

引用格式:

陈丽, 范双喜. 生菜 HSF 基因家族的全基因组鉴定与表达分析[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2024, 50(4): 51–59.

CHEN L, FAN S X. Genome-wide identification and expression analysis of HSF gene family in lettuce[J]. Journal of Hunan Agricultural University(Natural Sciences), 2024, 50(4): 51–59.

投稿网址: <http://xb.hunau.edu.cn>



## 生菜 HSF 基因家族的全基因组鉴定与表达分析

陈丽<sup>1</sup>, 范双喜<sup>2\*</sup>

(1.湖南省蔬菜研究所, 湖南 长沙 410125; 2.北京农业职业学院园艺园林学院, 北京 102400)

**摘要:** 利用生菜的全基因组数据, 采用生物信息学方法, 从生菜中鉴定出了 35 个 *LsHSF* 基因, 按照其在染色体上的分布顺序命名为 *LsHSF1*, *LsHSF2*, ..., *LsHSF35*, 并对其理化性质、染色体定位、与拟南芥的进化关系、蛋白保守基序、组织表达水平及褪黑素处理后高温条件下的表达量进行分析。亚细胞定位预测分析结果显示, 除 *LsHSF11*、*LsHSF17* 定位在叶绿体, *LsHSF34* 定位在液泡外, 其余基因都定位在细胞核中; 35 个 *LsHSF* 基因不均等地分布在 9 条染色体上; 蛋白保守基序预测分析结果显示, 所有 *LsHSF* 基因都含有 Motif 1 与 Motif 2, 且存在紧密联系; 系统发育树分析结果表明, HSF 蛋白分为 A、B 和 C 共 3 组, 被划分为 14 个主要亚家族; 组织表达水平分析结果表明, HSF 等基因具有特异性表达模式; 高温处理能够刺激 HSF 基因家族成员的表达。

**关键词:** 生菜; *LsHSF* 基因; 全基因组; 高温胁迫

中图分类号: S636.2; Q786

文献标志码: A

文章编号: 1007–1032(2024)04–0051–09

## Genome-wide identification and expression analysis of HSF gene family in lettuce

CHEN Li<sup>1</sup>, FAN Shuangxi<sup>2\*</sup>

(1.Hunan Vegetable Research Institute, Changsha, Hunan 410125, China; 2.School of Horticulture and Landscape, Beijing Vocational College of Agriculture, Beijing 102400, China)

**Abstract:** Using the whole-genome data of lettuce, 35 *LsHSF* genes were identified from lettuce through bioinformatics methods, and named *LsHSF1*, *LsHSF2*, ..., *LsHSF35* according to the distribution order on their chromosome. Their physicochemical properties, chromosomal localization, evolutionary relationship with *Arabidopsis*, protein conserved motifs, tissue expression levels, and expression levels under high-temperature conditions after melatonin treatment were further analyzed in this study. The results showed that subcellular localization prediction analysis indicated that, except for *LsHSF11* and *LsHSF17* located in chloroplasts, and *LsHSF34* located outside the vacuole, the rest of the genes were located in the nucleus. The 35 *LsHSF* genes were unevenly distributed on 9 chromosomes. Protein conserved motif prediction analysis revealed that all *LsHSF* genes contained two closely related Motif 1 and Motif 2. From phylogenetic analysis, HSF proteins were divided into three groups: A, B, and C and could be further subdivided into 14 major subfamilies. Tissue expression level analysis results indicated that *HSF* genes exhibited specific expression patterns. High-temperature treatment could stimulate the expression of HSF gene family members.

**Keywords:** lettuce; *LsHSF* gene; genome-wide; high-temperature stress

生菜(*Lactuca sativa* L.)是一种菊科一年生蔬菜作物, 是全球食用最多的叶菜, 因其食用和药用特

性而受到高度重视<sup>[1]</sup>。生菜主要在大棚或露地栽培, 在栽培过程中容易发生高温抽苔<sup>[2–3]</sup>。高温加速抽

收稿日期: 2023–08–25

修回日期: 2024–08–14

基金项目: 国家自然科学基金项目(3177110780)

作者简介: 陈丽(1993—), 女, 湖南吉首人, 博士研究生, 主要从事蔬菜遗传育种与高效优质栽培研究, [chenli@hunaas.cn](mailto:chenli@hunaas.cn); \*通信作者, 范双喜, 博士, 教授, 主要从事蔬菜抗逆生理及生物技术应用研究, [fsx20201@126.com](mailto:fsx20201@126.com)

苔,造成叶片苦涩以及品质和产量降低,从而导致销售受限<sup>[4-5]</sup>。因此,为了提高产量,需要延缓生菜开花和抽苔时间,以保持产品的食用品质<sup>[6]</sup>。

植物的生存环境面临着许多挑战,包括冷胁迫、热胁迫、干旱胁迫和盐胁迫等,这些非生物胁迫对作物的品质和产量有负面影响<sup>[7-8]</sup>。为了应对环境压力,植物在长期进化过程中形成了各种调节机制<sup>[9]</sup>。由于全球变暖,热胁迫成为全球农业生产和种植区的严重威胁。热休克转录因子(HSF)是重要的应激反应家族之一<sup>[10]</sup>。HSF家族不仅可以响应热应激,还能够对其他非生物应激如冷胁迫、干旱胁迫和盐胁迫作出反应<sup>[11]</sup>。此外,HSF家族在植物生长发育中也起着重要作用,如种子发育<sup>[12]</sup>、愈伤组织形成<sup>[13]</sup>以及根系生长<sup>[14]</sup>。有研究<sup>[15]</sup>表明,植物的热休克转录因子家族参与热应激反应并调节几种应激反应蛋白的表达,包括热休克蛋白(HSP)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)和过氧化氢酶(CAT)。此前,一些研究已经验证了热休克转录因子(HSF)在植物胁迫响应中的作用,如 *CarHsf-A2* 的过表达可以增强鹰嘴豆的胁迫耐受性,而没有任何多效性效应<sup>[16]</sup>。在番茄中,通过热胁迫后 *HSFA7* 基因表达水平显著上调,而 *HSFB4a* 表现出下调,结果表明两者共同介导了番茄对热胁迫的耐受性<sup>[17]</sup>。在百香果 HSF 基因家族的鉴定及 *PeHSF-C1a* 响应热渗透胁迫的功能分析中,*PeHSF-C1a* 的过表达持续增强了拟南芥对干旱和热应激的耐受性<sup>[18]</sup>。

