

# 葡萄生长素响应基因家族生物信息学鉴定和表达分析

袁华招, 赵密珍, 吴伟民, 于红梅, 钱亚明, 王壮伟, 王西成

江苏省农业科学院园艺研究所/江苏省高效园艺作物遗传改良重点实验室, 南京 210014

**摘要:** 生长素响应基因家族能调节植物体内生长素平衡和生长素信号途径。文章采用生物信息学方法检索获得葡萄(*Vitis vinifera* L.)基因组数据库中的生长素响应基因, 通过分析其染色体定位、基因共线性和系统进化, 发现葡萄基因组含有 25 个 *AUX\_IAA* 基因、19 个 *ARF* 基因、9 个 *GH3* 基因、42 个 *LBD* 基因。这些生长素响应基因不均匀分布在葡萄的 19 条染色体上, 部分家族基因在染色体上形成基因簇。葡萄芯片数据结果表明, 生长素响应基因在葡萄不同时期的果实和叶芽中均有表达, 尤其在果实转色期、叶芽萌发或休眠期表达量急剧变化。研究结果为葡萄生长素响应基因在叶片和果实发育过程中的功能研究提供参考。

**关键词:** 葡萄; 生长素响应基因家族; 进化; 果实发育

## Genome-wide identification and expression analysis of auxin-related gene families in grape

Huazhao Yuan, Mizhen Zhao, Weimin Wu, HongMei Yu, Yaming Qian,  
Zhuangwei Wang, Xicheng Wang

*Institute of Horticulture, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences/Jiangsu Key Laboratory for Horticultural Crop Genetic Improvement, Nanjing 210014, China*

**Abstract:** The auxin response gene family adjusts the auxin balance and the growth hormone signaling pathways in plants. Using bioinformatics methods, the auxin-response genes from the grape genome database are identified and their chromosomal location, gene collinearity and phylogenetic analysis are performed. Probable genes include 25 *AUX\_IAA*, 19 *ARF*, 9 *GH3* and 42 *LBD* genes, which are unevenly distributed on all 19 chromosomes and some of them formed distinct tandem duplicate gene clusters. The available grape microarray databases show that all of the auxin-response genes are expressed in fruit and leaf buds, and significant overexpressed during fruit color-changing, bud break and bud dormancy periods. This paper provides a resource for functional studies of auxin-response genes in grape leaf and fruit development.

**Keywords:** grape; auxin-response gene family; phylogeny; fruit development

收稿日期: 2014-11-10; 修回日期: 2014-12-08

基金项目: 江苏省农业科技自主创新资金项目(编号: CX(12) 2013)资助

作者简介: 袁华招, 硕士, 专业方向: 果树学。E-mail: 544250348@qq.com

通讯作者: 赵密珍, 研究员, 硕士生导师, 研究方向: 果树学。E-mail: njzhaomz@163.com

DOI: 10.16288/j.ycz.14-390

网络出版时间: 2015-1-28 15:16:54

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20150128.1516.002.html>

生长素在植物生长发育的许多方面都起着重要作用,包括顶端优势、向性反应、侧根形成、植物叶芽和果实发育<sup>[1]</sup>。生长素在植物授粉后控制植物果实的起始生长和抑制果实成熟<sup>[2]</sup>。通过对草莓(*Fragaria×ananassa* Duch.)和其他果实的研究,早期提出了一种机制:种子产生的生长素通过调节细胞分裂和扩增来调控果实发育。大量生长素响应基因通过调节植株体内生长素平衡参与果实发育过程。生长素早期响应基因包括ARF、AUX\_IAA、GH3和LBD等家族基因<sup>[3]</sup>。

AUX\_IAA和ARF是一类转录因子,ARF蛋白具有一个保守的DNA结合结构域,可以识别生长素响应基因(*GH3*、*SAURs*和*LBD*)启动子上的生长素响应元件(AuxREs),激活或者抑制生长素响应基因的转录。AUX\_IAA蛋白没有DNA结合结构域,但是它可以结合ARF蛋白形成聚合体,从而负调节生长素响应基因的转录<sup>[4,5]</sup>。AUX\_IAA蛋白具有4个保守的结构域<sup>[6]</sup>,其中结构域III和IV和ARF蛋白的CTD具有同源性使AUX\_IAA蛋白能结合ARF蛋白<sup>[7-12]</sup>。番茄*SIARF7*主要在番茄的胎盘和胚珠中表达,授粉后表达量迅速下降,沉默*SIARF7*导致单性结实<sup>[13]</sup>,沉默番茄*SIIAA9*同样会导致番茄单性结实<sup>[14]</sup>。番茄*SIARF4*的表达量随着果实发育而增加,在红果期早期表达量达到最大,沉默*SIARF4*导致果实成熟时颜色黑绿,硬度增加,果皮变厚<sup>[15,16]</sup>。*GH3*基因在调节植物体内生长素平衡中起着重要作用,它编码一种生长素-氨基酸结合酶,可以把植物体内多余的生长素(IAA)<sup>[17,18]</sup>、茉莉酸(JA)<sup>[19]</sup>和水杨酸(SA)<sup>[20]</sup>结合到氨基酸上,形成激素-氨基酸结合物,使得这些激素失活,最终通过泛素化途径降解。根据序列相似度和底物专一性,拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)*GH3*基因分为3类(Groups I、II和III)<sup>[17,21]</sup>,Groups I类型的*GH3*基因是茉莉酸-氨基酸结合酶或水杨酸-氨基酸结合酶<sup>[21]</sup>,Groups II类型的*GH3*基因是生长素-氨基酸结合酶<sup>[18]</sup>,而Groups III类型的*GH3*基因是拟南芥所特有的。葡萄*GH3.1*编码IAA-Asp合成酶,葡萄果实转色期IAA-Asp含量增加,而生长素含量降低,表明葡萄*GH3.1*可能通过IAA失活机制起始果实成熟过程<sup>[22]</sup>。*LBD*基因是植物特有的一类转录因子,具有一个保守的LOB (Lateralorganboundaries)结构域。根据LBD蛋白的N端LOB结构域的结构,LBD

