

李 想, 冯建英, 鲁黎明, 等. 马铃薯 *bZIP* 家族的鉴定与表达分析[J]. 江苏农业学报, 2022, 38(6): 1453-1464.
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2022.06.002

马铃薯 *bZIP* 家族的鉴定与表达分析

李 想, 冯建英, 鲁黎明, 李立芹
(四川农业大学农学院, 四川 成都 611130)

摘要: 为探索马铃薯中 *bZIP* 的功能, 对马铃薯 *bZIP* 基因家族进行鉴定, 分析其系统进化关系、染色体定位、植物组织表达模式, 并对非生物逆境胁迫条件下的转录组数据进行分析。利用荧光定量 PCR 技术检测 12 个 *bZIP* 基因在马铃薯根、茎、叶以及在干旱、低钾、高盐、脱落酸(ABA)和 H_2O_2 等胁迫下的表达情况。通过对马铃薯 *bZIP* 转录因子进行全基因组检索, 得到 104 个 *bZIP* 基因家族成员。其编码的 *bZIP* 转录因子保守结构域长度为 21~79 aa, 相对分子质量为 13 088.03~88 180.52, 等电点为 5.02~9.96, 均属于亲水蛋白质。利用在线软件 MEME 对 *bZIP* 家族成员的蛋白质全长氨基酸序列进行结构分析, 并根据其结构进行相似性聚类, 共得到 20 个 Motif, 其中 Motif1 存在于 104 个 *bZIP* 中, 为 *bZIP* 家族的特征基序。根据进化树分析结果, 将马铃薯 *bZIP* 家族分为 10 个亚族。基于转录组数据的表达模式分析结果表明, 马铃薯 *bZIP* 成员广泛参与 ABA、盐、干旱等非生物胁迫响应。qPCR 分析结果显示, 马铃薯 *bZIP* 家族成员还能够低钾、 H_2O_2 胁迫应答中发挥作用。综合分析可知, 马铃薯 *bZIP* 家族基因广泛参与了非生物胁迫响应, 研究结果为马铃薯 *bZIP* 家族的功能研究奠定了基础。

关键词: 马铃薯; *bZIP* 基因; 表达模式; 非生物胁迫

中图分类号: S532.01 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2022)06-1453-12

Identification and expression analysis of *bZIP* family in potato

LI Xiang, FENG Jian-ying, LU Li-ming, LI Li-qin
(College of Agronomy, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China)

Abstract: To explore the function of *bZIP* in potato, the *bZIP* gene family in potato was identified, and its phylogenetic relationship, chromosome mapping, plant tissue expression pattern and transcriptome data under abiotic stress conditions were analyzed. Fluorescence quantitative PCR was used to detect the expression of 12 *bZIP* genes in roots, stems, leaves and under drought, low potassium, high salt, abscisic acid (ABA) and H_2O_2 stress. A total of 104 *bZIP* gene family members were obtained by genome-wide retrieval of potato *bZIP* transcription factors. The length of the conserved domain ranged from 21 aa to 79 aa, the relative molecular weight ranged from 13 088.03 to 88 180.52, and the isoelectric point ranged from 5.02 to 9.96. They were all hydrophilic proteins. The structure of the full-length amino acid sequence of *bZIP* family members was analyzed by MEME, and the similarity clustering was performed according to its structure. A total of 20 motifs were obtained. Motif1 was found in 104 *bZIP*s and was the characteristic motif of the *bZIP* family. According to the results of phylogenetic tree analysis, the potato *bZIP* family was divided into ten subgroups. Analysis of expression patterns based on transcriptome data indicated that potato *bZIP* members were extensively involved in abiotic stress responses such as ABA, salt, and drought. The results of qPCR analysis showed that *bZIP* family members could also play a role in response to low potassium and H_2O_2 stress. Genes of the potato *bZIP* family are widely involved in the response to abiotic stress, and the results of this study can lay a foundation for the functional study of the

potato *bZIP* family.

Key words: potato; *bZIP* gene; expression pattern; abiotic stress

收稿日期: 2022-07-11

基金项目: 四川省科技厅项目(2018JY0078)

作者简介: 李 想(1997-), 男, 辽宁阜新新人, 硕士研究生, 研究方向为植物分子生物学。(E-mail) lixiang4337@163.com

通讯作者: 李立芹, (E-mail) lilinqin88@163.com

转录因子作为一类特殊的蛋白质, 可以直接或

间接地与顺式作用元件发生特异性相互作用,从而响应外界环境刺激,调控细胞的增殖、分化及生长,进而应对病虫害、激素、高温等生物与非生物胁迫^[1-3]。碱性亮氨酸拉链(Basic region/leucine zipper motif, bZIP)类转录因子是植物中重要的转录因子家族之一,广泛参与植物的生长发育及逆境响应机制^[2,4-5]。马铃薯是中国主要的粮食作物之一,在实际生产中,干旱、高温、高盐、水涝等非生物胁迫严重影响着马铃薯的产量和品质的形成,进而造成巨大的经济损失^[6]。因此,鉴定 bZIP 家族并分析其各个亚族在非生物胁迫下的表达情况,对马铃薯应答非生物逆境胁迫的分子机制研究及提高非生物逆境条件下马铃薯的产量、品质具有较为重要的意义。

植物 bZIP 类转录因子一般有 3 个区域,即保守结构域、碱性结构域和亮氨酸拉链区,其中亮氨酸拉链区是一种 α 螺旋,通常由亮氨酸重复或其他疏水氨基酸组成,易通过环形成二聚体,并以此形式调节下游基因的表达^[2,7]。保守的结构域包括 1 个特定的氮-X7-R/K 基序以及 18 个用于核定位和 DNA 结合的氨基酸。在植物中,bZIP 蛋白能够结合具有 ACGT 核心序列的顺式调节元件,如在应激反应基因的启动子中发现的 G-盒基序(CACGTG)^[2,8-10]。目前,很多植物的 bZIP 转录因子已经被鉴定出来^[8,10-11],其中拟南芥中有 71 个 bZIP 家族成员^[8],辣椒中有 54 个 bZIP 家族成员^[12],番茄中有 76 个 bZIP 家族成员^[13],棉花中有 86 个 bZIP 家族成员^[14],苹果中有 112 个 bZIP 家族成员^[15],烟草中有 105 个 bZIP 家族成员^[2],黄花蒿中有 78 个 bZIP 家族成员^[16]等。植物的 bZIP 转录因子家族可以分为若干个亚家族,如 Jakobson 等^[8]根据拟南芥 bZIP 家族成员的保守结构域将其分为 A~I 和 S 等 10 个亚族,亚族之间的结构与功能较为相似,如 A 亚族大多含有 ABF/AREB,它们参与了脱落酸(ABA)的信号传导以及部分非生物胁迫信号传导;D 亚族主要包含许多 TGA,通常与抗病性相关^[1]。在功能上,bZIP 基因家族成员广泛参与植物对非生物胁迫的响应,如番茄的 *SlAREB* 参与了对干旱、盐胁迫的反应^[17];刚毛怪柳 *ThbZIP1* 基因的表达受到 NaCl、聚乙二醇(PEG)、NaHCO₃ 和 CdCl₂ 的胁迫诱导^[18];葡萄的 *VvbZIP23* 基因对热胁迫有一定的应答反应^[19-20];拟南芥的 *AtbZIP17* 能直接或间接调控盐胁迫应答基因^[21-22];干旱和外源 ABA 处理会诱导水稻 *OsbZIP16* 的表达^[23];苹果的 *MdbZIP26* 通

