

引用格式: 容凯晶, 刘家豪, 安丽君, 等. 皂荚 *TCP* 基因家族鉴定及在不同发育期刺中的表达分析[J]. 浙江农林大学学报, 2026, 43(5): 935–944. RONG Kaijing, LIU Jiahao, AN Lijun, *et al.* Identification of *TCP* gene family in *Gleditsia sinensis* and expression analysis at different developmental stages of thorns[J]. *Journal of Zhejiang A&F University*, 2026, 43(5): 935–944.

皂荚 *TCP* 基因家族鉴定及在不同发育期刺中的表达分析

容凯晶¹, 刘家豪¹, 安丽君¹, 王淑利², 栗琼琼², 王延伟¹

(1. 北京林业大学 生物科学与技术学院, 北京 100083; 2. 河南省濮阳市农林科学院, 河南 濮阳 457100)

摘要: 【目的】鉴定皂荚 *Gleditsia sinensis* *TCP* 家族成员, 分析其序列特征与进化规律, 探究其在不同发育期刺中的表达模式, 为解析刺发育分子机制提供依据。【方法】基于全基因组数据鉴定 *TCP* 家族成员, 分析其序列特征和进化规律, 结合皂荚刺 7 个发育期 [形成期 (GSB1)、休眠期 (GSB2)、萌动期 (GSB3)、芽向刺转化期 (GSB4)、快速伸长期 (GSB5)、生长后期 (GSB6) 及褐变期 (GSB7)] 转录组数据, 解析 *GsTCP* 的表达动态。【结果】基于皂荚全基因组共鉴定到 29 个 *GsTCP* 成员, 分布于 12 条染色体, 分为 Class I 和 Class II 亚家族。所有成员含保守 TCP 结构域; 启动子富含光响应、茉莉酸甲酯响应元件及 MYB 转录因子结合位点。转录组分析显示: 多数成员 (如 *GsTCP9/17*) 在芽转刺及快速伸长期 (GSB3 和 GSB4) 表达水平达到峰值, *GsTCP7* 在成熟褐化期 (GSB6 和 GSB7) 暴发式高表达。【结论】*GsTCP* 家族进化与结构高度保守, 部分成员可能通过整合光周期与激素信号调控皂荚刺发育; 早期激活的 *GsTCP9/17* 与后期高表达的 *GsTCP7* 可能与驱动皂荚刺原基细胞增殖和次生壁木质化硬化有关。图 6 表 1 参 33

关键词: 皂荚; *TCP* 转录因子; 刺; 发育

中图分类号: S722 文献标志码: A 文章编号: 2095-0756(2026)05-0935-10

Identification of *TCP* gene family in *Gleditsia sinensis* and expression analysis at different developmental stages of thorns

RONG Kaijing¹, LIU Jiahao¹, AN Lijun¹, WANG Shuli², LI Qiongqiong², WANG Yanwei¹

(1. School of Biological Sciences and Biotechnology, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China; 2. Puyang Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Puyang 457100, Henan, China)

Abstract: [Objective] This study aims to identify members of the *TCP* gene family in *Gleditsia sinensis*, analyze their sequence characteristics and evolutionary patterns, and investigate their expression profiles in thorns at different developmental stages, so as to provide a basis for elucidating the molecular mechanism of thorn development. [Method] *TCP* family members were identified using genome-wide data, and their sequence features and evolutionary relationships were analyzed. The expression dynamics of *GsTCPs* were assessed by integrating transcriptome data from thorns at seven developmental stages, including formation (GSB1), dormancy (GSB2), germination (GSB3), bud-to-thorn transition (GSB4), rapid elongation (GSB5), growth deceleration (GSB6), and browning and hardening (GSB7). [Result] A total of 29 *GsTCP* members were identified based on the whole genome of *G. sinensis*, distributed on 12 chromosomes and classified into Class I and Class II subfamilies. All members contained a conserved TCP domain. Their promoters were enriched in light-responsive elements, methyl jasmonate-responsive elements, and MYB transcription factor binding sites. Transcriptome analysis revealed that most *GsTCP* genes, such as *GsTCP9/17*,

收稿日期: 2026-05-12; 修回日期: 2026-07-19

基金项目: 国家自然科学基金项目 (32071504); 河南省农业科学院自主创新项目 (2026ZC122)

作者简介: 容凯晶 (ORCID: 0009-0007-8661-7173), 从事林木遗传育种研究。E-mail: rongkj@bjfu.edu.cn。通信作者: 王延伟 (ORCID: 0000-0002-4111-4843), 教授, 博士, 从事林木遗传育种研究。E-mail: ywwang@bjfu.edu.cn

exhibited peak expression levels during the bud-to-thorn transition and rapid elongation stages (GSB3, GSB4), while *GsTCP7* was explosively expressed during the maturation and browning stage (GSB6, GSB7). [Conclusion] The *GsTCP* family is highly conserved in both evolution and structure. Some members may regulate thorn development in *G. sinensis* by integrating photoperiod and hormone signals. Early activation of *GsTCP9* and *GsTCP17* and later high expression of *GsTCP7* may be related to driving cell proliferation in thorn primordia and secondary wall lignification and hardening, respectively. [Ch, 6 fig. 1 tab. 33 ref.]

Key words: *Gleditsia sinensis*; TCP transcription factor; thorn; development

转录因子作为基因表达调控网络中的核心枢纽,通过特异性识别并结合下游靶基因启动子区的顺式作用元件,精准调控靶基因的时空表达^[1],在植物生长发育、形态建成及环境胁迫应答等生物学过程中发挥重要的调控作用^[2]。其中,TCP转录因子家族是植物特有的一类重要调控蛋白。研究表明,TCP家族成员广泛参与调控植物分枝发育、叶片形态建成、生物节律^[3]以及多种生物与非生物胁迫应答过程^[4]。

TCP蛋白的典型特征是其N端含有一段约60个氨基酸构成的高度保守TCP结构域,呈碱性-螺旋-环-螺旋(bHLH-like)构象,是执行DNA结合、蛋白同源或异源二聚化及核定位功能的核心基础^[5]。该家族通常分为Class I(PCF类)和Class II(CYC/TB1与CIN类)^[6]。其中,Class I成员主要通过促进细胞增殖参与器官生长调控^[7],Class II成员则多发挥转录抑制作用,调控细胞分化与器官形成^[8]。近年来研究发现:TCP家族不仅涉及生长发育的调控,还广泛参与免疫信号、非生物胁迫应答及次生代谢合成等过程。Class I成员*AtTCP20*通过直接结合茉莉酸合成关键酶基因*LOX2*的启动子激活茉莉酸信号通路,与Class II成员在叶片发育中发挥拮抗作用,共同介导茉莉酸依赖的叶片形态建成与衰老^[9]。在黑果枸杞*Lycium ruthenicum*中,过表达*LrTCP4*显著提高了枸杞胺A及其他酚类化合物的积累,证实TCP在药用植物活性成分合成中的调控功能^[10]。

