

荆芥 HD-Zip 基因家族的全基因组鉴定及分析

周佩娜^{1,2}, 党静洁^{1,2}, 邵永芳^{1,2}, 石遵睿^{1,2}, 张琳^{1,2}, 刘潺潺^{1,2}, 吴啟南^{1,2,3}

(1. 南京中医药大学药学院, 江苏南京 210023; 2. 南京中医药大学江苏省中药资源产业化过程协同创新中心, 江苏南京 210023; 3. 南京中医药大学中药资源产业化与方剂创新药物国家地方联合工程研究中心, 江苏南京 210023)

摘要: 【目的】鉴定荆芥 *Schizonepeta tenuifolia* 的 HD-Zip 基因家族, 利用生物信息学方法分析其在全基因组中的分布和相关特征以及在不同时期中的表达规律, 为该家族基因的进一步研究奠定基础。【方法】根据已经表征的 HD-Zip 基因, 筛选荆芥基因组内的 HD-Zip 基因序列, 利用 MEME、PlantCARE、NCBI、MEGA X、MCScanX、Circos 等在线网站及软件对蛋白序列进行基本理化性质分析、进化树构建、染色体定位、基因结构分析、共线性基因分析等。【结果】在荆芥全基因组中共鉴定到 42 条 HD-Zip 基因序列, 它们可被分为 4 个亚家族, 分别含有 16、7、5、14 个基因, 亚家族之间的基因长度、结构及保守基序差异显著, 但在亚家族内部保守, 荆芥基因组与拟南芥 *Arabidopsis thaliana* 基因组共线性分析发现有 37 对基因, 可能具有相似的生物学功能。荆芥的 4 个亚家族基因的顺式元件中均高频出现了光响应、脱落酸响应、MeJA 响应等元件, 在不同生长时期的叶片及部位的转录组数据中具有不同的表达趋势, I 亚家族主要在幼叶中表达, II 和 III 亚家族主要在根中表达, IV 亚家族主要在叶中表达。【结论】在荆芥基因组中共获得 42 条 HD-Zip 基因序列, 被分为 4 个亚家族 (HD-Zip I~IV), 亚家族内部高度保守, 亚家族之间差异显著, 其基因结构、保守结构域及表达模式不同。亚家族 I 和 II, 亚家族 III 和 IV 亲缘关系更近, HD-Zip 基因具有组织表达差异性, 协同调控了荆芥的生长发育和次生代谢。图 9 表 1 参 25

关键词: 荆芥; HD-Zip 基因家族; 表达分析; 系统进化

中图分类号: Q781; S567 文献标志码: A 文章编号: 2095-0756(2023)01-0012-10

Genome-wide identification and expression analysis of HD-Zip gene family in *Schizonepeta tenuifolia*

ZHOU Peina^{1,2}, DANG Jingjie^{1,2}, SHAO Yongfang^{1,2}, SHI Zunrui^{1,2}, ZHANG Lin^{1,2},
LIU Chanchan^{1,2}, WU Qinan^{1,2,3}

(1. College of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, Jiangsu, China; 2. Collaborative Innovation Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, Jiangsu, China; 3. National and Local Collaborative Engineering Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization and Formulae Innovative Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, Jiangsu, China)

Abstract: [Objective] This study, with the identification of the HD-Zip gene family in *Schizonepeta tenuifolia* and an bioinformatic analysis of its distribution and related characteristics in the whole genome and expression pattern in different stages, is aimed to provide a basis for further study of this gene family. [Method] Genes in

收稿日期: 2022-06-13; 修回日期: 2022-11-21

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81973435); 国家自然科学基金青年科学基金项目 (81903756); 江苏省研究生科研与实践创新计划项目 (KYCX21_1759, KYCX22_2031)

作者简介: 周佩娜 (ORCID: 0000-0002-5475-3863), 博士研究生, 从事中药资源品质评价研究。E-mail: 20203098@njucm.edu.cn. 通信作者: 吴啟南 (ORCID: 0000-0001-9730-8279), 教授, 从事中药资源生产与品质评价研究。E-mail: wuqn@njucm.edu.cn

the genome were first screened in accordance with the characterized HD-Zip genes before MEME, Plant CARE, NCBI, MEGA X, MCSanX and Circos were used for the analysis of the basic properties of protein sequences, the construction of Maximum Likelihood (ML) tree, mapping of chromosomes and the analysis of gene structure and colinear gene respectively. [Result] (1) A total of 42 HD-Zip genes were identified and they could be divided into four subgroups(I –IV), containing 16, 7, 5, 14 genes respectively. (2) The gene length, structure and Motif of the subgroups varied significantly from each though relatively reserved with in each of them. (3) The collinear analysis of the genome of *S. tenuifolia* and *Arabidopsis thaliana* showed that 37 pairs of genes may have similar biological functions with light response, abscisic acid response and MeJA response found in cis-elements of 4 subfamily genes promoters of *S. tenuifolia*, showing different expression profiles in the transcriptome data of different growth stages of leaves and different parts. (4) The HD-Zip I was mainly expressed in young leaves, HD-Zip II and III were mainly expressed in roots whereas HD-Zip IV was mainly expressed in leaves. [Conclusion] The total 42 HD-Zip genes obtained from *S. tenuifolia* genome were divided into 4 subgroups (I –IV) with highly conserved genes and significant differences among subgroups with their gene structure, motif, and expression pattern being different. HD-Zip I and II, and HD-Zip III and IV are more closely related to each other with HD-Zip genes expressed specifically indifferent tissues and synergistically regulating the growth, development and secondary metabolism of *S. tenuifolia*. The results of this study provide a bioinformatic reference for the further study of this family's biological functions. [Ch, 9 fig. 1 tab. 25 ref.]