HSF 基因家族在植物中起调控作用,这些基因在调控植物的生长发育、信号传导和胁迫反应中起着关键作用<sup>[19]</sup>。HSF 包含几个进化上保守的功能域<sup>[20]</sup>。典型的 HSF 蛋白含有与 HSE 结合的 N 末端 DNA 结合结构域(DBD),此外,还存在着疏水氨基酸残基构成的寡聚化结构域(OD),即 HR-A/B 区域<sup>[21]</sup>。此外,它还包括核定位信号区域(NLS)、核输出信号区域(NES)和位于 C 端的激活剂 AHA 基序<sup>[22]</sup>。根据可变接头(通常为 15~80 aa)和 HR-A/B 结构域,已经确定了 3 种植物的 HSF,包括 1 类 A、4 类 B 和 2015 类 C<sup>[23]</sup>。

目前,生菜的全基因组测序已经完成,但关于生菜中 HSF 基因家族的研究还少见报道。由于 HSF 基因在植物发育和生理过程中起着重要作用,迫切需要对相关基因进行探索和分析。本研究中,

利用生物信息学方法对生菜中的 HSF 家族成员进行鉴定,并对其基本性质、染色体定位、系统发育关系、保守基序、组织表达模式以及在高温胁迫下的表达情况进行分析,旨在为生菜的生长发育研究提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试材料为抽苔敏感的生菜品种 S39,种子由国泰绿种(北京)有限公司提供,在北京农学院温室进行栽培。选择 300 粒均匀且无病的饱满种子,放在培养箱里培养。光周期为 16 h/8 h(光/暗),光强维持在 200  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \text{ s})$ ,温度维持在 20  $^{\circ}\text{C}$ /15  $^{\circ}\text{C}$ (日/夜),相对湿度为 60%~65%。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 高温处理

当幼苗发育到五叶中心时进行高温处理 35  $^{\circ}\text{C}$ /30  $^{\circ}\text{C}$ (日/夜),对照为 20  $^{\circ}\text{C}$ /15  $^{\circ}\text{C}$ (日/夜)。为全面观察叶片在不同时间点的表型变化,选取了变化显著的时间点(6、9、15、18、27 d)的叶片进行研究。常温处理分别标为 C6、C9、C15、C18、C27;高温处理分别标为 G6、G9、G15、G18、G27。

#### 1.2.2 褪黑素处理

高温处理开始后,于 9:00 用小型喷雾器将清水(对照组)和 100  $\mu\text{mol}/\text{L}$  褪黑素溶液(实验组)喷在植株上。每 3 d 施用 1 次外源褪黑素,共喷施 9 次,在下一次喷施前取样。取样后将生菜叶片立即放在液氮中,并在 80  $^{\circ}\text{C}$  下保存,备用。

#### 1.2.3 RNA-seq 分析

采用 RNA-Seq 技术,进行转录组数据分析,检测基因在转录水平上的变化。

### 1.3 *LsHSF* 的鉴定及基本信息

为了鉴定生菜中的 HSF 基因,以 TAIR 数据库(<https://www.arabidopsis.org/>)为参考,从 Phytozome v12.1.6 数据库(<https://phytozome.jgi.doe.gov/pz/portal.html>)下载生菜基因组和基因组注释文件,使用 TBtools 提取 *CRBRx* 基因的 CDS 序列和蛋白序列<sup>[24]</sup>,使用 NCBI RefSeq 和 BLASTp 进行同源性检索<sup>[25]</sup>。为了保证结果的准确性,人工去除重复的蛋

白质序列, 并采用 BLAST 保守结构域搜索方法进行初始搜索, 以识别具有结构域的蛋白质序列; 采用 ExPASy 工具预测蛋白质序列的相对分子质量和等电点<sup>[26]</sup>; 使用 WOLF PSORT 预测 LsGRAS 蛋白的亚细胞定位<sup>[27]</sup>。

1.4 LsHSF 蛋白的系统发育分析及分类

运用 MEGA 7.0(<https://www.megasoftware.net/>)对拟南芥和生菜的 HSF 蛋白序列进行比较, 利用泊松模型估计序列的进化距离, 采用缺失数据处理方法对序列中的缺失数据进行处理。为了确保评估分析结果的可靠性, 进行了 1 000 次 Bootstrap 重采样<sup>[28]</sup>。利用邻域连锁(NJ)构建拟南芥和生菜的 HSF 蛋白系统发育树, 获得了拟南芥和生菜的 HSF 系统发育关系。采用 FigTree v1.4.3(<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>)和 Adobe Illustrator 2019 CC 软件对系统发育树图像进行修改和优化, 以确保清晰度和可读性。

1.5 基因结构与保守基序、系统发育树分析

运用 TBtools 描述生菜基因组 GFF3 文件的基因结构; 使用 MEME v5.1.1(<http://meme-suite.org/tools/meme>)分析 LsHSF 蛋白的保守基序; 采用 NJ 方法构建生菜和拟南芥的系统发育树<sup>[28-29]</sup>。