基因家族可以被分为两类<sup>[23,24]</sup>,Class I类的LBD蛋白具有一个非常保守的CX2CX6CX3C锌指类结构域和LX6LX3LX6L结构域,而Class II类的LBD蛋白只具有保守的锌指类结构域<sup>[23,25]</sup>。LBD蛋白调节叶片发育<sup>[24,26]</sup>、胚囊发育<sup>[27]</sup>和管状细胞的分化<sup>[28]</sup>。在水稻中,LBD蛋白参与叶芽器官的发育、根冠和侧根的形成<sup>[29-31]</sup>。拟南芥Class II类的LBD蛋白(LBD37,38和39)可以被硝酸盐诱导参与叶芽色苷和硝酸盐代谢途径<sup>[32]</sup>。

葡萄是经济价值最重要、种植最为广泛的园艺作物之一。到目前为止,对水稻<sup>[33]</sup>、番茄<sup>[34]</sup>和苹果<sup>[35]</sup>等多个物种中的生长素早期响应基因进行了全基因组分析,然而在基因组水平上研究葡萄生长素响应基因在果实发育过程中的作用研究尚未见报道。葡萄基因组测序完成使得利用生物信息学手段全基因组分析生长素响应基因成为可能。本研究利用生物信息学手段,预测葡萄基因组中生长素响应基因,分析其染色体定位、共线性和系统进化关系,以及其在叶芽和果实发育过程中的表达模式,挑选在葡萄叶芽和果实发育过程中起重要作用的候选基因,为进一步研究该家族成员在葡萄叶片和果实发育过程中的功能研究提供参考。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

葡萄基因芯片表达数据来源于NCBI的GEO数据库。原始的探针注释信息来源于Affymetrix的支持文件。葡萄的核酸序列、蛋白序列文件以及注释文件来源于Genoscope数据库(<http://www.genoscope.cns.fr/externe/GenomeBrowser/Vitis>)。拟南芥和苹果的生长素响应基因核酸序列和蛋白序列分别下载自TAIR(<http://arabidopsis.org>)和GDR(<http://www.rosaceae.org/>)。

### 1.2 全基因组预测葡萄生长素响应基因

采用隐马尔可夫模型(HMM)预测葡萄ARF、AUX\_IAA、GH3和LBD基因。从Pfam(<http://pfam.xfam.org/>)网站获取基因家族序列特征文件(AUX\_IAA (PF02309.8), ARF(PF06507.5), GH3 (PF03321.5), LBD (PF03195.6))。通过HMMER 3.0 (28 March, 2010)<sup>[36]</sup>程序检索葡萄基因组预测基因的

FASTA文件,任何可以匹配基因家族结构域的蛋白序列被初步认为是葡萄生长素响应基因家族成员, Hmsearch的 $E$ 值设置 $<e^{-10}$ 。检索出来的蛋白序列通过Hmsearch程序检索Pfam-A数据库查找蛋白结构域,不包含家族特征结构域的序列将被剔除。同时以检索出来的蛋白序列本地运行BLASTp程序,同源搜索拟南芥和水稻基因组序列,确认最匹配的拟南芥基因也应对应的家族基因。最终确认的葡萄生长素响应基因ID号通过CellDesigner 4.4 软件进行可视化<sup>[37]</sup>。

### 1.3 葡萄生长素响应基因蛋白的序列分析及染色体定位

利用ClustalW软件对基因家族进行多序列比对。MEGA 5 软件构建邻接树(NJ),设置Bootstrap为1000 次重复<sup>[38]</sup>。下载葡萄基因组注释GFF文件获取葡萄生长素响应基因的染色体定位信息,葡萄生长素响应基因的共线性关系通过PGDD数据库(<http://chibba.agtec.uga.edu/duplication/>)获取,PGDD数据库对葡萄全基因组进行了共线性分析。串联重复基因簇指基因家族中的各成员紧密成簇排列成染色体上。本文中判定标准为两个生长素响应基因在染色体上彼此相连被称为串联重复基因簇。然后通过Circos软件绘制基因染色体定位和共线性图<sup>[39]</sup>。

### 1.4 基因芯片数据处理

NCBI的GEO数据库中下载CEL的原始芯片数据,利用BioConductor对原始数据进行处理,用稳健多芯片平均标准化分析(RMA)算法对数据进行预处理,通过limma包进行差异表达分析<sup>[40,41]</sup>。

### 1.5 葡萄生长素响应基因的表达谱分析

利用葡萄探针序列构建 BLAST 数据库,以葡萄生长素响应基因序列文件进行本地 BLASTn 检索葡萄探针序列数据库, $E$  值设置 $<e^{-30}$ ,通过 perl 程序选取序列相似度大于 95%的探针代表该基因。编写 R 软件代码绘制热图,将基因的表达谱进行可视化。

## 2 结果与分析

### 2.1 葡萄生长素响应基因的鉴定及其生化属性分析

通过 HMMER 3.0 程序从葡萄基因组中检索到 39 个 *AUX\_IAA* 基因,19 个 *ARF* 基因,9 个 *GH3* 基

因,44 个 *LBD* 基因。通过 Hmsearch 程序检索 Pfam-A 数据库发现 39 个 *AUX\_IAA* 基因都含有 *AUX\_IAA* 蛋白结构域,其中 13 个基因含有 3 个结构域(*Auxin\_resp*、B3 和 *AUX\_IAA*),被认定是 ARF 家族基因,因此从 *AUX\_IAA* 家族基因中被剔除;19 个 *ARF* 基因都含有 3 个结构域(*Auxin\_resp*、B3 和 *AUX\_IAA*);9 个 *GH3* 基因都含有 *GH3* 结构域;44 个 *LBD* 基因都含有 DUF260 结构域。同源检索拟南芥和水稻基因组数据库发现,除了 GSVIVT010098-53001 对应的最匹配基因为伴侣蛋白外,其他基因对应的最匹配基因都属于生长素响应家族成员,因此 GSVIVT01009853001 被剔除。最终,本文从葡萄基因组中预测出 25 个 *AUX\_IAA* 基因,19 个 *ARF* 基因,9 个 *GH3* 基因,44 个 *LBD* 基因,葡萄生长素响应基因 ID 号通过 CellDesigner 软件进行可视化(图 1)。

