



SPL 转录因子的研究进展

吴 艳, 侯智红, 程 群, 董利东, 芦思佳, 南海洋, 甘卓然, 刘宝辉

(广州大学 生命科学院, 广东 广州 510006)

摘 要: *SPL* (squamosa promoter-binding protein like) 基因家族是植物特有的一类转录因子, 主要通过结合下游基因启动子区的顺式作用元件 GTAC 基序, 从而参与调控下游基因的表达。SPLs 转录因子在植物的生长发育、信号传导、应答环境胁迫等方面有着重要的作用。目前研究表明, 大豆 SPL 转录因子在参与调控大豆植株分枝数, 产量和生育期等方面扮演重要作用。文章首先从该家族转录因子的克隆入手, 回顾该基因家族的由来历史, 然后介绍其结构上的保守性和独特性, 最后重点综述 SPL 转录因子在植物中的调控网络, 及其生物学功能, 并对其在大豆及其它农作物生产上的应用前景及其调控植物性状的具体机制进行展望。

关键词: SPL; 转录因子; 生物学功能; 大豆

Research Progress of SPL Transcription Factor

WU Yan, HOU Zhi-hong, CHENG Qun, DONG Li-dong, LU Si-jia, NAN Hai-yang, GAN Zhuo-ran, LIU Bao-hui

(School of Life Sciences, Guangzhou University, Guangzhou 510006, China)

Abstract: *SPL* (squamosa promoter-binding protein like) genes which encoded plant-specific transcription factors, can regulate the expression of target genes by binding to the GTAC cis-element. SPLs transcription factor play an important role in plant growth and development, signaling and response environment stress. Recent research showed that soybean SPL transcription factors play an important role in regulating the number of branches, yield and maturity. This review summarizes the emerging of research work on the function of the SPL transcription factors, introduces the cloning of the *SPL* genes and regulation network, etc., and describes in detail on the function of the *SPL* genes of higher plants. This review provides a brief survey about the regulatory network and biological function of *SPLs*, and a discussion of their potential applications in the agronomic production and the mechanism of regulating plant traits.

Keywords: SPL; Transcription factor; Biological function; *Glycine max*

SPL (Squamosa promoter binding protein-like) 是一类植物中特有的转录因子, 广泛存在于绿色植物中。1992 年, Huijser 等^[1]从金鱼草花序中首次克隆了两个基因, 这两个基因都含有一个保守的 MADS-BOX 结构域, 该结构域能够结合金鱼草花分生组织关键基因 *SQUAMOSA* 的启动子, 因此被称为 Squamosa 启动子结合蛋白 (Squamosa promoter binding protein, SBP)。随后, Klein 等^[2]将这两个基因分别命名为 *SBP1* 和 *SBP2* (Squamosa promoter binding protein gene 1 and 2), 并证明它们通过结合下游基因 *SQUAMOSA* 的启动子, 进而参与调控金鱼草的早期花发育和开花过程。1997 年, Cardon 等^[3]从拟南芥 cDNA 文库中分离得到 7 个 SBP-box 基因, 将其命名为 *AtSPL1* ~ *AtSPL7* (Squamosa promoter binding protein-like, *SPL*), 并发现 *AtSPL3* 是 *SBP1* 的同源基因, 推测 *SPL* 基因可能参与植物开花过程。随后, 研究者在植物中相继克隆多个 SPL 转录因子, 并证

明 SPL 转录因子在植物生长发育、信号转导及响应生物和非生物胁迫等方面具有重要作用^[4-5]。

近年来, 大量的 SPL 基因被成功克隆, 并证实该基因从单细胞藻类的衣藻 (*Chlamydomonas reinhardtii*) 到苔藓的小立碗藓 (*Physcomitrella patens*) 再到高等植物中均有分布^[6-7]。研究者们通过分析绿藻、苔藓、石松、裸子植物和被子植物等 9 个物种中的 120 个 SBP-box 基因的结构及进化规律, 提出一个 SBP-box 基因家族的系统进化模型, 即所有的 SBP-box 基因都是从绿藻起源。因此, 将绿藻类的 SBP-box 基因分成 1 类 (CR Group), 而将陆生植物分为 2 类 (I 类和 II 类), I 类中的 SBP 结构域氨基酸序列为 C4C2HC, 包括苔藓、白杨、拟南芥、水稻 4 种植物的 SBP-box 基因。II 类根据内含子-外显子结构的不同分为 7 个不同的亚家族 (II a ~ II g)。其中, 一半的 II a 和 II b 亚家族来自苔藓和松类, II c 的 SBP-box 基因全部来自于维管束植物, II d 和 II f

收稿日期: 2018-11-21

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (31771815, 31701445, 31801384)。

第一作者简介: 吴艳 (1993 -), 女, 硕士, 主要从事大豆重要性状遗传和功能基因研究。E-mail: 15367613473@163.com。

通讯作者: 刘宝辉 (1964 -), 男, 教授, 博导, 主要从事大豆重要性状遗传和功能基因研究。E-mail: liubh@iga.ac.cn。

仅包括种子植物,Ⅱg 的 SBP-box 基因全部来自于苔藓植物^[8]。尽管在大多数植物中已根据结构的不同对 SPLs 家族转录因子进行分类,但大豆中 SPLs 转录因子的分类尚未见报道。目前在大豆中的研究表明 SPL 转录因子能够参与调控大豆的分枝和生育期,进而影响大豆的产量。由于同源基因可能具有相同或相似的功能,因此深入了解植物中的 SPL 转录因子功能,可以在大豆中利用一定生物技术手段,如过表达、基因编辑 (CRISPR/Cas9)、RNA 干扰等方法对大豆中的 SPL 转录因子进行功能验证。本文系统地总结了 SPL 转录因子在植物中参与调控生物胁迫、非生物胁迫、生长发育等方面的生物学功能及其在调控网络中的作用,以期更加深入地了解 SPL 转录因子在大豆中的作用,进而创制新的大豆种质资源,为大豆的分子育种提供理论基础。

