

花生 bZIP 基因家族全基因组鉴定及抗旱表达分析

高斌, 陈娟娟, 崔顺立, 侯名语, 穆国俊, 陈焕英, 杨鑫雷, 刘立峰

(华北作物种质资源研究与利用教育部重点实验室 / 河北省种质资源实验室 / 河北农业大学农学院, 保定 071001)

摘要: 本研究利用野生二倍体花生基因组信息鉴定出 112 个 bZIP 转录因子家族成员, 其中 AA 基因组中 55 个家族成员, BB 基因组中 57 个家族成员, 分别被命名为 *AradubZIP1~AradubZIP55* 与 *AraipbZIP1~AraipbZIP57*。通过生物信息学方法, 分析了其基因结构、保守基序、理化性质, 研究了其与拟南芥 bZIP 家族成员和部分四倍体花生 bZIP 的系统进化关系, 预测了其在植物细胞中的位置, 并利用转录组测序技术探究了部分家族成员在栽培种花生 L422 生长后期叶片响应干旱胁迫的基因表达规律。结果表明: 野生二倍体中 bZIP 成员分布于 AA 和 BB 基因组的 10 条染色体上, 均为不稳定蛋白, 大多数定位在细胞核内 (AA 基因组 36 个、BB 基因组 39 个), 少数定位在叶绿体 (14 个与 15 个) 和线粒体 (4 个与 3 个); 具有相似基因结构与基序 bZIP 成员各 25 个, 然而, 不同成员间存在外显子数目差异, 最多为 15 个外显子 (*AraipbZIP5*), 最少为 1 个 (*AraipbZIP1* 与 *AradubZIP10* 等 12 个成员); 通过与拟南芥 bZIPs 氨基酸序列进化分析发现, 花生 bZIP 家族成员划分为 A~M、S 等 14 个亚组, 其中四倍体 bZIP 成员在第 I 亚组中分布最多 (7 个); 32 个四倍体 bZIP 成员在干旱胁迫下的表达模式基本分为 4 类, 第 I 类前、后期高, 中期低, 第 II 类前期低, 中、后期高, 第 III 类前、中期高, 后期低, 第 IV 类前、后期低, 中期高。上述结果为研究花生 bZIP 基因家族在生长后期耐旱生长过程的调控作用提供参考依据。

关键词: 花生; bZIP 转录因子; 生物信息学分析; 干旱胁迫; 基因表达

Genome-wide Identification and Expression Analysis of bZIP Gene Family under Drought Stress in Peanut

GAO Bin, CHEN Juan-juan, CUI Shun-li, HOU Ming-yu, MU Guo-jun, CHEN Huan-ying, YANG Xin-lei, LIU Li-feng
(North China Key Laboratory for Crop Germplasm Resources of Education Ministry/Laboratory for Crop Germplasm Resources of Hebei/College of Agronomy, Hebei Agricultural University, Baoding 071001)

Abstract: In the present study, 112 bZIP transcription factors were identified from the reference genome of wild diploid peanut, including 55 and 57 family members on AA and BB genome, respectively. All the members were named *AradubZIP1-AradubZIP55* and *AraipbZIP1-AraipbZIP57*. The gene structure, conservative motif, physicochemical properties were predicted through bioinformatics methods. Furthermore, the phylogenetic relationship of bZIP family members was analyzed between peanuts and *Arabidopsis*, and the subcellular localization was predicted in plant cells. To understand the biological function of these genes under drought stress, the transcriptional profiles of thirty-two members were analyzed by use of the transcriptome sequencing data of peanuts leaves at the late growth stage in a tetraploid peanut L422. The results indicated that the bZIP members in wild diploids were assigned into 10 chromosomes on AA and BB genomes, respectively. Most of them were

收稿日期: 2019-03-24 修回日期: 2019-06-03 网络出版日期: 2019-07-10

URL: <http://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20190324001>

第一作者研究方向为作物遗传育种, E-mail: hebeigaobin@163.com

通信作者: 杨鑫雷, 研究方向为花生遗传育种, E-mail: peanut@hebau.edu.cn

刘立峰, 研究方向为花生遗传育种, E-mail: liulifeng@hebau.edu.cn

基金项目: 国家现代农业产业技术体系建设项目 (CARS-13); 国家自然科学基金 (31701459); 河北省自然科学基金 (C2017204101); 河北省科技计划项目 (16226301D); 河北省现代农业产业技术体系油料创新团队项目 (HBCT2018090202); 河北省青年拔尖人才资助项目

Foundation project: Special Fund for Modern Agroindustry Technology Research System of China (CARS-13), National Natural Science Foundation of China (31701459), Natural Science Foundation of Hebei province (C2017204101), Science and Technology R&D Program of Hebei province (16226301D), Supported by the Earmarked Fund for Hebei Oil Crop Innovation Team of Modern Agro-industry Technology Research System (HBCT2018090202), The Support Program for the Top Young Talents of Hebei Province

localized to the nucleus (36 members in AA genome, 39 members in BB genome), and few of them were localized to chloroplasts (14 and 15) and mitochondria (4 and 3). Meanwhile, 25 members with similar gene structure/motif were found on two diploid peanut genome, respectively. The number of exons were variable, for instance that up to 15 exons was found in *AraipbZIP5*, and one exon was found in 12 bZIP genes. Furthermore, the peanut bZIPs were divided into 14 subgroups (A-M and S). Among these, seven members of tetraploid bZIPs were classified into the I subgroup. Finally, the transcriptional profiles of 32 tetraploid bZIP genes under drought stress treatment were divided into 4 categories, I) the early and late period were higher than the medium period, II) the middle and late period were higher than the early period, III) the early and medium period were higher than the late period, and IV) the middle period was higher than the early and late period. These results provided a useful reference for understanding the function of bZIP gene family members under the drought stress treatment at the late growth stage in peanut.

Key words: peanut; bZIP transcription factor; bioinformatics analysis; drought stress; gene expression

花生是我国重要的油料作物, 拥有较高的营养价值、经济价值以及研究价值^[1-3]。随着人们生活水平的日益增长, 2018 年我国花生种植面积达 7200 多万亩 (国家花生产业技术体系专家数据), 达历史新高, 但花生产量与消费量之间仍存在约 30% 的缺口^[4-5], 而全球气候变暖, 地下水资源可采量减少, 导致花生受旱面积占总种植面积的 70%, 直接影响其产量和品质^[6-10]。因此, 提高栽培种花生抵御旱胁迫的能力, 对花生产量与品质的提升具有重要意义。

碱性亮氨酸拉链 (bZIP, basic region/leucine zipper) 是转录因子中成员数目较大的家族之一, 广泛存在于拟南芥 (75)^[11]、水稻 (89)^[12]、玉米 (125)^[13]、大豆 (131)^[14]、棉花 (159)^[15]、葡萄 (47)^[16]、谷子 (73)^[17]、苹果 (114)^[18] 等高等植物基因组。bZIP 转录因子具有共同的特点, 其蛋白序列包含 40~80 个氨基酸的保守结构域, 由一个与特异 DNA 序列结合的碱性区域和一个亮氨酸拉链二聚体结构域组成^[19]。前人研究表明, bZIP 转录因子在植物生长过程中参与重要的调控作用, 特别是对于旱胁迫的响应^[20]。如 Kang 等^[21] 发现拟南芥 bZIP 转录因子亚组中的 ABF3 和 ABF4 蛋白通过调控 ABA 信号, 进而提高拟南芥的耐旱性。雷婷婷^[22] 在大豆基因 *GmbZIP-32* 耐旱研究中发现, 将其转化至拟南芥后, 转基因种子萌发率显著高于野生型, 断水处理 18 d 后长势明显好于野生型, 离体失水率显著低于野生型。Zhu 等^[23] 在番茄中发现的 *SlbZIP1* 转录因子, 通过调节 ABA 信号转导通路, 可以提高番茄耐盐抗旱能力。此外, 水稻 *OsZIP16* 和 *OsZIP23* 基因通过转基因过量表达, 降低了对 ABA 和氯化钠等非生物胁迫因素的敏感性, 从而增强了水稻对非生物逆境的耐受性^[24-25]。Lim 等^[26] 提出辣椒 bZIP

家族 D 亚组的 *CaDILZI* 被沉默后, 在干旱胁迫下, 通过改变 ABA 含量、气孔关闭和 ABA 干旱响应基因的表达, 从而表现出干旱敏感和耐旱的表型。综上所述, bZIP 转录因子在增强植物应对干旱胁迫时的耐受性起着重要的作用。

目前野生二倍体花生基因组序列已公布^[27-28], 为花生抗旱相关基因的挖掘提供重要的基因组资源。本研究利用二倍体野生种花生基因组信息和实验室前期获得的四倍体栽培种 L422 抗旱转录组数据, 通过生物信息学方法对花生 bZIP 转录因子家族进行全基因组鉴定, 并研究 bZIP 家族基因在花生生长后期功能叶片响应干旱胁迫的表达差异模式, 旨在挖掘花生抗旱候选基因, 为花生抗旱分子机制研究提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 花生 bZIP 基因家族蛋白序列搜索

为了鉴定在花生中潜在的 bZIP 蛋白, 本研究从 Peanutbase (<https://peanutbase.org/>) 网站下载 AA (*Arachis duranensis* L.) 和 BB (*Arachis ipaensis* L.) 基因组序列, 以及四倍体花生 L422 抗旱转录组数据中的编码序列 (CDS, coding sequences), 一并与拟南芥 bZIP 序列 (TAIR, <http://www.arabidopsis.org/>) 进行比对, 设置显著 E 值小于 1.0, 经去冗余获得相关蛋白序列用于后续分析。另外, 利用 pfam 数据库 (<http://pfam.xfam.org/>) 下载 bZIP 转录因子的隐马尔科夫模型文件 (ID: PF00170), 通过 HMMER 3.0^[29] (<http://www.hmmerrg.org/>) 搜索花生 bZIP 转录因子家族成员。为检验其是否包含正确的保守域, 利用 SMART 在线软件 (<http://smart.embl-heidelberg.de/>) 和 NCBI 中 Conserved Domains

程序 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>) 对获得的蛋白序列进一步确认。

1.2 基因结构分析与染色体定位

将鉴定获得的 bZIP 家族成员基因序列利用 MEGA7.0^[30] 软件中的 Muscle 进行比对, 采用相邻连接法构建系统发育树; 采用 MEME (<http://meme-suite.org/tools/meme/>) 预测其保守基序, 并利用 TBtools 在线软件绘制基因结构图; 通过本地 BLASTP 将转录组鉴定到的基序与二倍体 AA、BB 基因组中的进行比对; 根据 bZIP 家族成员在 AA、BB 基因组中的物理位置, 采用 Mapchart 2.3 软件 (<https://www.wur.nl/en>) 绘制基因染色体定位图。

1.3 系统进化分析

通过 MEGA 7.0^[30] 中的 Muscle 程序将获得的花生 bZIP 家族蛋白序列与拟南芥已知 bZIP 蛋白序列进行比对, 采用邻接法构建系统进化树, 具体参数为: JTT 模型, 位点替换速率 Gamma 分布, Bootstrap 重复值为 1000, 分析其系统进化关系。

1.4 保守域分析

通过 Clustal W 分别对确定的 bZIP 家族成员进行多序列比对, 利用在线软件 WebLogo 3 (<http://weblogo.berkeley.edu/logo.cgi/>) 绘制保守结构域 LOGO 图^[31]。

1.5 理化性质预测、二级结构预测与亚细胞定位

通过 ExPasy (<http://www.expasy.org/tools/>) 对 bZIP 转录因子的蛋白序列氨基酸数、分子量、理论等电点与脂肪族氨基酸数等一级结构进行分析^[32]。采用 ProtScale (<https://web.expasy.org/protscale/>)、SSpro (<http://scratch.proteomics.ics.uci.edu/>)、TargetP 1.1 Server (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TargetP/>) 和 CELLO 2.5 (<http://cello.life.nctu.edu.tw/>) 等在线软件分别对转录因子的亲疏水性、二级结构和亚细胞定位进行预测分析。

