

• 药材与资源 •

全基因组水平金银花 *TCP* 基因家族的鉴定及表达模式分析

谭政委^{1,2}, 郭水柱^{3#}, 苏小雨^{1,2}, 孙 瑶^{1,2}, 余永亮^{1,2}, 李 磊^{1,2}, 张利超⁴, 许兰杰^{1,2}, 鲁丹丹^{1,2}, 安素妨^{1,2}, 李春明^{1,2}, 梁慧珍^{1,2*}, 王子君^{5*}

1. 河南省农业科学院中药材研究所, 河南 郑州 450002
2. 河南省农业科学院 芝麻研究中心, 河南 郑州 450002
3. 仲景宛西制药股份有限公司, 河南 南阳 474550
4. 承德市中药材绿色生态种植技术服务中心, 河北 承德 067000
5. 驻马店市种子服务站, 河南 驻马店 463000

摘要:目的 对金银花 *Lonicera japonica* *TCP* (*LjTCP*) 基因家族进行鉴定分析, 以期为进一步研究 *LjTCPs* 的功能机制奠定基础。**方法** 以金银花基因组数据为基础, 通过生物信息学系统分析 *TCP* 基因家族在染色体上的分布、系统进化、基因结构、启动子元件及其表达模式。**结果** 共鉴定出 17 个 *LjTCPs*, 其中 16 个 *LjTCPs* 分布在 9 条染色体上, *LjTCP17* 未定位到染色体上, 基于系统进化树和多重序列比对, *LjTCP* 基因家族可以分为 PCF、CIN 和 CYC/TB1 3 个亚家族, 分别包含 9、6、2 个 *LjTCPs*。基因组内共线性分析表明, 全基因组复制和片段性复制在 *LjTCP* 基因家族进化中发挥了重要作用。*LjTCP* 基因家族启动子包含许多与植物生长发育、激素响应, 以及非生物和生物胁迫相关的调控元件。表达模式分析表明, *LjTCP* 基因在金银花花发育初期表达量较高, 随着发育进程表达量呈现下降趋势, 并且 *LjTCP05*、*LjTCP13*、*LjTCP14*、*LjTCP16* 和 *LjTCP17* 基因在花青素含量不同的品种中表达量存在差异。对 6 个具有低温响应元件的 *LjTCPs* 在冷胁迫下的基因表达研究表明, 大部分基因在冷处理后基因表达呈现上升趋势。**结论** 金银花 *TCP* 基因家族包含 17 个成员, 各成员的分子特征和表达模式存在差异。

关键词: 金银花; *TCP* 转录因子; 基因家族; 共线性分析; 系统进化; 表达模式

中图分类号: R286.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)05-1665-12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.05.024

Genome-wide analysis of *TCP* gene family and their expression pattern analysis in *Lonicera japonica*

TAN Zhengwei^{1,2}, GUO Shuizhu³, SU Xiaoyu^{1,2}, SUN Yao^{1,2}, YU Yongliang^{1,2}, LI Lei^{1,2}, ZHANG Lichao⁴, XU Lanjie^{1,2}, LU Dandan^{1,2}, AN Sufang^{1,2}, LI Chunming^{1,2}, LIANG Huizhen^{1,2}, WANG Zijun⁵

1. Institute of Chinese Herbal Medicines, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, China
2. Sesame Research Center, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, China
3. Zhongjing Wanxi Pharmaceutical Co., Ltd., Nanyang 474550, China
4. Technology Service Center on Ecological Planting of Chinese Herbal Medicine in Chengde, Chengde 067000, China
5. Seed Management Department of Zhumadian, Zhumadian 463000, China

Abstract: Objective Genome-wide identification of the *TCP* gene family in *Lonicera japonica* lays the foundation for further studying the functional mechanisms of the *LjTCPs*. **Methods** Based on the genomic data of *L. japonica*, the distribution on chromosomes, phylogenetic evolution, gene structure, promoter elements, and expression patterns of the *TCP* gene family were

收稿日期: 2023-07-05

基金项目: 河南省重大科技专项 (221100310400); 财政部和农业农村部: 国家现代农业产业技术体系资助 (CARS-21); 河南省科技攻关项目 (242102112173, 242102112161, 232102110198, 232102110243, 232102110262); 中央本级重大增减支项目“名贵中药资源可持续利用能力建设项目”(2060302); 河南省重点研发计划 (231111110800)

作者简介: 谭政委 (1983—), 男, 副研究员, 博士, 主要从事药用植物功能基因研究。E-mail: zhwtan@126.com

#共同第一作者: 郭水柱 (1977—), 男, 高级工程师, 主要从事中药材规范化种植技术研究、推广工作。E-mail: gsz101@163.com

*通信作者: 梁慧珍, 女, 研究员, 博士, 主要从事药用植物遗传育种。E-mail: lhzh66666@163.com

王子君, 男, 高级农艺师, 主要从事农作物品种选育、推广等工作。E-mail: wangzijun688@163.com

analyzed using bioinformatics tools. **Results** A total of 17 *LjTCP*s were identified, with 16 *LjTCP*s distributed on nine chromosomes and *LjTCP17* not located on any chromosome. Based on the phylogenetic tree and multiple sequence alignment, the *LjTCP* gene family could be divided into three subfamilies: PCF, CIN and CYC/TB1, which contained nine, six, and two *LjTCP*s, respectively. The genomic collinearity analysis indicated that whole genome duplication and segmental duplication played important roles in the evolution of the *LjTCP* gene family. The promoter regions of the *LjTCP* gene family contained many regulatory elements related to plant growth and development, hormone responses, as well as biotic and abiotic stress. Expression pattern analysis showed that *LjTCP* genes had higher expression levels in the early stage of flower development, which decreased during the development process. Furthermore, the expression levels of *LjTCP05*, *LjTCP13*, *LjTCP14*, *LjTCP16* and *LjTCP17* genes varied among varieties with different anthocyanin contents. Expression profiles studies of six *LjTCP*s with low-temperature responsive elements under cold stress showed that most genes exhibited an up-regulation in gene expression after cold treatment. **Conclusion** The *L. japonica* TCP gene family consists of 17 members, and each member displayed distinct molecular characteristics and expression patterns.

Key words: *Lonicera japonica* Thunb.; TCP transcription factor; gene family; collinearity analysis; phylogenetic evolution; expression profiles

TCP 转录因子是植物特有的转录因子^[1], 是以玉米中的 Teosinte 分支 1 (Teosinte branched1, TB1)、金鱼草中的 CYC (Cycloidea) 和水稻中的增殖细胞因子 1 (proliferating cell factors 1, PCF1)、增殖细胞因子 2 (proliferating cell factors 2, PCF2) 4 个基因的首字母而得名^[2-4]。TCP 蛋白家族都具有一个由 59 个氨基酸组成的碱性螺旋-环-螺旋 (basic Helix-Loop-Helix, bHLH) 保守结构域, 该结构域参与 DNA 结合、蛋白互作和亚细胞定位。根据保守结构域序列特征, TCP 家族又分为 Class I 和 Class II, Class I 又称 PCF 类或 TCP-P 类, Class II 又进一步分为 CYC/TB1 和 CIN 亚类, 其中 I 类 TCP 的碱性区比 II 类 TCP 少 4 个氨基酸残基^[4-5]。TCP 蛋白可以直接或间接调控多个基因的表达, 不同类型的 TCP 蛋白因其结构域差异结合不同靶基因的顺式作用元件, 大量研究表明, Class I 类 TCP 蛋白特异性结合含有 GGNCCCAC 元件的基因, Class II 类 TCP 则倾向于结合含有 G(T/C)GGNCCC 元件的基因^[3]。