1 SPL 转录因子的表达调控研究

在植物中,转录因子能与某些特定基因启动子

区域的顺式作用元件特异性结合,从而激活或抑制基因转录,进而调控下游基因的表达^[9]。其中主要的转录因子有 AP2/ERF 转录因子、bHLH 转录因子、WRKY 转录因子、MADS 转录因子、TCP 转录因子和 SPL 转录因子等几大类。研究表明 *SPL* 基因主要通过结合下游基因启动子区的互补序列调控下游基因的表达,进而影响植物的生长发育^[10]。表 1 总结了 SPL 转录因子与其它基因的调控关系^[11]。如在模式作物水稻中,*OsSPL16* 作为转录抑制因子,直接结合 *GW7* 启动子的 GTAC 基序,抑制 *GW7* 基因的转录和翻译,进而调控谷粒的外形^[11]。而在其它作物中的研究表明 *SPL* 基因可直接调控其下游基因的表达,在大豆中 SPL 转录因子的已知报道较少。本团队与合作者共同发现大豆中的 *GmSPL9* 在茎尖和腋分生组织中大量表达,且能够直接与 *GmWUS* 互作,共同调控大豆的腋芽形成和分枝,使大豆三出复叶的节间距缩短,并增加分枝数和长分枝数,进而增加大豆的产量^[12]。

表 1 SPL 转录因子与其它基因的调控关系

Table 1 Regulatory relationships of SPL transcription factors with other genes

SPLs 转录因子 SPLs Transcription factors	上游调控基因 Upstream target genes	下游靶基因 Downstream target genes	作用 Functions	文献 Literature
<i>AtSPL1</i>	—	<i>CEJ1/RD29A/RPK1/ABI2/RASI</i>	营养生长阶段花序的耐热性增强	[18]
<i>AtSPL3/4/5</i>	<i>miR156</i>	<i>AtLFY/AtAPI/AtFUL</i>	促进花分生组织关键基因的表达/促进开花 有助于营养生长阶段幼年期向成年期的转变/促进营养生长向生殖生长的转变/促进开花	[19]
<i>AtSPL2/9/10/11/13/15</i>	<i>miR156</i>	<i>AtSOC1</i>	正调控营养生长的成年期/促进花发育和茎发育	[19]
<i>AtSPL2/9/10/11/13/15</i>	<i>miR156</i>	<i>MiR172B</i>	提高对烟草花叶病毒的抗性	[20]
<i>AtSPL6</i>	<i>miR156</i>	<i>RPS4</i>	维持铜的体内稳态	[21]
<i>AtSPL7</i>	<i>miR398</i>	铜响应元件	响应非生物胁迫(干旱、盐胁迫)/平衡非生物胁迫和发育之间的关系	[22]
<i>AtSPL9</i>	<i>miR156</i>	<i>PAP1</i>	叶片狭窄/叶片数减少/开花时间提早/促进侧根生长	[23]
<i>AtSPL10</i>	<i>miR156</i>	<i>AGL79</i>	促进穗发育	[24]
<i>OsSPL2</i>	<i>miR529a</i>	<i>OsTB1/LAX1/CSLD4/IAA24/DEP1/SIZ11/CSLD4</i>	增加株高和分蘖数	[25]
<i>OsSPL3</i>	<i>miR156f</i>	—	响应铜信号转导	[26]
<i>OsSPL9</i>	<i>miR156</i>	铜响应元件	增强种子的耐盐胁迫	[27]
<i>OsSPL10</i>	<i>miR529</i>	—	增加株高和分蘖	[25]
<i>OsSPL12</i>	<i>miR156f</i>	—	种子大小和数量增加/穗长增加	[28]
<i>OsSPL13</i>	<i>miR156</i>	<i>GLW7/SRS5/DEP1</i>	减少蘖分枝/增加花序分枝/增加谷粒重量/茎秆加粗	[29]
<i>OsSPL14</i>	<i>miR156/157/529</i>	—	种子变大/谷粒成细长型/提高种子质量	[30]
<i>OsSPL16</i>	<i>miR156</i>	<i>GW7</i>	促进穗发育	[24]
<i>OsSPL17</i>	<i>miR529a</i>	<i>OsTB1/LAX1/CSLD4/IAA24/DEP1/SIZ11/CSLD4</i>	营养生长期增加/生育期缩短/开花时间推迟	[17]
<i>GmSPL3/9</i>	<i>miR156b</i>	—	促进分枝和腋芽的形成	[12]
<i>GmSPL9d</i>	<i>miR156</i>	<i>GmWUS</i>		