1.6 基因表达分析

为检测花生 bZIP 基因的抗旱表达能力, 本研究利用抗旱花生资源 L422 作为转录组测序分析材料, 设置正常浇水处理和旱池水分胁迫处理, 播种后 60 d (60 DAP, 60 days after planting) 在旱池实施水分胁迫 (不浇水), 待胁迫至 80DAP、85DAP、90DAP、95DAP、100DAP 分别取倒 3 叶作为试验样品, 每个样品设置 2 次生物学重复。样品提取高质量 RNA 后用于文库构建及 Illumina 测序, 并获得差异表达基因的 FPKM 值。通过 Pheatmap 对差异 bZIP 基因 FPKM 数据进行归一化处理, 绘制基因表达量热图, 并分析不同基因在不同时期的表达量变化规律。

2 结果与分析

2.1 花生 bZIP 家族全基因组鉴定与染色体定位

通过 HMMER 3.0 软件搜索 AA、BB 基因组及转录组蛋白数据库, 利用 SMART 与 NCBI 中 Conserved Domains 剔除不含保守结构域的蛋白序列后, 在 AA 基因组鉴定到 55 个 bZIP 家族成员, BB 基因组鉴定到 57 个 bZIP 家族成员, AABB 转录组中鉴定到 32 个 bZIP 家族成员。根据 bZIP 家族成员在 AA、BB 基因组上的物理位置信息, 绘制染色体定位图 (图 1), 并根据家族成员在基因组的物理位置依次命名为: *AradubZIP1~AradubZIP55* 与 *AraipbZIP1~AraipbZIP57* (表 1); 同时将 L422 中鉴定得到的 32 个 bZIP 家族成员与 AA、BB 基因组中的 112 个家族成员进行本地同源比对, 分别获得 23 个和 25 个同源基因, 非同源基因为 9 个和 7 个, 并将其绘制于染色体定位图中 (图 1), 依据家族成员在转录组中的 ID 顺序依次命名为: *AhybZIP1~AhybZIP32* (表 2)。染色体定位结果表明, AA 基因组中的 55 个 bZIP 家族成员和 BB 基因组中的 57 个成员, 分别位于 A1~A10 和 B1~B10 的 10 条染色体上, 其中, AA 基因组各染色体平均 5.4 个, 除 *AradubZIP55* 未定位到任何染色体外, A10 和 A06 最多 (均为 9 个), A09 最少 (2 个); BB 基因组各染色体平均 5.6 个, 其中 B10 最多 (11 个), B04 和 B09 最少 (均为 2 个); 32 个四倍体 bZIP 家族成员, 除 A04 与 B04 以外, 分布于 18 条染色体上 (表 1、图 1)。

2.2 基因结构分析

利用二倍体 AA 和 BB 基因组鉴定获得的 55 个和 57 个 bZIP 成员的氨基酸序列构建系统进化树 (图 2、图 3), 并进行结构分析。结果表明: AA 基因组中外显子数在 1~13 之间, 平均 5.3 个, 其中 *AradubZIP31* 最多为 13, *AradubZIP10*、*AradubZIP16*、*AradubZIP22*、*AradubZIP27*、*AradubZIP29* 与 *AradubZIP38* 等 6 个基因的外显子最少 (1 个外显子), 并在进化树中聚在一起; BB 基因组中外显子数为 1~15 个不等, 但多以 4 个外显子为主 (12 个基因), *AraipbZIP5* 最多, 为 15 个外显子, *AraipbZIP1*、*AraipbZIP17*、*AraipbZIP11*、*AraipbZIP22*、*AraipbZIP29* 与 *AraipbZIP38* 等 6 个基因为 1 个外显子。在两基因组中各含有 6 个只含有 1 个外显子的家族序列并聚在一起, 说明聚类分组与基因结构存在一定关系。在两个基因组中均鉴定出 25 个基序, 并且含有相同基序的基因多聚集在一起。

表 1 花生 bZIP 基因家族成员在二倍体基因组上的物理位置

Table 1 The physical sites of bZIP gene family in diploid peanuts

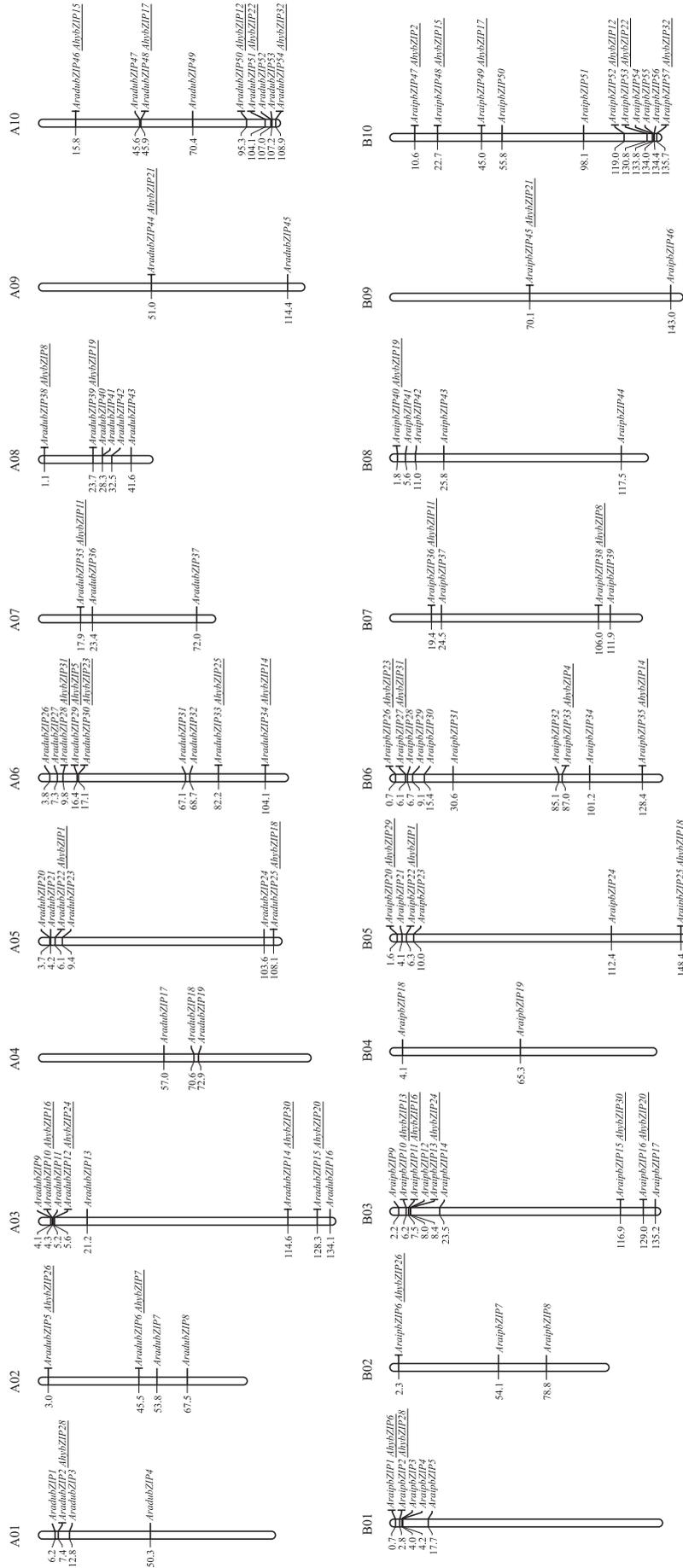
基因 ID Gene ID	基因名称 Gene name		物理位置 Physical location
	二倍体 Diploid	四倍体 Tetraploid	
Aradu.MC55G	<i>AradubZIP1</i>	—	A01: 6153178-6156134
Aradu.VA5ME	<i>AradubZIP2</i>	<i>AhybZIP28</i>	A01: 7401032-7404108
Aradu.AA2QE	<i>AradubZIP3</i>	—	A01: 12793053-12798187
Aradu.D19ER	<i>AradubZIP4</i>	—	A01: 50297329-50298408
Aradu.315HW	<i>AradubZIP5</i>	<i>AhybZIP26</i>	A02: 3023961-3027818
Aradu.N7HLR	<i>AradubZIP6</i>	<i>AhybZIP7</i>	A02: 45495175-45497755
Aradu.H2UAU	<i>AradubZIP7</i>	—	A02: 53799026-53800306
Aradu.X4N5C	<i>AradubZIP8</i>	—	A02: 67538592-67544697
Aradu.MXJ1E	<i>AradubZIP9</i>	—	A03: 4069742-4070950
Aradu.898PR	<i>AradubZIP10</i>	<i>AhybZIP16</i>	A03: 4793469-4793960
Aradu.80AKC	<i>AradubZIP11</i>	—	A03: 5242395-5246150
Aradu.90RE6	<i>AradubZIP12</i>	<i>AhybZIP24</i>	A03: 5593521-5596569
Aradu.7CE6B	<i>AradubZIP13</i>	—	A03: 21151650-21153008
Aradu.U5DG8	<i>AradubZIP14</i>	<i>AhybZIP30</i>	A03: 114621520-114625756
Aradu.WM3WA	<i>AradubZIP15</i>	<i>AhybZIP20</i>	A03: 128321525-128325084
Aradu.BCZ93	<i>AradubZIP16</i>	—	A03: 134132232-134132612
Aradu.80QUL	<i>AradubZIP17</i>	—	A04: 56974640-56982653
Aradu.LE7W9	<i>AradubZIP18</i>	—	A04: 70546153-70547434
Aradu.M9L15	<i>AradubZIP19</i>	—	A04: 72882431-72890856
Aradu.50HZC	<i>AradubZIP20</i>	—	A05: 3656391-3656868
Aradu.E6WIZ	<i>AradubZIP21</i>	—	A05: 4161574-4162581
Aradu.MF9WN	<i>AradubZIP22</i>	<i>AhybZIP1</i>	A05: 6120825-6121331
Aradu.Q3HQI	<i>AradubZIP23</i>	—	A05: 9397937-9401426
Aradu.C716W	<i>AradubZIP24</i>	—	A05: 103557315-103564234
Aradu.R12NH	<i>AradubZIP25</i>	<i>AhybZIP18</i>	A05: 108063782-108065984
Aradu.54E1H	<i>AradubZIP26</i>	—	A06: 3768138-3771331
Aradu.AF9V9	<i>AradubZIP27</i>	—	A06: 7343727-7344167
Aradu.BQ4IU	<i>AradubZIP28</i>	<i>AhybZIP31</i>	A06: 9768087-9774583
Aradu.FD4R7	<i>AradubZIP29</i>	<i>AhybZIP5</i>	A06: 16421562-16422038
Aradu.7VY22	<i>AradubZIP30</i>	<i>AhybZIP23</i>	A06: 17118072-17122092
Aradu.B9QGP	<i>AradubZIP31</i>	—	A06: 67090818-67095634
Aradu.A9N6H	<i>AradubZIP32</i>	—	A06: 68657203-68659918
Aradu.M5D2I	<i>AradubZIP33</i>	<i>AhybZIP25</i>	A06: 82169478-82172246
Aradu.K89IC	<i>AradubZIP34</i>	<i>AhybZIP14</i>	A06: 104086507-104089154
Aradu.X1PX9	<i>AradubZIP35</i>	<i>AhybZIP11</i>	A07: 17933890-17936651
Aradu.UEG33	<i>AradubZIP36</i>	—	A07: 23354880-23357810
Aradu.LL2CP	<i>AradubZIP37</i>	—	A07: 72015083-72017365
Aradu.V37F6	<i>AradubZIP38</i>	<i>AhybZIP8</i>	A08: 1090955-1091461

表 1(续)

