浙 江 农 林 大 学 学 报, 2026, **43**(X): 1−13 https://zlxb.zafu.edu.cn
Journal of Zhejiang A&F University DOI: 10.11833/j.issn.2095-0756.20260325

引用格式: 赵振坤, 杜常健, 杨辉, 等. 基于 *T2T* 基因组的花生 *NPF* 基因家族鉴定及盐、干旱胁迫响应模式分析[J]. 浙江农林大学学报, 2026, **43**(X): 1−13. ZHAO Zhenkun, DU Changjian, YANG Hui, *et al*. Identification of *Arachis hypogaea NPF* gene family based on the *T2T* genome and analysis of the response patterns to salt and drought stress[J]. *Journal of Zhejiang A&F University*, 2026, **43**(X): 1−13.

基于 *T2T* 基因组的花生 *NPF* 基因家族鉴定及盐、干旱胁迫响应模式分析

赵振坤，杜常健，杨　辉，赵建国

（山西大同大学 煤基生态碳汇技术教育部工程研究中心，山西 大同 037009）

摘要：【目的】基于花生 *Arachis hypogaea T2T* 高质量参考基因组，系统鉴定花生 *NPF* 基因家族成员，分析 *AhNPF* 基因在盐、干旱胁迫下的表达响应模式，筛选逆境响应候选基因，为花生 *NPF* 基因功能研究及抗逆育种提供候选基因资源。**【方法】**采用生物信息学方法鉴定花生 *NPF* 家族成员，并分析其序列特征、系统进化、基因结构、染色体分布及复制扩张模式。基于启动子顺式作用元件预测和公开转录组数据，分析 *AhNPF* 基因在盐、干旱胁迫下的表达模式，并通过实时荧光定量聚合酶链式反应 (RT-qPCR) 验证部分基因表达。同时测定氧化石墨烯 (GO) 处理下花生幼苗株高和地上部鲜质量，评价其对盐、干旱胁迫的缓解效应。**【结果】**共鉴定获得 134 个 *AhNPF* 基因，分布于花生 20 条染色体上，可划分为 8 个亚家族。AhNPF 蛋白主要定位于质膜，多数成员为疏水性蛋白；同一亚家族成员在基因结构和保守基序组成上较为一致。片段重复是 *AhNPF* 家族扩张的主要驱动力，重复基因对非同义替换率 (K_a) 与同义替换率 (K_s) 的比值 (K_a/K_s) 多数小于 1，表明该家族在进化过程中主要受到纯化选择作用。启动子区域富含激素信号、胁迫响应相关顺式作用元件。转录组分析显示：*AhNPF6.5* 和 *AhNPF6.6* 显著响应盐胁迫，*AhNPF1.5* 和 *AhNPF1.6* 持续响应干旱胁迫。RT-qPCR 进一步验证了上述基因的表达变化趋势。氧化石墨烯处理可在表型层面缓解盐、干旱胁迫导致的幼苗生长抑制。**【结论】**花生 *NPF* 基因家族结构较保守但存在亚家族分化，多个成员在盐、干旱胁迫下表现出明显表达响应。其中，*AhNPF6.5*、*AhNPF6.6* 可作为盐胁迫响应候选基因，*AhNPF1.5*、*AhNPF1.6* 可作为干旱胁迫响应候选基因。氧化石墨烯处理可在一定程度上缓解盐、干旱胁迫对花生幼苗生长的抑制，并影响相关 *AhNPF* 候选基因的表达响应模式。图 7 表 1 参 39

关键词：花生；*NPF* 基因家族；*T2T* 基因组；盐胁迫；干旱胁迫

中图分类号：Q943.2；S565.2　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**2095-0756(2026)00-0001-13

Identification of *Arachis hypogaea NPF* gene family based on the *T2T* genome and analysis of the response patterns to salt and drought stress

ZHAO Zhenkun，DU Changjian，YANG Hui，ZHAO Jianguo

（Engineering Research Center of Coal-based Ecological Carbon Sequestration Technology of the Ministry of Education, Shanxi Datong University, Datong 037009, Shanxi, China）

Abstract: ［**Objective**］ Based on the high-quality telomere-to-telomere (*T2T*) reference genome of *Arachis hypogaea*, this study aims to systematically identify members of the *A. hypogaea NPF* gene family, analyze the expression response patterns of *AhNPF* genes under salt and drought stress, and screen candidate genes responsive to stress, so as to provide candidate genetic resources for functional research of *A. hypogaea NPF* genes and stress-resistance breeding. ［**Method**］ Members of *A. hypogaea NPF* family were identified using

收稿日期：2026-06-16；修回日期：2026-10-25

基金项目：山西省基础研究计划项目 (青年科学研究项目)(202503021212231)

作者简介：赵振坤 (ORCID: 0009-0002-8371-561X)，从事碳纳米材料的农林业应用研究。E-mail: 18239650743@163.com。通信作者：杜常健 (ORCID: 0000-0002-2923-1836)，讲师，博士，从事碳纳米材料的农林业应用研究。E-mail: duchji@126.com

bioinformatic approaches, and their sequence characteristics, phylogenetic evolution, gene structures, chromosomal distribution and duplication expansion patterns were analyzed. Based on promoter *cis*-acting element prediction and public transcriptome data, the expression patterns of *AhNPF* genes under salt and drought stress were analyzed, and partial gene expression patterns were validated by RT-qPCR. Meanwhile, plant height and above-ground fresh weight of *A. hypogaea* seedlings under graphene oxide (GO) treatment were measured to evaluate its mitigating effects on salt and drought stress. [**Result**] A total of 134 *AhNPF* genes were identified, which were distributed across 20 *A. hypogaea* chromosomes and classified into 8 subfamilies. Most AhNPF proteins were localized on the plasma membrane and hydrophobic. Members of the same subfamily were relatively consistent in terms of gene structures and conserved motif composition. Segmental duplication was the major driving force for the expansion of the *AhNPF* family. Most duplicated gene pairs had K_a/K_s values lower than 1, indicating that this family was mainly subjected to purifying selection during evolution. Promoter regions were rich in *cis*-elements associated with hormone signaling and stress response. Transcriptome analysis revealed that *AhNPF6.5* and *AhNPF6.6* significantly responded to salt stress, whereas *AhNPF1.5* and *AhNPF1.6* persistently responded to drought stress. RT-qPCR further verified the expression trends of the aforementioned genes. GO treatment alleviated the growth inhibition of *A. hypogaea* seedlings caused by salt and drought stress at the phenotypic level. [**Conclusion**] The *A. hypogaea NPF* gene family is relatively conserved in structure, with obvious subfamily differentiation. Multiple *AhNPF* members exhibit distinct expression responses to salt and drought stress. Among them, *AhNPF6.5* and *AhNPF6.6* can serve as candidate genes in response to salt stress, while *AhNPF1.5* and *AhNPF1.6* can be used as candidate genes for drought-stress response. GO treatment can alleviate the inhibitory effects of salt and drought stress on the growth of *A. hypogaea* seedlings to a certain extent and affect the expression response patterns of related *AhNPF* candidate genes. [Ch, 7 fig. 1 tab. 39 ref.]

Key words: *Arachis hypogaea*; *NPF* gene family; *T2T* genome; salt stress; drought stress

花生 *Arachis hypogaea* 是全球广泛种植的油料与经济作物，在保障国内食用油安全体系中占据重要地位[1]。氮是植物生长发育必需的大量元素，参与叶绿素、核酸、蛋白质等生物大分子合成，直接决定作物产量与品质[2−3]。花生兼具根系直接吸氮与根瘤菌共生固氮双重氮素获取途径。氮素代谢调控机制具有物种特异性[4]。近年来，全球气候异常导致干旱、土壤盐渍化等非生物胁迫频发[5]。花生对干旱、盐胁迫高度敏感[6]。胁迫环境会显著抑制花生根系对氮素的吸收与转运，同步加剧氮素利用效率降低与减产问题。因此，挖掘兼具氮素转运与逆境响应潜力的候选基因，分析其表达响应特征，对培育节氮、抗逆花生新品种具有重要意义。