过 ABA 介导的信号转导途径来提高植物对干旱、盐胁迫的抗性^[24];玉米的 bZIP 转录因子 ABP9 可以提高棉花对干旱、盐胁迫的抵抗能力^[25]。

马铃薯原产于南美安第斯山区,其栽培历史已经超过 7 000 年^[26]。目前,马铃薯已经是全球的第四大主粮作物^[12-16,27]。然而,目前关于马铃薯 bZIP 家族成员的功能研究尚不够深入。本研究采用生物信息学方法,以拟南芥 bZIP 成员的蛋白质氨基酸序列作为参考序列,在马铃薯全基因组蛋白质数据库中进行马铃薯 bZIP 家族成员的检索与鉴定,分析其结构、染色体定位及其编码的蛋白质理化性质,并构建进化树,并分析其在非生物胁迫下的表达模式,以期对马铃薯 bZIP 转录因子的功能研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本研究所用材料为马铃薯组培苗,品种为川芋十号,由四川农业大学马铃薯研究中心提供。

1.2 材料的非生物胁迫处理

选取优质马铃薯组培苗进行胁迫处理。试验设 1 个对照组、5 个胁迫处理组,对照组无非生物胁迫,处理组分别用如下试剂进行处理:10 $\mu\text{mol/L}$ KCl (低钾)、1 $\mu\text{mol/L}$ ABA、5% PEG-6000 (模拟干旱)、200 mmol/L NaCl (模拟高盐)、10 mmol/L H₂O₂。每组处理设置 3 次生物学重复,每个重复均包含 5 株马铃薯组培苗。

采用水培方式进行胁迫处理,在处理当天与处理后 3 h、6 h、12 h 进行整株取样,并将马铃薯组培苗在液氮中速冻,以备后续进行基因表达分析。

组培苗的培养、胁迫处理均在培养室中进行,培养条件:温度 25 $^{\circ}\text{C}$,光照度 2 000 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,光照时间 14 h/d,暗处理时间 10 h/d。

1.3 马铃薯 bZIP 基因碱基序列的获得

以与 bZIP 结构域相关的 HMM 文件作为检索条件,利用 Hmmer 3.0 软件在马铃薯全基因组相关的蛋白质数据库中检索同时包含 bZIP1 结构域、bZIP2 结构域的蛋白质氨基酸序列,并去除包含 HLH 结构域的蛋白质氨基酸序列^[2]。然后,利用 NCBI 网站的 CDD 软件去除不完整序列、错报序列。

1.4 马铃薯 bZIP 蛋白理化性质和亚细胞定位的预测

利用在线网站 ExPASy 对鉴定得到的马铃薯 bZIP 蛋白氨基酸序列进行理化性质(等电点、相对

分子质量等)的预测。利用软件 ProtComp 9.0 进行蛋白质的亚细胞定位分析。

1.5 马铃薯 *bZIP* 家族系统进化树的构建

用 MEGA 7.0 软件对 71 个拟南芥的 *bZIP*、104 个马铃薯的 *bZIP* 对应的氨基酸序列及保守结构域进行多序列比对,并用邻接法构建系统进化树。采用 Pairwise Deletion 处理缺失数据以及用 P-distance 模型、Bootstrap 检验 1 000 次的的数据。

1.6 马铃薯 *bZIP* 基因结构和蛋白质结构的预测

用 TBtools 对马铃薯 *bZIP* 基因结构进行可视化展示,用 MEME 对候选基因编码的蛋白质保守结构域进行预测、分析,设置保守基序长度为 6~50,数量为 20 个。

1.7 马铃薯 *bZIP* 基因的表达模式分析

从马铃薯转录组数据库中下载马铃薯根、茎、叶 3 个组织及非生物胁迫下叶片中的转录组数据^[27],其中非生物胁迫包括 260 $\mu\text{mol/L}$ 甘露醇处理、50 $\mu\text{mol/L}$ ABA 处理、50 mmol/L NaCl 处理,提取 *bZIP* 家族对应转录本的 RPKM 值,进行标准化后,用 Tltools 进行绘图。

1.8 马铃薯 *bZIP* 基因的表达验证

根据所绘制的聚类热图,挑选 *PGSC0003DMT40-0020670* 等 12 个对非生物胁迫具有高度响应的基因,根据其编码序列(CDS)设计引物(表 1),预测的 PCR 产物包含基因外显子,PCR 产物长度为 150~200 bp,用 *StACTIN* 作为内参基因进行荧光定量 PCR 分析,用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算基因的相对表达量。

样品总 RNA 的提取采用 TRIzol 法,cDNA 的合成用 Servicebio 反转录试剂盒法。

qPCR 反应程序:94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 2 min;94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 5 s,60 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s,95 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 5 s,39 个循环。qPCR 反应体系为 20 μl ,包括 2.0 μl 模板、10.0 μl SYBR GREEN Realtime PCR Master mix、各 0.6 μl 引物、6.8 μl ddH₂O。

2 结果与分析

2.1 马铃薯 *bZIP* 基因家族成员的鉴定及其编码蛋白质的理化性质分析

利用 Hmmer 软件鉴定 *bZIP* 基因家族成员,最终筛选出 104 个马铃薯 *bZIP* 基因。由表 2 可以看出,104 个 *bZIP* 蛋白的保守结构域的长度为 21~79 aa,相对分子质量差异较大,为 13 088.03~

88 180.52,等电点为 5.02~9.96,均属于亲水蛋白质,大部分为非稳定蛋白质。104 个 *bZIP* 成员中,54 个定位于细胞核,50 个定位于细胞间隙。