基因 ID Gene ID	基因名称 Gene name		物理位置 Physical location
	二倍体 Diploid	四倍体 Tetraploid	
Aradu.1ES3P	<i>AradubZIP39</i>	<i>AhybZIP19</i>	A08: 23695712-23697921
Aradu.X0F3K	<i>AradubZIP40</i>	—	A08: 28335222-28337729
Aradu.I6GFF	<i>AradubZIP41</i>	—	A08: 28342299-28348900
Aradu.YM0TI	<i>AradubZIP42</i>	—	A08: 32533691-32536893
Aradu.GUH8G	<i>AradubZIP43</i>	—	A08: 41608258-41616928
Aradu.JJQ1T	<i>AradubZIP44</i>	<i>AhybZIP21</i>	A09: 51000116-51004630
Aradu.IJQ3A	<i>AradubZIP45</i>	—	A09: 114398073-114400850
Aradu.CM60U	<i>AradubZIP46</i>	<i>AhybZIP15</i>	A10: 15794806-15799916
Aradu.J8CE9	<i>AradubZIP47</i>	—	A10: 45581226-45586592
Aradu.EG2K3	<i>AradubZIP48</i>	<i>AhybZIP17</i>	A10: 45860845-45862885
Aradu.D77VM	<i>AradubZIP49</i>	—	A10: 70363083-70366429
Aradu.938CR	<i>AradubZIP50</i>	<i>AhybZIP12</i>	A10: 95291925-95298416
Aradu.X6FMF	<i>AradubZIP51</i>	<i>AhybZIP22</i>	A10: 104136292-104140497
Aradu.P9J09	<i>AradubZIP52</i>	—	A10: 106945139-106950657
Aradu.IIC03	<i>AradubZIP53</i>	—	A10: 107183788-107187870
Aradu.KB6LK	<i>AradubZIP54</i>	<i>AhybZIP32</i>	A10: 108847080-108851852
Aradu.KG5GV	<i>AradubZIP55</i>	—	Adur1940: 19820-21100
Araip.W94MZ	<i>AraipbZIP1</i>	<i>AhybZIP6</i>	B01: 704446-705030
Araip.713R1	<i>AraipbZIP2</i>	<i>AhybZIP28</i>	B01: 2801531-2804132
Araip.N7G9C	<i>AraipbZIP3</i>	—	B01: 4039797-4042086
Araip.E3MEN	<i>AraipbZIP4</i>	—	B01: 4161596-4164237
Araip.GR26Z	<i>AraipbZIP5</i>	—	B01: 17677646-17684272
Araip.6L19K	<i>AraipbZIP6</i>	<i>AhybZIP26</i>	B02: 2290529-2295419
Araip.JHI0T	<i>AraipbZIP7</i>	—	B02: 54142521-54144751
Araip.I0X2E	<i>AraipbZIP8</i>	—	B02: 78769486-78775072
Araip.HE4VX	<i>AraipbZIP9</i>	—	B03: 2236978-2240401
Araip.RPQ9U	<i>AraipbZIP10</i>	<i>AhybZIP13</i>	B03: 6239379-6242382
Araip.TQF5F	<i>AraipbZIP11</i>	<i>AhybZIP16</i>	B03: 7502032-7502526
Araip.C4716	<i>AraipbZIP12</i>	—	B03: 7960116-7963857
Araip.64POC	<i>AraipbZIP13</i>	<i>AhybZIP24</i>	B03: 8404619-8407497
Araip.LP41P	<i>AraipbZIP14</i>	—	B03: 23484620-23487436
Araip.W8KP6	<i>AraipbZIP15</i>	<i>AhybZIP30</i>	B03: 116847343-116851500
Araip.8L65U	<i>AraipbZIP16</i>	<i>AhybZIP20</i>	B03: 128980536-128984172
Araip.0W448	<i>AraipbZIP17</i>	—	B03: 135171368-135171835
Araip.R3LNH	<i>AraipbZIP18</i>	—	B04: 4060966-4062354
Araip.NZ32C	<i>AraipbZIP19</i>	—	B04: 65308192-65317689
Araip.S4VE0	<i>AraipbZIP20</i>	<i>AhybZIP29</i>	B05: 1567158-1572244

表 1(续)

基因 ID Gene ID	基因名称 Gene name		物理位置 Physical location
	二倍体 Diploid	四倍体 Tetraploid	
Araip.D5BTT	<i>AraipbZIP21</i>	—	B05: 4085674-4086639
Araip.ML4Q2	<i>AraipbZIP22</i>	<i>AhybZIP1</i>	B05: 6327325-6327831
Araip.I5D0R	<i>AraipbZIP23</i>	—	B05: 10025347-10028865
Araip.X0N4G	<i>AraipbZIP24</i>	—	B05: 112439035-11244628
Araip.5T5JE	<i>AraipbZIP25</i>	<i>AhybZIP18</i>	B05: 148411763-14841407
Araip.83671	<i>AraipbZIP26</i>	<i>AhybZIP23</i>	B06: 743572-746434
Araip.W3SNY	<i>AraipbZIP27</i>	<i>AhybZIP31</i>	B06: 6055756-6061740
Araip.FW6V3	<i>AraipbZIP28</i>	—	B06: 6674462-6675252
Araip.0JY6V	<i>AraipbZIP29</i>	—	B06: 9088845-9089285
Araip.LXV0U	<i>AraipbZIP30</i>	—	B06: 15381246-15384391
Araip.A0U1L	<i>AraipbZIP31</i>	—	B06: 30556076-30557121
Araip.C3TJS	<i>AraipbZIP32</i>	—	B06: 85123454-85127729
Araip.G3UI0	<i>AraipbZIP33</i>	<i>AhybZIP4</i>	B06: 86971044-86973615
Araip.G2GUM	<i>AraipbZIP34</i>	—	B06: 101146627-101148980
Araip.N7W4G	<i>AraipbZIP35</i>	<i>AhybZIP14</i>	B06: 128409215-128411175
Araip.0GM4I	<i>AraipbZIP36</i>	<i>AhybZIP11</i>	B07: 19401150-19403863
Araip.R55AT	<i>AraipbZIP37</i>	—	B07: 24483032-24486543
Araip.A9GHS	<i>AraipbZIP38</i>	<i>AhybZIP8</i>	B07: 106033813-10603430
Araip.ID7EL	<i>AraipbZIP39</i>	—	B07: 111868870-11188152
Araip.JE9JZ	<i>AraipbZIP40</i>	<i>AhybZIP19</i>	B08: 1778677-1780894
Araip.X3UTX	<i>AraipbZIP41</i>	—	B08: 5547886-5549869
Araip.IA4XE	<i>AraipbZIP42</i>	—	B08: 11006331-11009532
Araip.Y87HN	<i>AraipbZIP43</i>	—	B08: 25788036-25790076
Araip.D5QVM	<i>AraipbZIP44</i>	—	B08: 117483524-117491929
Araip.62AFJ	<i>AraipbZIP45</i>	<i>AhybZIP21</i>	B09: 70115384-70119659
Araip.UIF5W	<i>AraipbZIP46</i>	—	B09: 143024348-143027150
Araip.9P45Y	<i>AraipbZIP47</i>	<i>AhybZIP2</i>	B10: 10545786-10548840
Araip.S8WR7	<i>AraipbZIP48</i>	<i>AhybZIP15</i>	B10: 22665261-22670590
Araip.M1IPR	<i>AraipbZIP49</i>	<i>AhybZIP17</i>	B10: 45040299-45042357
Araip.95LB8	<i>AraipbZIP50</i>	—	B10: 55755812-55761764
Araip.WT3SV	<i>AraipbZIP51</i>	—	B10: 98107956-98110619
Araip.GK5ZX	<i>AraipbZIP52</i>	<i>AhybZIP12</i>	B10: 119022028-119025907
Araip.I5L57	<i>AraipbZIP53</i>	<i>AhybZIP22</i>	B10: 130796501-130801778
Araip.U1RD3	<i>AraipbZIP54</i>	—	B10: 133778488-133782909
Araip.TF5MZ	<i>AraipbZIP55</i>	—	B10: 133955173-133959264
Araip.7QE9U	<i>AraipbZIP56</i>	—	B10: 134367930-134373817
Araip.ETI9M	<i>AraipbZIP57</i>	<i>AhybZIP32</i>	B10: 135671058-135675906



上图为在 AA 基因组中的染色体定位, 下图为在 BB 基因组中的染色体定位;
 带下划线标记为 L422 中比对到二倍体中的成员, 无下划线标记为二倍体花生 bZIP 成员
 Upper picture is the chromosomes locations in AA, below picture is the chromosomes locations in BB,
 these genes in L422 with underline represent these genes matched with the diploid and these genes with no underline represent bZIP genes of diploid
 图 1 花生 bZIP 基因家族在二倍体 AA、BB 基因组上的染色体定位
 Fig.1 Chromosomal assignment of bZIP genes family members in the diploid peanut of AA and BB

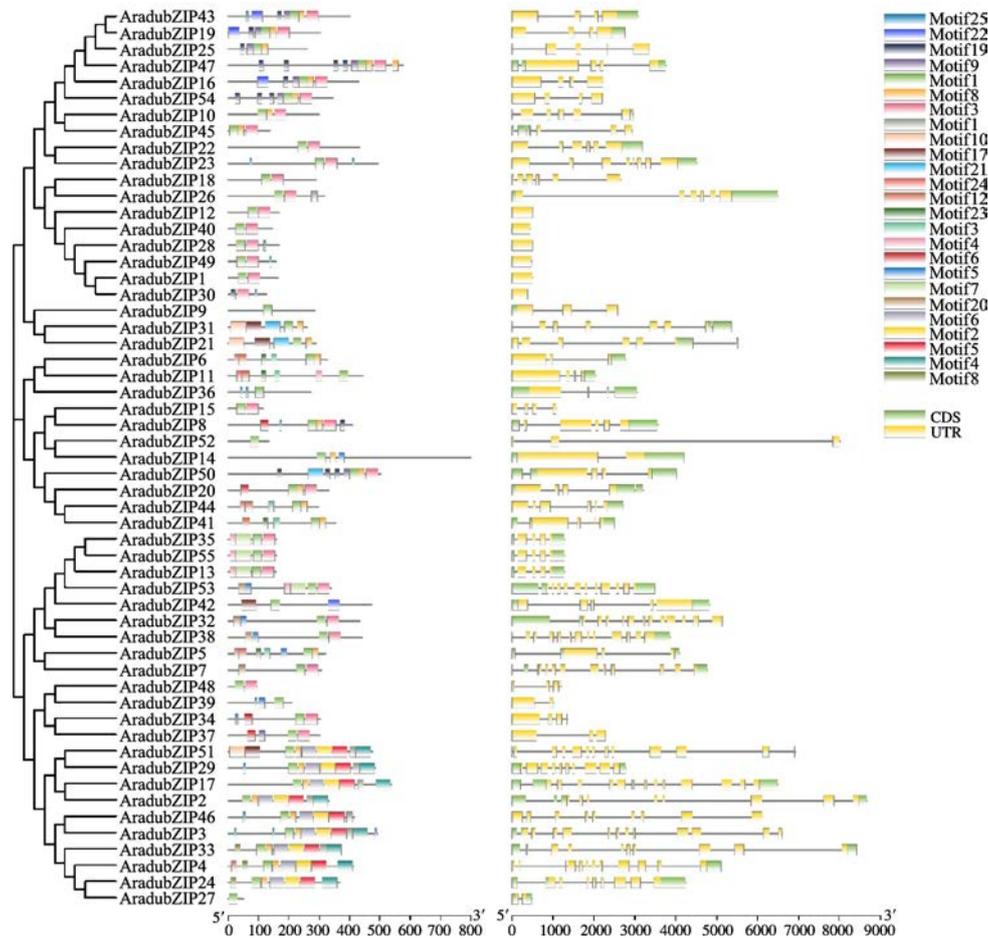


图2 bZIP 基因家族在 AA 基因组中的基因结构与 motif

Fig.2 The gene structure and motif of bZIP transcription factor in AA genome

2.3 系统进化分析

利用 MEGA 7.0 软件构建花生与拟南芥 bZIP 家族成员的系统发育树(图 4)。结果表明:218 个 bZIP 转录因子家族成员并未因物种差异单独地聚为几类,说明花生与拟南芥 bZIP 成员之间拥有较近的亲缘关系,并被划分为与拟南芥相同的 A(30 个)、B(10 个)、C(15 个)、D(32 个)、E(13 个)、F(6 个)、G(22 个)、H(7 个)、I(35 个)、J(3 个)、S(33 个)等 11 个亚族。除 H、J 亚族外,各亚族均含有四倍体 bZIP 家族成员的分布,在第 I 亚族中最多,为 7 个, E、F 亚族中最少(1 个)。I 亚族中的 *AhybZIP13* 与 *AhybZIP19* 聚类关系较为接近。四倍体中的 *AhybZIP31* 与拟南芥中的 *AtbZIP26* 聚到一起,具有一定的同源性,同时聚在 D 亚族。K 亚族仅聚有 *AhybZIP3* 与 *AtbZIP70* 两个家族成员。除此之外, *AraipbZIP3*、*AradubZIP1*、*AraipbZIP4* 与 *AraipbZIP47* 单独聚为一类,分别命名为 L 与 M 亚族(图 4)。