1.6 LsHSF 基因染色体定位、重复和合成分析

根据在 Phytozome 中获得的生菜基因组信息, 通过分析确定 LsHSF 基因在各染色体上的分布, 并绘制染色体定位图。研究 LsHSF 基因的重复模式, 生成重复图谱, 并计算各染色体或支架的基因密度信息。为比较生菜和其他物种的同源 LsHSF 基因, 下载拟南芥(TAIR 注释 release 10)的基因组数据和基因注释文件, 运用 TBtools 软件绘制并构建同步分析图<sup>[29]</sup>。

2 结果与分析

2.1 生菜 LsHSF 基因的鉴定

通过对拟南芥 HSF 序列同源性进行检索, 共鉴定出生菜的 35 个 LsHSF 基因(表 1), 分别将其命名为 LsHSF1, LsHSF2, …, LsHSF35。同时, 对 LsHSF 家族成员的一些基本特征进行分析, 结果发现, 最小的基因 LsHSF24 有 217 个氨基酸(aa), 最大的基因 LsHSF34 有 544 个氨基酸(aa), 相对分子质量为 25 281.36 ~ 63 085.53, pI 值为 4.73 ~ 9.42。根据预测的亚细胞定位, 基因 LsHSF11 和 LsHSF17 定位在叶绿体, LsHSF34 定位在液泡, 其他都定位在细胞核。同时, 存在可变剪切基因 LsHSF3、LsHSF4、LsHSF5、LsHSF6、LsHSF25、LsHSF26、LsHSF35、LsHSF31、LsHSF32、LsHSF30。

表 1 生菜 LsHSF 基因信息  
Table 1 LsHSF gene information of lettuce

mRNA 名称	基因名称	登录号	蛋白质长度/aa	等电点	相对分子质量	亚细胞定位
rna-XM_023872704	LsHSF1	LOC111876179	363	7.35	40 510.55	细胞核
rna-XM_023875871	LsHSF2	LOC111879412	244	9.42	28 091.02	细胞核
rna-XM_023877089	LsHSF3	LOC111880674	361	5.04	41 610.18	细胞核
rna-XM_023877090	LsHSF4	LOC111880674	361	5.04	41 610.18	细胞核
rna-XM_023880236	LsHSF5	LOC111883906	325	6.07	36 973.50	细胞核
rna-XM_023880237	LsHSF6	LOC111883906	309	6.38	35 090.30	细胞核
rna-XM_023880435	LsHSF7	LOC111884117	471	4.81	52 305.44	细胞核
rna-XM_023881951	LsHSF8	LOC111885709	281	5.22	31 646.33	细胞核
rna-XM_023881969	LsHSF9	LOC111885729	344	7.65	38 421.94	细胞核
rna-XM_023883075	LsHSF10	LOC111886829	335	5.20	38 519.20	细胞核
rna-XM_023883146	LsHSF11	LOC111886909	332	4.73	36 935.92	叶绿体
rna-XM_023884937	LsHSF12	LOC111888821	359	4.98	39 297.79	细胞核
rna-XM_023888702	LsHSF13	LOC111892644	382	5.30	44 625.68	细胞核
rna-XM_023890282	LsHSF14	LOC111894201	354	5.69	40 872.60	细胞核
rna-XM_023892917	LsHSF15	LOC111896944	439	5.23	49 336.39	细胞核
rna-XM_023896933	LsHSF16	LOC111901068	347	5.12	39 518.03	细胞核

表 1(续)

mRNA 名称	基因名称	登录号	蛋白质长度/aa	等电点	相对分子质量	亚细胞定位
rna-XM_023900149	<i>LsHSF17</i>	LOC111904380	357	5.00	41 274.41	叶绿体
rna-XM_023902328	<i>LsHSF18</i>	LOC111906573	379	5.35	43 294.68	细胞核
rna-XM_023903337	<i>LsHSF19</i>	LOC111907540	233	5.47	26 715.92	细胞核
rna-XM_023904503	<i>LsHSF20</i>	LOC111908706	310	5.65	35 474.12	细胞核
rna-XM_023910339	<i>LsHSF21</i>	LOC111914642	371	6.08	41 963.63	细胞核
rna-XM_023910939	<i>LsHSF22</i>	LOC111915264	358	7.77	40 451.56	细胞核
rna-XM_023912141	<i>LsHSF23</i>	LOC111916475	273	7.66	30 189.83	细胞核
rna-XM_023912967	<i>LsHSF24</i>	LOC111917279	217	6.60	25 281.36	细胞核
rna-XM_023914180	<i>LsHSF25</i>	LOC111918518	350	5.30	40 362.07	细胞核
rna-XM_023914181	<i>LsHSF26</i>	LOC111918518	339	5.05	39 025.50	细胞核
rna-XM_023914202	<i>LsHSF27</i>	LOC111918551	270	8.96	30 276.44	细胞核
rna-XM_023916367	<i>LsHSF28</i>	LOC111920803	256	5.69	29 302.96	细胞核
rna-XM_023917268	<i>LsHSF29</i>	LOC111921682	329	6.13	37 898.88	细胞核
rna-XM_042897033	<i>LsHSF30</i>	LOC111897870	307	5.82	36 032.95	细胞核
rna-XM_042897034	<i>LsHSF31</i>	LOC111897870	307	5.82	36 032.95	细胞核
rna-XM_042897035	<i>LsHSF32</i>	LOC111897870	307	5.82	36 032.95	细胞核
rna-XM_042897683	<i>LsHSF33</i>	LOC111885729	369	6.63	41 626.75	细胞核
rna-XM_042897846	<i>LsHSF34</i>	LOC111882864	544	5.99	63 085.53	液泡
rna-XM_042902543	<i>LsHSF35</i>	LOC111918518	399	5.05	39 025.50	细胞核

2.2 *LsHSF* 基因在染色体上的分布

数据分析结果(图 1)表明, 35 个 *LsHSF* 基因分布在 9 条染色体上, 其中, 8 号染色体上的 *LsHSF* 基因最多(7 个), 2 号染色体上的 *LsHSF* 基因最少(1 个)。同时, *LsHSF* 基因在染色体上的分布是不均匀的。12 个基因在物理上与至少 1 个其他 *LsHSF* 基