Key words: *Schizonepeta tenuifolia*; HD-Zip gene family; expression analysis; system evolution

中药荆芥是唇形科 Labiatae 植物荆芥 *Schizonepeta tenuifolia* 干燥后的地上部分, 有解表祛风、透疹止血等功效^[1]。荆芥的挥发油、黄酮等活性成分被广泛用于医药、食品和化工等领域^[2-3]。

HD-Zip (Homeodomain-leucine zipper protein) 基因家族是植物界一类特有的转录因子, 在植物的生长发育、适应环境及胁迫应答等方面起到重要作用。HD (Homeodomain) 蛋白是由 *Homeobox (HB)* 基因编码的高度保守的蛋白质结构域, 由 60 个氨基酸组成。该蛋白中存在 1 个特征性的三螺旋结构, 可以特异结合 DNA 序列, 以此对基因进行调控^[4-5]。此外, HD-Zip 基因家族还有 1 个亮氨酸拉链保守结构域 (leucine zipper-loop-zipper, LZ), 这是蛋白形成二聚体所必需的结构。根据蛋白的序列保守性、蛋白功能、基因结构等, 将该家族分为 4 个亚家族: HD-Zip I~IV^[6]。I 亚家族主要参与非生物胁迫及环境适应性; II 亚家族主要与生长素响应相关; III 亚家族主要参与不同的发育事件, 例如顶端分生组织、维管束的发育, 还与植物激素调控相关; IV 亚家族主要在植物的表皮中特异性表达, 主要调节表皮的分化、毛状体形成等^[7]。

目前, HD-Zip 基因家族在多种植物中被鉴定并表征, 例如拟南芥 *Arabidopsis thaliana*^[8]、水稻 *Oryza sativa*^[9]、小麦 *Triticum aestivum*^[10] 等, 但尚未有荆芥 HD-Zip 基因家族的相关研究。本研究以荆芥的基因组作为基础, 利用生物信息学方法系统鉴定荆芥 HD-Zip 基因家族成员, 并对其蛋白质理化性质、染色体定位、基因结构、共线性分析以及不同时期的表达规律进行分析, 为今后深入研究荆芥基因家族的功能和调控机制奠定基础。

1 材料与方法

1.1 荆芥 HD-Zip 基因家族序列的获得

基于已知的 HD-Zip 基因家族的保守结构域, 在荆芥基因组数据中进行初步筛选, 利用 TBtools (v1.98741) 的 “Blast Compare Two Seqs”, 下载的蛋白序列为 Query Seq, 荆芥基因组的蛋白序列为 Subject Seq, 设置 E-value 为 10^{-10} 进行比对^[11]。根据 HD-Zip 基因家族在美国国家生物技术信息中心 (NCBI) 中的比对结果, 得到目的基因编码蛋白的保守结构域, 使用 “Visualize NCBI CDD Domain Pattern” 进行保守结构域的可视化。利用在线网站 ExPASy (<https://www.expasy.org/>) 对蛋白序列的基本理化性质, 如氨基酸数目、等电点和分子质量等进行预测。

1.2 系统进化树构建

在NCBI在线网站上下载已被表征的HD-Zip基因家族的蛋白序列。将经过筛选的荆芥HD-Zip蛋白序列与下载的蛋白序列利用MEGA X进行最大似然(ML)进化树的构建。选择最优氨基酸替代模型,根据氨基酸模型结果构建ML树,设置bootstrap为1000, partial deletion为80%。利用在线网站iTOL(<https://itol.embl.de/#>)对进化树进行美化。

1.3 基因结构和 motif 分析

在荆芥基因组中搜索HD-Zip基因在染色体上的具体位置和每条染色体的总长度,利用TBtools中的“Visualize Gene Structure (Basic)”功能,对筛选的基因ID进行基因结构的可视化。利用在线网站MEME(<https://meme-suite.org/meme/tools/meme>)对筛选的荆芥HD-Zip基因编码的蛋白序列进行蛋白保守基序预测,设置基序数量为10个,选择“Zero or One Occurrence Per Sequence (zoops)”分布基序。采用TBtools中的“Visualize MEME/MSAT Motif Pattern”进行保守基序的可视化处理。

1.4 染色体定位、顺式作用元件及共线性分析

利用TBtools的“Gene Location Visualize from GTF/GFF”进行基因在染色体分布的可视化。将筛选的基因序列利用TBtools中的“Gene Location Visualize from GTF/GFF”功能进行染色体定位分析;提取荆芥HD-Zip基因序列的启动子部分(5'UTR上游2000 bp),利用PlantCARE在线网站(<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>)预测顺式元件并整理结果,再利用TBtools中的“Gene Structure View (Advanced)”对其进行可视化处理。使用MCScanX软件进行基因组内荆芥HD-Zip基因的共线性分析以及与拟南芥基因组间的共线性分析,并利用Circos软件绘制基因组内和基因组之间的共线性图谱。

1.5 荆芥 HD-Zip 基因家族的表达模式分析

根据HD-Zip基因ID于不同时期荆芥叶片(10、20、35 d)及根(35 d)的转录组数据中进行搜索,得到基因的FPKM (fragments per kilobase per million)值,利用TBtools的“HeatMap”绘制基因表达热图,探究HD-Zip基因家族的表达模式。