2.4 氨基酸序列保守性分析

通过保守域分析,二倍体花生基因组和四倍体 L422 中 bZIP 保守域的基础结构为碱性结构域和亮氨酸拉链结构两部分组成(图 5),其保守基序基本一致。其中碱性区域由 20 个氨基酸组成,紧靠亮氨酸拉链结构域的 N 端,并且存在大量碱性氨基酸 R(精氨酸)与 K(赖氨酸)残基,以便于与专一的 DNA 序列进行相互作用;亮氨酸拉链紧密与碱性区域相连,通过图中可以看出,每 7 个氨基酸的第 7 位含有 1 个亮氨酸,从而形成一个两亲的螺旋结构,进而参与 bZIP 蛋白与 DNA 结合之前的二聚体化。从图 5 中可以看出,在 3 个基因组中亮氨酸(L)有时会被异亮氨酸(I)、苯丙氨酸(F)、缬氨酸(V)、蛋氨酸(M)与丝氨酸(S)代替,但是在三者之间替换的比例稍有不同,例如异亮氨酸在 3 个基因组内的比率为 12.5%、5.5% 与 7.0%,丝氨酸的比率分别为 2.0%、2.0% 与 6.0%。此外,三处亮氨酸的替换比率不一,例如在第 3 个亮氨酸处主要以异亮氨酸替换

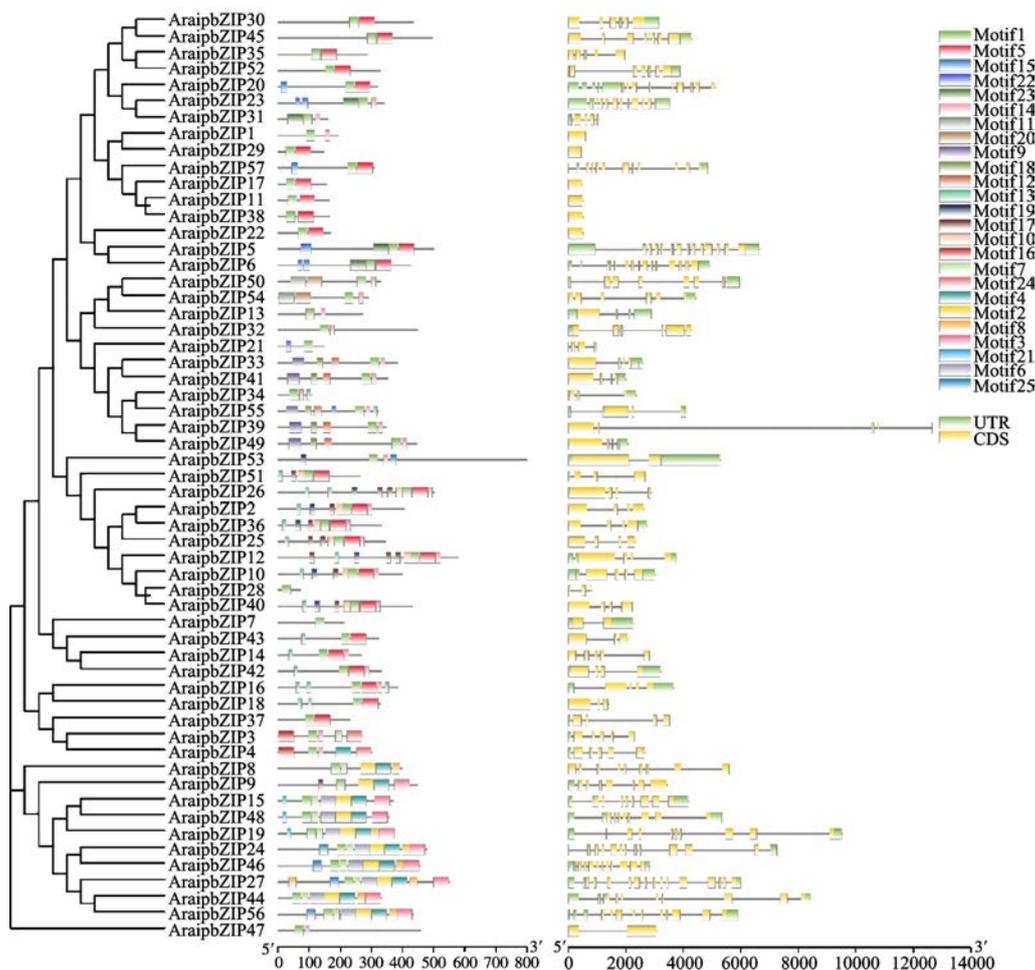


图3 bZIP 基因家族在 BB 基因组中的基因结构与 motif

Fig.3 The gene structure and motif of bZIP transcription factor in BB genome

为主。AA、BB 两基因组中的 R21 在 3 个基因组之间保持一致,而在 K22 具有少许的差异。由于本研究仅获得部分四倍体基因组的 bZIP 家族成员,因此在 K22 处无精氨酸(R)的存在。

2.5 理化性质分析、亚细胞定位及二级结构预测

通过对二倍体花生的 112 个与四倍体花生 L422 的 32 个 bZIP 家族成员理化性质的研究表明(表 2、3、4),AA、BB 与 L422 中的氨基酸分别平均为 321.05 个、340 个和 283 个,平均分子量分别为 35521.48 kD、37579.99 kD 与 31287.04 kD, BB 基因组中的 bZIP 家族成员较其他两个较大。AA 基因组中的 AradubZIP51 与 BB 基因组中的 AraipbZIP53 拥有最多的氨基酸数目,为 800 个,分子量分别为 86930.94 kD、86979.07 kD。栽培花生 L422 中 AhybZIP22 的氨基酸数最多,为 715 个,分子量为 78152.98 kD,并且在 AA 与 BB 基因组中相匹配上的 bZIP 家族成员具有相似的氨基酸数、分子量与脂肪酸系数等。除 AA 基因组中

的 AradubZIP45 外,均为亲水性蛋白。在栽培花生 L422 中,理论等电点、脂肪系数等在家族内也具有 一定的差异性,50% 的基因显碱性,平均等电点为 7.55;脂肪系数在 49.98~97.55 之间,平均为 69.26。

通过 TargetP 与 CELLO 等亚细胞定位预测网站,对野生花生中的 112 个与 L422 中的 32 个 bZIP 蛋白进行亚细胞定位预测(表 2、3、4)。结果发现,在野生二倍体花生中的 112 个家族成员中,除 AA 基因组中的 AradubZIP6 外定位在细胞外位置,其他 111 个均定位到细胞内。在这 111 个家族成员内,多数在细胞核内(AA 基因组 36 个、BB 基因组 39 个),部分在叶绿体(14 个与 15 个)与线粒体内(4 个与 3 个)。在栽培花生 L422 中,24 个 bZIP 转录因子定位到细胞核中,5 个定位到叶绿体中,AhybZIP21、AhybZIP30 定位到线粒体中,而 AhybZIP7 定位到细胞外。根据 SSpro 软件预测结果对二级结构的统计发现,bZIP 转录因子家族二级结构以 α -螺旋(H)与无规则卷曲(C)为主。

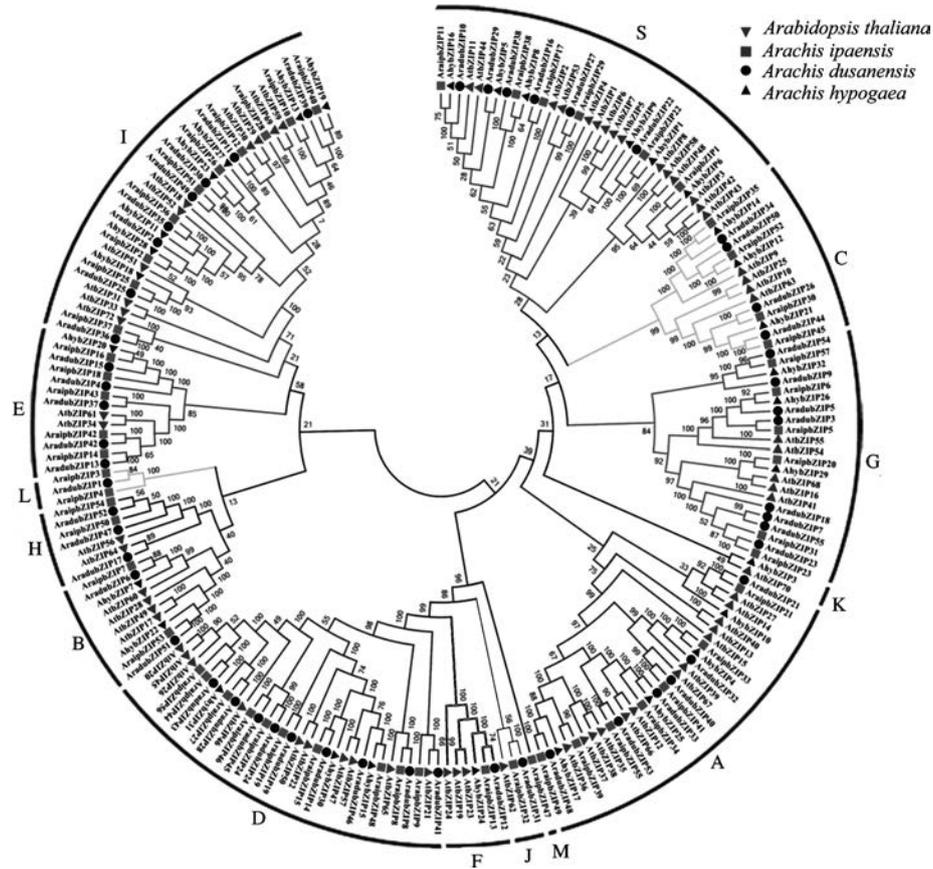
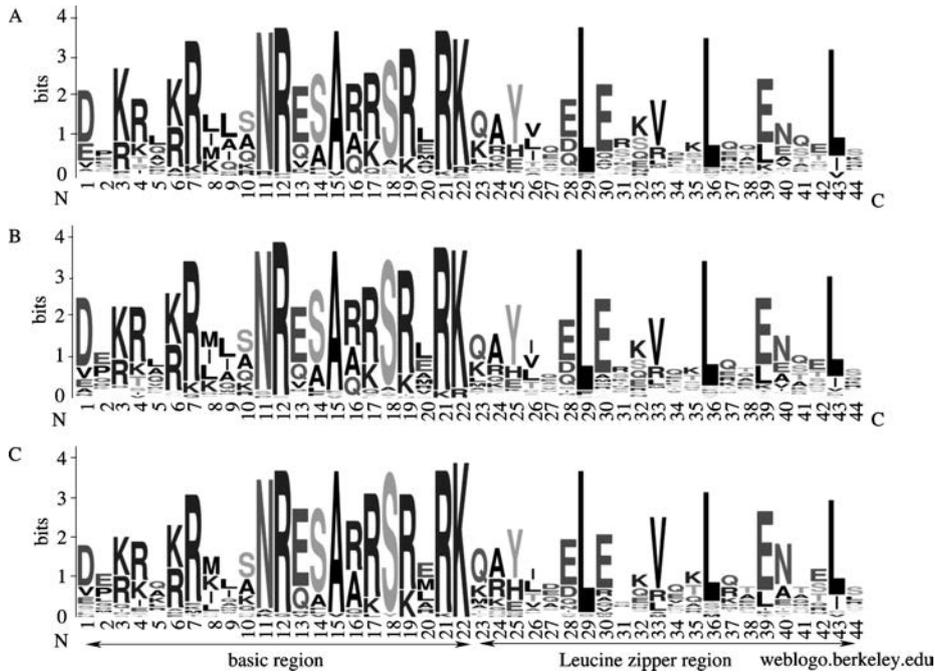


