

西瓜 *TALE* 基因家族鉴定及表达分析

陈筱瑶¹, 冯梦娇¹, 黄欣¹, 张瑞青¹, 代雪¹, 王家发¹,
张显¹, 李军华², 霍治邦², 魏春华¹

(1. 西北农林科技大学园艺学院 陕西杨凌 712100; 2. 开封市农林科学研究院 河南开封 475004)

摘要: *TALE* 基因家族在调控花器官发育、花分生组织形成、器官形态发生、果实发育、植物非生物胁迫响应及激素响应中发挥重要作用。利用生物信息学的方法鉴定了西瓜 *TALE* 基因家族成员, 并分析了其基因结构、系统发育树、保守基序、顺式作用元件、组织特异性表达, 以及低温胁迫和干旱胁迫后基因的表达情况, 为西瓜 *TALE* 基因家族的功能研究和利用提供了理论依据。结果表明, 西瓜 *TALE* 基因家族共包含 19 个成员。系统发育分析将 *CITALE* 家族分为 BEL1-like 和 KNOX 两个亚家族, KNOX 亚家族又可进一步划分为两个分支 Class I 和 Class II。顺式作用元件分析表明, *CITALE* 基因的启动子中富含光、植物激素和非生物胁迫响应的顺式元件, 其中光响应元件最多。西瓜组织特异性表达分析表明, *CIBLH09* 在根中高表达, *CIBLH01* 在卷须、雌花和雄花中高表达, 因此西瓜 *TALE* 基因家族可能参与了西瓜的生长发育过程。低温胁迫(0、3、6、12、24、36 和 48 h)和干旱胁迫(0、1、2、3、4、5、6、7 和 8 d)不同时间后基因的表达分析表明, *CIBLH08* 和 *CIKN02* 在低温胁迫下呈现上调趋势, *CIBLH04* 和 *CIBLH05* 在干旱胁迫下呈上调的趋势, 因此西瓜 *TALE* 基因家族可能在低温胁迫和干旱胁迫中发挥作用。

关键词: 西瓜; *TALE* 基因家族; 生物信息学; 表达分析

中图分类号: S651

文献标志码: A

文章编号: 1673-2871(2024)10-018-12

Identification and expression analysis of *TALE* gene family in watermelon

CHEN Xiaoyao¹, FENG Mengjiao¹, HUANG Xin¹, ZHANG Ruiqing¹, DAI Xue¹, WANG Jiafa¹,
ZHANG Xian¹, LI Junhua², HUO Zhibang², WEI Chunhua¹

(1. College of Horticulture, Northwest A&F University, Yangling 712100, Shaanxi, China; 2. Kaifeng Academy of Agriculture and Forestry, Kaifeng 475004, Henan, China)

Abstract: The *TALE* gene family plays a pivotal role in regulating various aspects of plant growth and development, including floral organ development, floral meristem formation, organ morphogenesis, and fruit development, as well as mediating plant responses to abiotic stress and hormone signals. This study utilized bioinformatics methods to identify members of the *TALE* gene family in watermelon and conducted a comprehensive analysis of their gene structure, phylogenetic relationships, conserved motifs, *cis*-acting elements, tissue-specific expression patterns, and gene expression profiles under low temperature and drought stress conditions. This analysis provides a theoretical foundation for further functional studies and utilization of the *TALE* gene family in watermelon. The results revealed that the watermelon *TALE* gene family consists of a total of 19 members. Phylogenetic analysis classified the *CITALE* family into two distinct subfamilies: BEL1-like and KNOX, with the KNOX subfamily further subdivided into two classes, Class I and Class II. *Cis*-acting element analysis demonstrated that the promoters of *CITALE* genes are enriched in *cis*-elements that respond to light, plant hormones, and abiotic stresses, with light-responsive elements being the most prevalent. Tissue-specific expression analysis in watermelon indicated that *CIBLH09* is highly expressed in roots, while *CIBLH01* exhibits high expression levels in tendrils, female flowers, and male flowers, implying that the watermelon *TALE* gene family may be involved in the growth and development of watermelon. Gene expression analysis at various time points under low tem-

收稿日期: 2024-02-21; 修回日期: 2024-08-13

基金项目: 西北农林科技大学种业创新专项(2452022116); 现代农业产业技术体系建设专项(CARS-25); 杨凌种业创新中心重点研发项目(Ylzy-sc-01)

作者简介: 陈筱瑶, 女, 在读硕士研究生, 研究方向为蔬菜育种与生物技术。E-mail: 1173538169@qq.com

通信作者: 霍治邦, 男, 研究员, 研究方向为西瓜育种。E-mail: huozhibang@163.com

魏春华, 男, 副教授, 研究方向为蔬菜育种与生物技术。E-mail: xjwend020405@nwafu.edu.cn

perature stress (0, 3, 6, 12, 24, 36, and 48 h) and drought stress (0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, and 8 d) revealed that *CIBLH08* and *CIKNO2* exhibited an upward trend in expression under low temperature stress, while *CIBLH04* and *CIBLH05* showed an upward trend under drought stress. These findings suggested that the watermelon *TALE* gene family may play a significant role in mediating responses to low temperature and drought stress.

Key words: Watermelon; *TALE* gene family; Bioinformatics; Expression analysis

同源异型盒基因是一类在植物生长发育过程中扮演重要角色的转录调控因子。早期研究将植物的同源异型盒基因分为 11 个类别,其中包括 HD- ZIP、WOX、NDX、PHD、PLINC、LD、DDT、SAWADEE、PINTOX、KNOX 和 BEL1-like^[1]。根据蛋白序列和进化关系的分析结果,BELL 和 KNOX 被归类为 *TALE* 基因家族^[2-3]。重要的是,KNOX 和 BEL1-like 同源盒结构可以通过 3 个额外的氨基酸残基进行环状连接,形成了三氨基酸环延伸 (TALE) 超级家族同源盒结构。这种结构对调控植物多样化生物过程至关重要^[4-6]。*TALE* 基因家族在调节植物生长发育^[7-10]、调控孢子体程序^[11]、植物分生组织的形成^[2]以及器官形态^[12]、器官位置^[13]、激素调节^[14]、信号转导^[15]和块茎形成的维持^[16]等方面发挥着至关重要的作用。研究表明,BEL1-like 蛋白和 KNOX 蛋白是两类参与植物发育的关键蛋白,BELL 和 KNOX 蛋白质可以特异性地相互识别并结合形成 BELL-KNOX 异源二聚体^[17],这对两种转录因子蛋白的核定位和结合靶基因的活性至关重要^[18-19]。BEL1-like 蛋白质含有 1 个称为 Homeodomain (也称为 Homeobox) 的结构域,该结构域与 Homeobox_KN 结构域共享序列。此外,它还包含 1 个由 SKY 和 BEL1 区域组成的 POX 结构域 (也称为 MID)。BELL 在胚珠发育、叶片发育和果实发育中起重要作用^[20-21]。研究发现,BELL 蛋白 ATH1 会对开花位点 *C(FLC)* 的表达产生影响,导致花朵生成受阻^[22]。相反地,BLH3 和 BLH6 则被识别为花朵发育的促进因子。当 BLH6 的表达水平升高时,花朵的开放时间会推迟,而当 BLH3 的表达水平升高时,花朵的开放时间则会提前^[23]。此外,现有研究表明,PNY 和 ATH1 之间的相互影响对开花产生一定的抑制作用,而 PNF 和 ATH1 之间的相互影响则呈现相反的效果^[24]。*KNOX* 基因家族包括 *KNOX1*、*KNOX2*、*ELK* 和同源域,除了 1 个不含同源域的基因 *KNATM*^[25-26]。其中,*KNOX1* 和 *KNOX2* 是 MEINOX 结构域的 2 个子域,而 MEINOX 结构域则是介导 KNOX 或 BEL1-like 蛋白与其他蛋白相互作用的关键。研究表明,*KNOX1* 在分生组织的发育和维持中具有重要作用;而 *KNOX2* 则参与调

节植物细胞壁的次生长,对根、茎、种皮和心材的发育具有至关重要的调节作用^[27-30]。

TALE 基因家族不仅在调节植物生长发育中起重要作用,而且在植物胁迫中也起作用。例如,GmBHL4 蛋白与 gmshb1 蛋白异源二聚体,调控大豆对于旱、高温和湿度胁迫的响应^[31]。后来对大豆 *TALE* 基因家族的研究表明,*TALE* 基因可能在应对非生物胁迫中发挥作用,并有助于大豆抗盐和脱水胁迫的遗传改良^[32]。杨树 35 个 *TALE* 基因中,约有 1/3 的基因响应盐胁迫^[33]。小麦 *TALE* 基因家族中的 *TaKNOXII-A* 增强了拟南芥的耐旱性和耐盐性。*TaKNOXII-A* 过表达的植物丙二醛含量降低,脯氨酸含量增加,使植物更好地适应不利环境^[34]。