2 结果与分析

2.1 荆芥 HD-Zip 基因家族鉴定

荆芥基因组大小为798 Mb, Q20(碱基被测错的概率为1%)为94.67%, Q30(碱基被测错的概率为1%)为89.41%,说明测序质量较好(Q20 $\geq$ 93%、Q30 $\geq$ 86%), GC含量为39.34%,经过Hi-C组装后,共有696 Mb的基因组序列被定位到6条染色体上(Chr 01~06),占比91.38%。以上数据说明荆芥的基因组质量较好,有助于完整地挖掘HD-Zip基因家族。为了鉴定荆芥中HD-Zip基因,根据4个亚家族HD-Zip I、II、III、IV的蛋白保守结构域进行筛选,共筛选到42条可能的HD-Zip基因家族序列,其中HD-Zip I亚家族16条,HD-Zip II亚家族7条,HD-Zip III亚家族5条,HD-Zip IV亚家族14条,并通在线网站ExPasy网站进行蛋白分子量和等电点的预测(表1)。其中40条基因全部定位到对应染色体(Chr 01~06), Sch000029960和Sch000004651未锚定在染色体上(图1)。荆芥HD-Zip基因仅在2~4号染色体上集中分布,说明该基因家族在染色体上分布不均匀。荆芥HD-Zip的基因长度为528~2586 bp;分子量为20.33~94.18 kDa;等电点为4.59~9.05。因此,HD-Zip的基因和蛋白长度跨度较大,HD-Zip III和IV的基因长度约2000 bp,HD-Zip I和II在1000 bp以下,该结果与分子量具有相关性,而等电点主要取决于氨基酸中酸性氨基酸和碱性氨基酸的数量比,大多数蛋白(76.2%)等电点小于7.0,证明荆芥HD-Zip可能是一类酸性蛋白。

2.2 荆芥 HD-Zip 基因家族的系统进化树分析

将以上42条蛋白序列与已知的HD-Zip蛋白序列进行ML树的构建(图2),可知:荆芥的HD-Zip和拟南芥及其他物种HD-Zip的蛋白序列被聚为四大支,与已表征HD-Zip基因家族的4个亚家族分类一致,且在荆芥基因组中,每个亚家族基因的占比与拟南芥的HD-Zip I~IV之间的比例相似,其中HD-Zip I与IV占比最大,HD-Zip III占比最少。从进化树中可以发现:HD-Zip III先与IV聚为一支,再与HD-Zip I和II聚为一支,说明HD-Zip III可能与IV的亲缘关系更近。

表 1 荆芥 HD-Zip 基因家族的蛋白特征

Table 1 Protein characteristics of HD-Zip gene family in <i>S. tenuifolia</i>														
亚家族	基因ID	CDS长 度/bp	蛋白长 度/个	分子量/ kDa	等电点	染色体	亚家族	基因ID	CDS长 度/bp	蛋白长 度/个	分子量/ kDa	等电点	染色体	
HD-Zip I	Sch000003181	900	299	33.847	4.88	Chr 01	HD-Zip III	Sch000003831	528	175	20.331	8.58	Chr 01	
	Sch000016777	897	298	34.379	6.55	Chr 04		Sch000001735	2562	853	93.306	5.74	Chr 01	
	Sch000019486	822	273	31.100	4.59	Chr 04		Sch000019857	2511	836	91.461	5.94	Chr 04	
	Sch000026498	927	308	35.350	5.01	Chr 06		Sch000014693	2493	830	91.021	5.84	Chr 03	
	Sch000008725	822	273	31.034	4.83	Chr 02		Sch000026324	2586	861	94.183	6.14	Chr 06	
	Sch000005997	912	303	34.369	4.97	Chr 02		Sch000028231	2529	842	92.434	6.17	Chr 06	
	Sch000020328	966	321	35.730	4.81	Chr 04		HD-Zip IV	Sch000026062	2166	721	79.071	5.98	Chr 06
	Sch000016424	867	288	32.633	6.32	Chr 04			Sch000008059	2163	720	79.056	6.23	Chr 02
	Sch000017902	879	292	33.207	6.07	Chr 04	Sch000029960		2181	726	79.526	5.64	HiC_scaffold_8	
	Sch000002474	876	291	32.531	5.7	Chr 01	Sch000011892		2418	805	87.913	5.79	Chr 03	
	Sch000008983	696	231	26.832	6.32	Chr 02	Sch000009216		2196	731	79.888	5.79	Chr 02	
	Sch000006831	693	230	26.615	6.96	Chr 02	Sch000019506		2400	799	87.073	6.04	Chr 04	
	Sch000019278	600	199	22.673	8.44	Chr 04	Sch000012322		2490	829	91.502	5.41	Chr 03	
	Sch000021651	546	181	21.788	5.84	Chr 05	Sch000012213		2490	829	91.502	5.41	Chr 03	
	Sch000013738	654	217	24.934	7.59	Chr 03	Sch000004651	2490	829	91.502	5.41	HiC_scaffold_100		
	Sch000016710	621	206	24.472	5.44	Chr 04	Sch000018911	2070	689	77.061	6.28	Chr 04		
HD-Zip II	Sch000028530	891	296	327.360	7.52	Chr 06	Sch000005323	1944	647	73.264	7.27	Chr 02		
	Sch000010966	879	292	32.623	7.62	Chr 03	Sch000022402	2307	768	84.180	5.81	Chr 05		
	Sch000019272	795	264	294.950	8.59	Chr 04	Sch000024046	2274	757	84.279	6.15	Chr 06		
	Sch000008316	783	260	29.093	8.12	Chr 02	Sch000008675	1884	627	69.905	6.18	Chr 02		
	Sch000025447	879	292	32.351	9.05	Chr 06								
	Sch000011951	645	214	24.334	8.24	Chr 03								