TCP 基因家族广泛参与种子萌发及胚胎生长^[6]、侧枝形成^[7]、花器官形成^[8]、生物和非生物胁迫^[9]、次生代谢物生物合成^[10-11]、氮素利用^[12]等植物生长发育的多个生物学过程。TCP 蛋白可以单独或通过与其他蛋白形成复合体的形式调控下游基因的表达, 并且不同 TCP 对同一个基因的调控机制也有所不同。在拟南芥的研究中, AtTCP20 和 AtTCP4 都可以调控靶基因脂氧合酶 2 (*Lipoxygenase 2*, *LOX2*) 的表达, 其中 AtTCP20 抑制 *LOX2* 基因的表达, 而 AtTCP4 激活 *LOX2* 基因的表达^[13-14]。另外, AtTCP4 还能结合到 *GIS* (*Glabrous inflor-escence stems*)、叶绿素合成相关基因原茶碱还原酶 (*Protochlorophyllide reductase*, *PORB*)、二乙烯基还原酶

(*Divinyl reductase*, *DVR*) 和过表达抑制剂 (*Suppressor of overexpression of CO1*, *SOC1 CO1*) 启动子区域, 调控这些基因的表达^[15-16]。在蝴蝶兰中, PePCF10 和 PeCIN8 可各自形成同源二聚体, 参与胚珠发育相关生理过程^[17], 在拟南芥中, AtTCP3 可以通过与 R2R3-MYBs-TT8 互作, 增强其稳定性, 从而正调控类黄酮生物合成^[11]。AtTCP20 与转录因子 AtNLP6、AtNLP7 在细胞核内形成异源二聚体, 激活氮同化关键基因 *AtNIA1* 的转录表达, 从而提高植株氮同化能力^[18]。在水稻的最新研究中, OsTCP19 蛋白通过结合于水稻分蘖相关基因半矮化少分蘖突变体 (*dwarf and low-tillering*, *DLT*) 并抑制其必到从而决定水稻氮信号响应及分蘖^[12]。在毛杨树的相关研究中发现 PtoTCP20 与 PtoWOX4a 相互作用, 激活 *PtoWIND6* 的转录, 从而影响次生维管组织发育^[19]。此外, 大量研究表明, TCP 蛋白参与植物次生代谢调控及生物、非生物胁迫响应过程, 在草莓中 FvTCP9 与 FaMYC1 相互作用促进花青素的积累, 促进果实成熟^[20]。番茄 CRN12_997 与 SITCP14-2 结合, 会增加植株对辣椒灰霉病的易感性^[21]。

金银花 *Lonicera Japonica Flos* 是我国临床常用大宗中药材, 金银花中含有丰富的挥发油、黄酮类、有机酸类、三萜类和环烯醚萜类等化学成分, 因其具有抗菌消炎、抗病毒、抗肿瘤、抗衰老等功效而具有重要的临床药用价值^[22-23]。不同种质金银花在株型、枝条和叶片形态及化学成分含量等方面均存在较大差异, 目前关于金银的研究多集中于资源评价、花色形成及药理学方面, 分子遗传学方面报道相对较少, 目前国内外尚未见金银花 TCP 基因家族转录因子的相关研究报道。随着金银花基因组测序

完成,其基因组数据为遗传育种和功能基因的鉴定提供了重要参考。本研究通过生物信息学方法,对金银花基因组中的 *TCP* 基因家族转录因子进行鉴定,并对序列特征、进化关系、表达模式等进行综合分析,以期为进一步探索研究金银花 *TCPs* 基因的功能奠定基础。

1 材料与仪器

1.1 材料

本研究所用金银花品种‘密银花 1 号’为团队 2020 年河南省省级审定品种,经河南省农业科学院中药材所梁慧珍研究鉴定为忍冬科忍冬属植物忍冬 *Lonicera japonica* Thunb.。

1.2 仪器

QIAquant 96 荧光定量 PCR 仪(德国 QIAGEN 公司);5424R 高速离心机(德国 Eppendorf 公司);DYY-8C 型电泳仪(北京六一仪器厂);Tanon2500 凝胶成像(上海天能生命科学有限公司)。

2 方法

2.1 样品的处理

将 1 年生扦插苗盆栽,在自然条件下生长,将盆栽苗置于低温冰箱中做冷处理(4℃),在处理 6、12、24、36 和 48 h 取样,0 h 作为对照,3~5 株叶片收集并混合作为一个生物学重复,每个时间点取 3 个生物学重复,将样品在液氮中速冻,然后转移至超低温冰箱中保存备用。

2.2 金银花 *TCP* 基因家族的鉴定

根参考金银花基因组相关文献,在国家基因组科学数据中心(<https://bigd.big.ac.cn/gwh>)下载金银花基因组序列、蛋白序列及基因组注释文件(项目编号:PRJCA001719)。从 pfam 数据库下载 *TCP* 转录因子的隐马尔科夫模型(hindden market model, HMM)文件(登陆号:PF03634),在国家超级计算郑州中心服务器上通过 HMMER 软件检索金银花蛋白质序列数据库,*E-value* 设置为 0.001,筛选出候选基因。利用 SMART(<http://smart.emblheidelberg.de/>)、CD-Search Tool(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/bwrpsb/bwrpsb.cgi>)检测候选蛋白质序列,剔除不含 bHLH 基序的蛋白序列,最后得到金银花中编码 *LjTCP* 蛋白的基因序列。

2.3 *LjTCP* 基因染色体定位、基因复制及共线性分析

根据基因注释文件,利用 TBtools 软件将鉴定出的 *LjTCP* 基因锚定到染色体上,并根据 *LjTCP* 基因在染色上的位置进行命名编号。通过 TBtools^[23]

软件中的 One Step MCScanX 分析金银花基因组内 *LjTCP* 基因家族成员间复制关系,通过 Advance Circos 模块对复制关系进行展示。

2.4 *LjTCP* 转录因子家族成员理化性状及结构特性分析

通过在线软件 ProtParam(<http://web.expasy.org/protparam/>)分析蛋白理化性质,使用 Plant-mPLoc(<http://www.csbio.sjtu.edu.cn/bioinf/plant-multi/>)预测 *LjTCPs* 蛋白亚细胞定位,利用在线工具 ExPASy(<https://www.expasy.org/tools>)预测 *LjTCPs* 氨基酸数量、相对分子质量、理论等电点,通过 Expasy(<https://web.expasy.org/protscale/>)软件分析蛋白的亲疏水性。通过 TBtools 软件对 *LjTCP* 基因家族成员的内含子和外显子结构信息进行分析展示。

2.5 *LjTCP* 基因蛋白质序列多重比对与系统发育树构建

采用 MEGA 7.0 软件中 ClusterW 对金银花、拟南芥和水稻中 *TCP* 基因进行多序列比对,并通过邻接法进行系统发育树构建,Bootstrap 设置为 1000,根据拟南芥和水稻中 *TCP* 基因对金银花 *TCP* 进行分组,通过 Evolview 在线软件和 Adobe Illustrator 软件对进化树进行美化;通过 ClusterW 对不同分组中 *LjTCP* 保守结构域进行多序列比对,并通过 GeneDoc 软件对比对结果进行美化展示。

2.6 保守基序及启动子分析

通过本地 MEME(v5.4.1)软件对 *LjTCP* 基因家族成员进行基序分析,参数:maximum number of Motifs=10, minimum width≥6, maximum width ≤50。为了解析 *LjTCPs* 启动子区域顺式作用元件,提取 *LjTCPs* 基因 ATG 上游 2000 bp 序列,利用 Plant CARE(<https://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>)软件进行启动子顺式作用元件分析,并通过 TBtool 和 R version 4.3.1 软件对启动子分析结果进行展示。