因相邻。例如, *LsHSF3* 和 *LsHSF4*, *LsHSF5* 和 *LsHSF6*, *LsHSF9* 和 *LsHSF33*, *LsHSF25*、*LsHSF26* 和 *LsHSF35*, *LsHSF30*、*LsHSF31* 和 *LsHSF32* 彼此相邻。这些相邻的 *LsHSF* 基因约占基因总数的 34%。这些结果说明染色体上的 *LsHSF* 基因之间可能存在一定的调控关系。

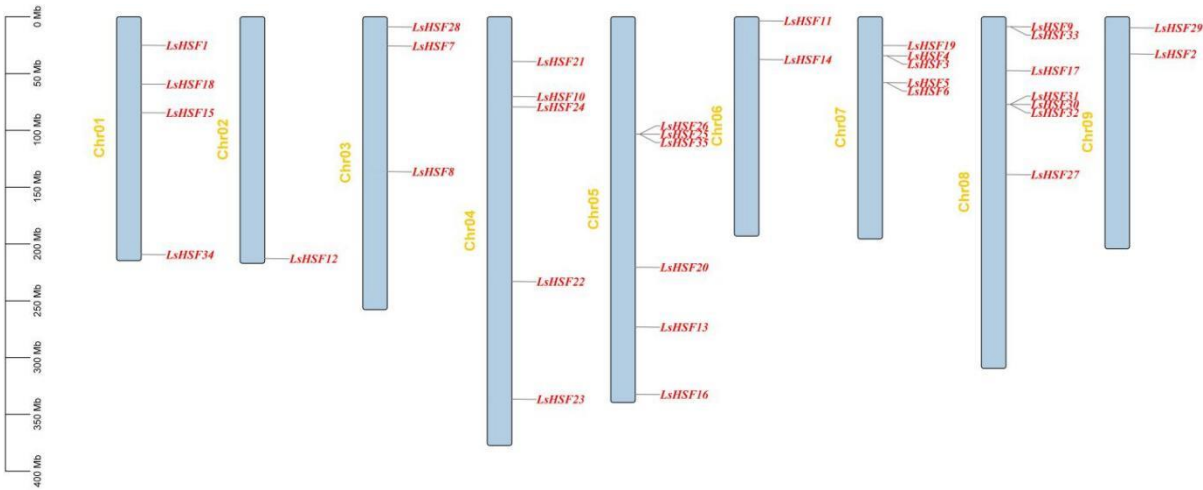


图 1 生菜 *LsHSF* 基因在染色体上的分布  
Fig.1 Distribution of *LsHSF* in lettuce on chromosomes

2.3 *LsHSF* 蛋白的系统发育分析和分类

为了进一步研究生菜 *LsHSF* 蛋白之间的进化关系,通过对 35 个生菜 *LsHSF* 蛋白和 21 个拟南芥

*AtHSF* 蛋白的比对构建了邻接系统发育树,见图 2。结果表明,生菜和拟南芥的 *HSF* 蛋白分为 A、B、C 共 3 组。根据系统发育树将生菜 *LsHSF* 划分为

14 个主要亚家族, 这些亚家族包括 A 组(A1、...、A9)、B 组(B1、...、B4)、C 组(C1), 有 19 个 LsHSF 蛋白(LsHSF3、LsHSF4、LsHSF7、LsHSF10、LsHSF11、LsHSF13、LsHSF14、LsHSF15、LsHSF16、LsHSF17、LsHSF18、LsHSF21、LsHSF25、LsHSF26、LsHSF29、LsHSF30、LsHSF31、LsHSF32、LsHSF35)属于 A 组; 12 个(LsHSF1、LsHSF2、LsHSF8、LsHSF9、LsHSF12、LsHSF19、LsHSF22、LsHSF23、LsHSF24、LsHSF28、LsHSF33、LsHSF34)属于 B

组; 4 个(LsHSF5、LsHSF6、LsHSF20、LsHSF27)属于 C 组。其中 A6 亚家族成员中没有生菜 *HSF* 基因。在这些亚家族中, A7 亚家族成员最多, 有 5 个成员; A3、B2、C1 的相对较少, 各有 4 个基因成员; A2、A4 各有 3 个基因成员; A1、A3、B1、B4、B5 各有 2 个基因成员; 最少的是 A8、A9, 分别只有 1 个基因成员。值得注意的是, 物理上相邻的 LsHSF 成员聚集在同一个亚家族中, 表明串联重复序列是 LsHSF 扩增的主要进化驱动因素。