说明：CDS指蛋白编码区

2.3 荆芥 HD-Zip 基因结构分析

利用 TBtools 软件绘制荆芥 HD-Zip 基因结构图，分析基因内含子和外显子的分布情况。图 3 显示：HD-Zip I 与 II 的基因长度较为相近，内含子 1~3 个 (实线)，外显子 2~4 个 (黄色标识)，基因结构比较简单。HD-Zip III 与 IV 基因长度较为接近，内含子 8~17 个，外显子 9~17，其中 HD-Zip III 的内含子和外显

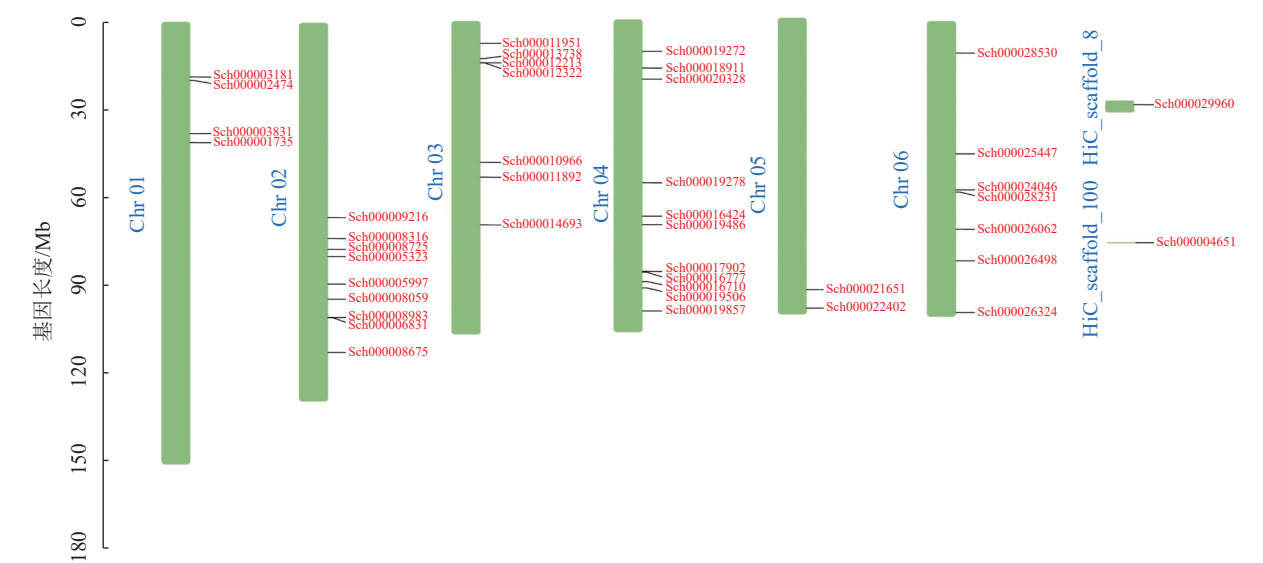


图 1 荆芥 HD-Zip 基因家族的染色体定位

Figure 1 Chromosome mapping of HD-Zip gene family in *S. tenuifolia*

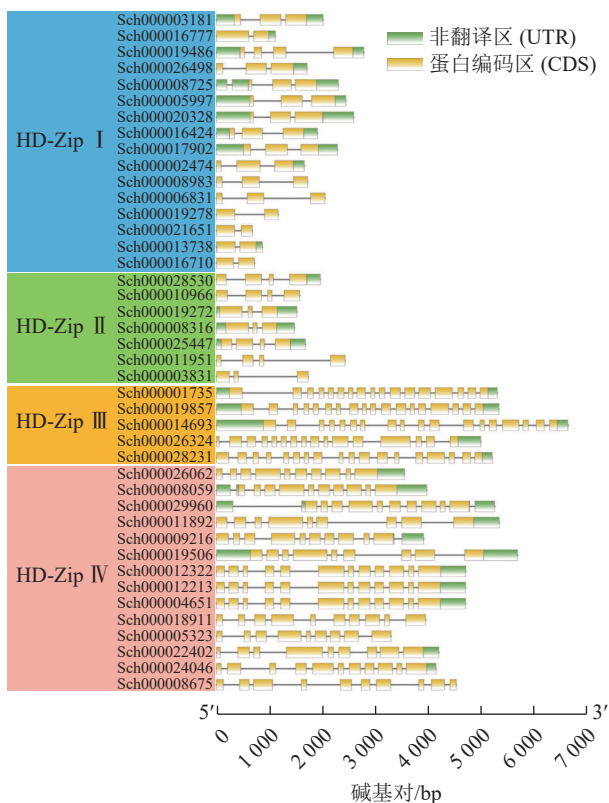


图 3 荆芥 HD-Zip 基因家族的基因结构分析

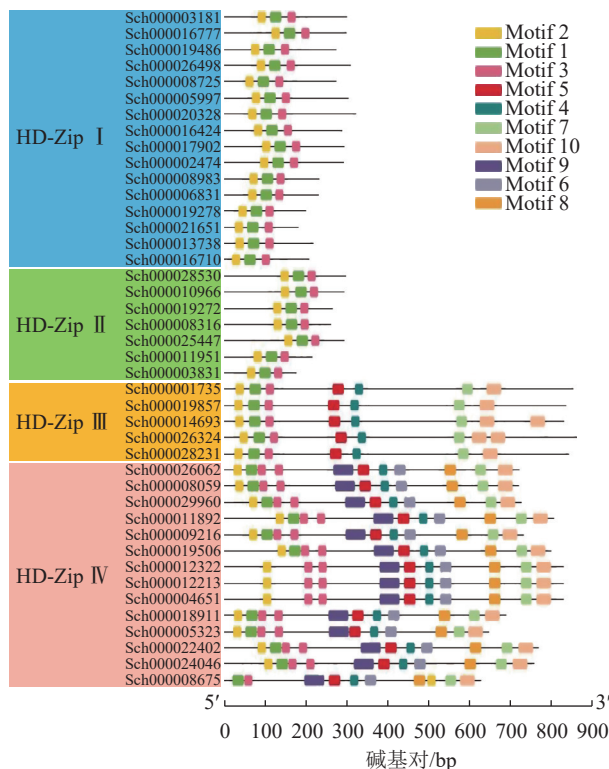
Figure 3 Gene structure analysis of HD-Zip gene family in *S. tenuifolia*