当前,TCP家族已在多种植物中得到系统鉴定,包括拟南芥*Arabidopsis thaliana*^[11]、水稻*Oryza sativa*^[12]、番茄*Solanum lycopersicum*^[13]、胡杨*Populus euphratica*^[14]及茶树*Camellia sinensis*^[15]等。然而,在乡土树种皂荚*Gleditsia sinensis*中,TCP的全基因组鉴定与功能研究仍相对滞后。皂荚为豆科Fabaceae皂荚属*Gleditsia*落叶乔木,其刺富含黄酮、三萜皂苷等多种成分,在多个领域具有广阔的开发应用前景^[16]。皂荚刺为侧生枝条特化形成的枝刺,质地坚硬,兼具物理防御与药用价值^[16],是具有抗肿瘤、抗炎及抗菌作用的传统药用部位^[17]。其发育历经形成期(GSB1)、休眠期(GSB2)、萌动期(GSB3)、芽向刺转化期(GSB4)、快速伸长期(GSB5)、生长后期(GSB6)及褐变期(GSB7)等7个阶段^[18]。然而,刺发育的分子调控机制研究仍十分有限,仅有个别转录组研究提示TCP、MYB等转录因子可能参与刺的形态建成与次生代谢调控^[19]。值得注意的是,TCP转录因子已被证实在多种植物的特殊结构中发挥调控作用。在拟南芥中,TCP不仅调节毛状体分支和表皮的发育^[20],*TCPI4*和*TCPI5*还是侧枝发育的正向促进因子^[21];在黄瓜*Cucumis sativus*中,TCP转录因子是卷须形成的关键因子^[22];TCP23在杨树*Populus*木质部中特异高表达,并直接参与调控次生壁的合成与木质素的沉积^[23]。这些研究表明,TCP转录因子可能在不同的特殊器官中发挥调控功能。因此,系统鉴定*GsTCP*家族成员并解析其在刺发育过程中的表达动态,对揭示刺形成的转录调控网络,发掘关键功能基因具有重要意义。

鉴于此,本研究基于皂荚全基因组数据^[18],对*GsTCP*家族进行全基因组鉴定,系统分析其系统进化关系、染色体定位、保守基序及顺式作用元件,并解析*GsTCP*在刺不同发育关键期的表达谱,筛选与刺发育相关的关键成员。研究结果可为深入解析*GsTCP*的生物学功能及在刺形态建成中的调控机制奠定基础,同时为皂荚种质资源的遗传改良与分子育种提供候选基因资源与理论参考。

1 材料与方法

1.1 皂荚*GsTCP*基因家族鉴定与系统进化树构建

本研究基于前期已发表的皂荚基因组数据^[18],从TAIR(The *Arabidopsis* Information Resource)数据库获取24个拟南芥TCP蛋白序列,利用BLASTP进行同源比对。同时,基于Pfam数据库下载TCP家族

特征，利用 HMMER 3.0 进行全基因组搜寻。综合 2 种结果，通过 NCBI-Search 和 SMART 数据库对候选序列进行结构域验证，剔除不含完整 TCP 结构域的冗余序列，最终确定皂荚 TCP 家族成员。

将基于皂荚基因组鉴定获得的 29 条 GsTCP 蛋白序列与拟南芥 AtTCP 蛋白序列、从 phytozome 数据库获得的水稻 OsTCP 蛋白序列、大豆 *Glycine max* GmTCP 蛋白序列进行蛋白序列比对，利用 IQtree 采用最大似然法构建系统发育树，选择 JTT+F+R8 模型，并使用 iTOL 进行可视化。

1.2 GsTCP 保守基序和保守结构域分析

利用 MEME 在线网站对 29 个 GsTCP 蛋白序列进行保守基序分析。设定识别 Motif 数为 10 且 $E\text{-value} < 1 \times 10^{-10}$ 。利用 TBtools 解析并展示 GsTCP 基因的外显子与内含子分布特征。利用美国国家生物技术信息中心 (NCBI) 数据库中的 BatchCD-Search 对 GsTCP 蛋白序列进行保守结构域分析。

1.3 GsTCP 染色体定位与共线性分析

借助 TBtools^[24] 软件从皂荚基因组 GFF 文件中解析 GsTCP 成员的染色体定位坐标并完成制图。从 Ensembl Plants 数据库获取拟南芥和毛果杨 *P. trichocarpa* 的参考基因组及注释数据。鉴定 TCP 在不同物种间的共线性联系，利用 TBtools 构建共线性图谱。

1.4 GsTCP 启动子顺式作用元件分析

借助 PlantCARE 数据库，对所有 GsTCP 基因上游 2 000 bp 区域内的顺式作用调控元件进行预测分析，并通过 TBtools 进行可视化展示。

1.5 GsTCP 在皂荚刺发育过程中的表达模式分析

从本课题组已发表的皂荚转录组数据^[18]中提取 GsTCP 家族成员在 7 个发育阶段的外显子每千碱基片段百万比 (FPKM 值)，采用 TBtools 可视化。从 GsTCP 成员中选择 6 个基因进行实时荧光定量聚合酶链式反应 (RT-qPCR) 验证，分别为 GsTCP1、GsTCP7、GsTCP11、GsTCP17、GsTCP19、GsTCP21。使用 RNA prep Pure Plant Kit 试剂盒提取皂荚刺总 RNA，使用 PrimeScriptTM RT Master Mix Perfect Real Time 试剂盒进行反转录实验，采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ^[25] 进行数据分析和计算，以 GsAtcin 为内参^[26]，基因相对表达量以平均值±标准差表示，实验进行 3 次重复。利用单因素方差分析 (One-way ANOVA) 和多重比较 (Tukey's HSD) 确定基因表达的差异显著性，显著性水平设为 $P < 0.05$ 。分别用柱状图展示 RT-qPCR 验证的基因表达水平，折线图展示转录组数据中的基因表达趋势。引物设计如表 1。

表 1 RT-qPCR 引物设计

Table 1 Primer sequences used for RT-qPCR

序列名称	序列(5'→3')	序列名称	序列(5'→3')
GsAtcin-F	GTGGTGGCTCAACTATGT	GsTCP11-R	GTTACTCCACCCAGAATTGA
GsAtcin-R	TCCTCCAATCCAGACACT	GsTCP17-F	CTCCACTTCAGCCGAAACA
GsTCP1-F	AGAAGGAGGAGAAGGAGAAAGA	GsTCP17-R	CCTCAACCTTAGTGTGCTTATC
GsTCP1-R	CACCTGTGAGAAGCTCAGTAAA	GsTCP19-F	CCAACGGCACAACAAGTAG
GsTCP7-F	CTCCACCATGACCTCTTACTTC	GsTCP19-R	CTCCTCGACCACCTTGAAAT
GsTCP7-R	GGGATCTGCTCCGTGTTTAT	GsTCP21-F	CTCCACAGCCACAATCTAAT
GsTCP11-F	TCCATCCACAGCCAGTTTAG	GsTCP21-R	CCAACCTGCTTCTTGCTTTCTTC

