 4), AAS 中 TCP 家族的 DEGs 与 PCF 和 CIN 2 个亚家族的相关基因同源性更高, 而在 TB1/CYC 亚家族中不存在 DEGs。有 12 个 DEGs 存在于 PCF 中, 8 个 DEGs

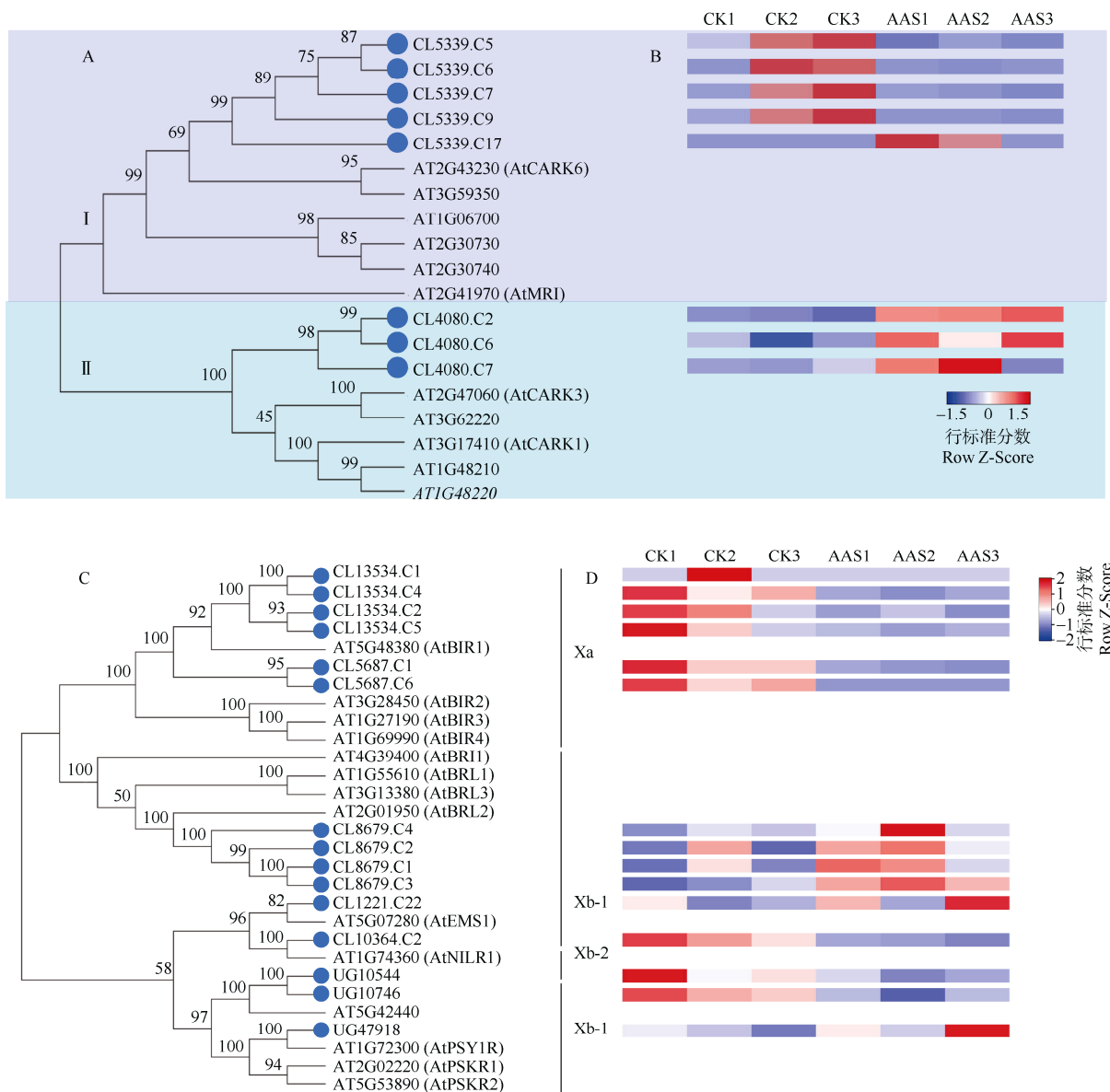


图 3 菠萝蜜和拟南芥的 RLCK-VIII (A)、LRR-RLK-X (C) 家族系统进化树和菠萝蜜 DEGs 表达(B, D)分析

Fig. 3 Phylogenetic tree of RLCK-VIII (A) and LRR-RLK-X (C) families in *Artocarpus heterophyllus* and *Arabidopsis thaliana* and DEGs expression (B, D) in *A. heterophyllus*