笔者利用西瓜种质 M08 (果皮有清晰条纹的品种) 研究 *TALE* 基因在西瓜中的功能和调控机制,有助于调控西瓜的生长模式和花果发育。西瓜基因组数据的完成为西瓜基因功能的研究提供了重要的数据支持。笔者对西瓜 *TALE* 基因家族进行了全面鉴定,并对其结构、保守结构域、理化性质、系统发育关系、染色体定位、顺式作用元件和基因组织表达进行了详细分析。通过对 *CITALE* 的系统鉴定,为未来基因功能研究奠定基础,并促进其在干旱和低温胁迫下西瓜遗传改良中的应用。

1 材料与方法

1.1 材料

试验材料西瓜种质 M08 由西北农林科技大学园艺学院瓜类种质创新与遗传改良实验室收集保存,性状稳定遗传。试验于 2022 年 11 月至 2023 年 12 月在西北农林科技大学园艺学院瓜类种质创新与遗传改良实验室进行。

取籽粒饱满的西瓜种质 M08 种子,55~60 °C 温汤浸种催芽后播种于 50 孔穴盘中,放置在人工气候箱 (28 °C, 16 h 光照/8 h 黑暗,相对湿度 70%) 内。于 3 叶 1 心时定植在温室大棚中,并合理实施浇水及病虫害防治等栽培管理措施,开花期严格自交授粉。授粉后 26 d 分别取根、茎、叶、卷须、雌花和雄花这 6 个组织部位,采用随机区组法取样,每个样本设置 3 次重复。所有样品用锡箔纸包裹后

放于液氮中速冻,随后存放于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 超低温冰箱备用。

西瓜种质 M08 植株 3 叶 1 心时在人工气候箱 ($4\text{ }^{\circ}\text{C}$, 16 h 光照/8 h 黑暗,相对湿度 70%)进行低温胁迫(0、3、6、12、24、36 和 48 h),取胁迫处理后的真叶叶片组织,采用随机区组法取样;所有样品用锡箔纸包裹后放于液氮中速冻,随后存放于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 超低温冰箱备用。西瓜种质 M08 植株 3 叶 1 心时在培养架上($28\text{ }^{\circ}\text{C}$, 16 h 光照/8 h 黑暗)进行干旱胁迫处理(0、1、2、3、4、5、6、7 和 8 d),取胁迫处理后的真叶叶片组织,采用随机区组法取样。

1.2 西瓜 *TALE* 基因家族鉴定

根据拟南芥^[26]*TALE* 基因家族研究结果,从拟南芥数据库(<https://www.arabidopsis.org/>)中下载拟南芥的 *TALE* 蛋白序列;通过 TBtools 软件提取最具代表性的 CITALES 蛋白序列,获得的西瓜 *TALE* 蛋白序列通过 NCBI 网站上的在线工具 BLASTp (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)进一步验证。使用 NCBI 网站上的在线工具 Conserved Domain (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>)探索西瓜 *TALE* 蛋白的保守结构域。通过 Pfam 在线网站 (<http://pfam.xfam.org/>)和 SMART 在线网站 (<http://smart.embl-heidelberg.de/>)确定候选西瓜 *TALE* 蛋白序列是否拥有植物 *TALE* 基因家族保守结构域,通过筛选得到西瓜中 *TALE* 基因家族的全部蛋白序列。通过利用 ExPASy 网站上提供的在线工具 ProtParam (<http://web.expasy.org/protparam/>),对西瓜 *TALE* 基因家族的相对分子量、等电点和蛋白质长度等信息进行分析。

1.3 西瓜 *TALE* 基因在染色体上的分布

从葫芦科数据库 (<http://cucurbitgenomics.org/v2/>)中获取 CITALES 在染色体上的位置信息,根据染色体位置进行重命名,使用 TBtools 软件进行数据可视化,得到了西瓜 *TALE* 基因家族在染色体上的分布情况。

1.4 西瓜 *TALE* 基因家族进化关系分析

使用 MEGA 7 软件中的 Clustal W 序列比对程序,对西瓜和拟南芥的 *TALE* 蛋白序列进行了多序列比对,并利用邻接法(neighbour-joining, NJ)构建了进化树(设置 Bootstrap 值为 1000, model 为 P-distance, partial deletion 值为 50%,其余参数按照默认设置)。将得到的进化树文件通过 Evolview 在线网站(<https://evolgenius.info/evolview-v2/>)进行美

化处理。

1.5 西瓜 *TALE* 基因家族基因结构与保守基序分析

利用 MEME 在线网站(<https://meme-suite.org/meme/doc/meme.html>)对西瓜 *TALE* 蛋白序列进行保守基序分析,将最大基序检索值设置为 12,其他参数使用默认值,下载得到了结果文件 meme.xml。利用 CITALES 的 gff 文件、系统进化树与 MEME 在线预测文件 meme.xml,在 TBtools 软件上进行可视化。利用葫芦科基因组数据库网站 Batch query 工具下载西瓜 *TALE* 蛋白对应的基因序列和 cDNA 序列,利用 Gene Structure Display Server 2.0 (<http://gsds.gao-lab.org>)分析其内含子及外显子并进行可视化。

1.6 西瓜 *TALE* 基因启动子区域的顺式元件分析

利用 TBtools 提取西瓜 *TALE* 基因上游 2000 bp 序列。然后将提取的序列提交给 PlantCARE (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>),分析基因启动子区域的顺式元件,选取与胁迫及激素响应有关的顺式作用元件,由 TBtools 绘制西瓜 *TALE* 基因启动子区域的顺式元件图。

1.7 西瓜 *TALE* 基因表达分析

在本研究中,西瓜种质 M08 的根、茎、叶、卷须、雌花和雄花这 6 个组织分别于授粉后 26 d 取样,以这 6 个组织提取总 RNA,随后使用 FastKing 一步法基因组 cDNA 第一链合成预混试剂盒进行反转录获得 cDNA 模板,以管家基因 *ClACT*(cl007792)为内参。使用 NCBI 在线网站设计定量引物(表 1),通过 qRT-PCR 试验获取西瓜 *TALE* 基因在 6 个组织中的表达量数据,利用 Excel 标准化处理以上数据,基因相对表达量的计算采用 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 法,每个样品 3 次重复,对基因相对表达量数据进行 Log2 处理,通过 TBtools 软件绘制基因表达热图进行聚类分析。在西瓜种质 M08 植株 3 叶 1 心时期进行低温胁迫(0、3、6、12、24、36 和 48 h)和干旱胁迫(0、1、2、3、4、5、6、7 和 8 d 处理),取胁迫处理后的叶片组织提取 RNA 进行反转录获得 cDNA 模板,通过 qRT-PCR 试验获取西瓜 *TALE* 基因在低温胁迫和干旱胁迫中的表达量数据,利用 Excel 标准化处理以上数据,基因相对表达量的计算采用 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 法,每个样品 3 次重复,对基因相对表达量数据进行 Log2 处理,使用 TBtools 软件的 Heatmap 功能绘制基因表达的热图,并使用 TBtools 软件的 Show Control Dialog 进行图片美化。