2.7 *LjTCP* 基因家族表达模式分析

在国家基因组科学数据中心(<https://bigd.big.ac.cn/gwh>)中下载金银花不同发育时期(S1~S8)转录组数据(项目编号:PRJCA001719)^[23],从 NCBI 的 Short Read Arshive(SRA)数据库中下载‘封金 1 号’(F_5,低花青素含量品种)和‘豫金 2 号’(Y_5,高花青素含量品种)花期为 S5 期转录组数据(项目编号:PRJNA861870)^[24],在国家超级计算郑州中心服务器通过 fastp 软件对原始

数据进行过滤，去除接头，得到 clean reads，利用 HISAT2 将 clean Reads 与金银花参考基因组进行序列比对，利用 featuresCounts 软件，对 reads 进行精确的计数，并计算 FPKM 值，*LjTCP* 基因家族成员的相对表达丰度用 $\log_2(\text{FPKM}+1)$ 值表示，通过 R 软件中的 Pheatmap 包对其表达量进行热图展示。

2.8 实时荧光定量 PCR (quantitative real-time PCR, qRT-PCR)

通过 qRT-PCR 技术检测 *LjTCP* 基因家族基因在冷胁迫处理后基因表达变化。利用 RNA 提取试剂盒

提取各组织样品的 RNA。利用 1.2% 琼脂糖凝胶电泳检测提取的总 RNA 的质量和完整性，测定 RNA 的浓度及纯度，并将总 RNA 反转录为第一链 cDNA。使用 PrimerPremier5 软件设计定量引物（表 1），每个荧光定量 PCR 反应重复 3 次。数据通过 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 相对定量法对基因进行表达水平分析，结果以 3 个生物重复的 $\bar{x} \pm s$ 值表示，用 Student's *t*-test 对处理后 6、12、24、36、48 h 与 0 h 样品表达量进行显著性分析， $P < 0.01$ 表示差异具有显著性，通过 GraphPad Prism 8 软件进行绘图。

表 1 qRT-PCR 分析所用引物序列信息
Table 1 Primer sequences used for qRT-PCR

基因名称	正向引物 (5'-3')	反向引物 (5'-3')
<i>LjTCP08</i>	TTCAAACCCCGGCCGATC	CCCTCGGCCGTCAACTTT
<i>LjTCP13</i>	GAACCTCCCACAGCCAC	AGGCTCTCTTCGGGGCTA
<i>LjTCP14</i>	GTCGCGCTTGGGAGGATT	AAATCGGGCCGGAACCTCG
<i>LjTCP15</i>	TCTCGCTCCACCATCCA	CTTCGTGTGGCGGTCTT
<i>LjTCP16</i>	ACTTCGGCGTCAAGTGCA	CTCGGAGCAGCGATGGAG
<i>LjTCP17</i>	ACGCGCATTTGGGGGAAA	GGATGGCGGTGGGTACTG

3 结果与分析

3.1 *LjTCP* 基因家族的鉴定及理化性质分析

利用 pfam 数据库中 *TCP* 家族转录因子保守结构域 bHLH（登陆号 PF03634），通过检索金银花基因组，共鉴定出 17 个 *LjTCPs*，利用 Pfam 和 NCBI 的 Conserved Domain Search 在线分析软件对 *LjTCP* 蛋白进行结构域验证。结果表明，17 个 *LjTCPs* 蛋白均含有非典型的 bHLH 特征结构域，分别命名为

LjTCP01~*LjTCP17*（表 2）。使用 ExPASy 工具对 *LjTCP* 家族成员进行蛋白质理化性质分析，*LjTCP01* 蛋白最长，编码 379 个氨基酸，*LjTCP04* 蛋白最短，编码 202 个氨基酸，相对分子质量分布区域为 22 119.09~42 098.05，等电点范围是 6.06（*LjTCP14*）~9.74（*LjTCP04*），大多数蛋白为碱性蛋白，且具有良好的亲水性。亚细胞定位预测结果显示，*LjTCPs* 均定位在细胞核中（表 2）。

表 2 金银花 *LjTCP* 基因家族氨基酸序列特征分析
Table 2 Analysis of amino acid sequence characteristics of *LjTCP* gene family in *L. japonica*

基因名称	基因 ID	氨基酸长度/aa	相对分子质量	等电点	总平均亲水性	亚细胞定位
<i>LjTCP01</i>	Lj1P834T10.1	379	42 098.05	6.30	-0.839	细胞核
<i>LjTCP02</i>	Lj1P1171T8.1	334	36 487.97	8.87	-0.828	细胞核
<i>LjTCP03</i>	Lj1P1196T18.1	305	34 146.84	6.25	-0.709	细胞核
<i>LjTCP04</i>	Lj2C116T10.1	202	22 119.09	9.74	-0.542	细胞核
<i>LjTCP05</i>	Lj2P321T31.1	320	34 925.44	9.66	-0.766	细胞核
<i>LjTCP06</i>	Lj3P847T38.1	257	27 044.24	9.51	-0.472	细胞核
<i>LjTCP07</i>	Lj4C131T10.1	244	28 027.49	8.69	-0.864	细胞核
<i>LjTCP08</i>	Lj5C112G14.1	278	30 390.91	9.27	-0.619	细胞核
<i>LjTCP09</i>	Lj6C711T10.1	251	26 836.27	9.30	-0.388	细胞核
<i>LjTCP10</i>	Lj6C716T2.1	251	26 884.32	9.30	-0.400	细胞核
<i>LjTCP11</i>	Lj6C789T7.1	357	39 283.52	8.90	-0.773	细胞核
<i>LjTCP12</i>	Lj7C10T1.1	271	31 416.82	9.69	-0.838	细胞核
<i>LjTCP13</i>	Lj7P611T37.1	271	28 839.29	9.07	-0.488	细胞核
<i>LjTCP14</i>	Lj8C104T1.1	265	29 329.40	6.06	-0.638	细胞核
<i>LjTCP15</i>	Lj9C462T10.1	354	38 210.47	7.91	-0.594	细胞核
<i>LjTCP16</i>	Lj9C575T8.1	355	37 595.57	9.07	-0.292	细胞核
<i>LjTCP17</i>	Lju41C2T15.1	302	33 752.56	6.66	-0.733	细胞核

3.2 *LjTCP* 基因家族成员染色体定位及共线性分析

共有 17 个金银花 *LjTCP* 基因被映射到 9 条染色体上(图 1), 其中 *LjTCP17* 是唯一未组装在染色体上的基因。*LjTCP* 基因在所有染色体上都有分布, 但总体上呈现不均匀分布, 其中第 1 条(*LjTCP01*、

LjTCP02、*LjTCP03*) 和 6 条染色体 (*LjTCP09*、*LjTCP10*、*LjTCP11*) 上有 3 个 *LjTCP* 基因, 第 2 条 (*LjTCP04*、*LjTCP05*)、第 7 条 (*LjTCP12*、*LjTCP13*) 和 9 条染色体 (*LjTCP15*、*LjTCP16*) 上有 2 个 *LjTCP*, 其余染色体上只有一个 *LjTCP*。

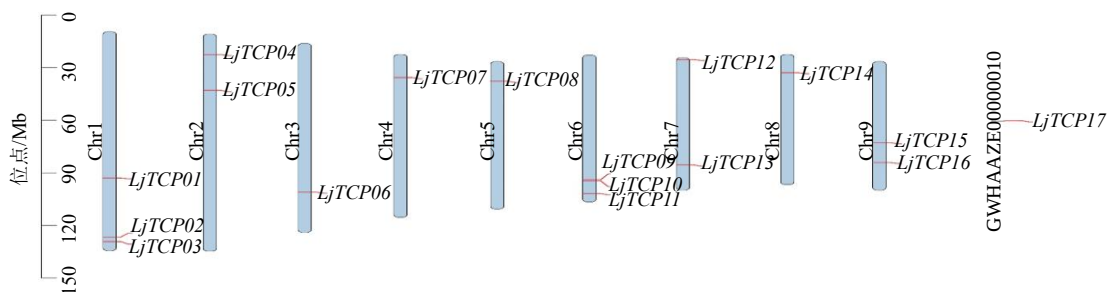


图 1 *LjTCP* 基因家族的染色体定位

Fig. 1 Chromosomal location of *LjTCP* gene family

基因复制被认为是基因组和遗传系统进化的主要驱动力之一，重复基因为新基因的产生提供了原材料，而新基因则促进了新功能的产生。为了了解 *LjTCP* 基因家族的扩增机制，对金银花基因组的复制事件进行了全面分析，结果表明（图2），金银花 *LjTCP* 基因家族中没有发现串联重复事件，但有 11 个基因（*LjTCP01/LjTCP14*、*LjTCP03/LjTCP14*、*LjTCP06/LjTCP09*、*LjTCP06/*