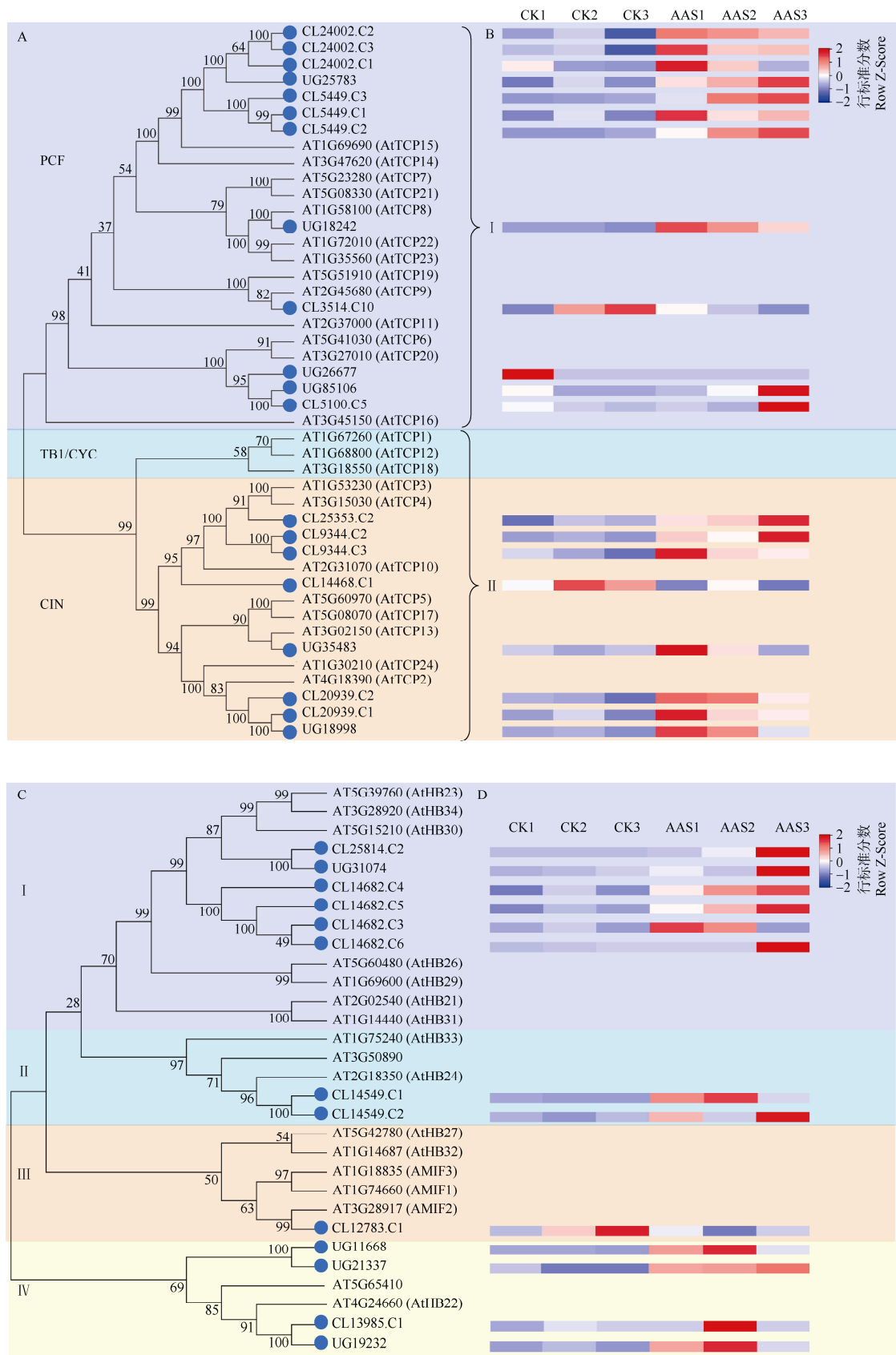


图 4 菠萝蜜和拟南芥的 TCP (A)、zf-HD (C) 家族系统进化树及菠萝蜜 DEGs 表达 (B, D) 分析

Fig. 4 Phylogenetic tree of TCP (A) and zf-HD (C) families in *Artocarpus heterophyllus* and *Arabidopsis thaliana* and DEGs expression (B, D) in *A. heterophyllus*