硝酸盐是植物从土壤中吸收氮素的主要形态，其跨膜转运过程由特异性硝酸盐转运蛋白家族介导，其中 NPF (NRT1/PTR) 家族是成员最多、功能最广泛的超家族[7]。与高亲和性硝酸盐转运蛋白 NRT2 家族不同[8]，NPF 家族成员多为低/双亲和性转运蛋白，不仅能介导硝酸盐、肽类、氨基酸的跨膜转运，还能转运生长素 (IAA)、脱落酸 (ABA)、赤霉素 (GA) 等植物激素，是连接氮素代谢网络与激素信号通路的关键节点[9−10]。近年来研究表明：*NPF* 家族成员还参与植物对干旱、盐渍、低温等非生物胁迫的响应过程[11]。目前，*NPF* 基因家族的全基因组鉴定与功能解析已在多种植物中取得系列进展[12]。全基因组水平的鉴定结果显示，拟南芥 *Arabidopsis thaliana* 中 53 个 *NPF* 成员分属 8 个亚家族[7]，水稻 *Oryza sativa*、玉米 *Zea mays*、棉花 *Gossypium hirsutum* 中分别鉴定出 93、79、75 个成员[13−15]，而小麦 *Triticum aestivum* 作为异源六倍体作物，其 *NPF* 家族规模显著扩张，共鉴定出 331 个成员，介导复杂的氮素响应与分配过程[16]。功能研究进一步表明：该家族成员兼具氮素转运与逆境响应的双重功能[17]，拟南芥 *AtNPF6.3* (*AtNRT1.1*) 以双亲和特性调控硝酸盐的吸收与信号感知，同时可介导脱落酸转运参与干旱胁迫响应[18]；烟草 *Nicotiana tabacum NtNPF6.13* 的过表达能同步提升植株耐盐性与氮素吸收效率[19]；甜瓜

Cucumis melo CmNPF7.3 可通过提高植株硝酸盐积累、增强抗氧化能力与光合效率显著提升耐盐性[20]。然而，作为重要油料作物的花生，其 *NPF* 家族的系统鉴定尚未开展，关于家族进化扩张特征、亚家族分化及非生物胁迫响应模式仍缺乏系统研究，这极大限制了该基因家族在花生氮高效利用与抗逆分子育种中的靶向应用。

栽培花生为异源四倍体作物，以往研究依赖碎片化基因组组装序列，存在序列缺口、组装错误等问题，导致 *NPF* 基因家族鉴定不完整、结构分析存在偏差[21−22]。花生端粒到端粒 (*T2T*) 无缺口高质量基因组的发布，实现了 20 条染色体的完整组装，为基因家族的完整鉴定与系统分析提供了可靠数据基础[23]。本研究基于花生 *T2T* 基因组系统鉴定 *NPF* 基因家族，并结合进化分析、结构特征、启动子元件、公开转录组和实时荧光定量聚合酶链式反应 (RT-qPCR) 验证，解析其盐、干旱胁迫响应模式。同时，通过氧化石墨烯 (GO) 处理下的幼苗表型和生长指标评价其对非生物胁迫的缓解作用。

1　材料与方法

1.1　研究材料及数据来源

本研究所用基因组数据为栽培花生品种‘远杂 9102’‘YZ9102’的 *T2T* 高质量基因组，其蛋白序列及基因组注释文件从 Figshare 数据库下载[23]，‘远杂 9102’为异源四倍体栽培花生，基因组组成为 AABB，染色体数为 $2n=4x=40$。氧化石墨烯表型试验及 RT-qPCR 表达验证以栽培花生品种‘豫花 9326’‘YH9326’为材料。上述材料均为异源四倍体栽培花生。

1.2　花生 *NPF* 基因家族的鉴定

以拟南芥 NPF 蛋白为查询序列对花生蛋白序列进行 BLASTP 搜索，*E* 的阈值设为 1×10^{-5}。从 Pfam 数据库[24] 下载 MFS_1 结构域 (PF00854) HMM 模型，采用 HMMER 3.0 进行搜索，*E* 的阈值设为 1×10^{-10}。合并 2 种方法获得的候选序列，并经 CDD 和 Pfam 验证结构域完整性，去除冗余和缺失完整结构域的序列，最终获得 *AhNPF* 家族成员。

1.3　花生 *NPF* 基因家族的理化性质及亚细胞定位分析

利用在线工具 ExPASy-ProtParam[25] 分析筛选出的花生 *NPF* 基因家族蛋白序列氨基酸数量、分子质量、等电点、不稳定系数和亲水性等理化性质。同时，借助 WoLF PSORT[26] 预测花生 NPF 蛋白的亚细胞定位。

1.4　花生 *NPF* 基因家族的系统发育分析

使用 MUSCLE 对花生与拟南芥 NPF 蛋白序列进行多序列比对，并基于 iqtree[27] 采用最大似然 (ML) 方法构建进化树，Bootstrap 值设置为 1 000 次重复。参照拟南芥 *NPF* 家族经典的亚家族分类标准[7]，结合进化树的聚类分支特征对 *AhNPF* 基因进行命名和亚家族划分，并利用在线软件 iTOL[28] 对进化树进行美化。

1.5　花生 *NPF* 基因家族的基因结构与保守基序分析

基于基因组注释文件，使用 TBtools 软件[29] 展示 *AhNPF* 基因外显子/内含子结构。使用 MEME Suite[30] 预测保守基序，基序数量设为 10，并利用 TBtools 进行可视化。

1.6　花生 *NPF* 基因家族的顺式作用元件分析

使用 PlantCARE[31] 在线工具分析 *AhNPF* 基因上游 2 000 bp 的基因组序列中的顺式作用元件，利用 TBtools 进行顺式作用元件的可视化。

1.7　染色体定位和共线性分析

使用 TBtools 绘制染色体位置分布图，采用 MCScanX[32] 分析基因复制与种间共线性关系，并计算重复基因对的非同义替换率 (K_a)、同义替换率 (K_s) 及 K_a/K_s 比值。

1.8　花生 *NPF* 基因的表达模式分析

本研究采用的花生盐、干旱胁迫转录组数据均来自公开发表的高通量测序研究[33−34]，其供试材料分别为栽培花生品种‘花育 5 号’‘HY5’和‘农花 5 号’‘NH5’，两者均为异源四倍体栽培花生。盐胁迫与氧化石墨烯预处理：设蒸馏水对照 (ck1)、200 mmol·L^{-1} 氯化钠 (NaCl) 胁迫 (T1)、400 mg·L^{-1} 氧化石墨烯 (G400) 处理 (T2)、400 mg·L^{-1} 氧化石墨烯+200 mmol·L^{-1} 氯化钠复合处理 4 个组 (T3)；干旱胁

迫处理：设霍格兰氏营养液对照 (ck2)、20% PEG 6000 处理 4 h (DT1)、20% PEG 6000 处理 8 h (DT2)、20% PEG 6000 处理 24 h (DT3) 4 个组。基于前期鉴定的花生 *NPF* 基因序列，从转录组数据中提取 *AhNPF* 基因的每百万映射读数中每千碱基转录本的片段数 FPKM (F_{PKM})，剔除平均 F_{PKM}＜1 的低表达基因，经 $\log_2(F_{PKM}+1)$ 转换后绘制热图。差异响应基因依据公开数据中各处理间表达变化进行筛选，筛选标准为$|\log_2 F_C|$＞1、FDR＜0.05 (F_C 为差异倍数，FDR 为错误发现率)。

1.9 花生盐和干旱胁迫下生长表型分析

花生种子经表面消毒后播种于蛭石/营养土混合基质中，在人工气候室内培养。培养温度为 25 ℃、光周期为 16 h 光/8 h 暗、相对湿度为 60%。待幼苗长至三叶期后进行胁迫处理。氧化石墨烯溶液经超声分散后使用，处理方式为灌根。盐胁迫试验设置 5 个处理：蒸馏水对照 (ck3)、200 mmol·L^{-1} 氯化钠 (YT1)、200 mmol·L^{-1} 氯化钠+50 mg·L^{-1} 氧化石墨烯 (YT2)、200 mmol·L^{-1} 氯化钠+100 mg·L^{-1} 氧化石墨烯 (YT3)、200 mmol·L^{-1} 氯化钠+200 mg·L^{-1} 氧化石墨烯 (YT4)；干旱胁迫试验设置 5 个处理：蒸馏水对照 (ck4)、15% PEG 6000 (GT1)、15% PEG 6000+50 mg·L^{-1} 氧化石墨烯 (GT2)、15% PEG 6000+100 mg·L^{-1} 氧化石墨烯 (GT3)、15% PEG 6000+200 mg·L^{-1} 氧化石墨烯 (GT4)。每个处理设置 3 个生物学重复，每个重复包含 8 株幼苗。处理期间保持光照、温度、湿度和水分管理条件一致。胁迫处理 21 d 后拍照记录植株表型，并测定株高和地上部鲜质量。试验数据采用单因素方差分析比较不同处理间差异，P＜0.05 表示差异显著。

1.10 RT-qPCR 表达验证

RT-qPCR 验证以‘豫花 9326’‘YH9326’为材料，对于处理后的花生幼苗采集相同部位叶片用于 RNA 提取和 cDNA 合成。以 Actin 作为内参基因，每个处理设置 3 个生物学重复，每个样品设置 3 个技术重复。候选基因相对表达量采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算，并进行单因素方差分析，P＜0.05 表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 *AhNPF* 基因家族鉴定与理化性质分析