图 4 花生与拟南芥的 bZIP 基因家族系统进化树

Fig.4 Phylogenetic tree of bZIP family members in peanut and *Arabidopsis thaliana*



A, B 与 C 图分别为花生 AA 基因组、BB 基因组与栽培花生 L422 中 bZIP 蛋白保守域; 左侧为 bZIP 蛋白保守域的碱性区域, 右侧为亮氨酸拉链区域
The maps of A, B and C were the conserved domains of bZIP protein in peanut AA, BB genome and cultivated peanut L422, respectively; the left was basic region domain of the bZIP protein, and the right was the Leucine zipper region

图 5 花生 bZIP 蛋白家族保守域

Fig.5 The conserved functional motifs of bZIP family protein in peanut

表 2 栽培花生 bZIP 基因家族理化性质、亚细胞定位及二级结构

Table 2 Physicochemical properties, subcellular location and secondary structure of bZIP gene family in cultivated peanut

基因 ID Gene ID	基因名称 Gene name	氨基酸		理论等电点 Theoretical PI	不稳定系数 Instability index	脂肪系数 Aliphatic index	二级结构 Secondary structure			亚细胞定位 Subcellular location	疏水性 Hydrophobicity
		数目 (aa) No. of amino acids	分子量 (kD) Molecular weight				β -折叠 E	α -螺旋 H	无规则卷曲 C		
c10723	AhybZIP1	100	12273.07	11.75	72.37	73.10	0	20	79	Nuclear	亲水性
c21130	AhybZIP2	134	15732.88	8.97	66.44	79.48	6	61	66	Nuclear	亲水性
c22780	AhybZIP3	214	24483.76	7.95	51.68	80.14	9	125	79	Nuclear	亲水性
c24277	AhybZIP4	430	46737.74	8.12	56.94	57.60	10	313	106	Nuclear	亲水性
c24331	AhybZIP5	158	18603.00	7.84	67.81	66.65	2	61	94	Nuclear	亲水性
c24880	AhybZIP6	160	18944.00	8.62	67.57	64.00	0	76	83	Nuclear	亲水性
c26720	AhybZIP7	170	19882.24	10.12	68.74	81.53	15	68	86	Extracellular	亲水性
c26800	AhybZIP8	168	19359.87	7.10	62.61	70.30	1	71	95	Nuclear	亲水性
c26981	AhybZIP9	205	23871.02	9.19	66.49	65.17	2	113	89	Chloroplast	亲水性
c27691	AhybZIP10	186	21040.83	10.86	91.34	60.81	7	99	79	Chloroplast	亲水性
c28967	AhybZIP11	208	23202.23	8.50	57.67	66.25	2	95	110	Nuclear	亲水性
c29341	AhybZIP12	355	38020.85	5.22	44.98	68.68	3	256	95	Nuclear	亲水性
c29524	AhybZIP13	400	43051.81	6.12	60.04	72.10	0	293	106	Chloroplast	亲水性
c29864	AhybZIP14	360	39080.84	5.55	54.13	60.44	2	241	116	Nuclear	亲水性
c30689	AhybZIP15	362	41028.90	6.63	53.47	89.01	3	133	225	Nuclear	亲水性
c32446	AhybZIP16	164	18274.30	6.12	59.09	76.10	0	69	94	Chloroplast	亲水性
c32640	AhybZIP17	177	19509.43	9.39	54.37	79.32	16	97	63	Nuclear	亲水性
c33137	AhybZIP18	263	28392.00	6.31	52.20	67.95	2	168	92	Nuclear	亲水性
c33856	AhybZIP19	431	46903.87	6.01	61.97	57.56	0	318	112	Nuclear	亲水性
c34127	AhybZIP20	377	42310.60	6.41	65.17	65.31	6	264	106	Nuclear	亲水性
c34161	AhybZIP21	204	22482.11	8.82	52.61	74.51	0	118	85	Mitochondrial	亲水性
c34525	AhybZIP22	715	78152.98	5.57	50.24	66.29	39	561	114	Nuclear	亲水性
c34940	AhybZIP23	503	55098.94	6.66	55.85	62.84	1	380	121	Nuclear	亲水性
c35542	AhybZIP24	267	29101.60	6.07	46.43	67.64	15	185	66	Nuclear	亲水性
c36233	AhybZIP25	230	25887.09	9.66	69.72	63.09	6	161	62	Nuclear	亲水性
c36599	AhybZIP26	425	45496.01	6.34	46.86	56.12	0	324	100	Nuclear	亲水性
c36696	AhybZIP27	151	18025.74	6.73	53.01	97.55	11	35	104	Nuclear	亲水性
c37586	AhybZIP28	405	43023.47	5.76	50.17	59.36	5	282	117	Chloroplast	亲水性
c38448	AhybZIP29	409	43317.59	5.72	66.6	49.98	5	313	90	Nuclear	亲水性
c38833	AhybZIP30	208	23614.13	9.71	44.17	82.60	1	46	160	Mitochondrial	亲水性
c38964	AhybZIP31	304	34095.39	6.62	54.94	72.34	2	89	212	Nuclear	亲水性
c42068	AhybZIP32	200	22186.85	7.12	56.33	62.50	0	112	87	Nuclear	亲水性
平均 Average	—	283	31287.04	7.55	58.81	69.26	5	173	103	—	—

表 3 二倍体花生 AA 基因组中 bZIP 家族理化性质、亚细胞定位及二级结构

Table 3 Physicochemical properties, subcellular location and secondary structure of bZIP gene family in AA genome of diploid peanut

基因名称 Gene name	氨基酸 数目 (aa) No. of amino acids	分子量 (kD) Molecular weight	理论 等电点 Theoretical PI	不稳定 系数 Instability index	脂肪 系数 Aliphatic index	二级结构 Secondary structure			亚细胞 定位 Subcellular location	疏水性 Hydroph- obicity
						β - 折叠 E	α - 螺旋 H	无规则 卷曲 C		
<i>AradubZIP1</i>	299	33896.59	7.72	44.36	85.65	30	111	158	Chloroplast	亲水性
<i>AradubZIP2</i>	401	42577.93	5.62	50.88	59.95	7	112	282	Chloroplast	亲水性
<i>AradubZIP3</i>	434	46941.70	8.90	54.04	62.74	0	81	353	Nuclear	亲水性
<i>AradubZIP4</i>	115	13493.97	10.48	82.53	101.74	1	83	31	Chloroplast	亲水性
<i>AradubZIP5</i>	440	47170.06	6.53	45.65	57.75	8	97	335	Nuclear	亲水性
<i>AradubZIP6</i>	285	31874.32	5.22	59.73	88.70	8	141	136	Extracellular	亲水性
<i>AradubZIP7</i>	160	17686.92	7.67	57.76	80.06	0	76	84	Nuclear	亲水性
<i>AradubZIP8</i>	416	46842.74	5.98	63.16	68.51	9	182	225	Nuclear	亲水性
<i>AradubZIP9</i>	95	11614.20	5.98	68.75	80.00	16	61	18	Nuclear	亲水性
<i>AradubZIP10</i>	163	18187.23	6.12	58.21	76.56	2	95	66	Chloroplast	亲水性
<i>AradubZIP11</i>	577	62879.13	6.55	60.14	57.71	5	125	447	Nuclear	亲水性
<i>AradubZIP12</i>	271	29404.94	6.21	44.13	64.50	20	68	183	Nuclear	亲水性
<i>AradubZIP13</i>	304	33776.67	5.65	50.82	52.21	0	93	211	Chloroplast	亲水性
<i>AradubZIP14</i>	368	41626.26	8.34	55.67	76.44	6	210	152	Nuclear	亲水性
<i>AradubZIP15</i>	409	45974.77	6.76	67.08	67.58	6	110	293	Mitochondrial	亲水性
<i>AradubZIP16</i>	126	14416.11	5.59	50.10	79.84	0	81	45	Mitochondrial	亲水性
<i>AradubZIP17</i>	132	14972.66	9.56	47.44	75.30	1	57	74	Nuclear	亲水性
<i>AradubZIP18</i>	157	17201.34	6.42	55.19	82.80	0	76	81	Chloroplast	亲水性
<i>AradubZIP19</i>	373	42000.87	5.97	47.05	97.02	11	203	159	Nuclear	亲水性
<i>AradubZIP20</i>	50	6025.09	10.14	47.59	83.80	0	46	4	Mitochondrial	亲水性
<i>AradubZIP21</i>	209	23117.86	9.95	82.60	52.44	4	57	148	Chloroplast	亲水性
<i>AradubZIP22</i>	168	19394.78	10.38	61.93	64.52	0	87	81	Nuclear	亲水性
<i>AradubZIP23</i>	340	35995.38	5.60	57.71	50.12	0	81	259	Nuclear	亲水性
<i>AradubZIP24</i>	476	53004.70	5.81	43.41	79.37	5	230	241	Nuclear	亲水性
<i>AradubZIP25</i>	344	37460.77	6.61	58.43	57.67	0	104	240	Nuclear	亲水性
<i>AradubZIP26</i>	433	46739.89	7.14	61.27	68.73	5	129	299	Nuclear	亲水性
<i>AradubZIP27</i>	146	16384.81	5.78	53.54	88.97	1	95	50	Chloroplast	亲水性
<i>AradubZIP28</i>	538	59632.92	8.32	57.33	77.36	11	268	259	Chloroplast	亲水性
<i>AradubZIP29</i>	158	18493.87	8.91	63.47	64.18	2	95	61	Chloroplast	亲水性
<i>AradubZIP30</i>	503	55098.94	6.66	55.85	62.84	0	118	385	Nuclear	亲水性
<i>AradubZIP31</i>	473	52229.32	7.07	58.08	68.33	33	124	316	Nuclear	亲水性
<i>AradubZIP32</i>	298	33721.34	8.69	58.87	83.79	4	71	223	Nuclear	亲水性
<i>AradubZIP33</i>	327	35345.26	9.21	55.20	65.02	7	82	238	Nuclear	亲水性
<i>AradubZIP34</i>	290	31850.56	8.27	45.92	63.55	4	110	176	Chloroplast	亲水性
<i>AradubZIP35</i>	303	31314.04	5.79	53.96	62.61	4	124	175	Nuclear	亲水性
<i>AradubZIP36</i>	138	16525.45	10.00	48.97	91.88	7	103	28	Nuclear	亲水性
<i>AradubZIP37</i>	303	33832.07	6.31	56.59	79.57	4	99	200	Chloroplast	亲水性
<i>AradubZIP38</i>	168	19345.84	7.10	63.51	70.30	3	97	68	Nuclear	亲水性
<i>AradubZIP39</i>	431	46815.77	6.01	62.86	57.59	0	123	308	Nuclear	亲水性
<i>AradubZIP40</i>	355	39962.77	8.65	64.80	71.69	12	89	254	Nuclear	亲水性
<i>AradubZIP41</i>	492	54284.10	7.10	48.79	74.80	5	223	264	Nuclear	亲水性
<i>AradubZIP42</i>	332	37390.56	5.30	70.27	64.94	2	104	226	Chloroplast	亲水性

表 3(续)