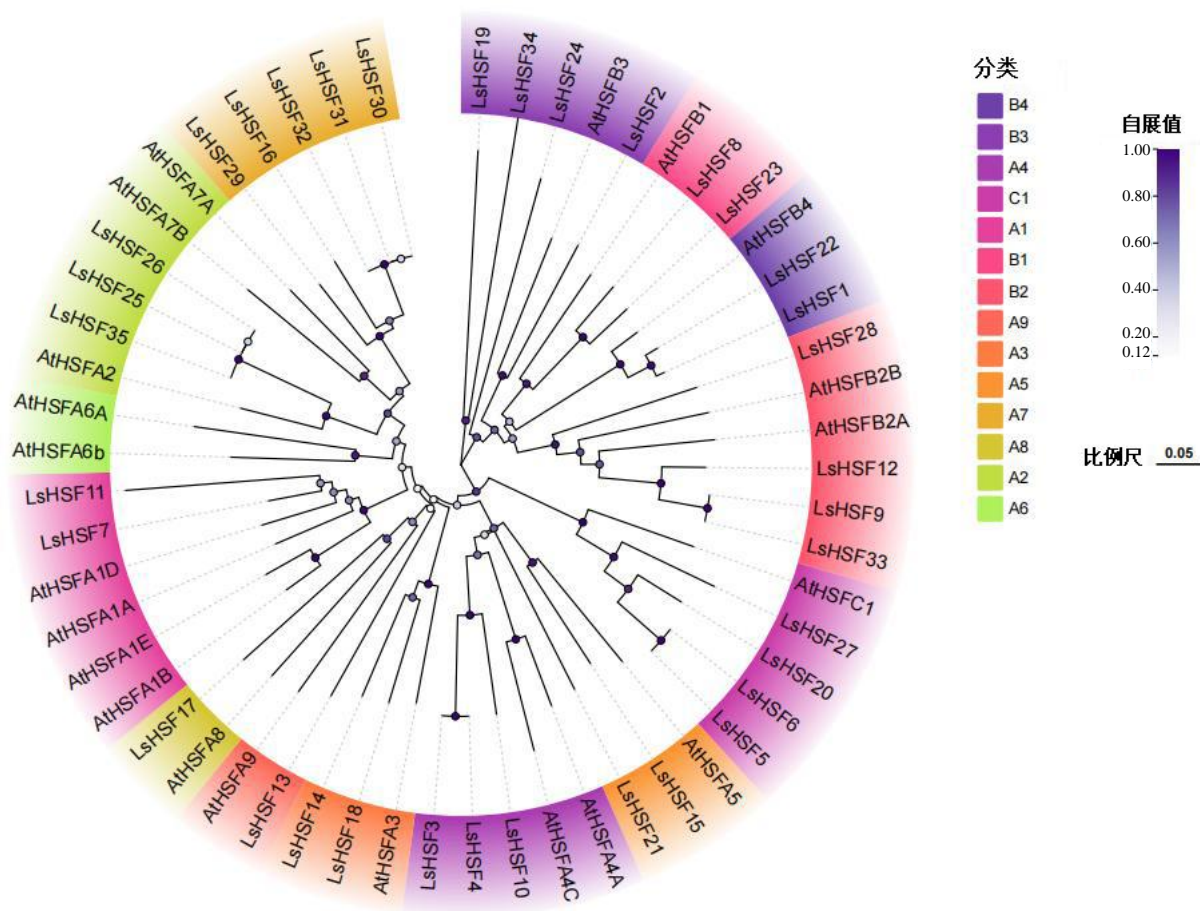


图 2 生菜和拟南芥中 HSF 蛋白的系统发育树

Fig.2 Phylogenetic tree of HSF protein in lettuce and *Arabidopsis*

## 2.4 LsHSF 蛋白的保守基序和基因结构

为了更好地了解 LsHSF 蛋白的结构和特性, 利用 LsHSF-motif 扫描结果构建结构图(图 3-A), 结果确定了 10 个预测的 LsHSF 保守基序(命名为 Motif1、Motif2、...、Motif10), 并发现 35 个 LsHSF 成员中这些基序同源, 但是顺序并不相同。通过观

察发现, 在系统发育上, LsHSF 蛋白成员具有相似的外显子数量和技术内含子组成。外显子数量比较稳定, 都处于 2~3 个之间, 技术内含子为 1~3 个。说明 LsHSF 蛋白的进化谱系与其遗传结构密切相关。LsHSF 基因的结构(图 3-B)显示, LsHSF 基因由 1~4 个外显子组成。