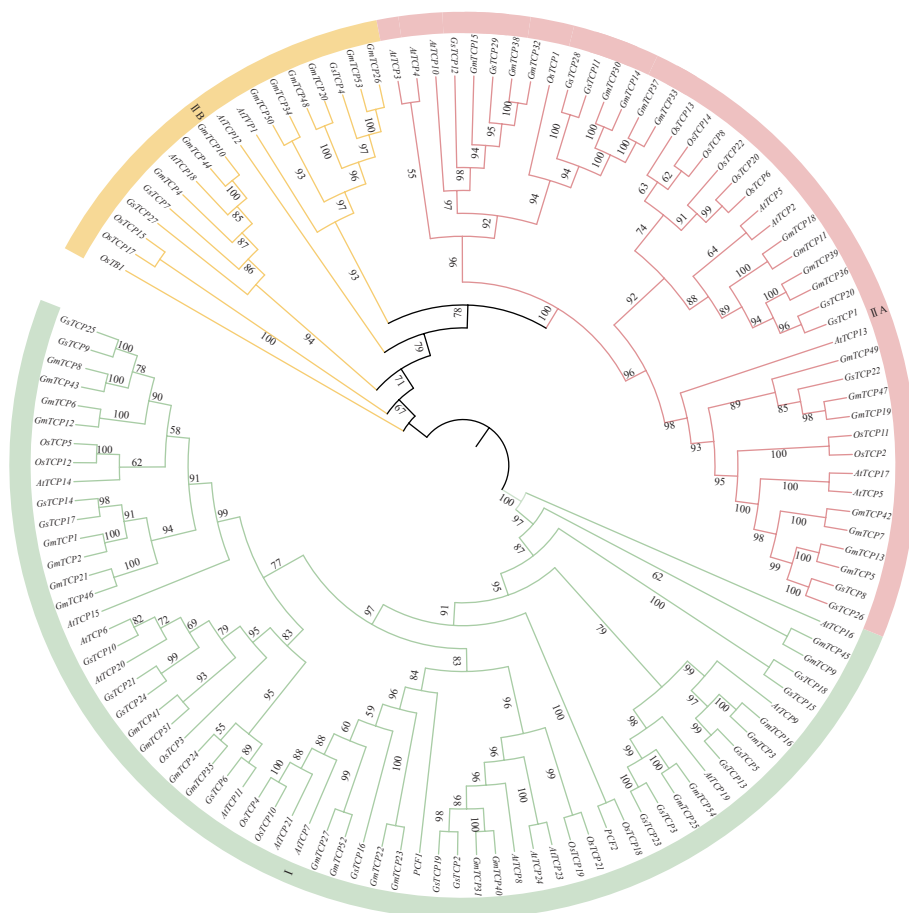
2 结果与分析

2.1 皂荚 TCP 基因家族鉴定与系统进化树构建

本研究基于 TCP 结构域筛选和 Blast 同源比对，通过双策略去重获得候选基因。经 SMART 及 NCBI-Search 验证保守结构域，最终鉴定得到 29 个含有完整 TCP 结构域的非冗余基因，按染色体位置依次命名为 GsTCP1~GsTCP29。

为进一步明确 GsTCP 家族的系统发育关系，将皂荚 TCP 蛋白序列与拟南芥、水稻和大豆的 TCP 家族共同构建系统发育树 (图 1)。参照拟南芥分类体系，GsTCP 明确分为 Class I 与 Class II 两大亚家族。其中 Class I 成员最多 (19 个)，在家族中占主导地位，这表明它们可能承担更广泛的基础调控功能。

Class II 进一步区分为 CIN(II A) 和 CYC/TB1(II B) 等 2 个亚类, 其中 CYC/TB1 成员最少。此外, 在多个高置信度的同源分支中, *GsTCP* 优先与豆科近缘种大豆的 *GmTCP* 聚类, 与单子叶植物水稻的 *OsTCP* 亲缘关系较远, 暗示同支成员可能具有相似功能或参与保守调控通路, 为后续功能解析与候选基因筛选提供了进化依据。



使用IQ-Tree以最大似然方法构建树, 选择JTT+F+R8模型。自展值在分支上方。不同颜色的分支代表的不同亚家族, 绿色. Class I; 红色. Class II A (CIN); 橙色. Class II B (CYC/TB1)。Gs, 皂荚; At, 拟南芥; Os, 水稻; Gm, 大豆。

图1 皂荚与拟南芥、水稻、大豆的 *TCP* 基因家族系统进化树

Figure 1 Phylogenetic tree of the *TCP* gene family in *G. sinensis* (Gs), *A. thaliana* (At), *O. sativa* (Os) and *G. max* (Gm)

2.2 *GsTCP* 保守基序和保守结构域分析

利用 MEME 和 TBtools 分析 *GsTCP* 蛋白保守基序, 共鉴定出 10 个保守基序 (图 2)。其中, Motif 1 存在于所有成员 N 端且紧密相邻, 构成约 60 个氨基酸的碱性-螺旋-环-螺旋 (bHLH) 构象, 即 *TCP* 保守结构域。同一亚家族成员在基序组成、数量及排序上高度一致, 印证了系统发育分类的合理性; 不同亚家族间差异明显, 如 Motif 6 富集于 II B 亚家族, Motif 5 主要分布于 II A, Motif 9 仅见于部分 I 亚家族成员。这些特征揭示了 *GsTCP* 家族进化中的结构分化, 表明不同亚家族可能承担不同的生物学功能。

2.3 *GsTCP* 染色体分布及共线性分析

染色体定位 (图 3 A) 显示: 29 个 *GsTCP* 基因分布于皂荚 12 条染色体 (LG01~LG06、LG08~LG10、LG12~LG14), 其中 LG01 和 LG02 上分布的成员较多, 并检测到串联重复和片段重复事件, 表明重复事件在 *GsTCP* 家族的进化中发挥了重要作用, 体现了其进化的复杂性和动态性。

为深入了解 *GsTCP* 转录因子的起源与进化机制, 进一步对皂荚与拟南芥及毛果杨的 *TCP* 进行了跨物种共线性分析。结果显示: 多个 *GsTCP* 成员在 2 个物种间均存在共线对基因 (图 3 B, 图 3 C)。其中, 皂荚与毛果杨之间的 *TCP* 共线关系相对更为丰富, 而与拟南芥之间也存在一定数量的保守共线对。