对花生 *T2T* 基因组进行系统性搜索与保守结构域验证，共鉴定获得 134 个 *AhNPF* 成员。理化性质分析表明 (表 1)：AhNPF 蛋白的氨基酸序列长度为 116~627 aa，分子量为 12.82~69.62 kDa，理论等电点 (pI) 为 5.45~9.73，其中 107 个成员的理论等电点＞7.00；不稳定系数为 17.30~51.08，108 个成员不稳定系数＜40，为稳定蛋白；脂肪系数均较高，为 86.98~121.81；所有成员的疏水性指数 (GRAVY) 均为正值，表明 AhNPF 蛋白整体表现为疏水性。亚细胞定位预测结果显示：134 个 *AhNPF* 成员中，127 个定位于质膜，其余少数成员定位于叶绿体、液泡或胞外，说明 AhNPF 蛋白主要发挥膜转运相关功能。

2.2 *AhNPF* 基因家族系统发育分析

为明确 *AhNPF* 基因家族的进化关系，构建花生与拟南芥 NPF 蛋白的系统进化树 (附图 1)。结果表明：134 个 *AhNPF* 基因可清晰划分为 8 个独立的亚家族 (*NPF1*~*NPF8*)，其中 *NPF5* 亚家族成员数量最多，为 34 个；*NPF4* 亚家族次之，为 26 个；*NPF3* 亚家族成员最少，为 6 个。*NPF5* 和 *NPF4* 成员合计占家族总数的 44.8%，提示这 2 个亚家族在花生中发生了明显扩张。

2.3 *AhNPF* 基因家族保守基序与基因结构分析

为进一步揭示基因序列与结构特征，对 *AhNPF* 基因的结构与保守基序进行分析 (图 1)。结果表明：*AhNPF* 基因家族具有高度的结构保守性。134 个 *AhNPF* 基因的外显子数量为 1~6 个，其中 122 个成员含 3~5 个外显子，是花生 *NPF* 家族的典型基因结构特征，且同一亚家族的成员具有几乎一致的外显子/内含子数量与分布模式，如 *NPF3* 亚家族所有成员均含 4 个外显子，*NPF2* 亚家族成员均含 3~4 个外显子，进一步支持了亚家族划分的合理性。保守基序分析共鉴定出 10 个核心基序，其中 97 个 *AhNPF* 成员包含完整的 10 个基序，表明 *AhNPF* 家族基序组成较为保守。

2.4 *AhNPF* 基因家族染色体分布与复制进化分析

染色体定位分析结果表明 (图 2)：134 个 *AhNPF* 基因不均匀地分布在花生的 20 条染色体上。其中，Chr13 上分布的基因数量最多，并在 Chr03、Chr13 等染色体末端形成明显串联重复基因簇。本研究通过 Circos 图分析了花生 *AhNPF* 基因家族的染色体分布与复制事件 (图 3)。结果显示：*AhNPF* 基因家族

表 1　花生 *NPF* 基因家族蛋白理化性质及亚细胞定位预测

Table 1　Physicochemical properties and subcellular localization prediction of *NPF* gene family proteins in *A. hypogaea*

基因名称	氨基酸数/aa	分子量/kDa	等电点	不稳定系数	脂肪系数	疏水性指数	亚细胞定位
AhNPF1.1	573	62 424.47	7.03	41.06	105.01	0.364	质膜
AhNPF1.2	573	62 574.66	7.03	41.22	104.83	0.361	质膜
AhNPF1.3	574	64 078.58	8.63	46.03	100.80	0.245	质膜
AhNPF1.4	576	64 301.03	9.20	45.47	101.81	0.252	质膜
AhNPF1.5	585	64 383.98	5.71	34.91	104.56	0.406	质膜
AhNPF1.6	545	59 923.64	5.93	36.95	101.49	0.348	质膜
AhNPF1.7	614	66 996.80	8.77	47.16	98.68	0.196	质膜
AhNPF1.8	613	67 050.94	8.77	45.12	99.48	0.197	质膜
AhNPF1.9	621	68 482.90	9.13	38.08	101.82	0.237	质膜
AhNPF1.10	588	65 017.23	9.55	36.08	102.57	0.284	质膜
AhNPF1.11	570	63 502.39	8.72	36.47	109.98	0.344	质膜
AhNPF1.12	570	63 578.49	8.91	37.30	109.47	0.328	质膜
AhNPF2.1	314	34 850.47	9.39	17.30	88.79	0.080	质膜
AhNPF2.2	314	34 850.47	9.39	17.30	88.79	0.080	质膜
AhNPF2.3	618	68 802.18	9.14	33.32	95.13	0.160	质膜
AhNPF2.4	618	68 930.42	9.27	33.26	94.35	0.150	质膜
AhNPF2.5	605	67 450.47	8.80	35.47	100.08	0.206	质膜
AhNPF2.6	605	67 456.46	8.80	36.81	100.73	0.197	质膜
AhNPF2.7	616	68 190.36	8.91	33.21	99.35	0.224	质膜
AhNPF2.8	616	68 200.44	9.02	32.62	99.68	0.228	质膜
AhNPF2.9	611	68 793.79	8.97	46.54	101.46	0.238	质膜
AhNPF2.10	604	67 748.49	8.33	45.56	102.47	0.258	质膜
AhNPF2.11	626	69 623.71	8.74	42.07	96.23	0.189	质膜
AhNPF2.12	626	69 443.46	8.64	40.45	95.93	0.191	质膜
AhNPF2.13	518	57 549.17	8.88	39.41	103.71	0.254	质膜
AhNPF2.14	587	65 169.50	8.79	36.18	108.43	0.395	质膜
AhNPF2.15	602	67 511.65	9.21	33.20	99.30	0.164	质膜
AhNPF2.16	602	67 515.64	9.21	34.12	99.47	0.156	质膜
AhNPF2.17	602	67 673.64	9.12	36.24	97.71	0.132	质膜
AhNPF2.18	602	67 666.73	9.21	37.70	98.67	0.148	质膜
AhNPF2.19	535	58 961.78	8.97	35.74	105.66	0.487	质膜
AhNPF2.20	280	30 411.16	9.19	32.67	98.54	0.431	液泡
AhNPF2.21	545	60 402.37	9.15	32.57	104.28	0.431	质膜
AhNPF2.22	546	60 507.53	9.22	33.65	105.33	0.447	质膜
AhNPF3.1	578	63 966.42	9.07	28.85	99.05	0.223	质膜
AhNPF3.2	578	63 988.37	8.81	29.47	98.88	0.233	质膜
AhNPF3.3	605	67 910.67	8.96	45.02	104.25	0.217	质膜
AhNPF3.4	614	69 007.05	8.66	43.50	102.54	0.066	质膜
AhNPF3.5	612	68 327.28	8.70	41.97	97.17	0.102	质膜
AhNPF3.6	612	68 333.24	8.70	41.14	96.70	0.092	质膜

说明：仅列举部分基因。

成员在 20 条染色体上广泛分布，但分布不均匀，部分染色体存在基因聚集现象。基因复制事件分析共鉴定出 24 对串联重复基因和 68 对片段重复基因，表明片段重复是 *AhNPF* 基因家族扩张的主要方式，而串联重复也在局部扩张中发挥了补充作用。为解析花生 *AhNPF* 基因家族复制基因对的进化选择压力，本研究计算了所有片段复制和串联复制基因对的 K_a/K_s 值，并绘制了核密度分布曲线 (图 4)。结果显示：*AhNPF* 基因对的 K_a/K_s 值的分布峰值为 0.161，绝大多数基因对的比值显著小于 1。