随着 SPL 转录因子在许多植物中被成功克隆,对其功能的研究表明大部分的 SPLs 基因能够被非编码单链 RNA 分子 *microRNA156* 降解,从而抑制其表达^[13],维持植物的生长发育(表 1)。如在拟南芥中共含有 17 个 SPL 基因,其中 10 个具有 *miR156/157* 的响应元件 MRE。除此之外,*AtSPL3/4/5* 的 3' UTR 与 *miR156* 的序列互补结合响应 *miR156/157* 的抑制作用,进而调控下游基因 *AtLFY*、*AtAPI*、*AtFUL* 的表达,促进拟南芥开花^[14]。水稻中共有 19 个 SPL 基因,其中 11 个具有 *OsmiR156* 的响应元件^[15]。大豆中含有 41 个 SPL 基因,其中 17 个含有 *miR156* 的结合位点^[16-17]。Sun 等^[12]对大豆中这 17 个 SPL 基因分析发现,2 个 *GmSPL13* 基因(*GmSPL13Ba* 和 *GmSPL13Bb*)能够被 *GmmiR156* 转录剪切调控,而 2 个 *GmSPL2*、5 个 *GmSPL6*、4 个 *GmSPL9* 和剩余的 4 个 *GmSPL13* 基因能够被 *GmmiR156* 通过翻译修饰调控。综上所述,在植物生长发育的调控网络中,SPL 基因通常受到 microRNA 的调控,且其表达通常与 microRNA 的表达水平呈负相关。另一方面,SPL 基因通过直接结合下游基因启动子区域的顺式作用元件调控下游基因的表达,进而调控植株的表型和抗性等。

2 SPL 转录因子的生物学功能

2.1 SPL 转录因子参与植物的生长发育

2.1.1 植物胚发育 植物胚胎发育是一个复杂的过程,其中任何一个阶段受到影响都会导致植物的生长发育出现异常,在植物发育过程中,SPL 转录因子可参与植物的胚胎发生和体细胞胚胎发生两个过程^[31]。在拟南芥 *dcl1* 突变体的胚胎中,miRNA 的合成受阻,导致大量 miRNA 靶基因的表达提高,其中 *AtSPL10/11* 的表达上调最显著,造成胚柄和胚囊分化异常,胚胎发育停滞^[32]。而在棉花中,*microRNA157* 过表达使 5 个 SPLs 基因下调表达,导致胚珠的生成量减少,花器官的形态变小^[33]。此外,在柑橘愈伤组织的体细胞胚胎发生过程中,*csi-miR156* 过表达或者 *cSPL3*、*CsSPL14* 下调表达都能显著加强柑橘胚性愈伤组织的体细胞胚胎发生能力,提高柑橘的再生产能力^[34]。目前尚缺乏大豆中 SPL 转录因子是否参与调控大豆的胚胎发生和体细胞胚胎发生过程的报道。

2.1.2 调控植物幼年向成年转变 植物的生命周期大致可分为 2 个阶段,即营养生长阶段(包括幼年期向成年期的转变)和生殖生长阶段^[35]。在许多植物中,*miR156-SPL* 参与调控植物从幼年期向成年期转变的过程,如拟南芥营养生长过程中,随着生

长进程的推进,*miR156* 的表达水平逐渐降低,*miR172* 的表达水平逐渐升高;*miR156* 的靶基因 *AtSPL9* 和 *AtSPL15* 参与调控 *miR156* 向 *miR172* 转变的过程,促进拟南芥从幼年期向成年期转变^[36]。此外,*AtSPL3* 在幼年期向成年期的转变中也起着重要作用^[37]。这表明在拟南芥中,*AtSPL3/9/15* 表达上调可缩短其生命进程,加快繁种速度。拟南芥有 5 条开花调控途径,其中 *miR156* 调控年龄途径的开花过程,当处于幼年时期,*miR156* 的转录丰富度最高,其抑制 SPL 基因的表达,进而抑制拟南芥开花;当拟南芥从幼年期向成年期转变时,*miR156* 的表达逐渐降低,因此 SPL 基因的表达逐渐升高,进而促进拟南芥开花。在大豆中,*miR156* 能够通过调控 *GmSPL9* 进而调控 *miR172* 的表达,促进大豆从幼年期向成年期的转变^[17]。在大豆中过表达 *GmmiR156* 能够显著降低 *GmSPL3/9* 的转录表达水平,从而使开花时间推迟、生育期变长;*GmSOC1* 和 *GmFUL* 的表达量降低,进而导致大豆营养生长期增长^[17]。然而,大豆中许多 SPL 的同源基因的表达与 *miR156* 的表达是不一致的。这表明,与拟南芥不同,在大豆中可能存在一些其它基因调控 SPL 基因的转录,但具体的分子机制有待进一步的探索。