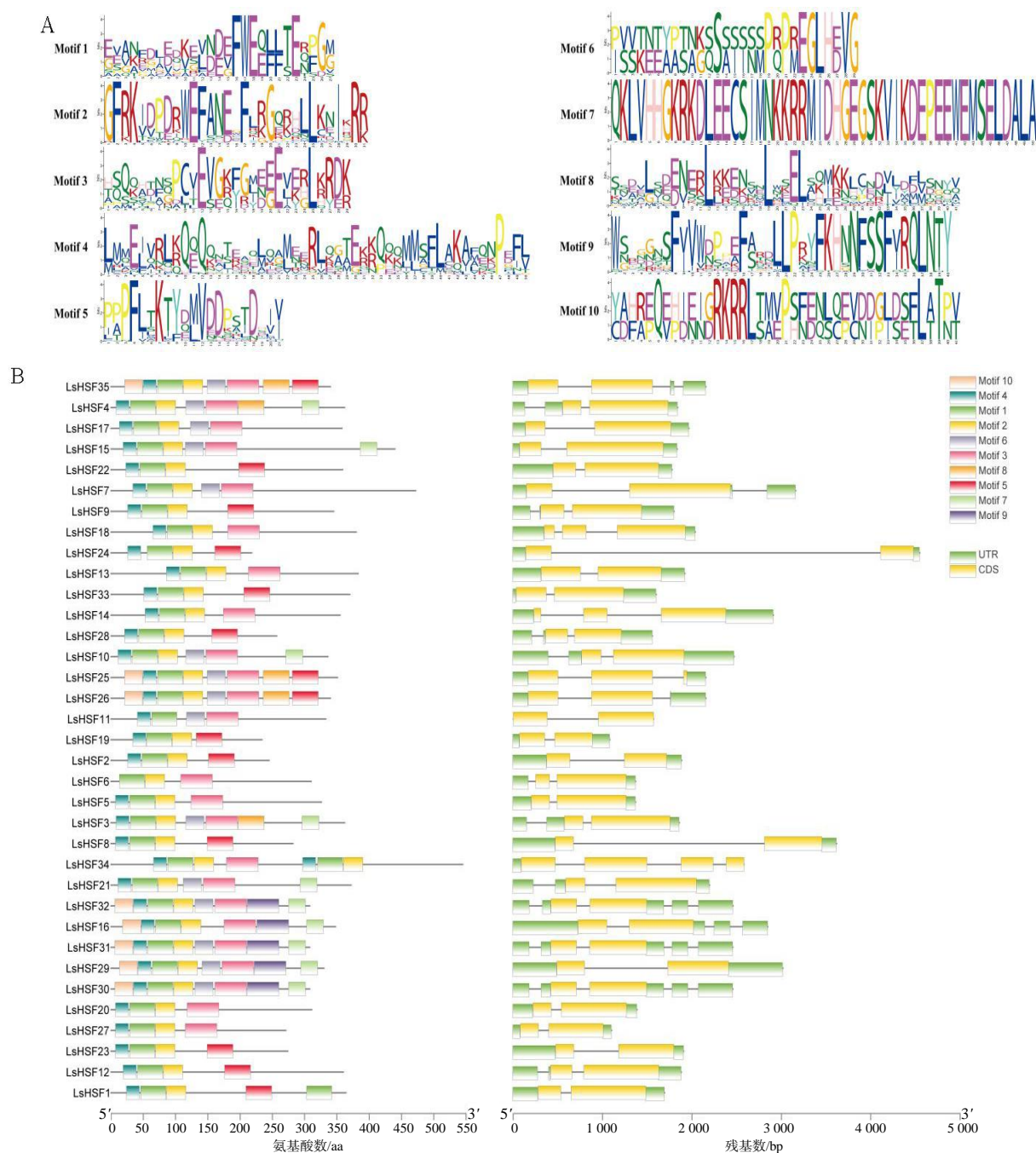


图 3 LsHSF 成员的系统发育聚类及基因结构

Fig.3 Phylogenetic cluster and gene structure of LsHSF members

## 2.5 生菜 HSF 基因家族在组织器官中的表达分析

利用 NCBI(生物项目 PRJNA810911)公开的叶片转录组数据进行 RNA-Seq 分析,结果(图 4)显示, *LsHSF9*、*LsHSF25*、*LsHSF26*、*LsHSF33*、*LsHSF35* 基因在 C6、C9、C15、C18、C27 下的相对表达量均低于 G6、G9、G15、G18、G27 下的; *LsHSF3*、*LsHSF4*、*LsHSF5*、*LsHSF6*、*LsHSF15* 在常温处理下的相对表达量均高于其在高温处理下的。

*LsHSF23* 的相对表达量最高; *LsHSF11* 和 *LsHSF19* 基因不表达。筛选 *LsHSF3*、*LsHSF5*、*LsHSF9*、*LsHSF15*、*LsHSF25*、*LsHSF33* 这 6 个基因进行 qRT-PCR, 结果(表 2)显示, 高温处理下, *LsHSF3*、*LsHSF5*、*LsHSF15* 基因的相对表达量下降, 而 *LsHSF9*、*LsHSF25*、*LsHSF33* 的相对表达量上升, 变化趋势与转录组表达趋势一致。

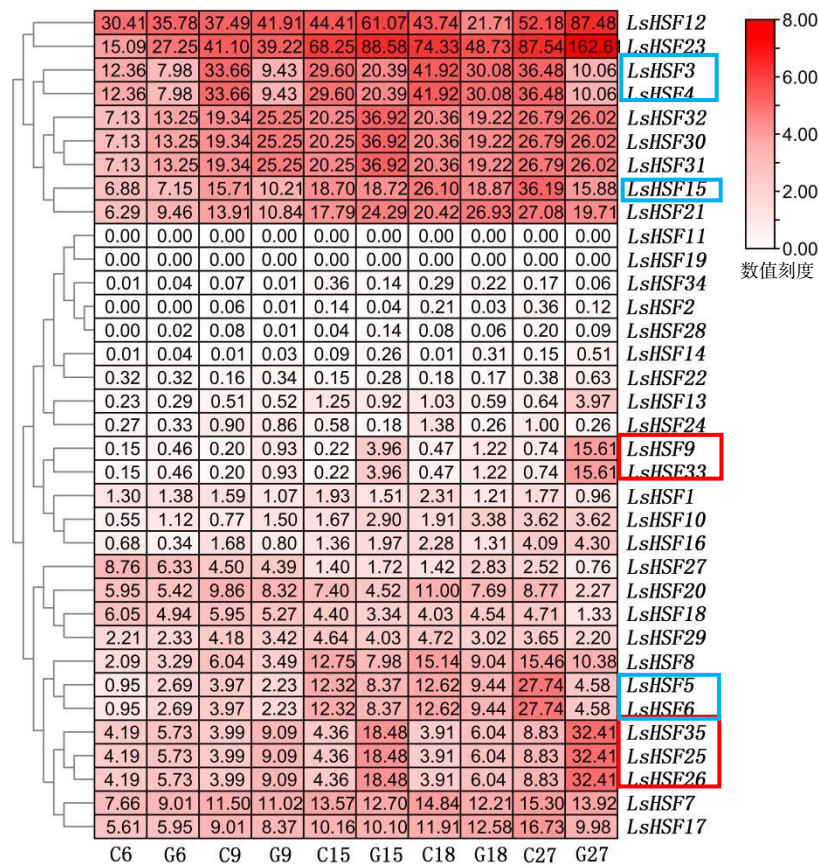


图 4 生菜中 *LsHSF* 成员基因表达谱

Fig.4 Gene expression profiles of *LsHSF* members in lettuce

表 2 生菜中 *LsHSF* 成员基因的相对表达量

Table 2 Relative expression levels of *LsHSF* member genes in lettuce

基因名称	相对表达量									
	C6	G6	C9	G9	C15	G15	C18	G18	C27	G27
<i>LsHSF3</i>	1.00	0.55	1.00	0.23*	1.00	0.61	1.00	0.63	1.00	0.21*
<i>LsHSF5</i>	1.00	0.26*	1.00	0.51	1.00	0.49	1.00	0.52	1.00	0.19*
<i>LsHSF15</i>	1.00	0.72	1.00	0.65	1.00	0.72	1.00	0.65	1.00	0.46*
<i>LsHSF9</i>	1.00	1.84	1.00	3.02*	1.00	3.03*	1.00	3.04*	1.00	5.12*
<i>LsHSF25</i>	1.00	1.53	1.00	2.57*	1.00	2.54*	1.00	1.92	1.00	6.85*
<i>LsHSF33</i>	1.00	1.95	1.00	3.17*	1.00	4.42*	1.00	2.41*	1.00	4.31*