表1 定量引物序列信息

Table 1 Information on quantitative primer sequences

引物名称 Primer name	引物序列(5'—3') Primer sequence (5'—3')
CIACT-F	CCTACAACCTCAATTATGAAGTGTG
CIACT-R	GAAATCCACATCTGCTGGAAGGTG
CIBLH01-F	CACCCTCCCTCAACACATCC
CIBLH01-R	TTGTCCGAGAATTTCGACGGG
CIBLH02-F	CTGTGCCATGCAGCTTTTT
CIBLH02-R	ATGACAACGAAAGACGGCCT
CIBLH03-F	CGATTGGTGGAGACCCTTCC
CIBLH03-R	TGCTGCCTGTCAAAACAAC
CIBLH04-F	TGTTGGCCACTCAAACAGGT
CIBLH04-R	GGCGTTCACTACTGGTCCAA
CIBLH05-F	AGCAGCTCCTCCATGACCTA
CIBLH05-R	ACCACTGCTTGCATTGCTG
CIBLH06-F	TTTTGTGCTAAACAGCGCCC
CIBLH06-R	TGCAGGGCAGTAGACATTGG
CIBLH07-F	AGCCAACAGGTGGATCGAAG
CIBLH07-R	GACAAAGCGGAGACGAGGAA
CIBLH08-F	CGTTAGGCCCTTCCCCATTGT
CIBLH08-R	TGGCAGTAATTGAGCAGCGA
CIBLH09-F	CATCCCTTTTTCGACCCCA
CIBLH09-R	TGTAGCAAGTGATGGGCTGG
CIBLH10-F	GTGCTTGCGGATGCAATAG
CIBLH10-R	AGCCAAGCACGGAGAATTGA
CIKN01-F	CGGCTTGAAGAAGTGTGTGC
CIKN01-R	AATAAATTGCCAGCGGCGTG
CIKN02-F	GCAAAACGAGTGCTCGAAGG
CIKN02-R	CTTTTGCAGCTCCGAGGGAT
CIKN03-F	GCACCAGCTGTGGAGGTATT
CIKN03-R	AGGGTGATTTTACGGCCAA
CIKN04-F	CCGTCCATGGTTGGTGATGA
CIKN04-R	ATCGCTGTGACTTGGTCTGT
CIKN05-F	AACAAGACAATAGCGGCGGA
CIKN05-R	GCTAACGCCACCTTCTCTGT
CIKN06-F	AGATGGAAGTTGTGGAGGCG
CIKN06-R	AACCTTGTGCGCTTCCGTAG
CIKN07-F	CGGCTGAGATTGAAACAGCG
CIKN07-R	CATCGAGTTCGGGATCGACA
CIKN08-F	AATGGAGGTGCTCATGGTGG
CIKN08-R	TTGCCAGCGACGAGTATTT
CIKN09-F	GGAAATCCGGCGAGAAAACG
CIKN09-R	GGAAGGGTTCTGGTGGAAG

2 结果与分析

2.1 西瓜 *TALE* 基因家族成员的鉴定

参照拟南芥 *TALE* 基因家族的分类,西瓜 *TALE* 基因家族分为 BEL1-like 和 KNOX 两个亚家族。

采用生物信息学方法对西瓜 *TALE* 基因家族的成员进行了鉴定,共鉴定出 19 个成员,根据其在染色体上的排列位置系统命名 *CIBLH01~CIBLH10*、*CIKN01~CIKN09*(表 2)。结果显示,CITALE 蛋白的氨基酸数目在 275~921 aa (*CIBLH01~CIBLH10*、*CIKN01~CIKN09*) 之间,相对分子质量 31.38~103.13 kD (*CIBLH01~CIBLH10*、*CIKN01~CIKN09*) 之间,除 *CIBLH03*、*CIBLH09* 和 *CIKN01* 的蛋白等电点大于 7,其余 CITALE 蛋白等电点均在 5.03~6.93 之间,所有 CITALE 蛋白疏水性都小于 0。研究发现,CITALE 蛋白具有较大的氨基酸数目和相对分子质量差异。此外,这些蛋白主要是酸性蛋白,并且具有亲水性特点。

2.2 西瓜 *TALE* 基因的染色体定位

根据在葫芦科数据库中得到的 *CITALEs* 基因组注释文件,用 TBtools 软件分析了 19 个西瓜 *TALE* 基因在染色体上的具体位置(图 1)。结果显示,西瓜 *CITALEs* 不均匀地分布在 10 条染色体上,其中第 03、第 04、第 06、第 09 和第 11 号染色体上仅存在 1 个 *TALE* 基因,第 01 和第 10 号染色体上各有 2 个基因,第 05 和第 08 号染色体上各有 3 个基因,第 02 号染色体上分布了最多的 *TALE* 基因,共计 4 个(表 2,图 1)。

2.3 西瓜和拟南芥 *TALE* 基因进化关系分析

利用 MEDGA7 软件分析了 22 个拟南芥 *TALE* 基因和 19 个西瓜 *TALE* 基因的进化关系,对 19 个西瓜 *TALE* 基因蛋白序列和 22 个拟南芥 *TALE* 基因蛋白序列构建系统进化树(图 2)。参考拟南芥 *TALE* 基因家族的研究结果,将西瓜 *TALE* 基因家族分为 BEL1-like 和 KNOX 2 个亚家族。根据亲缘关系的远近,将 41 个 *TALE* 基因分为 3 个组:第 1 组为 BEL1-like 亚家族,共包括 23 个基因,其中 13 个 *TALE* 基因来自拟南芥,而另外 10 个为西瓜 *TALE* 基因;第 2、第 3 组为 KNOX 转录因子,又可进一步划分为 2 个分支 Class I 和 Class II。第 1 个分支 Class I 共包括 11 个基因,其中 4 个 *TALE* 基因来自拟南芥,而另外 7 个为西瓜 *TALE* 基因;第 2 个分支 Class II 共包括 6 个基因,其中 4 个 *TALE* 基因来自拟南芥,而另外 2 个为西瓜 *TALE* 基因。

2.4 西瓜 *TALE* 基因家族的结构特征分析

为了更好地理解西瓜 *TALE* 基因家族成员之间的进化关系,首先通过构建带有 *CIBEL1-like* 和 *CIKNOX* 家族基因 DNA 序列的系统发育树(图 2)来进行分析。利用 MEME 在线网站获得西瓜 *TALE*

表 2 西瓜 *TALE* 基因家族信息
Table 2 Information on the *TALE* gene family in watermelon

基因名称 Gene name	基因 ID Gene ID	染色体位置 Chromosome location/bp	蛋白质长度 Protein length/aa	相对分子质量 MW/kD	等电点 pI	蛋白质疏水性 GRAVY
<i>CIBLH01</i>	Cla97C01G015290.1	Chr01:29056349-29061247(+)	697	76.28	6.40	-0.618
<i>CIBLH02</i>	Cla97C02G038640.2	Chr02:26204291-26210097(-)	688	75.30	6.36	-0.624
<i>CIBLH03</i>	Cla97C02G048510.1	Chr02:36040775-36044181(+)	695	76.44	7.12	-0.709
<i>CIBLH04</i>	Cla97C03G053960.2	Chr03:3202293-3207482(+)	921	103.13	6.33	-0.516
<i>CIBLH05</i>	Cla97C04G074390.1	Chr04:22078987-22083346(+)	460	51.92	6.38	-0.606
<i>CIBLH06</i>	Cla97C08G160650.2	Chr08:27415416-27418451(-)	671	75.66	6.27	-0.188
<i>CIBLH07</i>	Cla97C09G164950.2	Chr09:2338757-2340913(+)	552	61.74	5.75	-0.535
<i>CIBLH08</i>	Cla97C10G201280.1	Chr10:31347885-31350311(-)	712	78.12	6.93	-0.714
<i>CIBLH09</i>	Cla97C10G204780.2	Chr10:34049969-34053595(-)	486	54.58	7.03	-0.597
<i>CIBLH10</i>	Cla97C11G210830.1	Chr11:4178285-4181406(+)	681	74.99	6.14	-0.648
<i>CIKN01</i>	Cla97C01G021290.2	Chr01:33576669-33585330(+)	450	50.75	8.05	-0.477
<i>CIKN02</i>	Cla97C02G028600.1	Chr02:2087790-2091705(-)	342	38.59	6.54	-0.648
<i>CIKN03</i>	Cla97C02G040680.2	Chr02:28605041-28608189(+)	389	44.03	5.25	-0.592
<i>CIKN04</i>	Cla97C05G097580.2	Chr05:26974368-26979777(+)	512	57.13	6.30	-0.626
<i>CIKN05</i>	Cla97C05G098920.1	Chr05:28102310-28106247(-)	363	41.66	6.03	-0.879
<i>CIKN06</i>	Cla97C05G107680.2	Chr05:34523030-34530644(+)	385	43.28	5.94	-0.352
<i>CIKN07</i>	Cla97C06G126730.2	Chr06:28458880-28466933(+)	296	33.04	5.03	-0.499
<i>CIKN08</i>	Cla97C08G156950.2	Chr08:24580540-24586232(-)	507	56.20	6.06	-0.745
<i>CIKN09</i>	Cla97C08G161580.1	Chr08:27996438-28009722(-)	275	31.38	5.49	-0.672

