

• 农业生物技术 •

## 草莓 *YABBY* 基因家族的鉴定及表达分析

余婷婷<sup>#</sup>, 沈淑容<sup>#</sup>, 许以灵, 王欣雨, 余瑶, 马伯军, 陈析丰<sup>\*</sup>

浙江师范大学生命科学学院, 浙江 金华 321004

余婷婷, 沈淑容, 许以灵, 王欣雨, 余瑶, 马伯军, 陈析丰. 草莓 *YABBY* 基因家族的鉴定及表达分析[J]. 生物工程学报, 2024, 40(1): 104-121.

YU Tingting, SHEN Shurong, XU Yiling, WANG Xinyu, YU Yao, MA Bojun, CHEN Xifeng. Identification and expression analysis of the *YABBY* gene family in strawberry[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2024, 40(1): 104-121.

**摘要:** *YABBY* 蛋白是一类调控植物形态建成与器官发育的重要转录因子。为了研究草莓 *YABBY*, 通过生物信息学技术鉴定了森林草莓(二倍体)与栽培草莓(八倍体)的 *YABBY* 基因家族成员及其序列特征, 构建了各成员与植物 *YABBY* 的系统发育树与共线性关系图, 并利用 RNA-seq 数据与定量逆转录聚合酶链反应(quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction, qRT-PCR)技术分析其表达模式, 构建绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)融合表达载体, 在烟草叶细胞中瞬时表达观察其亚细胞定位。研究结果表明, 森林草莓有 6 个 *FvYABBY* 基因, 栽培草莓有 26 个 *FxaYABBY* 基因; *FvYABBY* 基因家族成员可归为 5 个不同的进化分支, 与拟南芥 *AtYABBY* 基因家族存在 5 对直系同源。在森林草莓中, 所有 *FvYABBY* 在根和花托中基本不表达, *FvYABBY1*、*FvYABBY2*、*FvYABBY5* 和 *FvYABBY6* 在叶、茎、花和瘦果中高表达; 在栽培草莓中, *FxaYABBY1*、*FxaYABBY2*、*FxaYABBY5* 和 *FxaYABBY6* 在瘦果中表达, 所有 *FxaYABBY* 在花托中为低表达或不表达。此外, 在低温、高盐和干旱等非生物胁迫下, *FvYABBY1*、*FvYABBY3*、*FvYABBY4* 和 *FvYABBY6* 下调表达, *FvYABBY5* 上调表达, *FvYABBY2* 则先上调后下调表达。在烟草叶细胞中, 所有 *FvYABBY* 蛋白均定位在细胞核。以上结果为草莓 *YABBY* 基因的后续功能研究奠定了基础。

**关键词:** 草莓; *YABBY* 基因家族; 序列分析; 表达模式; 亚细胞定位

资助项目: 国家自然科学基金(32071987); 浙江省自然科学基金(LZ23C130004)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (32071987) and the Natural Science Foundation of Zhejiang Province (LZ23C130004).

<sup>#</sup>These authors contributed equally to this study.

<sup>\*</sup>Corresponding author. E-mail: xfchen@zjnu.cn

Received: 2023-02-18; Accepted: 2023-05-04; Published online: 2023-06-01

# Identification and expression analysis of the *YABBY* gene family in strawberry

YU Tingting<sup>#</sup>, SHEN Shurong<sup>#</sup>, XU Yiling, WANG Xinyu, YU Yao, MA Bojun, CHEN Xifeng<sup>\*</sup>

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

**Abstract:** *YABBY* proteins are important transcription factors that regulate morphogenesis and organ development in plants. In order to study the *YABBY* of strawberry, bioinformatic technique were used to identify the *YABBY* gene families in *Fragaria vesca* (diploid) and *Fragaria×ananassa* (octoploid), and then analyze the sequence characters, phylogeny and collinearity of the family members. The RNA-seq data and the quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction (qRT-PCR) technique were used to assay the expression patterns of the family members. A green fluorescent protein (GFP) was fused with Fv*YABBY*s and transiently expressed in tobacco leaf cells for the subcellular localization. As the results, six Fv*YABBY* genes and 26 Fxa*YABBY* genes were identified from *F. vesca* and *F.×ananassa*, respectively. The Fv*YABBY* genes were grouped into five clades, and five family members were orthologous with At*YABBY* genes of *Arabidopsis*. In *F. vesca*, all of the Fv*YABBY*s were basically not expressed not expressed in root and receptacle, while Fv*YABBY1*, Fv*YABBY2*, Fv*YABBY5* and Fv*YABBY6* were highly expressed in leaf, shoot, flower and achene. In *F.×ananassa*, Fxa*YABBY1*, Fxa*YABBY2*, Fxa*YABBY5* and Fxa*YABBY6* were expressed in achene, and all Fxa*YABBY* were poorly or not expressed in receptacle. Additionally, under the abiotic stresses of low temperature, high salt and drought, the expression of Fv*YABBY1*, Fv*YABBY3*, Fv*YABBY4* and Fv*YABBY6* were down-regulated, Fv*YABBY5* was up-regulated, and Fv*YABBY2* was up-regulated and then down-regulated. In tobacco leaf cells, the subcellular localization of Fv*YABBY* proteins were in the nucleus. These results provides a foundation for the functional researches of *YABBY* gene in strawberry.

**Keywords:** strawberry; *YABBY* gene family; sequence analysis; expression pattern; subcellular localization

*YABBY* 是一类种子植物特有的转录因子, 主要调控叶片、花器官和胚珠的发育, 并且在远轴细胞发育过程中具有保守作用<sup>[1]</sup>。*YABBY* 蛋白在 N 端包含 1 个 C2C2 锌指结构域, 在 C 端包含 1 个结合 DNA 的螺旋-环-螺旋结构域(也称 *YABBY* 结构域)。第 1 个 *YABBY* 基因, 又称 *CRC* (*CRABS CLAW*), 是从拟南芥(*Arabidopsis thaliana*) 中克隆到的<sup>[1]</sup>。随后, 在拟南芥 [*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.]<sup>[2]</sup>、棉花 (*Gossypium*

*hirsutum*)<sup>[3]</sup>、番茄(*Solanum lycopersicum* L.)<sup>[4]</sup>、石榴 (*Punica granatum* L.)<sup>[5]</sup>、橡胶树 [*Hevea brasiliensis* (Willd. ex A. Juss.) Muell. Arg.]<sup>[6]</sup>和苹果(*Malus×domestica* Mill.)<sup>[7]</sup>、水稻(*Oryza sativa* L.)<sup>[8]</sup>等多种植物中都报道了 *YABBY* 基因家族。

在拟南芥中, *YABBY* 基因家族包含 *CRC*、*FIL* (*AtYABBY1*)、*AtYABBY2*、*AtYABBY3*、*INO* (*AtYABBY4*)和 *AtYABBY5* 这 6 个成员<sup>[9-11]</sup>。*CRC* 正向调节心皮极性和蜜腺发育<sup>[12]</sup>, 对 *BLADE ON*

*PETIOLE 1* 和 *BLADE ON PETIOLE 2* 基因具有上位效应, 可能是 *CRC* 的直接靶基因<sup>[13]</sup>, 而这 2 个基因是蜜腺发育所必需的<sup>[14]</sup>。此外, *CRC* 还参与抑制与花分生组织终止相关靶基因的转录<sup>[13]</sup>。*FIL* 则是与 *AtYABBY2*、*AtYABBY3* 共同作用于花分生组织与花器官的形成<sup>[2]</sup>。这 3 个基因在叶片、花分生组织、花瓣、雄蕊和心皮等器官远轴中表达, 而在胚和胚根中不表达<sup>[2]</sup>。*FIL* 突变会导致花原基产生无花的花梗, 并影响花器官的位置和数量, 表明 *FIL* 在花的形态中起核心作用<sup>[15]</sup>。然而, 在拟南芥中, 这种丝状表型在 *fil* 单突变体中较弱, 而在 *fil* 分别与 *rev*、*clv1*、*clv3*、*han*、*lfy*、*ufo* 的双突变体中显著增强, 表明 *fil* 与这些基因相互作用决定了花原基的命运<sup>[15]</sup>。*FIL* 和 *AtYABBY3* 在决定叶背面细胞发育方面具有相似的作用<sup>[1]</sup>。在 *fil/yab3* 双突变体中, 叶片丧失极性呈现辐射状, 花器官发育不正常。*AtYABBY5* 的氨基酸序列与 *FIL*、*AtYABBY2*、*AtYABBY3* 同源, 共同决定远轴细胞和顶端分生组织的发育<sup>[2,16-17]</sup>。在 *fil/yabby3/yabby5* 三突变体和 *fil/yabby2/yabby3/yabby5* 四突变体中, 叶片和花序呈放射状, 无法区分远轴和近轴细胞<sup>[16,18]</sup>。在拟南芥中, *YABBY* 基因家族中只有 *INO* 在胚珠中表达, 是胚珠发育的关键基因, 其突变会导致胚珠外被膜丢失, 配体发育受阻<sup>[11]</sup>。研究还发现 *INO* 通过抑制 *NRAMP1* 的表达从而降低了发育中种子的铁含量, 而过表达 *INO* 可以减少胚胎中铁的积累<sup>[19]</sup>。*INO* 作为一种双功能转录因子, 与转录共激活因子 *LUG* (*LEUNIG*)、*SEU* (*SEUSS*)或 *PRZ1* (*ADA2b/PROPORZ1*)相互作用, 调节胚珠外被膜的生长与发育<sup>[20]</sup>。

在番茄<sup>[4]</sup>、石榴<sup>[5]</sup>等双子叶植物中, 其 *YABBY* 基因家族成员可归为 5 个亚家族, 分别对应拟南芥的 *CRC*、*INO*、*FIL/YABBY3*、*YABBY2* 和 *YABBY5*。然而, 在水稻等单子叶植物中, 由于

缺少 *YABBY5* 亚家族<sup>[21]</sup>, 其只有 4 个亚家族。与拟南芥中 *YABBYs* 基因的功能冗余不同, 水稻的 *YABBYs* 基因家族成员具有不同的功能<sup>[21]</sup>。*OsYABBY1* 可与 *GA3ox2* 启动子中的赤霉素 (gibberellic acid, GA) 响应元件结合, 参与 GA 的合成和反馈调控<sup>[22]</sup>。*OsYABBY2* 对种子落粒性至关重要<sup>[23]</sup>。*OsYABBY4* 具有独特的表达模式, 优先在维管的分生组织和韧皮部组织中表达<sup>[24]</sup>。*OsYABBY5* 在维持分生组织和调节幼穗发育中起着重要作用<sup>[25]</sup>。在黄瓜 (*Cucumis sativus*) 中, *CsSPL* 可与 *CsYABBY1*、*CsYABBY3* 和 *CsINO* 相互作用, 调控珠被的发育<sup>[26]</sup>。棉花中 *GhYABBY* 家族成员参与胚珠和顶端分生组织的发育<sup>[27]</sup>。