表 1 马铃薯 *bZIP* 基因家族的荧光定量 PCR 引物

Table 1 Real-time PCR primers for *bZIP* gene family in potato

基因	引物序列(5'→3')
<i>PGSC0003DMT400020670</i>	R:CAACAGACTTTTGGGGAGATAACAC L:GCCAGCATAGGACAAATCACC
<i>PGSC0003DMT400020671</i>	R:GAATGAGGTTAGGGATGGTTGGTAT L:GCCCACTGGCTCCTAAACCTA
<i>PGSC0003DMT400025921</i>	R:AGTCTGCCGTGCTCTTGTGTTG L:ACCCGTGGTTTCTGCTTCC
<i>PGSC0003DMT400030585</i>	R:CCTACCCTTGTTCCTCCACC L:CGATGCGTTGAGTCTTTCC
<i>PGSC0003DMT400013972</i>	R:TTCCGAACACCTTCCCTT L:GGTTAGATTGTGACAGCCT
<i>PGSC0003DMT400015830</i>	R:GGCTCGGGCTGCTTCATT L:CGCAACCTCCGCTTCCA
<i>PGSC0003DMT400018306</i>	R:GTGCTACACAGATGAC L:CTCAGGATACTTGCGAAC
<i>PGSC0003DMT400004821</i>	R:CGGCACCTTGATGAGTTAG L:GTCGTCCATGTTGCTGAA
<i>PGSC0003DMT400018574</i>	R:GATACCACCACTTTTATGCCA L:TCTTCTGCCTCTTCTACACTATT
<i>PGSC0003DMT400031184</i>	R:GGAGAAACGCCCTTTGAGTA L:ACAAGCAAGCATTGAGCC
<i>PGSC0003DMT400012575</i>	R:GGAGAAACGCCCTTTGAGTA L:CGGTTTATATCCCTTAGCCTGA
<i>PGSC0003DMT400006851</i>	R:GTTAGAAGAGCGGAAGCGACG L:GACAAATGATTCAAGTCTAAGCCG
<i>StACTIN</i>	R:CTTGACACACGCTAAGGAG L:GTCAATGCAAAACATTCCTTG

2.2 马铃薯 *bZIP* 基因家族系统进化树的构建

利用邻接法构建了马铃薯 *bZIP* 基因家族的系统进化树。由图 1 可以看出,104 个马铃薯 *bZIP* 基因被划分成 10 个亚族(A~I 和 S);各亚族中马铃薯基因数为 4~22 个,差别较大,其中除了 B、F、I 这 3 个亚族外,大部分亚族(A、C~E、G、H、S)中的马铃薯 *bZIP* 编码蛋白质数量明显多于拟南芥。此外,拟南芥 *bZIP* 分组结果与 Jakoby 等^[8]的研究结果基本一致。

2.3 马铃薯 *bZIP* 转录因子的蛋白质结构

用 MEME 对 *bZIP* 蛋白的全长氨基酸序列进行结构分析,通过 Tltools 软件对结果进行可视化分析,并按照结构相似性聚类,共得到 20 个 Motif。由图 2 可以看出,其 Motif 组成、位置和数量在不同亚族内存在一定共性,但亚族之间存在较大差异,其中 Motif1 共存于 98 个成员中。

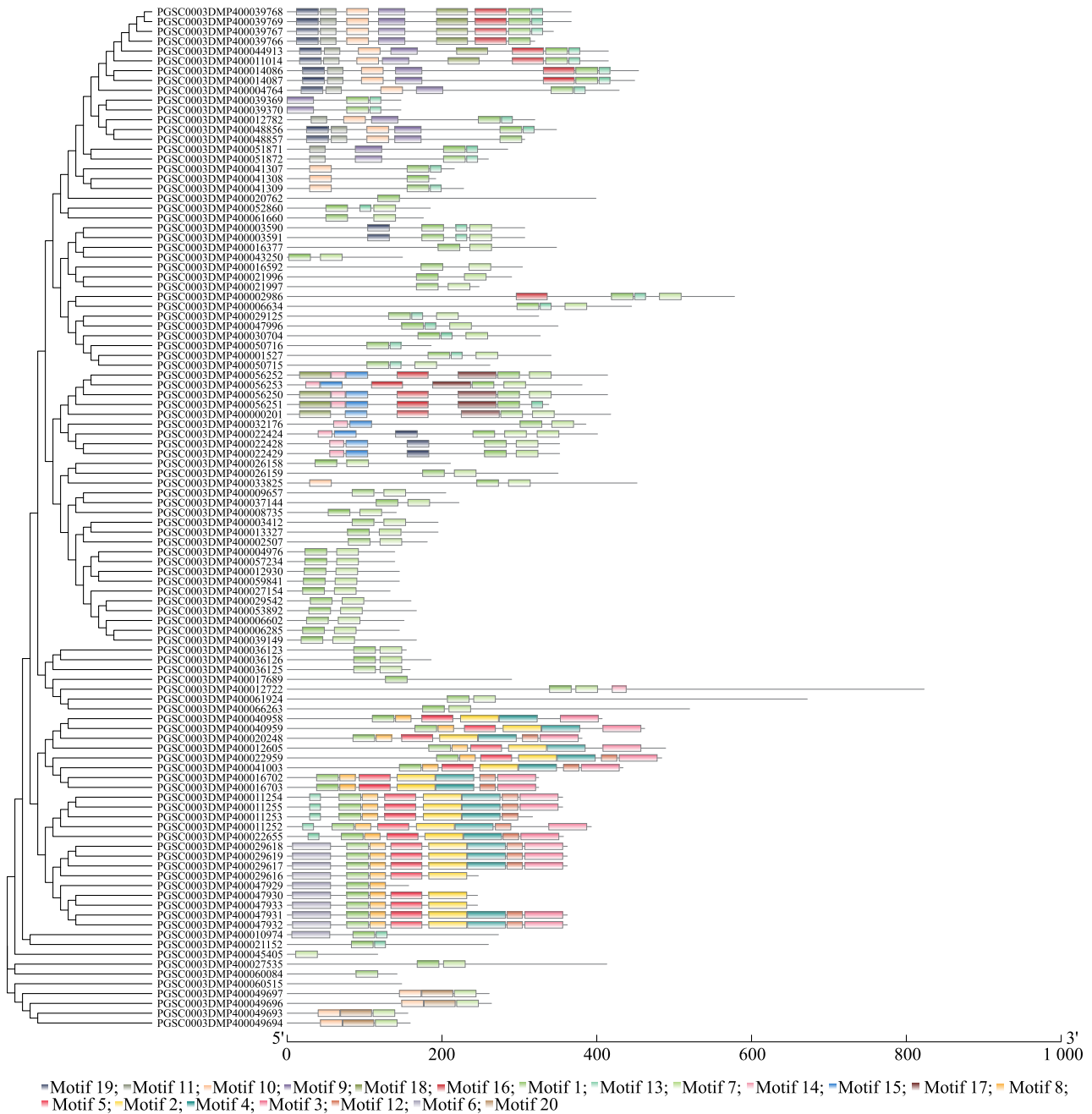
表 2 马铃薯 bZIP 家族保守氨基酸序列位置及其蛋白质的理化性质

Table 2 Location of conserved amino acid sequence and physicochemical properties of proteins in potato bZIP family