基因名称 Gene name	氨基酸 数目(aa) No. of amino acids	分子量 (kD) Molecular weight	理论 等电点 Theoretical PI	不稳定 系数 Instability index	脂肪 系数 Aliphatic index	二级结构 Secondary structure			亚细胞 定位 Subcellular location	疏水性 Hydrophobicity
						β -折叠 E	α -螺旋 H	无规则 卷曲 C		
<i>AradubZIP43</i>	331	37018.61	8.63	58.50	80.00	1	209	121	Nuclear	亲水性
<i>AradubZIP44</i>	494	53854.84	6.47	53.89	68.93	9	129	356	Nuclear	亲水性
<i>AradubZIP45</i>	485	54245.96	6.37	43.60	85.36	11	234	240	Nuclear	疏水性
<i>AradubZIP46</i>	414	47237.00	6.53	53.83	87.97	11	204	199	Nuclear	亲水性
<i>AradubZIP47</i>	260	28418.43	8.64	51.88	52.19	6	65	189	Nuclear	亲水性
<i>AradubZIP48</i>	445	48108.87	9.57	51.42	60.74	10	100	335	Nuclear	亲水性
<i>AradubZIP49</i>	260	28709.79	9.48	52.77	81.04	10	103	147	Chloroplast	亲水性
<i>AradubZIP50</i>	316	33962.22	5.03	39.72	67.88	0	107	209	Nuclear	亲水性
<i>AradubZIP51</i>	800	86930.94	5.84	49.11	66.52	77	108	615	Nuclear	亲水性
<i>AradubZIP52</i>	289	31636.37	5.26	53.63	50.31	3	69	217	Nuclear	亲水性
<i>AradubZIP53</i>	320	35149.72	9.24	48.80	69.03	7	84	229	Mitochondrial	亲水性
<i>AradubZIP54</i>	308	34217.37	7.12	51.78	61.49	0	78	230	Nuclear	亲水性
<i>AradubZIP55</i>	160	17686.92	7.67	57.76	80.06	0	76	84	Nuclear	亲水性
平均 Average	321.05	35521.48	7.31	55.64	74.47	7	200	114	—	—

表 4 二倍体花生 BB 基因组中 bZIP 家族理化性质、亚细胞定及二级结构

Table 4 Physicochemical properties, subcellular location and secondary structure of bZIP gene family in BB genome of diploid peanut

基因名称 Gene name	氨基酸 数目(aa) No. of amino acids	分子量 (kD) Molecular weight	理论 等电点 Theoretical PI	不稳定 系数 Instability index	脂肪系数 Aliphatic index	二级结构 Secondary structure			亚细胞 定位 Subcellular location	疏水性 Hydrophobicity
						β -折叠 E	α -螺旋 H	无规则 卷曲 C		
<i>AraipbZIP1</i>	194	22774.32	5.85	67.34	82.89	3	81	110	Nuclear	亲水性
<i>AraipbZIP2</i>	405	43069.54	5.76	50.38	60.32	7	115	283	Chloroplast	亲水性
<i>AraipbZIP3</i>	269	30381.65	8.36	46.31	85.09	43	105	121	Chloroplast	亲水性
<i>AraipbZIP4</i>	299	33618.07	5.63	44.55	86.35	27	115	157	Nuclear	亲水性
<i>AraipbZIP5</i>	500	54597.35	6.78	58.45	63.66	2	102	396	Nuclear	亲水性
<i>AraipbZIP6</i>	425	45496.01	6.34	46.86	56.12	0	94	331	Nuclear	亲水性
<i>AraipbZIP7</i>	212	23283.20	4.69	48.23	87.03	1	108	103	Nuclear	亲水性
<i>AraipbZIP8</i>	397	44452.05	6.17	62.23	70.05	13	178	206	Nuclear	亲水性
<i>AraipbZIP9</i>	448	50142.53	8.41	52.97	77.39	7	218	223	Nuclear	亲水性
<i>AraipbZIP10</i>	400	43111.93	6.12	60.16	72.35	0	116	284	Chloroplast	亲水性
<i>AraipbZIP11</i>	164	18274.30	6.12	59.09	76.10	1	94	69	Chloroplast	亲水性
<i>AraipbZIP12</i>	578	63015.32	6.58	60.74	58.29	7	126	445	Nuclear	亲水性
<i>AraipbZIP13</i>	271	29420.98	6.21	43.52	65.94	19	67	185	Nuclear	亲水性
<i>AraipbZIP14</i>	267	30321.18	5.82	58.07	66.14	2	112	153	Chloroplast	亲水性
<i>AraipbZIP15</i>	368	41586.20	8.34	56.08	76.71	2	112	153	Nuclear	亲水性
<i>AraipbZIP16</i>	384	43087.67	6.55	64.59	68.93	8	105	271	Mitochondrial	亲水性
<i>AraipbZIP17</i>	155	17528.52	6.22	55.16	68.06	0	97	58	Nuclear	亲水性
<i>AraipbZIP18</i>	327	36356.67	7.73	61.68	66.85	15	71	241	Nuclear	亲水性
<i>AraipbZIP19</i>	373	42045.95	5.97	48.80	97.29	3	203	167	Nuclear	亲水性

表 4(续)

基因名称 Gene name	氨基酸 数目(aa) No. of amino acids	分子量 (kD) Molecular weight	理论 等电点 Theoretical PI	不稳定 系数 Instability index	脂肪系数 Aliphatic index	二级结构 Secondary structure			亚细胞 定位 Subcellular location	疏水性 Hydrophobicity
						β - 折叠 E	α - 螺旋 H	无规则 卷曲 C		
<i>AraipbZIP20</i>	318	33595.77	5.79	66.01	52.26	0	71	247	Nuclear	亲水性
<i>AraipbZIP21</i>	147	16586.16	10.68	81.23	68.44	5	58	84	Chloroplast	亲水性
<i>AraipbZIP22</i>	168	19357.73	10.02	62.98	66.85	0	87	81	Nuclear	亲水性
<i>AraipbZIP23</i>	340	36093.57	5.61	58.53	51.53	0	83	257	Nuclear	亲水性
<i>AraipbZIP24</i>	479	53052.78	6.06	42.93	79.27	6	228	245	Chloroplast	亲水性
<i>AraipbZIP25</i>	344	37476.77	6.61	58.67	57.38	0	114	230	Nuclear	亲水性
<i>AraipbZIP26</i>	503	55144.02	6.66	57.17	62.84	0	124	379	Nuclear	亲水性
<i>AraipbZIP27</i>	550	61126.81	7.64	57.77	77.09	11	262	277	Chloroplast	亲水性
<i>AraipbZIP28</i>	70	7942.47	10.44	41.33	111.57	0	58	12	Mitochondrial	亲水性
<i>AraipbZIP29</i>	146	16384.81	5.78	53.54	88.97	1	95	50	Chloroplast	亲水性
<i>AraipbZIP30</i>	433	46753.92	7.14	60.26	68.52	4	126	303	Nuclear	亲水性
<i>AraipbZIP31</i>	159	17517.58	5.44	64.37	72.58	0	71	88	Nuclear	亲水性
<i>AraipbZIP32</i>	447	49644.51	8.03	61.79	62.93	26	120	301	Nuclear	亲水性
<i>AraipbZIP33</i>	382	42127.60	7.69	60.80	55.45	10	88	284	Nuclear	亲水性
<i>AraipbZIP34</i>	106	12215.93	10.86	95.71	60.66	6	57	43	Chloroplast	亲水性
<i>AraipbZIP35</i>	287	31390.01	7.11	47.23	64.53	5	90	192	Chloroplast	亲水性
<i>AraipbZIP36</i>	331	35985.94	5.94	51.20	60.82	8	114	209	Chloroplast	亲水性
<i>AraipbZIP37</i>	230	26622.67	9.42	38.03	77.57	3	123	104	Nuclear	亲水性
<i>AraipbZIP38</i>	164	18889.34	7.10	64.41	69.63	3	94	67	Nuclear	亲水性
<i>AraipbZIP39</i>	346	36764.10	6.87	48.09	60.87	10	90	246	Nuclear	亲水性
<i>AraipbZIP40</i>	431	46893.84	6.01	61.68	57.56	0	120	311	Nuclear	亲水性
<i>AraipbZIP41</i>	352	39546.28	8.65	62.81	73.12	15	88	249	Nuclear	亲水性
<i>AraipbZIP42</i>	331	37397.60	5.38	70.26	66.31	4	97	230	Chloroplast	亲水性
<i>AraipbZIP43</i>	295	32704.73	8.95	55.78	77.12	6	104	213	Chloroplast	亲水性
<i>AraipbZIP44</i>	331	37018.61	8.63	58.02	80.00	3	209	119	Nuclear	亲水性
<i>AraipbZIP45</i>	495	54071.98	6.49	51.39	67.80	13	131	351	Nuclear	亲水性
<i>AraipbZIP46</i>	456	50968.95	6.34	46.34	78.38	8	211	237	Nuclear	亲水性
<i>AraipbZIP47</i>	457	51594.36	6.55	50.57	93.04	77	172	208	Nuclear	亲水性
<i>AraipbZIP48</i>	356	40354.15	6.63	54.41	88.88	2	195	159	Nuclear	亲水性
<i>AraipbZIP49</i>	445	48140.92	9.59	51.40	60.94	11	99	335	Nuclear	亲水性
<i>AraipbZIP50</i>	329	35743.14	5.45	46.17	54.86	16	72	241	Nuclear	亲水性
<i>AraipbZIP51</i>	263	29147.33	9.41	54.32	86.46	8	97	158	Chloroplast	亲水性
<i>AraipbZIP52</i>	327	35139.44	5.11	40.56	66.79	0	116	211	Nuclear	亲水性
<i>AraipbZIP53</i>	800	86979.07	5.89	48.43	67.01	73	105	622	Nuclear	亲水性
<i>AraipbZIP54</i>	289	31674.40	5.26	56.38	49.31	7	59	223	Nuclear	亲水性
<i>AraipbZIP55</i>	320	35189.75	9.24	48.95	69.03	7	83	230	Mitochondrial	亲水性
<i>AraipbZIP56</i>	433	48101.85	6.04	59.49	82.77	8	218	207	Nuclear	亲水性
<i>AraipbZIP57</i>	308	34157.27	7.12	53.05	61.49	0	77	231	Nuclear	亲水性
平均 Average	340	37579.99	7.04	55.92	70.81	9	116	214	—	—

2.6 干旱胁迫下基因表达分析

根据本试验 L422 花生抗旱转录组中的 FPKM 数据,构建基因表达热图(图 6),以推测这些基因在花生抗旱上的作用。从热图中可以发现,32 个 bZIP 基因家族成员在旱处理后表达量均发生明显的变化,也说明这些基因可能在花生后期抗旱上起到了一定的作用。32 个家族成员的表达模式基本可以分为 4 类,第 I 类的 *AhybZIP4*、*AhybZIP14*、*AhybZIP15*、*AhybZIP18* 与 *AhybZIP21* 等家族成员在旱处理后的前期(80DAP)与后期(100DAP)表达量较高,而在中期(90DAP)表达较低;第 II 类中的 *AhybZIP12*、*AhybZIP24* 与 *AhybZIP25* 等家族成员在中期(85DAP、90DAP)与后期(100DAP)具有较高的表达水平,在前期(80DAP)与 95DAP 等时期表达量较低;第 III 类中的 *AhybZIP32*、*AhybZIP8*、*AhybZIP10* 与 *AhybZIP1* 等成员在 80DAP、85DAP 与 95DAP 表达水平较高,在 90DAP、100DAP 表达量较低;第 IV 类中的 *AhybZIP2*、*AhybZIP7*、*AhybZIP22*、*AhybZIP27*、*AhybZIP29* 与 *AhybZIP31*