2.4 *GsTCP* 启动子顺式作用元件分析

顺式作用元件分析结果显示 (图 4): *GsTCP* 启动子区存在类型丰富的调控元件, 广泛涉及植物生长

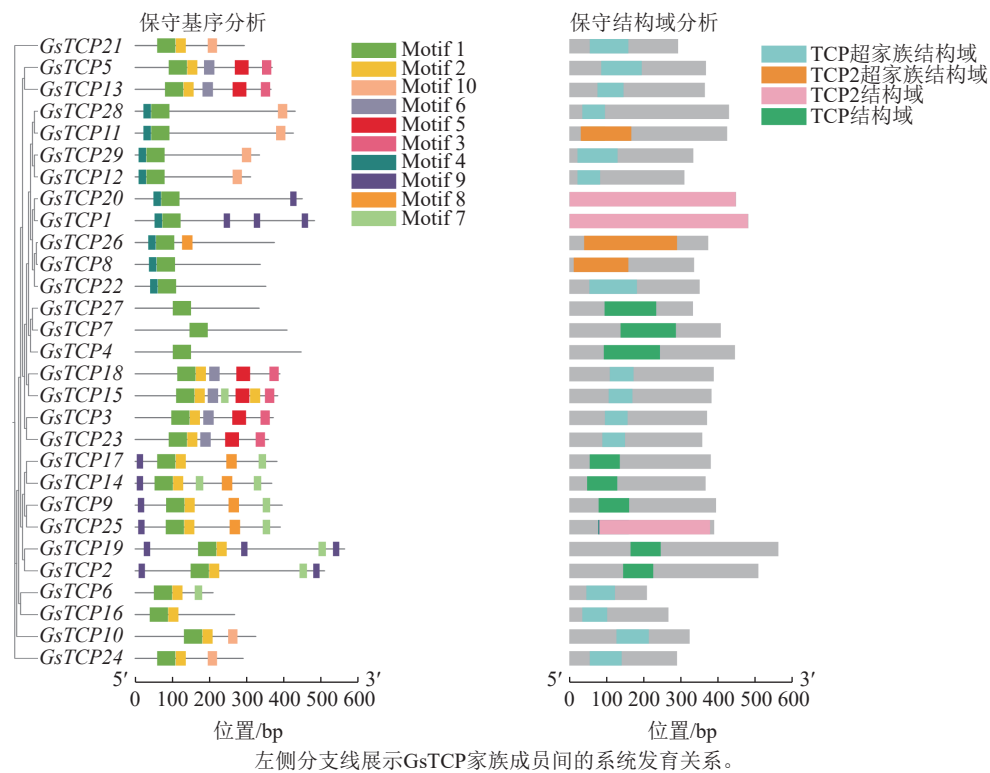


图 2 GsTCP 保守基序和保守结构域分析

Figure 2 Analysis of conserved motifs and conserved domains of GsTCP proteins

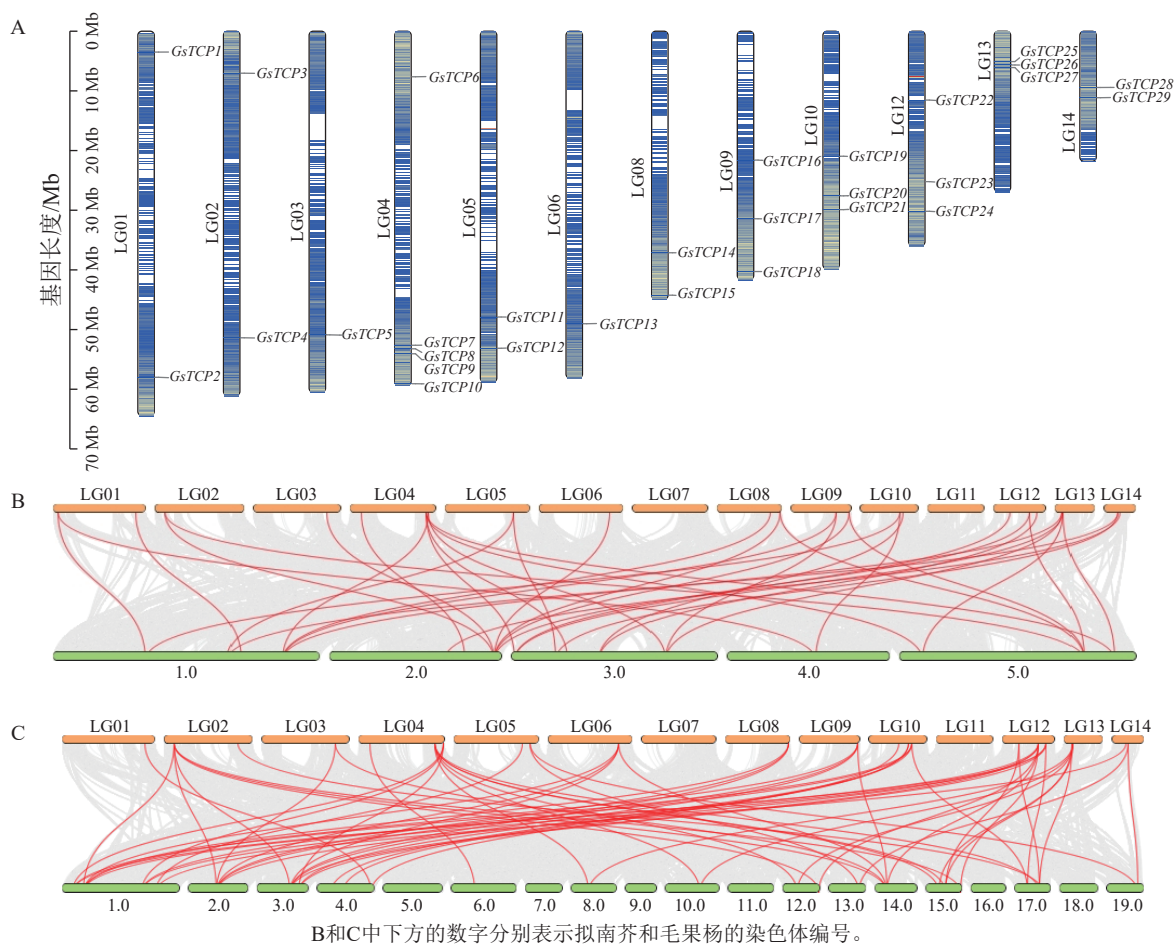


图 3 *GsTCP* 的染色体分布 (A)、皂荚与拟南芥 (B) 及毛果杨共线性 (C) 分析

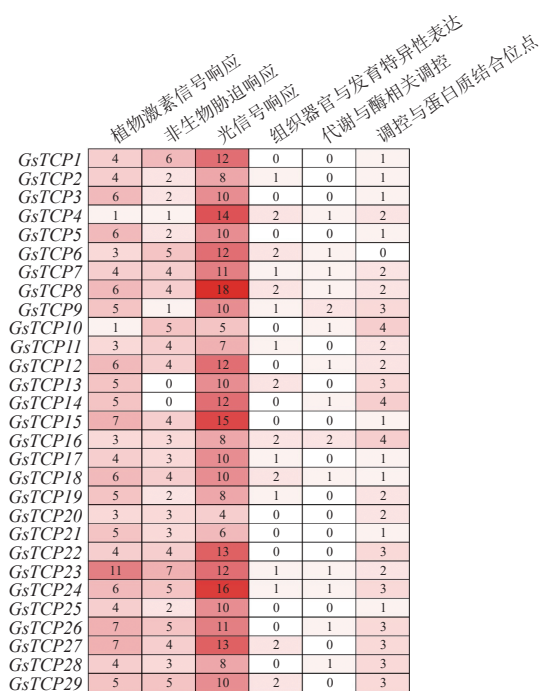
Figure 3 Chromosomal distribution of *GsTCP* genes (A), and synteny analysis between *G. sinensis* and *A. thaliana* (B) or *P. trichocarpa* (C)

发育、激素信号响应、非生物胁迫应答及转录调控等多个功能层面。对元件类型进行统计显示,与生长发育相关的元件主要包括分生组织表达调控元件、细胞周期调控元件等,表明部分 *GsTCP* 成员可能参与细胞分裂与组织分化等发育进程。在激素响应方面,茉莉酸甲酯响应元件在 *GsTCP* 启动子区域中分布最为广泛,脱落酸与生长素响应元件也有富集,表明 *GsTCP* 家族可能在茉莉酸信号介导的防御反应及多种激素信号的交叉对话中发挥调控功能。光响应元件数量在 *GsTCP* 家族中占据主导地位,广泛存在于绝大多数成员的启动子区域,提示光信号在 *GsTCP* 的转录激活过程中可能具有关键调控作用;在转录调控层面,MYB 类转录因子结合位点在多个 *GsTCP* 启动子中高频出现,表明其表达可能受到上游 MYB 转录因子的调控。综上, *GsTCP* 启动子元件构成的多样性为其参与多重信号通路和复杂发育过程提供了顺式调控基础。