葡萄生长素响应基因蛋白质生化属性分析发现,最长的葡萄 *AUX\_IAA* 蛋白(GSVIVT01016972001)包含 364 个氨基酸残基,最短的葡萄 *AUX\_IAA* 蛋白(GSVIVT01017158001)包含 101 个氨基酸残基,其等电点范围从 4.82 (GSVIVT01017158001)到 9.35 (GSVIVT01029215001)。最长的葡萄 *ARF* 蛋白(GSVIVT01032251001)包含 1034 氨基酸残基,最短的葡萄 *ARF* 蛋白(GSVIVT01008950001)只包含 320 个氨基酸残基,其等电点范围从 5.17 (GSVIVT0100-9865001)到 8.99(GSVIVT01021553001)。葡萄 *GH3* 蛋白序列长度比较保守,最长的葡萄 *GH3* 蛋白(GSVIVT01027057001)包含 648 氨基酸残基,最短的葡萄 *GH3* 蛋白(GSVIVT01037892001)包含 477 个氨基酸残基,其等电点范围从 5.23(GSVIVT0100-1112001)到 8.65(GSVIVT01037892001)。葡萄 *LBD* 蛋白较小,最长的葡萄 *LBD* 蛋白(GSVIVT01011-895001)包含 385 氨基酸残基,最短的葡萄 *LBD* 蛋白(GSVIVT01032752001)包含 126 个氨基酸残基,其等电点范围从 4.77 (GSVIVT01025128001)到 9.16 (GSVIVT01003548001)(基因数目较多,文章中未列出具体理化性质)。

### 2.2 葡萄生长素响应基因的蛋白结构分析

绝大部分葡萄 *AUX\_IAA* 蛋白具有 4 个保守的结构域(结构域 I、II、III 和 IV)。结构域 I 的特征序列是[LTA]xLxLx[LPI][PSG] x 代表任意氨基酸,







图 2 葡萄 AUX IAA 蛋白保守的结构域

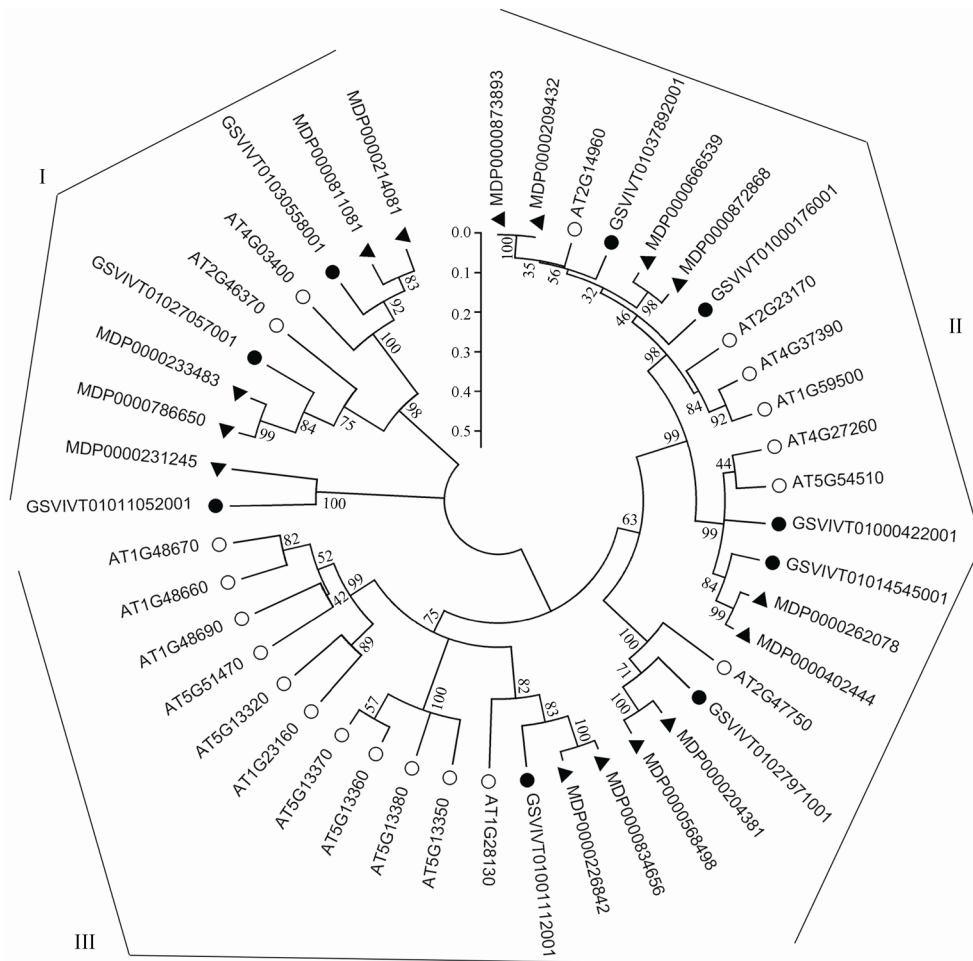


图 3 葡萄、苹果和拟南芥 GH3 蛋白序列的系统进化分析

实心圆代表葡萄 GH3 基因, 空心圆代表拟南芥 GH3 基因, 实心三角形代表苹果 GH3 基因。

01017158001 和 GSVIVT01017159001)和 14(GSVIVT-01021779001 和 GSVIVT01036283001)号上形成明显的基因簇。19 个 *ARF* 基因定位到 14 条染色体上, 其中第 18 号染色体上定位了 3 个基因, 第 6、10、11 和 12 号染色体上各定位了 2 个基因, 第 1、2、4、7、8、13、15 和 17 号染色体各定位了 1 个基因。*ARF* 基因在第 6(GSVIVT01025198001 和 GSVIVT010-25159001)号染色体上形成基因簇。9 个 *GH3* 定位到 6 条染色体上, 其中第 7 号染色体上定位了 3 个基因, 第 12 号染色体上定位了 2 个基因, 第 1、3、15 和 19 号染色体各定位了 1 个基因。44 个 *LBD* 基因在染色体上成不均匀分布, 其中 13 号染色体上分布最多, 13 条 *LBD* 基因在 13 号染色体上形成了 2 个基因簇, 其次是 6 号染色体上分布了 6 条 *LBD* 基因, 也形成了 2 个基因簇(图 4)。