存在于 CIN 中(图 4: A)。在 PCF 中, *CL24002.C2*、*CL24002.C3*、*CL24002.C1*、*UG25783*、*CL5449.C3*、*CL5449.C1*、*CL5449.C2* 与 *AtTCP15* 聚为一支且置信度高于 95%, 均在 AAS 中上调表达。*UG18242*、*CL3514.C10* 分别与 *AtTCP8*、*AtTCP9* 为直系同源基因, *UG18242* 在 AAS 中上调表达, *CL3514.C10* 则下调表达。*UG26677*、*UG85106*、*CL5100.C5* 与 *AtTCP6*、*AtTCP20* 亲缘关系最近, 且均下调表达。总体而言, PCF 中的 DEGs 上调表达的居多; 在 CIN 中, 除 *CL14468.C1* 外均在 AAS 中上调表达。*CL25353.C2*、*CL9344.C2*、*CL9344.C3*、*CL14468.C1* 与 *AtTCP3*、*AtTCP4*、*AtTCP10* 聚为一个大的分支。*CL20939.C2*、*CL20939.C1*、*UG18998* 与 *AtTCP24*、*AtTCP2* 为同源基因, *UG35483* 与 *AtTCP13* 为直系同源基因(图 4: A, B)。表达分析表明, 大多数 DEGs 在 AAS 中上调表达。

zf-HD 家族中共预测到 13 个 DEGs, 主要聚于 4 个分支, 其中 *CL25814.C2*、*UG31074*、*CL14682.C4*、*CL14682.C5*、*CL14682.C3*、*CL14682.C6* 与 *AtHB23*、*AtHB34*、*AtHB30* 聚于一支, 除 *CL14682.C6* 外均在 AAS 中上调表达。*CL14549.C1*、*CL14549.C2* 与 *AtHB24* 为同源基因, *UG11668*、*UG21337*、*CL13985.C1*、*UG19232* 与 *AtHB25*、*AtHB22* 聚于一大支, 且除 *CL13985.C1* 外均在 AAS 中上调表达。*CL12783.C1* 与 *AtMIF2* 为直系同源基因, 并与 *AtMIF1* 和 *AtMIF3* 聚于一大支, 且下调表达(图 4: C, D)。表达分析表明, DEGs 在 AAS 中上调表达的居多。

2.5 GRF 和 Alfin-like 转录因子家族分析

从图 5: A, B 可见, GRF 家族中共预测到 7 个 DEGs, 主要分布在 I、III 和 IV 分支中, 其中 *UG18693* 与 *AtGRF2*、*AtGRF1* 为同源基因。*CL13839.C2* 与