开花是高等植物从营养生长阶段向生殖发育阶段转化的中心枢纽,是个体发育的核心内容,适宜的开花时间对农作物生产和育种工作都十分重要^[38]。一方面,SPL 转录因子可以通过调控下游靶基因而调控植物开花时间^[39]。例如,在拟南芥中,当 *miRNA156/157* 识别 *AtSPL3* 基因 3' UTR 的 *miRNA156/157* 响应元件(MRE)后,*AtSPL3* 基因的翻译后蛋白修饰过程被抑制,使得下游 *AtSOC1* 和 *AtFUL* 的表达升高,导致拟南芥开花提前^[40]。另一方面,SPLs 转录因子通过参与光周期途径调控植物开花时间。在拟南芥中,FT(FLOWERIG LOCUS T)与 FD(FLOWERIG LOCUS D)结合形成异源复合体,*AtSPL3/4/5* 作为转录激活因子激活 FT-FD 的活性,并与复合物中的 FD 结合;同时 *AtSPL3/4/5* 识别下游的花分生组织关键基因 *AtAPI*、*AtFUL*、*AtLFY* 启动子区的 GTAC 核心序列并与之结合,调控这些基因的表达,从而促进拟南芥开花^[41]。另外,Jae 等^[42]在拟南芥中发现 *SOC1-SPL* 模型作为一个桥梁,可整合光周期和 GA 信号,协同调控拟南芥开花过程。在光周期调控开花途径中,*SOC1* 和 FT 直接结合到 *SPL3/4/5* 的启动子上,调控 SPL 基因响应光周期信号;而在 GA 信号转导途径中,GA 诱导 *SOC1-SPL* 表达,导致拟南芥在短日照下提早开花。然而在大豆中,目前还没有研究证明 SPL 转录因子是否能够参

与调控大豆的开花过程,因此大豆 SPL 转录因子调控大豆开花的分子水平研究对提高大豆产量等方面具有重要作用。

2.1.3 调控植物组织器官的发育 SPL 转录因子能够参与调控植物的叶发育、分枝和生育期等。Sun 等^[12]研究发现 miR156 可以通过转录剪切和翻译抑制调控大豆 SPL 基因。*GmmiR156* 过表达导致 SPL 基因的表达降低,从而显著增强大豆的茎秆粗细。miR156 通过直接调控 *GmSPL9* 的转录剪切控制大豆的株型,增加大豆的长分枝数和腋芽的形成。在拟南芥中,miR156 调控 SPL 基因在叶原基中的表达,抑制茎尖分生组织生成新叶;miR156-SPL 和细胞色素 P450 共同调控叶的生成速率和叶片大小^[43]。近期研究表明,SPL 基因在维持水稻顶端优势中具有重要作用。*miR172/AP2* 调控水稻营养生长和生殖生长阶段的分蘖数,*miR156/miR529/SPL* 可调控 *miR172/AP2*,减少水稻分蘖。此外,*miR156/529* 通过精细调控 SPL 基因影响分枝的多少,且在这一过程中,SPL 基因通过直接控制 *miR172/AP2* 途径,增加水稻的穗分枝数^[44]。Gao 等^[45]利用 RNAi 技术获得 *MsSPL13* 的干涉植株,并发现在 *MsSPL13* 干扰苜蓿植株过程中叶发育相关基因 *MYB112* 的表达量显著降低,进一步的研究表明 *MsSPL13* 通过结合 *MYB112* 基因的启动子区,直接调控 *MYB112* 基因的表达,从而增加苜蓿的分枝数和叶片数。此外,在一些禾本科植物中,SPL 基因还能影响叶舌、叶耳、叶环的发育。例如,Maria 等^[46]发现在玉米中有一类 SPL 转录因子 *LGI* 突变体中不能正常形成叶舌和叶耳,导致叶片和叶鞘之间没有明显边界,影响玉米的发育。

2.1.4 调控作物的产量 SPL 基因除调控生长发育外,在调控作物的产量方面也具有重要的作用。Wang 等^[47]发现水稻 *OsSPL16* 基因能直接调控下游 *GW8* 基因的表达,进而参与调控种子细胞的伸长,通过正调控种子的宽度来调控水稻种子的重量,从而提高水稻的产量。而 SPL 基因除调控水稻的细胞生长外,也可调控细胞的分裂,进而调控水稻产量^[28]。因此深入研究 SPL 基因与作物产量之间的调控网络,了解 SPL 基因与作物产量之间的联系,有助于利用 SPL 基因精细调控作物产量,并通过分子设计育种培育出目标品种。

2.2 SPL 转录因子参与植物的信号转导

2.2.1 光信号转导 在植物光形态建成过程中,主要是通过光受体感受光照长度和光周期变化。隐花色素和光敏色素是植物中广泛存在的光受体,它们通过感受蓝光信号和红光/远红光信号参与植物

光反应过程^[48]。光受体感受光信号后通过调节下游 SPLs 基因的转录活性,进而调控植物的生长发育。研究者发现,SBP-box 基因的缺失突变能加强小立碗藓原丝体茎上侧枝的形成。蓝光受体 *PpCRY* 负调控 SBP-box 基因 *PpSBP1* 和 *PpSBP4* 的转录水平,使其转录水平降低,进而抑制原丝体形成侧枝和再生速度;另一方面,光敏色素介导的红光-远红光也可以负调控 *PpSBP1* 的转录水平,抑制小立碗藓原丝体侧枝的形成^[49]。

2.2.2 赤霉素信号转导 赤霉素 (gibberellins, GAs) 是一类重要的二萜类植物激素,它能从多方面调控植物的生长发育^[50]。在赤霉素合成途径中,存在一类被称为 DELLA 蛋白的转录因子,它与 SPL 基因存在直接的互作。在拟南芥中,GA 通过抑制 DELLA 蛋白与 *AtSPL9* 的互作,激活 *miR172* 的转录和 MADS-box 基因表达,进而促进植物开花;相反,当 DELLA 蛋白与 SPL 基因相互作用后可干扰 SPL 转录因子的活性,导致拟南芥开花推迟^[51]。Zhang 等^[52]发现在 GA 突变体中,*SPL8* 对下游基因的抑制作用减弱,促进种子萌发和根的生长过程;且在花药中,*SPL8* 基因的转录水平会影响 GA 信号响应和调控 GA 合成的基因,进而调控 GA 的合成和信号转导。