草莓为蔷薇科 (*Rosaceae*) 多年生草本植物, 其果实外观精致、口感甜美, 是最受欢迎的水果之一, 受广大消费者的青睐, 已成为一种重要的经济作物。野生草莓是二倍体, 如森林草莓 (*Fragaria vesca*), 其基因组比较小且已经测序完成<sup>[28-29]</sup>; 而栽培草莓 (*Fragaria × ananassa*) 则是同源八倍体, 由于基因组存在高度同源的重复序列, 近期才公布了高质量基因组<sup>[30-31]</sup>, 为研究草莓的基因与进化奠定了坚实的基础。本文通过生物信息学, 鉴定森林草莓和栽培草莓的 *YABBY* 基因家族成员, 分析基因及其编码蛋白的结构特征、系统发育进化、组织表达模式和亚细胞定位等, 为研究 *YABBY* 基因在调控草莓生长发育中的作用机理奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 植物材料和胁迫处理

森林草莓 (*Fragaria vesca*) 品种 *Ruegen* 的种子由沈阳农业大学张志宏教授课题组提供。在温度 25 °C/23 °C (16 h 光照/8 h 黑暗)、湿度 70%–80% 的温室条件下, 将种子播种在营养基质土中, 生长 70 d 后分别采集根、叶、花、花

托、瘦果等不同组织。另外,在播种 40 d 后,分别将植株置于 4 °C、200 mmol/L NaCl 和 20% PEG6000 胁迫条件下进行处理,于处理后 0、12、24、48 h 取整株,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 草莓 YABBY 基因家族的鉴定

利用蔷薇科基因组数据库(genome database for Rosaceae, GDR)数据库(<https://www.rosaceae.org/>),首先在二倍体森林草莓(*F. vesca*)基因组(v4.0.a2; 最新版本)序列中,以拟南芥 YABBY 蛋白的氨基酸序列为 Query 进行 BLAST,搜索同源基因 *FvYABBY*,并使用 SMART (<http://smart.embl-heidelberg.de/>)鉴定其编码蛋白的 YABBY 结构域。然后,利用 *FvYABBY* 基因的编码蛋白序列,在八倍体栽培草莓(*F.×ananassa*)基因组(v1.0.a2; 最新版本)和其他二倍体野生草莓饭沼草莓(*Fragaria iinumae*)、日本草莓(*Fragaria nipponica*)、绿色草莓(*Fragaria viridis*)基因组的序列中搜索 YABBY 同源基因。

## 1.3 基因及其编码蛋白的序列特征分析

从 GDR 数据库下载 *F. vesca* (v4.0.a2)和 *F.×ananassa* (v1.0.a2)的基因组注释文件,利用 TBtools 软件<sup>[32]</sup>对草莓 YABBY 基因家族成员的染色体位置和基因结构进行可视化制图;提取每个基因起始密码子(ATG)上游 2 000 bp 的基因组序列,利用 PlantCARE (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>)分析顺式作用元件,再通过 GSDS2.0 (<http://gsds.gao-lab.org/>)

进行可视化制图。在分析草莓 YABBY 蛋白序列特征中,采用 MEGA 7.0 软件进行氨基酸序列的 Alignment,利用 MEME (<https://meme-suite.org/meme/>)预测其保守基序,用 Phyre2 (<http://www.sbg.bio.ic.ac.uk/phyre2/html/page.cgi?id=index>)预测三级结构。

## 1.4 系统发育与共线性分析

利用 MEGA 7.0 软件,采用邻近法(neighbor-joining)构建 YABBY 蛋白序列的系统发育树,bootstrap 值设置为 1 000。利用 MCScanX<sup>[33]</sup>分析不同基因组及其 YABBY 基因间的共线性,*E* 值设为  $1 \times 10^{-5}$ ,再用 TBtools 软件<sup>[32]</sup>进行可视化制图。

## 1.5 基于 RNA-Seq 数据的基因表达分析

利用 *F. vesca* 根、叶、花、花托和瘦果等各组织的转录组数据<sup>[29]</sup>,以及 *F.×ananassa* 果实 4 个不同发育时期的花托、瘦果转录组数据<sup>[30]</sup>。从中提取各个 YABBY 基因的表达数据(transcripts per million, TPM),再使用 TBtools 生成热图。

## 1.6 基因表达的定量逆转录聚合酶链反应(quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction, qRT-PCR)验证

采用 EASY Spin Plus Plant RNA Rapid Extraction Kit (Aidlab 公司)提取草莓样品的总 RNA,用 Prime Script RT Reagent Kit (TaKaRa 公司)合成第 1 链 cDNA。采用 TB Green™ Premix Ex Taq™ (TaKaRa 公司)进行 qRT-PCR,PCR 反应体系按照产品说明操作,引物序列见表 1。在 Step One™ Real-Time PCR 仪上运行程序:95 °C

表 1 qRT-PCR 的引物序列

Table 1 Primer sequences of qRT-PCR

Gene	Annealing temperature (°C)	Amplicon size (bp)	Forward primer (5'→3')	Reverse primer (5'→3')
<i>FvYABBY1</i>	59	104	GCCTTCAGTCACTGTCCTG	ATCTTCTTGTTGCCTTTGA
<i>FvYABBY2</i>	58	117	ACCCACCAGAAGCAACATCA	TGCAGGAGCAGCAGCAAAT
<i>FvYABBY3</i>	56	180	ATGATTACCCTACTACCTTGACTC	TGAAGCGGTTGTAAGCAGAT
<i>FvYABBY4</i>	55	170	CATCATCTCCTAGCTTCACTTG	GTGTAATCCTCTTCATTTTCATAAT
<i>FvYABBY5</i>	60	154	TTCATCATCTCGGTCACTCCTT	GCTACTCCTCCTCTTGGTCTTACA
<i>FvYABBY6</i>	57	132	GCTAACCTCGGACATTCTTTCTT	AACTCCTCGAATCATTGGCATA
<i>FvActin</i>	58	107	GAGGCAATTTAGACGCGCAA	GCTCAAGAATGTCAAGTGGCG

5 min; 95 °C 5 s, 60 °C 30 s, 共循环 40 次。以草莓 *FvActin* 基因(FvH4\_5g27840)作为标准化内参,采用 delta-delta Ct 法<sup>[34]</sup>分析各基因的相对表达量。基于至少 3 次生物重复计算标准误差。

### 1.7 FvYABBYs 的亚细胞定位

采用 Cell-PLoc v.2.0 (<http://www.csbio.sjtu.edu.cn/bioinf/plant-multi/>)预测 YABBY 蛋白的亚细胞定位。用 PrimeSTAR<sup>®</sup> Max DNA Polymerase (TaKaRa 公司)高保真酶 PCR 扩增 *FvYABBYs* 基因的 CDS (不含终止子),再利用 In-fusion HD Cloning Kit (TaKaRa 公司)将其插入到 pCAMBIA1300 载体中,由 CaM35S 启动子驱动,并与 GFP 融合表达。通过冻融法将构建的重组表达载体转化到根癌农杆菌 GV3101 感受态细胞中,按照 Bleckmann 等<sup>[35]</sup>的方法在烟草 (*Nicotiana tabacum*)叶片中瞬时表达,2–3 d 后叶片进行 4',6-联脒-2-苯基吡啶(4',6-diamidino-2-phenylindole, DAPI)染色<sup>[36]</sup>,在共聚焦显微镜(ZEISS 公司)下观察 GFP 及 DAPI 荧光信号。

## 2 结果与分析

### 2.1 草莓 YABBYs 基因家族的鉴定

利用拟南芥 YABBY 蛋白序列在 GDR 数据库中 BLAST 比对,从二倍体森林草莓(*F. vesca*)中鉴定出 6 个 *FvYABBY* 基因(表 2)。根据这 6 个基因在染色体上的顺序位置将其命名为 *FvYABBY1–FvYABBY6*,分布在森林草莓的 5 条染色体上(图 1A)。其中, *FvYABBY3* 基因在 GDR 数据库中只有 1 个转录本 FvH4\_4g29650.t1,编码的蛋白为 569 aa,除了含 YABBY 结构域外,在 C 端有一个额外的 UAA 结构域,由基因的最后一个外显子编码,而且基因功能注释为 UDP-N-乙酰氨基葡萄糖转运蛋白,而并非转录因子类型。在 NCBI 数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)发现该基因还有 1 个转录本(Accession: LOC101305462),

可变剪接发生在最后内含子中,导致蛋白翻译的提前终止,从而编码一个不含 UAA 结构域的 YABBY 蛋白(189 aa),命名为 FvH4\_4g29650.t2 (表 2),并通过 PCR 在森林草莓的 cDNA 中扩增出了该转录本。而且,在栽培草莓 *F. ×ananassa* 的基因组注释中,对应 *FvYABBY3* 的同源蛋白也不含 UAA 结构域。由于植物的 YABBY 普遍是一种具有转录因子功能的小蛋白,因此认为 FvH4\_4g29650.t2 编码 YABBY3 蛋白,并将其序列用于后续的分析。*FvYABBYs* 基因的编码区长度在 561–714 bp 之间,编码蛋白的氨基酸序列为 186–237 aa,等电点为 5.09–5.16,亚细胞预测定位于细胞核。*FvYABBY* 基因家族成员的登录号、染色体定位、编码序列(coding sequence, CDS)和氨基酸长度等如表 2 所示。然后,利用 *FvYABBYs* 基因在八倍体栽培草莓(*F. ×ananassa*)基因组进行 BLAST 比对,在 20 条染色体上发现了 26 个 *FxaYABBY* 基因。*FxaYABBYs* 基因的 CDS 序列长度为 471–816 bp,其编码蛋白的氨基酸序列为 156–271 aa,等电点为 5.09–5.17,亚细胞预测定位于细胞核。为了区分同源的 *FxaYABBYs* 基因,将不同 *FxaYABBYs* 基因按其在栽培草莓上的染色体顺序进行编号,如 *FvYABBY1* 的同源基因为 *FvYABBY1-1* 至 *FxaYABBY1-4*; 每个 *FvYABBY* 基因对应的同源 *FxaYABBYs* 基因其编码蛋白的氨基酸序列均非常相似。由于 *F. ×ananassa* 被认为是 4 种二倍体野生草莓 *F. vesca*、*F. iinumae*、*F. nipponica* 和 *F. viridis* 杂交进化而来的八倍体<sup>[37]</sup>,因此 *FvYABBY2–FvYABBY5* 在 *F. ×ananassa* 基因组中都含有 4 个直系同源基因,而 *FvYABBY1* 有 3 个直系同源基因, *FvYABBY6* 却有 7 个直系同源基因(图 1B)。其中, *FxaYABBY6-4* 编码的蛋白的 YABBY 结构域不完整,很可能是一个假基因(pseudogene)。26 个 *FxaYABBY* 基因的详细信息如表 3 所示。