蛋白质	保守结构 起始位点	保守结构 终止位点	大小 (aa)	疏水性指数	相对分子 质量	等电点	不稳定 指数	亚细胞 定位
PGSC0003DMP400000201	274	336	417	-0.749	44 492.20	5.73	48.63	细胞核
PGSC0003DMP400001527	185	235	340	-0.759	59 869.51	5.96	62.21	细胞核
PGSC0003DMP400002507	82	133	180	-0.974	21 056.36	5.51	67.72	细胞间隙
PGSC0003DMP400002986	422	471	577	-0.838	63 252.01	6.79	59.24	细胞间隙
PGSC0003DMP400003412	87	137	194	-0.956	22 677.18	6.17	68.35	细胞间隙
PGSC0003DMP400003590	184	228	306	-0.609	33 932.09	7.01	74.64	细胞间隙
PGSC0003DMP400003591	184	228	306	-0.609	33 932.09	7.01	74.64	细胞间隙
PGSC0003DMP400004764	343	397	428	-0.644	46 404.14	8.92	63.32	细胞核
PGSC0003DMP400004976	26	77	138	-0.664	15 404.58	9.69	76.45	细胞间隙
PGSC0003DMP400006285	23	71	144	-0.654	16 432.45	5.38	80.62	细胞核
PGSC0003DMP400006602	28	78	150	-0.893	17 477.60	7.75	69.53	细胞核
PGSC0003DMP400006634	300	349	444	-0.600	48 291.20	8.40	70.34	细胞间隙
PGSC0003DMP400008735	56	107	140	-0.771	16 751.93	7.97	82.79	细胞间隙
PGSC0003DMP400009657	87	138	204	-0.853	23 576.42	7.03	77.40	细胞间隙
PGSC0003DMP400010974	85	148	272	-0.737	29 679.90	6.00	61.65	细胞间隙
PGSC0003DMP400011014	336	390	414	-0.636	45 325.82	9.24	70.19	细胞间隙
PGSC0003DMP400011252	60	111	392	-0.331	44 153.25	6.09	87.63	细胞间隙
PGSC0003DMP400011253	69	120	316	-0.418	35 504.48	6.33	84.34	细胞间隙
PGSC0003DMP400011254	69	120	355	-0.416	39 511.91	6.03	86.46	细胞间隙
PGSC0003DMP400011255	69	120	355	-0.416	40 059.53	5.98	86.62	细胞间隙
PGSC0003DMP400012605	185	237	488	-0.521	54 371.83	6.32	76.45	细胞间隙
PGSC0003DMP400012722	342	392	822	-0.489	88 180.52	5.90	68.75	细胞间隙
PGSC0003DMP400012782	249	295	319	-0.767	35 689.12	6.27	70.56	细胞间隙
PGSC0003DMP400012930	25	76	144	-0.852	16 588.60	5.90	69.86	细胞间隙
PGSC0003DMP400013327	81	132	194	-0.776	22 564.19	5.74	76.39	细胞间隙
PGSC0003DMP400014086	375	429	453	-0.698	48 794.71	9.50	62.63	细胞间隙
PGSC0003DMP400014087	375	429	448	-0.578	48 033.90	8.70	67.88	细胞间隙
PGSC0003DMP400016377	198	249	347	-1.098	39 525.61	8.78	59.37	细胞间隙
PGSC0003DMP400016592	176	226	303	-1.037	35 091.84	5.66	71.75	细胞间隙
PGSC0003DMP400016702	40	92	324	-0.498	36 170.88	8.86	85.68	细胞间隙
PGSC0003DMP400016703	40	92	324	-0.498	36 170.88	8.86	85.68	细胞间隙
PGSC0003DMP400017689	130	181	289	-0.480	32 785.89	5.34	84.98	细胞间隙
PGSC0003DMP400020248	87	139	380	-0.549	43 164.08	8.69	77.58	细胞核
PGSC0003DMP400020762	119	158	398	-0.763	44 901.99	8.35	77.24	细胞间隙
PGSC0003DMP400021152	87	146	259	-0.620	28 363.87	7.01	65.48	细胞间隙
PGSC0003DMP400021996	170	220	289	-0.780	32 139.49	5.68	67.54	细胞间隙
PGSC0003DMP400021997	170	220	247	-0.746	27 344.08	5.75	69.88	细胞间隙
PGSC0003DMP400022424	238	301	400	-0.861	43 800.54	6.16	57.90	细胞核
PGSC0003DMP400022428	253	317	351	-0.922	37 736.47	5.50	54.05	细胞核
PGSC0003DMP400022429	253	317	351	-0.922	37 736.47	5.50	54.05	细胞核
PGSC0003DMP400022655	72	123	356	-0.347	40 059.64	5.29	92.39	细胞核
PGSC0003DMP400022959	195	246	483	-0.453	53 101.54	6.51	80.41	细胞核
PGSC0003DMP400026158	52	89	210	-0.876	23 326.52	5.17	66.43	细胞间隙
PGSC0003DMP400026159	191	228	349	-0.786	38 555.29	5.48	65.42	细胞间隙
PGSC0003DMP400027154	23	73	132	-0.672	15 415.69	9.30	85.68	细胞核
PGSC0003DMP400027535	177	222	412	-0.717	45 538.78	5.59	68.81	细胞间隙
PGSC0003DMP400029125	134	183	324	-0.756	36 013.05	6.38	67.90	细胞间隙
PGSC0003DMP400029542	33	83	159	-0.703	18 117.22	5.43	78.55	细胞核
PGSC0003DMP400029616	79	129	246	-0.373	28 001.01	7.67	76.14	细胞核
PGSC0003DMP400029617	79	129	361	-0.395	41 009.89	7.68	81.36	细胞核
PGSC0003DMP400029618	79	129	361	-0.395	41 009.89	7.68	81.36	细胞核
PGSC0003DMP400029619	79	129	361	-0.395	41 009.89	7.68	81.36	细胞核