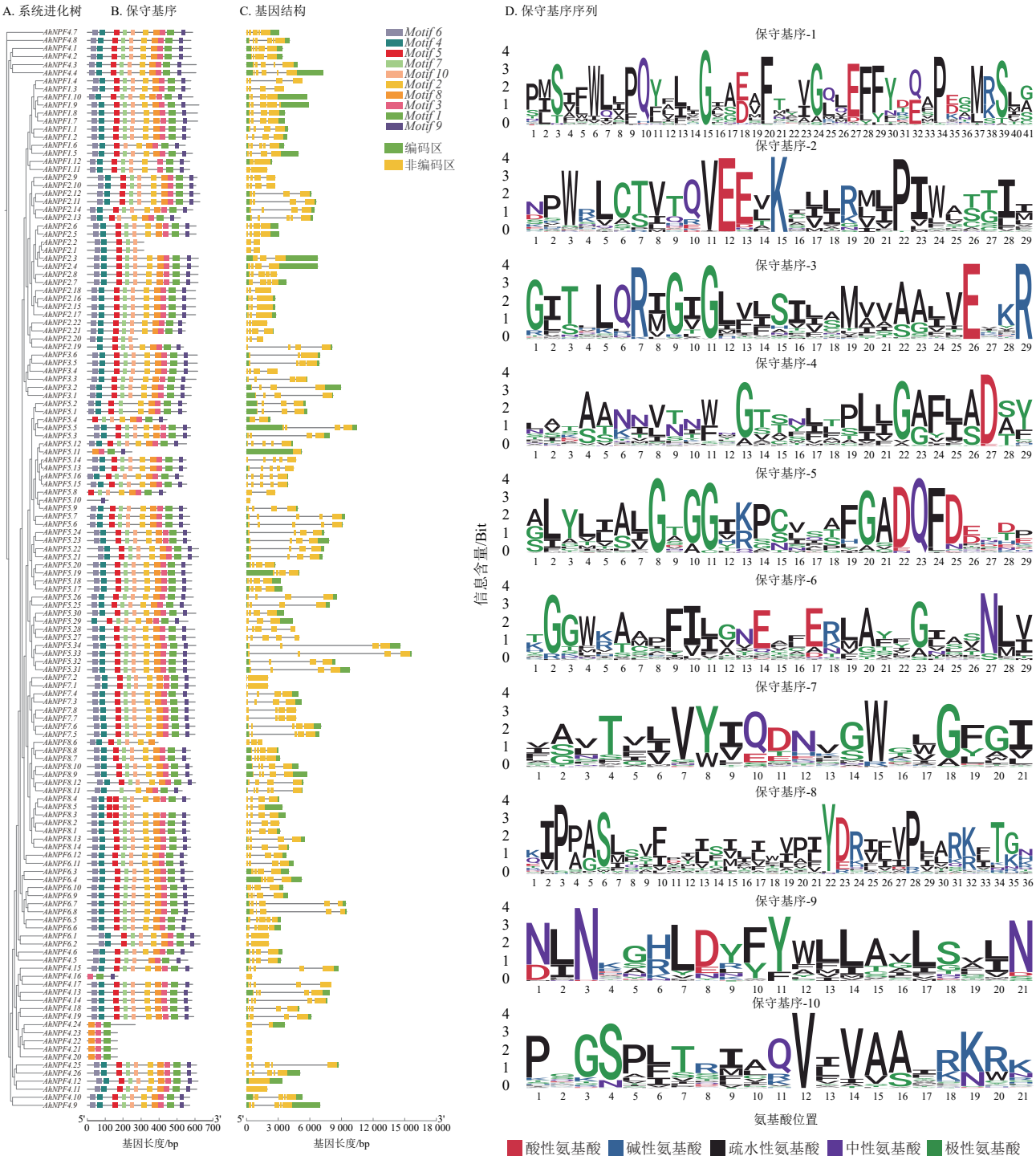


图 1 *AhNPF* 基因家族的保守基序和基因结构

Figure 1 Conserved motifs and gene structure of *AhNPF* genes family

种间共线性分析结果表明 (图 5)：花生与大豆 *Glycine max* 间存在高度的共线性关系，两者 20 条染色体间形成了密集的共线性连线，共鉴定出 271 对同源共线性基因；花生与拟南芥 *Arabidopsis thaliana* 共线性关系相对稀疏，仅鉴定出 74 对同源共线性基因，在拟南芥与花生多条染色体间保留了部分保守的同源基因对。这一结果表明，*NPF* 家族在豆科 Fabaceae 植物的进化过程中具有高度的保守性，且花生在进化过程中发生了物种特异性的基因复制事件，可能与 *NPF5* 和 *NPF4* 亚家族扩张有关。

2.5 *AhNPF* 基因家族启动子区的顺式作用元件特征

对花生 *NPF* 基因上游启动子区域的顺式作用元件进行分析 (附图 2)，结果表明：转录因子结合元件中，MYB 元件有 583 个，MYC 元件有 498 个，两者常与植物胁迫响应和次生代谢调控相关，表明

