

闽楠 bZIP 基因家族鉴定和脱落酸处理下的表达分析

杨 勇, 张俊红, 韩 潇, 张毓婷, 杨 琪, 童再康

(浙江农林大学 林业与生物技术学院 省部共建亚热带森林培育国家重点实验室, 浙江 杭州 311300)

摘要: 【目的】对闽楠 *Phoebe bournei* bZIP (PbbZIP) 转录因子家族成员鉴定, 分析其对脱落酸 (ABA) 信号的响应水平。【方法】基于生物信息学方法, 对 PbbZIP 基因家族进行了全基因组鉴定, 分析其蛋白理化特性、基因结构、进化关系、启动子顺式作用元件和 ABA 处理下的表达分析。【结果】从闽楠 12 条染色体共鉴定出 63 个 PbbZIPs 基因, 分为 12 亚族, 不同亚族基因结构和基序差异显著, 但同亚族高度保守。PbbZIP 基因多数定位在细胞核, 其编码蛋白长度为 110~835 个氨基酸, 等电点为 4.48~11.95, 疏水性为 -1.19~-0.19。分布于 12 条染色体的 27 对 PbbZIPs 基因存在共线性关系, 是 PbbZIP 基因家族扩张的主要模式。PbbZIP 基因上游启动子区域存在多种与非生物胁迫相关的作用元件, 其中 ABA、水杨酸、茉莉酸甲酯的响应元件较多。基因表达分析结果表明: 2 mmol·L⁻¹ ABA 处理闽楠 1~72 h, 17 个 PbbZIPs 基因在叶和根中被 ABA 信号不同程度地诱导表达, 普遍上调, 且根基因表达水平普遍低于叶片。【结论】63 个 PbbZIPs 基因序列高度保守, 不同亚族间基因结构、染色体定位和保守基序有进化多样性和差异性; 叶和根中 PbbZIP 基因不同程度地响应 ABA 信号, 参与调控其他非生物过程。图 9 参 35

关键词: 闽楠; bZIP 家族; 系统进化; 脱落酸 (ABA); 表达分析

中图分类号: S722 文献标志码: A 文章编号: 2095-0756(2024)02-0275-11

Identification and expression analysis of bZIP gene family under ABA treatment in *Phoebe bournei*

YANG Yong, ZHANG Junhong, HAN Xiao, ZHANG Yuting, YANG Qi, TONG Zaikang

(State Key Laboratory of Subtropical Silviculture, College of Forestry and Biotechnology, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, Zhejiang, China)

Abstract: [Objective] This study is aimed to identify the bZIP transcription factor family members from *Phoebe bournei* and investigate the response levels of its members to abscisic acid (ABA) treatment. [Method] A bioinformatic method was employed to identify the PbbZIPs family throughout the whole genome and to analyze its physicochemical properties, gene structure, evolutionary relationships, *cis-acting* elements in promoter, and the expression patterns under ABA treatment by RT-qPCR. [Result] A total of 63 PbbZIP genes were identified from 12 chromosomes in *P. bournei*, divided into 12 subfamilies with significantly different in gene structure and motifs, but highly conserved in the same subfamily. Most of the PbbZIPs were localized in the nucleus, and their encoded protein were 110 – 835 amino acid in length, -1.19 – -0.19 in hydrophobicity, and 4.48 – 11.95 in isoelectric point. The 27 pairs of PbbZIPs distributed on 12 chromosomes were featured with collinearity existence, which was the main pattern of PbbZIPs family expansion. A variety of abiotic stress-related action elements were found in the upstream promoter region of PbbZIPs, among which ABA,

收稿日期: 2023-06-01; 修回日期: 2023-10-17

基金项目: 浙江省农业新品种选育重大专项 (2021C02070-10); 国家自然科学基金资助项目 (32171828)

作者简介: 杨勇 (ORCID: 0000-0002-4278-6238), 从事林木遗传育种等研究。E-mail: yongyang@stu.zafu.edu.cn。通

信作者: 童再康 (ORCID: 0000-0002-0202-6496), 教授, 博士生导师, 从事林木遗传育种等研究。

E-mail: zktong@zafu.edu.cn

salicylic acid and methyl jasmonate were more abundant response elements and the genes expression of RT-qPCR revealed that 17 *PbbZIPs* were induced differentially by ABA signals and generally up-regulated in leaves and roots when *P. bournei* was treated with $2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ABA for 1 – 72 h, with the relative expression of *PbbZIPs* in roots being generally lower than that in leaves. [Conclusion] The 63 *PbbZIPs* identified from the *P. bournei* genome were unevenly distributed across the 12 chromosomes and highly similar in gene sequences, whereas the chromosomal localization genetic structure and conserved motifs were evolutionarily diverse and different between subgroups. The *PbbZIPs* in leaves and roots responded differently to ABA treatment and got involved in the regulation of other abiotic processes. [Ch, 9 fig. 35 ref.]

Key words: *Phoebe bournei*; bZIP family; systematic evolution; ABA; expression analysis

闽楠 *Phoebe bournei* 被列为国家二级保护濒危树种^[1-2], 是“金丝楠木”的原植物种之一, 天然分布于福建、浙江、江西、湖南、云南和广西等省^[3]。闽楠木材纹理细致、结构紧密、香气浓郁、防虫耐腐、坚硬不易开裂, 是制作高档家具、建筑和雕塑的优质木材。闽楠树体高大挺拔、冠型优美, 现已成为中国南方地区珍贵造林与园林绿化树种。然而, 干旱、低温等非生物胁迫显著影响闽楠的生长发育, 极大限制了林分生产力。

转录因子作为一类与启动子顺式作用元件特异结合、调控功能基因表达的 DNA 结合蛋白, 对植物多种生理生化过程起重要调控作用^[4-5]。其中, 碱性亮氨酸拉链 (bZIP) 转录因子是目前已知普遍存在、成员较多、功能复杂且高度保守的基因家族之一^[6-7]。bZIP 转录因子是按照其高度保守的结构域来命名的, 保守结构域包括富含亮氨酸残基的拉链区域和 N-X7-R/K 碱性区域, 由 60~80 个碱基组成, C 端 N-X7-R/K 碱性区域由 20 个氨基酸构成, 富含精氨酸和赖氨酸, 可与 DNA 特异性结合; N 端亮氨酸拉链区域富含亮氨酸, 相邻 7 个氨基酸构成一段连续片段, 且第 7 位碱基是亮氨酸, 但亮氨酸拉链区域不完全保守, 个别位点的亮氨酸可被甲硫氨酸、缬氨酸及异亮氨酸等疏水性氨基酸所取代^[6]。