“\*”表示同一基因同一时间不同处理间的差异有统计学意义( $P<0.05$ )。

3 结论与讨论

前人<sup>[11]</sup>研究报道 *HSF* 基因是热休克转录因子，在响应非生物胁迫和植物发育过程中起重要作用。生菜作为一种重要的蔬菜作物，在生长和发育阶段也受到各种胁迫<sup>[2]</sup>；因此，鉴定和分析其 *HSF* 基因对各种胁迫反应具有重要意义。通过对作物的测序发现，*HSF* 的数量可能不受基因组大小的影响。比如，玉米(2.4 Gb)有 25 个 *HSF* 基因<sup>[12]</sup>，水稻(430 Mb)有 25 个 *HSF* 基因<sup>[30]</sup>，拟南芥(135 Mb)有 21 个 *HSF*

基因<sup>[31]</sup>。本研究中，从生菜中共鉴定出 35 个 *HSF* 基因，表明 *LsHSF* 基因家族在生菜的进化过程中经历了扩增。与包括拟南芥、水稻、马铃薯和番茄在内的其他植物物种中 *HSF* 基因的分类一致，生菜 *LsHSF* 基因也被分为 A、B 和 C 组。有 19 个 *LsHSF* 基因属于 A 组(A1、⋯、A9)，12 个属于 B 组(B1、⋯、B4)，4 个属于 C 组(C1)。此外，外显子数量比较稳定，都处于 2~3 个之间，推测它们在同一亚类中高度保守。据报道，通过内含子转录起始促进基因

表达来提高翻译效率,增加了 mRNA 积累量<sup>[32]</sup>。在发现基因和染色体分布和邻接性的基础上,推测第 8 号染色体上 *LsHSF* 基因数量的增加可能与该染色体在植物生长发育中的重要性有关,相邻的 *LsHSF* 基因可能具有共同的调节因子或功能模块,通过相互作用来协调植物的生理反应。

有研究表明, *HSF* 基因在响应高温、盐碱、干旱等非生物胁迫方面扮演着至关重要的角色。例如,在拟南芥中过表达小麦热激转录因子 *TaHsfA6f* 基因,能显著提升植株对高温、干旱以及盐胁迫的耐受性<sup>[33]</sup>;过表达 *HsfB2* 基因的植株表现出更强的耐热和耐旱特性<sup>[34]</sup>。曹薇<sup>[35]</sup>研究发现,高羊茅中的 C 类热激转录因子 *FaHsfC1b* 能够响应多种胁迫条件,包括热胁迫、冷胁迫、渗透胁迫以及盐胁迫。这表明 *HSF* 基因家族在植物应对环境压力时具有广泛的调控作用。基于本研究表达分析结果,发现生菜 *HSF* 家族中的 *LsHSF9*、*LsHSF25*、*LsHSF33* 这 3 个基因在高温处理后的表达水平显著上调,推测这 3 个基因可能是生菜响应热胁迫的关键 *HSF* 家族成员。但这些基因的分子调控机制及潜在功能还需作进一步研究。

#### 参考文献:

- [1] ASSEFA A D, CHOI S, LEE J E, et al. Identification and quantification of selected metabolites in differently pigmented leaves of lettuce(*Lactuca sativa* L.) cultivars harvested at mature and bolting stages[J]. BMC Chemistry, 2019, 13(1): 56.
- [2] CHEN Z J, ZHAO W S, GE D F, et al. LCM-seq reveals the crucial role of *LsSOC1* in heat-promoted bolting of lettuce(*Lactuca sativa* L.)[J]. The Plant Journal: for Cell and Molecular Biology, 2018, 95(3): 516–528.
- [3] LEE O N, FUKUSHIMA K, PARK H Y, et al. QTL analysis of stem elongation and flowering time in lettuce using genotyping-by-sequencing[J]. Genes, 2021, 12(6): 947.
- [4] HAO J H, ZHANG L L, LI P P, et al. Quantitative proteomics analysis of lettuce(*Lactuca sativa* L.) reveals molecular basis-associated auxin and photosynthesis with bolting induced by high temperature[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2018, 19(10): 2967.
- [5] CHEN L, XU M N, LIU C J, et al. *LsMYB15* regulates bolting in leaf lettuce(*Lactuca sativa* L.) under high-temperature stress[J]. Frontiers in Plant Science, 2022, 13: 921021.
- [6] LIU R, SU Z Q, ZHOU H Y, et al. *LsHSP70* is induced by high temperature to interact with calmodulin, leading to higher bolting resistance in lettuce[J]. Scientific Reports, 2020, 10(1): 15155.
- [7] WAADT R, SELLER C A, HSU P K, et al. Plant hormone regulation of abiotic stress responses[J]. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2022, 23(10): 680–694.
- [8] 王冰, 程宪国. 干旱、高盐及低温胁迫下植物生理及转录因子的应答调控[J]. 植物营养与肥料学报, 2017, 23(6): 1565–1574.
- [9] CHEN Z L, GALLI M, GALLAVOTTI A. Mechanisms of temperature-regulated growth and thermotolerance in crop species[J]. Current Opinion in Plant Biology, 2022, 65: 102134.
- [10] YU X Y, YAO Y, HONG Y H, et al. Differential expression of the Hsf family in cassava under biotic and abiotic stresses[J]. Genome, 2019, 62(8): 563–569.
- [11] WANG Q, ZHANG Z B, GUO C, et al. Hsf transcription factor gene family in peanut(*Arachis hypogaea* L.): genome-wide characterization and expression analysis under drought and salt stresses[J]. Frontiers in Plant Science, 2023, 14: 1214732.
- [12] WANG L L, LIU Y H, CHAI M N, et al. Genome-wide identification, classification, and expression analysis of the *HSF* gene family in pineapple(*Ananas comosus*) [J]. PeerJ, 2021, 9: e11329.
- [13] LIN K F, TSAI M Y, LU C G, et al. The roles of *Arabidopsis* *HSFA2*, *HSFA4a*, and *HSFA7a* in the heat shock response and cytosolic protein response[J]. Botanical Studies, 2018, 59(1): 15.
- [14] TAN B, YAN L, LI H N, et al. Genome-wide identification of HSF family in peach and functional analysis of *PpHSF5* involvement in root and aerial organ development[J]. PeerJ, 2021, 9: e10961.
- [15] ZHOU Y Z, WANG Y, XU F X, et al. Small HSPs play an important role in crosstalk between HSF-HSP and ROS pathways in heat stress response through transcriptomic analysis in lilies(*Lilium longiflorum*) [J]. BMC Plant Biology, 2022, 22(1): 202.
- [16] CHIDAMBARANATHAN P, JAGANNADHAM P T K, SATHEESH V, et al. Genome-wide analysis identifies chickpea(*Cicer arietinum*) heat stress transcription factors(Hsfs) responsive to heat stress at the pod development stage[J]. Journal of Plant Research, 2018, 131(3): 525–542.
- [17] RAO S, DAS J R, BALYAN S, et al. Cultivar-biased regulation of *HSFA7* and *HSFB4a* govern high-temperature tolerance in tomato[J]. Planta, 2022, 255(2): 31.