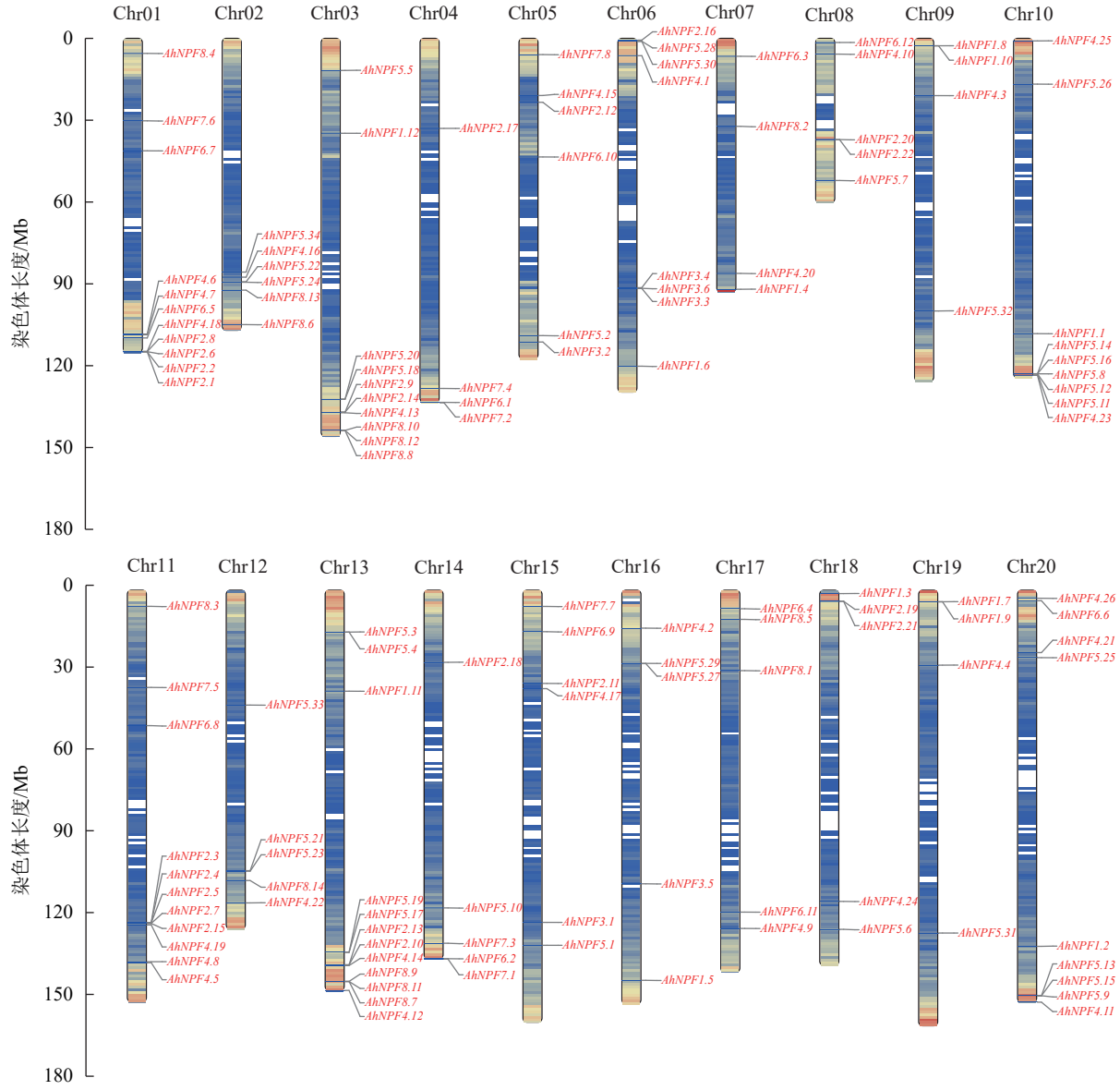


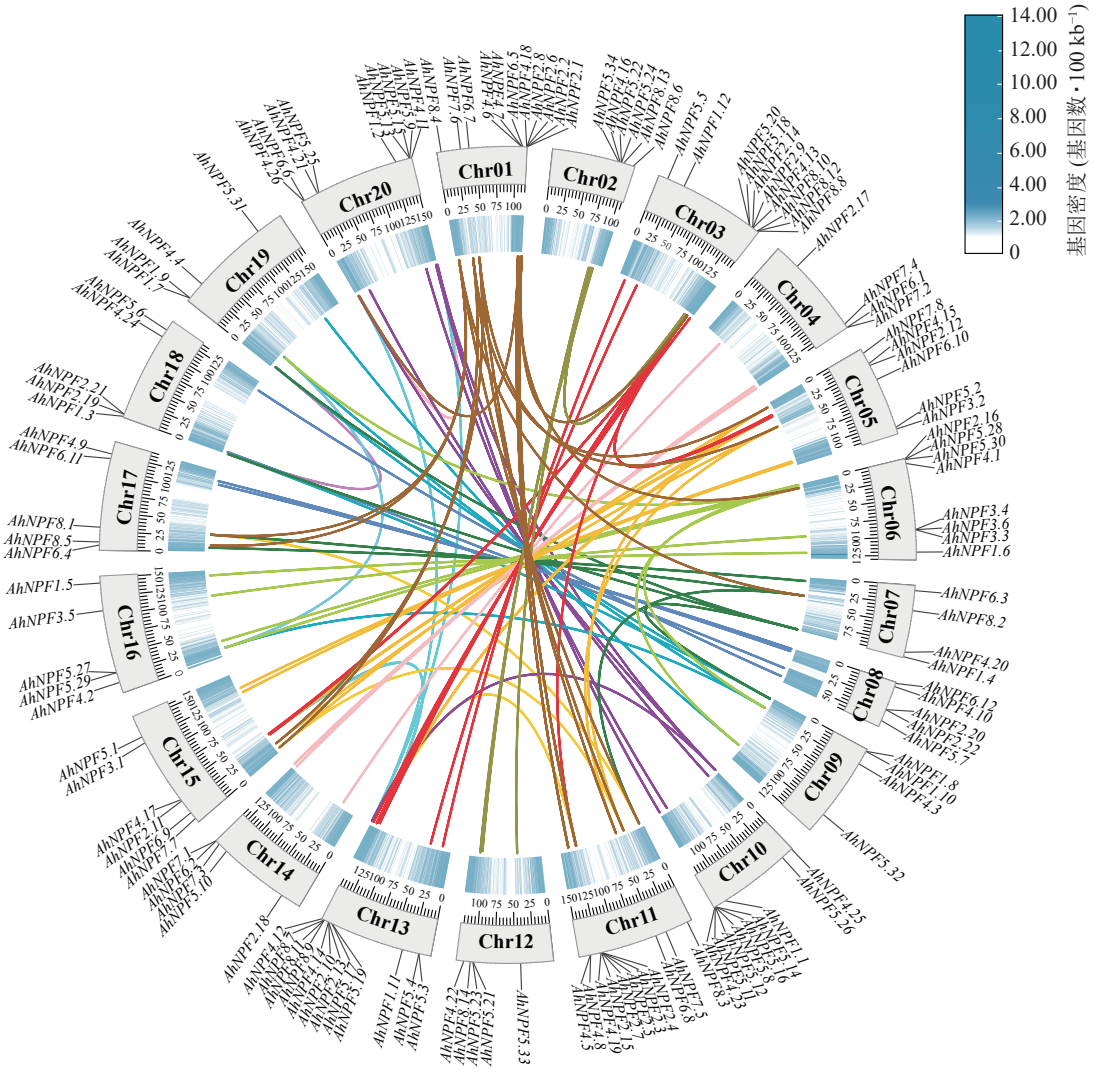
图 2　花生 *NPF* 基因家族成员染色体定位

Figure 2　Chromosome mapping of *NPF* gene family members in *A. hypogaea*

NPF 家族可能通过 MYB/MYC 介导的信号通路参与花生的抗逆调控；激素响应元件中，脱落酸响应元件 ABRE 的数量最多，为 307 个；其次为乙烯 (ETH) 响应元件 ERE (293 个)、茉莉酸甲酯 (MeJA) 响应元件 TGACG-motif 和 CGTCA-motif (各 141 个)，提示 *AhNPF* 基因可能受到脱落酸、乙烯和茉莉酸甲酯等激素信号的调控；光响应元件 G-box (242 个) 和 GT1-motif (196 个) 的分布表明，*AhNPF* 基因可能参与花生光合作用或光周期调控的生物学过程；非生物胁迫相关元件中，检测到厌氧诱导元件 ARE (201 个)、机械损伤响应元件 WUN-motif (111 个) 和干旱响应元件 MBS (69 个)，提示 *NPF* 基因家族可能参与花生对厌氧、机械损伤和干旱等胁迫的响应。

2.6　*AhNPF* 基因家族在盐胁迫下的表达模式及 RT-qPCR 验证

基于公开转录组数据分析盐胁迫下 *AhNPF* 基因家族的表达变化。在 134 个 *AhNPF* 家族基因中，筛选获得 20 个盐胁迫响应基因。结果显示：氯化钠胁迫显著改变了部分 *AhNPF* 基因的表达模式，其中部分基因在盐胁迫处理后明显上调，表现出较强的盐胁迫响应特征；另有部分基因表达水平下降，说明 *AhNPF* 家族成员对盐胁迫存在差异化转录响应。与氯化钠单独处理相比，氧化石墨烯与氯化钠复合处理后部分盐胁迫诱导型基因的表达水平出现回落，提示氧化石墨烯可能影响盐胁迫条件下 *AhNPF* 基因的表达响应 (图 6A)。



图中圆环内不同颜色弧线代表染色体之间的共线性区段 (同源基因对)，每条弧线连接2条染色体上的同源基因，不同颜色用于区分不同的染色体配对 。

图 3 Circos 生成的花生基因组中片段重复 *NPF* 基因的分布

Figure 3 Distribution of segmentally duplicated *NPF* genes in the *A. hypogaea* genome generated by Circos

表型分析结果显示：氯化钠胁迫显著抑制花生幼苗生长，表现为株高和地上部鲜质量降低 ($P<0.05$)；氧化石墨烯复合处理可不同程度缓解盐胁迫造成的生长抑制，其中 100 mg·L^{-1} 氧化石墨烯处理效果较为明显 (图 6B~D)。为进一步验证转录组分析结果，本研究从盐胁迫下显著上调的基因中选取 *AhNPF6.5* 和 *AhNPF6.6* 进行 RT-qPCR 验证。结果表明，*AhNPF6.5* 和 *AhNPF6.6* 在氯化钠胁迫下均显著上调 ($P<0.05$)，而氯化钠+氧化石墨烯复合处理使 2 个基因表达量出现不同程度下降，其中氯化钠+100 mg·L^{-1} 氧化石墨烯处理下回调幅度较明显。RT-qPCR 结果与转录组表达趋势基本一致 (图 6E、F)，表明 *AhNPF6.5* 和 *AhNPF6.6* 可作为花生盐胁迫响应候选基因，氧化石墨烯处理可能通过缓解胁迫强度而降低盐胁迫诱导的转录响应水平。

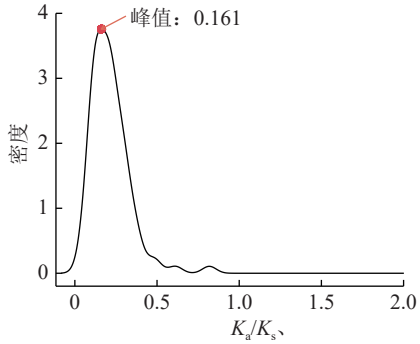
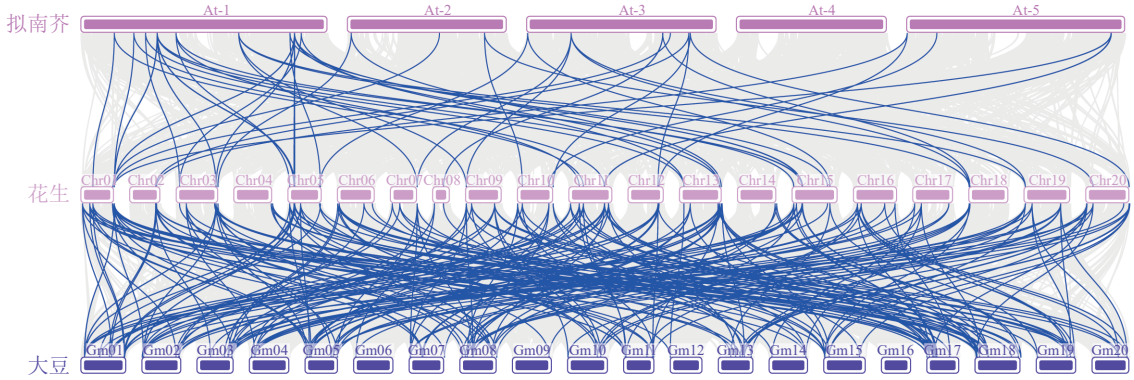


图 4 花生 *NPF* 家族 K_a/K_s 密度分布图

Figure 4 Density distribution plot of K_a/K_s values for the *NPF* gene family in *A. hypogaea*