表 2 森林草莓 *FvYABBYs* 基因的序列特征Table 2 Sequence characteristics of *FvYABBY* genes in *Fragaria vesca*

Name	Accession <sup>a</sup>	Chromosome location	CDS (bp)	Protein (aa)	Isoelectric point	Cell-PLoc
<i>FvYABBY1</i>	FvH4_1g03040.t1	Fvb1:1 714 477–1 717 938	561	186	5.16	Nucleus
<i>FvYABBY2</i>	FvH4_3g26130.t1	Fvb3:18 970 831–18 976 558	705	234	5.11	Nucleus
<i>FvYABBY3</i>	FvH4_4g29650.t2 <sup>b</sup>	Fvb4:29 686 355–29 689 771	570	189	5.14	Nucleus
<i>FvYABBY4</i>	FvH4_4g32910.t1	Fvb4:31 343 311–31 345 497	714	237	5.14	Nucleus
<i>FvYABBY5</i>	FvH4_5g00320.t1	Fvb5:225 529–228 828	699	232	5.09	Nucleus
<i>FvYABBY6</i>	FvH4_7g11260.t1	Fvb7:10 483 148–10 486 294	654	217	5.10	Nucleus

<sup>a</sup>: Accession of *YABBY* genes of *Fragaria vesca* genome v4.0.a2 from GDR (<https://www.rosaceae.org/>); <sup>b</sup>: The sequence of FvH4\_4g29650.t2 is an alternative splicing of FvH4\_4g29650 deposited in NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>; Accession: LOC101305462).

## 2.2 *FvYABBYs* 基因及其编码蛋白的序列特征

根据 *FvYABBYs* 基因的编码蛋白质序列, 可将这 6 个基因可分为两类: *FvYABBY1*–*FvYABBY3* 与 *FvYABBY4*–*FvYABBY6* (图 2A)。从基因结构上看, *FvYABBY* 基因外显子数目及大小是比较保守的, 数量基本保持在 6–7 个(图 2B), 而高度同源的 *FvYABBY5* 和 *FvYABBY6* 具有相似的外显子和内含子结构(图 2B)。*FvYABBYs* 蛋白的氨基酸序列都存在 3 个保守基序 motif 1–motif 3 (图 2C–2D), 整个蛋白包含 2 个保守结构域, N 端 1 个 C2C2-锌指结构域和 C 端 1 个 YABBY 结构域(图 2E), 前者与 motif 1 和 motif 2 重叠, 后者与 motif 3 重叠。同时, 用 Phyre2 软件预测了这 2 个保守结构域的三维结构, 发现这 6 个蛋白的螺旋-环-螺旋 YABBY 结构域和 C2C2-锌指结构域的空间结构高度相似(图 2F)。

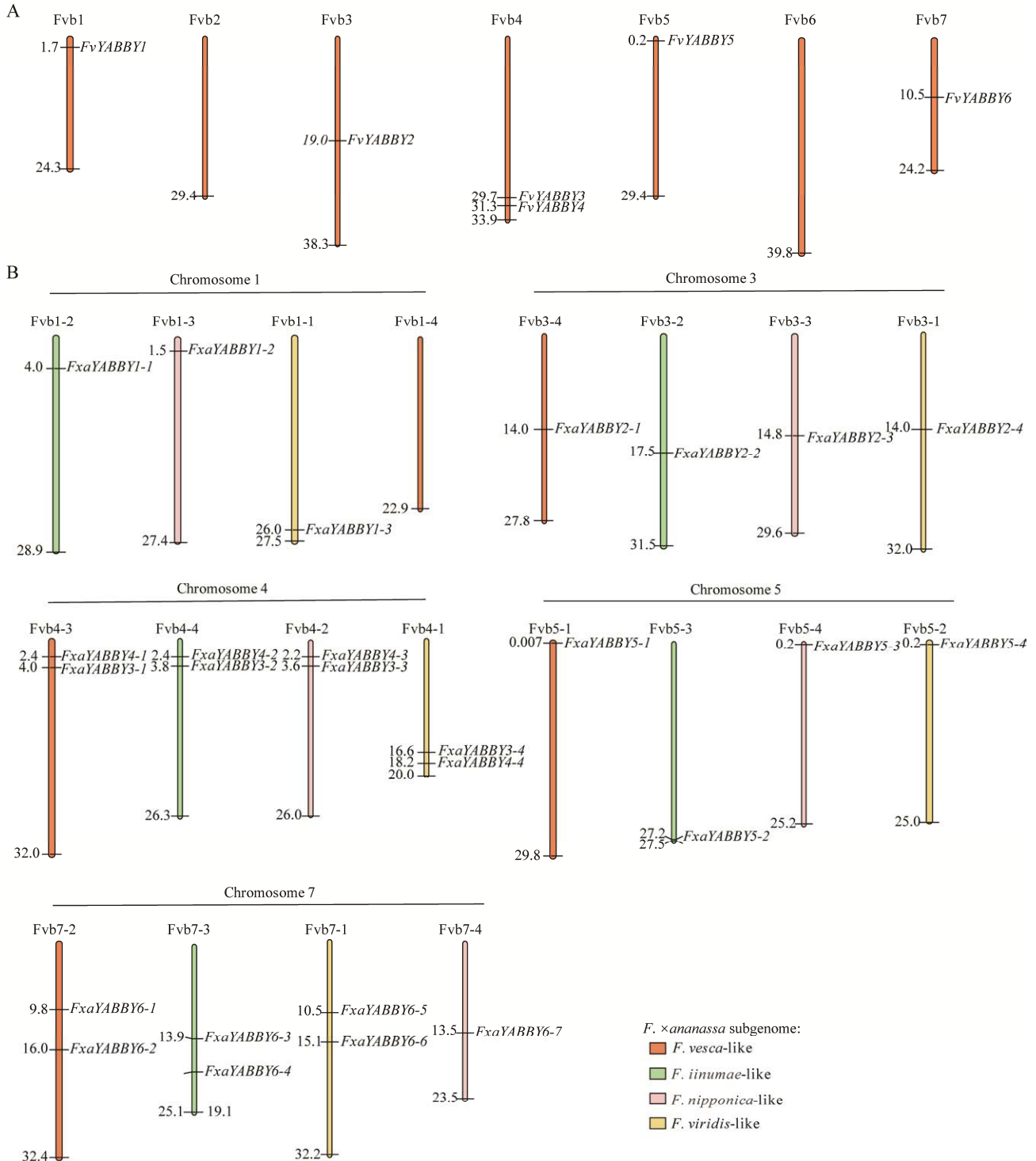
## 2.3 *FvYABBY* 基因家族的进化与共线性分析

为了研究 *FvYABBY* 基因在植物中的进化关系, 将 6 个 *FvYABBYs* 与拟南芥<sup>[2]</sup>、番茄<sup>[4]</sup>、石榴<sup>[5]</sup>和水稻<sup>[8]</sup>等 35 个 *YABBYs* 蛋白构建了系统发育树(图 3A)。这些 *YABBY* 基因与拟南芥的 *FIL/YABBY3*、*YABBY2*、*INO*、*CRC* 和 *YABBY5* 聚类为 5 个不同的分支(图 3A)。有趣的是, *FvYABBY5* 和 *FvYABBY6* 一同聚类在

*FIL/YABBY3* 分支中, 而 *FvYABBY1*、*FvYABBY2*、*FvYABBY3* 和 *FvYABBY4* 则分布在其他 4 个分支中(图 3A), 表明 *FvYABBY5* 和 *FvYABBY6* 在进化过程中关系更为密切。对于 *FvYABBY* 基因家族的基因复制情况, 采用 MCScanX 分析了森林草莓与拟南芥基因组的共线性, 表明 *FvYABBY1* 与 *AtYABBY5*、*FvYABBY3* 与 *CRC*、*FvYABBY4* 与 *INO*、*FvYABBY6* 与 *FIL*、*FvYABBY6* 与 *AtYABBY3* 为 5 对直系同源基因, 而 *FvYABBY5* 与 *FvYABBY6* 为旁系同源基因(图 3B)。

## 2.4 *FvYABBYs* 和 *FxaYABBYs* 基因的组织表达模式

利用森林草莓不同组织的转录组数据<sup>[29]</sup>, 首先分析了 *FvYABBYs* 基因的组织表达模式。如图 4A 所示, 所有 *FvYABBYs* 基因在根和花托基本不表达, *FvYABBY1*、*FvYABBY2*、*FvYABBY5* 和 *FvYABBY6* 在叶、茎、花和瘦果中高表达。其中, 作为旁系同源的 *FvYABBY5* 和 *FvYABBY6* 的表达模式非常相似。*FvYABBY3* 在花药中特异性表达, *FvYABBY4* 仅在瘦果中表达。为了验证基因的组织表达模式, 通过 qRT-PCR 测定了 *FvYABBYs* 基因家族在森林草莓根、茎、叶、花、花托和瘦果等组织中的表达情况, 发现 *FvYABBY2*、*FvYABBY5*、*FvYABBY6* 在叶中表达量相对较低, 而 *FvYABBY3* 和 *FvYABBY4*



**图 1** 草莓 *YABBY* 基因的染色体分布与序列特征

Figure 1 Chromosomal localization and distribution of *YABBY* genes in strawberry. *YABBY* gene family in *Fragaria vesca* (A) and *Fragaria* × *ananassa* (B) genome. Different color of *F. × ananassa* sub-genomes indicates their respective diploid progenitors, namely *F. vesca* (orange), *F. iinumae* (green), *F. nipponica* (pink) and *F. viridis* (yellow). The relative chromosome size is indicated by Mb.

