

· 农业生物技术 ·

森林草莓 *SUN* 基因家族的鉴定及其对逆境的响应

余瑶, 王紫瑶, 许以灵, 马伯军, 陈析丰*

浙江师范大学生命科学学院, 浙江 金华 321004

余瑶, 王紫瑶, 许以灵, 马伯军, 陈析丰. 森林草莓 *SUN* 基因家族的鉴定及其对逆境的响应[J]. 生物工程学报, 2023, 39(2): 724-740.

YU Yao, WANG Ziyao, XU Yiling, MA Bojun, CHEN Xifeng. Genome-wide identification of *SUN* gene family in *Fragaria vesca* and stresses-response analysis[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(2): 724-740.

摘 要: *SUN* 基因是调控植物生长发育的关键基因。本研究鉴定了二倍体森林草莓(*Fragaria vesca*)的 *SUN* 基因家族, 并对各成员的理化性质、基因结构、系统进化以及基因表达进行了分析。结果表明, 森林草莓有 31 个 *FvSUN* 基因, 其编码蛋白可聚类为 7 个组, 同一组内成员具有高度相似的基因结构与编码蛋白保守域; *FvSUNs* 蛋白的亚细胞定位主要在细胞核中。共线性分析表明森林草莓 *FvSUNs* 基因家族主要通过染色体片段复制产生, 拟南芥与森林草莓存在 23 对直系同源基因。利用森林草莓的转录组数据, 对 *FvSUNs* 基因的组织表达特征进行分析, 发现主要可归为 3 类: 各组织均表达、组织中几乎不表达、组织特异性表达, 并通过实时荧光定量 PCR (quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR) 进一步验证结果。此外, 还对森林草莓进行不同的逆境胁迫处理, qRT-PCR 分析了 31 个 *FvSUNs* 基因的表达情况, 发现大部分基因均在不同程度上受低温、高盐或干旱胁迫的诱导表达。这些研究结果为深入揭示草莓 *SUN* 基因的生物学功能及其分子机制奠定了基础。

关键词: 森林草莓; *SUN* 基因家族; 序列鉴定; 表达模式; 逆境响应

Genome-wide identification of *SUN* gene family in *Fragaria vesca* and stresses-response analysis

YU Yao, WANG Ziyao, XU Yiling, MA Bojun, CHEN Xifeng*

College of Life Sciences, Zhejiang Normal University, Jinhua 321004, Zhejiang, China

Abstract: *SUN* gene is a group of key genes regulating plant growth and development. Here,

资助项目: 国家自然科学基金(31871605); 浙江省自然科学基金(LD19C130001)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (31871605) and the Natural Science Foundation of Zhejiang Province (LD19C130001).

*Corresponding author. E-mail: xfchen@zjnu.cn

Received: 2022-07-25; Accepted: 2022-10-05; Published online: 2022-10-11

SUN gene families of strawberry were identified from the genome of the diploid *Fragaria vesca*, and their physicochemical properties, genes structure, evolution and genes expression were also analyzed. Our results showed that there were thirty-one *FvSUN* genes in *F. vesca* and the *FvSUNs* encoded proteins were classified into seven groups, and the members in the same group showed high similarity in gene structures and conservative motifs. The electronic subcellular localization of *FvSUNs* was mainly in the nucleus. Collinearity analysis showed that the members of *FvSUN* gene family were mainly expanded by segmental duplication in *F. vesca*, and *Arabidopsis* and *F. vesca* shared twenty-three pairs of orthologous *SUN* genes. According to the expression pattern in different tissues shown by the transcriptome data of *F. vesca*, the *FvSUNs* gene can be divided into three types: (1) expressed in nearly all tissues, (2) hardly expressed in any tissues, and (3) expressed in special tissues. The gene expression pattern of *FvSUNs* was further verified by quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR). Additionally, the seedlings of *F. vesca* were treated by different abiotic stresses, and the expression level of 31 *FvSUNs* genes were assayed by qRT-PCR. The expression of most of the tested genes was induced by cold, high salt or drought stress. Our studies may facilitate revealing the biological function and molecular mechanism of *SUN* genes in strawberry.

Keywords: *Fragaria vesca*; *SUN* gene family; sequence identification; expression pattern; stress-response

钙离子(Ca^{2+})是一种关键的胞质第二信使,胞内 Ca^{2+} 浓度发生改变会通过 Ca^{2+} 传感蛋白及其靶蛋白调节各种细胞反应^[1]。目前, Ca^{2+} 传感器主要分为4类:钙调素蛋白(calmodulin, CaM)、钙调神经磷酸酶B样蛋白(calcineurin B-like protein, CBL)、钙依赖性蛋白激酶(Ca^{2+} -dependent protein kinases, CDPKs)以及缺乏EF手基序的 Ca^{2+} 传感器^[2]。其中, CaM是钙信号转导途径中的主要信号分子,与 Ca^{2+} 结合后构象发生变化,激活靶蛋白即钙调素结合蛋白(calmodulin-binding proteins, CaMBPs)。CaM能与CaMBPs中的钙调素结构域(CaM binding domains, CaMBDs)发生相互作用^[3-4]。CaMBD氨基酸序列包含3种基序(motif):一个不依赖 Ca^{2+} 的IQ基序与2个依赖 Ca^{2+} 的1-5-10和1-8-14基序^[5]。由于CaMBDs基序的数量以及排列不同,造成了CaMBPs具有可变性,从而在植物发育^[6]、激素调节^[7]、防御反应^[8]等过程中发挥多样性的功能。*IQD* (IQD67-domain containing protein)基因编

码一类植物特有的CaMBPs,均含有一个由67个保守氨基酸组成的IQ67结构域,具有IQ基序(IQxxxRGxxxR)或([ILV]QxxxRxxxx[R,K])、1-5-10基序([FILVW]x3[FILV]x4[FILVW])和1-8-14基序([FILVW]x6[FAILVW]x5[FILVW])^[9-10]。拟南芥*AtIQD1*是最早发现的*IQD*基因,之后在拟南芥中又鉴定出32个*IQD1*同源基因^[11]。*IQD*基因普遍存在于各种植物中,从低等的苔藓到高等的被子植物,在高等植物中多以基因家族的形式存在,如水稻^[11]、玉米^[12]、大豆^[13]、番茄^[14]、黄瓜^[15]、葡萄^[16]、二穗短柄草^[17]、毛果杨^[18]等*IQD*基因都有相应的报道。

研究发现*AtIQD1*定位于细胞核中,正调节拟南芥植株的芥子糖含量,从而提高昆虫对草食的耐受性^[19]。*AtIQD22*在植物激素赤霉素的反应中起负调节作用^[20]。过度表达*AtIQD11*或*AtIQD16*的转基因植株的莲座叶、子叶和下胚轴细胞显著伸长,并表现出左螺旋生长,而过表达*AtIQD14*则使转基因植株出现强烈的器

官扭曲,但叶片伸长无明显变化^[21-23]。*AtIQD5*的功能性缺失会导致表皮铺面细胞形态发生缺陷^[24],而*AtIQD13*被证明可以调节次生细胞壁凹坑的大小和密度^[25]。将小麦*IQD*基因遗传转化到拟南芥中,发现过表达*TaIQD18-2*后子叶变细长,而过表达*TaIQD2-2*后子叶形态没有变化,但会明显影响叶片和后期角果的空间排列^[26]。这些研究结果表明*IQD*蛋白在调节细胞形态和细胞骨架方面功能具有多样性。番茄*SHIQD12*与拟南芥*AtIQD12*高度同源,在番茄品种“Sun1642”中其第7号染色体上由逆转座介导插入了一段24.7 kb的片段,该片段中*SHIQD12*基因被重新排列,使*SHIQD12*基因的拷贝数增加,从而表达量上升,导致番茄果实变得细长,并影响叶片、花器官等形态的变化^[27-28]。此后,又将*IQD*基因称为*SUN*基因。*SUN*基因在开花期对果形的影响是显著的,尤其是在授粉及受精之后子房形状出现较大差异。*SUN*基因的表达量与子叶、花器官、子房细长表型呈正相关,与种子生物量呈负相关。总的来说,番茄果实的形态变化是由*SUN*基因通过影响生长素分布,增加了果实纵向的细胞分裂、减少了果实横向的细胞分裂导致的^[29]。

草莓是一种口感好、营养丰富的水果,属蔷薇科植物^[30]。草莓栽培种多为八倍体,而野生种森林草莓(*Fragaria vesca*)是二倍体,其基因组大小为240 Mb,已完成高质量测序^[31],为草莓的基因家族鉴定提供了很好的工作基础。尽管*SUN*基因已在多种植物中被研究,但是草莓*SUN*基因的研究还未见报道。本文通过生物信息学方法鉴定了森林草莓的*SUN*基因家族,并对基因的结构、蛋白保守结构域、系统进化、顺式作用元件以及组织表达模式进行了分析,为进一步研究草莓*SUN*基因的生物学功能及其分子机制奠定了基础。

1 材料与方法

1.1 植物材料和处理

森林草莓(*F. vesca*)“Ruegen”种子来自沈阳农业大学果树分子生物学实验室,种植在含有土壤的塑料盆中,在温度25 °C/23 °C (16 h光照/8 h黑暗)条件下生长。在播种75 d后,挑选生长状况一致的森林草莓,分别取根、茎、叶、花、花柱、花药、绿色花托、绿色瘦果组织,用于基因的组织表达分析,每个组织3次生物学重复。在播种40 d后,选择生长状况一致的森林草莓“Ruegen”苗,分别用4 °C、200 mmol/L NaCl和20% PEG6000进行逆境胁迫处理,在处理0、2、12和24 h进行取样,每个样品3次生物学重复。以上材料均采用液氮速冻,保存于-80 °C备用。