综上所述, *GsTCP* 家族启动子区富含多种激素与胁迫相关的顺式作用元件,且不同成员间元件的组成与分布存在差异。这一特征暗示该家族不仅参与植物的生长发育过程,还可能在整合光信号和茉莉酸信号等调控网络中发挥作用,从而在皂荚刺从细胞增殖、组织分化到后期的发育过程中实现调控。

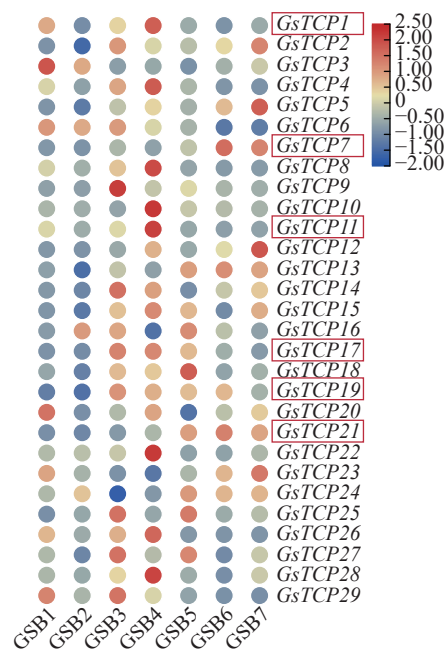
2.5 *GsTCP* 在皂荚不同发育期刺中的表达模式

本研究基于实验室前期已发表的皂荚刺 7 个发育时期的转录组数据^[18],对 29 个 *GsTCP* 成员的时序表达模式进行了分析。结果显示,多数成员在刺发育过程中维持基础转录活性,但表达水平存在明显的成员间差异(图 5)。其中, *GsTCP8*、*GsTCP12*、*GsTCP15* 及 *GsTCP26* 表达整体较低,在多个阶段几乎检测不到。与之不同, *GsTCP1*、*GsTCP7*、*GsTCP11*、*GsTCP17*、*GsTCP19* 和 *GsTCP21* 在多个阶段均维持较高表达水平,提示其可能在细胞分裂、分化及次生代谢产物积累等核心过程中发挥关键调控功能。



图中数字表示各顺式作用元件的数量,颜色深浅与元件数量成正比。

图 4 *GsTCP* 家族启动子区的顺式作用元件分析
Figure 4 Analysis of cis-acting elements in the promote regions of the *GsTCP* family



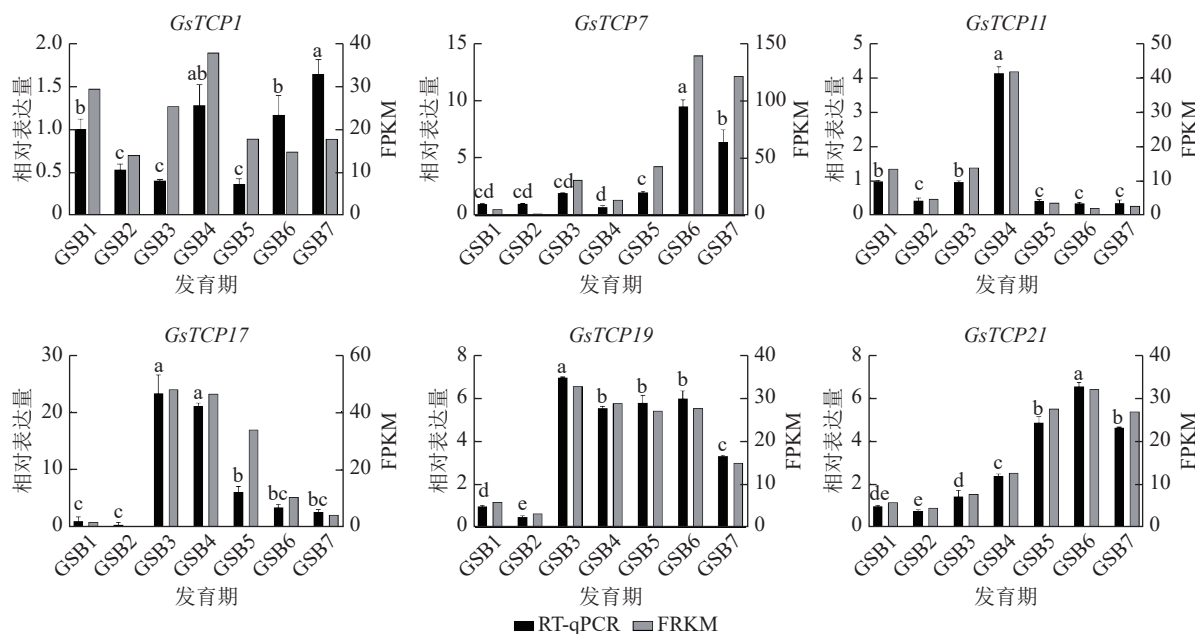
GSB1. 形成期; GSB2. 休眠期; GSB3. 萌动期; GSB4. 芽向刺转化期; GSB5. 快速伸长期; GSB6. 生长后期; GSB7. 褐变期。颜色梯度表示标准化后的基因表达水平,由蓝色到红色分别代表较低到较高的表达水平。