续表2 Continued2

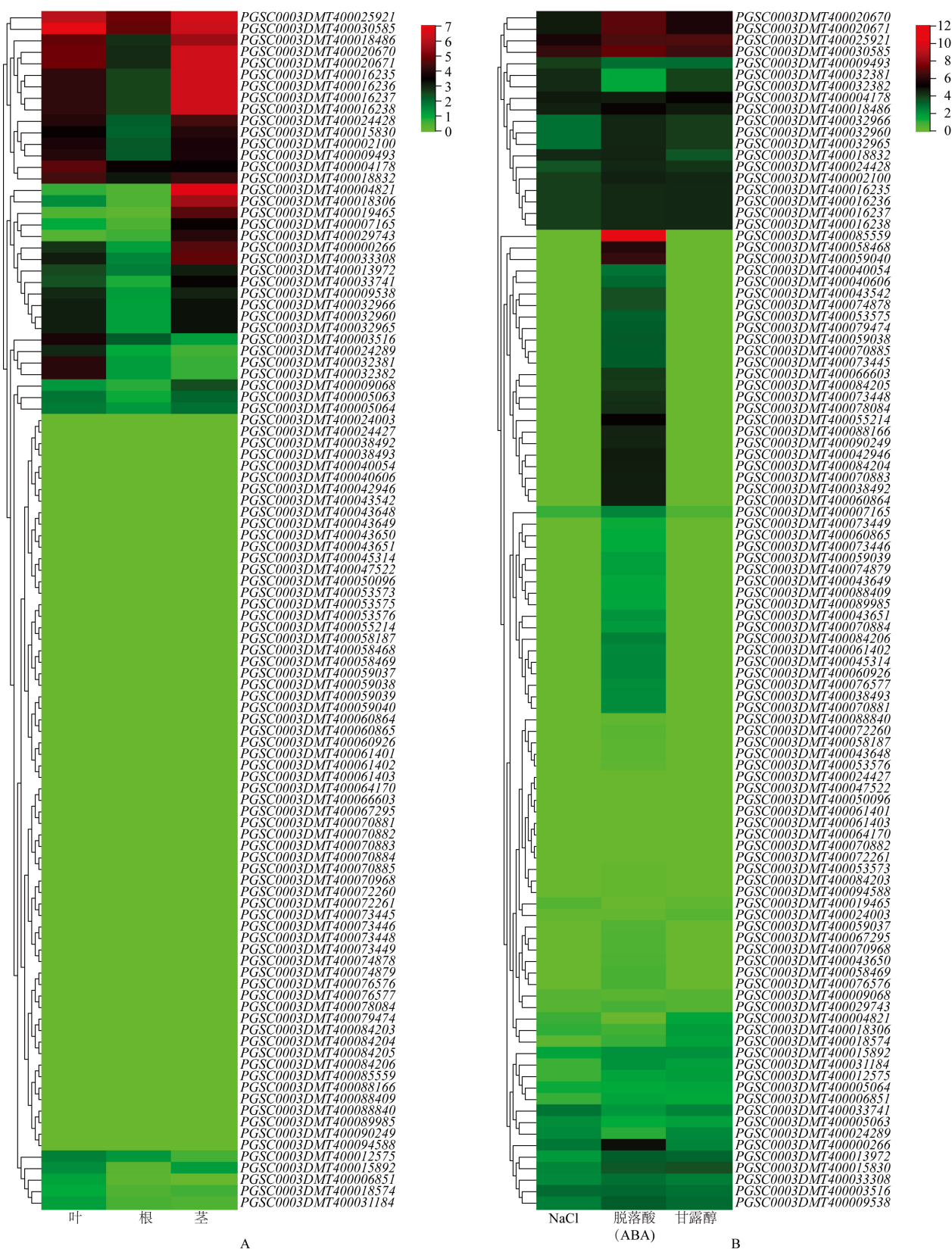
蛋白质	保守结构 起始位点	保守结构 终止位点	大小 (aa)	疏水性指数	相对分 子质量	等电点	不稳定 指数	亚细胞 定位
PGSC0003DMP400030704	172	221	326	-0.838	36 322.36	7.15	60.55	细胞核
PGSC0003DMP400032176	299	363	385	-0.700	41 151.87	8.76	54.55	细胞核
PGSC0003DMP400033825	248	299	451	-0.702	48 559.79	6.18	62.97	细胞核
PGSC0003DMP400036123	89	140	153	-0.920	16 864.84	9.34	70.33	细胞核
PGSC0003DMP400036125	89	140	158	-1.040	17 319.32	9.78	64.43	细胞核
PGSC0003DMP400036126	89	140	185	-0.615	20 595.34	9.09	80.81	细胞核
PGSC0003DMP400037144	118	169	221	-1.115	25 774.71	9.11	59.10	细胞核
PGSC0003DMP400039149	21	71	166	-0.619	19 040.39	6.90	78.73	细胞核
PGSC0003DMP400039369	79	125	146	-0.882	16 614.79	9.43	9.43	细胞核
PGSC0003DMP400039370	79	125	146	-0.882	16 614.79	9.43	74.86	细胞核
PGSC0003DMP400039766	288	310	319	-0.565	34 532.21	7.67	53.79	细胞核
PGSC0003DMP400039767	288	342	343	-0.636	37 284.48	8.67	58.02	细胞核
PGSC0003DMP400039768	288	342	366	-0.621	40 064.83	8.95	60.49	细胞核
PGSC0003DMP400039769	288	342	366	-0.621	40 064.83	8.95	60.49	细胞核
PGSC0003DMP400040958	112	164	406	-0.524	46 522.42	6.15	87.51	细胞核
PGSC0003DMP400040959	167	219	461	-0.632	52 241.65	6.47	81.30	细胞核
PGSC0003DMP400041003	147	198	433	-0.625	47 630.98	7.15	73.35	细胞核
PGSC0003DMP400041307	157	203	215	-0.823	23 702.43	9.58	60.88	细胞间隙
PGSC0003DMP400041308	157	178	191	-0.664	20 877.45	9.79	68.01	细胞核
PGSC0003DMP400041309	157	207	227	-0.788	24 904.92	9.71	63.30	细胞核
PGSC0003DMP400043250	7	55	148	-0.842	17 532.95	9.59	92.97	细胞间隙
PGSC0003DMP400044913	341	383	414	-0.733	45 033.19	9.71	60.56	细胞核
PGSC0003DMP400045405	1	34	116	-0.631	13 088.03	6.75	79.91	细胞核
PGSC0003DMP400047929	79	129	156	-0.773	17 544.78	8.82	62.63	细胞核
PGSC0003DMP400047930	79	129	500	-0.500	27 839.70	7.77	72.12	细胞核
PGSC0003DMP400047931	79	129	361	-0.485	40 875.47	6.68	75.73	细胞核
PGSC0003DMP400047932	79	129	361	-0.485	40 875.47	6.68	75.73	细胞核
PGSC0003DMP400047933	79	129	245	-0.500	27 839.70	7.77	72.12	细胞核
PGSC0003DMP400047996	151	200	349	-0.766	38 774.94	5.90	65.50	细胞间隙
PGSC0003DMP400048856	277	322	347	-0.724	37 872.46	7.91	71.93	细胞间隙
PGSC0003DMP400048857	277	298	306	-0.575	33 023.10	8.71	73.27	细胞间隙
PGSC0003DMP400049693	77	127	155	-0.499	17 733.03	5.19	88.77	细胞间隙
PGSC0003DMP400049694	80	130	158	-0.482	18 080.40	5.08	87.72	细胞间隙
PGSC0003DMP400049696	50	84	263	-0.465	29 497.26	5.47	80.53	细胞间隙
PGSC0003DMP400049697	50	84	260	-0.474	29 149.89	5.58	81.08	细胞间隙
PGSC0003DMP400050715	106	156	261	-0.872	28 675.83	9.47	58.12	细胞核
PGSC0003DMP400050716	106	156	185	-0.705	20 242.62	8.92	68.76	细胞核
PGSC0003DMP400051871	204	244	284	-0.713	30 791.55	6.56	59.37	细胞核
PGSC0003DMP400051872	204	244	259	-0.721	27 689.78	5.50	55.71	细胞核
PGSC0003DMP400052860	53	97	184	-0.859	21 490.38	5.02	84.84	细胞间隙
PGSC0003DMP400053892	31	81	166	-0.725	18 980.16	6.29	75.78	细胞核
PGSC0003DMP400056250	270	332	413	-0.794	44 511.45	9.07	58.62	细胞核
PGSC0003DMP400056251	270	332	337	-0.767	36 202.20	8.81	54.45	细胞核
PGSC0003DMP400056252	270	332	413	-0.794	44 511.45	9.07	58.62	细胞核
PGSC0003DMP400056253	237	299	380	-0.783	40 914.60	9.42	61.13	细胞核
PGSC0003DMP400057234	26	77	138	-0.664	15 404.58	9.69	76.45	细胞核
PGSC0003DMP400059841	24	75	144	-0.913	16 633.58	6.14	68.54	细胞核
PGSC0003DMP400060084	92	117	141	-0.970	15 829.55	5.07	62.91	细胞间隙
PGSC0003DMP400060515	5	84	147	-0.747	17 301.94	9.96	83.74	细胞间隙
PGSC0003DMP400061660	51	117	175	-1.115	20 643.35	5.71	77.43	细胞间隙
PGSC0003DMP400061924	210	260	671	-0.484	73 394.85	8.21	73.20	细胞间隙
PGSC0003DMP400066263	180	228	519	-0.434	57 399.44	8.99	76.40	细胞间隙