1.2 森林草莓*SUN*基因家族的鉴定

以拟南芥*AtSUNs*蛋白序列^[32]为Query,使用蔷薇科基因组GDR数据库的tBlastn工具(<https://www.rosaceae.org/blast/protein/nucleotide>),选择森林草莓基因组(*F. vesca* genome v4.0.a2)作为数据库进行比对;使用Pfam (<http://pfam.xfam.org/>)和SMART (<http://smart.embl-heidelberg.de/>)对候选的FvSUN蛋白进行IQ结构域验证。通过ExPASy在线软件(<https://web.expasy.org/protparam/>)分析FvSUNs蛋白的分子量、等电点(pI)、脂肪族指数、不稳定性指数等^[33]。采用Cell-PLoc 2.0在线软件(<http://www.csbio.sjtu.edu.cn/bioinf/Cell-PLoc-2/>)预测FvSUNs蛋白的亚细胞定位。

1.3 基因的染色体定位、共线性与系统发育树分析

从GDR数据库中下载*F. vesca* v4.0.a2的基因组注释文件,使用TBtools软件对FvSUNs基因的染色体定位进行可视化。使用MCScanX^[34]

进行基因组的共线性分析, 参数设为默认值 $E\text{-value} \leq 1e^{-10}$ 。将森林草莓的基因组进行自身比较, 根据结果筛选出森林草莓中的旁系同源基因, 即重复基因; 若 1 对重复基因位于染色体上的邻近位置(<100 kb), 就可以认定为串联重复基因(tandem duplication), 其他则为片段重复基因(segmental duplication); 将森林草莓与拟南芥的基因组进行比较, 可筛选出这两者间的直系同源基因。使用 TBtools 软件绘制共线性图。使用 MEGA 软件^[35], 选用 neighbor-joining 法, 构建植物 SUNs 蛋白的无根系统发育树, bootstrap 值设定为 1 000。

1.4 基因结构与氨基酸序列分析

从森林草莓的基因组注释文件中获取基因外显子的信息, 用 TBtools 绘制基因结构图。利用 MEME 软件(<https://meme-suite.org/meme/tools/meme>)鉴定 FvSUNs 蛋白的保守基序, 利用钙调素靶数据库(<http://calcium.uhnres.utoronto.ca/ctdb/ctdb/home.html>)预测 FvSUNs 蛋白的钙调素结合位点。

1.5 基于 RNA-Seq 数据的基因表达分析

利用已公布的森林草莓 RNA-Seq 转录数据^[31], 获得其根、茎、叶、花、花托、种子等不同组织、不同发育时期的 FvSUNs 基因转录本的 TPM (transcripts per million)值, 并通过 TBtools 软件对 FvSUNs 基因的表达水平进行聚类及绘制热图。

1.6 基因表达的实时荧光定量 PCR (quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR)验证

采用 EASY Spin Plus Plant RNA Rapid Extraction Kit (Aidlab 公司)提取森林草莓组织样品的总 RNA, 再用 Prime Script RT Reagent Kit 试剂盒(TaKaRa 公司)合成 cDNA, 操作步骤

按产品说明进行。用 TB Green[®] Premix Ex Taq[™] II (Tli RNaseH Plus)试剂盒(TaKaRa 公司), 10 μ L 体积中含有 5 μ L 2 \times SYBR[®]预混料 Ex Taq[™] II、3.3 μ L ddH₂O、0.5 μ L 基因特异性引物(表 1)、0.2 μ L ROX 参考染料 II 和 1 μ L cDNA, 在 ABI 7500 快速实时 PCR 系统(ABI 公司)中运行 real-time PCR, 程序如下: 95 $^{\circ}$ C 5 min; 95 $^{\circ}$ C 15 s 和 60 $^{\circ}$ C 30 s, 共 40 个循环。实验重复 3 次, 以草莓 *Actin* 基因作为标准化的内部对照^[36], 数据分析采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法^[37]。

2 结果与分析

2.1 森林草莓 FvSUNs 基因家族的鉴定

利用已报道的 33 个拟南芥 AtSUNs 蛋白序列在森林草莓基因组中进行 BLAST 分析, 搜索 SUN 同源基因, 并根据基因组注释获取相应基因的编码区序列与编码蛋白序列, 再对这些蛋白序列进行保守结构域分析, 筛选出含有 IQD67 结构域的蛋白, 确定为 SUN 蛋白, 最终鉴定出 31 个 SUN 同源基因。根据基因在染色体上的位置顺序(图 1A), 依次命名为 FvSUN1–FvSUN31 (表 2)。FvSUNs 基因序列的长度存在明显的差异, 编码区序列(CDS)为 426–4 590 bp, 编码蛋白的序列为 141–1 529 aa, 蛋白的分子量在 16.1–591.1 kDa 之间; 除 FvSUN8 (pI 5.28)、FvSUN5 (pI 5.72)和 FvSUN12 (pI 6.35)外, 其余 FvSUNs 蛋白均具有相对较高的等电点(pI>7.0, 平均值为 9.77), 且大多数含有碱性氨基酸; FvSUNs 蛋白的不稳定系数在 34.30–69.27 之间, 都属于不稳定蛋白; 蛋白的总亲水性均小于 0, 均为亲水蛋白; 脂肪族氨基酸指数分布在 54.81–98.94 之间, 其热稳定差异较大。FvSUN 基因家族各个成员的基本信息与理化特征详见表 2。

表 1 本研究采用的定量 PCR 引物

Table 1 qPCR primers used in this study

Gene	Former primer (5'→3')	Reverse primer (5'→3')
<i>FvActin</i>	GAGGCAATTAGACGCGCAA	GCTCAAGAATGTCAGTGGCG
<i>FvSUN1</i>	AGACCAACACTACAAACCCAGTT	GGCCGGATTATGACAAAAGC
<i>FvSUN2</i>	GTTTCCCGAATCAATGGTG	TGCAGAACTCCTGGCTCAT
<i>FvSUN3</i>	ATCCGAAGAAAGTTTGTGAGA	CTTGAGTGCTCGAAATGCTC
<i>FvSUN4</i>	GATGGTGAAATCGTGGAGGT	TCAGGATCTTTGGGATAGGC
<i>FvSUN5</i>	TGTTGTTGGGTCTCGTGTCT	TGTTGTTGGGTCTCGTGTCT
<i>FvSUN6</i>	GGAAGGGCACCAAGGTCTG	CTCCCGGCTCGTTCAAGTA
<i>FvSUN7</i>	GTGGGAAGAATAAGAAGTGGA	TCTTGCCTGACAACTCTGAAAT
<i>FvSUN8</i>	CAACGATTGAGCGGACAAAG	TGGGCTCTTCTCATTTCTG
<i>FvSUN9</i>	TTGGCAGTTCAAAACGAGTG	ACAGGGTATTGCTGGGTCAG
<i>FvSUN10</i>	GGTGCCAATGCTGCTCTA	GGGCTTGAAGTCTTACTAATC
<i>FvSUN11</i>	AAATGTCCCACCACTACTACTACCT	CCTTCTGAAACTCCACCTCC
<i>FvSUN12</i>	GTTGTGGCCAAAGCATCC	TCACCTAAAGGCACTCCTCTATAC
<i>FvSUN13</i>	AGAACCGAGCAGCATTGAGA	TCCTTATGGTGATGAACGAT
<i>FvSUN14</i>	AGTAAAGGGGAGTCGGTGTTCC	TTCCCGACGAAAGTGTAATG
<i>FvSUN15</i>	CCGTCCTTCCAGTCAATCC	CAGAATCCAGGTCTTCATCAC
<i>FvSUN16</i>	CCCCACCACCACCTCATCCT	GCAACTGCGGCTTCGGCTA
<i>FvSUN17</i>	GACCAAAAGAGCAGCAGAAGAA	AGCCAAAACAGGAGTCACAGAT
<i>FvSUN18</i>	TGAAAGCACGAACACCACAG	ACCAAGTGCCACGGATAAG
<i>FvSUN19</i>	TAGCAATGGGAAGAAGATGG	ATGGGTAAATGGCAATAAGG
<i>FvSUN20</i>	GAAATGTGCGTCTTCTACCC	CTCAGCCTGTATTGTCACCC
<i>FvSUN21</i>	CCCACATTGCCACCTCTT	GCCTCACCAGCCCTCTTA
<i>FvSUN22</i>	CCTAGCGGGATCTTCTCAAT	CTCCTTTTCATAACCTCTGTCTG
<i>FvSUN23</i>	GATGGTTGAAGGGTCTGTTGG	ATTGCGTGCTTGTTCTGTTCC
<i>FvSUN24</i>	AAGCCACATTAAGTACCAA	AGCCATAGCAGCAGCCAAC
<i>FvSUN25</i>	CAATGGGAGGAACAATATGACA	AGAATCCACCTCTACAAGCACC
<i>FvSUN26</i>	CAGTCGAAGCAAAATAGTAAGGAG	GAGATTTAAGACCAGTTAGCCACA
<i>FvSUN27</i>	AAAGAGAGAAGCGTCGGTGGA	TGGTTAGATGGCCTGGTCAGC
<i>FvSUN28</i>	CTCCTCCACCAGCTCTTCTTAC	AGTCCAGTGAGACGAACAACCT
<i>FvSUN29</i>	CGGAGGTTGTCAGGCTCACTA	GCCGTTTGTTCCTTACTATGT
<i>FvSUN30</i>	CAACTCCTGCGAACAATGAAG	CGTCCATAACCAGCCAATCTT
<i>FvSUN31</i>	GAGAGAAGAATAACAAGAACGAGG	TGCTAAGGTTTTCTTCTCAGTATGCT