LjTCP10、*LjTCP07/LjTCP12*、*LjTCP08/LjTCP11*、*LjTCP08/LjTCP15*、*LjTCP09/LjTCP10*、*LjTCP11/LjTCP15*) 共 9 对基因间存在共线性关系, 另外, 通过基因复制事件分析显示, 除 *LjTCP04* 和 *LjTCP17*, 其余 15 个 *LjTCP* 基因中检测到了全基因组复制和片段性复制事件, 其中 *LjTCP17* 未检测到复制事件可能主要是由于该基因未定位到染色体上。

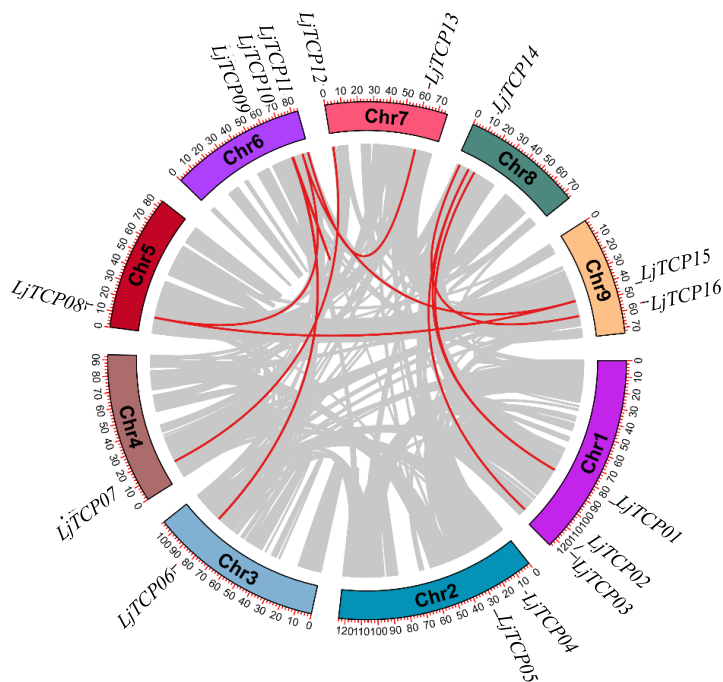


图 2 *LjTCP* 基因家族的共线性分析

Fig. 2 Collinearity analysis of *TCP* gene family from *L. japonica*

3.3 *LjTCP* 基因家族成员基因结构和蛋白保守基序分析

利用 *LjTCP* 蛋白全长氨基酸序列构建系统发育树, 结果显示, *LjTCP* 蛋白成员可以分成 2 个亚群(图 3-A)。为了深入了解 *LjTCP* 家族成员蛋白保守基序组成, 通过 MEME 软件对其保守基序进行预测, 如图 3-B 显示, 所有 *LjTCP* 家族成员均具有保守的 TCP 结构域 (Motif1)。第 I 亚群的 9 个成员都含 Motif2, 并且该亚群中所含的保守基序种类较多, Motif4、Motif5

只存在于第 II 亚群中, 并且同一亚群中具有相似的保守基序, 而不同亚群中保存基序种类差异较大, 这暗示同一亚群中成员可能具有相似的功能, 而不同亚群中功能可能有所差异。另外, 通过基因结构分析结果显示, *LjTCP* 家族成员基因结构相对比较简单, 其中 *LjTCP02* 和 *LjTCP05* 含有 2 个内含子, *LjTCP01*、*LjTCP07*、*LjTCP08*、*LjTCP09*、*LjTCP10*、*LjTCP12* 和 *LjTCP13* 只含有 1 个内含子, 其余 *LjTCP* 不含内含子 (图 3-C)。

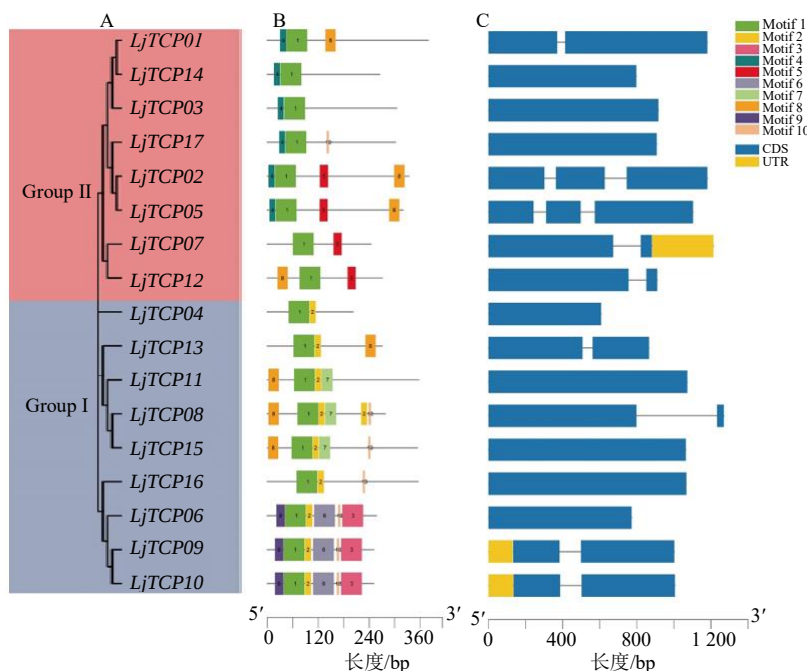


图 3 *LjTCP* 基因家族进化树 (A)、保守结构域 (B) 和基因结构 (C) 分析

Fig. 3 Phylogenetic tree (A), conserve motif (B) and gene structure (C) analysis of *LjTCP* genes family

3.4 *LjTCP* 基因家族系统发育树构建及多重比对分析

为了阐明 *LjTCP* 蛋白质的序列特征, 对所有 *LjTCP* 进行了多序列比对, 结果表明在 59 个残基的 TCP 结构域中, BASIC 区域保守性最强, Helix 区域保守性较差, Loop 区域变化较大。确定 17 个 bHLH 结构域中相同的 19 个残基: 10 个在 Basic 区域 (KDRHXKVXXRXXRXR), 2 个螺旋中的 7 个疏水性残基以及 1 个断裂螺旋的甘氨酸 (图 4)。

基于系统发育树和 TCP 结构域的特征, *LjTCP* 蛋白质被分为 2 类 (图 5): 第 1 类为 PCF 组, 包含 9 个 *LjTCP* 蛋白质; 第 2 类包含 2 个亚组, 即 CIN 和 CYC/TB1。CIN 组有 6 个 *LjTCP* 蛋白质, CYC/TB1 组有 2 个 *LjTCP* 蛋白质。每个组都具有独特的序列和结构特征。例如, 在 Basic 区域, PCF 组比 CIN 和 CYC/TB1 组少了 4 个氨基酸残基 (图 4), 这使