bZIP 转录因子功能多样性, 广泛参与调控脱落酸 (ABA)、干旱、高盐及高温等多种非生物胁迫。例如, ABA、高盐和干旱胁迫下, *ZmbZIP72* 在玉米 *Zea mays* 幼苗各器官上调表达, 其异源过表达使拟南芥 *Arabidopsis thaliana* 显著改善叶片生理状态, 通过减少失水和电解质渗漏来提高转基因株系的抗旱性和耐盐性^[8]。高盐、干旱、高温、低温和 ABA 胁迫下, *ZmbZIP4* 在玉米幼苗各器官被诱导表达, 其异源过表达不仅增加拟南芥主根长和侧根数, 还显著提高 ABA 合成, 增强植株抵御非生物胁迫能力^[9]。水稻 *Oryza sativa* 的 *OsbZIP42* 可正向调控 ABA 介导的信号通路, 增强水稻过表达植株对干旱胁迫应答的敏感性^[10]。bZIP 还和 *ANAC096* 等转录因子互作, 协同提高转基因植株抗旱性^[11]。茶树 *Camellia sinensis* 的 *CsbZIP18* 是 ABA 信号和冷胁迫的负调控因子, 异源过表达导致拟南芥对 ABA 信号敏感性下降、电解质渗漏升高以及光合效率下降, 降低植株耐冻性^[12]。bZIP 还参与调控其他生物学过程, 如组织器官发育^[13-14]、盐胁迫^[15]、激素和糖信号传递^[16]、病虫害防御^[17]、光反应和次生代谢物合成调控等^[18-19]。

bZIP 基因家族成员有进化多样性, 成员数量在物种间存在显著差异, 例如, 拟南芥 75 个^[20]、番茄 *Solanum lycopersicum* 70 个^[21]、水稻 89 个^[22]、玉米 125 个^[23]、毛果杨 *Populus trichocarpa* 214 个^[24], 而闽楠 bZIP 成员数量不详, 极大限制了闽楠 bZIP 基因功能研究。因此, 本研究对闽楠 bZIP 转录因子家族成员进行全基因组鉴定, 分析其蛋白理化性质, 比较进化关系以及 ABA 处理下的表达水平, 为解析 bZIP 家族成员的基因功能及其在逆境胁迫的调控机制提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 闽楠 bZIP 家族成员的全基因组鉴定及理化性质分析

从 PFAM 数据库 (<https://pfam.xfam.org/>) 获取包含保守结构域 (PF00170、PF07716) 的隐马尔科夫蛋白模型。运用 HMMER 软件在闽楠基因组^[25]筛选 bZIP 同源序列。将初步获得的基因序列提交 SMART 数据库 (<https://smart.embl-heidelberg.de/>) 和美国国家生物技术信息中心 (NCBI) 网站 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 确认结构域, 手动去除冗余, 获得 *PbbZIP* 基因成员。利用 ProtParam 数据库

(<https://www.expasy.org/>) 进一步分析 PbbZIP 蛋白理化性质, 通过植物亚细胞定位 (Plant-mPLoc) 数据库 (<http://www.csbio.sjtu.edu.cn>) 进行亚细胞定位分析, 通过 Prabi 数据库 (<https://npsa-prabi.ibcp.fr/>) 分析 PbbZIP 蛋白的二级结构。

1.2 闽楠 bZIP 成员的保守基序、结构域及基因结构分析

运用 Jaview 软件对 ClustalW 输出的多序列比对结果进行美化, 基因保守结构域用 Tbtools^[26] 进行可视化, MEME suite 数据库 (<https://meme-suite.org/>) 分析蛋白序列的保守基序, 利用 GSDS 工具 (<http://gsds.gao-lab.org/>) 在线绘制 PbbZIP 基因结构。

1.3 闽楠 bZIP 成员进化分析

从 Ensembl 数据库 (<http://plants.ensembl.org/species.html>) 获取拟南芥、番茄、毛果杨基因组数据, 通过 HMMER 软件挑选出 bZIP 同源基因, 构建最大似然进化树 (Bootstrap: 1 000 次)。通过 Evolview 网站 (<http://www.evolgenius.info/evolview>) 美化系统进化树。用 TBtools 的 MCScanX 工具分析 PbbZIP 基因的共线性关系。

1.4 ABA 处理

在浙江农林大学苗圃地挑选长势健康的 2 年生闽楠半同胞家系 WY8 苗, 选用 $2\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ABA 均匀喷洒整株苗, 使土壤表面湿润, 吐温 80 (Tween 80) 为对照组 (ck)。采用取样时间倒推法, 分别在处理 1、3、12、24、48 和 72 h 取叶片和根, 均在 11:00 取样, 每个时间段包含 15 株闽楠苗, 每 5 株混合作为 1 个生物学重复, 3 次重复, 液氮速冻后储存于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱。

1.5 启动子顺式作用元件分析

从闽楠基因组^[25]提取 PbbZIP 基因编码区 (CDS) 上游 2 000 bp 序列, 提交至 PlantCARE 数据库 (<https://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/>) 分析启动子顺式作用元件, 统计与逆境胁迫相关的作用元件, 对 ABA 响应元件较多的 PbbZIP 基因进行实时荧光定量, 并分析其响应表达模式。

1.6 实时荧光定量及数据分析

用 CTAB 法提取高质量总 RNA, 经质量分数为 1% 的琼脂糖凝胶电泳和 NanoDrop 检测合格后用于后续研究。每份 RNA 取 $1\text{ }\mu\text{g}$, 按照 Vazyme 公司提供的 HiScript[®] II Reverse Transcriptase 试剂盒反转录合成高质量 cDNA, 用 ddH₂O 稀释 5 倍待用。使用 NCBI 设计 PbbZIP 基因特异性引物用于实时荧光定量 PCR (RT-qPCR) 反应。使用 RT-qPCR 反应酶配成 $10.00\text{ }\mu\text{L}$ 标准反应体系, 包含 $1.00\text{ }\mu\text{L}$ cDNA、 $0.25\text{ }\mu\text{L}$ 上下游引物、 $5.00\text{ }\mu\text{L}$ 反应液和 $3.50\text{ }\mu\text{L}$ ddH₂O。两步法 RT-qPCR 反应程序: $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 30 s, $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 10 s, $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 30 s, 40 个循环。闽楠 *ef1 α* 基因 (登录号: KX682032) 作为内参基因, 用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算各基因相对表达量^[27], 并通过 SPSS 进行方差分析及多重比较。

2 结果与分析

2.1 闽楠 bZIP 基因家族成员鉴定及理化性质

利用 HMMER 软件从闽楠基因组初步获得 78 条蛋白序列, 经 SMART 和 NCBI 数据库验证结构域完整性, 最终鉴定出 63 个 PbbZIP 成员, 按染色体位置命名为 PbbZIP01~PbbZIP63, 并分析其蛋白特征和理化性质。PbbZIP 蛋白长度介于 110 (PbbZIP60)~835 (PbbZIP12) 个氨基酸, 相对分子量为 13.05~88.65 kDa, 平均为 39.76 kDa。蛋白等电点为 4.48 (PbbZIP02)~11.95 (PbbZIP32), 疏水性为 -1.19 (PbbZIP58)~ -0.19 (PbbZIP16)。亚细胞定位分析结果表明: 59 个成员定位于细胞核, 而 PbbZIP02 定位于细胞质, PbbZIP05 和 PbbZIP12 定位于内质网, PbbZIP16 定位于线粒体。

2.2 PbbZIP 家族成员的蛋白结构域、保守基序以及基因结构分析

Motif 分析结果表明: PbbZIP 基因保守基序较丰富, 且不同亚族差异明显。Motif 5 和 Motif 1 在 PbbZIP 基因家族广泛存在 (图 1), 分别为碱性结构区域和亮氨酸拉链结构区域, 碱性区域可以和 DNA 特异性结合, 发挥调控活性 (图 2)。A 亚族特有 Motif 6、Motif 10 和 Motif 13; C 亚族和 S 亚族特有 Motif 11; D 亚族的保守基序较丰富, 特有基序包括 Motif 2、Motif 3、Motif 4、Motif 7、Motif 9 和 Motif 12; F 亚族特有 Motif 15; I 亚族特有 Motif 6; G 亚家族特有 Motif 8 和 Motif 14。其中, A、E、F、G、J 亚族含有重复基序。