2.2 森林草莓 *FvSUNs* 基因及其编码蛋白的序列特征

在系统发育树中, 31 个 *FvSUNs* 被归为 7 个组(图 1B)。尽管 *FvSUNs* 基因间的外显子数目差异较大(2–38 个), 但是同一组基因的外显子数目非常相似, 而第 II 组 *FvSUN* 基因外显子

数目明显多于其他组, 其中 *FvSUN15* 存在较少的外显子, 为 29 个, 而 *FvSUN6* 和 *FvSUN14* 包含多达 38 个外显子(图 1C)。在 *FvSUNs* 基因编码的蛋白中, 鉴定到 3 类不同的保守基序, 基序 1 即为 IQD 结构域, 所有 *FvSUNs* 蛋白都含有; 而基序 2 和基序 3 是第 II 组特有的, 目前功能

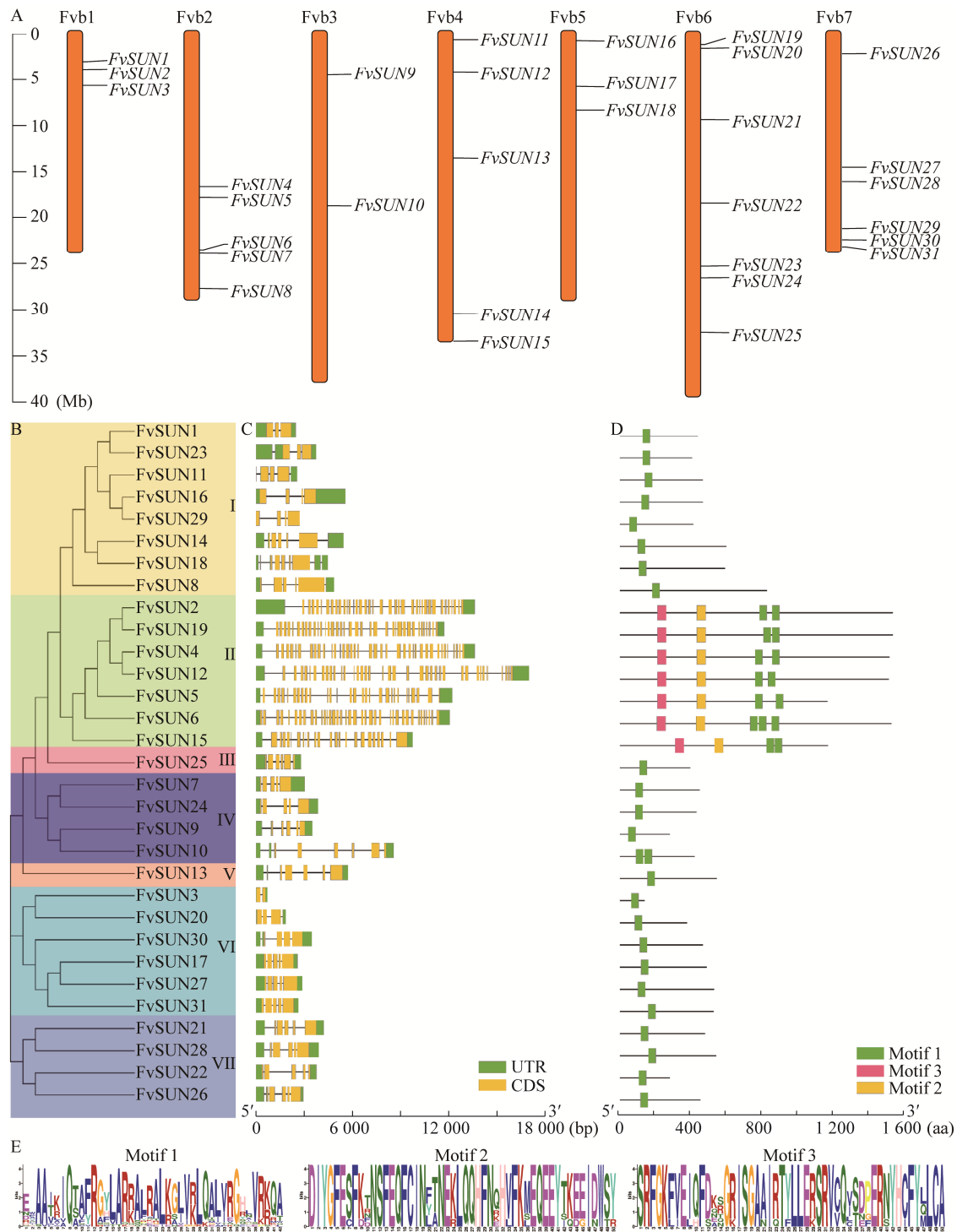


图1 森林草莓 *FvSUN* 基因的染色体分布与序列特征

Figure 1 Chromosome distribution and sequence characteristics of *FvSUN* genes in *Fragaria vesca*. A: Chromosome location of *FvSUN* genes. B: Cluster tree of 31 *FvSUN* proteins, seven subfamilies (I–VII) are highlighted with different colors. C: Gene structure, exon and intron are represented by yellow box and black line, respectively, and untranslated regions (UTRs) are represented by green boxes. D: Motif pattern of amino acid, each motif is represented by a different colored box. E: LOGO of the three motifs.

表 2 森林草莓 *FvSUNs* 基因的基本信息与理化特征Table 2 Basic information and physicochemical properties of *FvSUN* genes in *Fragaria vesca*

Name	Accession (V4.0.a2)	Chromosome location (bp)	CDS (bp)	MW (Da)	pI	Aliphatic index	Instability index	GRAVY	Subcellular localization
<i>FvSUN1</i>	FvH4_1g06300	Fvb1: 3 329 144–3 331 608	1 320	48 430.77	10.00	66.30	62.18	−0.560	Chloroplast
<i>FvSUN2</i>	FvH4_1g08090	Fvb1: 4 268 197–4 281 821	4 590	172 792.65	8.25	88.31	46.45	−0.340	Nucleus
<i>FvSUN3</i>	FvH4_1g10950	Fvb1: 5 960 069–5 960 769	426	16 071.75	10.74	98.94	34.40	−0.147	Chloroplast
<i>FvSUN4</i>	FvH4_2g20160	Fvb2: 16 937 924–16 951 550	4 542	171 920.36	7.15	86.89	45.66	−0.379	Nucleus
<i>FvSUN5</i>	FvH4_2g22050	Fvb2: 18 179 447–18 191 677	3 498	131 031.12	5.72	84.45	45.58	−0.337	Nucleus
<i>FvSUN6</i>	FvH4_2g30900	Fvb2: 23 814 703–23 826 773	4 569	173 380.27	8.95	87.11	45.95	−0.387	Nucleus
<i>FvSUN7</i>	FvH4_2g31650	Fvb2: 24 219 624–24 222 651	1 347	50 275.69	10.59	56.88	49.16	−0.871	Nucleus
<i>FvSUN8</i>	FvH4_2g38820	Fvb2: 28 012 900–28 017 756	2 478	90 340.36	5.28	62.86	57.48	−0.885	Nucleus
<i>FvSUN9</i>	FvH4_3g08170	Fvb3: 4 801 572–4 805 080	849	31 925.56	10.51	70.64	46.95	−0.734	Chloroplast; nucleus
<i>FvSUN10</i>	FvH4_3g26200	Fvb3: 19 077 865–19 086 434	1 266	46 677.60	10.08	70.95	54.15	−0.760	Nucleus
<i>FvSUN11</i>	FvH4_4g01000	Fvb4: 962 395–964 962	1 401	51 219.39	10.03	54.81	62.33	−0.775	Nucleus
<i>FvSUN12</i>	FvH4_4g05270	Fvb4: 4 518 630–4 535 646	4 524	170 170.62	6.35	84.13	46.41	−0.397	Nucleus
<i>FvSUN13</i>	FvH4_4g10360	Fvb4: 13 835 077–13 840 896	1 635	61 193.56	10.54	57.24	69.27	−0.892	Nucleus
<i>FvSUN14</i>	FvH4_4g31720	Fvb4: 30 746 043–30 751 488	1 797	66 358.85	9.80	70.05	48.59	−0.850	Nucleus
<i>FvSUN15</i>	FvH4_4g37130	Fvb4: 33 730 414–33 740 179	3 507	132 245.59	7.08	84.06	51.41	−0.472	Nucleus
<i>FvSUN16</i>	FvH4_5g01680	Fvb5: 1 081 521–1 087 086	1 407	51 653.50	10.34	55.58	63.86	−0.890	Nucleus
<i>FvSUN17</i>	FvH4_5g10710	Fvb5: 6 080 524–6 083 108	1 467	54 850.91	10.12	62.32	63.71	−0.830	Nucleus
<i>FvSUN18</i>	FvH4_5g15290	Fvb5: 8 651 060–8 656 248	1 773	64 816.97	9.86	71.56	53.37	−0.801	Nucleus
<i>FvSUN19</i>	FvH4_6g02450	Fvb6: 1 406 804–1 418 526	4 590	173 144.56	8.99	86.47	44.49	−0.410	Nucleus
<i>FvSUN20</i>	FvH4_6g03280	Fvb6: 1 819 961–1 821 816	1 140	43 515.22	10.23	64.41	56.98	−0.928	Nucleus
<i>FvSUN21</i>	FvH4_6g15440	Fvb6: 9 594 814–9 599 028	1 440	53 335.54	10.21	64.99	65.64	−0.838	Nucleus
<i>FvSUN22</i>	FvH4_6g24720	Fvb6: 18 725 834–18 729 595	849	32 094.04	10.64	76.88	52.47	−0.568	Chloroplast; nucleus
<i>FvSUN23</i>	FvH4_6g32490	Fvb6: 25 543 532–25 547 356	1 224	45 695.13	10.22	66.54	61.86	−0.651	Nucleus
<i>FvSUN24</i>	FvH4_6g33840	Fvb6: 26 803 107–26 806 984	1 293	48 237.47	10.13	60.63	55.02	−0.813	Nucleus
<i>FvSUN25</i>	FvH4_6g41680	Fvb6: 32 715 849–32 718 655	1 194	44 786.91	8.57	64.06	62.62	−0.774	Nucleus
<i>FvSUN26</i>	FvH4_7g02140	Fvb7: 2 479 653–2 482 593	1 365	51 854.20	9.95	72.05	61.51	−0.802	Nucleus
<i>FvSUN27</i>	FvH4_7g17520	Fvb7: 14 849 287–14 852 177	1 590	591 121.76	10.41	55.22	66.49	−0.961	Nucleus
<i>FvSUN28</i>	FvH4_7g20080	Fvb7: 16 398 396–16 402 301	1 626	60 066.36	10.20	58.35	67.70	−0.951	Nucleus
<i>FvSUN29</i>	FvH4_7g29094	Fvb7: 21 515 658–21 518 384	1 239	45 819.52	10.32	67.11	60.61	−0.616	Nucleus
<i>FvSUN30</i>	FvH4_7g31490	Fvb7: 22 741 306–22 744 782	1 407	52 307.29	9.80	55.51	60.31	−0.937	Nucleus
<i>FvSUN31</i>	FvH4_7g32790	Fvb7: 23 502 054–23 504 694	1 581	59 149.23	9.74	59.11	62.77	−0.871	Nucleus