- [18] WANG L L, LIU Y H, CHAI G F, et al. Identification of passion fruit *HSF* gene family and the functional analysis of *PeHSF-C1a* in response to heat and osmotic stress[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2023, 200: 107800.
- [19] LI X T, FENG X Y, ZENG Z, et al. Comparative analysis of *HSF* genes from *Secale cereale* and its triticeae relatives reveal ancient and recent gene expansions[J]. *Frontiers in Genetics*, 2021, 12: 801218.
- [20] YUN L, ZHANG Y, LI S, et al. Phylogenetic and expression analyses of *HSF* gene families in wheat (*Triticum aestivum* L.) and characterization of *TaHSFB4-2B* under abiotic stress[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2023, 13: 1047400.
- [21] ZHANG Q, GENG J, DU Y L, et al. Heat shock transcription factor(Hsf) gene family in common bean (*Phaseolus vulgaris*): genome-wide identification, phylogeny, evolutionary expansion and expression analyses at the sprout stage under abiotic stress[J]. *BMC Plant Biology*, 2022, 22: 33.
- [22] WEN F, WU X Z, LI T J, et al. Genome-wide survey of heat shock factors and heat shock protein 70s and their regulatory network under abiotic stresses in *Brachypodium distachyon*[J]. *PLoS One*, 2017, 12(7): e0180352.
- [23] ZHU X Y, HUANG C Q, ZHANG L, et al. Systematic analysis of *Hsf* family genes in the *Brassica napus* genome reveals novel responses to heat, drought and high CO<sub>2</sub> stresses[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8: 1174.
- [24] LV G B, ZHENG X, DUAN Y T, et al. The GRAS gene family in watermelons: identification, characterization and expression analysis of different tissues and root-knot nematode infestations[J]. *PeerJ*, 2021, 9: e11526.
- [25] CHANG J R, FAN D J, LAN S X, et al. Genome-wide identification, expression and stress analysis of the GRAS gene family in *Phoebe bournei*[J]. *Plants*, 2023, 12(10): 2048.
- [26] HORTON P, PARK K J, OBAYASHI T, et al. WoLF PSORT: protein localization predictor[J]. *Nucleic Acids Research*, 2007, 35(suppl\_2): W585–W587.
- [27] BAILEY T L, WILLIAMS N, MISLEH C, et al. MEME: discovering and analyzing DNA and protein sequence motifs[J]. *Nucleic Acids Research*, 2006, 34(suppl\_2): W369–W373.
- [28] KUMAR S, STECHER G, TAMURA K. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2016, 33(7): 1870–1874.
- [29] LESCOT M, DÉHAIS P, THIJS G, et al. PlantCARE, a database of plant cis-acting regulatory elements and a portal to tools for in silico analysis of promoter sequences[J]. *Nucleic Acids Research*, 2002, 30(1): 325–327.
- [30] SHAMSHAD A, RASHID M, ZAMAN Q U. In-silico analysis of heat shock transcription factor(*OsHSF*) gene family in rice(*Oryza sativa* L.)[J]. *BMC Plant Biology*, 2023, 23(1): 395.
- [31] ZHANG Y, WANG C, WANG C Y, et al. *OsHsfB4b* confers enhanced drought tolerance in transgenic *Arabidopsis* and rice[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(18): 10830.
- [32] SHAUL O. How introns enhance gene expression[J]. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2017, 91(Pt B): 145–155.
- [33] BI H H, ZHAO Y, LI H H, et al. Wheat heat shock factor TaHsfA6f increases ABA levels and enhances tolerance to multiple abiotic stresses in transgenic plants[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(9): 3121.
- [34] 姚紫薇, 孙婧靓, 刘建祥, 等. 拟南芥热激转录因子 HSFB2b 负调控植物热形态建成[J]. *浙江大学学报(农业与生命科学版)*, 2023, 49(1): 23–30.
- [35] 曹薇. 高羊茅热激转录因子 *FaHsfC1b* 的克隆与耐热性功能鉴定[D]. 南京: 南京农业大学, 2017.

责任编辑: 毛友纯  
英文编辑: 柳 正