葡萄生长素响应基因共线性分析表明:葡萄生长素响应基因总共形成了 26 对共线性关系, 其中包括 7 个 *ARF* 基因、17 个 *AUX/IAA* 基因、2 个 *GH3* 基因、14 个 *LBD* 基因。其中有 4 个 *ARF*(GSVIVT-01025198001、GSVIVT01016266001、GSVIVT010-37136001 和 GSVIVT01025691001) 基因, 4 个 *AUX/IAA*(GSVIVT01021779001、GSVIVT010180-99001、GSVIVT01000720001 和 GSVIVT01035295001) 基因, 4 个 *LBD*(GSVIVT01031035001、GSVIVT-01008284001、GSVIVT01000141001 和 GSVIVT0101-1896001)基因参与到至少 3 对共线性关系中(图 4)。

## 2.4 葡萄基因芯片数据处理

从 NCBI 的 GEO 数据库中下载了葡萄叶芽(GEO 唯一标示符: GSE42345)和果实(GEO 唯一标



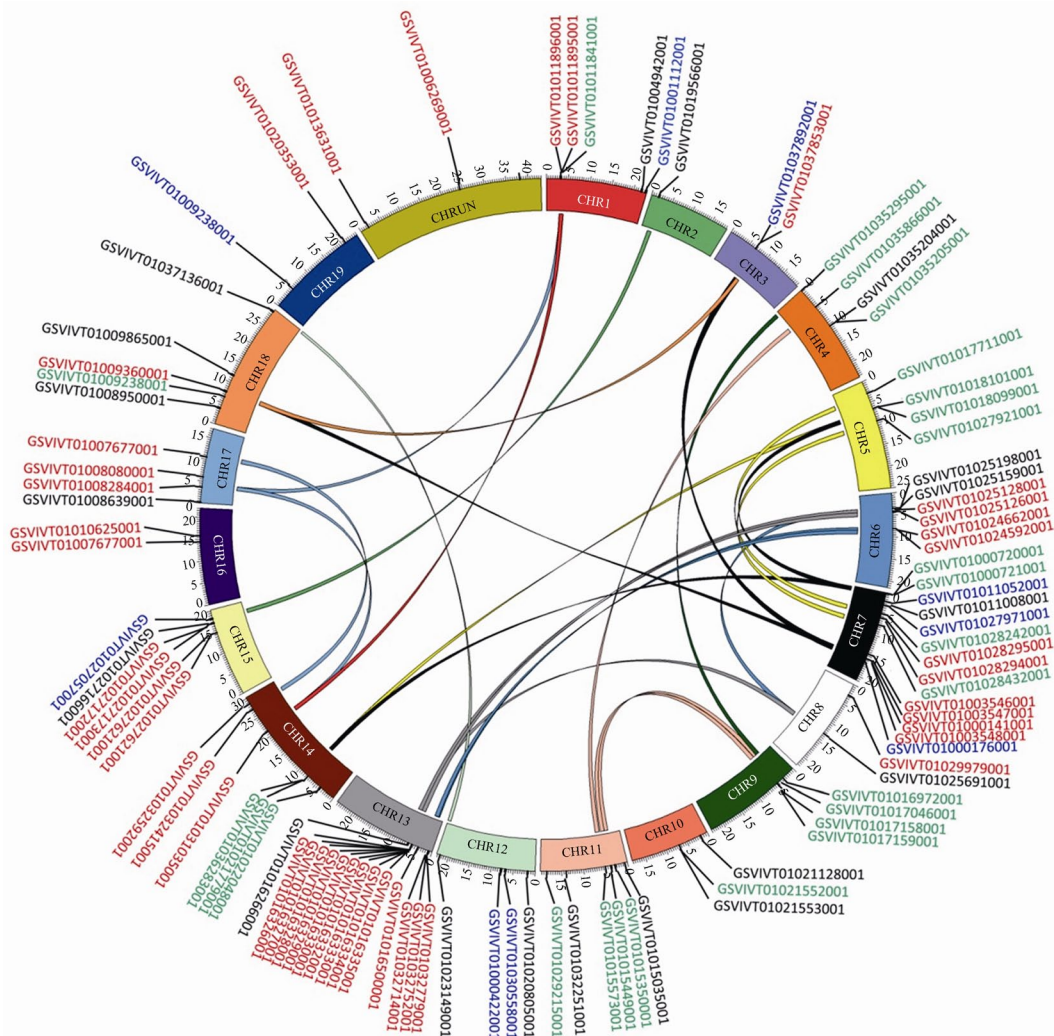


图 4 葡萄生长素响应基因染色体定位和共线性分析

绿色字体代表 *AUX\_IAA* 家族基因, 黑色字体代表 *ARF* 家族基因, 蓝色字体代表 *GH3* 家族基因, 红色字体代表 *LBD* 家族基因, 同一条丝带连接的两个基因具有共线性关系。

示符: GSE41206)发育过程中基因芯片数据, 利用 BioConductor 对原始数据进行处理, 用稳健多芯片平均标准化分析(RMA)算法对数据进行预处理, 获取探针的表达数据。下载的公共葡萄芯片数据采用的是 Affymetrix 芯片 (CDF: GrapeGena520510F), 这类芯片共有 23 000 个探针组代表了葡萄基因组中的 18 700 个基因, 覆盖了葡萄基因组 62% 的基因。通过 Blastn 程序匹配葡萄生长素响应基因和探针芯片结果表明: 39 个葡萄生长素响应基因没有找到对应的探针, 占有生长素响应基因总数目的 41%, 其中包括 5 个 *ARF* 基因、7 个 *AUX\_IAA* 基因、4 个 *GH3* 基因、23 个 *LBD* 基因。部分葡萄生长素响应基因可以找到 2 个或 3 个对应探针, *ARF* 基因