2.7 *AhNPF* 基因家族在干旱胁迫下的表达模式及 RT-qPCR 验证

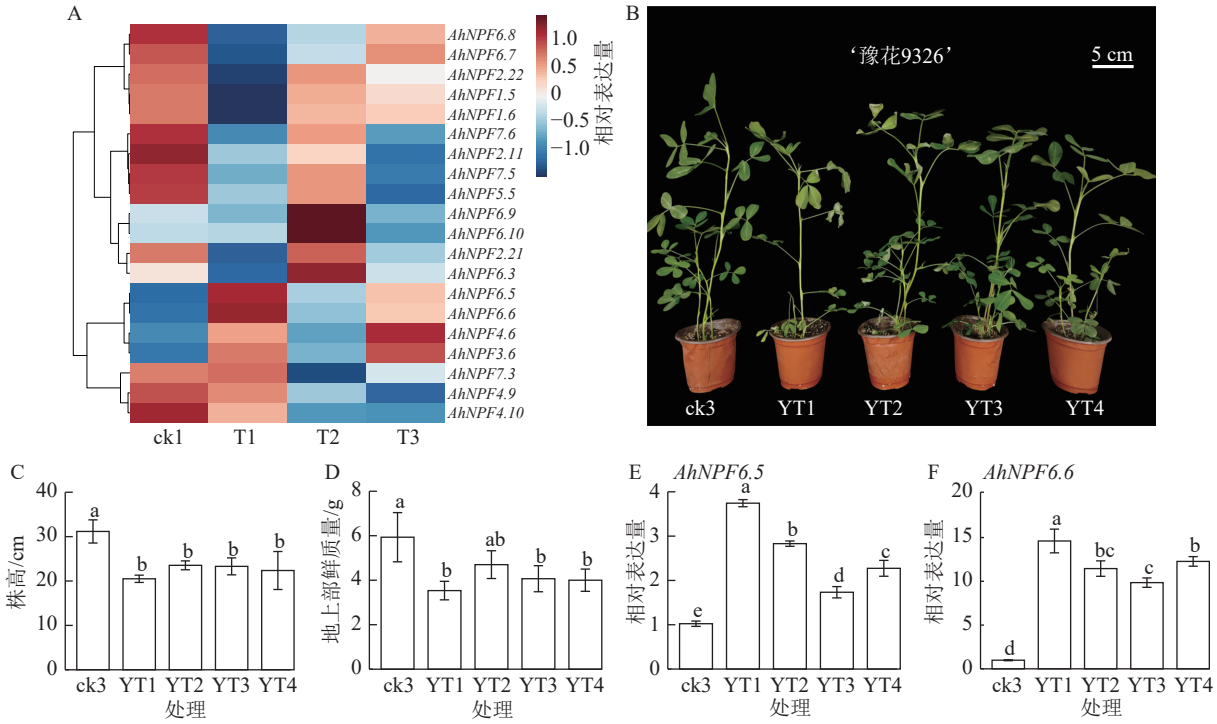
基于公开转录组数据分析干旱胁迫下 *AhNPF* 基因家族的表达变化 (图 7A)。在 *AhNPF* 基因家族中，



At-1~5、Ch01~20、Gm01~20分别为拟南芥、花生、大豆的染色体。

图 5　花生、拟南芥和大豆中 *NPF* 基因的共线性分析

Figure 5　Syntenic analysis of *NPF* genes among *Arachis hypogaea*, *Arabidopsis thaliana* and *G. max*



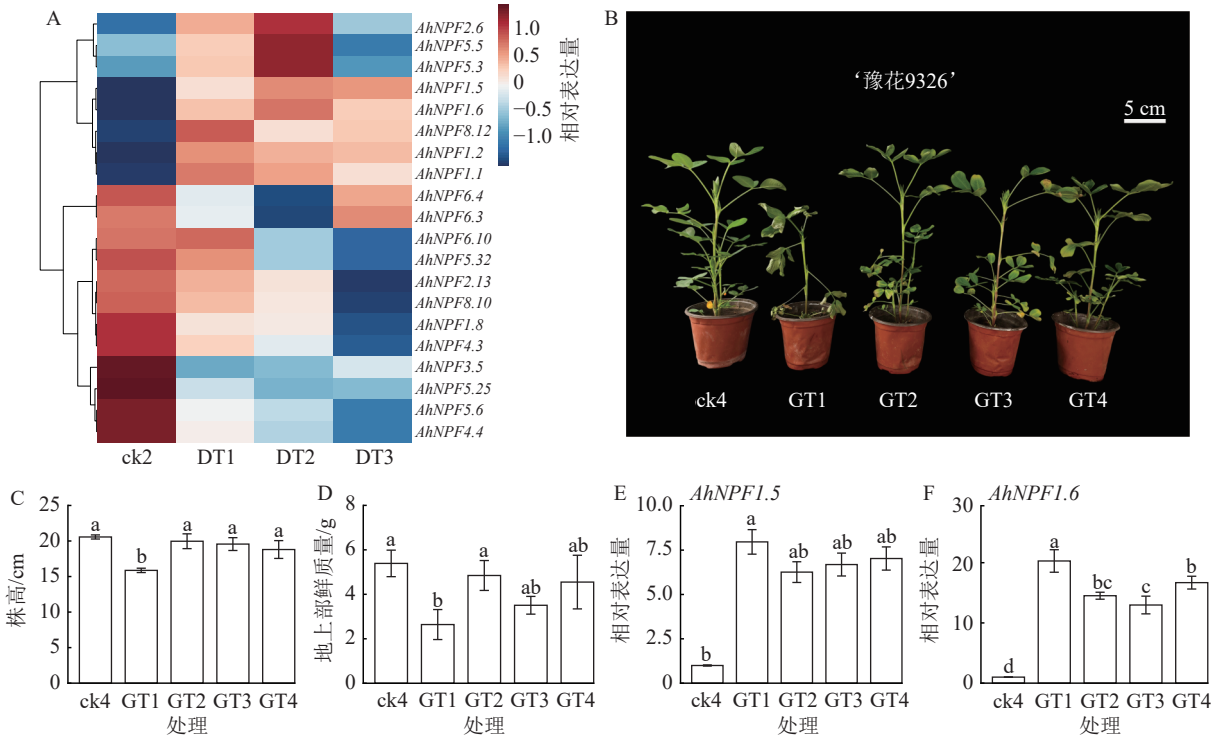
A.盐胁迫和氧化石墨烯处理下*AhNPF*表达热图，左侧为*AhNPF*基因表达的层次聚类树。ck1. 对照；T1. 200 mmol·L^{-1}氯化钠胁迫；T2. 400 mg·L^{-1}氧化石墨烯处理；T3. 200 mmol·L^{-1}氯化钠+400 mg·L^{-1}氧化石墨烯复合处理。B. 盐胁迫与氧化石墨烯处理表型图。C. 盐胁迫下株高。D. 盐胁迫下地上部鲜质量。E. RT-qPCR 检测*AhNPF6.5*相对表达量。F. RT-qPCR检测*AhNPF6.6*相对表达量。不同小写字母代表处理间差异显著(P<0.05)。ck3. 对照；YT1. 200 mmol·L^{-1}氯化钠；YT2. 200 mmol·L^{-1}氯化钠+50 mg·L^{-1}氧化石墨烯；YT3. 200 mmol·L^{-1}氯化钠+100 mg·L^{-1}氧化石墨烯；YT4. 200 mmol·L^{-1}氯化钠+200 mg·L^{-1}氧化石墨烯。

图 6　盐胁迫下花生 *AhNPF* 基因表达验证及生长指标

Figure 6　Expression validation of *AhNPF* genes and growth parameters of *A. hypogaea* under salt stress

筛选出干旱胁迫响应基因。结果显示：家族成员对干旱胁迫呈现差异化的表达模式，部分基因在干旱处理后表达水平显著上调，另一部分基因表达受到抑制，表现出明显的转录响应差异。部分成员在 PEG 6000 处理组 (DT1、DT2、DT3) 中诱导表达显著 (P<0.05)，提示这些 *AhNPF* 基因可能参与花生对干旱逆境的应答过程，不同亚家族成员对干旱胁迫的响应程度存在区别。

表型分析结果显示：PEG 6000 模拟干旱胁迫显著抑制花生幼苗生长 (P<0.05)，表现为株高和地上部鲜质量降低；而 PEG 6000 与氧化石墨烯复合处理可不同程度缓解干旱胁迫造成的生长抑制，改善幼苗生长状态 (图 7B~D)。为进一步验证转录组分析结果，本研究从干旱胁迫响应基因中选取 *AhNPF1.5* 和 *AhNPF1.6* 进行 RT-qPCR 验证。结果表明：PEG 6000 处理显著诱导 *AhNPF1.5* 和 *AhNPF1.6* 表达 (P<0.05)，与转录组分析结果基本一致；与 PEG 6000 单独处理相比，PEG 6000+氧化石墨烯复合