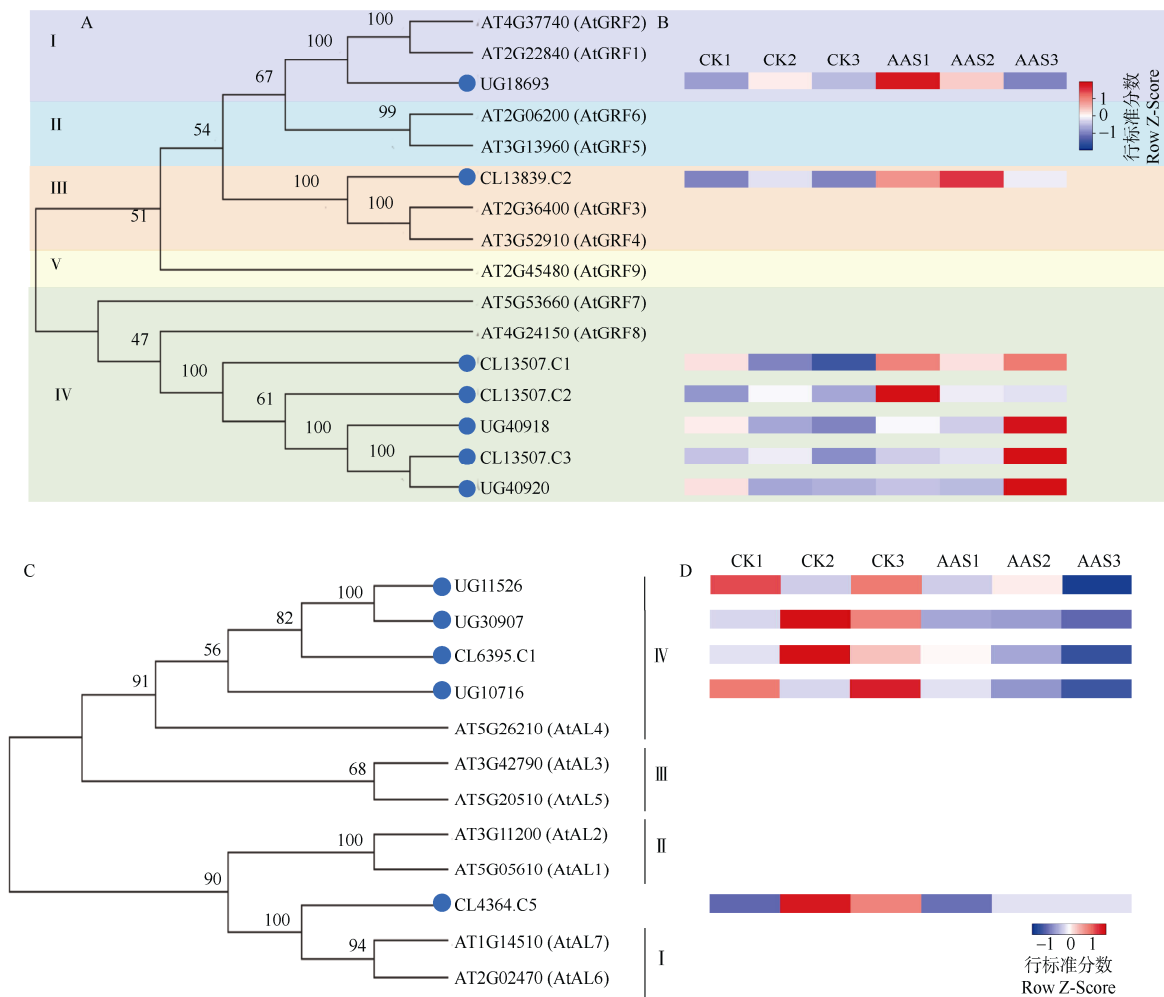


图 5 菠萝蜜和拟南芥的 GRF (A)、Alfin-lik (C) 家族系统进化树及菠萝蜜 DEGs 表达 (B, D) 分析

Fig. 5 Phylogenetic tree of GRF (A) and Alfin-lik (C) families in *Artocarpus heterophyllus* and *Arabidopsis thaliana* and DEGs expression (B, D) in *A. heterophyllus*

AtGRF3、*AtGRF4* 聚为一支。IV 分支中 *CL13507.C1*、*CL13507.C2*、*UG40918*、*CL13507.C3*、*UG40920* 与 *AtGRF7*、*AtGRF8* 亲缘关系较近。表达分析表明,除 *CL13507.C3* 和 *UG40920* 外均在 AAS 中上调表达。

在 AAS 中, Alfin-like 家族的 DEGs 仅存在于第 I 和 IV 分支中。*CL4364.C5* 与 *AtAL7*、*AtAL6* 高度同源, *UG11526*、*UG30907*、*CL6395.C1*、*UG10716* 与 *AtAL4* 聚为一支, 且置信度大于 75%。表达分析表明, 这 5 个 DEGs 均在 AAS 中下调表达(图 5: C, D)。