图2 马铃薯 *bZIP* 家族转录因子的模体 (Motif) 分布Fig.2 Motif distribution of *bZIP* family transcription factors in potato

达量,推测其在马铃薯茎、叶生长发育过程中起着重要作用;*PGSC0003DMT400025921*、*PGSC0003DMT400030585* 基因在根系中的表达量非常高,提示其可能在根系的生长发育过程中起作用。

由图 3B 可以看出,在响应非生物胁迫方面,*PGSC0003DMT400085559*、*PGSC0003DMT400030585* 和 *PGSC0003DMT400025921* 基因的相对表达量分

别在 ABA、NaCl 和甘露醇 (Mannitol) 处理下最高。多数基因的相对表达量在 ABA 处理下较高,而 *PGSC0003DMT400085559* 基因的相对表达量只在 ABA 处理下较高,暗示其在响应 ABA 中起着关键作用。在盐胁迫及干旱处理下,*PGSC0003DMT400020670*、*PGSC0003DMT400020671* 基因的相对表达量较高,可能与其对盐、干旱逆境等胁迫的响应有关。



A:组织表达模式;B:非生物胁迫下表达模式。

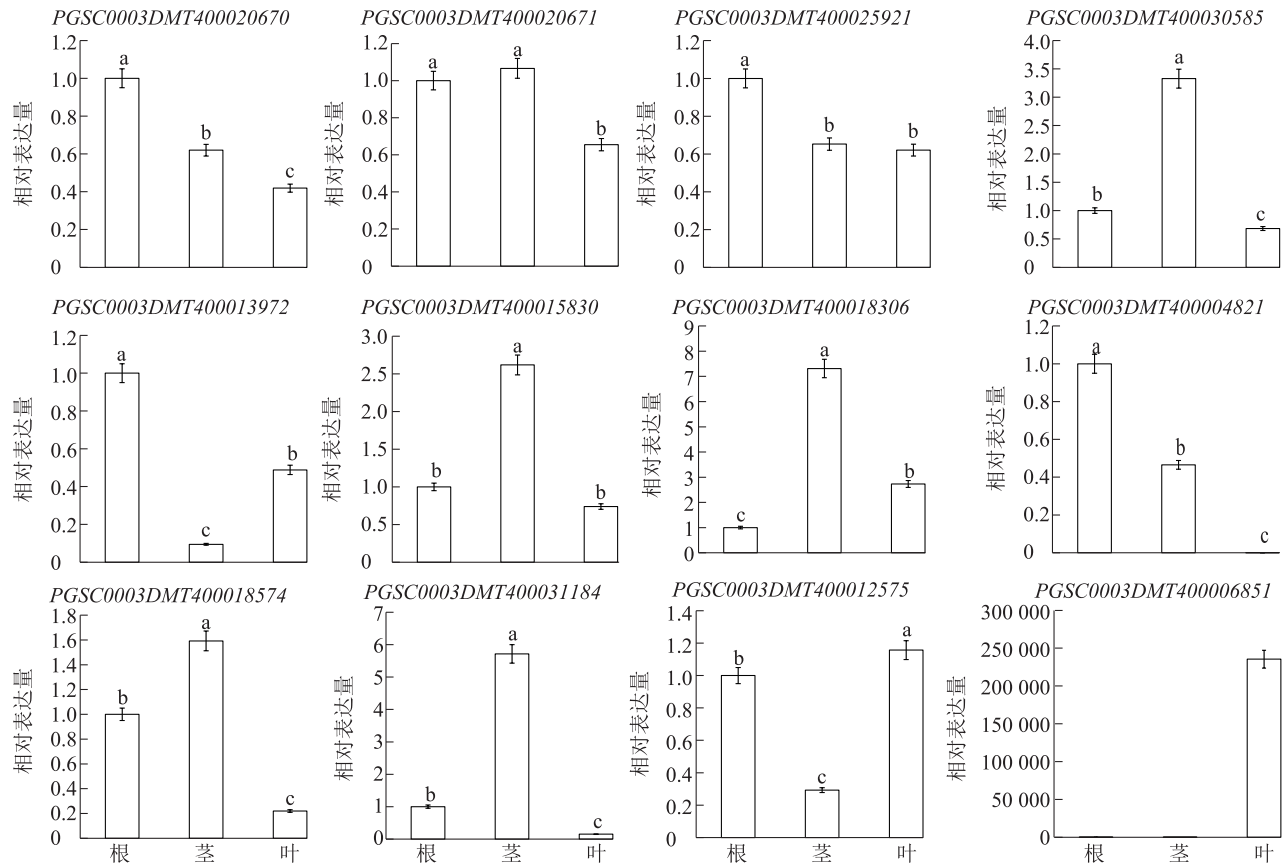
图3 马铃薯 *bZIP* 基因的表达模式分析

Fig.3 Expression pattern analysis of *bZIP* gene in potato

2.6 马铃薯 *bZIP* 基因表达模式的验证

为了验证生物信息学分析结果,本研究采用荧光定量 PCR 方法分析所挑选的 12 个 *bZIP* 基因在不同组织中的表达模式。同时分别用 5% PEG-6000、10