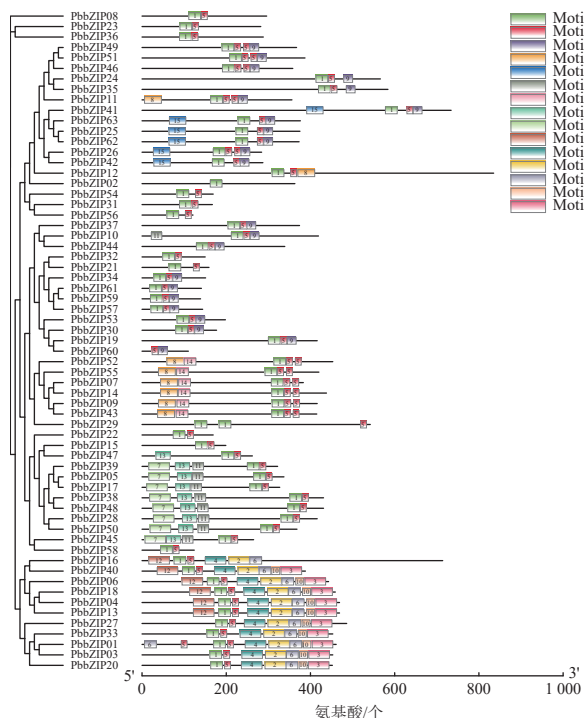


图1 闽楠 bZIP 家族成员的保守基序

Figure 1 Conserved motifs of PbbZIP family members

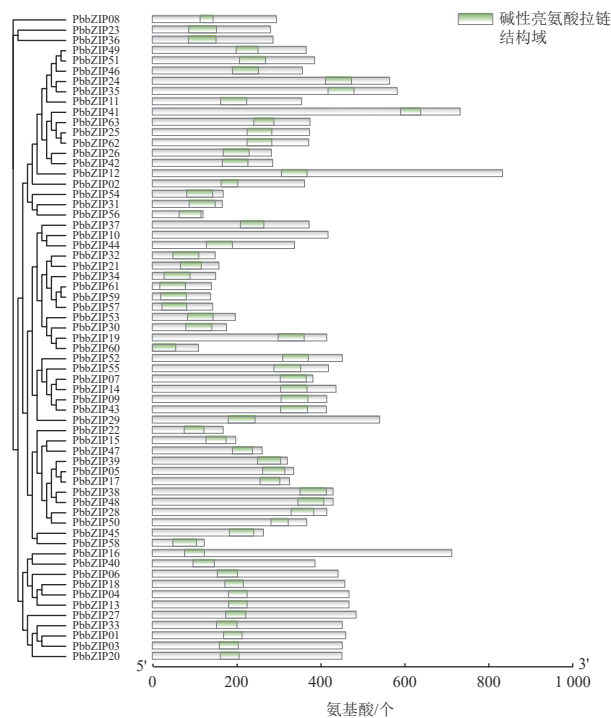


图2 闽楠 bZIP 家族成员的结构域

Figure 2 Domains of PbbZIP family members

PbbZIP 家族的基因结构在内含子、外显子的数量和位置存在显著多样性和差异性 (图3)。例如, S 亚族外显子数量最少 (1~4 个), 且多数无内含子, 这与拟南芥 bZIP-S 亚族结构相似; A 亚族含有 3~4 个外显子, C 亚族含有 6~7 个外显子, D 亚族含有 11~12 个外显子; E 亚族含有 5~6 个外显子, F 亚族含有 2~3 个外显子, 而 G 亚族内含子和外显子最多, 为 13~14 个。

2.3 PbbZIP 基因家族系统进化分析

为研究 bZIP 基因的进化关系, 选取拟南芥、番茄、毛果杨 bZIP 氨基酸序列与 PbbZIP 基因构建最大似然进化树 (图4)。系统进化分析表明: 63 个 PbbZIPs 基因按序列同源性划分为 4 组 12 亚族, I 组 (G)、II 组 (J)、III 组 (B、H、E、I、F、K、A、D) 和 IV 组 (C、S), 其中 A 亚族 12 个、B 亚族 1 个、C 亚族 3 个、D 亚族 11 个、E 亚族 5 个、F 亚族 3 个、G 亚族 6 个、H 亚族 4 个、I 亚族 6 个、J 亚族 1 个、K 亚族 1 个和 S 亚族 10 个。

2.4 PbbZIP 家族基因染色体分布及共线性分析

染色体定位结果表明: 63 个 PbbZIPs 基因不均匀分布于 12 条染色体 (图5), 其中 Chr 5 基因数量最多, 含 11 个 PbbZIPs 成员, 占 17.46%, 而 Chr 7 和 Chr 10 最少, 仅有 2 个 PbbZIPs 成员。为深入了解 PbbZIP 基因家族的扩张模式, 对 63 个 PbbZIPs 基因进行共线性分析, 结果表明: 分布于 12 条染色体上的 27 对 PbbZIPs 基因存在片段复制, 其中 D 亚族共线基因对最多 (10 对), 未检测到串联复制, 表明片段复制是 PbbZIP 基因家族扩张的主要模式。不同物种间共线性结果表明 (图6): 闽楠与拟南芥 47 个、毛果杨 110 个 bZIPs 基因对存在共线性关系, 闽楠和毛果杨 bZIP 基因更保守, 亲缘关