表3 栽培草莓 *FxaYABBYs* 基因的序列特征Table 3 Sequence characteristics of *FxaYABBY* genes in *Fragaria×ananassa*

Name	Accession <sup>a</sup>	Chromosome location	CDS (bp)	Protein (aa)	Isoelectric point	Cell-PLoc
<i>FxaYABBY1-1</i>	FxaC_2g08840	Fvb1-2: 4 029 830–4 033 238	528	175	5.17	Nucleus
<i>FxaYABBY1-2</i>	FxaC_3g03210	Fvb1-3: 1 501 352–1 504 914	501	166	5.17	Nucleus
<i>FxaYABBY1-3</i>	FxaC_4g36960	Fvb1-1: 26 015 659–26 019 068	528	175	5.17	Nucleus
<i>FxaYABBY2-1</i>	FxaC_9g25060	Fvb3-4: 13 966 322–13 971 905	702	233	5.11	Nucleus
<i>FxaYABBY2-2</i>	FxaC_10g29810	Fvb3-2: 17 545 954–17 551 411	708	235	5.11	Nucleus
<i>FxaYABBY2-3</i>	FxaC_11g26110	Fvb3-3: 14 798 075–14 807 212	708	235	5.11	Nucleus
<i>FxaYABBY2-4</i>	FxaC_12g20670	Fvb3-1: 14 003 178–14 008 868	708	235	5.11	Nucleus
<i>FxaYABBY3-1</i>	FxaC_13g09180	Fvb4-3: 4 003 456–4 005 455	561	186	5.14	Nucleus
<i>FxaYABBY3-2</i>	FxaC_14g07850	Fvb4-4: 3 799 105–3 801 173	561	186	5.14	Nucleus
<i>FxaYABBY3-3</i>	FxaC_15g07870	Fvb4-2: 3 647 229–3 649 001	561	186	5.14	Nucleus
<i>FxaYABBY3-4</i>	FxaC_16g24161	Fvb4-1: 16 578 890–16 581 027	561	186	5.14	Nucleus
<i>FxaYABBY4-1</i>	FxaC_13g05330	Fvb4-3: 2 386 703–2 388 786	714	237	5.14	Nucleus
<i>FxaYABBY4-2</i>	FxaC_14g04870	Fvb4-4: 2 398 399–2 400 402	714	237	5.13	Nucleus
<i>FxaYABBY4-3</i>	FxaC_15g04560	Fvb4-2: 2 157 740–2 159 824	792	263	5.11	Nucleus
<i>FxaYABBY4-4</i>	FxaC_16g27480	Fvb4-1: 18 224 036–18 225 868	816	271	5.11	Nucleus
<i>FxaYABBY5-1</i>	FxaC_17g00020	Fvb5-1: 7 426–10 534	699	232	5.09	Nucleus
<i>FxaYABBY5-2</i>	FxaC_18g46260	Fvb5-3: 27 224 474–27 227 605	699	232	5.09	Nucleus
<i>FxaYABBY5-3</i>	FxaC_19g00340	Fvb5-4: 209 505–212 494	693	230	5.10	Nucleus
<i>FxaYABBY5-4</i>	FxaC_20g00220	Fvb5-2: 168 129–171 193	693	230	5.10	Nucleus
<i>FxaYABBY6-1</i>	FxaC_25g16650	Fvb7-2: 9 810 155–9 813 127	654	217	5.11	Nucleus
<i>FxaYABBY6-2</i>	FxaC_25g27880	Fvb7-2: 16 002 181–16 005 162	654	217	5.10	Nucleus
<i>FxaYABBY6-3</i>	FxaC_26g27070	Fvb7-3: 13 942 511–13 945 468	654	217	5.10	Nucleus
<i>FxaYABBY6-4</i>	FxaC_26g34740	Fvb7-3: 19 120 095–19 122 984	471	156	5.16	Nucleus
<i>FxaYABBY6-5</i>	FxaC_27g14020	Fvb7-1: 10 503 610–10 506 502	654	217	5.10	Nucleus
<i>FxaYABBY6-6</i>	FxaC_27g20410	Fvb7-1: 15 110 506–15 113 435	654	217	5.10	Nucleus
<i>FxaYABBY6-7</i>	FxaC_28g26310	Fvb7-4: 13 513 708–13 516 906	657	218	5.10	Nucleus

<sup>a</sup>: Accession of *YABBY* genes in *Fragaria×ananassa* genome v1.0.a2 from GDR (<https://www.rosaceae.org/>).

在花及花柱中表达量较高, 其余结果与 RNA-Seq 数据基本一致(图 4A–4B)。发现 *FvYABBY1*、*FvYABBY2*、*FvYABBY5* 和 *FvYABBY6* 在瘦果中表达量相对较高。

已有的研究表明 *YABBY* 与果实发育密切相关<sup>[4,38-39]</sup>。因此, 利用栽培草莓果实不同发育阶段的转录组数据<sup>[30]</sup>, 进一步分析了 *FxaYABBYs* 基因在草莓果实 4 个时期(绿色期、白色期、转色期、红色期; 图 5A)花托与瘦果中的表达情况(图 5B)。结果显示, 在瘦果发育过程中

*FxaYABBY1*、*FxaYABBY2*、*FxaYABBY5* 和 *FxaYABBY6* 的同源基因均有不同程度的表达, 其中 *FxaYABBY1-1* 到 *FxaYABBY1-3*、*FxaYABBY5-3*、*FxaYABBY5-4*、*FxaYABBY6-6* 和 *FxaYABBY6-7* 高表达, *FxaYABBY6-1*、*FxaYABBY6-2* 和 *FxaYABBY6-5* 低表达, 而推测的假基因 *FxaYABBY6-4* 则不表达; *FxaYABBY3* 和 *FxaYABBY4* 的同源基因则与 *FvYABBY3* 和 *FvYABBY4* 一样基本不表达。花托中所有 *FxaYABBY* 均呈低表达或不表达。



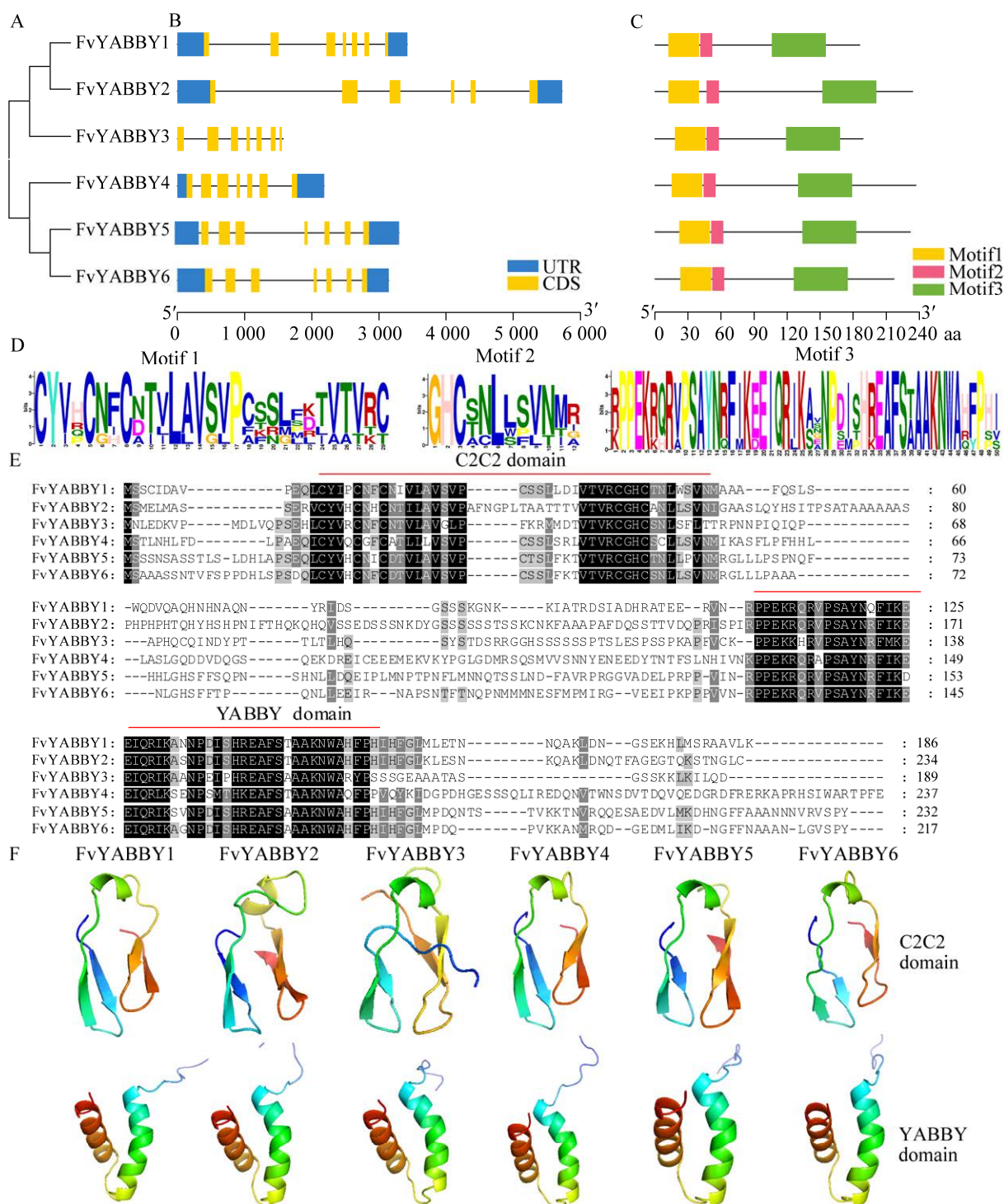


图2 *FvYABBYs* 基因及其编码蛋白的序列特征

Figure 2 Sequence characteristics of *FvYABBY* genes and their encoding proteins. A: Clustering tree of *FvYABBY* proteins. B: Exon and intron structure of genes. Blue box indicates 5'- or 3'- untranslated region (UTR), yellow box represents exon and black line indicates intron. C: Three different conserved motifs of *FvYABBY* proteins. D: Sequence analysis of domain conserved motifs. E: Amino-acid sequence alignment of *FvYABBY* proteins. The conserved domains of C2C2 and YABBY are underlined by red. F: Tertiary structure of C2C2 and YABBY domain predicted by Phyre2.