图 5 *GsTCP* 在皂荚刺不同发育阶段的表达模式分析
Figure 5 Expression patterns of *GsTCP* at different developmental stages of *G. sinensis* thorns

从发育阶段的动态变化角度分析, *GsTCP* 家族成员呈现多样化的时序表达模式。大多数 *GsTCP* 基因在 GSB3 与 GSB4 阶段(推测为刺快速伸长期或组织分化活跃期)表达量达到峰值或出现显著上调,例如 *GsTCP17* 在 GSB3 和 GSB4 中表达极为突出, *GsTCP9* 在 GSB3 中高表达,暗示这些基因可能精准调控皂荚刺特定发育时期的细胞活动。有趣的是, *GsTCP7* 的表达在 GSB6 和 GSB7 阶段急剧升高,远高

于其他成员在此阶段的表达水平, 呈现强烈的阶段特异性激活特征, 表明 *GsTCP7* 在皂荚刺发育后期(如木质化、皮层硬化或防御物质累积)中发挥核心调控作用。

为验证参与皂荚刺发育的候选 *GsTCP* 的表达模式, 基于转录组数据中在多阶段较高表达水平的筛选标准, 选取了 *GsTCP1*、*GsTCP7*、*GsTCP11*、*GsTCP17*、*GsTCP19* 和 *GsTCP21* 共 6 个基因进行 RT-qPCR 分析。结果显示, 其表达趋势与转录组结果高度吻合, 证实了这些基因在刺发育中的高表达特征及转录组数据的可靠性(图 6)。上述结果为后续深入解析 *GsTCP* 在皂荚刺发育中的生物学功能提供了可靠的数据基础。



以 *GsAtcin* 作为内参基因。每个实验进行 3 次重复, 基因相对表达量以平均值 $\pm$ 标准差表示。不同小写字母表示不同发育阶段间差异显著 ($P < 0.05$)。GSB1. 形成期; GSB2. 休眠期; GSB3. 萌动期; GSB4. 芽向刺转化期; GSB5. 快速伸长期; GSB6. 生长后期; GSB7. 褐变期。FPKM. 外显子每千碱基片段百万比。

图 6 RT-qPCR 验证 *GsTCP* 家族基因在不同发育期皂荚刺中的表达
Figure 6 RT-qPCR validation of *GsTCP* gene family expression in *G. sinensis* thorns at different development stages

3 讨论

3.1 *GsTCP* 家族的全基因组鉴定和进化保守性

TCP 转录因子家族是植物中关键调控蛋白, 在生长发育、形态建成及胁迫应答中发挥核心作用。该家族已在拟南芥^[11]、水稻^[12]、杨树^[14]等植物中被系统鉴定, 但在皂荚中仍属空白。皂荚作为一种以茎源性枝刺为典型特征的经济树种, 其刺发育的分子机制尚不清晰。因此, 本研究基于已发表的皂荚全基因组序列^[18]鉴定出 29 个 *GsTCP* 成员, 数量少于大豆^[27]、胡杨^[14]等植物, 略多于拟南芥^[11]和水稻^[12]。染色体定位显示 *GsTCP* 分布于 12 条染色体。共线性分析表明: 皂荚与毛果杨 *TCP* 之间共线性基因对数量较多, 与拟南芥也存在保守共线性关系。皂荚与同为木本植物的毛果杨共线性更为丰富, 暗示木本植物间可能保留了更多保守的 *TCP* 调控模块, 其中部分基因可能参与刺的发育调控。系统发育分析将 *GsTCP* 划分为 Class I (PCF 类) 与 Class II (CYC/TB1 与 CIN 类) 两大分支, 与拟南芥、水稻等物种分类一致, 表明 *TCP* 家族在植物进化中高度保守。其中 Class I 成员数量占优势 (19 个), 而 Class II 较少 (10 个), 与杨树^[14]、茶树^[15]分布格局相似, 暗示 Class I 可能在木本植物进化中经历了活跃的扩增, 在其生长发育调控网络中承担广泛的基础功能。值得注意的是, *GsTCP17* 和 *GsTCP7* 均属于 Class I 分支, 而 *GsTCP9* 归入 Class II 的 CIN 亚类。这 3 个在刺发育中差异表达的基因分属不同进化分支, 提示 *TCP* 家族对刺发育的调控可能是多分支协同参与的复杂过程。

3.2 顺式作用元件分析揭示 *GsTCP* 的调控网络

顺式作用元件分析为预测 *GsTCP* 的上游调控网络提供了重要线索。结果显示: *GsTCP* 启动子区广

泛富集光响应、茉莉酸响应元件及 MYB 转录因子结合位点等。光响应元件的高度富集与 *TCP* 参与光信号调控植物生长发育的功能一致,如拟南芥 *TCP* 成员直接参与光调控下胚轴伸长与子叶扩张^[28]。皂荚刺的发育具有明显的季节性节律特征,通常在春季后启动刺转化,这一过程与光周期信号密切相关,光响应元件的富集暗示光信号可能通过调控 *GsTCP* 表达参与皂荚刺的发育。茉莉酸响应元件的广泛分布则暗示 *GsTCP* 可能参与茉莉酸介导的防御与次生代谢调控^[9]。尤为重要的是,MYB 结合位点的高频出现表明:*GsTCP* 表达可能受到上游 MYB 层级调控^[29]。在植物中,MYB 转录因子是次生壁合成与木质素沉积的核心调控因子,多个 MYB 成员已被证明直接激活木质素合成途径关键酶基因。这与杨树中 *TCP23* 受 MYB 调控并参与次生壁形成的机制类似^[23],多个 *GsTCP* 成员启动子区域含有 MYB 结合位点,这为理解皂荚刺硬化的分子调控提供了重要的思路。不同 *GsTCP* 元件组成与分布差异明显,部分成员(如 *GsTCP9*、*GsTCP19*)启动子区特异性富集分生组织表达相关元件及厌氧诱导元件,提示其在特定发育阶段或胁迫下可能具有特异的调控功能^[30]。综合来看,*GsTCP* 启动子区元件的差异化组成与刺发育不同阶段的需求相吻合,为解析刺发育时序调控网络中的上游信号提供了潜在的分子靶点。