2.2.3 温度信号 SPL 转录因子在温度敏感的开花过程中发挥重要作用^[53]。在高温条件下,*spl1-1spl12-1* 双突变体表现出对高温的超敏感;在拟南芥和番茄中,*SPL1* 和 *SPL12* 过表达都能增强花序对高温的耐受性;这一结果表明 *SPL1* 和 *SPL12* 在植物发育中冗余调控花序耐高温^[54]。此外,Stief 等^[55]发现在高温条件下,miR156-f 和 miR156-h 都可调控 *SPL2/9/11* 基因,使其下调表达,进而增强植株对热的记忆,延长植物在热胁迫下的存活时间。除高温条件外,葡萄对低温条件也较敏感,在低温条件下(5℃),体内的 *VvSBP3* 和 *VvSBP5* 均被上调表达,而 *VvSBP4* 和 *VvSBP7* 明显被下调表达,表明 *VvSBP3* 和 *VvSBP5* 参与葡萄的低温胁迫反应^[56]。

2.3 SPL 转录因子参与胁迫反应

研究人员通过基因芯片和 miRNA 测序发现,植物中的许多 microRNAs 能够响应生物和非生物胁迫,而 SPL 转录因子作为 microRNA 的靶基因,在响应生物和非生物胁迫中也扮演重要作用^[57]。拟南芥在逆境(干旱、盐胁迫)下生长时,植物体内的 miR156 表达量增加,导致下游靶基因 *SPL9* 和 *DFR* 的表达降低,延迟拟南芥开花^[58]。而葡萄同样在高盐和干旱胁迫下,其根、茎中的 *BpSPL9* 被诱导上调

表达,增强植物对干旱和盐胁迫的耐受性^[59]。这表明 *SPL* 基因在不同植物中均可响应高盐和干旱胁迫,并改善由胁迫造成的代谢平衡系统紊乱,最终改善植株存活率。然而植物在适应环境的过程中,除遭受干旱、盐等胁迫外,也会遭受体内各种微量元素的平衡,最近的研究发现 *SPL* 基因上有一个铜响应元件,它是植物识别铜的关键元件,因此 *SPL* 基因能够参与维持铜的体内稳态及缺氧感受过程^[60]。在衣藻中有一类 *SPL* 转录因子 *CRR1*,其在缺乏铜时,通过识别下游靶基因上的铜响应元件,进而激活或抑制下游靶基因的表达^[61]。

另一方面,*SPL* 基因参与植物响应生物胁迫。在拟南芥中,有一种真菌毒素 *FB1*,它能在真核生物中通过抑制神经酰胺的合成,破坏鞘脂代谢途径,诱导细胞程序性死亡^[62]。*Stone* 等^[63] 通过 T-DNA 插入,获得了纯合 *AtSPL14* 突变体,并将其命名为 *fbr6* 突变体,通过对其表型观察和真菌毒素 *FB1* 感染后,证明 *FBR6/SPL14* 参与调控植物株型,并能够显著提高植株对 *FB1* 的抗性。除了模式植物拟南芥外,最新的研究表明 *SPL* 基因的同源基因 *IPAI* 在水稻中参与调控对水稻稻瘟病的抗性,另外在葡萄中,*SPL* 基因参与调控对白粉病和黄化病的抗性^[64-65]等。但关于 *SPL* 基因在其它作物中是否参与植物响应生物胁迫较少报道,因此,*SPL* 基因在大豆中是否参与植物响应非生物和生物胁迫有待后续研究。

3 展 望

SPL 作为一类植物中特有的重要转录因子,自 1992 年从金鱼草中克隆出后,随着研究者们对其研究的不断扩展和深入,目前,已对部分 *SPL* 转录因子在植物中的功能有所了解。通过对模式植物拟南芥的大量研究发现 *SPL* 转录因子调控拟南芥的许多发育过程,包括发育阶段的转变、开花、分蘖、间隔期、穗结构和生育力^[66-67]。*SPL* 转录因子除了能够调控植物的生长发育过程外,在参与调控植物生物胁迫,非生物胁迫中扮演重要作用,例如,拟南芥 *AtSPL6* 能够提高拟南芥对烟草花叶病毒的抗性^[20],在水稻中 *OsSPL9* 能够调控水稻的铜的稳态^[26],*OsSPL10* 能够增强种子的盐胁迫^[27]。目前关于大豆 *SPL* 转录因子在参与应答生物胁迫和非生物胁迫的研究还未见报道,因此根据对拟南芥和水稻等植物中的 *SPL* 转录因子的总结,有利于我们利用反向遗传学的方法验证大豆 *SPL* 转录因子的功能,进而创制出新的大豆种质资源。