$\mu\text{mol/L}$ KCl、200 $\mu\text{mol/L}$ NaCl、1 $\mu\text{mol/L}$ ABA、10 mmol/L H_2O_2 对马铃薯组培苗进行胁迫处理,检测所挑选的 12 个 *bZIP* 基因在胁迫处理前及胁迫处理 3 h、6 h、12 h 后的相对表达量,结果如图 4、图 5 所示。



不同组织对应的柱上标有不同小写字母表示具有显著差异 ($P < 0.05$)。

图 4 马铃薯不同组织中部分 *bZIP* 基因的相对表达量

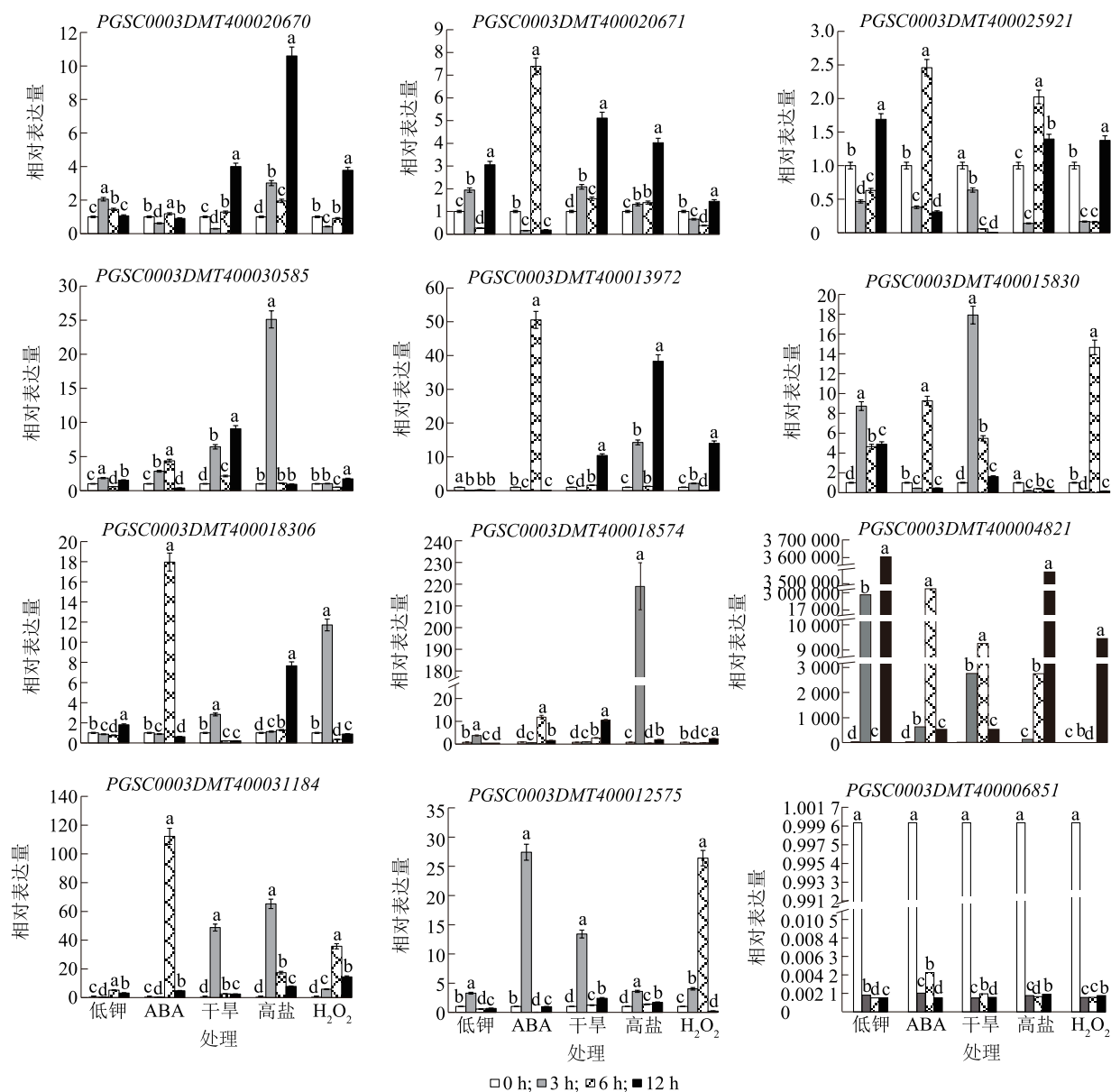
Fig.4 Relative expression of some *bZIP* genes in different tissues of potato

qPCR 结果显示,在本研究检测的 12 个基因中,在马铃薯根中的相对表达量较高的有 6 个,分别为 *PGSC0003DMT400020670*、*PGSC0003DMT400020671*、*PGSC0003DMT400025921*、*PGSC0003DMT400013972*、*PGSC0003DMT400004821*、*PGSC0003DMT400012575*。在茎中的相对表达量较高的基因也有 6 个,分别为 *PGSC0003DMT400020671*、*PGSC0003DMT400015830*、*PGSC0003DMT400030585*、*PGSC0003DMT400018306*、*PGSC0003DMT400018574*、*PGSC0003DMT400031184*。在叶中,*PGSC0003DMT400012575*、*PGSC0003DMT400006851* 基因的相对表达量均较高。总体来看,虽然 qPCR 的分析结果与利用生物信息学手段分析的表达模式结果有些差异,

但基本一致。

在 ABA 胁迫处理下,与对照相比,12 个基因中只有 *PGSC0003DMT400006851* 基因的相对表达量全部下降,*PGSC0003DMT400020670* 基因的相对表达量变化不明显,其他 10 个 *bZIP* 家族成员的相对表达量在胁迫 3 h 或 6 h 均有不同程度的上升(图 5)。在高盐胁迫下,与 0 h 相比,除 *PGSC0003DMT400015830*、*PGSC0003DMT400006851* 基因的相对表达量下调外,其余 10 个基因均上调表达。在模拟干旱处理下,与 0 h 相比,*PGSC0003DMT400006851*、*PGSC0003DMT400025921* 基因的相对表达量下调,其余 10 个基因整体表现为上调表达。

为了进一步探究马铃薯 *bZIP* 家族成员对非生



同一类处理的不同处理时间对应柱上标有不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

图5 马铃薯在不同逆境环境下基因的相对表达量

Fig.5 Relative expression of genes in potato under different stress conditions

物胁迫的响应广泛度,又进行了低钾、 H_2O_2 2 个胁迫处理。图 5 结果表明,在低钾条件下,与 0 h 相比,有 10 个基因的相对表达量有一定程度的升高,其中 *PGSC0003DMT400004821*、*PGSC0003DMT400015830* 基因的相对表达量较高, *PGSC0003DMT400013972*、*PGSC0003DMT400006851* 基因的相对表达量有所降低。在 H_2O_2 胁迫下,除 *PGSC0003DMT400006851* 基因外,其余 11 个基因的相对表达量均有所提高,其中 *PGSC0003DMT400004821*、