(GSVIVT01032251001、GSVIVT01016266001 和 GSVIVT01027166001)、*AUX\_IAA* 基因 (GSVIVT-01021779001 和 GSVIVT01017159001) 和 *LBD* 基因 (GSVIVT01027172001) 可以匹配 2 个探针, *ARF* 基因 (GSVIVT01025159001) 和 *AUX\_IAA* 基因 (GSVIVT01000721001) 可以匹配 3 个探针。

## 2.5 葡萄叶芽和果实中生长素响应基因的表达模式分析

葡萄果实(果皮和果肉)发育过程的 Affymetrix 芯片 (CDF: GrapeGena520510F) 包含 5 个时期: 转色前期、50%转色、100%转色、成熟早期、成熟晚期, 每个时期有 6 个重复。葡萄叶芽发育过程包含

3 个时期：腋芽(5 月份、6 月份和 7 月份)、休眠芽(9 月份、11 月份、1 月份和 3 月份)和刚萌动的叶芽(4 月份)，每个时期有 3 个重复。利用 BioConductor 对葡萄芯片数据进行处理，用稳健多芯片平均标准化分析(RMA)算法对数据进行预处理，重复芯片中

探针的表达取平均值，基因的表达谱最终通过 R 软件进行可视化。

相比其他生长素响应基因家族，ARF 家族基因整体上在葡萄叶芽和果实中的表达量较高(图 5B)。ARF 家族基因在果实发育过程中果皮和果肉中表达量

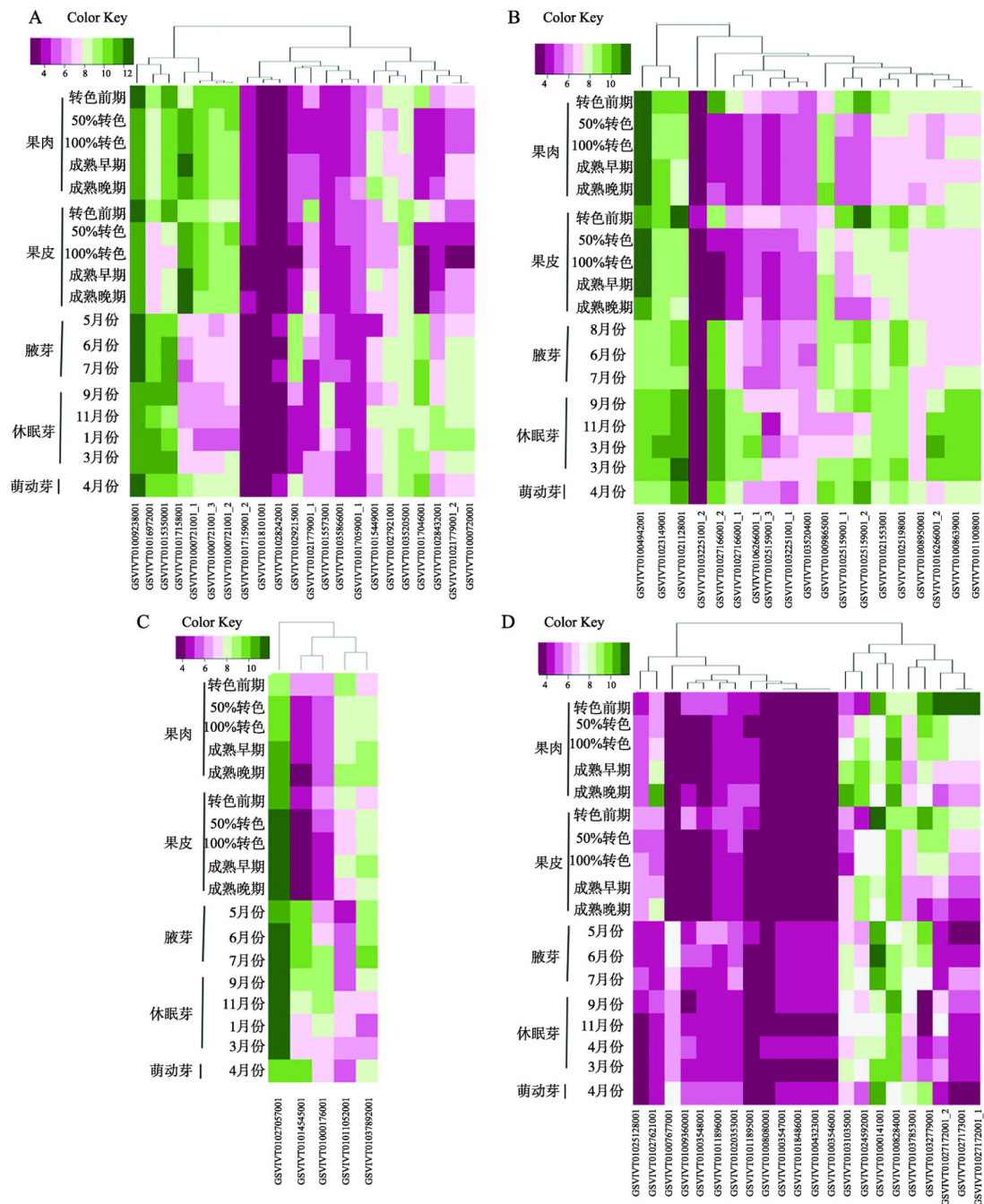


图 5 生长素响应家族基因在葡萄叶芽和果实中表达谱  
A : AUX\_IAA 家族基因在葡萄叶芽和果实中表达谱；B : ARF 家族基因在葡萄叶芽和果实中表达谱；C : GH3 家族基因在葡萄叶芽和果实中表达谱；D : LBD 家族基因在葡萄叶芽和果实中表达谱。色块图中显示的数据表示生长素响应家族基因对应的探针在特定基因芯片中的表达量，绿色越深，基因表达量越高，白色为过渡色，红色越深，基因表达量越低。