本课题组目前的研究表明:*GmmiR156* 过表达

能够调控 *GmSPL9* 的表达,*GmSPL9* 又能够与 *GmWUS* 互作,影响大豆腋芽和分枝形式,进而影响大豆的产量。同时也发现 *GmSPL3* 和 *GmSPL9* 在分子水平上能够调控 *GmSOC1* 和 *GmFUL* 基因的表达,进而影响大豆的生育期^[12]。但以上两个研究都缺乏 *SPL* 基因的稳定遗传材料。因此本团队正利用 CRISPR/Cas9 基因编辑技术对大豆中一些 *SPL* 基因进行敲除,以期得到稳定的 *SPL* 基因的遗传材料。期待更加深入地解析 *SPL* 转录因子调控大豆开花、分枝和产量等性状的分子机制和调控网络,为大豆的分子育种提供充实的理论依据。

参考文献

[1] Peter H, Joachim K, Wolf-Ekkehard L, et al. Bracteomania an inflorescence amomaly, is caused by the loss of function of the MADS-box gene *squamosa* in *Antirrhinum majus*[J]. The European Molecular Biology Organization Journal, 1992, 11 (4): 1239-1249.

[2] Klein J, Saedler H, Huijser P. A new family of proteins includes putative transcriptional regulators of the *Antirrhinum majus* floral meristem identity gene *SQUAMOSA*[J]. Molecular & General Genetics, 1996, 250(1): 7-16.

[3] Guillermo H, Susanne H, Klaus N, et al. Functional analysis of the *Arabidopsis thaliana* SBP-box gene *SPL3*: A novel gene involved in the transition[J]. The Plant Journal, 1997, 12(2): 367-377.

[4] Xu M L, Hu T Q, Zhao J F, et al. Developmental functions of *miR156*-regulated *SQUAMOSA PROMOTER BINDING PROTEIN-LIKE* (*SPL*) Genes in *Arabidopsis thaliana*[J]. PLoS Genetic, 2016, 12(8): e1006263.

[5] Yu Z X, Wang L J, Zhao B, et al. Progressive regulation of sesquiterpene biosynthesis in *Arabidopsis* and patchouli (*Pogostemon cablin*) by the *miR156*-targeted *SPL* transcription factors[J]. Molecular Plant, 2015, 8(1): 98-110.

[6] Guillermo C, Susanne H, Joachim K, et al. Molecular characterization of the *Arabidopsis* SBP-box genes[J]. Gene, 1999, 237 (1): 91-104.

[7] Eriksson M, Moseley J L, Tottey S, et al. Genetic dissection of nutritional copper signaling in chlamydomonas distinguishes regulatory and target genes[J]. Genetics, 2004, 168(2): 795-807.

[8] Guo A Y, Zhu Q H, Gu X C, et al. Genome-wide identification and evolutionary analysis of the plant specific SBP-box transcription factor family[J]. Gene, 2008, 418(1-2): 1-8.

[9] Wu Y W, Ke Y Z, Wen J, et al. Evolution and expression analyses of the MADS-box gene family in *Brassica napus*[J]. Public Library of Science One, 2018, 13(7): e0200762.

[10] Matthew W R, Brenda J R, Lee P L, et al. Prediction of plant microRNA targets[J]. Cell, 2002, 110: 513-520.

[11] Wang S K, Li S, Liu Q, et al. The *OsSPL16-GW7* regulatory module determines grain shape and simultaneously improves rice yield and grain quantity[J]. Nature Genetics, 2015, 47(8): 1-6.