此外,利用森林草莓的苗期植株材料,在低温、高盐和干旱胁迫下,用 qRT-PCR 测定了 *FvYABBYs* 基因的响应表达(图 6),在这 3 种非生物胁迫下, *FvYABBY1*、*FvYABBY3*、*FvYABBY4*

和 *FvYABBY6* 的表达均下调, *FvYABBY5* 的表达上调, *FvYABBY2* 的表达则先上调、后下调。可见,在不同类型的非生物逆境下,同一个基因的表达响应趋势比较一致。

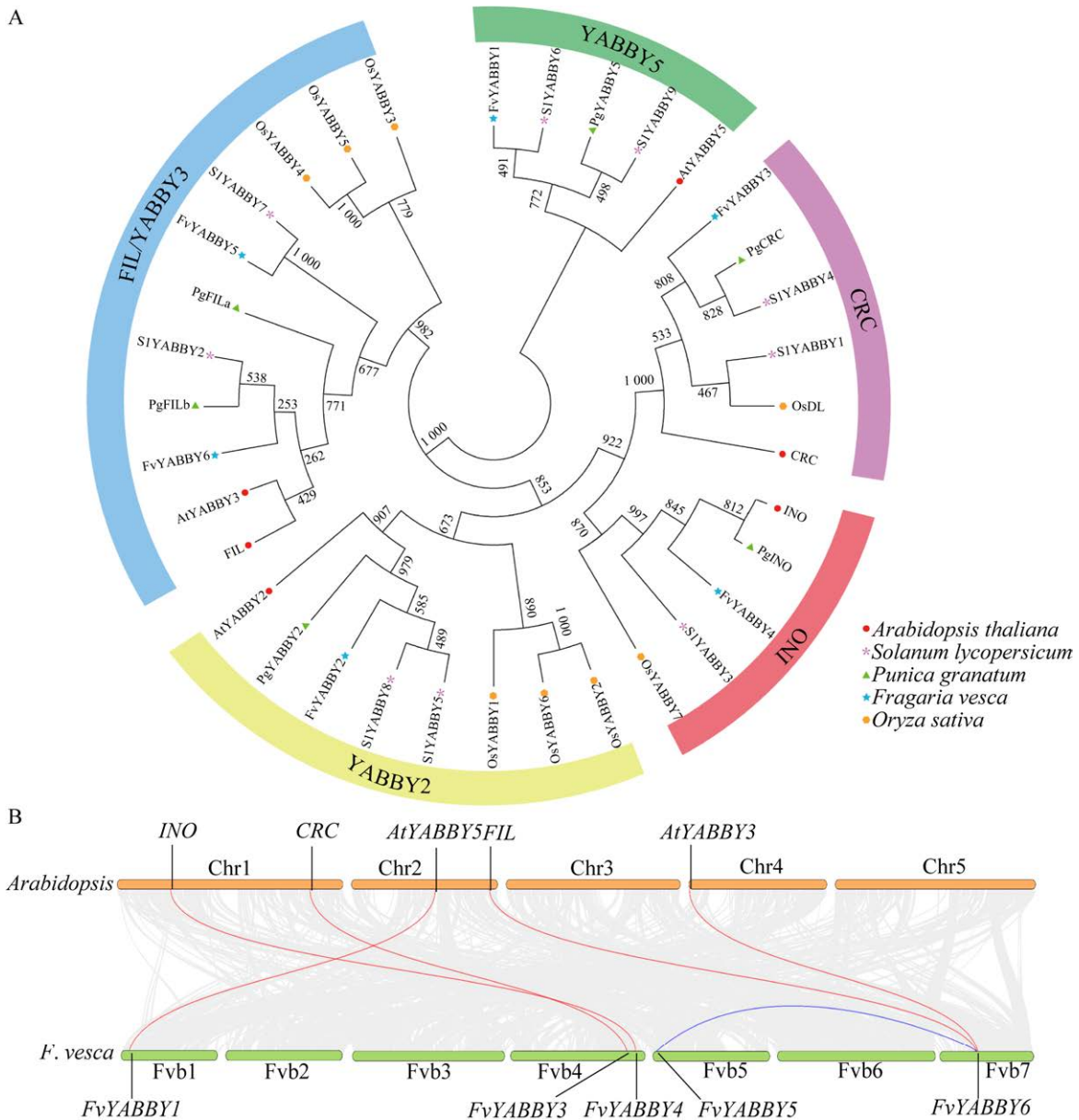


图 3 *FvYABBY* 基因家族的系统发育与共线性分析

Figure 3 Phylogenetic and collinearity analysis of *FvYABBY* gene family. A: Phylogenetic tree of YABBY proteins from *Fragaria vesca*, *Arabidopsis*, *Solanum lycopersicum*, *Punica granatum* and *Oryza sativa*. Five subfamilies (YAB2, CRC, YAB5, FIL/YAB3 and INO) were highlighted in different colors. Numbers in the branches of trees were bootstrap 1 000 values. B: Genomic collinearity of *F. vesca* and *Arabidopsis*. Red lines refer to orthologous genes, and blue lines refer to paralogous genes.

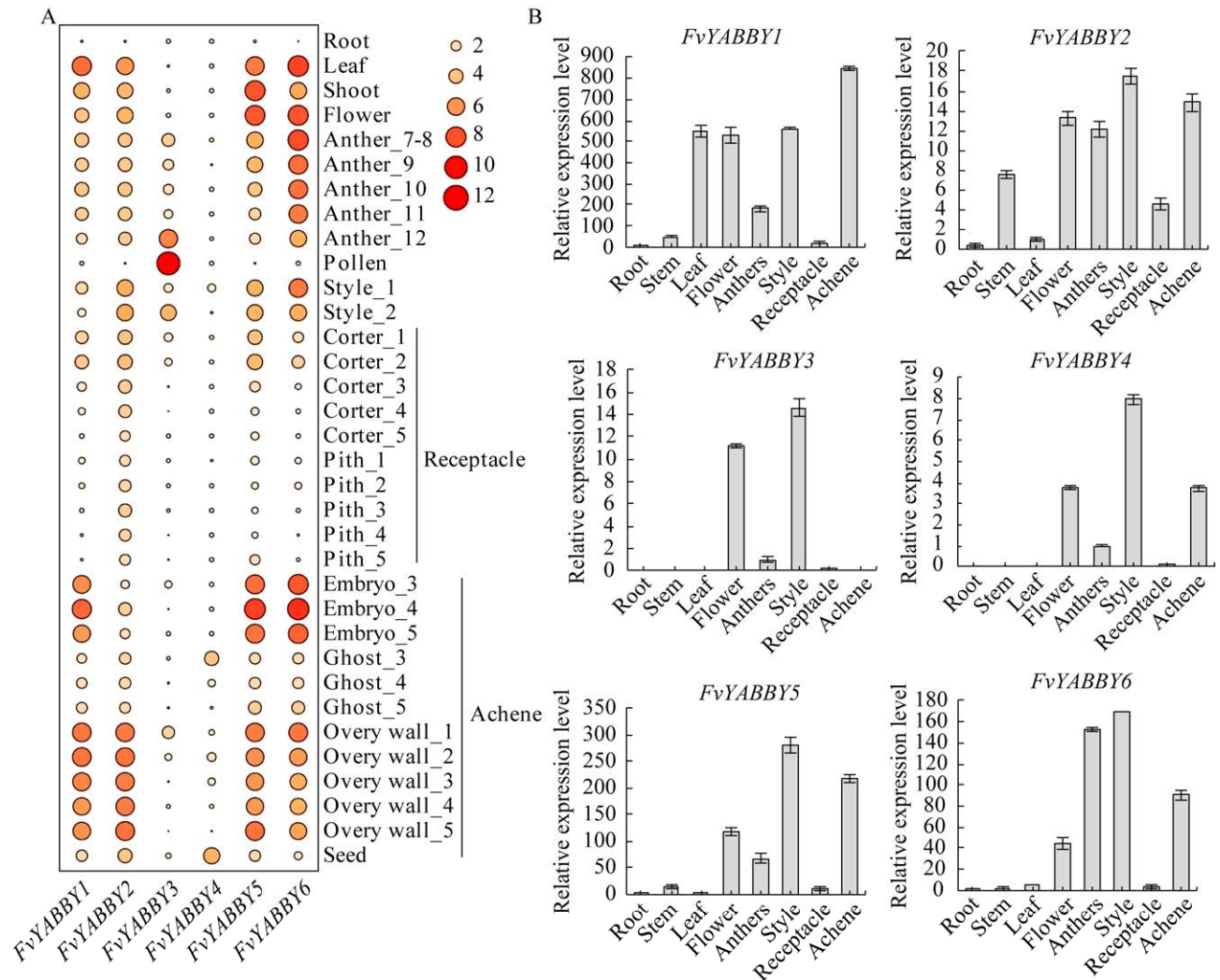


图 4 *FvYABBY* 基因家族的组织表达模式

Figure 4 Tissue expression patterns of *FvYABBY* gene family. A: Expressional heatmap of *FvYABBY* genes based on the RNA-seq data of different tissues of *Fragaria vesca*. B: Expression pattern of the *FvYABBY* genes in different tissues of *F. vesca* by qRT-PCR.

## 2.5 *FvYABBYs* 基因编码蛋白的亚细胞定位

采用 Cell-PLoc 程序对 *FvYABBY* 基因家族成员的编码蛋白进行亚细胞定位预测, 结果显示 6 个蛋白均定位于细胞核内。为了验证这一结果, 采用保真酶 PCR 扩增这 6 个 *FvYABBY* 基因的 CDS, 并分别构建了与 GFP 基因融合表达的载体, 由 CaM35S 强启动子驱动, 在烟草

叶片细胞中进行瞬时表达。结果如图 7 所示, 对照载体(35S::GFP)表达的 GFP 蛋白在整个叶细胞中能检测到绿色荧光信号, 而 GFP 与 *FvYABBYs* 融合表达的蛋白, 绿色荧光信号都集中在细胞核中, 与细胞核的 DAPI 染色的蓝色信号重叠, 证实 *FvYABBYs* 的亚细胞定位确实在细胞核中。