图 4 荆芥 HD-Zip 基因家族的保守基序分析

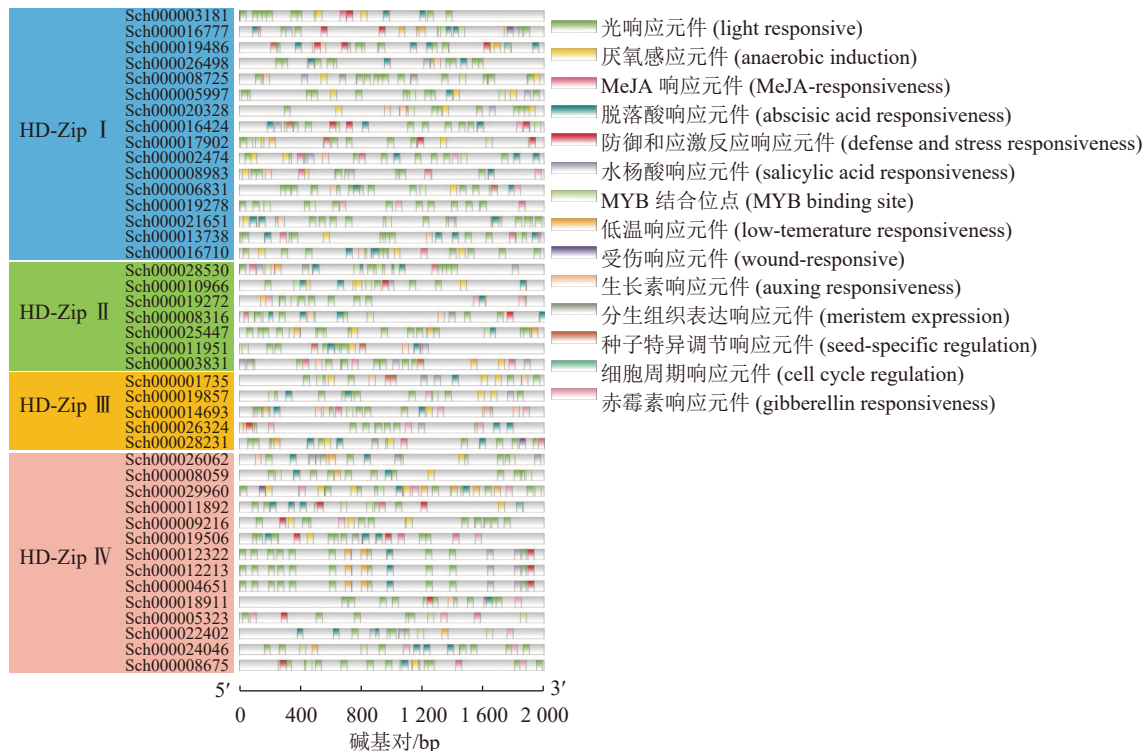
Figure 4 Conservative motif analysis of HD-Zip gene family in *S. tenuifolia*

图 5 荆芥 HD-Zip 基因家族的顺式作用元件分布

Figure 5 Distribution of cis-acting elements of HD-Zip gene family in *S. tenuifolia*

头状腺毛和腺鳞，35 d 幼苗的叶子和茎具有丰富的腺鳞。因此，对荆芥不同生长时期叶片 (10、20、35 d) 及根 (35 d) 进行转录组分析，发现 HD-Zip I 主要在幼叶 10 d 中表达，HD-Zip II 和 III 主要在根中表达，HD-Zip IV 亚家族主要在叶中表达 (图 9)。研究发现：HD-Zip IV 基因主要调节表皮的分化^[12]，结合荆芥

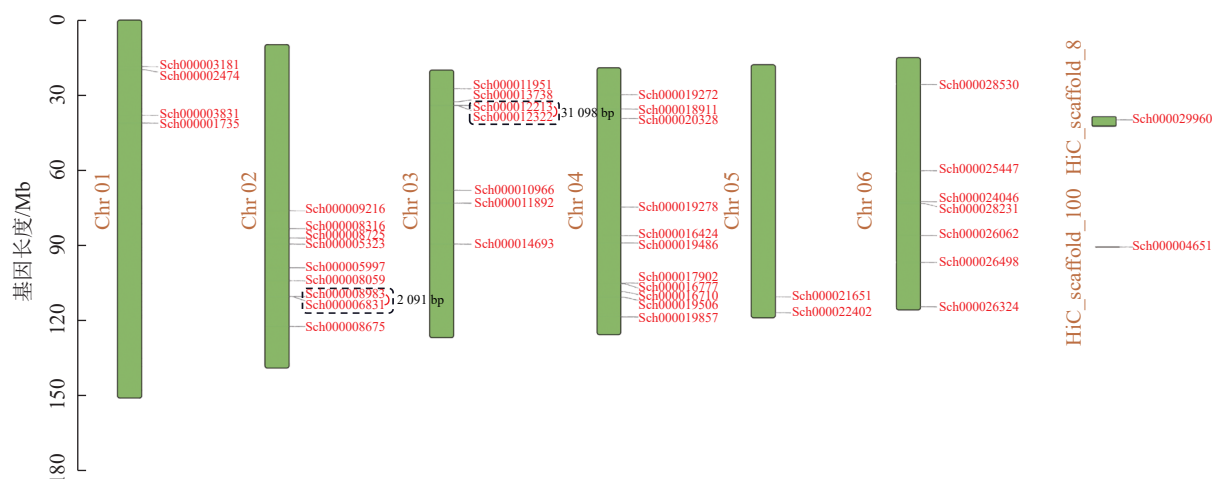


图 6 荆芥 HD-Zip 基因家族的组内串联重复分析

Figure 6 Tandem repeat analysis of HD-Zip gene family in genome of *S. tenuifolia*