等家族成员在前期与后期表达水平较低,在 90DAP 具有最高表达量,其中 *AhybZIP19* 与 *AhybZIP27* 在进化树中均聚在第 I 亚组中。*AhybZIP31* 在 90DAP 表达量达到最高值,可能在中期对花生的耐旱具有重要调控作用。*AhybZIP15* 在后期(100DAP)具有最高的表达水平,同时在前中期 80DAP 时也具有一定的表达,可能在旱胁迫的前期和后期具有重要的调控作用。

3 讨论

bZIP 基因家族在植物整个生命过程中的生长、发育与抗逆等方面拥有着重要的调控作用,同样在抗旱性上有着重要的调控作用^[33-35]。本研究通过对花生二倍体祖先种 AA、BB 基因组数据中的蛋白序列以及四倍体栽培种 L422 的转录组数据中的蛋白序列进行分析,去冗余后共鉴定获得 55 个、57 个与 32 个 bZIP 家族成员。四倍体中的 bZIP 家族成员相对二倍体与拟南芥^[8]中的较少,可能是由于转录组并不是含花生整个生育过程的基因。由基因

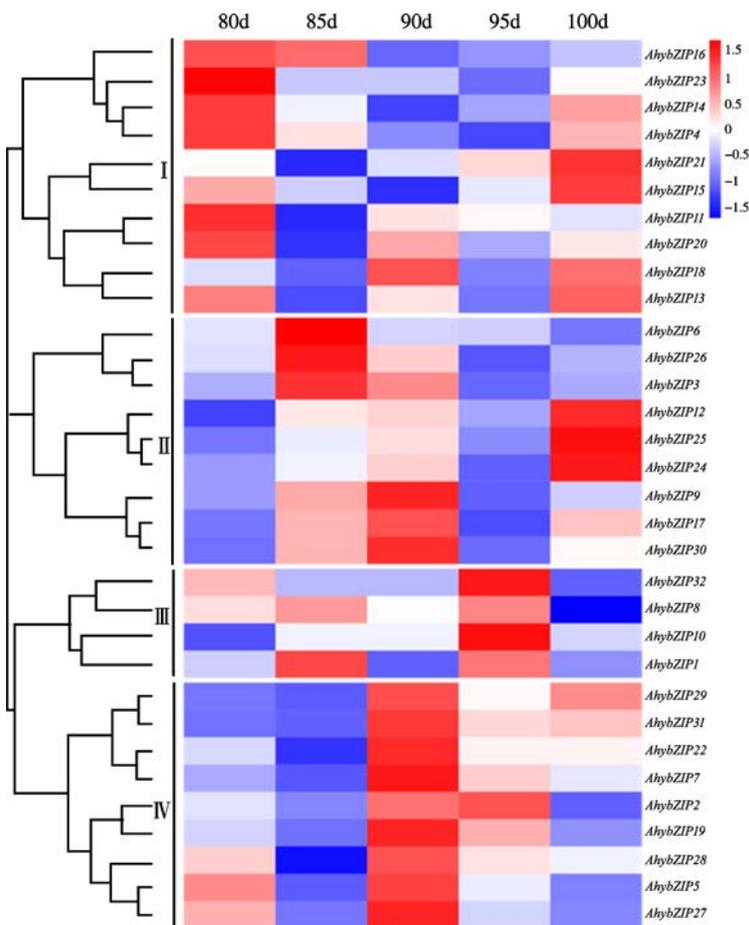


图 6 花生 bZIP 基因家族表达热图

Fig.6 The heatmap of bZIP gene family members using the transcriptional datasets

在染色体上的位置发现,二倍体中的 *bZIP* 基因遍布所有染色体上,而四倍体中的 *bZIP* 基因分布于两基因组 A04 与 B04 外的 18 条染色体上。在相应的染色体定位中出现了基因簇,并且不同染色体分布基因数目不一。通过四倍体与二倍体基因组比对和基因结构分析发现,部分四倍体 *bZIP* 成员与二倍体相同,仍存在少数成员是独有的,如 *AhybZIP3*、*AhybZIP10*。不同家族成员之间,外显子数目往往不完全相同,部分基因家族成员的外显子数目较多,最多可达 15 个,结构较为复杂,说明结构在不同基因间具有一定的差异性,而含有相同数目外显子的成员多聚在同一亚组。此外,若是四倍体中的 *bZIP* 成员在 AA、BB 基因组都存在,则该家族成员在外显子的数量上具有一定的相似性,同时 motif 也具有一定的相似性。

蛋白质的二级结构的预测是连接一级结构与三级空间结构的重要桥梁与纽带,也是预测三级结构的关键步骤^[36]。而相似的结构往往具有相似的功能,在二级结构分析中,各基因均以 α -螺旋(H)与无规则卷曲(C)为主,说明在基因变异和进化时,虽然基因外显子的数量上发生变化,但仍保留其保守特性,这与杨颖等^[19]的研究基本一致。通过对 3 个基因组中 *bZIP* 家族成员在保守性结构上的分析可以看出,三者之间在保守序列上具有高度的相似性,但有时也会出现氨基酸的替换,而且替换的比率也不尽相同,这可能由于不同基因组的替换速率存在差异。也正是结构上的差异性与保守性上的一致性,说明 *bZIP* 基因家族成员功能的多样性与在进化过程中的稳定性。Sarikaya 等^[37]的研究表明,不稳定系数在 40 以下则为稳定蛋白,由此可以推测该家族成员在 3 个基因组中均为不稳定蛋白。基因亚细胞定位的预测分析显示,大多数基因都定位在细胞核内,并有少数基因定位在叶绿体与线粒体当中,这与其他植物转录因子的亚细胞定位基本一致^[38-40]。

前人研究发现,玉米中的 *ZmbZIP60* 对提高玉米抵抗外界的环境压力具有重要的调控作用^[41]。Liu 等^[42]通过对水稻进行干旱、PEG 与 ABA 处理,均能诱导 *sbZIP71* 基因的高效表达,提高水稻的抗性。Huang 等^[43]研究发现,在苎麻中的 *BnbZIP2* 基因同样在干旱、高盐与 ABA 处理的情况下,具有高效表达的特性。拟南芥中的 *AT2G35530-bZIP16* 基因主要通过调控光、GA 及 ABA 等基因的应答^[43];拟南芥中的 *AT5G06950* 与 *AT5G06960*^[44-45] (*AtbZIP26*) 为 *bZIP* 转录因子家族的 TGA 亚族,对

拟南芥的抗逆机制具有重要的调控作用。基于此,我们推测花生中的 *bZIP* 基因在抗旱中可能发挥着作用。通常认为,聚类中关系越密切则其相似性就越大,进而在结构与功能上也会有有一定的相似性。因此,我们推测与拟南芥中的 *AT2G35530-bZIP16* 聚类较近的 *AhybZIP26* 基因可能会在抗旱过程中发挥功能,参与调控 GA 与 ABA 激素的代谢,但这有待于进一步验证。此外, *AhybZIP31* 与拟南芥中 *AT5G06960* (*AtbZIP26*) 同源性较高,同时被划分在第 I 亚组,聚在一起,推测其对花生后期抗旱具有一定作用。另外,在进化树中可以发现,大多数 *bZIP* 家族成员在 AA 与 BB 两个基因组中与四倍体花生的一致性在 90% 以上。多数的四倍体中 *bZIP* 家族成员均能在 AA 与 BB 基因组中找到其同源家族成员,这也就在一定程度上证明四倍体是由两个二倍体花生通过异源杂交而来。然而仍存在一些成员在两个二倍体基因组中没有找到其同源序列,说明可能在四倍体花生进化时发生一些新基因的出现,或者一些基因的丢失,亦或是由于本转录组并非栽培花生全基因组的全部基因。L、K 为花生单独聚为一类,表明 *bZIP* 基因在一开始进化过程中序列差异较大,其功能可能变化较大。一般认为,表达量与其功能之间存在着一定的联系,在本转录组研究中,有 32 个 *bZIP* 在生长过程中表达量发生了明显的变化。研究发现,基因的表达具有时空特异性,在不同部位、不同时期,基因表达是特异的,而基因的表达与其功能具有重要的关系。在本研究中的热图中可以发现, *AhybZIP19* 与 *AhybZIP27* 的表达类似并聚在第 IV 亚族,在 90DAP 表达量最高,同时在进化树中聚在 I 亚族,在亲缘关系与表达上具有相似性,但其是否在花生抗旱过程中起到重要的作用尚需要进一步研究。

作为重要油料作物与经济作物的花生,研究起步较晚,研究的并不是很深入。尤其是通过转录组与转录因子对栽培花生种抗旱调控机制的研究,更是鲜见报道。*bZIP* 转录因子是植物体内一类重要的调控转录因子,尤其是在植物抗逆方面具有重要的作用,但是在花生中的研究远没有拟南芥、水稻中研究的清楚与深入。本研究同时对二倍体野生种 AA、BB 基因组以及四倍体栽培种 L422 的 *bZIP* 家族成员的鉴定、生物信息学分析以及早胁迫生长后期相关 *bZIP* 基因表达规律的研究,为花生的抗旱研究提供了重要的候选基因。