具有相似变化趋势,大多数基因在果实转色期表达量相对较高,之后表达量下降,尤其是 GSVIVT01021128001。GSVIVT01004942001 在葡萄果实发育的整个生长过程都有非常高的表达量,表明该基因可能在果实发育过程中其重要作用。ARF 家族基因整体上在葡萄休眠芽中表达较高,在腋芽和刚萌动的叶芽中表达量相对较低。部分 AUX\_IAA 基因(如 GSVIVT01015350001 和 GSVIVT01027-921001)在转色前期表达量较高,转色期和成熟期表达量急剧下降,表明这些基因可能在果实膨大过程中起着重要作用(图 5A)。除 GSVIVT01015350001、GSVIVT01016972001 和 GSVIVT01009238001 在叶芽中大量表达外, AUX\_IAA 基因在葡萄叶芽中整体表达量较低。GH3 基因家族成员在葡萄中数目相对较少,GSVIVT01027057001 在葡萄叶芽和果实中的表达量相对较高,GSVIVT01037892001 在葡萄的果实(果皮和果肉)中,从转色期开始表达量逐渐升高,到达成熟期表达量达到峰值(图 5C)。整体而言, LBD 家族基因在葡萄叶芽和果实中的表达量相对较低(图 5D)。GSVIVT01008284001 和 GSVIVT01024592-001 从葡萄转色期开始表达量急剧增加,可能与葡萄果实成熟相关。而 GSVIVT01000141001 在葡萄休眠芽中表达量被抑制,可能与葡萄叶芽休眠相关。

### 3 讨论

葡萄中 AUX\_IAA 基因家族、ARF 基因家族、GH3 基因家族和 LBD 基因家族成员数目同拟南芥、水稻和高粱中类似(表 1)。

经过蛋白结构分析发现,葡萄生长素响应基因家族成员蛋白结构在物种间既具有保守性也具有特异性。绝大部分葡萄 AUX\_IAA 具有 4 个保守的结构域(结构域 I、II、III 和 IV)。目前研究表明,最常见的保守序列是 LxLxPP,而葡萄 AUX\_IAA 中结构

域 I 最多的特征序列是 LxLGLPG。结构域 II 与泛素化降解蛋白(SCFTIR1)相互作用在生长素代谢途径中起着重要作用,最保守的序列是 VVGWPPV<sup>[43,44]</sup>。绝大部分葡萄 ARF 含有保守的 DNA 结合结构域(B3),中间 AUX\_RESP 结构域和 C 端保守结构域(CTD)。AUX\_RESP 结构域决定着 ARF 在生长素信号途径中起着激活还是抑制下游基因的作用。葡萄 AUX\_IAA 蛋白的结构域 III 和 IV 与 ARF 蛋白 CTD 结构域表现出很高的同源性。推测 AUX\_IAA 蛋白可以通过保守的结构域 III 和 IV 自身形成二聚体,也可以和 ARF 蛋白形成 AUX\_IAA/ARF 二聚体<sup>[3]</sup>。GH3 基因分为 3 类<sup>[18]</sup>,但葡萄 GSVIVT01001112001 与拟南芥 Groups III 亚家族具有更近的进化关系,表明 Groups III 并非拟南芥所特有。在 Groups I 和 Groups II 亚家族中,1 个葡萄 GH3 基因对应 1 个拟南芥 GH3 基因和两个苹果 GH3 基因。大约在 6~6.5 万年前,苹果在进化过程中经历过一次全基因组加倍事件导致基因家族成员数目加倍<sup>[45]</sup>。绝大部分葡萄的 LBD 蛋白的 N 端都具有保守的 LOB 结构域,在拟南芥中 LOB 结构域由有两块区域组成: CX2CX6CX3C 锌指类结构域和 GAS 保守结构,葡萄中同样存在。

下载的公共葡萄芯片数据采用的是 Affymetrix 芯片[CDF: GrapeGena520510F],这类芯片存在缺陷,只覆盖了葡萄基因组 62% 的基因, Blastn 程序匹配葡萄生长素响应基因和探针芯片发现 41% 的生长素响应基因找不到对应的探针,部分基因可以找到 2~3 个对应的探针。目前,很多实验采用的是 29K 的罗氏葡萄全基因组芯片,这类芯片涵盖了葡萄基因组 98% 的基因<sup>[46,47]</sup>。以后的生物信息学研究中可以多利用该类芯片。

通过 Affymetrix 芯片发现,大部分生长素响应基因在葡萄叶芽和果实中的表达量较低,而部分生长素响应基因在葡萄叶芽和果实中的表达量较高,尤其是 ARF 家族基因(GSVIVT01021128001、GSVIVT01023149001 和 GSVIVT01004942001)和 AUX\_IAA 家族基因(GSVIVT01015350001、GSVIVT01016972001 和 GSVIVT01009238001),表明这些基因可能在葡萄叶芽和果实发育过程中起着重要作用。前人研究表明,沉默番茄 *IAA9* 基因会导致番茄叶片变形,植株单性结实<sup>[14]</sup>。部分生长素响应基因,尤其是 ARF 家族基因(GSVIVT01009865001 和 GSVIVT01004942001)、AUX\_IAA 家族基因(GS-

表 1 拟南芥、水稻、高粱和葡萄基因组中 AUX\_IAA、ARF、GH3 和 LBD 基因家族成员数目<sup>[18,33,42]</sup>

|     | AUX_IAA | ARF | GH3 (Groups III) | LBD |
|-----|---------|-----|------------------|-----|
| 拟南芥 | 29      | 23  | 20 (10)          | 42  |
| 水稻  | 31      | 25  | 13               | 35  |
| 高粱  | 26      | 25  | 16               | 36  |
| 葡萄  | 25      | 19  | 9                | 42  |