图 7 荆芥 HD-Zip 基因家族的组内共线性分析

Figure 7 Intra-group collinearity analysis of HD-Zip gene family in *S. tenuifolia*

腺毛的分布情况，推测荆芥的 HD-Zip IV 与荆芥腺毛和非腺毛的形成与分化相关。

3 讨论

本研究从全基因组水平对荆芥的 HD-Zip 基因家族进行了系统的研究，共鉴定到 42 个 HD-Zip 家族的基因，根据识别的 DNA 序列、结构域、蛋白功能，可将这些序列分为 4 个亚家族，分别为 HD-Zip

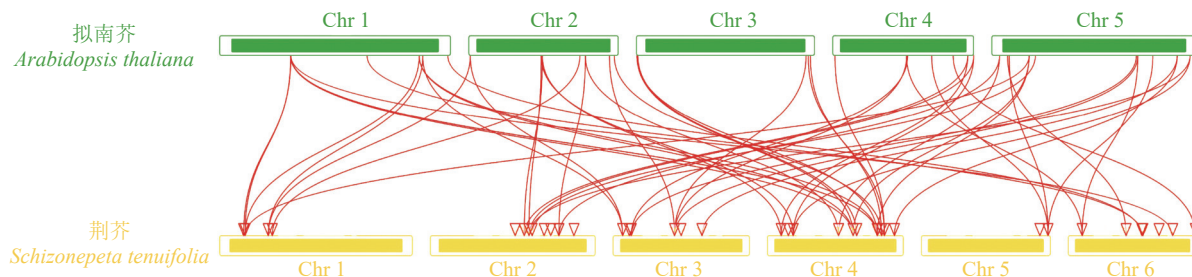


图 8 荆芥 HD-Zip 与拟南芥基因组之间的共线性分析

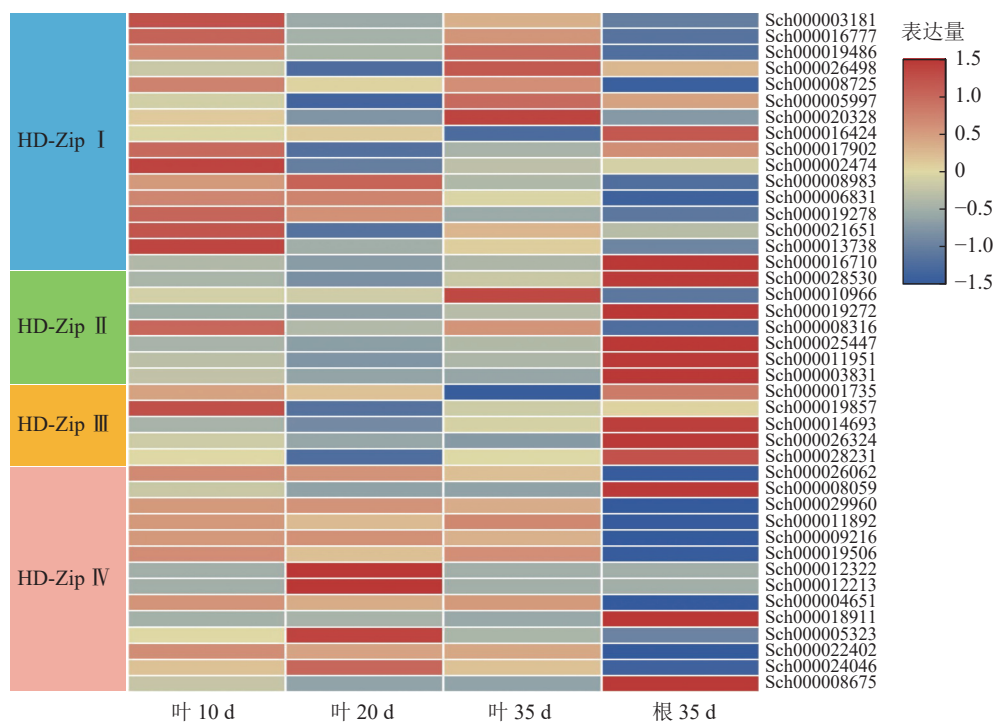
Figure 8 Collinear analysis of HD-Zip gene between *S. tenuifolia* and *A. thaliana* genomes