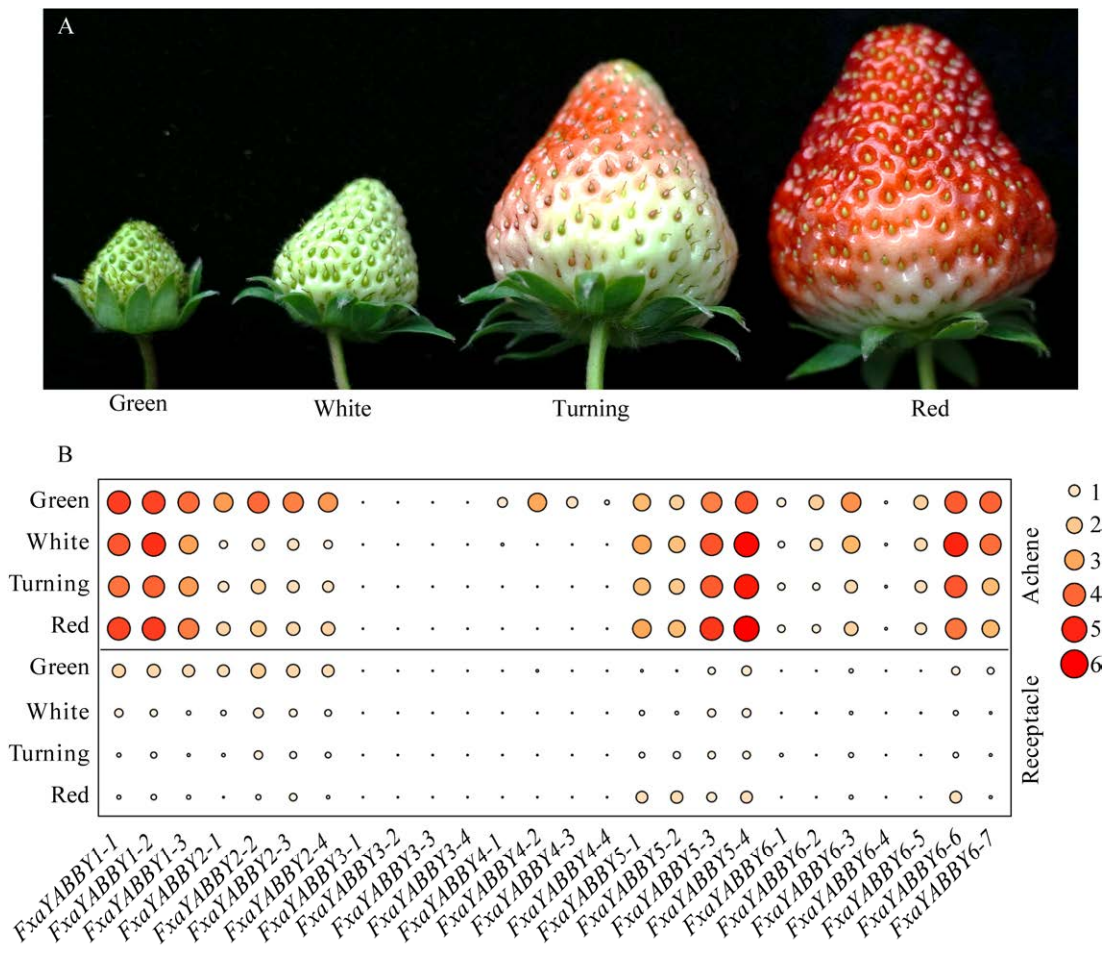


图 5 不同果实发育时期 *FxaYABBY* 基因家族的表达情况

Figure 5 Expression patterns of *FxaYABBY* gene family in fruit different developmental stages. A: The fruit of *Fragaria×ananassa* in different developmental stages as green, white, turning and red. B: Expressional heatmap of *FxaYABBY* genes based on the RNA-Seq data of different developmental stages of achene and receptacle of *F.×ananassa*.

### 3 讨论

本研究在森林草莓(二倍体)和栽培草莓(八倍体)的基因组中分别鉴定到了 6 个 *FvYABBY* 基因(表 2)、26 个 *FxaYABBY* 基因(表 3), 基因数目与草莓中已报道的 *YABBY* 基因数目有一些差异。蔡建法等<sup>[40]</sup>在森林草莓中只鉴定了 5 个 *YABBY* 基因, 缺少了 1 个 *YABBY3* 基因, 可能是他们基于 GDR 数据库的 *FvH4\_4g29650.t1* 转录本, 编码的蛋白含有 UAA 结构域, 属于 UDP-N-

乙酰氨基葡萄糖转运蛋白, 认为不属于 *YABBY* 蛋白而将其排除。Luo 等<sup>[41]</sup>尽管也报道了包括 *FvYABBY3* 的 6 个森林草莓的 *FvYABBY* 基因, 但是他们是基于 *FvH4\_4g29650.t1* 转录本。本研究在森林草莓中发现 *FvYABBY3* 还有另一个可变剪接的转录本 *FvH4\_4g29650.t2*, 其编码蛋白不含 UAA 结构域, 与 *YABBY* 转录因子更加符合。在栽培草莓中, 鉴定出 26 个 *FxaYABBY* 基因, 而 Luo 等<sup>[41]</sup>只报道了 25 个, 少了 1 个 *FxaYABBY6-4* 基因, 该基因编码的蛋白翻译出现了提前截断,

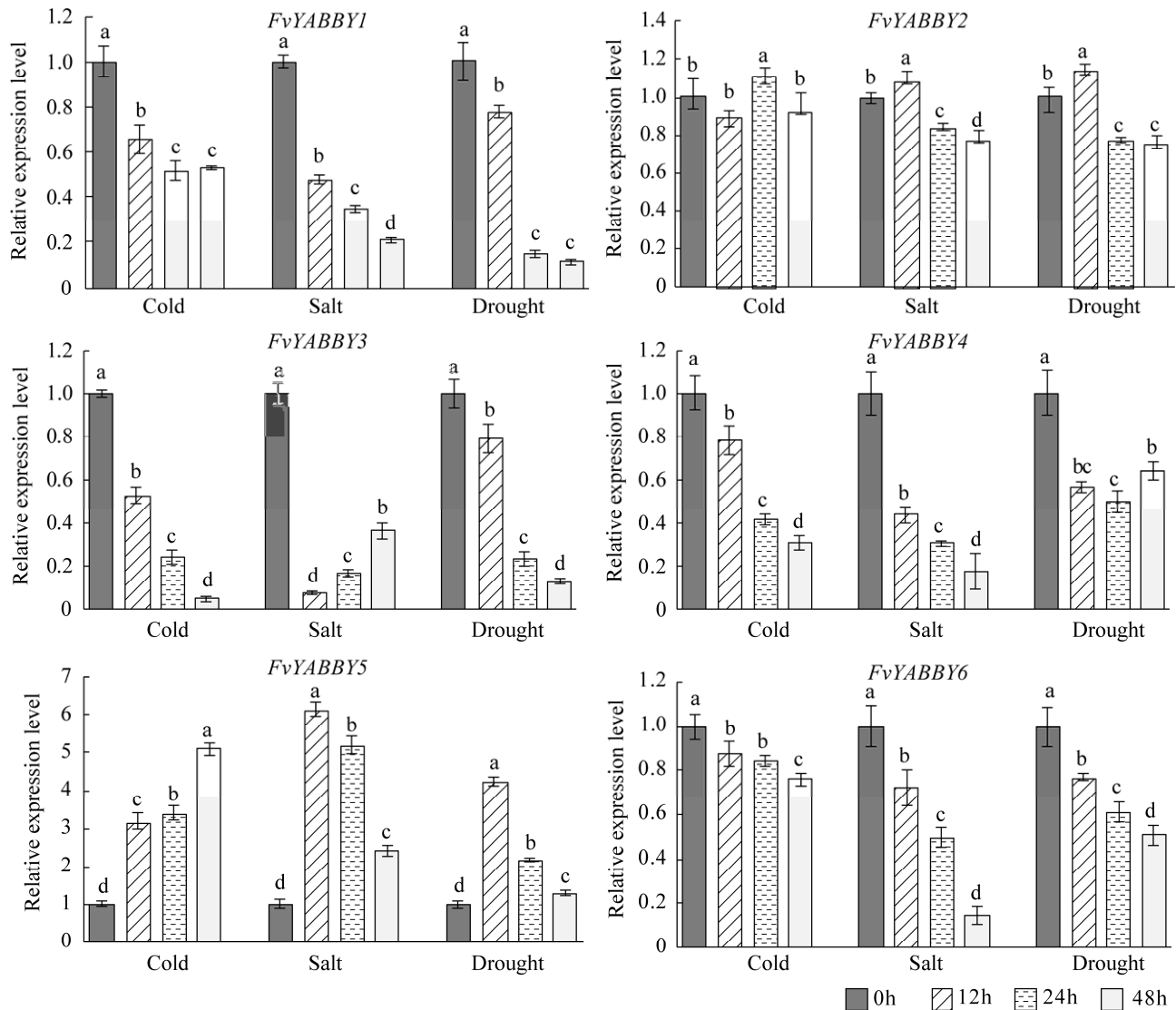


图 6 森林草莓中 *FvYABBYs* 基因在非生物逆境胁迫下的表达情况

Figure 6 Gene expression of *FvYABBY* genes in *Fragaria vesca* under abiotic stresses. Seedlings of *F. vesca* were treated with low temperature (4 °C), high salinity (200 mmol/L NaCl) and drought (20% PEG6000), respectively. Samples were collected at the times of 0, 12, 24 and 48 h after the treatments. Significances ( $P$  value<0.05) were marked with different lowercase letters.

导致其 YABBY 结构域不完整, 推测是一个假基因。一般认为, 假基因是由功能基因通过复制形成的非功能性拷贝, 是功能基因的残余, 被认为是基因组中的“化石”, 对于研究基因家族的进化具有一定的意义, 而且近期的研究表明植物少数假基因也具有表达活性和生物学功能<sup>[42]</sup>。因此, 在基因家族研究中鉴定假基因也具有一定的研究价值。由于栽培草莓是由 2 个野生八倍体祖先

物种弗州草莓(*Fragaria virginiana*)和智利草莓(*Fragaria chiloensis*)种间杂交而成<sup>[43]</sup>, 而这 2 个祖先物种则是由 4 个二倍体草莓 *F. vesca*、*F. iinumae*、*F. nipponica* 和 *F. viridis* 的基因组融合而成<sup>[37]</sup>。因此, 在栽培草莓中, *FvYABBY2*、*FvYABBY3*、*FvYABBY4* 和 *FvYABBY5* 都有 4 个直系同源基因, 而 *FvYABBY1* 的直系同源基因为 3 个, *FvYABBY6* 基因的直系同源基因有 7 个, 表明八倍体草莓的

基因组中少数 *YABBY* 基因出现了部分丢失或复制。有趣的是, 拟南芥也有 6 个 *AtYABBY* 基因, 其中 5 个与 *FvYABBY* 基因存在直系同源关系(图 3B), 但拟南芥的基因组大小为 125 Mb<sup>[44]</sup>, 约是森林草莓基因组(240 Mb)的一半大小<sup>[28]</sup>, 表明

*YABBY* 基因家族在植物进化中非常保守。系统发育树分析也进一步证实了这一观点, 即来自草莓和其他植物的 *YABBYs* 被聚类到 5 个进化分支(图 3A), 正好对应于 *FvYABBY* 和 *AtYABBY* 的 5 个直系同源基因对。