得这 2 种类型的 TCP 蛋白质具有不同但相似的 DNA 结合位点 (第 1 类为 GGNCCAC, 第 2 类为 GTGGNCCC)。在 Helix 和 Loop 区域方面, 每种类型 TCP 都具有独特的氨基酸序列特征, 如在 Helix I 区域的最后 3 个残基中, PCF 组成员为 TRE, CIN 组为 QDR, CYC/TB1 组为 QDL 和 QDM (图 4)。

3.5 *LjTCP* 基因家族成员启动子顺式作用元件分析

为了进一步了解金银花中 *TCP* 转录因子的潜在功能和调控机制, 使用 PlantCARE 对翻译起始位点上游近 2.0 kb 的序列区域进行顺式作用元件分析。结果几乎所有的 *LjTCP* 基因在启动子区域都有至少 7 个以上顺式作用元件 (图 6)。这些顺式作用元件进一步被分为 4 类: 生理响应、光响应、植物激素响应和胁迫 (图 7)。第 1 类是与植物生长和发育相关的生理响应元件, 包括 O2-site、CAT-box、circadian、MSA-like 等。第 2 类是含光响应元件,

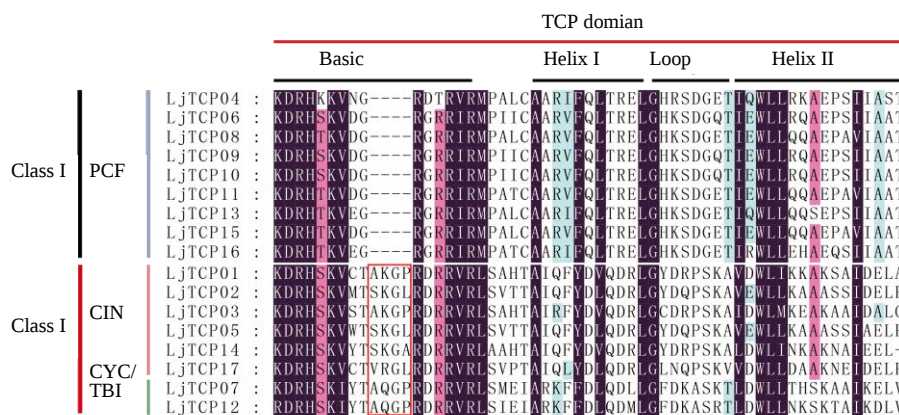
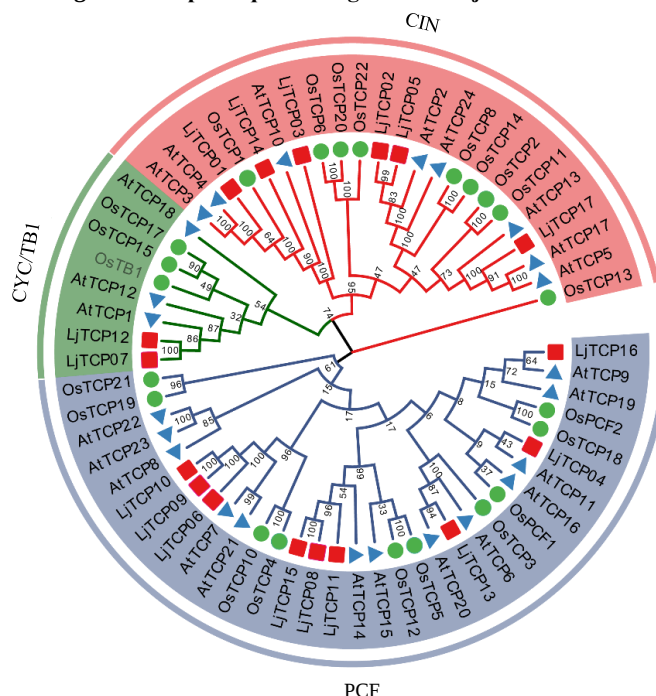


图 4 LjTCPs 结构域的多序列比对

Fig. 4 Multiple sequence alignment of LjTCPs domain



不同物种的 TCP 蛋白用不同颜色的点进行标记，红色正方形代表金银花，蓝色三角形代表拟南芥，绿色圆形代表水稻。

TCP proteins from the different species were marked with different colored dots, red squares represented *L. japonica*, blue triangles represented *Arabidopsis thaliana*, green cycles represented *Oryza sativa*.

图 5 金银花、拟南芥和水稻 TCP 基因家族的系统发育分析。

Fig. 5 Phylogeny analysis of TCP gene family among *L. japonica*, *Arabidopsis thaliana* and *Oryza sativa*.

包括 GATA-motif、G-box、BoxII、GT1-motif、Sp1 等。其中 GT1-motif 元件是在 *LjTCP* 基因家族成员启动子中最丰富的顺式作用元件。第 3 类是植物激素响应元件，由 TGACG-motif、TCA-element、ABRE、P-box、GARE-motif 等组成。例如，*LjTCP03* 的启动子区域具有 CGTCA-motif、TGACG-motif、ABRE、P-box、GARE-motif 和 TATC-box 顺式作用元件，这些顺式作用元件与茉莉酸甲酯 (methyl jasmonate, MeJA)、脱落酸 (abscisic acid, ABA)、

生长素、赤霉素 (gibberellic acid, GA) 响应应有关，据推测 *LjTCP03* 可能参与多种激素响应。第 4 类是非生物与生物胁迫相关的顺式作用元件，包括抗氧化应答元件 (antioxidant response elements, ARE)、低温应答 (low temperature responsive Element, LTR) 元件、干旱诱导元件 (MYB binding site, MBS)、创伤应答元件 (Wun-motif) 和 TC-rich repeats。LTR 元件在 6 个 *LjTCPs* 启动子中被发现，其中 *LjTCP16* 启动子区域含有 2 个 LTR 元件。值得注意的是，

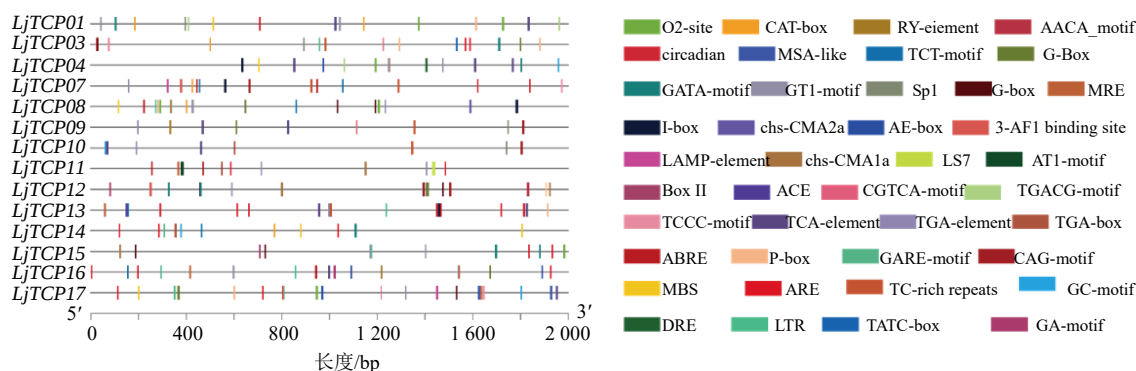


图 6 *LjTCP* 基因家族启动子区域顺式作用元件分析

Fig. 6 Analysis of promoter *cis*-acting elements of *LjTCP* gene family

	生理响应				光响应				激素响应				胁迫响应			
	O2-site	CAT-box	RY-element	AACA_motif	circadian	MSA-like	GATA-motif	GT1-motif	Sp1	G-box	MRE	TCT-motif	Gap-box	GA-motif	TCCC-motif	L-box
LjTCP01	2	0	0	0	0	1	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0
LjTCP02	0	0	0	0	0	1	2	0	1	1	2	1	1	0	0	0
LjTCP03	0	1	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0
LjTCP04	1	0	0	0	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	2	1
LjTCP07	0	1	0	0	0	0	1	0	2	0	2	0	0	0	1	0
LjTCP08	3	1	0	0	0	1	1	1	1	0	1	0	0	0	2	0
LjTCP09	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
LjTCP10	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
LjTCP11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
LjTCP12	0	0	0	0	0	0	2	0	2	0	0	0	0	0	1	0
LjTCP13	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0
LjTCP14	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
LjTCP15	1	0	0	0	0	2	2	0	1	0	0	0	0	0	1	0
LjTCP16	0	1	0	0	0	4	0	1	2	1	0	1	0	0	0	0
LjTCP17	1	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0