仍未知(图 1D、1E)。通过 FvSUN 蛋白的序列比对, 也发现同一组内成员的 IQD 结构域序列一致性更高(图 2)。I、IV、VI 和 VII 组成员的 IQ67 结构域含有 3 个精确间隔的 IQ 基序、3 个 1-5-10 基序和 3 个 1-8-14 基序; 而在第 II 组成员的 IQ67 结构域则含有 4 个 IQ 基序, 3 个 1-5-10 基序和 4 个 1-8-14 基序; 每个 IQ 基序与 1-5-10 基序或 1-8-14 存在部分重叠(图 2)。已有研究表明 SUN 蛋白通过 CaM 结合位点与 Ca^{2+} 特异性结合, 从

而传递细胞核的钙信号^[22]。我们对 FvSUNs 蛋白的 CaM 结合位点进行了预测, 结果表明 FvSUNs 蛋白都含有 1-3 个高评分的氨基酸残基区(表 3), 这些残基区域可能就是 SUN 蛋白的 CaM 结合位点。同时也对 FvSUNs 蛋白的亚细胞定位进行了预测, 发现 27 个蛋白定位于细胞核, 而 FvSUN9 和 FvSUN22 定位于细胞核和叶绿体, FvSUN1 和 FvSUN2 定位于叶绿体(表 2)。

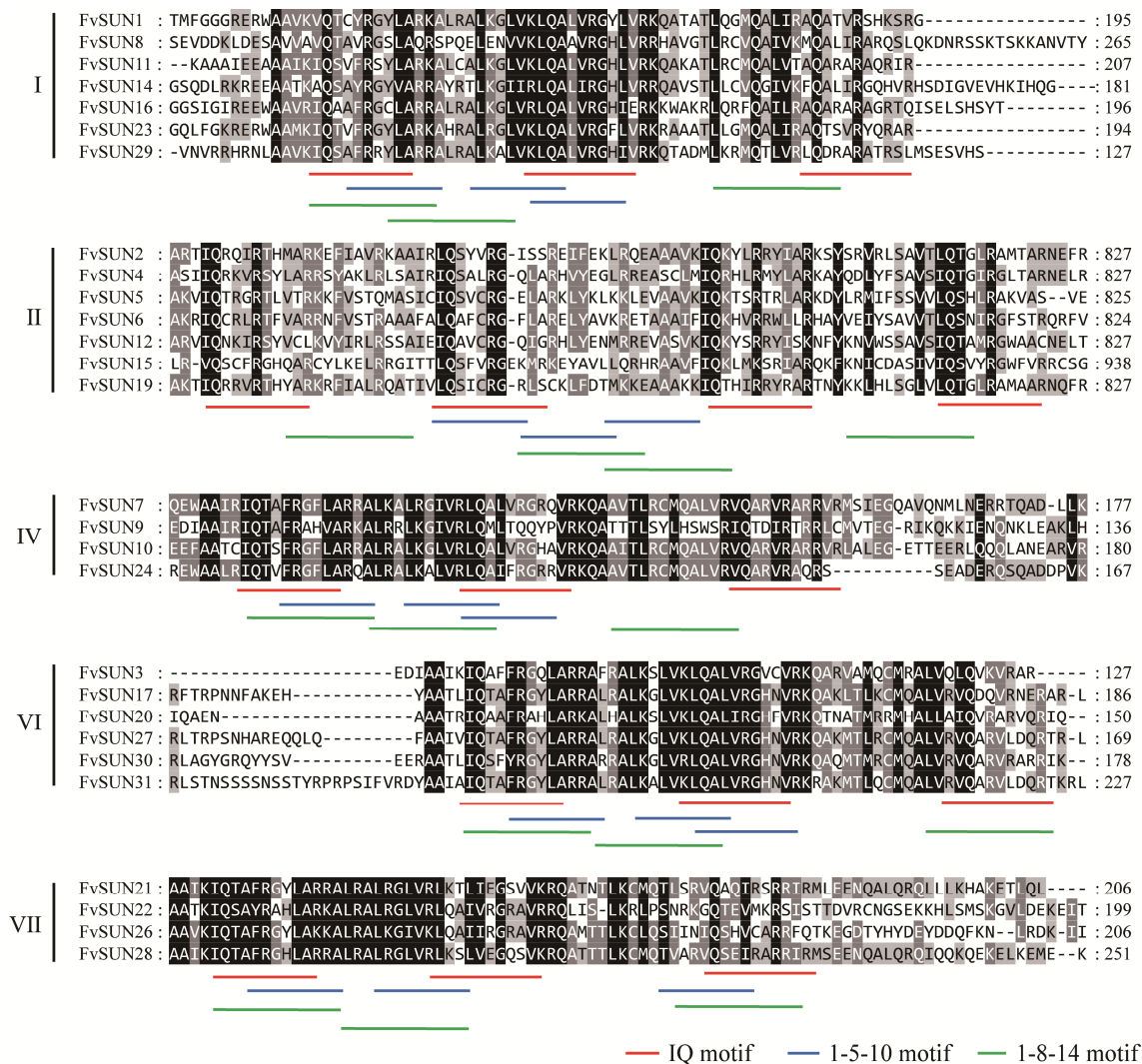


图 2 森林草莓 *FvSUN* 基因家族编码蛋白的 IQ67 结构域序列比对

Figure 2 Sequence alignment of IQ67 domains in the proteins encoded by *FvSUN* gene family of *Fragaria vesca*. Five subfamilies (I, II, IV, VI and VII from Figure 1B) of FvSUN proteins were analyzed.

表3 森林草莓 *FvSUN* 基因家族蛋白的钙调素结合位点预测Table 3 Prediction of calmodulin binding sites in *FvSUN* proteins of *Fragaria vesca*

Group	Name	Predicted calmodulin binding sequence
I	FvSUN1	126-GGRERWAAV KVQ TCYRG
	FvSUN8	208-NVV KLQAA VRGHLVRRHA
	FvSUN11	182-KQAKATLRCMQALVTAQARAR
	FvSUN14	116-YVARRAYRTLKGI
	FvSUN16	151-LQALVRG HIERKK WAKRL
	FvSUN18	109-EQAATKAQA AFRG YLAR 156-SMLGIV KLQALS RGRQV
	FvSUN23	124-LFGKRERWAAM KIQ TVFRGYLARKAHRA
	FvSUN29	62-IQSAFRRYLARRALR
II	FvSUN2	92-V KLQAL VRGVCVRKQA
	FvSUN4	742-IQRKVRSYLARRSYAKLRLSAIR IQS ALRGQL 859-VTT QCAWR GRVARLELRKLKMAARET
	FvSUN5	497-E QKKGG IIALL
	FvSUN6	782-AAAF IQKH VRRWL
	FvSUN12	224-DKRGRISGAA 742-IQN KIRS YVCL 837-IIQS QGR RYLSRARYLRMK
	FvSUN15	782-S HQK FARR
	FvSUN19	741-TIQR RV RTHYARKRFIAL 804-KKLHLSGLVLQTGLRAM 838-LQAIWRCHKAASYLKRLKRGTVVA
	FvSUN25	225-ERALAYAFS QQL RI
IV	FvSUN7	122-VRGR QVRKQAA VTLR CMQ ALVRVQA
	FvSUN9	63-VARKALRRLKGIV
	FvSUN10	5-GKWIKALVGLKKSEKSHS
	FvSUN24	123-GRRVRKQAAVTLR CMQ ALV
V	FvSUN13	1-MGKKGSWFSAI
VI	FvSUN3	92-V KLQAL VRGVCVRKQA
	FvSUN17	236-KEASLKREKALAYAF
	FvSUN20	112-V KLQAL IRGHFVRKQTN
	FvSUN27	129-LV KLQAL VRGHNVR
	FvSUN30	128-LARRARRALKGLVR
	FvSUN31	186-LV KLQAL VRGHNVR
VII	FvSUN21	348-GSTKVARK
	FvSUN22	141-VRGRAVRRQLIS
	FvSUN26	120-AAVK IQTA FRGYLA
	FvSUN28	1-MGRKGSWFSAV

The putative calmodulin binding sites predicted by calmodulin target database are shown as strings of amino acid residues with a score of at least 7, with the highest score 9 highlighted in bold. Numbers before strings indicate the location of the first amino acid residues of the strings in *F. vesca* SUN protein sequences.