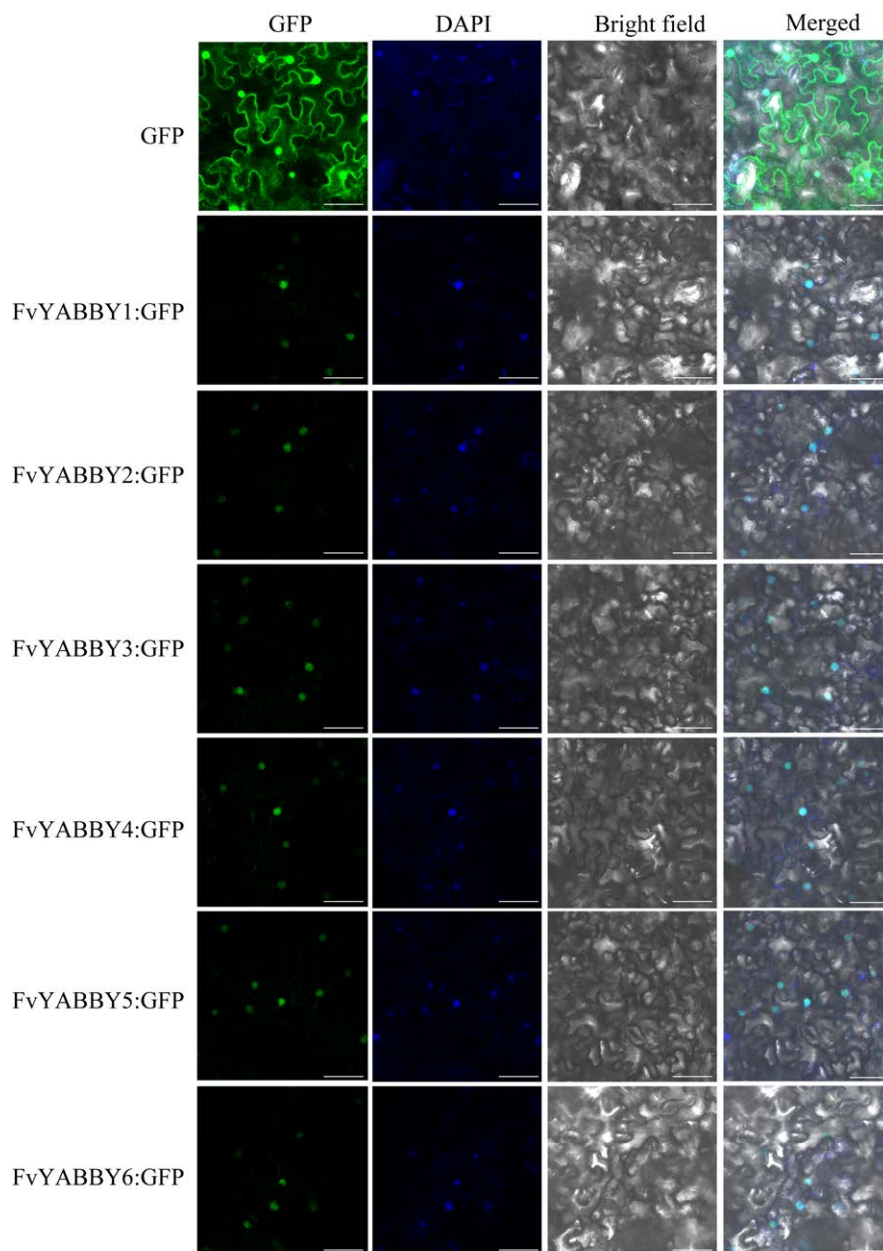


图 7 *FvYABBYs* 基因编码蛋白的亚细胞定位

Figure 7 Subcellular localization of proteins encoded by *FvYABBY* genes. GFP is a control, *FvYABBYs*:GFP are fusion expressed proteins. After the vectors were transiently expressed in tobacco epidermal cells for 48 h, the leaves were stained with DAPI and observed under a confocal microscope. Bars = 50  $\mu$ m.

*YABBY* 基因家族是植物特有的重要转录因子, 实验也证明 *FvYABBYs* 蛋白的亚细胞定位在细胞核中(图 7)。*YABBY* 基因主要参与调节植物侧生器官的发育、叶片极性的建立和叶缘的形成<sup>[45]</sup>。不同物种的直系同源基因被认为具有相似的生物学功能, 而旁系同源基因则可能存在功能冗余<sup>[46]</sup>。研究表明拟南芥 *CRC* 基因在心皮中具有重要功能<sup>[9]</sup>, *INO* 基因在胚珠中发挥作用<sup>[11]</sup>。在森林草莓中, *INO* 与 *CRC* 的直系同源基因分别为 *FvYABBY3* 和 *FvYABBY4*, 其中 *FvYABBY3* 在花中表达, 而 *FvYABBY4* 在花和瘦果中表达(图 4B), 推测可能具有类似 *INO* 与 *CRC* 的生物学功能。拟南芥 *FIL* (*AtYABBY1*)、*AtYABBY2*、*AtYABBY3*、*AtYABBY5* 在叶片和叶衍生的器官(即子叶、萼片、花瓣、雄蕊和心皮)中表达, 可以调节叶片的发育以及促使顶端分生组织分化为叶原基和花器官<sup>[2]</sup>。森林草莓中 *FvYABBY1* 与 *FvYABBY2*、*FvYABBY5*、*FvYABBY6* 分别与拟南芥 *AtYABBY5*、*AtYABBY2*、*FIL/AtYABBY3* 直系同源, 在叶、枝、花和果实中高度表达(图 4A), 其中 *FvYABBY5* 和 *FvYABBY6* 为旁系同源基因, 且聚在同一进化分支上, 处于同一分支的拟南芥 *FIL* 和 *AtYABBY3* 存在功能冗余现象<sup>[2]</sup>。本研究发现 *FvYABBY5* 和 *FvYABBY6* 的组织表达模式非常相似(图 4A-4B), 但是在非生物胁迫下的表达情况却刚好相反, 说明这 2 个基因可能分别响应不同的环境, 这很可能是另一种方式上的分化。qRT-PCR 与转录组数据略有不同, 比如 *FvYABBY2*、*FvYABBY5* 及 *FvYABBY6* 在叶中的表达量较低, 另外 *FvYABBY3* 和 *FvYABBY4* 在生殖器官组织中存在差异, 如 *FvYABBY3* 和 *FvYABBY4* 在花中的表达水平较高, *FvYABBY3* 在花药中表达过低, 这很可能是由测序和 qRT-PCR 样本差异和公开数据的批次效应造成的。栽培草莓果实不同发育时期的组织表达显

示, *FxaYABBYs* 基因的表达模式也与森林草莓对应的 *FvYABBYs* 直系同源基因相似(图 5B), 同源的 4 个基因拷贝大部分表达模式相似, 少数亦有分化。植物对非生物胁迫的反应是一个复杂的过程, 受不同的分子和细胞途径调控。*YABBY* 基因还参与植物对非生物胁迫的响应。如大豆 *GmYABBY10* 对干旱和盐胁迫非常敏感<sup>[47]</sup>; 陆地棉中多数 *YABBY* 基因在干旱及盐胁迫下表达也会显著下调<sup>[3]</sup>; 番茄 *SlYABBY5* 的表达明显受到低温胁迫的抑制<sup>[48]</sup>。本研究发现森林草莓中 *FvYABBYs* 基因在低温、高盐和干旱等胁迫下表达模式存在差异(图 6), 在应对非生物胁迫方面可能发挥着重要作用。例如 *FvYABBY1*、*FvYABBY3*、*FvYABBY4* 和 *FvYABBY6* 的表达明显受到抑制, 说明在胁迫条件下这些 *FvYABBYs* 可能与植物生长发育的停滞有关。Luo 等<sup>[41]</sup>发现森林草莓生长 28 d 的幼苗受到冷胁迫后, *FvYABBY1* 表达先上调、后下降, 而本研究中显示 40 d 的幼苗中 *FvYABBY1* 表达受到抑制, 推测森林草莓不同时期生长阶段对低温的应答有所不同。*FvYABBY5* 的表达在低温、高盐和干旱胁迫下上调, 表明 *FvYABBY5* 可能积极参与环境胁迫响应。而 *FvYABBY2* 只在受到胁迫后某一时间上调表达, 最终表达量低于对照组, 说明 *FvYABBY2* 可能在胁迫早期起作用。这些研究结果为后续草莓 *YABBY* 基因的功能研究奠定了一定的基础。

## REFERENCES

- [1] GOLZ JF, HUDSON A. Plant development: *YABBYs* claw to the fore[J]. *Current Biology*, 1999, 9(22): R861-R863.
- [2] SIEGFRIED KR, ESHED Y, BAUM SF, OTSUGA D, DREWS GN, BOWMAN JL. Members of the *YABBY* gene family specify abaxial cell fate in *Arabidopsis*[J]. *Development* (Cambridge, England), 1999, 126(18): 4117-4128.

- [3] YANG ZE, GONG Q, WANG LL, JIN YY, XI JP, LI Z, QIN WQ, YANG ZR, LU LL, CHEN QJ, LI FG. Genome-wide study of *YABBY* genes in upland cotton and their expression patterns under different stresses[J]. *Frontiers in Genetics*, 2018, 9: 33.
- [4] HAN HQ, LIU Y, JIANG MM, GE HY, CHEN HY. Identification and expression analysis of *YABBY* family genes associated with fruit shape in tomato (*Solanum lycopersicum* L.)[J]. *Genetics and Molecular Research*, 2015, 14(2): 7079-7091.
- [5] ZHAO YJ, LIU CY, GE DP, YAN M, REN Y, HUANG XB, YUAN ZH. Genome-wide identification and expression of *YABBY* genes family during flower development in *Punica granatum* L.[J]. *Gene*, 2020, 119: 132-146.
- [6] 张鸿韬, 肖小虎, 阳江华, 秦云霞, 龙翔宇, 殷红彦, 方永军. 巴西橡胶树 *YABBY* 基因家族鉴定及表达分析[J]. *热带作物学报*, 2022, 43(11): 2188-2198.
- ZHANG HT, XIAO XH, YANG JH, QIN YX, LONG XY, YIN HY, FANG YJ. Identification and expression analysis of *YABBY* gene family in *Hevea brasiliensis*[J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2022, 43(11): 2188-2198 (in Chinese).
- [7] 邵红霞, 陈鸿飞, 张东, 吴海芹, 赵彩平, 韩明玉. 苹果 *YABBY* 基因家族的鉴定、进化及表达分析[J]. *浙江农业学报*, 2017, 29(7): 1129-1138.
- SHAO HX, CHEN HF, ZHANG D, WU HQ, ZHAO CP, HAN MY. Identification, evolution and expression analysis of the *YABBY* gene family in apple (*Malus domestica* Borkh.)[J]. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 2017, 29(7): 1129-1138 (in Chinese).
- [8] YAMAGUCHI T, NAGASAWA N, KAWASAKI S, MATSUOKA M, NAGATO Y, HIRANO HY. The *YABBY* gene *DROOPING LEAF* regulates carpel specification and midrib development in *Oryza sativa*[J]. *The Plant Cell*, 2004, 16(2): 500-509.
- [9] BOWMAN JL, SMYTH DR. CRABS CLAW, a gene that regulates carpel and nectary development in *Arabidopsis*, encodes a novel protein with zinc finger and helix-loop-helix domains[J]. *Development* (Cambridge, England), 1999, 126(11): 2387-2396.
- [10] SAWA S, WATANABE K, GOTO K, LIU YG, SHIBATA D, KANAYA E, MORITA EH, OKADA K. FILAMENTOUS FLOWER, a meristem and organ identity gene of *Arabidopsis*, encodes a protein with a zinc finger and HMG-related domains[J]. *Genes & Development*, 1999, 13(9): 1079-1088.
- [11] VILLANUEVA JM, BROADHVEST J, HAUSER BA, MEISTER RJ, SCHNEITZ K, GASSER CS. INNER NO OUTER regulates abaxial- adaxial patterning in *Arabidopsis* ovules[J]. *Genes & Development*, 1999, 13(23): 3160-3169.
- [12] ALVAREZ J, SMYTH DR. CRABS CLAW and SPATULA, two *Arabidopsis* genes that control carpel development in parallel with *AGAMOUS*[J]. *Development* (Cambridge, England), 1999, 126(11): 2377-2386.
- [13] GROSS T, BROHOLM S, BECKER A. CRABS CLAW acts as a bifunctional transcription factor in flower development[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2018, 9: 835.
- [14] MCKIM SM, STENVIK GE, BUTENKO MA, KRISTIANSEN W, CHO SK, HEPWORTH SR, AALEN RB, HAUGHN GW. The *BLADE-ON-PETIOLE* genes are essential for abscission zone formation in *Arabidopsis*[J]. *Development*, 2008, 135(8): 1537-1546.
- [15] CHEN QY, ATKINSON A, OTSUGA D, CHRISTENSEN T, REYNOLDS L, DREWS GN. The *Arabidopsis* *FILAMENTOUS FLOWER* gene is required for flower formation[J]. *Development* (Cambridge, England), 1999, 126(12): 2715-2726.
- [16] SAROJAM R, SAPPL PG, GOLDSHMIDT A, EFRONI I, FLOYD SK, ESHED Y, BOWMAN JL. Differentiating *Arabidopsis* shoots from leaves by combined *YABBY* activities[J]. *The Plant Cell*, 2010, 22(7): 2113-2130.
- [17] DU F, GUAN CM, JIAO YL. Molecular mechanisms of leaf morphogenesis[J]. *Molecular Plant*, 2018, 11(9): 1117-1134.
- [18] STAHL MI, KUEHLICH J, STARON L, von ARNIM AG, GOLZ JF. *YABBYs* and the transcriptional corepressors LEUNIG and LEUNIG\_HOMOLOG maintain leaf polarity and meristem activity in *Arabidopsis*[J]. *The Plant Cell*, 2009, 21(10): 3105-3118.
- [19] SUN L, WEI YQ, WU KH, YAN JY, XU JN, WU YR, LI GX, XU JM, HARBERD NP, DING ZJ, ZHENG SJ. Restriction of iron loading into developing seeds by a *YABBY* transcription factor safeguards successful reproduction in *Arabidopsis*[J]. *Molecular Plant*, 2021, 14(10): 1624-1639.
- [20] SIMON MK, SKINNER DJ, GALLAGHER TL, GASSER CS. Integument development in *Arabidopsis* depends on interaction of *YABBY* protein INNER NO OUTER with coactivators and corepressors[J]. *Genetics*, 2017, 207(4): 1489-1500.
- [21] TORIBA T, HARADA K, TAKAMURA A, NAKAMURA H, ICHIKAWA H, SUZAKI T, HIRANO HY. Molecular characterization the *YABBY* gene family in *Oryza sativa* and expression analysis of *OsYABBY1*[J].