3 结论和讨论

Pittermann 等^[15]的研究表明, 白化北美红杉 (*Sequoia sempervirens*) 茎的木质部结构较柔弱, 且光合作用能力的丧失导致茎木质部发育迟缓。王开荣^[16]研究了 7 种白化茶的生长发育过程, 白化茶的茎次生生长受到不同程度的抑制, 白化程度最高的‘白叶茶 1 号’地径最小。董俊娜等^[11]报道 AAS 茎发育不良, 其茎粗小于正常植株。这说明白化现象不利于茎的次生生长。

RLCK 家族中的第 VIII 亚家族与脱落酸(abscisic acid, ABA)的调控密切相关, *AtCARK6* 是胞质 ABA 受体激酶的成员之一^[17]。*AtCARK6* 在拟南芥的 ABA 信号传导中起着积极的作用, 可通过提高细胞对 ABA 的敏感性, 从而增强植物抗旱等抗环境胁迫的能力^[18]。而 AAS 中与 *AtCARK6* 同源的 5 个 DEGs 中有 4 个下调表达, 可能是其茎的次生生长过程对 ABA 不敏感的原因。由此推测 RLK-RLCK-VIII 亚家族可能通过 ABA 途径调控菠萝蜜茎的次生生长。

LRR-RLK 是 RLK 中最大的一个家族, 几乎在植物生长发育的所有过程中发挥重要的调控作用^[19]。Costa 等^[20]的研究表明, LRR-RLK 中的一些基因 (*SISOBIR1* 来自 *AtSOBIR1*) 在感染病毒的番茄 (*Lycopersicon esculentum*) 叶中下调表达。*AtBIR1* 是第 X 家族成员之一, Gao 等^[21]报道, 敲除 *AtBIR1* 会导致拟南芥细胞死亡。AAS 生长到 40 d 时, 茎变黄变褐甚至衰老死亡, 这可能与 *AtBIR1* 同源的 6 个 DEGs 均下调表达有关。油菜素甾醇是木质部发育的调节因子^[22]。*AtBRI1*、*AtBRL1* 和 *AtBRL3* 是 BR 信号的受体^[23], AAS 中与其同源的 5 个 DEGs 均上调, 这可能是茎木质部发育受到影响的原因。

TCP 是转录因子中的一个大家族。其中, *AtTCP14* 和 *AtTCP15* 在植物生长发育、生物胁迫等方面发挥

作用^[24]。Li 等^[25]检测了 *AtTCP15* 在拟南芥根、茎、叶和花等器官中的表达, 其在茎中的表达量较高。Lopez 等^[26]认为 *AtTCP14*、*AtTCP15* 在植物免疫中发挥作用。AAS 中与 *AtTCP14* 和 *AtTCP15* 同源的 7 个 DEGs 均上调表达, 这可能使茎次生生长的发育和免疫功能受到影响。此外, 有研究表明 *AtTCP3* 过表达会降低植物对生长素(IAA)的敏感性^[27]。而 AAS 中与 *AtTCP3* 同源的 3 个 DEGs 均上调表达, 这可能是其对 IAA 的敏感性降低的原因之一。

zf-HD 家族是陆生植物所特有的一类转录因子, 在植物生长发育过程中发挥作用, 如响应逆境胁迫、调控花的发育以及种子的寿命等^[28]。Bueso 等^[29]研究表明拟南芥中的 *AtHB25* 转录因子能够诱导赤霉素(GA)生物合成酶基因 *GA3OX2* 的表达, 从而使具有生物活性的 GA 含量提高, AAS 中与 *AtHB25* 同源的 4 个 DEGs 均上调可能会改变 GA 的含量, 使茎的次生生长受到一定影响。*AtHB33* 的表达可促进细胞的增殖^[30], AAS 中与 *AtHB33* 同源的 2 个 DEGs 均上调可能会促进茎中细胞的增殖。

GRF 是一类植物所特有的转录因子, 主要功能是调控植物器官或组织的发育^[31]。有研究表明, 辣椒 (*Capsicum annuum*) 幼苗经 GA 处理后, *CaGRF4* 的表达受到抑制^[32]。而 AAS 中与 *AtGRF4* 同源的 2 个 DEGs 均上调, 可能是对 GA 敏感性降低所导致的结果。Wang 等^[33]报道 BR 信号能促进 *AtGRF7* 和 *AtGRF8* 的表达, 调控黄化苗的转绿。AAS 中与 *AtGRF7* 和 *AtGRF8* 同源的 5 个 DEGs 均上调, 这与 AAS 的 *BRI1* 同源基因上调表达相一致, 预示 AAS 茎中 BR 信号可能有所增强, 从而导致 GRF 的表达发生上调。