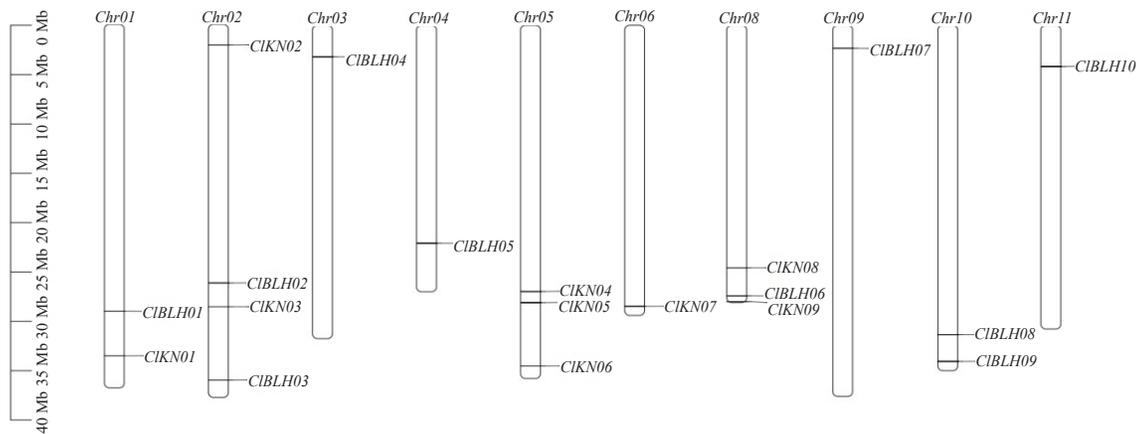
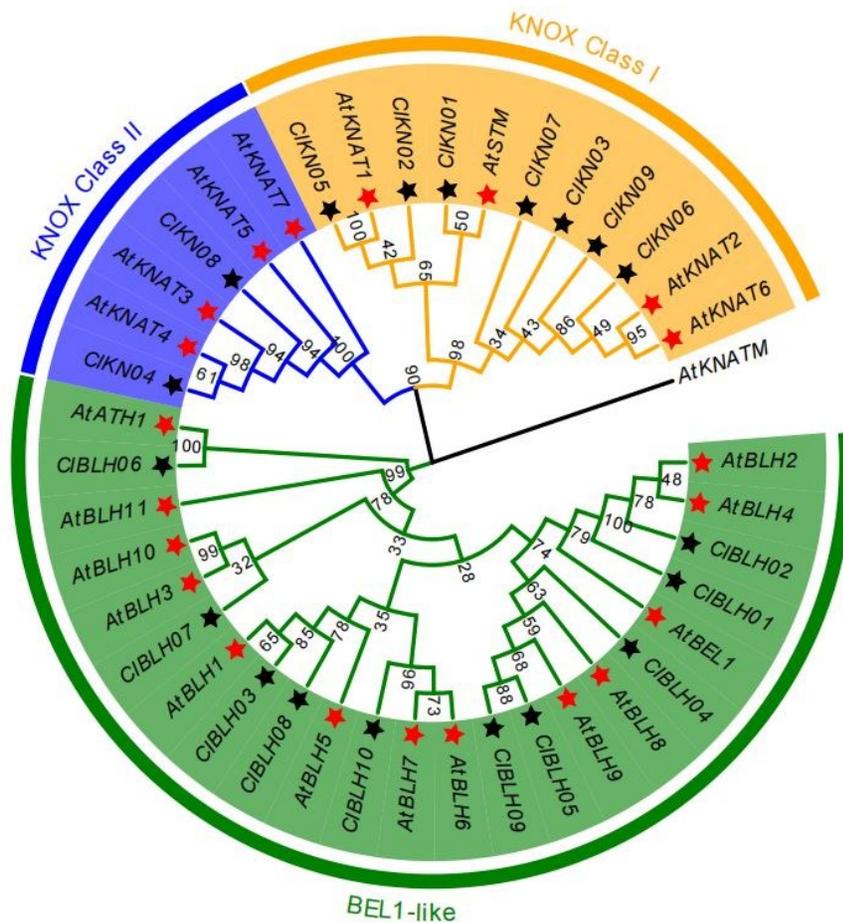


图 1 *TALE* 基因在西瓜染色体上的分布
Fig. 1 Chromosome distribution of *TALE* genes in watermelon

基因的 12 个保守基序(motif 1~motif 12)类型(表 3)及具体基序标识(图 3)。同时,为了鉴定西瓜中 *TALE* 基因家族的结构特征,将 cDNA 序列与其相应的基因组 DNA 序列进行比较,并利用基因结构显示服务器(GSDS)对 *CIBEL1-like* 亚家族基因和 *CIKNOX* 亚家族基因的外显子/内含子结构进行了分析(图 4-a、图 4-c)。还利用 Multiple Em for Motif

Elicitation(MEME)程序,分别分析了 *CIBEL1-Like* 和 *CIKNOX* 成员的蛋白质序列(图 4-b)。

从基因结构分析结果(图 4-c)发现,所有的 *Cl-TALE* 成员的外显子数量在 4~10,平均数为 5.37。其中,*CIBEL1-like* 亚家族基因的外显子数量主要集中在 4~6,只有 *CIBLH06* 含有 7 个外显子。*CIKNOX* 亚家族基因的外显子数量大多在 4~6,但



注:Cl. 西瓜(黑色星星);At. 拟南芥(红色星星)。

Note: Cl. Watermelon(black star); At: Arabidopsis(red star).

图2 西瓜 *TALE* 基因家族系统进化树

Fig. 2 Phylogenetic tree of the *TALE* gene family of watermelon

CIKN06 含有 8 个外显子,而 *CIKN01* 则含有 10 个外显子。这些结果表明,在西瓜 *TALE* 基因家族中,基因结构普遍展现出外显子和内含子的高度保守分布。

BEL1-Like 蛋白和 KNOX 蛋白是两种关键的植物发育相关蛋白。BEL1-like 蛋白包含 1 个 Homeodomain 结构域(也称为 Homeobox),这个结构域与 Homeobox_KN 结构域共享相似序列。此外, BEL1-like 蛋白还包括 1 个 POX 结构域(也称为 MID),其中包含 SKY 和 BEL1 区域。KNOX 蛋白含有 1 个 MEINOX 结构域,由 KNOX1 和 KNOX2 子域组成,它们之间被柔性连接子、ELK 结构域和 TALE 同源结构域分隔。MEINOX 结构域能够促进 KNOX 和 BELL 蛋白之间的相互作用。基因结构分析证明,所有的 CIBEL1-like 成员都保守地包含 TALE 同源结构域和 POX 结构域(图 4-d),而所有的 CIKNOX 成员都保守地包含 KNOX1 和 KNOX2(MEINOX)结构域,但是 *CIKN03* 缺失了

ELK 结构域(图 4-e)。

2.5 西瓜 *TALE* 基因启动子的顺式作用元件分析

前人的研究表明, *TALE* 基因家族参与调控花器官发育、花分生组织形成、器官形态发生、果实发育、植物非生物胁迫响应及激素响应。使用在线软件 PlantCARE 对西瓜 *TALE* 基因家族上游 2000 bp 启动子区的顺式作用元件进行预测,并选择与植物生长发育、胁迫响应以及激素响应相关的顺式作用元件进行分析。这些元件主要包括光响应、低温响应、干旱响应、生长素响应、脱落酸响应、茉莉酸甲酯响应和赤霉素响应等(图 5)。笔者旨在探究西瓜 *TALE* 基因家族在生物学过程中以及对植物激素和非生物胁迫反应中的重要作用。分析表明,分布最广的是光响应相关元件(Light responsiveness)(含元件基因数/总基因数为 19/19),其次是茉莉酸甲酯响应元件(MeJA-responsiveness)(11/19)、赤霉素响应元件(gibberellin responsiveness)(7/19)、脱落酸响应元件(abscisic acid responsiveness)(6/19)、低温响应

表3 西瓜 *TALE* 基因的基序

Table 3 Motif identified in *TALE* genes of watermelon

基序 Motif	<i>E</i> 值 <i>E</i> -value	基序数 Sites	序列宽度 Width/aa	基序序列 Motif sequence
1	5.60E-381	18	38	DSDKLALAEQTGLDRKQVNNWFNARVRLWKPMVEEMY
2	5.60E-153	17	21	LPERAVSVLRAWLFEHFLHPY
3	2.10E-199	9	50	VDRRYKQYYQQMQMVSSFEYVAGLGAAAPYTSALKTISKHFRCLKDAI
4	7.20E-96	9	29	DPELDZFM EAYCEMLVKYKEELSKPFREA
5	4.60E-90	5	50	LKDKLLRKYGGHISLKKQEFSSKKKKKGLPKPEARQVLEWVNVHYKWPYP
6	3.50E-59	9	26	LLSAYVNCQKVGAPPEVAARLEEIRR
7	4.80E-44	6	26	GTPRLKYVDQHLRQQRALQQLGMIQH
8	4.10E-38	18	17	SKFLKAAQELDEL CNG
9	1.80E-30	10	6	WRPQRG
10	1.70E-23	9	12	GGVSLTLGLRHN
11	6.30E-16	6	23	ELSTAERQDLQNKKAKLLSMLDE
12	5.60E-12	6	10	KAKILAHPLY