3.3 时序表达动态揭示 *GsTCP* 对皂荚刺发育的时序调控机制

基因的时序表达是其生物学功能的直接体现。本研究中,多数 *GsTCP* 的表达在皂荚刺的萌动期至芽转刺期(GSB3 和 GSB4)达到峰值(如 *GsTCP9/17*)。已有研究表明:*TCP* 转录因子是植物形态建成的枢纽,不仅能激活细胞周期基因驱动细胞增殖,其经典成员 *BRC1* 更是决定腋芽分枝命运的关键因子^[31]。因此,这些早期高表达的 *GsTCP* 可能驱动了皂荚腋芽向刺的转化及初期的快速伸长。随着发育进入成熟褐化期(GSB6 和 GSB7),由细胞分裂转向次生细胞壁加厚与木质化。此时,*GsTCP7* 呈现出暴发式的特异性表达,这一表达模式与皂荚刺从柔嫩绿色芽状结构逐渐转变为坚硬褐色针刺的形态变化高度同步。*GsTCP7* 在发育后期具有表达优势,是驱动皂荚刺皮层硬化及最终物理防御屏障形成的核心基因。近年研究证实,*TCP* 可直接激活木质素合成,正向调控维管发育与次生壁沉积^[32]。*GsTCP17* 启动子区同时富集茉莉酸响应元件和 MYB 结合位点,因此,*GsTCP17* 在刺发育后期可能受茉莉酸信号诱导,并与 MYB 转录因子协同作用,激活下游木质素合成途径,调控刺皮层细胞的次生壁加厚和木质素大量沉积。

此外,*GsTCP* 家族内部呈现一定的时序表达调控。例如,早期激活的 *GsTCP9/17* 在芽转刺及快速伸长期达到峰值后相对表达量迅速下降,而 *GsTCP7* 则从生长后期开始显著上升并在褐化期达到顶峰,呈现出明显时序表达模式;而 *GsTCP19/21/24* 则在中后期维持平稳高表达。这种表达谱表明了 *GsTCP* 不同成员可能在早期促进皂荚刺器官生长,后期诱导成熟分化的作用机制^[33]。这种时序表达,有利于皂荚刺从柔嫩芽到坚硬防御器官的精准发育,也为后续筛选皂荚刺形成的关键功能基因提供了候选的关键靶点。

4 结论

本研究在全基因组水平系统鉴定了 *GsTCP* 家族,共获得 29 个 *GsTCP* 成员,*GsTCP* 可划分为 Class I 和 Class II 2 个亚家族,均含 *TCP* 保守结构域。共线性分析表明:该家族在木本植物间高度保守。*GsTCP* 启动子区广泛富集光、茉莉酸响应元件及 MYB 结合位点,暗示其整合光周期、激素信号与内源生物钟途径调控皂荚生长发育。基于皂荚刺 7 个连续发育阶段的转录组数据,发现 *GsTCP* 呈时序表达模式:部分成员(如 *GsTCP9/17*)在萌动与芽转刺期上调表达,可能主导腋芽细胞增殖与形态建成;*GsTCP7* 在褐化成熟期暴发式高表达,可能驱动刺次生壁加厚与木质化。综上,本研究阐释了 *GsTCP* 的基因组与演化特征,解析了其在刺时序发育中的动态调控,为刺形成机制解析及分子育种提供了一定的理论支撑。

5 参考文献

- [1] ROGERS J M, BULYK M L. Diversification of transcription factor-DNA interactions and the evolution of gene regulatory networks[J]. *Wiley Interdisciplinary Reviews. Systems Biology and Medicine*, 2018, 10(5): e1423. DOI: 10.1002/wsbm.1423.
- [2] AHMAD MERAJ T, FU Jingye, ALI RAZA M, *et al.* Transcriptional factors regulate plant stress responses through mediating secondary metabolism[J]. *Genes*, 2020, 11(4): 346. DOI: 10.3390/genes11040346.