Alfin-like (AL) 是植物特有的小型基因家族, 在非生物胁迫反应中起作用^[34]。在拟南芥中, ABA 可诱导 *AtAL5* 基因的表达, 且 *AtAL5* 的高表达使植物对盐分、干旱及低温胁迫的耐受性增强从而提高植物的抗逆性^[35]。而 AAS 中与 *AtAL5* 同源的 4 个 DEGs 均下调, 可能是 ABA 含量较低所造成的结果。

综上, 本研究通过预测 AAS 次生生长茎中 PKs 和 TFs 的 DEGs, 结果表明, RLCK-VIII、LRR-RLK-X、TCP、zf-HD、GRF 和 Alfin-like 中的 DEGs 上、下调表达差异显著且数量均较多, 这 6 个家族可能分别通过调控 ABA 途径、影响茎木质部发育、降低 IAA 敏感性、促进茎细胞增殖、增强茎 BR 信号、降低 ABA 含量的方式调控光合作用下菠萝蜜茎的次

生生长, 但具体机制还有待进一步探索。

参考文献

- [1] YIN S G. Functional analysis of *LBD21-31* gene in regulating stem secondary growth of *Populus* [D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2020. [殷时光. *LBD21-31* 基因调控杨树茎干次生长的功能分析 [D]. 泰安: 山东农业大学, 2020. doi: 10.27277/d.cnki.gs.dnu.2020.000488.]
- [2] DHARMAWARDHANA P, BRUNNER A M, STRAUSS S H. Genome-wide transcriptome analysis of the transition from primary to secondary stem development in *Populus trichocarpa* [J]. BMC Genom, 2010, 11(1): 150. doi: 10.1186/1471-2164-11-150.
- [3] SEYFFERTH C, WESSELS B, JOKIPII-LUKKARI S, et al. Ethylene-related gene expression networks in wood formation [J]. Front Plant Sci, 2018, 9: 272. doi: 10.3389/fpls.2018.00272.
- [4] ARDITO F, GIULIANI M, PERRONE D, et al. The crucial role of protein phosphorylation in cell signaling and its use as targeted therapy [J]. Int J Mol Med, 2017, 40(2): 271–280. doi: 10.3892/ijmm.2017.3036.
- [5] ZHU W W, MA T Y, ZHANG M J, et al. Research progress of receptor-like protein kinases in plants [J]. Genom Appl Biol, 2018, 37(1): 451–458. [朱巍巍, 马天意, 张梅娟, 等. 类受体蛋白激酶在植物中的研究进展 [J]. 基因组学与应用生物学, 2018, 37(1): 451–458. doi: 10.13417/j.gab.037.000451.]
- [6] AGUSTI J, LICHTENBERGER R, SCHWARZ M, et al. Characterization of transcriptome remodeling during cambium formation identifies *MOL1* and *RUL1* as opposing regulators of secondary growth [J]. PLoS Genet, 2011, 7(2): e1001312. doi: 10.1371/journal.pgen.1001312.
- [7] GUO G Y, BAI F, LIU W, et al. Advances in research of the regulation of transcription factors of lignin biosynthesis [J]. Sci Agric Sin, 2015, 48(7): 1277–1287. [郭光艳, 柏峰, 刘伟, 等. 转录因子对木质素生物合成调控的研究进展 [J]. 中国农业科学, 2015, 48(7): 1277–1287. doi: 10.3864/j.issn.0578-1752.2015.07.03.]
- [8] DU J, MIURA E, ROBISCHON M, et al. The *Populus* class III HD ZIP transcription factor POPCORONA affects cell differentiation during secondary growth of woody stems [J]. PLoS One, 2011, 6(2): e17458. doi: 10.1371/journal.pone.0017458.
- [9] CHAO Q, GAO Z F, ZHANG D, et al. The developmental dynamics of the *Populus* stem transcriptome [J]. Plant Biotechnol J, 2019, 17(1): 206–219. doi: 10.1111/pbi.12958.