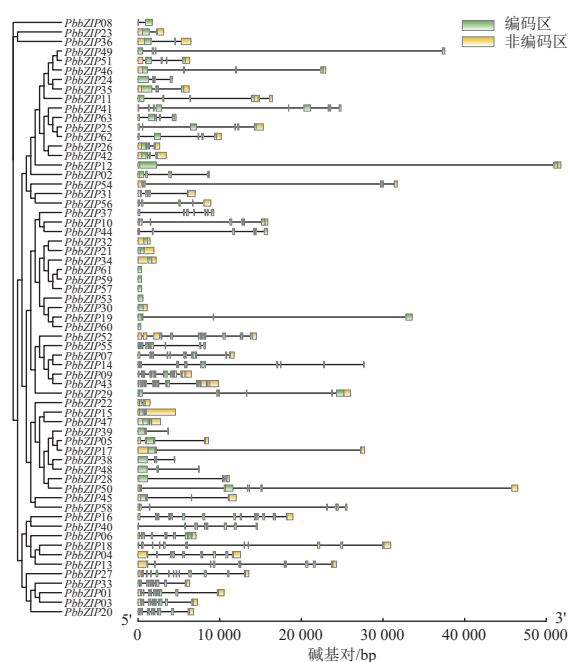


图3 闽楠 bZIP 家族成员的基因结构

Figure 3 Gene structures of PbbZIP family members

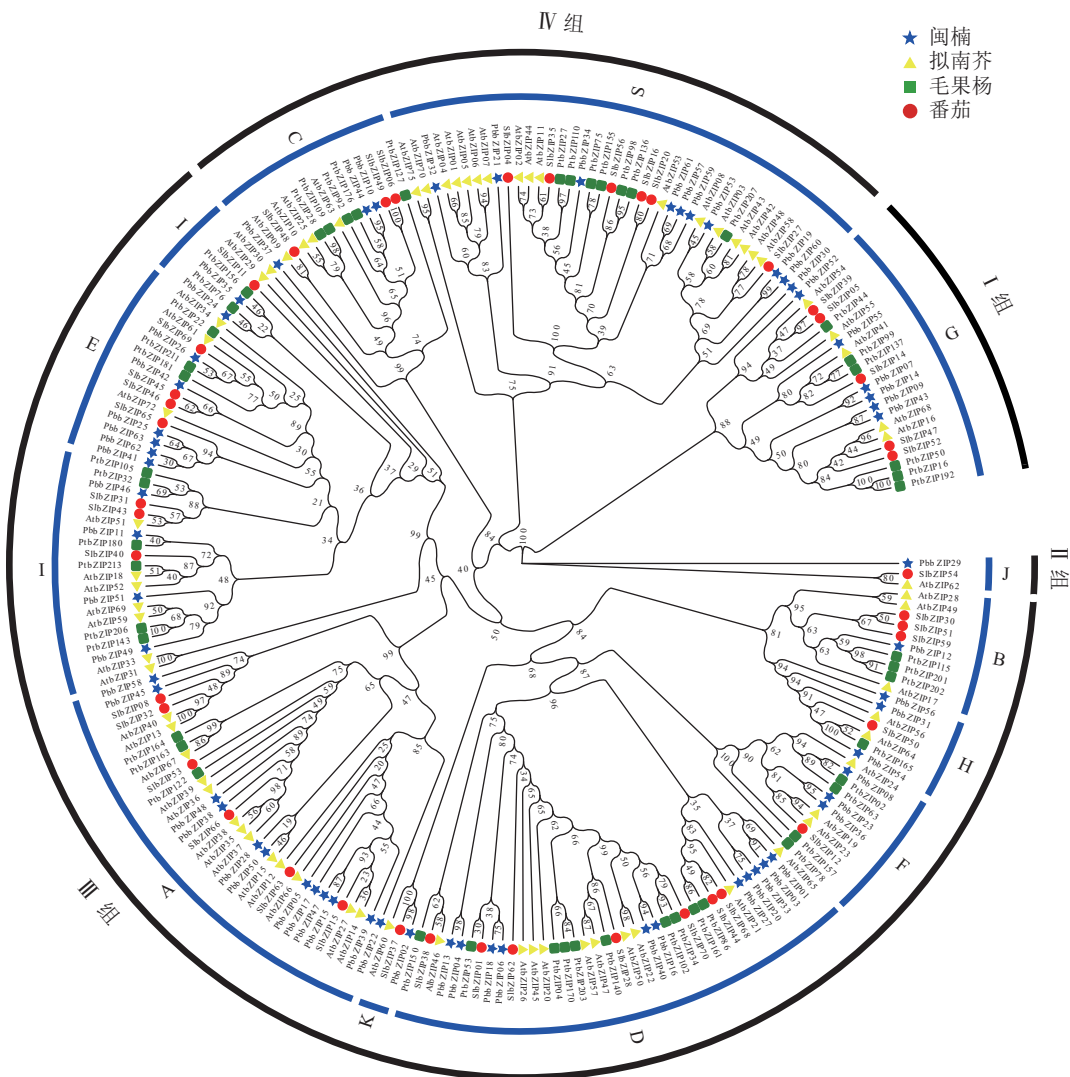


图 4 闽楠、拟南芥、毛果杨和番茄 bZIP 家族系统进化分析

Figure 4 Phylogenetic analysis of bZIP family from *P. bournei*, *P. trichocarpa*, *A. thaliana*, and *S. lycopersicum*

系较近。

2.5 PbbZIP 家族成员启动子的顺式作用元件分析

PbbZIP 基因 CDS 区上游启动子顺式作用元件分析结果表明 (图 7): 共发现 18 种 (745 个) 与胁迫相关的顺式作用元件, 其中激素响应元件 428 个, 包括 ABA 响应元件 (ABRE) 129 个, 茉莉酸甲酯响应元件 (TGACG-motif、CGTCA-motif) 146 个, 赤霉素响应元件 (P-box、GARE-motif、TATC-box) 71 个, 水