- [3] WANG Yutao, CAO Yu, QIN Genji. Multifaceted roles of TCP transcription factors in fate determination[J]. *New Phytologist*, 2025, **245**(1): 95–101. DOI: [10.1111/nph.20188](https://doi.org/10.1111/nph.20188).
- [4] LIU Donghai, LUO Yin, HAN Han, *et al.* Genome-wide analysis of *Citrus* TCP transcription factors and their responses to abiotic stresses[J]. *BMC Plant Biology*, 2022, **22**(1): 325. DOI: [10.1186/s12870-022-03709-3](https://doi.org/10.1186/s12870-022-03709-3).
- [5] KOSUGI S, OHASHI Y. *PCF1* and *PCF2* specifically bind to *cis* elements in the rice proliferating cell nuclear antigen gene[J]. *The Plant Cell*, 1997, **9**(9): 1607–1619. DOI: [10.1105/tpc.9.9.1607](https://doi.org/10.1105/tpc.9.9.1607).
- [6] ZHOU Haiying, HWARARI D, MA Hongyu, *et al.* Genomic survey of TCP transcription factors in plants: phylogenomics, evolution and their biology[J]. *Frontiers in Genetics*, 2022, **13**: 1060546. DOI: [10.3389/fgene.2022.1060546](https://doi.org/10.3389/fgene.2022.1060546).
- [7] VIOLA I L, ALEM A L, JURE R M, *et al.* Physiological roles and mechanisms of action of class I TCP transcription factors[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, **24**(6): 5437. DOI: [10.3390/ijms24065437](https://doi.org/10.3390/ijms24065437).
- [8] CRAWFORD B C W, NATH U, CARPENTER R, *et al.* *CINCINNATA* controls both cell differentiation and growth in petal lobes and leaves of *Antirrhinum*[J]. *Plant Physiology*, 2004, **135**(1): 244–253. DOI: [10.1104/pp.103.036368](https://doi.org/10.1104/pp.103.036368).
- [9] 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 Physiology*, 2012, **159**(4): 1511–1523. DOI: [10.1104/pp.112.200303](https://doi.org/10.1104/pp.112.200303).
- [10] CHAHÉL A A, ZENG Shaohua, YOUSAF Z, *et al.* Plant-specific transcription factor LrTCP4 enhances secondary metabolite biosynthesis in *Lycium ruthenicum* hairy roots[J]. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 2019, **136**(2): 323–337. DOI: [10.1007/s11240-018-1518-2](https://doi.org/10.1007/s11240-018-1518-2).
- [11] RIECHMANN J L, HEARD J, MARTIN G, *et al.* *Arabidopsis* transcription factors: genome-wide comparative analysis among eukaryotes[J]. *Science*, 2000, **290**(5499): 2105–2110. DOI: [10.1126/science.290.5499.2105](https://doi.org/10.1126/science.290.5499.2105).
- [12] YAO Xuan, MA Hong, WANG Jian, *et al.* Genome-wide comparative analysis and expression pattern of TCP gene families in *Arabidopsis thaliana* and *Oryza sativa*[J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2007, **49**(6): 885–897. DOI: [10.1111/j.1744-7909.2007.00509.x](https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2007.00509.x).
- [13] PARAPUNOVA V, BUSSCHER M, BUSSCHER-LANGE J, *et al.* Identification, cloning and characterization of the tomato TCP transcription factor family[J]. *BMC Plant Biology*, 2014, **14**(1): 157. DOI: [10.1186/1471-2229-14-157](https://doi.org/10.1186/1471-2229-14-157).
- [14] MA Xiaodong, MA Jianchao, FAN Di, *et al.* Genome-wide identification of TCP family transcription factors from *Populus euphratica* and their involvement in leaf shape regulation[J]. *Scientific Reports*, 2016, **6**: 32795. DOI: [10.1038/srep32795](https://doi.org/10.1038/srep32795).
- [15] SHANG Xiaowen, HAN Zhaolan, ZHANG Dayan, *et al.* Genome-wide analysis of the TCP gene family and their expression pattern analysis in tea plant (*Camellia sinensis*)[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2022, **13**: 840350. DOI: [10.3389/fpls.2022.840350](https://doi.org/10.3389/fpls.2022.840350).
- [16] ZHANG Jianping, TIAN Xinhui, YANG Yongxun, *et al.* *Gleditsia* species: an ethnomedical, phytochemical and pharmacological review[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2016, **178**: 155–171. DOI: [10.1016/j.jep.2015.11.044](https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.11.044).
- [17] LEE J, YI Jinmu, KIM H, *et al.* Cytochalasin H, an active anti-angiogenic constituent of the ethanol extract of *Gleditsia sinensis* thorns[J]. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 2014, **37**(1): 6–12. DOI: [10.1248/bpb.b13-00318](https://doi.org/10.1248/bpb.b13-00318).
- [18] XIAO Dandan, LIU Jiahao, WANG Jing, *et al.* Chromosome-level *de novo* genome unveils the evolution of *Gleditsia sinensis* and thorns development[J]. *Genomics*, 2025, **117**(2): 111004. DOI: [10.1016/j.ygeno.2025.111004](https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2025.111004).
- [19] XIAO Feng, ZHAO Yang, WANG Xiurong, *et al.* Comparative transcriptome analysis of *Gleditsia sinensis* thorns at different stages of development[J]. *Plants*, 2023, **12**(7): 1456. DOI: [10.3390/plants12071456](https://doi.org/10.3390/plants12071456).
- [20] CAMOIRANO A, ARCE A L, ARIEL F D, *et al.* Class I TCP transcription factors regulate trichome branching and cuticle development in *Arabidopsis*[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2020, **71**(18): 5438–5453. DOI: [10.1093/jxb/eraa257](https://doi.org/10.1093/jxb/eraa257).
- [21] GASTALDI V, NICOLAS M, MUÑOZ-GASCA A, *et al.* Class I TCP transcription factors TCP14 and TCP15 promote axillary branching in *Arabidopsis* by counteracting the action of Class II TCP BRANCHED1[J]. *New Phytologist*, 2024, **243**(5): 1810–1822. DOI: [10.1111/nph.19950](https://doi.org/10.1111/nph.19950).
- [22] WANG Shenhao, YANG Xueyong, XU Mengnan, *et al.* A rare SNP identified a TCP transcription factor essential for tendril development in cucumber[J]. *Molecular Plant*, 2015, **8**(12): 1795–1808. DOI: [10.1016/j.molp.2015.10.005](https://doi.org/10.1016/j.molp.2015.10.005).
- [23] ZHANG Shengkui, LI Can, CUI Baihui, *et al.* TCP23-WRKY15 module negatively regulates lignin deposition and xylem development of wood formation in *Populus*[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2025, **306**: 141656.

DOI: [10.1016/j.ijbiomac.2025.141656](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2025.141656).

- [24] CHEN Chengjie, CHEN Hao, ZHANG Yi, *et al.* TBtools: an integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data[J]. *Molecular Plant*, 2020, **13**(8): 1194–1202. DOI: [10.1016/j.molp.2020.06.009](https://doi.org/10.1016/j.molp.2020.06.009).
- [25] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. 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. DOI: [10.1006/meth.2001.1262](https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262).
- [26] JIAN Bo, LIU Bin, BI Yurong, *et al.* Validation of internal control for gene expression study in soybean by quantitative real-time PCR[J]. *BMC Molecular Biology*, 2008, **9**(1): 59. DOI: [10.1186/1471-2199-9-59](https://doi.org/10.1186/1471-2199-9-59).
- [27] FENG Zhijuan, XU Shengchun, LIU Na, *et al.* Soybean TCP transcription factors: evolution, classification, protein interaction and stress and hormone responsiveness[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2018, **127**: 129–142. DOI: [10.1016/j.plaphy.2018.03.020](https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.03.020).
- [28] CHALLA K R, AGGARWAL P, NATH U. Activation of *YUCCA5* by the transcription factor TCP4 integrates developmental and environmental signals to promote hypocotyl elongation in *Arabidopsis*[J]. *The Plant Cell*, 2016, **28**(9): 2117–2130. DOI: [10.1105/tpc.16.00360](https://doi.org/10.1105/tpc.16.00360).
- [29] WANG Zhishuo, WANG Ying, KOHALMI S E, *et al.* *Squamosa promoter* binding protein-like 2 controls floral organ development and plant fertility by activating asymmetric leaves 2 in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Plant Molecular Biology*, 2016, **92**(6): 661–674. DOI: [10.1007/s11103-016-0536-x](https://doi.org/10.1007/s11103-016-0536-x).
- [30] MARTÍN-TRILLO M, CUBAS P. TCP genes: a family snapshot ten years later[J]. *Trends in Plant Science*, 2010, **15**(1): 31–39. DOI: [10.1016/j.tplants.2009.11.003](https://doi.org/10.1016/j.tplants.2009.11.003).
- [31] AGUILAR-MARTÍNEZ J A, POZA-CARRIÓN C, CUBAS P. *Arabidopsis* BRANCHED1 acts as an integrator of branching signals within axillary buds[J]. *The Plant Cell*, 2007, **19**(2): 458–472. DOI: [10.1105/tpc.106.048934](https://doi.org/10.1105/tpc.106.048934).
- [32] WANG Han, MAO Yanfei, YANG Jun, *et al.* TCP24 modulates secondary cell wall thickening and anther *Endothecium* development[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2015, **6**: 436. DOI: [10.3389/fpls.2015.00436](https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00436).
- [33] KIEFFER M, MASTER V, WAITES R, *et al.* TCP14 and TCP15 affect internode length and leaf shape in *Arabidopsis*[J]. *The Plant Journal*, 2011, **68**(1): 147–158. DOI: [10.1111/j.1365-3113x.2011.04674.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-3113x.2011.04674.x).