VIVT01017158001)、GH3 家族基因(GSVIVT010-37892001)和LBD家族基因(GSVIVT01008284001 和 GSVIVT01024592001)在转色前期的果肉和果皮中表达量较低,随着果实发育表达量升高,表明这类基因可能在果实成熟过程中起始果实成熟过程。Bottcher等<sup>[22]</sup>指出,葡萄GH3.1(GSVIVT0103789-2001)在葡萄转色期开始表达量增加,体外试验表明葡萄GH3.1可以结合Asp到生长素上形成IAA-Asp,葡萄GH3.1可能通过IAA失活机制来起始果实成熟过程。

## 参考文献

- [1] Davies PJ. Plant hormones: physiology, biotechnology and molecular biology. London: Kluwer Academic Publishers, 2004. [DOI]
- [2] Given NK, Venis MA, Grierson D. Hormonal regulation of ripening in the strawberry, a non-climacteric fruit. *Planta*, 1988, 174(3): 402–406. [DOI]
- [3] Chapman EJ, Estelle M. Mechanism of auxin-regulated gene expression in plants. *Annu Rev Genet*, 2009, 43(11): 265–285. [DOI]
- [4] Guilfoyle TJ, Ulmasov T, Hagen G. The ARF family of transcription factors and their role in plant hormone-responsive transcription. *Cell Mol Life Sci*, 1998, 54(7): 619–627. [DOI]
- [5] Gray WM, Kepinski S, Rouse D, Leyser O, Estelle M. Auxin regulates SCFTIR1-dependent degradation of AUX/IAA proteins. *Nature*, 2001, 414(6861): 271–276. [DOI]
- [6] Abel S, Theologis A. Early genes and auxin action. *Plant Physiol*, 1996, 111: 9–17. [DOI]
- [7] Kim J, Harter K, Theologis A. Protein-protein interactions among the Aux/IAA proteins. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94(22): 11786–11791. [DOI]
- [8] Morgan KE, Zarembinski TI, Theologis A, Abel S. Biochemical characterization of recombinant tides corresponding to the predicted  $\beta$ afold in Aux/IAA proteins. *FEBS Lett*, 1999, 454(3): 283–287. [DOI]
- [9] Ouellet F, Overvoorde PJ, Theologis A. IAA17/AXR3: biochemical insight into an auxin mutant phenotype. *Plant Cell*, 2001, 13(4): 829–841. [DOI]
- [10] Ulmasov T, Hagen G, Guilfoyle TJ. ARF1, a transcription factor that binds to auxin response elements. *Science*, 1997, 276(5320): 1865–1868. [DOI]
- [11] Ulmasov T, Hagen G, Guilfoyle TJ. Activation and repression of transcription by auxin-response factors. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96(10): 5844–5849. [DOI]
- [12] Ulmasov T, Murfett J, Hagen G, Guilfoyle TJ. Aux/IAA proteins repress expression of reporter genes containing natural and highly active synthetic auxin response elements. *Plant Cell*, 1997, 9(11): 1963–1971. [DOI]
- [13] de Jong M, Wolters-Arts M, Feron R, Mariani C, Vriezen WH. The *Solanum lycopersicum* auxin response factor 7 (SlARF7) regulates auxin signaling during tomato fruit set and development. *Plant J*, 2009, 57(1): 160–170. [DOI]
- [14] Wang H, Jones B, Li ZG, Frasse P, Delalande C, Regad F, Chaabouni S, Latche A, Pech JC, Bouzayen M. The tomato Aux/IAA transcription factor IAA9 is involved in fruit development and leaf morphogenesis. *Plant Cell*, 2005, 17(10): 2676–2692. [DOI]
- [15] Guillon F, Philippe S, Bouchet B, Devaux MF, Frasse P, Jones B, Bouzayen M, Lahaye M. Down-regulation of an Auxin response factor in the tomato induces modification of fine pectin structure and tissue architecture. *J Exp Bot*, 2008, 59(2): 273–288. [DOI]
- [16] Jones B, Frasse P, Olmos E, Zegzouti H, Li ZG, Latché A, Pech JC, Bouzayen M. Down-regulation of DR12, an auxin-response-factor homolog, in the tomato results in a pleiotropic phenotype including dark green and blotchy ripening fruit. *Plant J*, 2002, 32(4): 603–613. [DOI]
- [17] Staswick PE, Tiryaki I, Rowe ML. Jasmonate response locus JAR1 and several related *Arabidopsis* genes encode enzymes of the firefly luciferase superfamily that show activity on jasmonic, salicylic, and indole-3-acetic acids in an assay for adenylation. *Plant Cell*, 2002, 14(6): 1405–1415. [DOI]
- [18] Staswick PE, Serban B, Rowe M, Tiryaki I, Maldonado MT, Maldonado MC, Suzaa W. Characterization of an *Arabidopsis* enzyme family that conjugates amino acids to Indole-3-Acetic Acid. *Plant Cell*, 2005, 17(2): 616–627. [DOI]
- [19] Riemann M, Riemann M, Takano M. Rice JASMONATE RESISTANT 1 is involved in phytochrome and jasmonate signalling. *Plant Cell Environ*, 2008, 31(6): 783–792. [DOI]
- [20] Zhang SW, Li CH, Cao J, Zhang YC, Zhang SQ, Xia YF, Sun DY, Sun Y. Altered architecture and enhanced drought tolerance in rice via the down-regulation of indole-3-acetic acid by TLD1/OsGH3. 13 activation. *Plant Physiol*, 2009, 151(4): 1889–1901. [DOI]
- [21] Staswick PE, Tiryaki I. The oxylipin signal jasmonic acid is activated by an enzyme that conjugates it to isoleucine in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2004, 16(8): 2117–2127. [DOI]
- [22] Bottcher C, Keyzers RA, Boss PK, Davies C. Sequestration of auxin by the indole-3-acetic acid-amidosynthetase GH3-1 in grape berry (*Vitis vinifera* L.) and the proposed role of auxin conjugation during ripening. *J Exp Bot*, 2010, 61(13): 3615–3625. [DOI]
- [23] Shuai B, Reynaga-Pena CG, Springer PS. The *Lateral organ boundaries* gene defines a novel, plant-specific gene family. *Plant Physiol*, 2002, 129(2): 747–761. [DOI]
- [24] Semiarti E, 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): 1771–1783. [DOI]