参考文献

- [1] 万书波, 单世华, 李春娟, 胡文广. 我国花生安全生产现状与策略. 花生学报, 2005 34(1): 1-4
Wan S B, Shan S H, Li C J, Hu W G. Safety status and development strategy of peanut in China. Journal of Peanut Science, 2005 34(1): 1-4
- [2] 崔顺立, 孟硕, 何美敬, 杨鑫雷, 侯名语, 穆国俊, Charles Y. Chen, 刘立峰. 美国花生微核心种质资源纯化系的引进与表型评价. 植物遗传资源学报, 2017, 18(3): 381-389
Cui S L, Meng S, He M J, Yang X L, Hou M Y, Mu G J, Charles Y C, Liu L F. Introduction and phenotypic evaluation of the purified lines of the U.S. peanut mini core collection. Journal of Plant Genetic Resources, 2017, 18(3): 381-389
- [3] 闫丛丛, 侯名语, 崔顺立, 刘立峰, Luciano Josephy Harry Kazembe, 杨鑫雷, 孟庆荣, 李文平, 刘富强, 穆国俊. 红白花斑种皮高油酸花生种质材料的创制. 植物遗传资源学报, 2017, 18(3): 587-594
Yan C C, Hou M Y, Cui S L, Liu L F, Luciano J H K, Yang X L, Meng Q R, Li W P, Liu F Q, Mu G J. Creation of high oleic acid peanut germplasm materials with red and white variegated seed coat. Journal of Plant Genetic Resources, 2017, 18(3): 587-594
- [4] 张胜忠, 焦坤, 胡晓辉, 苗华荣, 陈静. 花生百仁质量和含油量的遗传分析. 花生学报, 2018, 47(4): 7-12
Zhang S Z, Jiao K, Hu X H, Miao H R, Chen J. Genetic analysis for seed mass and oil content of peanuts. Journal of Peanut Science, 2018, 47(4): 7-12
- [5] 刘永惠, 詹成芳, 沈一, 陈志德. 不同花生品种(系)萌发期抗旱性鉴定评价. 植物遗传资源学报, 2016, 17(2): 233-238
Liu Y K, Zhan C F, Shen Y, Chen Z D. Identification of drought tolerance in peanut varieties /lines at the germination stage. Journal of Plant Genetic Resources, 2016, 17(2): 233-238
- [6] Reddy L J, 张建成. 国际半干旱所的花生抗旱育种进展. 种子, 1996(5): 62
Reddy L J, Zhang J C. Advances in drought resistance breeding of peanut from the international semi-arid institute. Seed, 1996(5): 62
- [7] 矫岩林, 何东平, 王晓君, 赵健, 殷岩. 花生抗旱性研究进展. 河北农业科学, 2008(8): 7-8, 11
Jiao Y L, He D P, Wang X J, Zhao J, Yin Y. Advances on drought resistance of peanut. Journal of Hebei Agricultural Sciences, 2008(8): 7-8, 11
- [8] 姜慧芳, 任小平. 干旱胁迫对花生叶片 SOD 活性和蛋白质的影响. 作物学报, 2004, 30(2): 169-174
Jiang H F, Ren X P. The effect on SOD activity and protein content in groundnut leaves by drought stress. Acta Agronomica Sinica, 2004, 30(2): 169-174
- [9] 张昆, 万勇善, 刘凤珍. 遮光对花生产量、成熟饱满度及品质的影响. 中国粮油学报, 2009, 24(11): 91-96
Zhang K, Wan Y S, Liu F Z. Effects of shading on yield, plumpness and quality of peanut. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2009, 24(11): 91-96
- [10] 王才斌, 刘云峰, 吴正锋, 郑亚萍, 万书波, 孙奎香, 孙学武, 冯昊. 山东省不同生态区花生品质差异及稳定性研究. 中国生态农业学报, 2008 16(5): 1138-1142
Wang C B, Liu Y F, Wu Z F, Zheng Y P, Wan S B, Sun K X, Sun X W, Feng H. Diversity and stability of peanut kernel quality in different ecological regions of Shandong province. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2008 16(5): 1138-1142
- [11] Jakoby M, Weisshaar B, Dröge-Laser W, Vicente-Carbajosa J, Tiedemann J, Kroj T, Parcy F. bZIP transcription factors in *Arabidopsis*. Trends in Plant Science, 2002, 7(3): 106-111
- [12] Nijhawan A, Jain M, Tyagi A K, Khurana J P. Genomic survey and gene expression analysis of the basic Leucine Zipper transcription factor family in rice. Plant Physiology, 2008, 146(2): 333-350
- [13] Wei K, Chen J, Wang Y, Chen Y, Chen S, Lin Y, Pan S, Zhong X, Xie D. Genome-wide analysis of bZIP-encoding genes in maize. DNA Research, 2012, 19(6): 463-476
- [14] Liao Y, Zou H F, Wei W, Hao Y J, Tian A G, Huang J, Liu Y F, Zhang J S, Chen S Y. Soybean *gmbZIP44*, *gmbZIP62* and *gmbZIP78* genes function as negative regulator of ABA signaling and confer salt and freezing tolerance in transgenic *Arabidopsis*. Planta, 2008, 228(2): 225-240
- [15] 张彦楠, 蔡大润, 黄先忠. 亚洲棉 bZIP 蛋白家族的鉴定及 *GaFDs* 基因的组织表达分析. 作物学报, 2016, 42(6): 832-843
Zhang Y N, Cai D R, Huang X Z. Identification of bZIP protein family in *Gossypium arboreum* and tissue expression analysis of *GaFDs* genes. Acta Agronomica Sinica, 2016, 42(6): 832-843
- [16] 张宏静. 葡萄 bZIP 基因家族的生物信息学及其表达分析. 杨凌: 西北农林科技大学, 2014
Zhang H J. Bioinformatic and expression analysis of the basic leucine zipper gene family in Grape. Yangling: Northwest A&F University, 2014
- [17] 刘宝玲, 张莉, 孙岩, 薛金爱, 高昌勇, 苑丽霞, 王计平, 贾小云, 李润植. 谷子 bZIP 转录因子的全基因组鉴定及其在干旱和盐胁迫下的表达分析. 植物学报, 2016, 51(4): 473-487
Liu B L, Zhang L, Sun Y, Xue J A, Gao C Y, Yuan L X, Wang J P, Jia X Y, Li R Z. Genome-wide characterization of bZIP transcription factors in foxtail millet and their expression profiles in response to drought and salt stresses. Journal of Integrative, 2016, 51(4): 473-487
- [18] Li Y Y, Meng D, Li M J, Cheng L L. Genome-wide identification and expression analysis of the bZIP gene family in apple (*Malus domestica*). Tree Genetics & Genomes, 2016, 12(4): 82
- [19] 杨颖, 高世庆, 唐益苗, 冶晓芳, 王永波, 刘美英, 赵昌平. 植物 bZIP 转录因子的研究进展. 麦类作物学报, 2009, 29(4): 730-737
Yang Y, Gao S Q, Tang Y M, Ye X F, Wang Y B, Liu M Y, Zhao C P. Advance of bZIP transcription factors in plants. Journal of Triticeae Crops, 2009, 29(4): 730-737
- [20] 张计育, 渠慎春, 郭忠仁, 杜小丽, 都贝贝, 章镇. 植物 bZIP 转录因子的生物学功能. 西北植物学报, 2011, 31(5): 1066-1075
Zhang J Y, Qu S C, Guo Z R, Du X L, Du B B, Zhang Z. Biology function of bZIP transcription factors in plants. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2011, 31(5): 1066-1075
- [21] Kang J Y, Choi H I, Kim S Y, Im M Y. *Arabidopsis* basic leucine zipper proteins that mediate stress responsive abscisic acid signaling. Plant Cell, 2002, 14: 343-357
- [22] 雷婷婷. 大豆 bZIP 转录因子 *GmbZIP-32* 的克隆与功能鉴

- 定. 长春: 吉林大学, 2013
- Lei T T. Isolation and characterization of bZIP transcription factor, *GmbZIP-22*, from Soybean (*Glycine max* L.). Changchun: Jilin University, 2013
- [23] Zhu M K, Meng X Q, Cai J, Li G, Dong T T, Li Z Y. Basic leucine zipper transcription factor *SlbZIP1* mediates salt and drought stress tolerance in tomato. *BMC Plant Biology*, 2018, 18: 83
- [24] Zong W, Tang N, Yang J, Peng L, Ma S, Xu Y, Li G, Xiong L. Feedback regulation of ABA signaling and biosynthesis by a bZIP transcription factor targets drought-resistance-related genes. *Plant Physiology*, 2016, 171 (4): 2810-2825
- [25] Pandey A S, Sharma E, Jain N, Singh B, Burman N, Khurana J P. A rice bZIP transcription factor, *OsbZIP16*, regulates abiotic stress tolerance when over-expressed in *Arabidopsis*. *Journal of Plant Biochemistry & Biotechnology*, 2018, 27 (4): 393-400
- [26] Lim C W, Baek W, Lee S C. Roles of pepper bZIP protein CaDILZ1 and its interacting partner RING-type E3 ligase CaDSR1 in modulation of drought tolerance. *Plant Journal*, 2018, 96 (2): 452-467
- [27] Bertioli D J, Cannon S B, Froenicke L, Huang G, Farmer A D, Cannon E K, Liu X, Gao D, Clevenger J, Dash S, Ren L, Oretzsohn M C, Shirasawa K, Huang W, Vidigal B, Abernathy B, Chu Y, Niederhuth C E, Umale P, Araújo A C, Kozik A, Kim K D, Burow M D, Varshney R K, Wang X, Zhang X, Barkley N, Guimarães P M, Isobe S, Guo B, Liao B, Stalker H T, Schmitz R J, Scheffler B E, Leal-Bertioli S C, Xun X, Jackson S A, Michelmore R, Ozias-Akins P. The genome sequences of *Arachis duranensis* and *Arachis ipaensis*, the diploid ancestors of cultivated peanut. *Nature genetics*, 2016, 48 (4): 438-46
- [28] Chen X, Li H, Pandey M K, Yang Q, Wang X, Garg V, Li H, Chi X, Doddamani D, Hong Y, Upadhyaya H, Guo H, Khan A W, Zhu F, Zhang X, Pan L, Pierce G J, Zhou G, Krishnamohan K A, Chen M, Zhong N, Agarwal G, Li S, Chitikineni A, Zhang G Q, Sharma S, Chen N, Liu H, Janila P, Li S, Wang M, Wang T, Sun J, Li X, Li C, Wang M, Yu L, Wen S, Singh S, Yang Z, Zhao J, Zhang C, Yu Y, Bi J, Zhang X, Liu Z J, Paterson A H, Wang S, Liang X, Varshney R K, Yu S. Draft genome of the peanut A-genome progenitor (*Arachis duranensis*) provides insights into geocarpy, oil biosynthesis, and allergens. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2016, 113 (24): 6785-6790
- [29] Finn R D, Clements J, Eddy S R. HMMER web server: interactive sequence similarity searching. *Nucleic Acids Research*, 2011, 39: 29-37
- [30] Kumar S, Stecher G, Tamura K. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 2016, 33: 1870-1874
- [31] Crooks G E, Hon G, Chandonia J M, Brenner S E. Web Logo: a sequence logo generator. *Genome Research*, 2004, 14 (6): 1188-1190
- [32] Gasteiger E, Gattiker A, Hoogland C, Ivanyi I, Appel R D, Bairoch A. ExPASy: The proteomics server for in-depth protein knowledge and analysis. *Nucleic Acids Research*, 2003, 31 (13): 3784-3788
- [33] Kobayashi F, Maeta E, Terashima A, Takumi S. Positive role of a wheat HvABI5 ortholog in abiotic stress response of seedlings. *Physiologia Plantarum*, 2008, 134: 74-86
- [34] Yáñez M, Cáceres S, Orellana S, Bastías A, Verdugo I, Ruiz-Lara S, Casaretto J A. An abiotic stress responsive bZIP transcription factor from wild and cultivated tomatoes regulates stress-related genes. *Plant Cell Reports*, 2009, 28: 1497-1507
- [35] Wang J, Zhou J, Zhang B, Vanitha J, Ramachandran S, Jiang S Y. Genome-wide expansion and expression divergence of the basic leucine zipper transcription factors in higher plants with an emphasis on sorghum. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2011, 53: 212-231
- [36] 王志新. 蛋白质结构预测的现状与展望. *生命的化学*, 1998, 18 (6): 19-22
- Wang Z X. Present situation and prospect of protein structure prediction. *Chemistry of Life*, 1998, 18 (6): 19-22
- [37] Sarikaya B O, Bayram Ö S, Valerius O, Park H S, Irniger S, Gerke J, Ni M, Han K H, Yu J H, Braus G H. LaeA control of velvet family regulatory proteins for light-dependent development and fungal cell-type specificity. *PLoS Genetics*, 2010, 6 (12): e1001226
- [38] Jakoby M, Weisshaar B, Dröge-Laser W, Vicente-Carbajosa J, Tiedemann J, Kroj T, Parcy F. Cloning and characterization of a maize bZIP transcription factor, *ZmbZIP72*, confers drought and salt tolerance in transgenic *Arabidopsis*. *Planta*, 2012, 235: 253-266
- [39] Hsieh W P, Hsieh H L, Wu S H. *Arabidopsis bZIP16* transcription factor integrates light and hormone signaling pathways to regulate early seedling development. *Plant Cell*, 2012, 24 (10): 3997-4011
- [40] Lee S C, Choi H W, Hwang I S, Choi D S, Hwang B K. Functional roles of the pepper pathogen-induced bZIP transcription factor, *CABZIP1*, in enhanced resistance to pathogen infection and environmental stresses. *Planta*, 2006, 224: 1209-1225
- [41] Wang B, Zheng J, Liu Y, Wang J, Wang G. Cloning and characterization of the stress-induced bZIP gene *ZmbZIP60* from maize. *Molecular Biology Reports*, 2012, 39: 6319-6327
- [42] Liu C, Mao B G, Ou S J, Wang W, Liu L, Wu Y, Chu C, Wang X. *OsbZIP71*, a bZIP transcription factor, confers salinity and drought tolerance in rice. *Plant Molecular Biology*, 2014, 84 (1-2): 19-36
- [43] Huang C, Zhou J, Jie Y, Xing H, Zhong Y, Yu W, She W, Ma Y, Liu Z, Zhang Y. A Ramie bZIP transcription factor *BnbZIP2* is involved in drought, salt, and heavy metal stress response. *Dna & Cell Biology*, 2016, 35 (12): 776-786
- [44] Miao Z H, Liu X J, Lam E. TGA3 is a distinct member of the TGA family of bZIP transcription factors in *Arabidopsis thaliana*. *Molecular Biology Reports*, 1994, 25 (1): 1-11
- [45] Zander M, La Camera S, Lamotte O. *Arabidopsis thaliana* class-II TGA transcription factors are essential activators of jasmonic acid/ethylene-induced defense responses. *Plant Journal*, 2010, 61 (2): 200-210