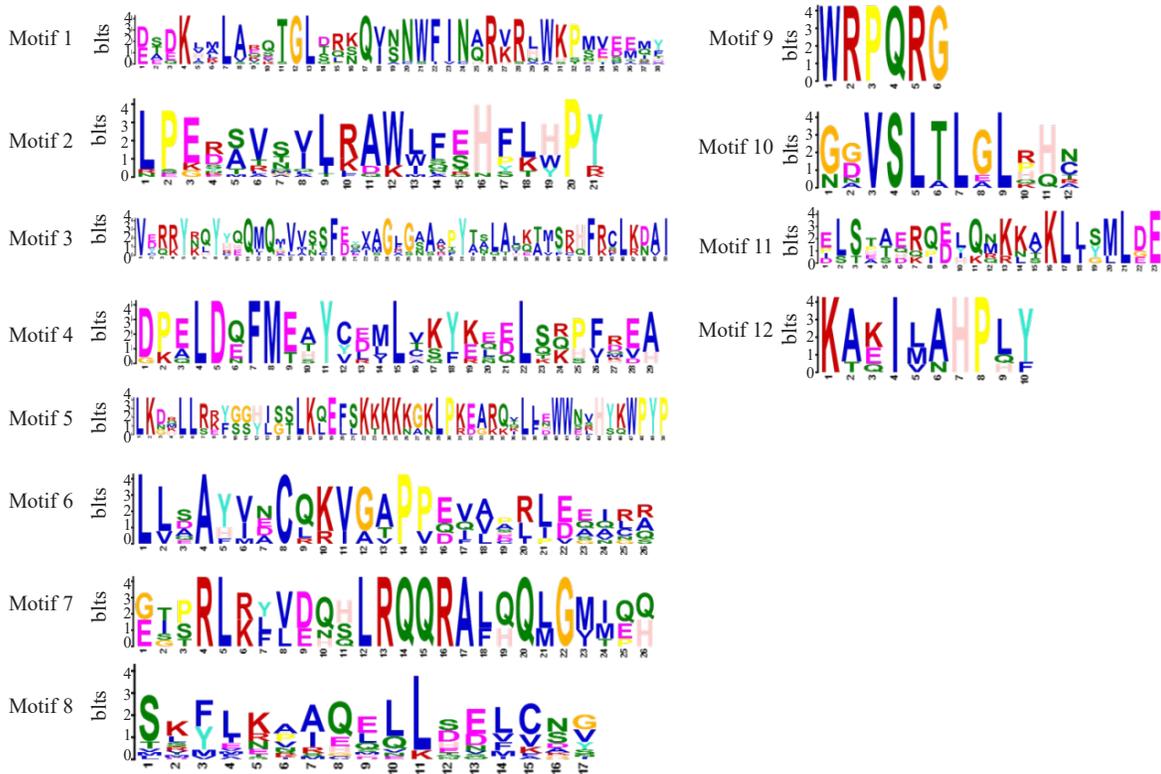


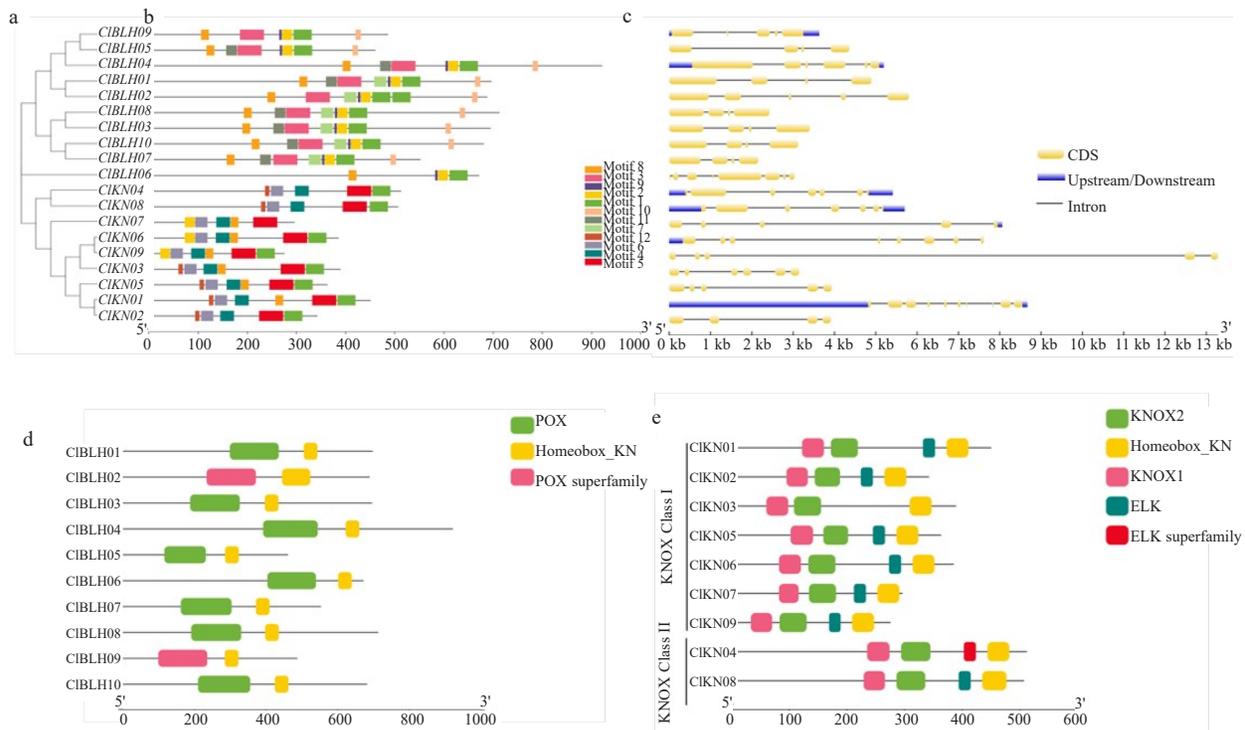
图3 西瓜 *TALE* 基因基序标识

Fig. 3 Logo representing the motif of *TALE* genes in watermelon

元件 (low-temperature responsiveness) (4/19)、干旱响应元件 (drought-inducibility) (4/19); 分布最少的为生长素响应元件 (1/19) 和调控植物细胞分化元件 (1/19), 前者仅在 *CIKN06* 中分布, 后者在 *CIBLH01* 中分布。由此可以推断, CITALES 在应对光照、激素信号以及逆境胁迫等方面可能扮演着重要的角色, 并且对西瓜的生长发育进行调控。

2.6 西瓜 *TALE* 基因的组织表达特性

在对 19 个西瓜 *TALE* 基因进行的表达特点分析中 (图 6) 发现, 它们在西瓜的不同器官中表达存在差异。具体结果显示, 大部分 BEL1-like 亚家族基因在根、卷须、雌花和雄花中表达, 而大部分 KNOX 亚家族基因则在茎、叶、雌花和雄花中表达。其中, *CIBLH09* 在根中高表达, *CIBLH01* 在卷须、雌花和雄花中高表达, *CIBLH03* 在叶中高表达,



注: a. 系统进化树; b. 蛋白结构域特征; c. 基因结构; d. BEL1-like 亚家族成员蛋白结构域特征; e. KNOX Class I 和 KNOX Class II 亚家族成员蛋白结构域特征。

Note: a. Phylogenetic tree; b. Protein structure; c. Gene structure; d. Protein structure of the BEL1 - like subfamily; e. Protein structure of KNOX Class I and KNOX Class II subfamily.