图 7 *LjTCP* 基因家族启动子区域顺式作用元件数量统计分析

Fig. 7 Statistical analysis of number of *cis*-acting elements in promoter region of *LjTCP* gene family

LjTCP10 基因中不包含任何与非生物或生物胁迫相关的元件。总的来说, 这些结果表明 *LjTCP* 基因家族可能与生长发育、激素和胁迫响应有关。

3.6 *LjTCP* 基因家族成员表达模式分析

为了探究 *LjTCP* 基因家族在花发育不同时期的表达模式, 利用金银花转录组数据对花发育的 8 个时期 (S1~S8) 的表达模式进行分析, 结果表明, 大部分基因在 S1~S3 期中表达量较高, 随着发育进程表达量呈现下降的趋势 (图 8-A)。在其他植物的研究中发现, *TCP* 基因调控花青素合成结构基因的表达, 影响植物花青素和花色的形成, 为了探究 *LjTCP* 基因是否可能参与金银花花青素合成调控过程, 对 2 个金银花花青素含量差异明显的品种的 *LjTCP* 基因表达量进行 FPKM 分析, 结果表明 *LjTCP05*、*LjTCP13*、*LjTCP14*、*LjTCP16* 和 *LjTCP17* 在 2 个品种中表达量具有明显的差异, 其中 *LjTCP05*、*LjTCP13*、*LjTCP14* 和 *LjTCP17* 在花青素含量较少的品种封金 1 号中表达量较高, *LjTCP16*

在花青素含量较高的品种豫金 2 号中表达量较高 (图 8-B)。

3.7 冷处理下 *LjTCP* 基因家族成员表达模式分析

为了研究 *LjTCP* 基因家族在应对低温反应中的表达模式, 选择了 6 个含有 LTR 顺式作用元件的 *LjTCP* 基因, 并调查其在诱导低温胁迫 (4 °C) 的不同阶段 (0、6、12、24、48 h) 的表达水平。结果如图 9 所示, 根据表达模式, 可以将这 6 个基因分为 3 类, 第 1 类 *LjTCP8* 和 *LjTCP14* 随着冷处理的进行其表达量持续升高, 在冷处理 48 h 后, 表达量达到最高; 第 2 类 *LjTCP13* 和 *LjTCP16* 在处理后的表达量先降低, 随后升高, 但 *LjTCP13* 和 *LjTCP16* 表达模式略有不同, *LjTCP13* 在处理后的表达量先降低随后升高, 在冷处理 36 h 后表达量达到最高, 而 *LjTCP16* 则是表达量先降低, 随后升高, 在 24 h 后达到表达量最高峰, 随后表达量降低至处理前水平; 第 3 类 *LjTCP15* 和 *LjTCP17* 表达量先升高后降低至基础表达水平。

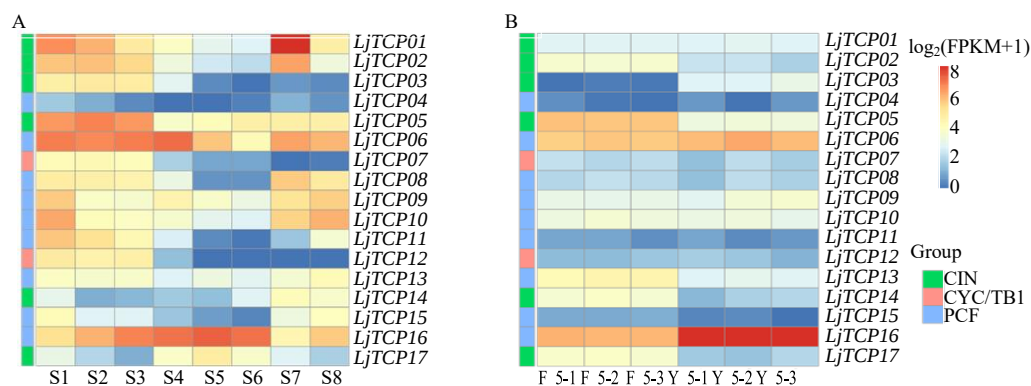
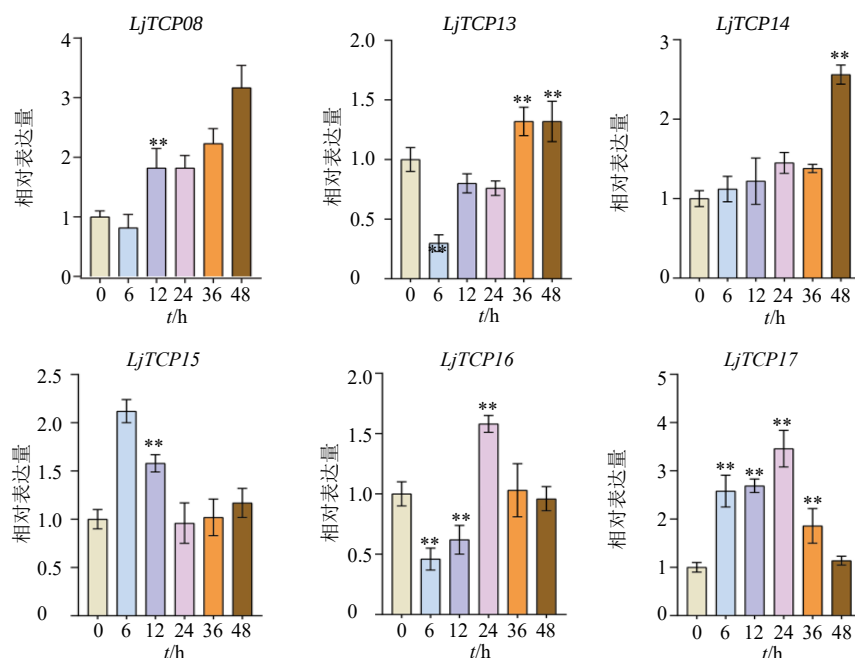


图 8 *LjTCP* 基因家族在不同发育阶段 (A) 和 2 个品种的金银花 (B) 中的表达模式

Fig. 8 Expression heatmap of *LjTCP* gene family in different developmental stages (A) and two varieties (B) of *L. japonica*



**表示与对照组比较差异极显著, $P < 0.01$ 。

** indicates extremely significant difference, $P < 0.01$.

图 9 *LjTCP* 基因家族冷处理后表达模式分析

Fig. 9 Expression profiles analysis of *LjTCP* gene family under cold stress

4 讨论

金银花是一种兼具药用、观赏作用的经济作物,但关于金银花发育的生物学机制相关研究较少,TCP 作为植物的特异转录因子家族,在植物生长发育、生物和非生物胁迫响应过程的多个方面起至关重要的作用。随着越来越多的植物基因组测序完成,大量植物中的 TCP 基因家族在全基因组范围内进行了鉴定,不同物种中鉴定的 TCP 数目也不尽相同,如在拟南芥^[25]、水稻^[26]、茶树^[27]中分别鉴定出 24、22 和 37 个 TCP 基因家族成员。本研究从全基因组水平,对金银花 TCP 基因家族进行了鉴定,共