- [12] Sun Z, Su C, Yun J, et al. Genetic improvement of the shoot architecture and yield in soybean plants via the manipulation of *Gm-miR156*[J]. Plant Biotechnol Journal, 2018,10:1-13.
- [13] Wu G, Park M Y, Conway S R, et al. The sequential action of *miR156* and *miR172* regulates developmental timing in *Arabidopsis* [J]. Cell, 2009, 138(4): 750-759.
- [14] Ayako Y, Wu M F, Li Y, et al. The microRNA-regulated SBP-box transcription factor SPL3 is a direct upstream activator of *LEAFY*, *FRUITFULL*, and *APETALA1* [J]. Developmental Cell, 2009, 17(2): 268-278.
- [15] Xie K B, Wu C Q, Xiong L Z. Genomic organization, differential expression, and interaction of *SQUAMOSA* promoter-binding-like transcription factors and *micro-RNA156* in rice [J]. Plant Physiology, 2006, 142(1): 280-293.
- [16] Rajiv K T, Ridhi G, Sweta K, et al. Genomic organization phylogenetic comparison, and expression profiles of the *SPL* family genes and their regulation in soybean [J]. Development Genes and Evolution, 2017, 227(2):101-119.
- [17] Cao D, Li Y, Wang J, et al. *GmmiR156* overexpression delay flowering time in soybean [J]. Plant Molecular Biology, 2015, 89(4-5): 353-363.
- [18] Lu M C, Liu Y Q, Chen D Y, et al. *Arabidopsis* transcription factors SPL1 and SPL12 confer plant thermotolerance at reproductive stage [J]. Molecular Plant, 2017, 10(5): 735-748.
- [19] Xu M L, Hu T Q, Zhao J F, et al. Developmental functions *miR156*-regulated *SQUAMOSA PROMOTER BINDING PROTEIN-LIKE*(*SPL*) genes in *Arabidopsis thaliana* [J]. Public Library of Science Genetics, 2016, 12(8): e4006263.
- [20] Meenu S P, Ma S S, Tessa M B, et al. Novel positive regulatory role for the SPL6 transcription factor in the N TIR-NB-LRR receptor-mediated plant innate immunity [J]. Public Library of Science, 2013, 9(3): e1003235.
- [21] Yamasaki H, Hayashi M, Fukazawa M, et al. *SQUAMOSA* promoter binding protein like-7 is a central regulator for copper homeostasis in *Arabidopsis* [J]. The Plant Cell, 2009, 21(1): 347-361.
- [22] Cui L G, Shan J X, Shi M, et al. The *miR156*-*SPL9*-*DFR* pathway coordinates the relationship between development and abiotic stress tolerance in plant [J]. The Plant Journal, 2014, 80(6): 1108-1117.
- [23] Gao R M, Wang Y, Gruber M Y, et al. *MiR156/SPL10* modulate lateral root development, branching and leaf morphology in *Arabidopsis* by silencing *AGAMOUS 79* [J]. Frontier in Plant Science, 2018, 8: 2226.
- [24] Yue E K, Li C, Li Y, et al. *MiR529a* modulates panicle architecture through regulating *SQUAMOSA PROMOTER BINDING-LIKE* genes in rice (*Oryza sativa*) [J]. Plant Molecular Biology, 2017, 94(4-5): 469-480.
- [25] Liu Q, Shen G Z, Peng K Q, et al. The alteration in the architecture of a T-DNA insertion rice mutant *osmtd1* is caused by up-regulation of *MicroRNA156* [J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2015, 57(10): 819-829.
- [26] Tang M, Zhou C, Meng L, et al. Overexpression of *OsSPL9* enhances accumulation of Cu in rice grain and improves its digestibility and metabolism [J]. Journal of Genetics and Genomics, 2016, 43(11): 673-676.
- [27] Lan T, Zhang S, Liu T T, et al. Fine mapping and candidate identification of *SST*, a gene controlling seedling salt tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Euphytica, 2015, 205(1): 269-274.
- [28] Si L Z, Chen J Y, Huang X H, et al. *OsSPL13* controls grain size in cultivated rice [J]. Nature Genetic, 2016, 48(4): 447-456.
- [29] Wang L, Zhang Q F. Boosting rice yield by fine-tuning *SPL* gene expression [J]. Cell Press, 2017, 22(8): 643-646.
- [30] Wang S K, Li S, Liu Q, et al. The *OsSPL16*-*GW7* regulatory module determines grain shape and simultaneously improves rice yield and grain quality [J]. Nature Genetic, 2015, 47(8): 949-954.
- [31] Silva J, Silva E, Azevedo M, et al. *microRNA156*-targeted *SPL*/SBP box transcription factors regulate tomato ovary and fruit development [J]. The Plant Journal, 2014, 78(4): 604-618.
- [32] Fang Y, Spector D L. Identification of nuclear dicing bodies containing proteins for microRNA biogenesis in living *Arabidopsis* plants [J]. Current Biology, 2007, 17(9): 818-823.
- [33] Liu N, Tu L L, Wang L C, et al. *MicroRNA157*-targeted *SPL* genes regulate floral organ size and ovule production in cotton [J]. BioMed Central Plant Biology Plant Biology, 2017, 17: 7-21.
- [34] Long J M, Liu C Y, Feng M Q, et al. *MiR156-SPL* modules regulate induction of somatic embryogenesis in citrus callus [J]. Journal of Experimental Botany, 2018, 69(12): 2979-2993.
- [35] Poethig R S. Vegetative phase change and shoot maturation in plants [J]. Current Topics in Developmental Biology, 2013, 105: 125-152.
- [36] Wu G, Mee Y P, Susan R C, et al. The sequential action of *miR156* and *miR172* regulates developmental timing in *Arabidopsis* [J]. Cell, 2009, 138(4): 750-759.
- [37] Stefan S, Arne V G, Nora B, et al. The microRNA regulated SBP-box gene *SPL9* and *SPL15* control shoot maturation in *Arabidopsis* [J]. Plant Molecular Biology, 2008, 67(1-2): 183-195.
- [38] Burle I, Dean C. The timing of developmental transitions in plants [J]. Cell, 2006, 125(4): 655-664.
- [39] Wang J W, Czech B, Weigel D. *MiR156*-regulated *SPL* transcription factors define an endogenous flowering pathway in *Arabidopsis thaliana* [J]. Cell, 2009, 138(4): 738-749.
- [40] Madhuri G, Rainer P B, Susanne H, et al. The *miRNA156/157* recognition element in the 3' UTR of the *Arabidopsis* SBP-box gene *SPL3* prevents early flowering by transcriptional inhibition in seedlings [J]. The Plant Journal, 2007, 49(4): 683-693.
- [41] Jung J H, Lee H J, Ryu J Y, et al. *SPL3/4/5* integrate development aging and photoperiod signals into the FT-FD module in *Arabidopsis* flowering [J]. Molecular Plant, 2016, 9(12): 1647-1659.
- [42] Jae H J, Ju Y, Pil S, et al. The *SOC1-SPL* module integrates photoperiod and gibberellic acid signals to control flowering time in *Arabidopsis* [J]. The Plant Journal, 2012, 69(4): 577-588.
- [43] Wang J W, Rebecca S, Benjamin C, et al. Dual effects of *miR156*-targeted *SPL* genes and *CYP78A5/KLUH* on plastochron length and organ size in *Arabidopsis thaliana* [J]. The Plant Cell, 2008, 20(5): 1231-1243.
- [44] Wang L, Sun S, Jin J, et al. Coordinated regulation of vegetative