图 4 西瓜 *TALE* 基因家族成员的结构特征

Fig. 4 Analytical overview of the *TALE* gene family in watermelon

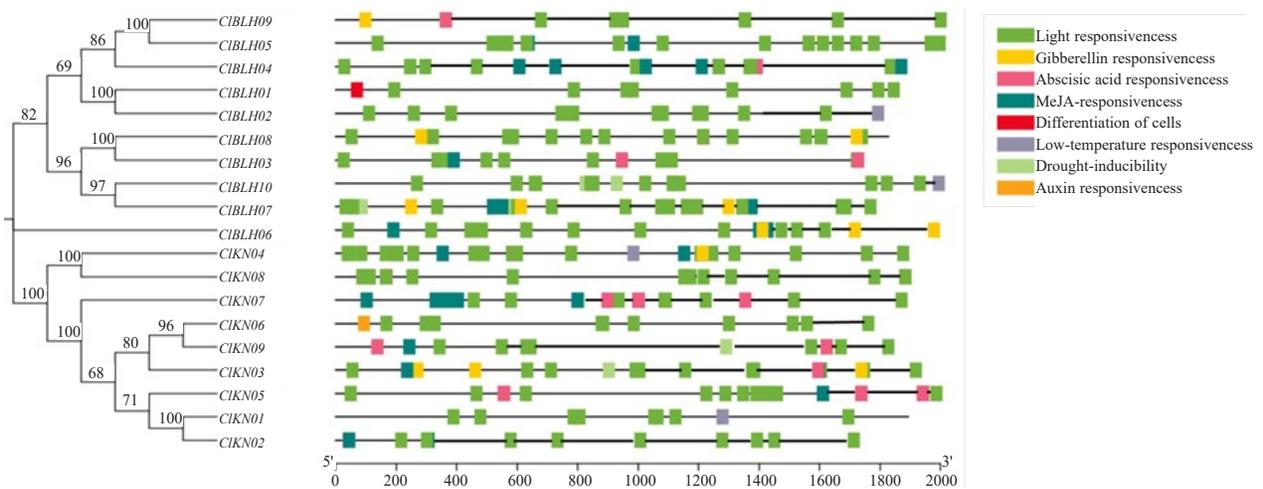


图 5 CITALEs 启动子顺式作用元件分析

Fig. 5 Analysis of cis-acting elements in the CITALEs promoter

CIKN06 在茎和叶中高表达, *CIKN01* 和 *CIKN02* 在茎中高表达, 由此推测西瓜 *TALE* 基因家族可能参与了西瓜的生长发育过程。

2.7 西瓜 *TALE* 基因对低温胁迫、干旱胁迫的响应表达

利用实时荧光定量试验分析低温胁迫和干旱

胁迫下西瓜 *TALE* 家族基因的表达特性, 结果(图 7-a)显示, 在低温 0 h 时, 除了 *CIBLH03*、*CIBLH07*、*CIBLH08*、*CIKN05* 和 *CIKN09* 这 5 个基因呈现上调趋势外, 其余基因呈现下调趋势; 在低温 3 h 后, 除了 *CIBLH02*、*CIBLH03*、*CIBLH07*、*CIBLH08*、*CIBLH10*、*CIKN02*、*CIKN04*、*CIKN08* 和 *CIKN09* 这 9

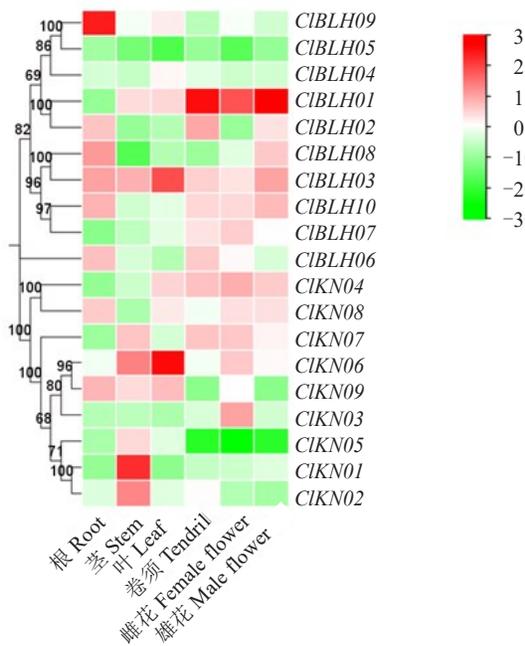


图6 西瓜 TALE 基因家族成员的组织表达特性

Fig. 6 The tissue-specific expression patterns of members within the watermelon TALE gene family

个基因呈现上调趋势外,其余基因呈现下调趋势;在低温 6 h 后,除了 *CIBLH01*、*CIBLH02*、*CIBLH03*、*CIBLH06*、*CIBLH07*、*CIBLH08*、*CIBLH10*、*CIKN02*、*CIKN03*、*CIKN04*、*CIKN07* 和 *CIKN09* 这 12 个基因呈现上调趋势外,其余基因呈现下调趋势;在低温 12 h 后,除了 *CIBLH05*、*CIBLH07*、*CIKN01*、*CIKN04*、*CIKN06* 和 *CIKN09* 这 6 个基因呈现下调趋势外,其余基因均呈现上调趋势;在低温 24 h 后,

除了 *CIBLH01*、*CIBLH04*、*CIKN01* 和 *CIKN03* 这 4 个基因呈现下调趋势外,其余基因均呈现上调趋势;在低温 36 h 后,除了 *CIBLH01*、*CIBLH05*、*CIBLH09*、*CIKN01*、*CIKN03*、*CIKN06* 和 *CIKN08* 这 7 个基因呈现下调趋势外,其余基因均呈现上调趋势;在低温 48 h 后,除了 *CIBLH02*、*CIBLH03*、*CIBLH04*、*CIBLH07*、*CIKN01*、*CIKN04*、*CIKN06*、*CIKN08* 和 *CIKN09* 这 9 个基因呈现下调趋势外,其余基因呈现上调趋势。*CIBLH08* 和 *CIKN02* 这 2 个基因在低温胁迫下基本呈现上调趋势,*CIKN01* 这个基因在低温胁迫下基本呈现下调趋势,因此西瓜 TALE 基因家族可能在低温胁迫中发挥作用。

结果(图 7-b)显示,在干旱 0 d 时,除了 *CIBLH05*、*CIBLH08*、*CIBLH09*、*CIBLH10*、*CIKN03*、*CIKN04* 和 *CIKN07* 这 7 个基因呈现上调趋势外,其余基因呈现下调趋势;在干旱 1 d 后,除了 *CIBLH04*、*CIBLH05*、*CIBLH07*、*CIKN02*、*CIKN05* 和 *CIKN09* 这 6 个基因呈现上调趋势外,其余基因均呈现下调趋势;在干旱 2 d 后,除了 *CIBLH04*、*CIBLH05*、*CIBLH06*、*CIBLH09*、*CIKN01*、*CIKN03*、*CIKN05* 和 *CIKN09* 这 8 个基因呈现上调趋势外,其余基因呈现下调趋势;在干旱 3 d 后,除了 *CIBLH04*、*CIBLH05*、*CIBLH06*、*CIBLH09*、*CIKN01*、*CIKN03*、*CIKN05*、*CIKN07* 和 *CIKN09* 这 9 个基因呈现上调趋势外,其余基因呈现下调趋势;在干旱 4 d 后,除了 *CIBLH03*、*CIBLH04*、*CIBLH05*、*CIBLH08*、*CIBLH09*、*CIKN02*、*CIKN03* 和 *CIKN09* 这 8 个基因

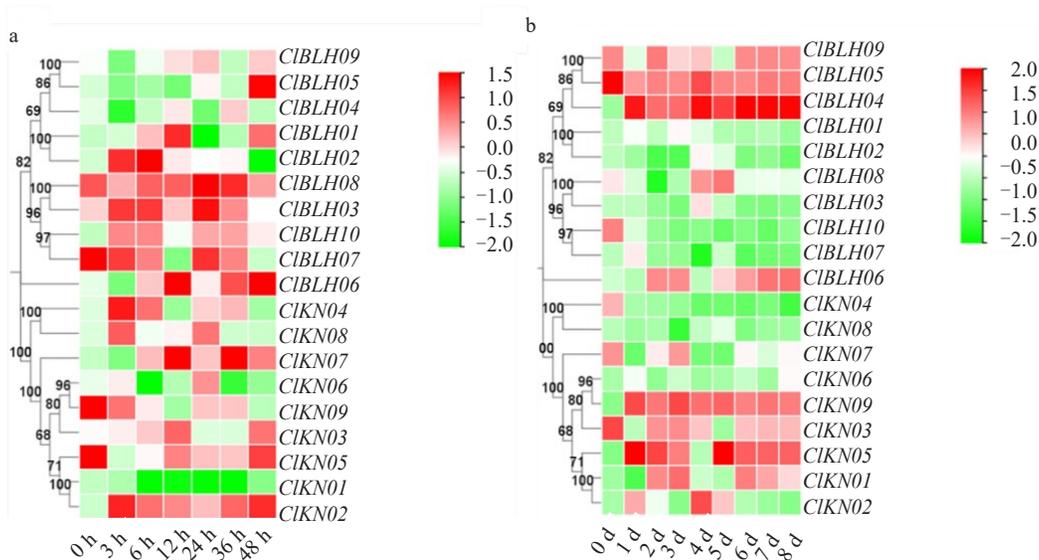


图7 西瓜 TALE 基因家族成员在低温胁迫(a)及干旱胁迫(b)下的表达

Fig. 7 Expression profiles of watermelon TALE gene family members under low temperature stress (a) and drought stress (b) conditions