- [10] FURCHES A, KAINER D, WEIGHILL D, et al. Finding new cell wall regulatory genes in *Populus trichocarpa* using multiple lines of evidence [J]. Front Plant Sci, 2019, 10: 1249. doi: 10.3389/fpls.2019.01249.
- [11] DONG J N, XIE L Q, CHU W Q, et al. Structural analysis of the stem of the chlorophyll deficient mutant from *Artocarpus heterophyllus* seedlings [J]. Chin J Trop Crops, 2021, 42(6): 1654–1660. [董俊娜, 谢柳青, 楚文清, 等. 菠萝蜜叶绿素缺失突变体幼苗茎的解剖结构 [J]. 热带作物学报, 2021, 42(6): 1654–1660. doi: 10.3969/j.issn.1000-2561.2021.06.021.]
- [12] DONG J N, WANG Z X, YU X D, et al. Vascular tissue structure analysis of chlorophyll deficient mutant seedlings from *Artocarpus heterophyllus* [J]. Chin J Trop Crops, 2021, 42(7): 1948–1956. [董俊娜, 王之欣, 于旭东, 等. 菠萝蜜叶绿素缺失突变体幼苗维管组织结构分析 [J]. 热带作物学报, 2021, 42(7): 1948–1956. doi: 10.3969/j.issn.1000-2561.2021.07.018.]
- [13] FU Y, YU X D, CAI Z P, et al. Characters of albino mutant of *Artocarpus heterophyllus* Lam. [J]. Chin J Trop Crops, 2018, 39(6): 1081–1086. [付影, 于旭东, 蔡泽坪, 等. 菠萝蜜白化突变体的性状研究 [J]. 热带作物学报, 2018, 39(6): 1081–1086. doi: 10.3969/j.issn.1000-2561.2018.06.007.]
- [14] XIE L Q, DONG J N, YU X D, et al. Transcriptome analysis of stem secondary growth in chlorophyll deficient mutant of *Artocarpus heterophyllus* [J]. Mol Plant Breed, 2020, 18(18): 5958–5969. [谢柳青, 董俊娜, 于旭东, 等. 菠萝蜜叶绿素缺失突变体茎次生长转录组分析 [J]. 分子植物育种, 2020, 18(18): 5958–5969. doi: 10.13271/j.mpb.018.005958.]
- [15] PITTERMANN J, COWAN J, KAUFMAN N, et al. The water relations and xylem attributes of albino redwood shoots (*Sequoia sempervirens* (D. Don.) Endl.) [J]. PLoS One, 2018, 13(3): e0191836. doi: 10.1371/journal.pone.0191836.
- [16] WANG K R. The research on the comprehensive characters of albino tea as germplasm resources [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2006. [王开荣. 白化茶种质资源综合性状研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2006.]
- [17] WANG G F. Cloning and functional studies of two ROS regulation related *RPK* genes in rice [D]. Xianyang: Northwest Agricultural & Forestry University, 2014. [王刚锋. 水稻两个 ROS 调控相关 *RPK* 基因的克隆及其功能研究 [D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2014.]
- [18] WANG J L, ZHANG Q, YU Q, et al. *CARK6* is involved in abscisic acid to regulate stress responses in *Arabidopsis thaliana* [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2019, 513(2): 460–464. doi: 10.1016/j.bbrc.2019.03.180.
- [19] ZHU H P, WANG Y D, YIN H F, et al. Genome-wide identification and characterization of the *LRR-RLK* gene family in two *Vernicia* species [J]. Int J Genom, 2015, 2015: 823427. doi: 10.1155/2015/823427.
- [20] COSTA A T, BRAVO J P, KRAUSE-SAKATE R, et al. The receptor-