- [25] 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 J*, 2009, 58(3): 525–537. [DOI]
- [26] Ori N, Eshed Y, Chuck G, Bowman JL, Hake S. Mechanisms that control knox gene expression in the *Arabidopsis* shoot. *Development*, 2000, 127(24): 5523–5532. [DOI]
- [27] Evans MMS. 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. [DOI]
- [28] Soyano T, Thitamadee S, Machida Y, Chua NH. *ASYMMETRIC LEAVES2-LIKE19/LATERAL ORGAN BOUNDARIES DOMAIN30* and *ASL20/LBD18* regulate tracheary element differentiation in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2008, 20(12): 3359–3373. [DOI]
- [29] Inukai Y, Sakamoto T, Ueguchi-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. [DOI]
- [30] Liu HJ, Wang SF, Yu XB, Yu J, He XW, Zhang SL, Shou HX, Wu P. ARL1, a LOB-domain protein required for adventitious root formation in rice. *Plant J*, 2005, 43(1): 47–56. [DOI]
- [31] Li A, Zhang Y, Wu X, Tang W, Wu R, Dai Z, Liu G, Zhang H, Wu C, Chen G, Pan X. DH1, a LOB domain-like protein required for glume formation in rice. *Plant Mol Biol*, 2008, 66(5): 491–502. [DOI]
- [32] Rubin G, Tohge T, Matsuda F, Saito K, Scheible WR. 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. [DOI]
- [33] Dekai W, Kemei P, Yaping F, Zongxiu S, Sujuan L, Heqin L, Kan T, Bin H, Yuezhi T. Genome-wide analysis of the auxin response factors (ARF) gene family in rice (*Oryza sativa*). *Gene*, 2007, 394(1–2): 13–24. [DOI]
- [34] Kumar R, Tyagi AK, Sharma AK. Genome-wide analysis of auxin response factor (ARF) gene family from tomato and analysis of their role in flower and fruit development. *Mol Genet Genomics*, 2011, 285(3): 245–260. [DOI]
- [35] Devoghalaere F, Doucen T, Guitton B, Keeling J, Payne W, Ling TJ, Ross JJ, Hallett LC, Gunaseelan K, Dayatilake DA, Diak R, Breen KC, Tustin DS, Costes E, Chagné D, Schaffer RJ, David KM. A genomics approach to understanding the role of auxin in apple (*Malus × domestica*) fruit size control. *BMC Plant Biol*, 2012, 12: 7. [DOI]
- [36] Eddy SR. Profile hidden Markov models. *Bioinformatics*, 1998, 14(9): 755–763. [DOI]
- [37] Funahashi A, Morohashi M, Kitano H, Tanimura N. Cell-Designer: a process diagram editor for gene-regulatory and biochemical networks. *BIOSILICO*, 2003, 1(5): 159–162. [DOI]
- [38] Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol Biol Evol*, 2011, 28(10): 2731–2739. [DOI]
- [39] Krzywinski M, Schein J, Birol I, Connors J, Gascoyne R, Horsman D, Jones SJ, Marra MA. Circos: An information aesthetic for comparative genomics. *Genome Res*, 2009, 19(9): 1639–1645. [DOI]
- [40] Irizarry RA, Hobbs B, Collin F, Beazer-Barclay YD, Antonellis KJ, Scherf U, Speed TP. Exploration, normalization, and summaries of high density oligonucleotide array probe level data. *Biostatistics*, 2003, 4(2): 249–264. [DOI]
- [41] Smyth GK. Limma: Linear models for microarray data. In: Gentleman R, Carey VJ, Huber W, Irizarry RA, Dudoit S, eds. *Bioinformatics and Computational Biology Solutions Using R and Bioconductor Statistics for Biology and Health*. New York: Springer, 2005: 397–420. [DOI]
- [42] Wang SK, Bai YH, Shen CJ, Wu YR, Zhang SN, Jiang DA, Guilfoyle TJ, Chen M, Qi YH. Auxin-related gene families in abiotic stress response in *Sorghum bicolor*. *Funct Integr Genomics*, 2010, 10(4): 533–546. [DOI]
- [43] Worley CK, Zenser N, Ramos J, Rouse D, Leyser O, Theologis A, Callis J. Degradation of Aux/IAA proteins is essential for normal auxin signaling. *Plant J*, 2000, 21(6): 553–562. [DOI]
- [44] Tiwari SB, Hagen G, Guilfoyle TJ. Aux/IAA proteins contain a potent transcriptional repression domain. *Plant Cell*, 2004, 16(2): 533–543. [DOI]
- [45] Velasco R, Zharkikh A, Affourtit J, Dhingra A, Cestaro A, Kalyanaraman A, Fontana P, Bhatnagar SK, Troggio M, Pruss D, Salvi S, Pindo M, Baldi P, Castelletti S, Cavaiuolo M, Coppola G, Costa F, Cova V, Dal Ri A, Goremykin V, Komjanc M, Longhi S, Magnago P, Malacarne G, Malnoli M, Micheletti D, Moretto M, Perazzolli M, Si-Ammour A, Vezzulli S. The genome of the domesticated apple (*Malus × domestica* Borkh.). *Nat Genet*, 2010, 42(10): 833–839. [DOI]
- [46] Fasoli M, Santo SD, Zenoni S, Tornielli GB, Farina L, Zamboni A, Porceddu A, Venturini L, Bicego M, Murino V, Ferrarini A, Delledonne M, Pezzotti M. The grapevine expression atlas reveals a deep transcriptome shift driving the entire plant into a maturation program. *Plant Cell*, 2012, 24(9): 3489–3505. [DOI]
- [47] Gambino G, Cuzzo D, Fasoli M, Pagliarini C, Vitali M, Boccacci P, Pezzotti M, Mannini F. Co-evolution between *Grapevine rupestris stem pitting-associated virus* and *Vitis vinifera* L. leads to decreased defence responses and increased transcription of genes related to photosynthesis. *J Exp Bot*, 2012, 63(16): 5919–5933. [DOI]