2.3 草莓 *SUN* 基因家族的进化分析

为了研究森林草莓 *FvSUNs* 基因的进化关系, 利用森林草莓、拟南芥、玉米、黄瓜和二穗短柄草的 *SUN* 蛋白家族共 142 个成员构建了

一个系统发育树(图 3), 可归为 6 个进化分支。在同一进化分支, 来自 5 个不同物种的 *SUN* 成员间的进化关系要比来自同一物种不同亚组的 *SUN* 成员间的关系更加亲近一些。进一步的

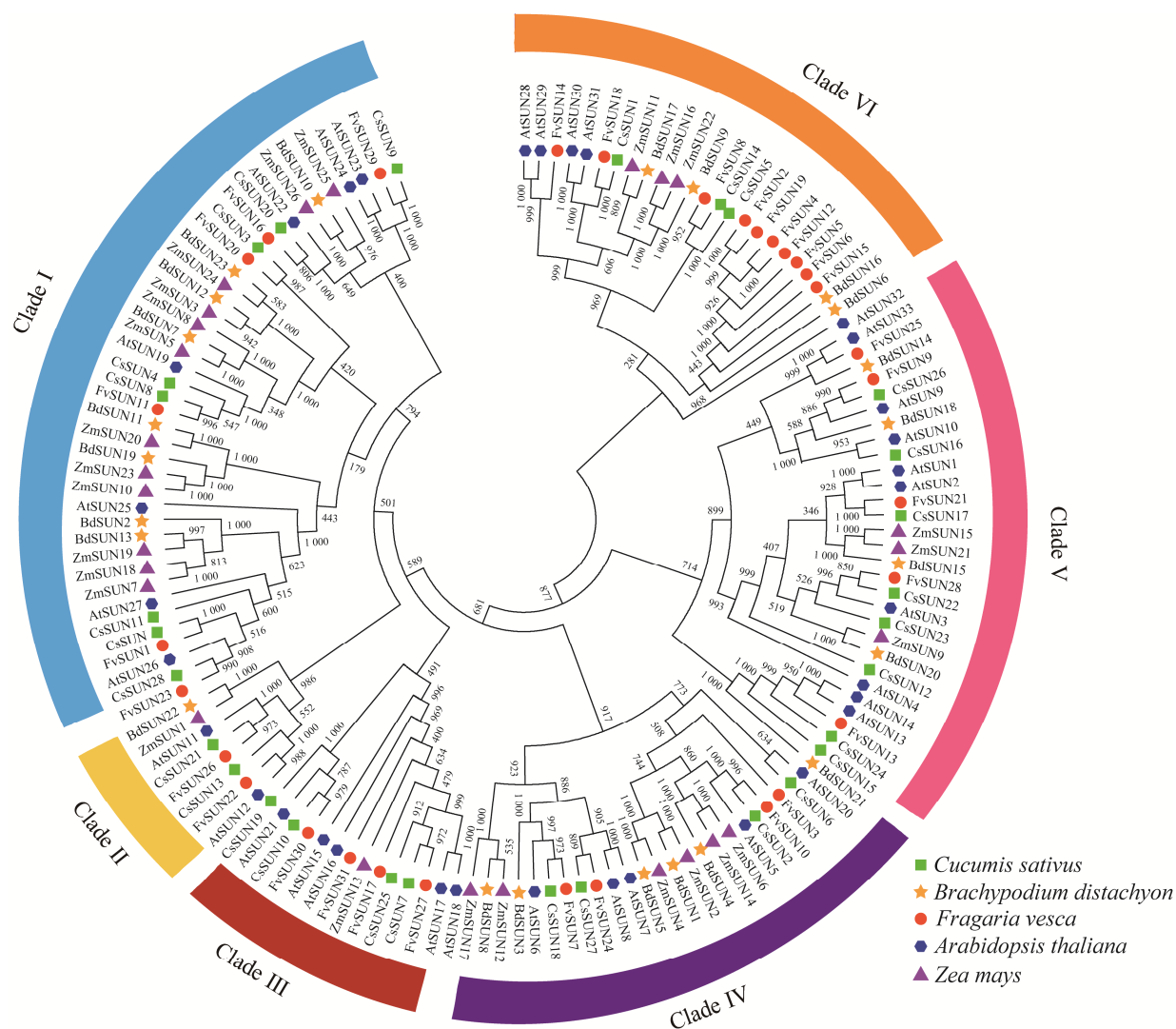


图3 森林草莓 *FvSUN* 基因家族的进化分析

Figure 3 Phylogenetic analysis of *FvSUN* gene family of *Fragaria vesca*. Neighbor-joining tree of *SUN* proteins was generated by MEGA v7.0 with bootstrap-1 000 repeats tests.

析表明,同为双子叶植物的森林草莓和黄瓜的 *SUN* 结构域进化关系非常接近,从进化树上可以看到存在 15 对直系同源基因,如 *FvSUN29/CsSUN9*、*FvSUN16/CsSUN20*、*FvSUN20/CsSUN3*、*FvSUN1/CsSUN8*、*FvSUN26/CsSUN21* 等;单子叶植物的二穗短柄草和玉米之间存在 11 对直系同源基因,如 *BdSUN10/ZmSUN26*、*BdSUN23/ZmSUN24* 等;而双子叶的模式植物拟南芥与森林草莓之间存在 23 对直系同源基因,如

FvSUN25/AtSUN33、*FvSUN22/AtSUN12* 等。这些结果与物种间的进化关系一致,双子叶 *SUN* 基因通常与最近的双子叶植物直系同源物是姐妹对,而单子叶植物 *SUN* 基因也是与最近的单子叶植物直系同源基因共享分支。每个进化分支中都包含玉米、黄瓜、森林草莓、拟南芥和二穗短柄草 5 个物种的 *SUN* 基因,这表明不同物种的成员可能来自共同的祖先,在单子叶和双子叶植物进化之前就已经发生了分化。

通过森林草莓基因组自身的共线性分析(图 4A), 检测到 7 对 *FvSUN* 基因是由染色体片段复制而产生的: *FvSUN4-FvSUN12*、*FvSUN7-FvSUN24*、*FvSUN14-FvSUN18*、*FvSUN16-FvSUN29*、*FvSUN17-FvSUN27*、*FvSUN17-FvSUN31*、

FvSUN21-FvSUN28; 而在 7 号染色体上存在一对串联重复基因, *FvSUN27* 和 *FvSUN31*。进一步对森林草莓与拟南芥的 *SUN* 基因家族共线性分析(图 4B), 发现了 23 对直系同源基因, 其中 10 对直系同源基因为一对一, 如 *FvSUN7-AtSUN6*、