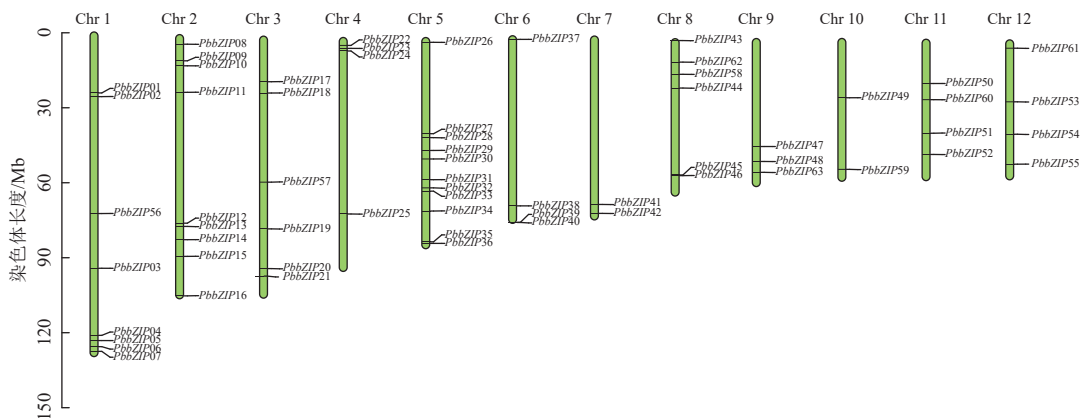


图 5 PbbZIP 家族成员染色体定位

Figure 5 Chromosomal localization of PbbZIP family members

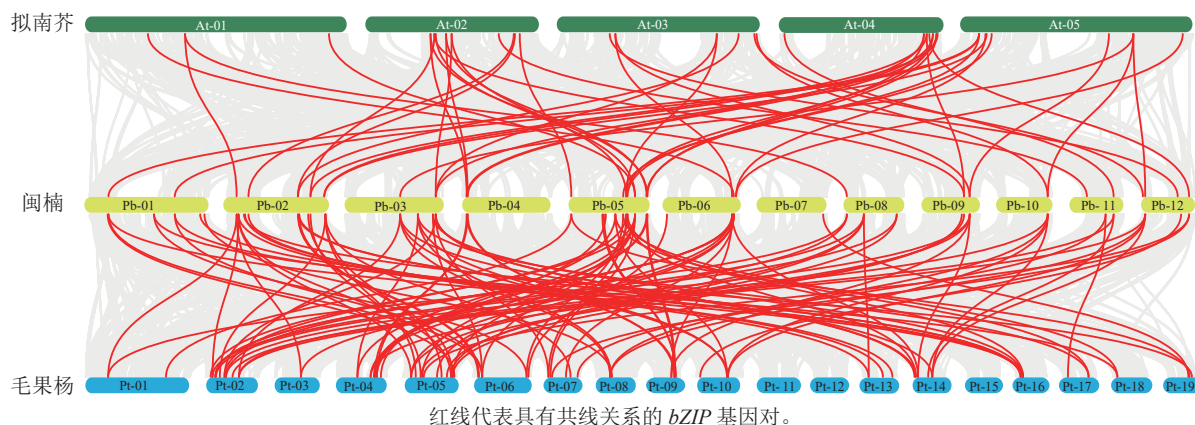
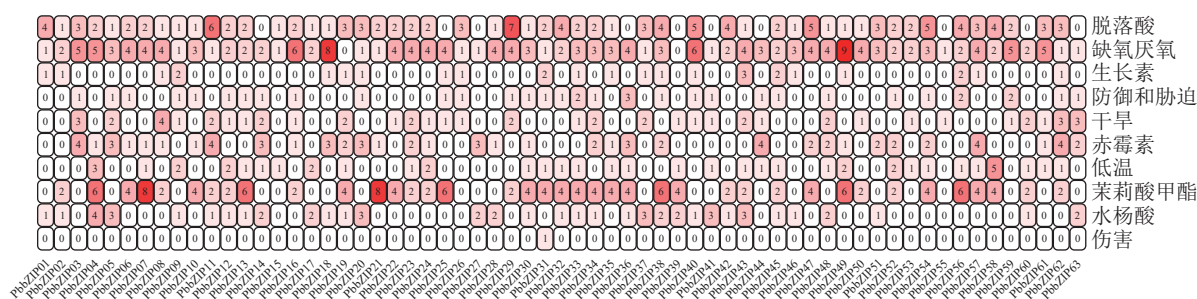


图6 闽楠 bZIP 家族成员种间共线性分析

Figure 6 Interspecific collinear relationships of PbbZIP family members



图中右侧条目表示顺式作用元件种类, 数字和颜色代表顺式作用元件个数。

图7 *PbbZIPs* 与逆境胁迫相关的顺式作用元件Figure 7 *Cis-acting* elements associated with adversity stress in promoters of *PbbZIPs*

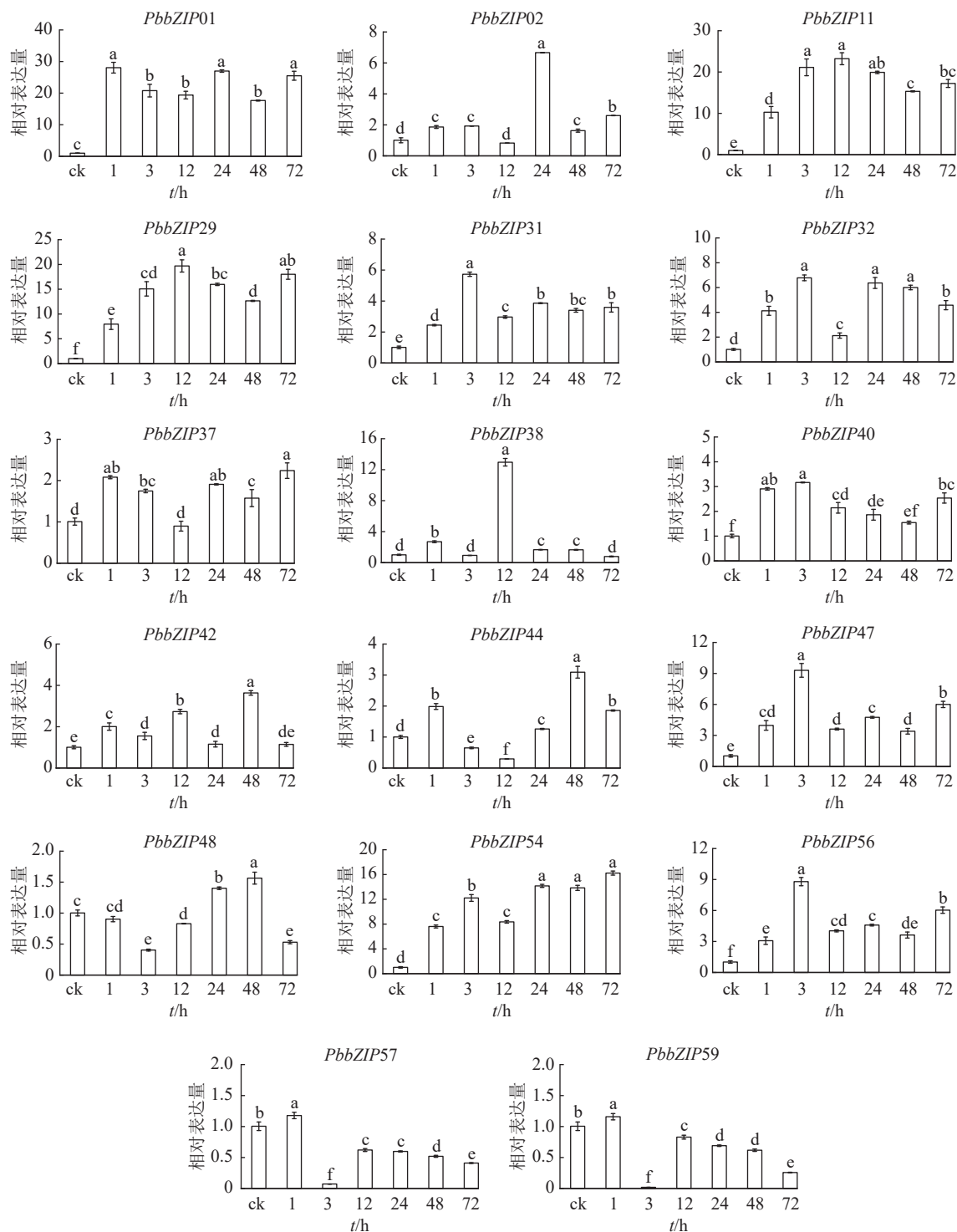
杨酸响应元件 (SARE、TCA-element) 54 个, 生长素响应元件 (TGA-element、TGA-box、AuxRR-core) 28 个。此外, 还发现多种非生物胁迫响应元件, 如低温响应元件 (LTR、DRE) 45 个, 干旱响应元件 (MBS) 53 个, 缺氧厌氧元件 (ARE、GC-motif) 182 个, 防御和胁迫响应元件 (TC-rich repeats) 36 个, 伤害响应元件 (WUN-motif) 1 个。

2.6 叶中 *PbbZIP* 基因对脱落酸处理的响应

PbbZIP 基因启动子区域富含 ABA 响应元件, 挑选含较多 ABA 响应元件的 17 个 *PbbZIPs* 成员进行 ABA 处理下的表达模式分析。首先, 应用 RT-qPCR 分析 ABA 处理后叶中 17 个 *PbbZIPs* 的响应程度, 表明叶中 17 个 *PbbZIPs* 对 ABA 信号有着不同程度的诱导响应 (图 8)。例如, *PbbZIP01*、*PbbZIP11*、*PbbZIP29* 和 *PbbZIP54* 等 4 个基因在叶中不同处理时间均被显著诱导 ($P < 0.05$), 相对表达倍数高于 8 倍; *PbbZIP31*、*PbbZIP32*、*PbbZIP37*、*PbbZIP40*、*PbbZIP42*、*PbbZIP47* 和 *PbbZIP56* 等 7 个成员均被 ABA 诱导表达, 但表达倍数增加幅度不高; *PbbZIP44*、*PbbZIP48*、*PbbZIP57* 和 *PbbZIP59* 在 ABA 处理 3 h 或 12 h 时被显著抑制表达 ($P < 0.05$); *PbbZIP02* 和 *PbbZIP38* 分别仅在 ABA 处理 24 h 和 12 h 强烈诱导表达, 而其他处理时间段基本不被诱导。