A.干旱胁迫处理下*AhNPF*表达热图，左侧为*AhNPF*基因表达的层次聚类树。ck2. 对照；DT1. 20%PEG 6000处理4 h；DT2. 20%PEG 6000处理8 h；DT3. 20%PEG 6000处理24 h。B. 干旱胁迫与氧化石墨烯处理表型图。C. 干旱胁迫下株高。D. 干旱胁迫下地上部鲜质量。E. RT-qPCR 检测*AhNPF1.5*相对表达量。F. RT-qPCR检测*AhNPF1.6*相对表达量。不同小写字母代表处理间差异显著($P<0.05$)。ck4. 对照；GT1. 15%PEG 6000；GT2. 15%PEG 6000+50 mg·L^{-1}氧化石墨烯；GT3. 15%PEG 6000+100 mg·L^{-1}氧化石墨烯；GT4. 15% PEG 6000+200 mg·L^{-1}氧化石墨烯。

图 7 干旱胁迫下花生 *AhNPF* 基因表达验证及生长指标

Figure 7 Expression validation of *AhNPF* genes and growth parameters of *A. hypogaea* under drought stress

处理后 2 个基因表达水平均出现不同程度下降 (图 7E、F)。上述结果表明，*AhNPF1.5* 和 *AhNPF1.6* 可作为花生干旱胁迫响应候选基因，氧化石墨烯处理可能通过缓解干旱胁迫而影响相关基因的诱导表达水平。

3 讨论

3.1 基于 *T2T* 基因组的花生 *NPF* 家族进化扩张与结构保守性

基因家族的全基因组鉴定高度依赖于基因组组装的完整性。以往基于碎片化基因组的研究常因序列缺口导致鉴定不全或启动子分析偏差。基于花生 *T2T* 基因组，本研究鉴定获得 134 个 *AhNPF* 成员，为花生 *NPF* 家族系统分析提供了基因资源。这一数量远高于拟南芥 (53 个)[7]、水稻 (93 个)[13]，低于小麦 (331 个)[16]，说明异源四倍体化和后续基因复制事件可能是驱动该家族扩张的重要原因。

共线性和复制模式分析表明：片段重复是 *AhNPF* 家族扩张的主要驱动力，串联重复在局部形成了部分基因簇。这一扩张模式与大豆[35]、棉花[15] 等其他异源多倍体作物中 *NPF* 家族的进化特征相符，表明全基因组复制和片段复制是植物 *NPF* 家族规模扩大的重要机制。K_a/K_s 分析结果进一步揭示了 *AhNPF* 家族扩张后的进化选择约束。绝大多数基因对的比值显著小于 1，表明该家族在进化过程中主要受到强烈的纯化选择压力，非同义突变受到严格的选择约束，以维持蛋白序列和功能的保守性。这一结果表明，*NPF* 家族作为植物中负责硝酸盐、寡肽、植物激素等多种底物跨膜转运的核心蛋白家族[36]，其转运功能相关核心结构域通常需要保持较高保守性，破坏核心功能的非同义突变可能更易受到负选择作用[37]。这种纯化选择趋势与 Motif 和基因结构的保守性基本一致。与此同时，基因结构和保守基序分析显示，同一亚家族成员之间外显子-内含子结构和 Motif 组成高度一致，而不同亚家族之间又存在明显差异，说明该家族既保持了较强的结构保守性，又在不同进化分支上形成了潜在的功能分化，为后续基于亚家族推测功能提供了依据。

3.2 *AhNPF* 基因的盐、干旱胁迫响应模式及氧化石墨烯的缓解效应

NPF 家族不仅参与硝酸盐等营养物质跨膜转运，也与植物激素运输和逆境响应密切相关。本研究在 *AhNPF* 基因启动子区域鉴定到大量 ABRE、ERE、MYB、MYC 和 MBS 等激素及胁迫响应元件，提示 *AhNPF* 基因具备参与非生物胁迫调控的潜力[38−39]。结合公开转录组数据可以看出，*AhNPF6.5* 和 *AhNPF6.6* 在盐胁迫条件下显著诱导，*AhNPF1.5* 和 *AhNPF1.6* 在干旱胁迫条件下持续高表达，提示这几类基因可能是花生响应盐和干旱胁迫的重要候选成员。与此同时，部分基因在胁迫下被抑制，说明 *NPF* 家族在不同亚家族、不同成员之间存在明显的表达分化，这种分化可能与其启动子元件组成及进化来源差异有关。

为进一步验证转录组筛选结果，本研究对 *AhNPF6.5*、*AhNPF6.6*、*AhNPF1.5* 和 *AhNPF1.6* 进行了 RT-qPCR 分析。结果表明：*AhNPF6.5* 和 *AhNPF6.6* 在氯化钠胁迫下显著上调，*AhNPF1.5* 和 *AhNPF1.6* 在 PEG 6000 模拟干旱胁迫下明显诱导，RT-qPCR 结果与转录组表达趋势基本一致，增强了候选基因筛选结果的可靠性。*AhNPF6.5* 和 *AhNPF6.6* 属于 *NPF6* 亚家族，该亚家族在烟草[19]、甜瓜[20] 等作物中已被证实兼具硝酸盐转运与耐盐功能。这一结果与其他作物中 *NPF6* 亚家族参与盐胁迫响应的报道相一致，提示 *AhNPF6.5* 和 *AhNPF6.6* 可能参与花生盐胁迫响应。*AhNPF1.5* 和 *AhNPF1.6* 属于 *NPF1* 亚家族，其在干旱胁迫下持续上调，提示其可能参与干旱条件下氮素转运、渗透调节或激素信号调控过程。

氧化石墨烯复合处理后，上述胁迫诱导型 *AhNPF* 基因表达水平均较单一胁迫处理出现不同程度回调。该现象可能并不意味着氧化石墨烯直接抑制 *AhNPF* 基因表达，而更可能反映氧化石墨烯缓解盐、干旱胁迫后，植株所感受到的胁迫强度降低，从而导致胁迫响应基因表达水平下降。表型结果也支持这一推测，盐胁迫和 PEG 6000 模拟干旱胁迫均显著抑制花生幼苗生长，而氧化石墨烯复合处理可提高胁迫条件下的株高和地上部鲜质量，说明氧化石墨烯能够在一定程度上缓解非生物胁迫造成的生长损伤。

4　结论

本研究基于花生 *T2T* 高质量基因组，全基因组鉴定获得 134 个 *AhNPF* 基因，划分为 8 个亚家族。AhNPF 蛋白主要定位于质膜，多数成员表现为疏水性稳定蛋白特征；片段重复是驱动家族扩张的主要方式，纯化选择在维持家族功能保守性中发挥重要作用。*AhNPF* 基因启动子富含激素及非生物胁迫响应元件，在盐和干旱胁迫下呈现差异化表达模式。转录组分析和 RT-qPCR 验证表明：*AhNPF6.5* 和 *AhNPF6.6* 在氯化钠胁迫下显著上调，可作为盐胁迫响应候选基因；*AhNPF1.5* 和 *AhNPF1.6* 在 PEG 6000 模拟干旱胁迫下明显诱导，可作为干旱胁迫响应候选基因。氧化石墨烯处理可在表型层面缓解盐和干旱胁迫对花生幼苗生长的抑制，并使相关胁迫诱导型 *AhNPF* 基因表达水平发生回调。本研究为花生 *NPF* 基因家族后续功能研究及抗逆育种提供了候选基因资源和参考依据。

5　参考文献

[1] LU Qing, HUANG Lu, LIU Hao, *et al*. A genomic variation map provides insights into peanut diversity in China and associations with 28 agronomic traits[J]. *Nature Genetics*, 2024, **56**(3): 530−540. DOI: 10.1038/s41588-024-01660-7.

[2] CHEN Kuoen, CHEN Huiyu, TSENG C S, *et al*. Improving nitrogen use efficiency by manipulating nitrate remobilization in plants[J]. *Nature Plants*, 2020, **6**(9): 1126−1135. DOI: 10.1038/s41477-020-00758-0.

[3] ROBERTSON G P, VITOUSEK P M. Nitrogen in agriculture: balancing the cost of an essential resource[J]. *Annual Review of Environment and Resources*, 2009, **34**: 97−125. DOI: 10.1146/annurev.environ.032108.105046.

[4] WANG Hongwei, MA Chenyu, XU Fangji, *et al*. Root endophyte-enhanced peanut-rhizobia interaction is associated with regulation of root exudates[J]. *Microbiological Research*, 2021, **250**: 126765. DOI: 10.1016/j.micres.2021.126765.

[5] LUO Yan, CHEN Yue, PENG Qingwen, *et al*. Nitrogen and phosphorus resorption of desert plants with various degree of propensity to salt in response to drought and saline stress[J]. *Ecological Indicators*, 2021, **125**: 107488. DOI: 10.1016/j.ecolind.2021.107488.

[6] JAN N, RATHER A M, JOHN R, *et al*. Proteomics for abiotic stresses in legumes: present status and future directions[J]. *Critical Reviews in Biotechnology*, 2023, **43**(2): 171−190. DOI: 10.1080/07388551.2021.2025033.