鉴定出 17 个 TCP 基因,其基因总数与其他物种中 TCP 数目有所差异,说明不同物种间该家族的基因数量也存在一定差异,这可能与不同物种间基因组大小、基因扩张程度不同有关。其中 *LjTCP01*~*LjTCP16* 不均匀的分布于金银花基因组 9 条染色体上,受限于金银花基因组测序质量问题,*LjTCP17* 定位于 contig 上,而未能定位到染色体上。在植物基因组中,基因复制和分化是基因家族扩张和新功能演化的必要步骤。为了评估复制对 *LjTCP* 基因家族的影响。基因组内共线性分析结果表明 *LjTCP* 复制类型主要为全基因组复制和片段性复制,有 15 个

LjTCPs 参与了片段复制事件, 有 9 对基因间存在共线性关系, 但未发现串联重复, 这与葡萄^[28]、玉米^[29]、棉花^[30]的研究结果一致, 这说明全基因组复制合片段性复制在 *LjTCP* 基因家族扩张中起了至关重要的作用。

序列同源分析表明, 金银花 *TCP* 家族基因在分子特性和保守结构域等特征上与其他物种 *TCP* 家族基因相似, 金银花 *TCP* 家族成员可以分为 2 大类、3 个亚家族, PCF 亚家族包含 9 个 *LjTCP* 蛋白, CYC/TB1 亚家族含有 2 个, 6 个 *LjTCP* 蛋白属于 CIN 亚家族。保守结构域分析表明, 所有金银花 *TCP* 家族成员的 N 末端都具有非典型的 Basic-Helix-loop-Helix 结构域, 根据 Basic 区域氨基酸不同, 又可以将 *TCP* 分为 2 大类, 其中 Class I 亚家族比 Class II 亚家族 *TCP* 结构域少 4 个氨基酸, 这与前人的研究结果一致。金银花 *TCP* motif 种类在不同亚家族中的保守基序也具有一定的差异性, Class I 中多数成员保守基序要多于 Class II。在前人的研究中, Class I 和 Class II 在调控植物不同方面生长发育过程。Class I 的蛋白成员可能与果实的发育、花色有关^[31], 而 Class II 成员在植物花瓣发育^[32]、分枝^[7]等过程中发挥作用, 如在玉米 TB1 突变体中, TB1 的表达降低, 导致顶端优势缺失, 植株分枝数量增多^[33]。在拟南芥中, *AtTCP18* (*BRC1*、*TBI* 直系同源基因) 主要在腋芽中表达, 其活性缺失可诱导腋芽发育成侧枝^[34]。在金鱼草中, *CYC* 基因在花发育的整个过程中都有表达, 与 *dish* 基因共同调控花的对称性发育^[35]。本研究中共鉴定了 2 个 CYC/TB1 亚家族成员 *LjTCP07* 和 *LjTCP12*, 通过表达谱分析表明, 这 2 个基因的表达模式非常相似, 都是在金银花花发育初期 (S1、S2、S3) 表达量较高, 在发育后期表达量降低, 推测这 2 个基因可能参与调控金银花花发育过程, 有待于进一步通过实验验证。

大量研究发现, *TCP* 转录因子参与植物花青素合成调控, 如在拟南芥中 Class I 中 *AtTCP15* 负调控花青素的积累, 并且在高光条件下, *TCP* 对花青素的负调控作用丧失^[36]。在垂丝海棠 *Malus halliana* L. 中, 来自于 Class II CIN 亚家族中的 *MhTCP4* 通过直接结合于花青素合成结构基因 *MhCHI* 和 *MhF3'H* 启动子, 激活其表达, 正调控花青素的生物合成^[37]。本研究以花青素含量较少的金银花品种封金 1 号花青素含量较高的品种豫金 2 号为研究对象, 对

LjTCP 基因家族成员的表达量进行分析, 结果表明来自 CIN 亚家族的 *LjTCP05*、*LjTCP13* 和 *LjTCP17* 在封金 1 号中表达量较高, 来自 Class I *LjTCP16* 在豫金 2 号中表达量较高, 这暗示着这些 *LjTCP* 基因可能参与花青素合成调控, 有待于通过转基因等实验进一步验证。这些结果表明, *LjTCP* 在不同组织中表现出不同表达模式, 暗示 *LjTCP* 家族成员参与了多个生长发育及生物代谢过程。

启动子顺式作用元件的预测分析发现 *LjTCP* 含有大量有关生长发育、生物胁迫与非生物胁迫相关元件, 表明 *LjTCP* 基因家族可能参与相关调控途径从而影响金银花的生长发育。研究表明 *TCP* 基因家族参与抗寒、抗旱胁迫响应过程, 在木薯中^[38]有 20% 以上的 *TCP* 家族成员响应干旱和冷胁迫处理过程。在菊花脑中, *miR319* 和其预测目标基因 *CnTCP2/4/14* 能够对冷处理作出快速的表达响应, 并且在拟南芥中过表达 *CnTCP4* 则导致植株对冷过度敏感, 这说明 *CnTCP4* 可能在菊花脑对冷胁迫的响应中发挥负调控作用^[39]。对 6 个在启动子区含有 LTR 顺式作用元件的 *LjTCP* 基因对低温胁迫的反应进行了研究, 结果表明, 这 6 个 *LjTCP* 基因对低温处理都有不同程度的响应, 其中 *LjTCP08* 和 *LjTCP14* 在低温处理 48 h 后表达量最大, *LjTCP16* 和 *LjTCP17* 在低温处理 24 h 后表达量最大, 这与苦荞中 *TCP* 基因家族研究结果相一致^[40], *LjTCP15* 在低温处理 6 h 后表达量最大, 表明这些 *LjTCP* 转录因子可能在冷胁迫反应的不同时期发挥不同的作用。尽管已经观察到 *TCP* 在许多植物中对低温的反应, 但 *TCP* 如何对冷信号做出反应并调节下游基因表达的机制在很大程度上仍然未知。需要进一步的研究来证明这些基因在低温下的功能及其与冷信号通路的关系。

综上所述, 本研究对金银花 *TCP* 转录因子家族从全基因组层面进行了全面的生物信息学分析, 共鉴定出 17 个 *LjTCPs*, 分为 Class I 与 Class II 2 大类, 进一步划分 3 个亚家族 (PCF、CYC/TB1 和 CIN)。理化性质分析显示, *LjTCPs* 编码 202~379 个氨基酸, 等电点分布于 6.06~9.74, 相对分子质量分布区域为 22 119.09~42 098.05, 亚细胞定位于细胞核中, 均含非典型 bHLH 保守结构域。表达模式分析显示 *LjTCP* 基因家族在金银花花发育中和花青素含量不同的金银花品种中具有不同的表达模式, 推测 *LjTCP* 基因家族金银花花发育和花青素合