2.7 根中 *PbbZIP* 基因对 ABA 处理的响应

ABA 处理 1~72 h, 17 个 *PbbZIP* 基因在根中表现出不同趋势, 且表达倍数较叶片低 (图 9)。*PbbZIP01*、*PbbZIP11*、*PbbZIP29*、*PbbZIP31*、*PbbZIP32*、*PbbZIP37*、*PbbZIP38*、*PbbZIP40*、*PbbZIP42*、*PbbZIP47*、*PbbZIP48*、*PbbZIP56* 和 *PbbZIP59* 等表达水平先降低后升高, 其中 *PbbZIP32*、*PbbZIP37*、*PbbZIP38*、*PbbZIP40*、*PbbZIP48* 和 *PbbZIP59* 等基因的表达量在 ABA 处理 48 h 后降低, 而 *PbbZIP37*、*PbbZIP38*、*PbbZIP40* 和 *PbbZIP59* 表达水平在 ABA 处理 72 h 后显著升高 ($P < 0.05$)。 *PbbZIP02*、*PbbZIP44* 和 *PbbZIP57* 表达水平受 ABA 影响较小; *PbbZIP54* 在 ABA 处理 3 h 后显著诱导表达 ($P < 0.05$), 且保持较高水平, 可能参与 ABA 信号响应发挥重要调控功能。



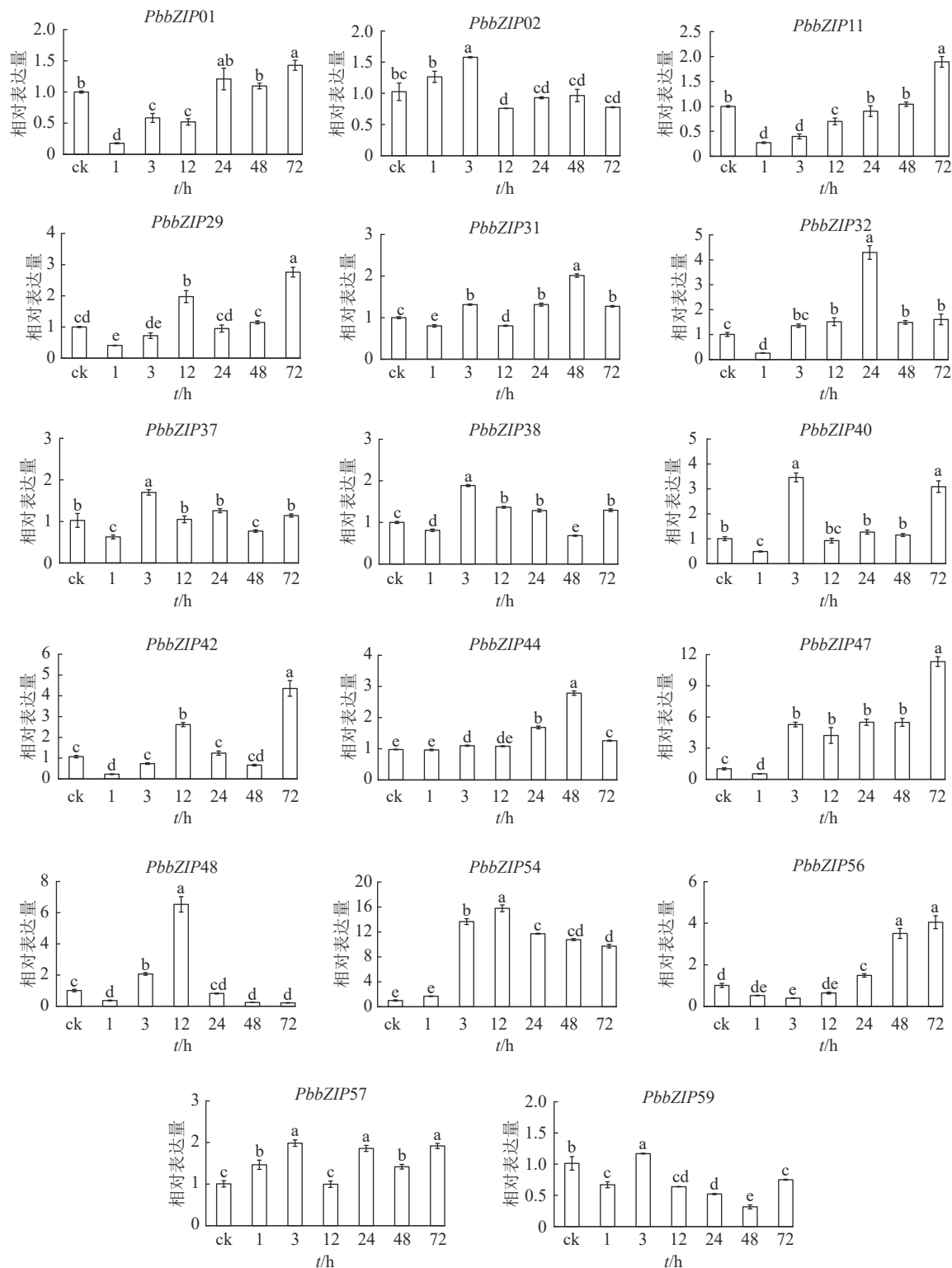
不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

图 8 叶中 *PbbZIP* 基因对脱落酸处理的表达响应

Figure 8 Response of *PbbZIP* genes to ABA treatment in leaves

3 讨论

bZIP 基因家族是成员和功能最复杂的转录因子家族之一，参与多种代谢过程，目前功能研究集中于拟南芥、毛果杨、水稻和番茄等物种。本研究从闽楠基因组鉴定出 63 个 *PbbZIP* 转录因子，该家族成员在蛋白理化性质、基因结构和保守结构域等方面与已报道物种 (拟南芥^[20]、毛果杨^[24]、番茄^[21]等) 较相似，说明 *bZIP* 基因结构较保守。进一步将 *PbbZIP* 与拟南芥、番茄和毛果杨构建最大似然进化树，发现 63 个 *PbbZIP* 基因可进一步划分为 12 亚族，可能由 4 个以上不同功能的原始 *bZIP* 基因进化扩张产



不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

图9 根中 *PbbZIP* 基因对 ABA 处理的表达响应

Figure 9 Response of *PbbZIP* genes to ABA treatment in roots

生^[28],而在其他物种中,*bZIP*转录因子被划分为不同亚族,如拟南芥 10 个^[20]、毛果杨 12 个^[29]、烟草 *Nicotiana tabacum* 11 个^[30]。其中 *PbbZIP29* 基因结构高度分化,单独聚类在一个进化分支上,其功能是否分化有待后续深入研究。

通过启动子顺式作用元件分析发现:*PbbZIP* 基因 CDS 上游启动子区域存在多种响应元件,推测 *PbbZIP* 基因可能受生物及非生物胁迫诱导表达。例如 ABA、茉莉酸甲酯和生长素等激素响应元件在启