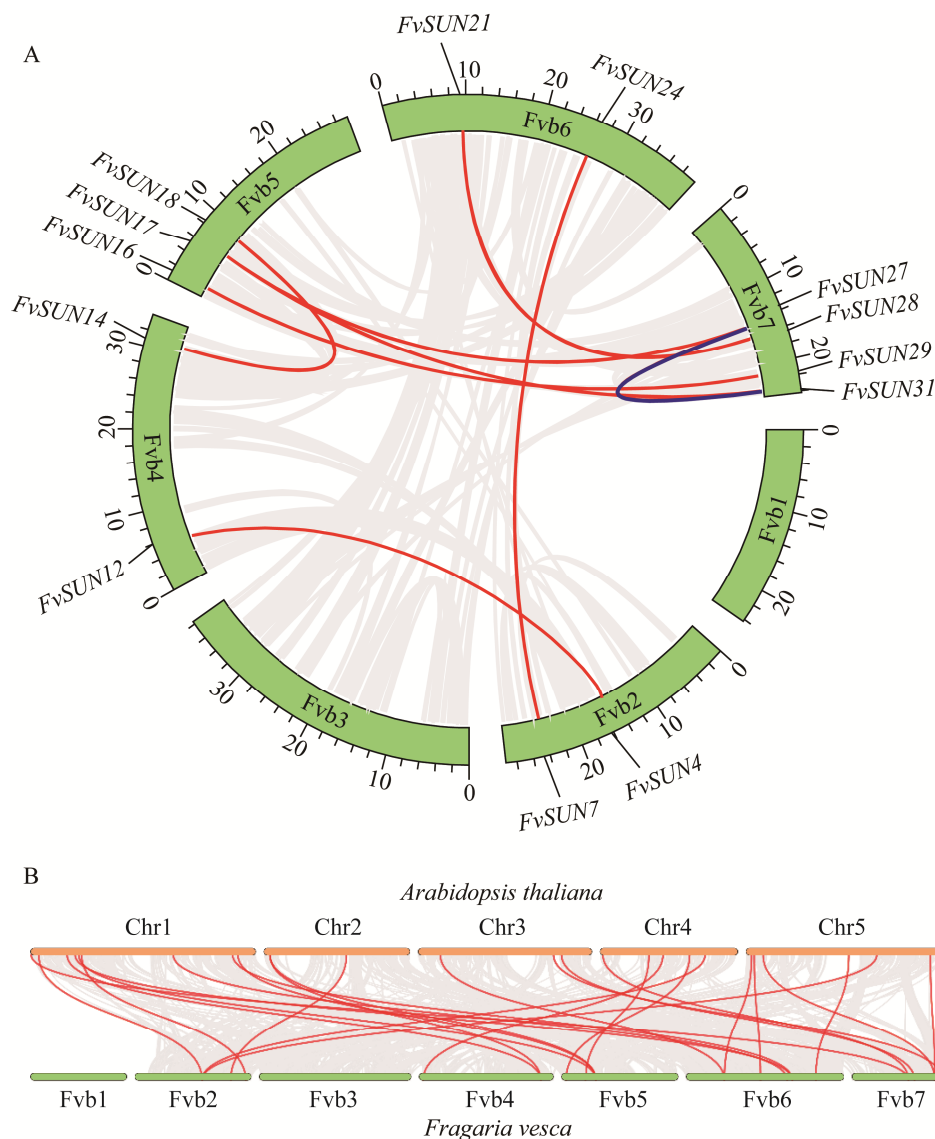


图 4 森林草莓 *FvSUNs* 基因家族的共线性分析

Figure 4 Synteny analysis of *FvSUNs* gene family of *Fragaria vesca*. A: Synteny between *FvSUN* family members; the number in the outer circle represents the chromosome length (Mb); gray lines represent the syntenic regions, red lines represent the segmental duplication and blue line represents the tandem duplication. B: Synteny of *SUN* family members between *A. thaliana* and *F. vesca*; gray lines represent the syntenic regions and red lines represents the syntenic gene pairs of *SUNs*; Fv1–Fv7 refer to the chromosomes of *F. vesca*; Chr1–Chr5 refer to the chromosomes of *A. thaliana*.

苗期、叶片、花药和果实的发育过程和种子的形成过程中广谱表达,包括 *FvSUN2*、*FvSUN8*、*FvSUN10*、*FvSUN13*、*FvSUN14*、*FvSUN15*、*FvSUN18*、*FvSUN21*; 第二类基因在整个植物的各个发育时期(根、茎、叶、花柱、花药、花托和瘦果)的表达量均比较低,包括 *FvSUN3*、*FvSUN5*、*FvSUN12*、*FvSUN17*、*FvSUN19* 等 9 个基因; 第三类基因在组织中特异性表达,如 *FvSUN30* 在 2-5 期子房壁中具有高表达水平, *FvSUN28* 在花药和子房壁中具有较高的表达量。为了验证 RNA-Seq 结果的可靠性,利用 qRT-PCR 对 31 个 *FvSUN* 基因在森林草莓各组织中进行了表达分析,其表达情况与 RNA-Seq 结果基本一致(图 6),进一步验证森林草莓 *FvSUN* 基因的组织表达特征。

2.5 森林草莓 *FvSUNs* 基因表达对非生物逆境胁迫的响应

对森林草莓植株分别进行了低温(4 °C)、高盐(200 mmol/L NaCl)和模拟干旱(20% PEG6000)的逆境处理,并采用 qRT-PCR 分析了森林草莓中这 31 个 *FvSUNs* 基因在逆境胁迫后不同时间(0、6、12、24 h)的表达变化情况。结果如图 7 所示,在冷胁迫下, *FvSUN7* 与 *FvSUN31* 受高诱导表达,而 *FvSUN1*、*FvSUN12*、*FvSUN13*、*FvSUN18*、*FvSUN20*、*FvSUN25*、*FvSUN28* 等基因也有一定程度的诱导表达; 在高盐胁迫中, *FvSUN17*、*FvSUN22*、*FvSUN31* 受高诱导表达, *FvSUN7*、*FvSUN3*、*FvSUN24* 等基因也有一定程度的诱导表达; 在干旱胁迫下,绝大部分 *FvSUNs* 基因都受诱导表达,其中 *FvSUN7*、*FvSUN11*、*FvSUN12*、*FvSUN13*、*FvSUN23*、*FvSUN27*、*FvSUN31* 受高诱导表达。可见, *FvSUNs* 基因广泛参与非生物胁迫的应答,其中 *FvSUN31* 同时受这 3 种胁迫的高诱导表达,可

能在其中发挥重要的作用。

3 讨论

SUN 基因是一类植物特有的功能基因^[10]。我们在森林草莓基因组中鉴定到了 31 个 *FvSUN* 基因(表 2)。一个物种 *SUN* 基因的数量与其基因组的大小似乎没有直接的关联,如拟南芥的基因组为 125 Mb^[33],森林草莓为 240 Mb^[31],番茄为 950 Mb^[38],但它们含有相似数量的 *SUN* 基因。异源四倍体陆地棉(*Gossypium hirsutum*)的 *SUN* 基因数量不是二倍体雷蒙德氏棉(*Gossypium raimondii*)的 2 倍,说明在进化过程中有些 *SUN* 基因发生了丢失^[39]。*SUN* 基因起源于苔藓植物和维管植物分化前 450-700 Mya^[40],不晚于裸子植物和被子植物分离后 300 Mya^[41],并且一直都在扩张,扩张过程中经历了全基因组重复、染色体重排和片段复制等事件。在对森林草莓 *FvSUN* 基因的共线性分析中,发现了 7 对染色体片段重复基因和 1 对染色体串联重复基因(图 4A),其染色体片段复制是驱动森林草莓 *FvSUN* 基因家族扩张的主要机制。通过拟南芥与森林草莓的共线性分析,鉴定出了 23 对直系同源的基因(图 4B),其中包含了参与硫代葡萄糖苷的代谢 *AtSUN1*^[19],调控植株器官伸长的 *AtSUN16*,调节植物赤霉素途径的 *AtSUN22*^[20],推测在森林草莓中与之对应的直系同源基因 *FvSUN21*、*FvSUN17* 和 *FvSUN16* 可能具有相似的功能。此外,在 *FvSUNs* 基因的聚类分析中,发现 7 个基因(*FvSUN2*、*FvSUN4*、*FvSUN5*、*FvSUN6*、*FvSUN12*、*FvSUN15*、*FvSUN19*)聚在同一分支上(图 1B),这类基因的外显子数量明显多于其他 *FvSUNs*,无论从基因结构、编码蛋白的保守基序都高度相似(图 1C、1D),推测这类基因可能具有特殊或相近的功能。