呈现上调趋势外,其余基因呈现下调趋势;在干旱 5 d 后,除了 *CIBLH04*、*CIBLH05*、*CIBLH06*、*CIBLH08*、*CIKN02*、*CIKN05* 和 *CIKN09* 这 7 个基因呈现上调趋势外,其余基因呈现下调趋势;在干旱 6 d、7 d 和 8 d 后,除了 *CIBLH04*、*CIBLH05*、*CIBLH06*、*CIBLH09*、*CIKN01*、*CIKN03*、*CIKN05* 和 *CIKN09* 这 8 个基因呈现上调趋势外,其余基因呈现下调趋势。因此,西瓜 *TALE* 基因家族可能在干旱胁迫中发挥作用。

3 讨论与结论

TALE 基因家族在植物发育中起着至关重要的作用,在植物界分布广泛,但在不同的植物物种中,这些基因的数量差异很大。*TALE* 基因家族已经在越来越多的植物中被详细鉴定,其中包括拟南芥^[26]、石榴^[35]、番茄^[36]、大豆^[37]、萝卜^[38]、玉米^[39]等,但在葫芦科作物中尚未见到相关的研究报道。通过生物信息学方法,笔者对西瓜基因组中的 *TALE* 基因家族进行了鉴定,共发现了 19 个西瓜 *TALE* 基因家族成员。这些基因在 10 条染色体上呈不均匀分布,与拟南芥中鉴定到的 22 个基因数量大致相符^[23]。根据西瓜 *TALE* 基因家族结构、保守基序分布及与拟南芥进化关系分析,可将其分为 BEL1-like 和 KNOX 两个亚家族。其中 BEL1-like 蛋白包含 1 个 Homeodomain 结构域(也称为 Homeobox),这个结构域与 Homeobox_KN 结构域共享相似序列。此外,BEL1-Like 蛋白还包括 1 个 POX 结构域(也称为 MID),其中包含 SKY 和 BEL1 区域。KNOX 蛋白含有一个 MEINOX 结构域,由 KNOX1 和 KNOX2 子域组成,它们之间被柔性连接子、ELK 结构域和 *TALE* 同源结构域分隔开来。MEINOX 结构域能够促进 KNOX 和 BELL 蛋白之间的相互作用。基因结构分析证明,所有的 CIBEL1-like 成员都保守地包含 *TALE* 同源结构域和 POX 结构域,而所有的 CIKNOX 成员都保守地包含 KNOX1 和 KNOX2 (MEINOX) 结构域,但是 *CIKN03* 缺失了 ELK 结构域。西瓜 *TALE* 基因家族中同一亚家族基因结构相似,保守基序和内含子外显子的分布相似,这一结果与拟南芥 *TALE* 家族特征相似^[23],这一结果表明,同一亚家族的基因可能具有相似的功能。

顺式作用元件通过参与基因表达的调控,对植物的生长发育以及对生物和非生物胁迫的响应产生影响。笔者使用在线软件 PlantCARE,针对西瓜 *TALE* 基因家族上游 2000 bp 启动子区域,进行了顺

式作用元件的预测。选择了与植物生长发育、胁迫响应以及激素响应相关的顺式作用元件进行了分析。这些元件包括光响应、低温响应、干旱响应、生长素响应、脱落酸响应、茉莉酸甲酯响应和赤霉素响应等。分析结果显示,光响应相关元件的分布最为广泛,其次为茉莉酸甲酯响应元件、赤霉素响应元件、脱落酸响应元件、低温响应元件和干旱响应元件;而生长素响应元件和调控植物细胞分化元件的分布则较为稀少。

通过综合分析顺式作用元件、组织表达和非生物胁迫表达等结果,推测西瓜 *TALE* 基因家族在植物的生长发育、花器官发育以及抵抗非生物胁迫方面扮演着重要角色。在本研究中发现,西瓜 *TALE* 基因家族在光反应、激素反应和非生物胁迫中扮演着至关重要的角色,这与在番茄^[36]和石榴^[37]中的研究结论一致。笔者利用西瓜种质 M08 的不同组织提取 RNA 进行反转录获得 cDNA 模板,通过 qRT-PCR 试验获取西瓜 *TALE* 基因的表达量数据,结果显示,大部分 BEL1-like 亚家族基因在根、卷须、雌花和雄花中表达,而大部分 KNOX 亚家族基因则在茎、叶、雌花和雄花中表达。其中,*CIBLH09* 在根中高表达,*CIBLH01* 在卷须、雌花和雄花中高表达,*CIBLH03* 在叶中高表达,*CIKN06* 在茎和叶中高表达,*CIKN01* 在茎中高表达,由此推测西瓜 *TALE* 基因家族可能参与了西瓜的生长发育过程。

TALE 基因家族广泛存在于植物中,在植物生长发育和非生物胁迫响应中发挥重要作用。番茄 *SIBELL* 的启动子区域包含许多与植物生长发育和应激反应相关的顺式元件。*SIBELL* 基因在组织中具有不同的特异性表达模式,并且对冷、热和干旱胁迫有响应,暗示它们在调控植物生长的多个方面以及响应非生物胁迫方面具有潜在的功能^[40]。研究表明 *CsKNOX* 在茶叶中的转录水平与黄烷-3-醇和原花青素的积累密切相关。通过转录组学数据和启动子元件分析发现,大多数 *CsKNOX* 基因对于干旱、盐、低温胁迫以及外源 MeJA 和 GA₃ 均有响应^[41]。在棉花 *TALE* 基因家族中 *GhKNOX4-A* 和 *GhKNOX22-D* 都调节植物耐受性;沉默这 2 个基因会诱导氧化应激,表现为 SOD 活性降低和叶片细胞死亡,并增强气孔开放和水分流失。因此,*GhKNOX4-A* 和 *GhKNOX22-D* 可能通过调节气孔开放和氧化应激来参与干旱响应^[42]。在苜蓿 *TALE* 基因家族中,*KNAT3/4/5-like* 转录因子可能通过抑制脯氨酸脱氢酶基因(*MtPDH*)表达来加速脯氨酸积累

以应对胁迫和保护细胞膜在免受干旱诱导的渗透胁迫中发挥作用^[41]。在拟南芥中 *TaKNOXII-A* 增强了拟南芥的耐旱性和耐盐性。*TaKNOXII-A* 过表达的植物丙二醛含量降低,脯氨酸含量增加,使植物更有效地适应不利环境^[43]。通过对西瓜 *TALE* 基因家族在低温胁迫和干旱胁迫下的表达量进行分析,发现这些基因可能在这两种胁迫情况下发挥作用。这一结论与之前的相关研究所得到的结果相一致^[31-33]。

在本试验中共鉴定得到了 19 个西瓜 *TALE* 基因,可分为 2 个亚家族,根据各基因在染色体上的位置依次命名为 *CIBLH01~CIBLH10*、*CIKN01~CIKN09*。通过综合分析顺式作用元件、组织表达和非生物胁迫表达等结果,推测西瓜 *TALE* 基因家族在植物的生长发育、花器官发育以及抵抗非生物胁迫方面扮演着重要的角色。本研究结果可以为西瓜 *TALE* 基因家族的功能研究打下基础,并促进其在低温和干旱胁迫下西瓜遗传改良中的应用。然而,对各个基因的具体功能仍需要进一步研究。笔者对西瓜 *TALE* 基因家族成员进行了全基因组的鉴定和分析,为将来对该基因家族功能的验证提供了理论基础。