- Molecular Genetics and Genomics, 2007, 277(5): 457-468.
- [22] DAI MQ, ZHAO Y, MA Q, HU YF, HEDDEN P, ZHANG QF, ZHOU DX. The rice *YABBY1* gene is involved in the feedback regulation of gibberellin metabolism[J]. Plant Physiology, 2007, 144: 121-133.
- [23] LIN ZW, LI XR, SHANNON LM, YEH CT, WANG ML, BAI GH, PENG Z, LI JR, TRICK HN, CLEMENTE TE, DOEBLEY J, SCHNABLE PS, TUINSTRAN MR, TESSO TT, WHITE F, YU JM. Parallel domestication of the *Shattering1* genes in cereals[J]. Nature Genetics, 2012, 44(6): 720-724.
- [24] LIU HL, XU YY, XU ZH, CHONG K. A rice *YABBY* gene, *OsYABBY4*, preferentially expresses in developing vascular tissue[J]. Development Genes and Evolution, 2007, 217(9): 629-637.
- [25] TANAKA W, TORIBA T, OHMORI Y, YOSHIDA A, KAWAI A, MAYAMA-TSUCHIDA T, ICHIKAWA H, MITSUDA N, OHME-TAKAGI M, HIRANO HY. The *YABBY* gene *TONGARI-BOUSHII* is involved in lateral organ development and maintenance of meristem organization in the rice spikelet[J]. The Plant Cell, 2012, 24(1): 80-95.
- [26] LIU XF, NING K, CHE G, YAN SS, HAN LJ, GU R, LI Z, WENG YQ, ZHANG XL. CsSPL functions as an adaptor between HD-ZIP III and CsWUS transcription factors regulating anther and ovule development in *Cucumis sativus* (cucumber)[J]. The Plant Journal, 2018, 94(3): 535-547.
- [27] 徐珍珍, 倪万潮, 张香桂, 郭琪, 徐鹏, 沈新莲. 棉花 *YABBY* 基因家族的全基因组分析[J]. 生物技术通报, 2015, 31(11): 146-152.
- XU ZZ, NI WC, ZHANG XG, GUO Q, XU P, SHEN XL. Genome-wide analysis of the *YABBY* gene family in cotton[J]. Biotechnology Bulletin, 2015, 31(11): 146-152 (in Chinese).
- [28] EDGER PP, VANBUREN R, COLLE M, POORTEN TJ, WAI CM, NIEDERHUTH CE, ALGER EI, OU SJ, ACHARYA CB, WANG J, CALLOW P, MCKAIN MR, SHI JH, COLLIER C, XIONG ZY, MOWER JP, SLOVIN JP, HYTÖNEN T, JIANG N, CHILDS KL, KNAPP SJ. Single-molecule sequencing and optical mapping yields an improved genome of woodland strawberry (*Fragaria vesca*) with chromosome-scale contiguity[J]. GigaScience, 2018, 7(2): gix124.
- [29] 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.
- [30] LIU TJ, LI MZ, LIU ZC, AI XY, LI YP. Reannotation of the cultivated strawberry genome and establishment of a strawberry genome database[J]. Horticulture Research, 2021, 8: 41.
- [31] MAO JX, WANG Y, WANG BT, LI JQ, ZHANG C, ZHANG WH, LI X, LI J, ZHANG JX, LI H, ZHANG ZH. High-quality haplotype-resolved genome assembly of cultivated octoploid strawberry[J]. Horticulture Research, 2023, 10: uhad002.
- [32] CHEN CJ, CHEN H, ZHANG Y, THOMAS HR, FRANK MH, HE YH, XIA R. TBtools: an integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data[J]. Molecular Plant, 2020, 13(8): 1194-1202.
- [33] 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.
- [34] LIVAK KJ, SCHMITTGEN TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta CT}$  method[J]. Methods, 2001, 25(4): 402-408.
- [35] BLECKMANN A, WEIDTKAMP-PETERS S, SEIDEL CAM, SIMON R. Stem cell signaling in *Arabidopsis* requires CRN to localize CLV2 to the plasma membrane[J]. Plant Physiology, 2009, 152(1): 166-176.
- [36] LIU XX, LIU H, HE JJ, ZHANG SY, HAN H, WANG ZY, LIU WC, LIANG YK, GAO ZY. RIN13-mediated disease resistance depends on the SNC1-EDS1/PAD4 signaling pathway in *Arabidopsis*[J]. Journal of Experimental Botany, 2020, 71(22): 7393-7404.
- [37] NJUGUNA W, LISTON A, CRONN R, ASHMAN TL, BASSIL N. Insights into phylogeny, sex function and age of *Fragaria* based on whole chloroplast genome sequencing[J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2013, 66(1): 17-29.
- [38] CONG B, BARRERO LS, TANKSLEY SD. Regulatory change in *YABBY*-like transcription factor led to evolution of extreme fruit size during tomato domestication[J]. Nature Genetics, 2008, 40(6): 800-804.
- [39] ZHANG SL, WANG L, SUN XM, LI YD, YAO J, VAN NOCKER S, WANG XP. Genome-wide analysis of the *YABBY* gene family in grapevine and functional characterization of *VvYABBY4*[J]. Frontiers in Plant Science, 2019, 10: 1207.
- [40] 蔡建法, 莫雪莲, 管思聪, 陈栩, 薛程. 草莓 *FvYABBY5.1* 表达特性和功能分析[J]. 园艺学报, 2022, 49(7): 1458-1472.

- CAI JF, MO XL, GUAN SC, CHEN X, XUE C. Expression characteristics and functional analysis of strawberry *FvYABBY5.1*[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2022, 49(7): 1458-1472 (in Chinese).
- [41] LUO JH, ZHOU Y, PAN QW, MU Q, GU TT. Characterization of *YABBY* genes and the correlation between their transcript levels and histone modifications in strawberry[J]. *Scientia Horticulturae*, 2022, 295: 110815.
- [42] XU YC, NIU XM, LI XX, HE WR, CHEN JF, ZOU YP, WU Q, ZHANG YE, BUSCH W, GUO YL. Adaptation and phenotypic diversification in *Arabidopsis* through loss-of-function mutations in protein-coding genes[J]. *The Plant Cell*, 2019, 31(5): 1012-1025.
- [43] EDGER PP, POORTEN TJ, VANBUREN R, HARDIGAN MA, COLLE M, MCKAIN MR, SMITH RD, TERESI SJ, NELSON ADL, WAI CM, ALGER EI, BIRD KA, YOCCA AE, PUMPLIN N, OU SJ, BEN-ZVI G, BRODT A, BARUCH K, SWALE T, SHIUE L, et al. Origin and evolution of the octoploid strawberry genome[J]. *Nature Genetics*, 2019, 51(3): 541-547.
- [44] INITIATIVE TAG. Analysis of the genome sequence of the flowering plant *Arabidopsis thaliana*[J]. *Nature*, 2000, 408(6814): 796-815.
- [45] FINET C, FLOYD SK, CONWAY SJ, ZHONG BJ, SCUTT CP, BOWMAN JL. Evolution of the *YABBY* gene family in seed plants[J]. *Evolution & Development*, 2016, 18(2): 116-126.
- [46] 闫晨阳, 陈赢男. 4种模式植物 LRR VIII-2 亚家族基因的鉴定和进化历史分析[J]. *植物学报*, 2020, 55(4): 442-456.
- YAN CY, CHEN YN. Identification and evolution of LRR VIII-2 subfamily genes in four model plant species[J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2020, 55(4): 442-456 (in Chinese).
- [47] ZHAO SP, LU D, YU TF, JI YJ, ZHENG WJ, ZHANG SX, CHAI SC, CHEN ZY, CUI XY. Genome-wide analysis of the *YABBY* family in soybean and functional identification of *GmYABBY10* involvement in high salt and drought stresses[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2017, 119: 132-146.
- [48] 王苏苏. 番茄 *YABBY* 家族转录因子的克隆、表达模式分析及其功能研究[D]. 重庆: 重庆大学硕士学位论文, 2014.
- WANG SS. Cloning, expression pattern analysis and functional study of tomato *YABBY* family transcription factors[D]. Chongqing: Master's Thesis of Chongqing University, 2014 (in Chinese).

(本文责编 郝丽芳)