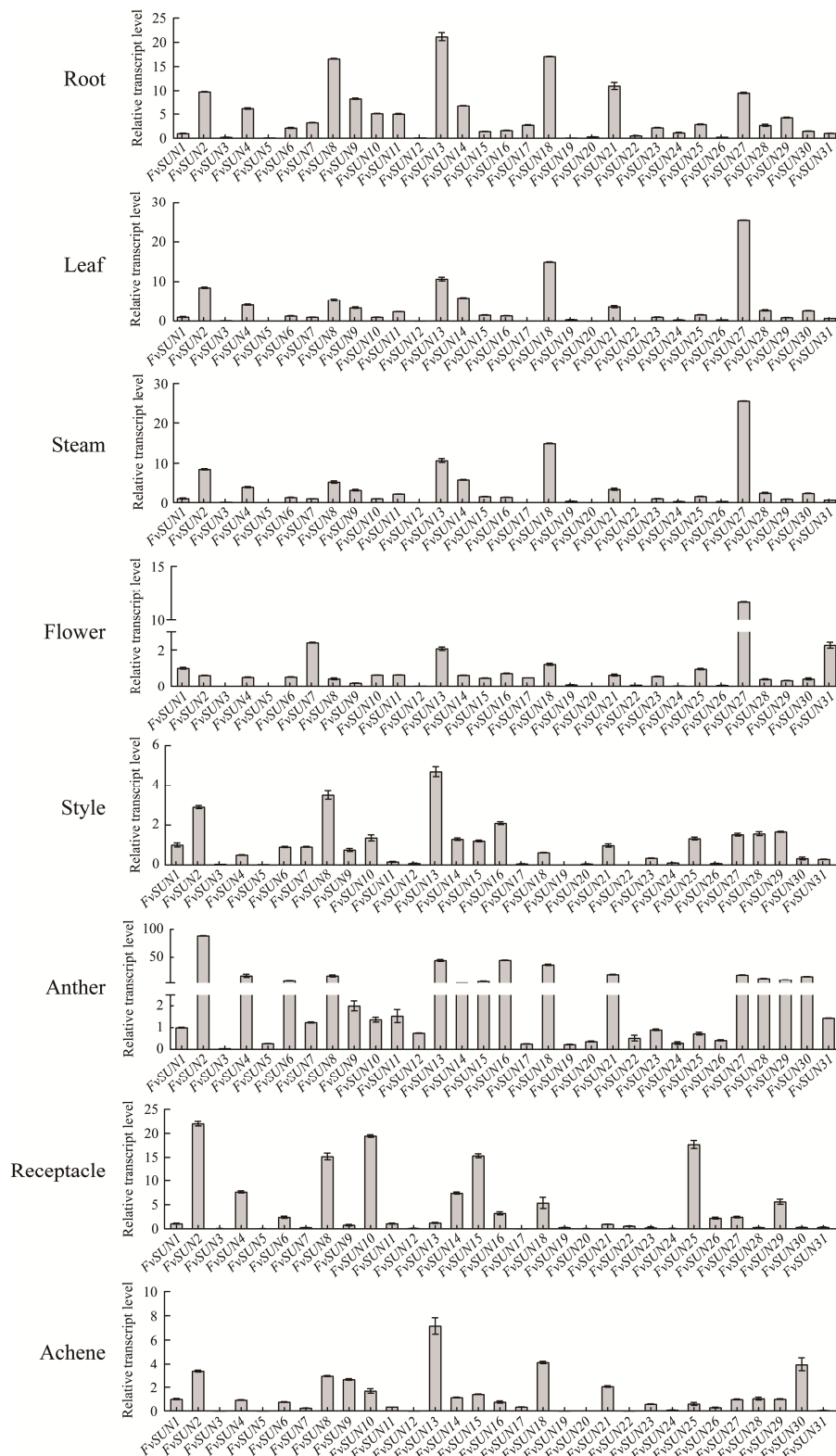


图 6 森林草莓 *FvSUN* 基因家族组织表达的定量 PCR 分析

Figure 6 Expression analysis of *FvSUN* gene family in different tissues of *Fragaria vesca* by qRT-PCR. Error bars indicate the standard deviation.

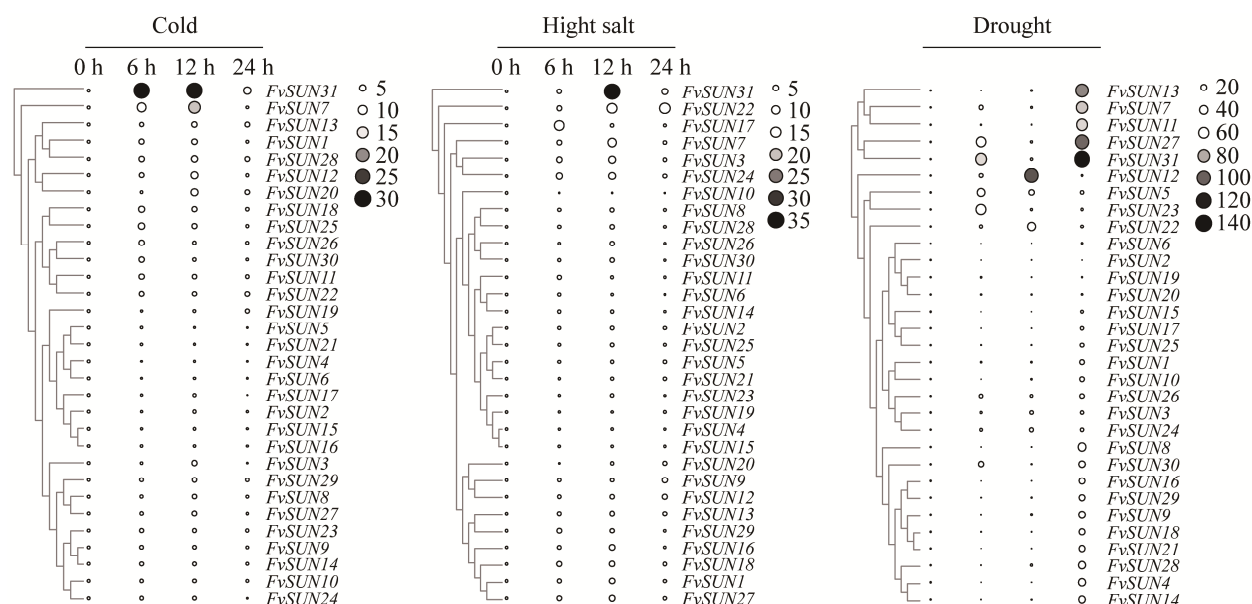


图 7 逆境胁迫下森林草莓 *FvSUN* 基因家族表达的定量 PCR 分析

Figure 7 Expression analysis of *FvSUN* gene family of *Fragaria vesca* under abiotic stresses by qRT-PCR. 0, 2, 12 and 24 h refer to the times after stress treatments. The circles at the right of the heat map represent the relative repression values calculated by the $2^{-\Delta\Delta C_t}$.

基因组织表达分析表明, 森林草莓 *FvSUN* 基因家族成员在不同组织中的表达量存在一定差异, 可分为在各组织中低表达、在各组织中均表达和组织特异性表达(图 5), 其中少数基因在瘦果中的表达量显著偏高, 猜测其可能在瘦果的发育中具有重要功能。玉米 *ZmSUN* 基因的表达模式与森林草莓相似, 多数基因在发育阶段低表达, 而 *ZmSUN12* 和 *ZmSUN17* 在胚胎发育中高表达^[12]; 大豆 *GmIQD22* 基因在幼叶和种子发育阶段高表达^[13]; 番茄 *SISUN1*、*SISUN28* 和 *SISUN33* 在成熟果实中高表达^[14]。在以前研究中发现, 植物中 *SUN* 基因在逆境胁迫下, 普遍会受到诱导表达, 如玉米 26 个 *ZmSUN* 基因受到干旱胁迫诱导或抑制表达^[12]; 大白菜 29 个 *BrSUN* 基因在干旱处理后其表达量显著上调^[42]; 黄瓜 5 个 *CsSUN* 基因在盐胁迫下表达受到抑制^[15]。森林草莓中的 31 个 *FvSUN* 基因, 大部分会受低温、盐、干旱等胁迫的诱导(图 7), 说明 *FvSUN*

基因也参与了非生物逆境的应答。综上所述, 对草莓 *SUN* 基因家族的鉴定及其表达分析, 为进一步研究草莓 *SUN* 基因的生物学功能、调控草莓生长发育与逆境响应的分子机制奠定了一定的理论基础。

REFERENCES

- [1] 左娜, 陈洁, 吕莹果. 植物钙调素及其结合蛋白的结构生物学进展[J]. 粮食与油脂, 2016, 29(9): 1-5.
ZUO N, CHEN J, LÜ YG. Advance progress in plant calmodulin and calmodulin-binding proteins structure biology[J]. Cereals & Oils, 2016, 29(9): 1-5 (in Chinese).
- [2] 毛国红, 宋林霞, 孙大业. 植物钙调素结合蛋白研究进展[J]. 植物生理与分子生物学学报, 2004, 30(5): 481-488.
MAO GH, SONG LX, SUN DY. Progress of study on calmodulin-binding proteins in plants[J]. Acta Photophysiological Sinica, 2004, 30(5): 481-488 (in Chinese).
- [3] 田长恩, 周玉萍. 植物具 IQ 基序的钙调素结合蛋白的研究进展[J]. 植物学报, 2013, 48(4): 447-460.
TIAN CE, ZHOU YP. Research progress in plant IQ