图 9 HD-Zip 家族基因表达模式

Figure 9 HD-Zip family gene expression pattern

I~IV, 这与拟南芥、小麦、水稻、玉米 *Zea mays*、土豆 *Solanum tuberosum*、烟草 *Nicotiana tabacum* 等中的分类一致^[7-9, 13-15]。HD-Zip I 只含有高保守的 HD 结构域和位于 HD 结构域羧基端的 LZ 结构域；HD-Zip II 除了 HD-Zip I 具有的 HD 和 LZ 保守结构域外, 还存在 1 个高度保守的 N-末端；HD-Zip III 具有 HD 和 LZ 保守结构域, 以及类固醇合成急性调节蛋白相关的脂质转运结构域 (START) 和氨基酸序列羧基端的 MEKHLA 基序, 其中 START 结构域的长度为 220 个氨基酸且可以结合并转移脂质, MEKHLA 基序与许多非生物胁迫应答相关^[16-17]；HD-Zip IV 结构与 HD-Zip III 非常相似, 具有 HD、LZ、START 结构域, 但缺失了 MEKHLA 基序^[18]。荆芥的 HD-Zip I 和 IV 亚家族的基因所占比例最高, 这与拟南芥 HD-Zip I 和 IV 的比例相似。基因的进化树结果显示: HD-Zip I 与 II 亲缘关系更近, HD-Zip III 与 IV 亲缘关系更近, 由此可以推测以上 2 个分支可能是由相同的祖先进化而来, 或者 IV 是由 III 进化来, 但在分化过程中丢失了 MEKHLA 基序^[19]。结合基因的结构来看, HD-Zip III 和 IV 的结构比 HD-Zip I 与 II 的结构更为复杂, 以上结果说明可能 HD-Zip III 与 IV 相比于 HD-Zip I 和 II 进化程度更高, 基因结构更为复杂, 以上结果与保守结构域分析和进化树的分析结果一致。这说明 HD-Zip 家族在物种的亚群内部较为保守, 但其具体的基因功能可能会由于基因复制或者进化, 以及物种间的差异性从而出现一定的差异。

分析启动子发现: 在每个亚族内部的基因启动子区顺式作用元件类型基本相同, 例如 MYB 结合位点、脱落酸响应元件以及 MeJA 响应元件在 HD-Zip IV 高频出现。同时, 同一亚族基因编码蛋白的保守基序也基本相同, HD-Zip I~IV 的表达分析发现: HD-Zip I~IV 具有不同的表达偏好性, 说明荆芥中不

同 HD-Zip 家族不同亚家族可能具有不同的生物学功能,但同一亚族各基因的生物学功能基本相同。

有研究表明:HD-Zip IV 在表皮中特异表达,参与植物表皮细胞的分化,调节毛状体(腺毛和非腺毛)等形成与发育。如烟草中的 NtHDG2,拟南芥的 PDF2,黄花蒿 *Artemisia annua* 的 AaHD1 和 AaHD8,番茄 *Solanum lycopersicum* 的 SICD2 和 SIWo 均对毛状体具有调控作用,属于 HD-Zip IV^[14, 20-22]。本研究中发现荆芥的 HD-Zip IV 亚家族基因大部分在叶片表达,推测可能这些基因与毛状体的发育相关。结合拟南芥与荆芥 HD-Zip 基因家族的共线性分析,可以推测荆芥 HD-Zip 基因家族的生物学功能。结合文献,发现 Sch000029960 与 AT4G21750.1 及 AT4G04890.2 为同源基因,AT4G21750.1 及 AT4G04890.2 分别编码拟南芥的 GL2-like 和 PDF2,与拟南芥的表皮发育密切相关。Sch000024046 与 AT1G79840.2 为同源基因,AT1G79840.2 编码 GL2,在拟南芥中影响表皮细胞的特性,包括毛状体、根毛发育等^[23]。在荆芥的叶、茎、花穗等多个部位表面分布着多种腺毛及非腺毛,其中,盾状腺毛即腺鳞被认为是荆芥产生挥发油的“品质载体”^[24-25],但是调控荆芥腺鳞生长发育的分子机制还未被报道,本研究中筛选的 HD-Zip IV 亚基因家族可能为腺鳞发育调控的候选基因。通过对候选基因功能的验证、共表达分析等为腺鳞生长发育分子机制的阐明提供线索,同时为提高荆芥药用品质提供理论基础。

4 结论

本研究在荆芥全基因水平上筛选到 42 条 HD-Zip 基因序列,并对以上序列的基因结构、保守基序、顺式作用元件等进行了分析。系统发育分析可将 42 条序列分为 4 个亚家族(HD-Zip I-IV)。通过与拟南芥基因组之间的共线性分析、表达模式分析等推测,荆芥的 HD-Zip IV 亚家族基因可能在毛状体发育过程中起到重要作用。这些结果为后续荆芥的 HD-Zip 基因家族的功能研究及表征提供了理论基础。