- and reproductive branching in rice[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2015, 112(50):15504-15509.
- [45] Gao R, Gruber M Y, Amyot L, et al. SPL13 regulates shoot branching and flowering time in *Medicago sativa*[J]. Plant Molecular Biology, 2018, 96(1-2): 119-133.
- [46] Maria A M, Lisa C H, Rogar W K, et al. Liguleless1 encodes a nuclear-localized protein required for induction of ligules and auricles during maize leaf organogenesis[J]. Genes & Development, 2018, 11(5): 616-829.
- [47] Wang S, Wu K, Yuan Q B, et al. Control of grain size, shape and quality by *OsSPL16* in rice[J]. Nature Genetic, 2012, 44(8): 950-954.
- [48] Briggs W R, Huala E. Blue-light photoreceptors in higher plants [J]. Annual Review of Cell and Developmental Biology, 1999, 15: 33-62.
- [49] Maïke R, Oliver Z, Heinz S, et al. SBP-domain transcription factors as possible effectors of cryptochrome mediated blue light signaling in the moss *Physcomitrella patens*[J]. Planta, 2008, 227(2): 505-515.
- [50] Evans M M, Poethiq R S. Gibberellins promote vegetative phase change and reproductive maturity in rice[J]. Plant Physiology, 1995, 108(2): 475-487.
- [51] Murase K, Hirano Y, Sun T P, et al. Gibberellin-induced DELLA recognition by the gibberellin receptor GID1 [J]. Nature, 2008, 456(7221): 459-463.
- [52] Zhang Y, Stefan S, Heinz S. SPL8, a local regulator in a subset of gibberellin-mediated developmental processes in *Arabidopsis* [J]. Plant Molecular Biology, 2007, 63(3): 429-439.
- [53] Jae J K, Jeong H L, Kim W H, et al. The microRNA156-SQUAMOSA PROMOTER BINDING PROTEIN-LIKE3 module regulates ambient temperature-responsive flowering *via* FLOWERING LOCUS T in *Arabidopsis* [J]. Plant Physiology, 2012, 159(1): 461-478.
- [54] Chao L M, Liu Y Q, Chen D Y, et al. *Arabidopsis* transcription factors SPL1 and SPL12 confer plant thermotolerance at reproductive stage[J]. Molecular Plant, 2017, 10(5): 735-748.
- [55] Stief A, Altmann S, Hoffmann K, et al. *Arabidopsis* miR156 regulated tolerance to recurring environmental stress through SPL transcription factors[J]. Plant Cell, 2014, 26(4): 1792-1807.
- [56] Hou H, Li J, Gao M, et al. Genomic organization, phylogenetic comparison and differential expression of the SBP-box family genes in grape [J]. Public Library of Science One, 2013, 8(3): e59358.
- [57] Sunkar R, Zhu J K. Novel and stress-regulated microRNA and other small RNA from *Arabidopsis*[J]. The Plant Cell, 2004, 16(8): 2001-2019.
- [58] Cui L G, Shan J X, Shi M, et al. The miR156-SPL9-DFR pathway coordinates the relationship between development and abiotic stress tolerance in plant[J]. The Plant Journal, 2014, 80(6): 1108-1117.
- [59] Ning K, Chen S, Huang H J, et al. Molecular characterization and expression analysis of the *SPL* gene family with *BpSPL9* transgenic lines found to confer tolerance to abiotic stress in *Betula platyphylla* Suk[J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 2017, 130(3): 469-481.
- [60] Kropat J, Tottey S, Birkenbihl R P, et al. A regulator of nutritional copper signaling in *Chlamydomonas* is an SBP domain protein that recognize the GTAC core of copper response element[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2005, 102(51): 18730-18735.
- [61] Sommer F, Kropat J, Malasarn D. The CRR1 nutritional copper sensor in *Chlamydomonas* contains two distinct metal-responsive domains[J]. Plant Cell, 2010, 22(12): 4098-4113.
- [62] Desai K, Sullards M C, Allegood J, et al. Fumonisin and fumonisin analogs as inhibitors of ceramide synthase and inducers of apoptosis[J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2002, 1585(2): 188-192.
- [63] Wang J, Zhou L, Shi H, et al. A single transcription factor promotes both yield and immunity in rice[J]. Science, 2018, 361(6406): 1026-1028.
- [64] Hou H M, Ya Q, Wang X P, et al. A SBP-box gene *VpSBP5* from Chinese wild *Vitis* species responds to *Erysiphe necator* and defense signaling molecules[J]. Plant Molecular Biology Reporter, 2013, 31(6): 1261-1270.
- [65] Hou H, Li J, Gao M, et al. Genomic organization, phylogenetic comparison and differential expression of the SBP-box family genes in grape [J]. Public Library of Science One, 2013, 8(3): e59358.
- [66] Stacy A J, Jill C P. Differential *SPL* gene expression patterns reveal candidate genes underlying flowering time and architectural differences in *Mimulus* and *Arabidopsis*[J]. Molecular Phylogenetic and Evolution, 2014, 73(1): 129-139.
- [67] Shikata M, Koyama T, Misuda N M, et al. *Arabidopsis* SBP-box genes *SPL10*, *SPL11* and *SPL2* control morphological change in association with shoot maturation in the reproductive phase[J]. Plant Cell Physiology, 2009, 50(12): 2133-2145.