动子区域数量较多, 推测 *PbbZIP* 基因可能受到激素诱导。低温、干旱和缺氧厌氧诱导等非生物胁迫响应元件数目也较多, 推测 *PbbZIP* 表达可能受非生物胁迫诱导, 正向或负向调控次生代谢途径而参与植物生长发育进程。例如, 猕猴桃 *Actinidia deliciosa* bZIP12 正向调控 ABA 介导的 AchnKCS 酶基因, 促进果实创伤愈合, 免受病原体侵害^[31]。在 ABA、干旱、盐胁迫下, 辣椒 *Capsicum annuum* 叶片 bZIP-D 亚族中的 *CaDILZ1* 显著上调, 它通过调节 ABA 含量、气孔开合度及抗旱基因表达水平来增强转基因植株的耐旱性^[32]。

17 个 *PbbZIP* 基因在叶和根有不同程度的诱导表达, 随 ABA 诱导表现出不同表达趋势。处理 1~72 h, 叶中 *PbbZIP11* 等基因和根中 *PbbZIP44* 等基因表达量先升高后降低, 而叶中 *PbbZIP37* 等基因以及根中 *PbbZIP56* 基因表达趋势与之相反, 先下降后上升, 烟草 bZIP-A 亚族基因经 $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ABA 处理 24 h 后也有相同趋势^[33]; 武立伟等^[34] 研究发现: 25 和 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ABA 处理甘草 *Glycyrrhiza uralensis* 根, *GubZIP1~GubZIP56* 响应趋势与本研究结果相似, 表明 *PbbZIP* 基因可能参与 ABA 等非生物胁迫的响应; 孙晓丽等^[35] 研究发现: 拟南芥 *AtbZIP1* 与 ABRE 元件结合负向调节植株对 ABA 敏感性, *AtbZIP1* 缺失提高了种子萌发率, 增加了主根长和 ABA 响应基因的表达, 推测 *PbbZIP* 基因可能有相似功能。叶中 *PbbZIP01*、*PbbZIP29*、*PbbZIP32*、*PbbZIP38* 和 *PbbZIP54* 等被 ABA 显著诱导, 根中 *PbbZIP47* 和 *PbbZIP54* 被显著诱导, 表达量较高, 后续需进一步开展功能验证, 阐明其生物学功能与调控机制。

4 结论

本研究通过对闽楠 bZIP 转录因子家族鉴定和表达分析, 发现 63 个基因家族成员高度保守, 不同亚家族在蛋白理化性质、基因结构、染色体定位、保守基序等方面表现出进化多样性和差异性。*PbbZIP* 基因的表达随 ABA 诱导时间增加呈非同步变化的趋势, 具有一定组织特异性, 叶响应程度普遍高于根, 这种表达特征与闽楠胁迫耐受性高度关联, 存在复杂的调控网络, 需进一步探索 *PbbZIP* 基因功能。

5 参考文献

- [1] 丁鑫, 肖建华, 黄建峰, 等. 珍贵木材树种楠木的野生资源调查[J]. 植物分类与资源学报, 2015, 37(5): 629–639.
DING Xin, XIAO Jianhua, HUANG Jianfeng, *et al.* Investigation on wild resource of valuable timber tree *Phoebe zhennan* (Lauraceae) [J]. *Plant Diversity and Resources*, 2015, 37(5): 629–639.
- [2] 葛永金, 王军峰, 方伟, 等. 闽楠地理分布格局及其气候特征研究[J]. 江西农业大学学报, 2012, 34(4): 749–753, 761.
GE Yongjin, WANG Junfeng, FANG Wei, *et al.* Distribution pattern of *Phoebe bournei* (Hemsl.) Yang and the characteristics of climate [J]. *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis*, 2012, 34(4): 749–753, 761.
- [3] 李娟, 欧汉彪, 林建勇, 等. 我国楠属种质资源分布现状及主要种特征差异[J]. 广西林业科学, 2020, 49(1): 54–59.
LI Juan, OU Hanbiao, LIN Jianyong, *et al.* Distribution of *Phoebe* germplasm resources in China and characteristic differences among main species [J]. *Guangxi Forestry Science*, 2020, 49(1): 54–59.
- [4] 桑新华, 吴忠义, 黄丛林, 等. 植物逆境抗性相关转录因子的研究进展[J]. 植物学通报, 2004, 21(6): 700–708.
SANG Xinhua, WU Zhongyi, HUANG Conglin, *et al.* Progresses on transcription factors related to plant stress-tolerance [J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2004, 21(6): 700–708.
- [5] 王金英, 丁峰, 潘介春, 等. 植物bZIP转录因子家族的研究进展[J]. 热带农业科学, 2019, 39(6): 39–45.
WANG Jinying, DING Feng, PAN Jiechun, *et al.* Research progress of bZIP lineage transcription factors in plant [J]. *Chinese Journal of Tropical Agriculture*, 2019, 39(6): 39–45.
- [6] 崔荣秀, 张议文, 陈晓倩, 等. 植物bZIP参与胁迫应答调控的最新研究进展[J]. 生物技术通报, 2019, 35(2): 143–155.
CUI Rongxiu, ZHANG Yiwen, CHEN Xiaoqian, *et al.* The latest research progress on the stress responses of bZIP involved in plants [J]. *Biotechnology Bulletin*, 2019, 35(2): 143–155.
- [7] 冉静, 邹杰, 刘爱玲, 等. 植物bZIP转录因子在非生物胁迫中的作用[J]. 湖南农业科学, 2012(7): 11–13.
RAN Jing, ZOU Jie, LIU Ailing, *et al.* The role of plant bZIP transcription factors in abiotic stress [J]. *Hunan Agricultural Sciences*, 2012(7): 11–13.