5 参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 243 - 244.
National Pharmacopoeia Board. *Chinese Pharmacopoeia* (Volume I) [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2020: 243 - 244.
- [2] LIU C, SRIVIDYA N, PARRISH A N, *et al.* Morphology of glandular trichomes of Japanese catnip (*Schizonepeta tenuifolia* Briquet) and developmental dynamics of their secretory activity [J]. *Phytochemistry*, 2018, **150**: 23 - 30.
- [3] 樊佳新, 王帅, 孟宪生, 等. HPLC 法测定不同产地荆芥中 6 种黄酮类成分[J]. 中草药, 2017, **48**(11): 2292 - 2295.
FAN Jiaxin, WANG Shuai, MENG Xiansheng, *et al.* Determination of six flavonoids in *Schizonepeta tenuifolia* from different areas by HPLC [J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2017, **48**(11): 2292 - 2295.
- [4] FEDERICO DA, PABLO A M, CARLOS A D, *et al.* The true story of the HD-Zip family [J]. *Trends in Plant Science*, 2007, **12**(9): 419 - 426.
- [5] 李媛. 大麦 HD-Zip 基因家族分析及功能研究[D]. 西宁: 青海大学, 2020.
LI Yuan. *Analysis and Functional Study of HD-Zip Gene Family in Barley* [D]. Xining: Qinghai University, 2020.
- [6] SESSA G, CARABELLUI M, POSSENTI M, *et al.* Multiple links between HD-Zip proteins and hormone networks[J/OL]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, **19**(12): 4047[2022-05-04]. doi: 10.3390/ijms19124047.
- [7] MIYUKI N, HIROSHI K, MITSUTOMO A, *et al.* Characterization of the class IV homeodomain-leucine zipper gene family in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiology*, 2006, **141**(4): 1363 - 1375.
- [8] BRANDT R, CABEDO M, XIE Y, *et al.* Homeodomain leucine-zipper proteins and their role in synchronizing growth and development with the environment [J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2014, **56**(6): 518 - 526.
- [9] LI Yuxia, YANG Zongran, ZHANG Yuanyuan, *et al.* The roles of HD-ZIP proteins in plant a biotic stress tolerance[J/OL]. *Frontiers in Plant Science*, 2022, **13**: 1027071[2022-05-04]. doi: 10.3389/fpls.2022.1027071.
- [10] YUE Hong, SHU Duntao, WANG Meng, *et al.* Genome-wide identification and expression analysis of the HD-Zip gene family in wheat (*Triticum aestivum* L.) [J/OL]. *Genes*, 2018, **9**(2): 70[2022-05-02]. doi: 10.3390/genes9020070.
- [11] 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.
- [12] MA Gang, ZELMAN A K, APICELLA P V, *et al.* Genome-wide identification and expression analysis of homeodomain

- leucine zipper subfamily IV(HD-Zip IV) gene family in *Cannabis sativa* L. [J/OL]. *Plants*. 2022, **11**(10): 1307[2022-05-02]. doi: 10.3390/plants11101307.
- [13] ZHAO Yang, ZHOU Yuqing, JIANG Haiyan, *et al.* Systematic analysis of sequences and expression patterns of drought-responsive members of the HD-Zip gene family in maize[J/OL]. *PLoS One*, 2011, **6**(12): e28488[2022-05-02]. doi: 10.1371/journal.pone.0028488.
- [14] WANG Zhong, WANG Shanshan, XIAO Yansong, *et al.* Functional characterization of a HD-Zip IV transcription factor *NtHDG2* in regulating flavonols biosynthesis in *Nicotiana tabacum* [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2020, **146**: 259 – 268.
- [15] WAN Li, DONG Jieya, CAO Minxuan, *et al.* Genome-wide identification and characterization of HD-Zip genes in potato [J]. *Genes*, 2019, **697**: 103 – 117.
- [16] SCHRICK K, NGUYEN D, KARLOWSKI W M, *et al.* START lipid/sterol-binding domains are amplified in plants and are predominantly associated with homeodomain transcription factors[J/OL]. *Genome Biology*, 2004, **5**: R41[2022-05-02]. doi: 10.1186/gb-2004-5-6-r41.
- [17] MUKHERIEE K, BURGLIN TR, MEKHLA, a novel domain with similarity to PAS domains, is fused to plant homeodomain-leucine zipper III proteins[J]. *Plant Physiology*, 2006, **140**(4): 1142 – 1150.
- [18] GUO Qing, JIANG Jiahui, YAO Wenjing, *et al.* Genome-wide analysis of poplar HD-Zip family and over-expression of *PsnHDZ63* confers salt tolerance in transgenic *Populus simonii* × *P. nigra*[J/OL]. *Plant Science*, 2021, **311**: 111021[2022-11-21]. doi: 10.1016/j.plantsci.2021.111021.
- [19] 邵晨冰, 黄志楠, 白雪滢, 等. 辣椒 HD-Zip 基因家族鉴定、系统进化及表达分析[J]. *中国农业科学*, 2020, **53**(5): 1004 – 1017.
- SHAO Chenbing, HUANG Zhinan, BAI Xueying, *et al.* Identification, systematic evolution and expression analysis of HD-Zip gene family in *Capsicum annuum* [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2020, **53**(5): 1004 – 1017.
- [20] NAOKO K, HITOMI O, YOSHIBUMI K, *et al.* Mutations in epidermis-specific HD-Zip IV genes affect floral organ identity in *Arabidopsis thaliana* [J]. *The Plant Journal*, 2013, **75**(3): 430 – 440.
- [21] CHALVIN C, DRE VENSK S, DRON M, *et al.* Genetic control of glandular trichome development [J]. *Trends in Plant Science*, 2020, **25**(5): 477 – 487.
- [22] YAN Tingxiang, CHEN M, SHEN Q, *et al.* HOMEODOMAIN PROTEIN 1 is required for jasmonate-mediated glandular trichome initiation in *Artemisia annua* [J]. *New Phytologist*, 2017, **213**(3): 1145 – 1155.
- [23] HULSKAMP M, MISRA S, JURGENS G. Genetic dissection of trichome cell development in *Arabidopsis* [J]. *Cell*, 1994, **76**(3): 555 – 566.
- [24] 蒋征, 王红, 吴啟南, 等. 荆芥穗药材腺鳞内含物定性及 3 种主要萜类的定量研究[J]. *中药材*, 2016, **39**(1): 31 – 36.
- JIANG Zheng, WANG Hong, WU Qi' nan, *et al.* Qualitative and quantitative analysis of major constituents of gland products in peltate glandular trichomes of *Schizonepetae Spica* [J]. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 2016, **39**(1): 31 – 36.
- [25] ZHOU Peina, DANG Jingjie, SHI Zunrui, *et al.* Identification and characterization of a novel gene involved in glandular trichome development in *Nepeta tenuifolia*[J/OL]. *Frontiers in Plant Science*, 2022, **13**: 936244[2022-05-02]. doi: 10.3389/fpls.2022.936244.