- like kinase SISOBIR1 is differentially modulated by virus infection but its overexpression in tobacco has no significant impact on virus accumulation [J]. *Plant Cell Rep*, 2016, 35(1): 65–75. doi: 10.1007/s00299-015-1868-8.
- [21] GAO M H, WANG X, WANG D M, et al. Regulation of cell death and innate immunity by two receptor-like kinases in *Arabidopsis* [J]. *Cell Host Microbe*, 2009, 6(1): 34–44. doi: 10.1016/j.chom.2009.05.019.
- [22] FUKUDA H. Signals that control plant vascular cell differentiation [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2004, 5(5): 379–91. doi: 10.1038/nrm1364.
- [23] KWEZI L, MEIER S, MUNGUR L, et al. The *Arabidopsis thaliana* brassinosteroid receptor (AtBRI1) contains a domain that functions as a guanylyl cyclase *in vitro* [J]. *PLoS One*, 2007, 2(5): e449. doi: 10.1371/journal.pone.0000449.
- [24] BAO S, ZHANG Z, LIAN Q, et al. Evolution and expression of genes encoding TCP transcription factors in *Solanum tuberosum* reveal the involvement of StTCP23 in plant defence [J]. *BMC Genet*, 2019, 20(1): 91. doi: 10.1186/s12863-019-0793-1.
- [25] LI Z Y, LI B, DONG A W. The *Arabidopsis* transcription factor AtTCP15 regulates endoreduplication by modulating expression of key cell-cycle genes [J]. *Mol Plant*, 2012, 5(1): 270–280. doi: 10.1093/mp/ssr086.
- [26] LOPEZ J A, SUN Y, BLAIR P B, et al. TCP three-way handshake: Linking developmental processes with plant immunity [J]. *Trends Plant Sci*, 2015, 20(4): 238–245. doi: 10.1016/j.tplants.2015.01.005.
- [27] LI S T, ZACHGO S. TCP3 interacts with R2R3-MYB proteins, promotes flavonoid biosynthesis and negatively regulates the auxin response in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant J*, 2013, 76(6): 901–913. doi: 10.1111/tbj.12348.
- [28] LIU M. Identification and preliminary functional analysis of *ZF-HD* gene family in woodland strawberry [D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2019. [刘敏. 森林草莓 *ZF-HD* 基因家族的鉴定与功能初步分析 [D]. 福州: 福建农林大学, 2019. doi: 10.27018/d.cnki.gfjnu.2019.000053.]
- [29] BUESO E, MUÑOZ-BERTOMEU J, CAMPOS F, et al. *Arabidopsis thaliana* *HOMEOBOX25* uncovers a role for gibberellins in seed longevity [J]. *Plant Physiol*, 2014, 164(2): 999–1010. doi: 10.1104/pp.113.232223.
- [30] KIM J B, KANG J Y, PARK M Y, et al. *Arabidopsis* zinc finger homeodomain protein ZHD5 promotes shoot regeneration and confers other cytokinin-related phenotypes when overexpressed [J]. *Plant Cell Tiss Org Cult*, 2019, 137(1): 181–185. doi: 10.1007/s11240-018-01546-7.
- [31] CHEN F, YANG Y, LUO X, et al. Genome-wide identification of GRF transcription factors in soybean and expression analysis of GmGRF family under shade stress. *BMC Plant Biol*, 2019, 19(1): 269. doi: 10.1186/s12870-019-1861-4.
- [32] ZHAO H X, LI F X, GUO R, et al. Genome-wide characterization and expression analysis of *GRF* gene family in *Capsicum* [J]. *Acta Hort Sin*, 2020, 47(11): 2145–2160. [赵慧霞, 李凤霞, 郭瑞, 等. 辣椒属 *GRF* 基因家族全基因组鉴定和表达分析 [J]. *园艺学报*, 2020, 47(11): 2145–2160. doi: 10.16420/j.issn.0513-353x.2020-0064.]
- [33] WANG L Y, TIAN Y C, SHI W, et al. The miR396-GRFs module mediates the prevention of photo-oxidative damage by brassinosteroids during seedling de-etiolation in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell*, 2020, 32(8): 2525–2542. doi: 10.1105/tpc.20.00057.
- [34] TAO J J, WEI W, PAN W J, et al. An *Alfin-like* gene from *Atriplex hortensis* enhances salt and drought tolerance and abscisic acid response in transgenic *Arabidopsis* [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 2707. doi: 10.1038/s41598-018-21148-9.
- [35] WEI W, ZHANG Y Q, TAO J J, et al. The *Alfin-like* homeodomain finger protein AL5 suppresses multiple negative factors to confer abiotic stress tolerance in *Arabidopsis* [J]. *Plant J*, 2015, 81(6): 871–883. doi: 10.1111/tbj.12773.