- [8] YING Shen, ZHANG Dengfeng, FU Jing, *et al.* Cloning and characterization of a maize bZIP transcription factor, *ZmbZIP72*, confers drought and salt tolerance in transgenic *Arabidopsis* [J]. *Planta*, 2012, **235**(2): 253 – 266.
- [9] MA Haizhen, LIU Can, LI Zhaoxia, *et al.* *ZmbZIP4* contributes to stress resistance in maize by regulating aba synthesis and root development [J]. *Plant Physiology*, 2018, **178**(2): 753 – 770.
- [10] JOO J, LEE Y H, SONG S I. *OsbZIP42* is a positive regulator of ABA signaling and confers drought tolerance to rice [J]. *Planta*, 2019, **249**(5): 1521 – 1533.
- [11] XU Zhengyi, KIM S Y, HYEON D Y, *et al.* The *Arabidopsis* NAC transcription factor *ANAC096* cooperates with bZIP-type transcription factors in dehydration and osmotic stress responses [J]. *The Plant Cell*, 2013, **25**(11): 4708 – 4724.
- [12] YAO Lina, HAO Xinyuan, CAO Hongli, *et al.* ABA-dependent bZIP transcription factor, *CsbZIP18*, from *Camellia sinensis* negatively regulates freezing tolerance in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell Reports*, 2020, **39**(4): 553 – 565.
- [13] SHIN J, BUI D C, KIM S, *et al.* The novel bZIP transcription factor *Fpo1* negatively regulates perithecial development by modulating carbon metabolism in the ascomycete fungus *Fusarium graminearum* [J]. *Environmental Microbiology*, 2020, **22**(7): 2596 – 2612.
- [14] STRATHMANN A, KUHLMANN M, HEINEKAMP T, *et al.* BZI-1 specifically heterodimerises with the tobacco bZIP transcription factors BZI-2, BZI-3/TBZF and BZI-4, and is functionally involved in flower development [J]. *The Plant Journal*, 2001, **28**(4): 397 – 408.
- [15] GAI Wenxian, MA Xiao, Qiao Yiming, *et al.* Characterization of the bZIP transcription factor family in pepper (*Capsicum annuum* L.): *CabZIP25* positively modulates the salt tolerance [J/OL]. *Frontiers in Plant Science*, 2020, **11**: 139[2023-05-20]. doi: 10.3389/fpls.2020.00139.
- [16] THALOR S K, BERBERICH T, LEE S S, *et al.* Dereglulation of sucrose-controlled translation of a bZIP-type transcription factor results in sucrose accumulation in leaves [J/OL]. *PLoS One*, 2012, **7**(3): e33111[2023-05-20]. doi: 10.1371/journal.pone.0033111.
- [17] NIGAL M C, ANTHONY D M G. Molecular and physiological aspects of nitrate uptake in plants [J]. *Trends in Plant Science*, 1998, **3**(10): 389 – 395.
- [18] MOHANTY B, LAKSHMANAN M, LIM S, *et al.* Light-specific transcriptional regulation of the accumulation of carotenoids and phenolic compounds in rice leaves [J/OL]. *Plant Signaling & Behavior*, 2016, **11**(6): e1184808[2023-05-20]. doi: 10.1080/15592324.2016.1184808.
- [19] PONTES L C G, CARDOSO C M Y, CALLEGARI D M, *et al.* A cassava CPRF-2-like bZIP transcription factor showed increased transcript levels during light treatment [J]. *Protein & Peptide Letters*, 2020, **27**(9): 904 – 914.
- [20] JAKOBY M, WEISSHAAR B, DRÖGE-LASER W, *et al.* bZIP transcription factors in *Arabidopsis* [J]. *Trends in Plant Science*, 2002, **7**(3): 106 – 111.
- [21] 朱芸晔, 薛冰, 王安全, 等. 番茄bZIP转录因子家族的生物信息学分析[J]. 应用与环境生物学报, 2014, **20**(5): 767 – 774. ZHU Yunye, XUE Bing, WANG Anquan, *et al.* Comprehensive bioinformatic analysis of bZIP transcription factors in *Solanum lycopersicum* [J]. *Chinese Journal of Applied & Environmental Biology*, 2014, **20**(5): 767 – 774.
- [22] NIJHAWAN A, JAIN M, TYAGI A K, *et al.* Genomic survey and gene expression analysis of the basic leucine zipper transcription factor family in rice [J]. *Plant Physiology*, 2008, **146**(2): 323 – 324.
- [23] 于滔, 王成波, 曹士亮, 等. 玉米bZIP转录因子的生物信息学分析[J]. 黑龙江农业科学, 2016(4): 1 – 5. YU Tao, WANG Chengbo, CAO Shiliang, *et al.* Bioinformatics analysis of the bZIP transcription factor in maize [J]. *Heilongjiang Agricultural Sciences*, 2016(4): 1 – 5.
- [24] 王升级, 孙赫, 党慧. 盐胁迫条件下杨树bZIP转录因子全基因组分析[J]. 山西农业大学学报, 2018, **38**(8): 1 – 7, 14. WANG Shengji, SUN He, DANG Hui. Genome-wide analysis of the bZIP transcription factors in *Populus* in response to salt stress [J]. *Journal of Shanxi Agricultural University*, 2018, **38**(8): 1 – 7, 14.
- [25] HAN Xiao, ZHANG Junhong, HAN Shuang, *et al.* The chromosome-scale genome of *Phoebe bournei* reveals contrasting fates of terpene synthase (TPS)-a and TPS-b subfamilies [J/OL]. *Plant Communications*, 2022, **3**(6): 100410[2023-05-20]. doi: 10.1016/j.xplc.2022.100410.
- [26] 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.

- [27] BALOGLU M C, ELDEM V, HAJYZADEH M, *et al.* Genome-wide analysis of the bZIP transcription factors in cucumber [J/OL]. *PLoS One*, 2014, **9**(4): e96014[2023-05-20]. doi: 10.1371/journal.pone.0096014.
- [28] CORRÊA L G G, RIAÑO-PACHON D M, SCHRAGO C G, *et al.* The role of bZIP transcription factors in green plant evolution: adaptive features emerging from four founder genes [J/OL]. *PLoS One*, 2008, **3**(8): e2944[2023-05-20]. doi: 10.1371/journal.pone.0002944.
- [29] ZHAO Kai, CHEN Song, YAO Wenjing, *et al.* Genome-wide analysis and expression profile of the bZIP gene family in poplar [J/OL]. *BMC Plant Biology*, 2021, **21**(1): 122[2023-05-20]. doi: 10.1186/s12870-021-02879-w.
- [30] DUAN Lili, MO Zejun, FAN Yue, *et al.* Genome-wide identification and expression analysis of the bZIP transcription factor family genes in response to abiotic stress in *Nicotiana tabacum* L. [J/OL]. *BMC Genomics*, 2022, **23**(1): 318[2023-05-20]. doi: 10.1186/s12864-022-08547-z.
- [31] HAN Xueyuan, MAO Linchun, LU Wenjing, *et al.* Positive regulation of the transcription of *AchnKCS* by a bZIP transcription factor in response to ABA-Stimulated suberization of kiwifruit [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2019, **67**(26): 7390 – 7398.
- [32] CHEA W L, WOONHEE B, SUNG C L. Roles of pepper bZIP protein CaDILZ1 and its interacting partner RING-type E3 ligase CaDSR1 in modulation of drought tolerance [J]. *The Plant Journal*, 2018, **96**(2): 452 – 467.
- [33] 薛翀, 邱诗蕊, 李虹, 等. 烟草bZIP基因家族的鉴定及其A亚族在ABA处理下的表达分析 [J]. 分子植物育种, 2020, **18**(17): 5607 – 5621.
- XUE Chong, QIU Shirui, LI Hong, *et al.* Identification of bZIP gene family and gene expression analysis of its subgroup A gene under ABA treatment in *Nicotiana tabacum* [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2020, **18**(17): 5607 – 5621.
- [34] 武立伟, 徐志超, 王清, 等. 响应ABA胁迫的甘草bZIP转录因子的系统筛选与分析 [J]. 药学报, 2022, **57**(3): 818 – 830.
- WU Liwei, XU Zhichao, WANG Qing, *et al.* Systematic screening and analysis of bZIP transcription factors in *Glycyrrhiza uralensis* and their response to ABA stress [J]. *Acta Pharmaceutica Sinica*, 2022, **57**(3): 818 – 830.
- [35] 孙晓丽, 李勇, 才华, 等. 拟南芥bZIP1转录因子通过与ABRE元件结合调节ABA信号传导[J]. 作物学报, 2011, **37**(4): 612 – 619.
- SUN Xiaoli, LI Yong, CAI Hua, *et al.* *Arabidopsis* bZIP1 transcription factor binding to the ABRE cis-element regulates abscisic acid signal transduction [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2011, **37**(4): 612 – 619.