成中起着重要的调控做, 本研究为深入探索 *LjTCPs* 基因功能奠定理论基础

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Cubas P, Lauter N, Doebley J, *et al.* The TCP domain: A motif found in proteins regulating plant growth and development [J]. *Plant J*, 1999, 18(2): 215-222.
- [2] Luo D, Carpenter R, Vincent C, *et al.* Origin of floral asymmetry in *Antirrhinum* [J]. *Nature*, 1996, 383(6603): 794-799.
- [3] Kosugi S, Ohashi Y. PCF1 and PCF2 specifically bind to *cis* elements in the rice proliferating cell nuclear antigen gene [J]. *Plant Cell*, 1997, 9(9): 1607-1619.
- [4] Martín-Trillo M, Cubas P. TCP genes: A family snapshot ten years later [J]. *Trends Plant Sci*, 2010, 15(1): 31-39.
- [5] Nicolas M, Cubas P. TCP factors: New kids on the signaling block [J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2016, 33: 33-41.
- [6] Resentini F, Felipo-Benavent A, Colombo L, *et al.* TCP14 and TCP15 mediate the promotion of seed germination by gibberellins in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Mol Plant*, 2021, 14(10): 1771.
- [7] Doebley J, Stec A, Gustus C. Teosinte branched1 and the origin of maize: Evidence for epistasis and the evolution of dominance [J]. *Genetics*, 1995, 141(1): 333-346.
- [8] Li X Y, Zhang G F, Liang Y H, *et al.* TCP7 interacts with Nuclear Factor-Ys to promote flowering by directly regulating SOC1 in *Arabidopsis* [J]. *Plant J*, 2021, 108(5): 1493-1506.
- [9] Xu Y Z, Liu H L, Gao Y M, *et al.* The TCP transcription factor PeTCP10 modulates salt tolerance in transgenic *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell Rep*, 2021, 40(10): 1971-1987.
- [10] Zhang Y, Zhao M J, Zhu W, *et al.* Nonglandular prickles formation is associated with development and secondary metabolism-related genes in *Rosa multiflora* [J]. *Physiol Plant*, 2021, 173(3): 1147-1162.
- [11] Li S T, Zachgo S. TCP3 interacts with R2R3-MYB proteins, promotes flavonoid biosynthesis and negatively regulates the auxin response in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant J*, 2013, 76(6): 901-913.
- [12] Liu Y Q, Wang H R, Jiang Z M, *et al.* Genomic basis of geographical adaptation to soil nitrogen in rice [J]. *Nature*, 2021, 590(7847): 600-605.
- [13] Schommer C, Palatnik J F, Aggarwal P, *et al.* Control of jasmonate biosynthesis and senescence by miR319 targets [J]. *PLoS Biol*, 2008, 6(9): e230.
- [14] Danisman S, van der Wal F, Dhondt S, *et al.* *Arabidopsis* class I and class II TCP transcription factors regulate jasmonic acid metabolism and leaf development antagonistically [J]. *Plant Physiol*, 2012, 159(4): 1511-1523.
- [15] Vadde B V L, Challa K R, Nath U. The tcp4 transcription factor regulates trichome cell differentiation by directly activating glabrous inflorescence stems in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant J*, 2018, 93(2): 259-269.
- [16] Zheng X H, Lan J Q, Yu H, *et al.* *Arabidopsis* transcription factor TCP4 represses chlorophyll biosynthesis to prevent petal greening [J]. *Plant Commun*, 2022, 3(4): 100309.
- [17] Lin Y F, Chen Y Y, Hsiao Y Y, *et al.* Genome-wide identification and characterization of TCP genes involved in ovule development of *Phalaenopsis equestris* [J]. *J Exp Bot*, 2016, 67(17): 5051-5066.
- [18] Guan P Z, Ripoll J J, Wang R H, *et al.* Interacting TCP and NLP transcription factors control plant responses to nitrate availability [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114(9): 2419-2424.
- [19] Hou J, Xu H M, Fan D, *et al.* MiR319a-targeted PtoTCP20 regulates secondary growth via interactions with PtoWOX4 and PtoWND6 in *Populus tomentosa* [J]. *New Phytol*, 2020, 228(4): 1354-1368.
- [20] Xie Y G, Ma Y Y, Bi P P, *et al.* Transcription factor FvTCP9 promotes strawberry fruit ripening by regulating the biosynthesis of abscisic acid and anthocyanins [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2020, 146: 374-383.
- [21] Stam R, Motion G B, Martinez-Heredia V, *et al.* A conserved oomycete CRN effector targets tomato TCP14-2 to enhance virulence [J]. *Mol Plant Microbe Interact*, 2021, 34(3): 309-318.
- [22] Shang X F, Pan H, Li M X, *et al.* *Lonicera japonica* Thunb.: Ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology of an important traditional Chinese medicine [J]. *J Ethnopharmacol*, 2011, 138(1): 1-21.
- [23] Chen C J, Chen H, Zhang Y, *et al.* TBtools: An integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data [J]. *Mol Plant*, 2020, 13(8): 1194-1202.
- [24] Li J J, Yu X J, Shan Q R, *et al.* Integrated volatile metabolomic and transcriptomic analysis provides insights into the regulation of floral scents between two contrasting varieties of *Lonicera japonica* [J]. *Front Plant Sci*, 2022, 13: 989036.
- [25] Koyama T, Furutani M, Tasaka M, *et al.* TCP transcription factors control the morphology of shoot lateral organs via negative regulation of the expression of boundary-specific genes in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell*, 2007, 19(2): 473-484.
- [26] Yao X, Ma H, Wang J, *et al.* Genome-wide comparative analysis and expression pattern of TCP gene families in

- Arabidopsis thaliana* and *Oryza sativa* [J]. *J Integr Plant Biol*, 2007, 49(6): 885-897.
- [27] Shang X W, Han Z L, Zhang D Y, *et al.* Genome-wide analysis of the *TCP* gene family and their expression pattern analysis in tea plant (*Camellia sinensis*) [J]. *Front Plant Sci*, 2022, 13: 840350.
- [28] Leng X P, Wei H R, Xu X Z, *et al.* Genome-wide identification and transcript analysis of TCP transcription factors in grapevine [J]. *BMC Genomics*, 2019, 20(1): 786.
- [29] Chai W B, Jiang P F, Huang G Y, *et al.* Identification and expression profiling analysis of TCP family genes involved in growth and development in maize [J]. *Physiol Mol Biol Plants*, 2017, 23(4): 779-791.
- [30] Ma J, Wang Q L, Sun R R, *et al.* Genome-wide identification and expression analysis of TCP transcription factors in *Gossypium raimondii* [J]. *Sci Rep*, 2014, 4: 6645.
- [31] Parapunova V, Busscher M, Busscher-Lange J, *et al.* Identification, cloning and characterization of the tomato TCP transcription factor family [J]. *BMC Plant Biol*, 2014, 14: 157.
- [32] Nag A, King S, Jack T. miR319a targeting of TCP4 is critical for petal growth and development in *Arabidopsis* [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(52): 22534-22539.
- [33] Hubbard L, McSteen P, Doebley J, *et al.* Expression patterns and mutant phenotype of teosinte branched1 correlate with growth suppression in maize and teosinte [J]. *Genetics*, 2002, 162(4): 1927-1935.
- [34] Finlayson S A. *Arabidopsis* Teosinte Branched1-like 1 regulates axillary bud outgrowth and is homologous to monocot Teosinte Branched1 [J]. *Plant Cell Physiol*, 2007, 48(5): 667-677.
- [35] Yuan Z, Gao S, Xue D W, *et al.* RETARDED PALEA1 controls palea development and floral zygomorphy in rice [J]. *Plant Physiol*, 2009, 149(1): 235-244.
- [36] Viola I L, Camoirano A, Gonzalez D H. Redox-dependent modulation of anthocyanin biosynthesis by the TCP transcription factor TCP15 during exposure to high light intensity conditions in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiol*, 2016, 170(1): 74-85.
- [37] Meng J X, Yin J, Wang H, *et al.* A TCP transcription factor in *Malus halliana*, *MhTCP4*, positively regulates anthocyanins biosynthesis [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(16): 9051.
- [38] Lei N, Yu X, Li S X, *et al.* Phylogeny and expression pattern analysis of TCP transcription factors in cassava seedlings exposed to cold and/or drought stress [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 10016.
- [39] Tian C, Zhai L S, Zhu W J, *et al.* Characterization of the *TCP* gene family in *Chrysanthemum nankingense* and the role of *CnTCP4* in cold tolerance [J]. *Plants*, 2022, 11(7): 936.
- [40] Yang M F, He G D, Hou Q D, *et al.* Systematic analysis and expression profiles of TCP gene family in Tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum* (L.) Gaertn.) revealed the potential function of FtTCP15 and FtTCP18 in response to abiotic stress [J]. *BMC Genomics*. 2022, 23: 415.

[责任编辑 时圣明]