参考文献

- [1] BÜRGLIN T R, AFFOLTER M. Homeodomain proteins: An update[J]. *Chromosoma*, 2016, 125(3): 497-521.
- [2] ARNAUD N, PAUTOT V. Ring the BELL and tie the KNOX: Roles for TALEs in gynoecium development[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2014, 5: 93.
- [3] MA Q, WANG N H, HAO P B, et al. Genome-wide identification and characterization of *TALE* superfamily genes in cotton reveals their functions in regulating secondary cell wall biosynthesis[J]. *BMC Plant Biology*, 2019, 19(1): 432.
- [4] CHEN H, ROSIN F M, PRAT S, et al. Interacting transcription factors from the three-amino acid loop extension superclass regulate tuber formation[J]. *Plant Physiology*, 2003, 132(3): 1391-1404.
- [5] HAY A, TSIANTIS M. KNOX genes: Versatile regulators of plant development and diversity[J]. *Development*, 2010, 137(19): 3153-3165.
- [6] BERTOLINO E, REIMUND B, WILDTPERINIC D, et al. A novel homeobox protein which recognizes a TGT core and functionally interferes with a retinoid-responsive motif[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1995, 270(52): 31178-31188.
- [7] MAHAJAN A, BHOGALE S, KANG I H, et al. The mRNA of a Knotted1-like transcription factor of potato is phloem mobile[J]. *Plant Molecular Biology*, 2012, 79(6): 595-608.
- [8] SAKAKIBARA K, ANDO S, YIP H K, et al. *KNOX2* genes regulate the haploid-to-diploid morphological transition in land plants[J]. *Science*, 2013, 339(6123): 1067-1070.
- [9] LIN T, SHARMA P, GONZALEZ D H, et al. The impact of the long-distance transport of a *BEL1*-Like Messenger RNA on development[J]. *Plant Physiology*, 2013, 161(2): 760-772.
- [10] FURUMIZU C, ALVAREZ J P, SAKAKIBARA K, et al. Antagonistic roles for *KNOX1* and *KNOX2* genes in patterning the land plant body plan following an ancient gene duplication[J]. *PLoS Genetics*, 2015, 11(2): e1004980.
- [11] RUIZ-ESTÉVEZ M, BAKKALI M, MARTIN-BLAZQUEZ R, et al. Identification and characterization of *TALE* homeobox genes in the endangered fern *Vandenboschia speciosa*[J]. *Genes*, 2017, 8(10): 275.
- [12] BELLES-BOIX E, HAMANT O, WITIAK S M, et al. *KNAT6*: An *Arabidopsis* homeobox gene involved in meristem activity and organ separation[J]. *Plant Cell*, 2006, 18(8): 1900-1907.
- [13] AIDA M, ISHIDA T, TASAKA M. Shoot apical meristem and cotyledon formation during *Arabidopsis* embryogenesis: Interaction among the *CUP-SHAPED COTYLEDON* and *SHOOT MERISTEMLESS* genes[J]. *Development*, 1999, 126(8): 1563-1570.
- [14] SHANI E, YANAI O, ORI N. The role of hormones in shoot apical meristem function[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2006, 9(5): 484-489.
- [15] CNOPS G, NEYT P, RAES J, et al. The *TORNADO1* and *TORNADO2* genes function in several patterning processes during early leaf development in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Plant Cell*, 2006, 18(4): 852-866.
- [16] KONDHARE K R, VETAL P V, KALSI H S, et al. BEL1-like protein (StBEL5) regulates *CYCLING DOF FACTOR1* (*StCDF1*) through tandem TGAC core motifs in potato[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2019, 241: 153014.
- [17] BHATT A M, ETCHELLES J P, CANALES C, et al. Vaamana-a BEL1-like homeodomain protein, interacts with KNOX proteins BP and STM and regulates inflorescence stem growth in *Arabidopsis*[J]. *Gene*, 2004, 328: 103-111.
- [18] KIM D, CHO Y H, RYU H, et al. *BLH1* and *KNAT3* modulate ABA responses during germination and early seedling development in *Arabidopsis*[J]. *Plant Journal*, 2013, 75(5): 755-766.
- [19] SMITH H M S, BOSCHKE I, HAKE S. Selective interaction of plant homeodomain proteins mediates high DNA-binding affinity[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2002, 99(14): 9579-9584.
- [20] BYRNE M E, GROOVER A T, FONTANA J R, et al. Phyllotactic pattern and stem cell fate are determined by the *Arabidopsis* homeobox gene *BELLRINGER*[J]. *Development*, 2003, 130(17): 3941-3950.
- [21] MENG L H, FAN Z Q, ZHANG Q, et al. *BEL1-LIKE HOMEODOMAIN 11* regulates chloroplast development and chlorophyll synthesis in tomato fruit[J]. *Plant Journal*, 2018, 94(6): 1126-1140.
- [22] PROVENIERS M, RUTJENS B, BRAND M, et al. The Arabi-

- dopsis *TALE* homeobox gene *ATH1* controls floral competency through positive regulation of FLC[J]. *Plant Journal*, 2007, 52(5):899-913.
- [23] COLE M, NOLTE C, WERR W. 2006. Nuclear import of the transcription factor SHOOT MERISTEMLESS depends on heterodimerization with BLH proteins expressed in discrete sub-domains of the shoot apical meristem of *Arabidopsis thaliana*[J]. *Nucleic Acids Research*, 2006, 34(4):1281-1292.
- [24] RUTJENS B, BAO D P, VAN ECK-STOUTEN E, et al. Shoot apical meristem function in *Arabidopsis* requires the combined activities of three BEL1-like homeodomain proteins[J]. *Plant Journal*, 2009, 58(4):641-654.
- [25] MAGNANI E, HAKE S. *KNOX* lost the *OX*:: The *Arabidopsis KNATM* gene defines a novel class of *KNOX* transcriptional regulators missing the homeodomain[J]. *Plant Cell*, 2008, 20(4):875-887.
- [26] HAMANT O, PAUTOT V. Plant development: A *TALE* story[J]. *Comptes Rendus Biologies*, 2010, 333(4):371-381.
- [27] LI E Y, BHARGAVA A, QIANG W Y, et al. The Class II *KNOX* gene *KNAT7* negatively regulates secondary wall formation in *Arabidopsis* and is functionally conserved in *Populus*[J]. *New Phytologist*, 2012, 194(1):102-115.
- [28] ZHONG R Q, LEE C H, ZHOU J L, et al. A battery of transcription factors involved in the regulation of secondary cell wall biosynthesis in *Arabidopsis*[J]. *Plant Cell*, 2008, 20(10):2763-2782.
- [29] BHARGAVA A, MANSFIELD S D, HALL H C, et al. *MYB75* functions in regulation of secondary cell wall formation in the *Arabidopsis* inflorescence stem[J]. *Plant Physiology*, 2010, 154(3):1428-1438.
- [30] LI E Y, WANG S C, LIU Y Y, et al. Ovate family protein4 (OFP4) interaction with *KNAT7* regulates secondary cell wall formation in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Plant Journal*, 2011, 67(2):328-341.
- [31] TAO Y, CHEN M, SHU Y J, et al. Identification and functional characterization of a novel BEL1-LIKE homeobox transcription factor *GmBLH4* in soybean[J]. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 2018, 134(2):331-344.
- [32] WANG L, YANG X Y, GAO Y Q, et al. Genome-wide identification and characterization of *TALE* superfamily genes in soybean (*Glycine max* L.)[J]. *International Journal of Molecular Science*, 2021, 22(8):4117.
- [33] ZHAO K, ZHANG X M, CHENG Z H, et al. Comprehensive analysis of the three-amino-acid-loop-extension gene family and its tissue-differential expression in response to salt stress in poplar[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2019, 136:1-12.
- [34] HAN Y X, ZHANG L L, YAN L Y, et al. Genome-wide analysis of *TALE* superfamily in *Triticum aestivum* reveals *TaKNOX11-A* is involved in abiotic stress response[J]. *BMC Genomics*, 2022, 23(1):89.
- [35] WANG Y Y, ZHAO Y J, YAN M, et al. Genome-wide identification and expression analysis of *TALE* gene family in pomegranate (*Punica granatum* L.)[J]. *Agronomy-Basel*, 2020, 10(6):829.
- [36] WANG J, ZHAO P, CHENG B H, et al. Identification of *TALE* transcription factor family and expression patterns related to fruit chloroplast development in tomato (*Solanum lycopersicum* L.)[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(9):4507.
- [37] WANG L, YANG X Y, GAO Y Q, et al. Genome-wide identification and characterization of *TALE* superfamily genes in soybean (*Glycine max* L.)[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(8):4117.
- [38] 赵伟, 李锡香, 王海平, 等. 萝卜 *TALE* 转录因子家族的鉴定与分析[J]. *生物工程学报*, 2022, 38(1):343-358.
- [39] 赵长江, 宋巨奇, 都梦翔, 等. 玉米 *KNOX* 基因家族鉴定及组织和逆境表达分析[J]. *西北植物学报*, 2021, 41(7):1109-1119.
- [40] HE Y, YANG T W, YAN S W, et al. Identification and characterization of the *BEL1-like* genes reveal their potential roles in plant growth and abiotic stress response in tomato[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(1):193-205.
- [41] DAI H W, ZHENG S T, ZHANG C, et al. Identification and expression analysis of the *KNOX* genes during organogenesis and stress responsiveness in *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze[J]. *Molecular Genetics and Genomics*, 2023, 298(6):1559-1578.
- [42] SUN R R, QIN T F, WALL S B, et al. Genome-wide identification of *KNOX* transcription factors in cotton and the role of *GhKNOX4-A* and *GhKNOX22-D* in response to salt and drought stress[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2023, 226:1248-1260.
- [43] IANNELLI M A, NICOLODI C, CORAGGIO I, et al. A novel role of *Medicago truncatula KNAT3/4/5-like* class 2 *KNOX* transcription factors in drought stress tolerance[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(16):12668.