[7] LÉRAN S, VARALA K, BOYER J C, *et al*. A unified nomenclature of nitrate transporter 1/peptide transporter family members in plants[J]. *Trends in Plant Science*, 2014, **19**(1): 5−9. DOI: 10.1016/j.tplants.2013.08.008.

[8] KRAPP A, DAVID L C, CHARDIN C, *et al*. Nitrate transport and signalling in *Arabidopsis*[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2014, **65**(3): 789−798. DOI: 10.1093/jxb/eru001.

[9] CORRATGÉ-FAILLIE C, LACOMBE B. Substrate (un) specificity of *Arabidopsis* NRT1/PTR FAMILY (NPF) proteins[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2017, **68**(12): 3107−3113. DOI: 10.1093/jxb/erw499.

[10] WANG Yayun, CHENG Y H, CHEN Kuoen, *et al*. Nitrate transport, signaling, and use efficiency[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2018, **69**: 85−122. DOI: 10.1146/annurev-arplant-042817-040056.

[11] LI Ping, LUO Ting, PU Xiaojun, *et al*. Plant transporters: roles in stress responses and effects on growth and development[J]. *Plant Growth Regulation*, 2021, **93**(3): 253−266. DOI: 10.1007/s10725-020-00684-3.

[12] 寇玉晨, 谢一宁, 袁艳辉, 等. 植物硝酸盐转运蛋白家族 NPF 及其蛋白修饰调控机制研究进展[J]. 遗传, 2025, **47**(10): 1118−1131. KOU Yuchen, XIE Yining, YUAN Yanhui, *et al*. Plant nitrate transport family NPF and its regulatory mechanism of protein modification[J]. *Hereditas*, 2025, **47**(10): 1118−1131. DOI: 10.16288/j.yczz.24-327.

[13] LI Zhihui, ZHU Mingqiang, HUANG Jinqiu, *et al*. Genome-wide comprehensive analysis of the nitrogen metabolism toolbox reveals its evolution and abiotic stress responsiveness in rice (*Oryza sativa* L.)[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, **24**(1): 288. DOI: 10.3390/ijms24010288.

[14] JIA Lihua, HU Desheng, WANG Junbo, *et al*. Genome-wide identification and functional analysis of nitrate transporter genes (*NPF NRT2* and *NRT3*) in maize[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, **24**(16): 12941. DOI: 10.3390/ijms241612941.

[15] DONG Qiang, WANG Guoxin, IQBAL A, *et al*. Identification and expression analysis of the *NPF* genes in cotton[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, **23**(22): 14262. DOI: 10.3390/ijms232214262.

[16] WANG Huadun, WAN Yongfang, BUCHNER P, *et al*. Phylogeny and gene expression of the complete nitrate transporter 1/peptide transporter family in *Triticum aestivum*[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2020, **71**(15): 4531−4546. DOI: 10.1093/jxb/eraa210.

[17] 王化敦, 张鹏, 马鸿翔. 植物氮素吸收利用相关 *NPF* 基因家族研究进展[J]. 植物营养与肥料学报, 2022, **28**(8): 1520−1534. WANG Huadun, ZHANG Peng, MA Hongxiang. Research advances on *NPF* gene families in plant nitrogen uptake and utilization[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2022, **28**(8): 1520−1534. DOI: 10.11674/zwyf.2021670.

[18] CHIBA Y, SHIMIZU T, MIYAKAWA S, *et al*. Identification of *Arabidopsis thaliana* NRT1/PTR FAMILY (NPF) proteins capable of transporting plant hormones[J]. *Journal of Plant Research*, 2015, **128**(4): 679−686. DOI: 10.1007/s10265-015-0710-2.

[19] ZHANG Hui, LI Zefeng, XU Guoyun, *et al*. Genome-wide identification and characterization of *NPF* family reveals *NtNPF6.13* involving in salt stress in *Nicotiana tabacum*[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2022, **13**: 999403. DOI: 10.3389/fpls.2022.999403.

[20] XUE Bing, LI Ming, XUE Yang, *et al*. Identification of the *NPF* gene family in melon and functional analysis of *CmNPF7.3* in conferring salt tolerance[J]. *Scientia Horticulturae*, 2025, **353**: 114483. DOI: 10.1016/j.scienta.2025.114483.

[21] CHEN Xiaoping, LU Qing, LIU Hao, *et al*. Sequencing of cultivated peanut, *Arachis hypogaea*, yields insights into genome evolution and oil improvement[J]. *Molecular Plant*, 2019, **12**(7): 920−934. DOI: 10.1016/j.molp.2019.03.005.

[22] BERTIOLI D J, JENKINS J, CLEVENGER J, *et al*. The genome sequence of segmental allotetraploid peanut *Arachis hypogaea*[J]. *Nature Genetics*, 2019, **51**(5): 877−884. DOI: 10.1038/s41588-019-0405-z.

[23] WANG Xiaobo, SUN Ziqi, QI Feiyan, *et al*. A telomere-to-telomere genome assembly of the cultivated peanut[J]. *Molecular Plant*, 2025, **18**(1): 5−8. DOI: 10.1016/j.molp.2024.12.001.

[24] MISTRY J, CHUGURANSKY S, WILLIAMS L, *et al*. Pfam: the protein families database in 2021[J]. *Nucleic Acids Research*, 2021, **49**(D1): D412−D419. DOI: 10.1093/nar/gkaa913.

[25] DUVAUD S, GABELLA C, LISACEK F, *et al*. Expasy, the Swiss bioinformatics resource portal, as designed by its users[J]. *Nucleic Acids Research*, 2021, **49**(W1): W216−W227. DOI: 10.1093/nar/gkab225.

[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. DOI: 10.1093/nar/gkm259.

[27] MINH B Q, SCHMIDT H A, CHERNOMOR O, *et al*. IQ-TREE 2: new models and efficient methods for phylogenetic inference in the genomic era[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2020, **37**(5): 1530−1534. DOI: 10.1093/molbev/msaa015.

[28] LETUNIC I, BORK P. Interactive Tree Of Life (iTOL) v5: an online tool for phylogenetic tree display and annotation[J]. *Nucleic Acids Research*, 2021, **49**(W1): W293−W296. DOI: 10.1093/nar/gkab301.

[29] CHEN Chengjie, CHEN Hao, ZHANG Yi, *et al*. TBtools: an integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data[J]. *Molecular Plant*, 2020, **13**(8): 1194−1202. DOI: 10.1016/j.molp.2020.06.009.

[30] BAILEY T L, JOHNSON J, GRANT C E, *et al*. The MEME suite[J]. *Nucleic Acids Research*, 2015, **43**(W1): W39−W49. DOI: 10.1093/nar/gkv416.

[31] 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. DOI: 10.1093/nar/30.1.325.

[32] WANG Yupeng, TANG Haibao, DEBARRY J D, *et al*. MCScanX: a toolkit for detection and evolutionary analysis of gene synteny and collinearity[J]. *Nucleic Acids Research*, 2012, **40**(7): e49. DOI: 10.1093/nar/gkr1293.

[33] YAN Ning, CAO Junfeng, WANG Jie, *et al*. Seed priming with graphene oxide improves salinity tolerance and increases productivity of peanut through modulating multiple physiological processes[J]. *Journal of Nanobiotechnology*, 2024, **22**(1): 565. DOI: 10.1186/s12951-024-02832-7.

[34] JIANG Chunji, LI Xinlin, ZOU Jixiang, *et al*. Comparative transcriptome analysis of genes involved in the drought stress response of two peanut (*Arachis hypogaea* L.) varieties[J]. *BMC Plant Biology*, 2021, **21**(1): 64. DOI: 10.1186/s12870-020-02761-1.

[35] YOU Hongguang, LIU Yuanming, MINH T N, *et al*. Genome-wide identification and expression analyses of nitrate transporter family genes in wild soybean (*Glycine soja*)[J]. *Journal of Applied Genetics*, 2020, **61**(4): 489−501. DOI: 10.1007/s13353-020-00571-7.

[36] O'BRIEN J A, VEGA A, BOUGUYON E, *et al*. Nitrate transport, sensing, and responses in plants[J]. *Molecular Plant*, 2016, **9**(6): 837−856. DOI: 10.1016/j.molp.2016.05.004.

[37] FAN Xiaorong, NAZ M, FAN Xiaoru, *et al*. Plant nitrate transporters: from gene function to application[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2017, **68**(10): 2463−2475. DOI: 10.1093/jxb/erx011.

[38] CUTLER S R, RODRIGUEZ P L, FINKELSTEIN R R, *et al*. Abscisic acid: emergence of a core signaling network[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2010, **61**: 651−679. DOI: 10.1146/annurev-arplant-042809-112122.

[39] DUBOS C, STRACKE R, GROTEWOLD E, *et al*. MYB transcription factors in *Arabidopsis*[J]. *Trends in Plant Science*, 2010, **15**(10): 573−581. DOI: 10.1016/j.tplants.2010.06.005.