- motif-containing calmodulin-binding proteins[J]. Chinese Bulletin of Botany, 2013, 48(4): 447-460 (in Chinese).
- [4] DEFALCO TA, BENDER KW, SNEDDEN WA. Breaking the code: Ca^{2+} sensors in plant signalling[J]. Biochemical Journal, 2010, 425(1): 27-40.
- [5] RHOADS AR, FRIEDBERG F. Sequence motifs for calmodulin recognition[J]. The FASEB Journal, 1997, 11(5): 331-340.
- [6] HEPLER PK, VIDALI L, CHEUNG AY. Polarized cell growth in higher plants[J]. Annual Review of Cell and Developmental Biology, 2001, 17: 159-187.
- [7] REDDY ASN. Calcium: silver bullet in signaling[J]. Plant Science, 2001, 160(3): 381-404.
- [8] NG CK, MCAINSH MR, GRAY JE, HUNT L, LECKIE CP, MILLS L, HETHERINGTON AM. Calcium-based signalling systems in guard cells[J]. The New Phytologist, 2001, 151(1): 109-120.
- [9] ABEL S, BÜRSTENBINDER K, MÜLLER J. The emerging function of IQD proteins as scaffolds in cellular signaling and trafficking[J]. Plant Signaling & Behavior, 2013, 8(6): e24369.
- [10] 尹倩倩, 李明, 丁博, 彭凌霄, 张欣, 宋晓培, 牛浩, 谢晓东. 植物钙调素结合蛋白 IQD 的研究概况[J]. 分子植物育种, 2016, 14(11): 3224-3231.
- YIN QQ, LI M, DING B, PENG LX, ZHANG X, SONG XP, NIU H, XIE XD. Research advances on plant calmodulin binding protein IQD[J]. Molecular Plant Breeding, 2016, 14(11): 3224-3231 (in Chinese).
- [11] ABEL S, SAVCHENKO T, LEVY M. Genome-wide comparative analysis of the IQD gene families in *Arabidopsis thaliana* and *Oryza sativa*[J]. BMC Evolutionary Biology, 2005, 5: 72.
- [12] CAI RH, ZHANG CS, ZHAO Y, ZHU KJ, WANG YF, JIANG HY, XIANG Y, CHENG BJ. Genome-wide analysis of the IQD gene family in maize[J]. Molecular Genetics and Genomics, 2016, 291(2): 543-558.
- [13] PLOS ONE Staff. Correction: The IQD gene family in soybean: structure, phylogeny, evolution and expression[J]. PLoS One, 2015, 10(3): e0119318.
- [14] HUANG ZJ, van HOUTEN J, GONZALEZ G, XIAO H, van der KNAAP E. Genome-wide identification, phylogeny and expression analysis of *SUN*, *OPF* and *YABBY* gene family in tomato[J]. Molecular Genetics and Genomics, 2013, 288(3): 111-129.
- [15] 张清霞, 陈春花, 王丽娜, 任仲海. 黄瓜 *SUN* 家族的鉴定及其对逆境的响应[J]. 分子植物育种. <https://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20210527.1117.004.htm>.
- ZHANG QX, CHEN CH, WANG LN, REN ZH. Identification and response to adversity of cucumber *SUN* family[J]. Molecular Plant Breeding. <https://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20210527.1117.004.htm> (in Chinese).
- [16] 张亚光, 袁月, 高世敏, 陶建敏. 葡萄 *VvSUN* 基因的克隆及其控制果形功能初探[J]. 西北植物学报, 2017, 37(7): 1271-1277.
- ZHANG YG, YUAN Y, GAO SM, TAO JM. Cloning of *VvSUN* gene in grape (*Vitis* L.) and a preliminary study on the function of controlling fruit shape[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2017, 37(7): 1271-1277 (in Chinese).
- [17] FILIZ E, TOMBULOGLU H, OZYIGIT II. Genome wide analysis of IQ67 domain (*IQD*) gene families in *Brachypodium distachyon*[J]. Plant Omics, 2013, 6(6): 425-432.
- [18] 马慧. 毛果杨全基因组 *IQD* 基因的鉴定及表达分析[D]. 合肥: 安徽农业大学硕士学位论文, 2015.
- MA H. Genome-wide identification and expression analysis of the *IQD* gene family in *Populus trichocarpa*[D]. Hefei: Master's Thesis of Anhui Agricultural University, 2015 (in Chinese).
- [19] LEVY M, WANG Q, KASPI R, PARRELLA MP, ABEL S. *Arabidopsis* IQD1, a novel calmodulin-binding nuclear protein, stimulates glucosinolate accumulation and plant defense[J]. The Plant Journal, 2005, 43(1): 79-96.
- [20] ZENTELLA R, ZHANG ZL, PARK M, THOMAS SG, ENDO A, MURASE K, FLEET CM, JIKUMARU Y, NAMBARA E, KAMIYA Y, SUN TP. Global analysis of DELLA direct targets in early gibberellin signaling in *Arabidopsis*[J]. The Plant Cell, 2007, 19(10): 3037-3057.
- [21] SHOJI T, NARITA NN, HAYASHI K, ASADA J, HAMADA T, SONOBE S, NAKAJIMA K, HASHIMOTO T. Plant-specific microtubule-associated protein SPIRAL2 is required for anisotropic growth in *Arabidopsis*[J]. Plant Physiology, 2004, 136(4): 3933-3944.
- [22] BÜRSTENBINDER K, MÖLLER B, PLÖTNER R, STAMM G, HAUSE G, MITRA D, ABEL S. The IQD family of calmodulin-binding proteins links calcium signaling to microtubules, membrane subdomains, and the nucleus[J]. Plant Physiology, 2017, 173(3): 1692-1708.
- [23] LI YF, DENG M, LIU HF, LI Y, CHEN Y, JIA M, XUE H, SHAO JX, ZHAO J, QI YF, AN LJ, YU F, LIU XY. ABNORMAL SHOOT 6 interacts with KATANIN 1 and SHADE AVOIDANCE 4 to promote cortical microtubule severing and ordering in *Arabidopsis*[J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2021, 63(4): 646-661 (in Chinese).
- [24] LIANG H, ZHANG Y, MARTINEZ P, RASMUSSEN CG, XU TD, YANG ZB. The microtubule-associated protein IQ67 DOMAIN₅ modulates microtubule

- dynamics and pavement cell shape[J]. *Plant Physiology*, 2018, 177(4): 1555-1568.
- [25] SUGIYAMA Y, WAKAZAKI M, TOYOOKA K, FUKUDA H, ODA Y. A novel plasma membrane-anchored protein regulates xylem cell-wall deposition through microtubule-dependent lateral inhibition of rho GTPase domains[J]. *Current Biology*, 2017, 27(16): 2522-2528.e4.
- [26] 阮氏兴. 小麦 *IQD* 家族基因的克隆及功能研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学硕士学位论文, 2015.
RUAN SX. Cloning and functional study of *IQD* family genes in *Triticum aestivum*[D]. Yangling: Master's Thesis of Northwest A&F University, 2005 (in Chinese).
- [27] XIAO H, JIANG N, SCHAFFNER E, STOCKINGER EJ, van der KNAAP E. A retrotransposon-mediated gene duplication underlies morphological variation of tomato fruit[J]. *Science*, 2008, 319(5869): 1527-1530.
- [28] JIANG N, GAO D, XIAO H, van der KNAAP E. Genome organization of the tomato *SUN* locus and characterization of the unusual retrotransposon rider[J]. *The Plant Journal*, 2009, 60(1): 181-193.
- [29] WU S, XIAO H, CABRERA A, MEULIA T, van der KNAAP E. *SUN* regulates vegetative and reproductive organ shape by changing cell division patterns[J]. *Plant Physiology*, 2011, 157(3): 1175-1186.
- [30] 杨海艳, 王洪玲, 钟国跃, 曾庆雅, 朱继孝, 熊雯雯. 草莓属植物资源分布、化学成分、药理活性研究进展[J]. *中成药*, 2022, 44(2): 510-518.
YANG HY, WANG HL, ZHONG GY, ZENG QY, ZHU JX, XIONG WW. Research progress on resource distribution, chemical composition and pharmacological activity of strawberry[J]. *Chinese Traditional Patent Medicine*, 2022, 44(2): 510-518 (in Chinese).
- [31] LI YP, PI MT, GAO Q, LIU ZC, KANG CY. Updated annotation of the wild strawberry *Fragaria vesca* V4 genome[J]. *Horticulture Research*, 2019, 6: 61.
- [32] CHENG CY, KRISHNAKUMAR V, CHAN AP, THIBAUD-NISSEN F, SCHOBEL S, TOWN CD. Araport11: a complete reannotation of the *Arabidopsis thaliana* reference genome[J]. *The Plant Journal*, 2017, 89(4): 789-804.
- [33] ARTIMO P, JONNALAGEDDA M, ARNOLD K, BARATIN D, CSARDI G, de CASTRO E, DUVAUD S, FLEGEL V, FORTIER A, GASTEIGER E, GROSDIDIER A, HERNANDEZ C, IOANNIDIS V, KUZNETSOV D, LIECHTI R, MORETTI S, MOSTAGUIR K, REDASCHI N, ROSSIER G, XENARIOS I, et al.. ExPASy: SIB bioinformatics resource portal[J]. *Nucleic Acids Research*, 2012, 40(W1): W597-W603.
- [34] WANG YP, TANG HB, DEBARRY JD, TAN X, LI JP, WANG XY, LEE TH, JIN HZ, MARLER B, GUO H, KISSINGER JC, PATERSON AH. MCScanX: a toolkit for detection and evolutionary analysis of gene synteny and collinearity[J]. *Nucleic Acids Research*, 2012, 40(7): e49.
- [35] KUMAR S, STECHER G, TAMURA K. MEGA 7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2016, 33(7): 1870-1874.
- [36] 陈建清, 刘悦滢, 宋娟娟, 王腾云, 张忆琳, 陈清西. 一组草莓果实 qRT-PCR 内参基因及其引物和应用: CN, 111118199A[P]. 2020-05-08.
CHEN JQ, LIU YY, SONG JJ, WANG TY, ZHANG YL, CHEN QX. A group of internal reference genes of qRT-PCR in strawberry fruit and its primers and application: CN, 111118199A[P]. 2020-05-08 (in Chinese).
- [37] LIVAK KJ, SCHMITTGEN TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C_t}$ method[J]. *Methods*, 2001, 25(4): 402-408.
- [38] SATO S, TABATA S, HIRAKAWA H, ASAMIZU E, SHIRASAWA K, ISOBE S, KANEKO T, NAKAMURA Y, SHIBATA D, AOKI K, EGHOLM M, KNIGHT JR, BOGDEN R, LI CB, SHUANG Y, XU X, PAN S, CHENG SF, LIU X, REN YY, et al. The tomato genome sequence provides insights into fleshy fruit evolution[J]. *Nature*, 2012, 485(7400): 635-641.
- [39] REHMAN A, PENG Z, LI HG, QIN GY, JIA YH, PAN ZE, HE SP, QAYYUM A, DU XM. Genome wide analysis of *IQD* gene family in diploid and tetraploid species of cotton (*Gossypium* spp.)[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, 184: 1035-1061.
- [40] HEDGES SB. The origin and evolution of model organisms[J]. *Nature Reviews Genetics*, 2002, 3(11): 838-849.
- [41] BOWE LM, COAT G, dePAMPHILIS CW. Phylogeny of seed plants based on all three genomic compartments: extant gymnosperms are monophyletic and Gnetales' closest relatives are conifers[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2000, 97(8): 4092-4097.
- [42] YUAN JP, LIU TK, YU ZH, LI Y, REN HB, HOU XL, LI Y. Genome-wide analysis of the Chinese cabbage *IQD* gene family and the response of BrIQD5 in drought resistance[J]. *Plant Molecular Biology*, 2019, 99(6): 603-620.

(本文责编 郝丽芳)