PGSC0003DMT400031184、*PGSC0003DMT400012575* 等 3 个基因的相对表达量较高。

值得关注的是,与 0 h 相比, *PGSC0003DMT400004821* 基因在 5 种胁迫条件下均高度表达,尤其是在低钾条件下的相对表达量最高;而 *PGSC0003DMT400006851* 基因在所有胁迫条件下均下调表达。对马铃薯 *bZIP* 基因家族在非生物胁迫下表达模式的分析结果表明,该基因家族在马铃薯的逆境响应中具有一定作用。

3 讨 论

本研究采用生物信息学方法^[8,16],共从马铃薯基因组中鉴定出 104 个 *bZIP* 转录因子。通过构建系统进化树,将 *bZIP* 家族成员划分成 10 个亚族。本研究的分组结果与拟南芥 *bZIP* 家族的分组结果大体一致^[8],初步证实了鉴定结果的准确性。在这 10 个亚族中,有 7 个亚族(A、C、D、E、G、H、S)包含的 *bZIP* 家族成员比拟南芥的多,1 个亚族(B)的数量相等,2 个亚族(F、I)的数量比拟南芥的少。通过对马铃薯 *bZIP* 蛋白进行结构分析,得到 20 个 Motif,其中 Motif1 的分布最广泛,存在于 98 个成员中。由此可见,马铃薯 *bZIP* 家族在漫长的生物进化过程中发生了结构及功能上的分化以适应外界环境的变化。

基因的表达模式能够在某种程度上反映其所发挥的功能。马铃薯的 104 个 *bZIP* 基因在马铃薯根、茎、叶中均有表达,并具有十分明显的组织表达特异性。其中 *PGSC0003DMT400004821*、*PGSC0003DMT400019462* 基因只在茎中有高表达,*PGSC0003DMT400032381*、*PGSC0003DMT400032382* 基因只在叶中有高表达,推测其分别在马铃薯茎、叶 2 个不同组织的生长发育过程中起重要作用;*PGSC0003DMT400025921*、*PGSC0003DMT400030585* 基因的相对表达量在根系中非常高,提示其在根系的发育和对外界物质的吸收等过程中扮演重要角色。

前人研究发现,*bZIP* 基因广泛参与植物对逆境胁迫的响应^[28-30],如 *bZIP* 转录激活子 Atf1 参与 Sty1-Atf1 途径响应 H_2O_2 诱导的活性氧的转录调节机制^[31]。*bZIP* 家族 A 亚族成员对 ABA 有一定程度的响应,但响应模式不尽相同^[16]。大豆中的 *bZIP* 基因 *Glyma04g04170* 可能通过负调控的方式参与耐涝应答反应^[32]。在本研究中,马铃薯的多数 *bZIP* 基因在 ABA 处理下的相对表达量较高,其结果与拟南芥、烟草等的相关结果基本一致,且 *PGSC0003DMT400085559* 基因只在 ABA 处理下有较高的相对表达量,提示其在 ABA 响应中起着关键作用。在盐胁迫及干旱处理下,*PGSC0003DMT400020670*、*PGSC0003DMT400020671* 基因的相对表达量较高,可以推测其在抗胁迫中的作用。*PGSC0003DMT400085559*、*PGSC0003DMT400030585* 和 *PGSC0003DMT400025921* 等基因在 ABA、NaCl、Mannitol 胁迫下均具有高的相对表达

量,说明它们在应对这些非生物胁迫的过程中具有某种共同机制。

此外,还有一些基因,如 *PGSC0003DMT400004821*、*PGSC0003DMT400015830* 基因在低钾胁迫下的相对表达量较高,在 H_2O_2 处理下,*PGSC0003DMT400004821*、*PGSC0003DMT400031184*、*PGSC0003DMT400012575* 等 3 个基因的相对表达量显著上调。上述结果均表明,*bZIP* 基因家族在马铃薯抗逆响应中发挥着广泛作用。值得关注的是,*PGSC0003DMT400006851* 基因在所有胁迫处理下均下调表达,表明该基因可能以某种负调控的方式参与了马铃薯的非生物胁迫响应。

4 结 论

本研究采用生物信息学的手段从马铃薯基因组中鉴定出了 *bZIP* 家族的 104 个基因,可以分为 10 个亚族。在结构上,这些基因编码的 *bZIP* 家族转录因子包含 20 个 Motif,转录因子之间的 Motif 数量不同。马铃薯 *bZIP* 基因广泛参与了干旱、高盐、ABA 等非生物胁迫的响应过程,本研究结果能为马铃薯 *bZIP* 家族的功能研究奠定基础。

参考文献:

- [1] TULLY J P, HILL A E, AHMED H M R, et al. Expression-based network biology identifies immune-related functional modules involved in plant defense[J]. BMC Genomics, 2014, 15(1): 421.
- [2] 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.
- [3] 樊松乐,王纪坤,覃 碧,等. 植物转录因子研究方法及应用[J]. 分子植物育种, 2019, 17(15): 5003-5009.
- [4] SHEN L, LIU Z Q, YANG S, et al. Pepper CabZIP63 acts as a positive regulator during *Ralstonia solanacearum* or high temperature-high humidity challenge in a positive feedback loop with CaWRKY40[J]. Journal of Experimental Botany, 2016, 67(8): 2439-2451.
- [5] NOMAN A, LIU Z, AQEEL M, et al. Basic leucine zipper domain transcription factors: the vanguards in plant immunity[J]. Biotechnology Letters, 2017, 39(3): 1779-1791.
- [6] ZHOU Z Z, XU M, LI L. Research progress on molecular resistance breeding in potato[J]. Crop Research, 2015, 29(5): 550-554.
- [7] WINGENDER E, CHEN X, FRICKE E, et al. The TRANSFAC system on gene expression regulation[J]. Nucleic Acid Research, 2001, 29(1): 281-283.

- [8] JAKOBY M, WEISSHAAR B, DRÖGE-LASER W, et al. bZIP transcription factors in *Arabidopsis* [J]. Trends in Plant Science, 2002, 7(3): 106-111.
- [9] TANG W, RU Y Y, HONG L, et al. System-wide characterization of bZIP transcription factor proteins involved in infection-related morphogenesis of *Magnaporthe oryzae* [J]. Environmental Microbiology, 2015, 17: 1377-1396.
- [10] ZHANG M, LIU Y H, SHI H, et al. Evolutionary and expression analyses of soybean basic leucine zipper transcription factor family [J]. BMC Genomics, 2018, 19(1): 159.
- [11] LIU J Y, CHEN N N, CHEN F, et al. Genome-wide analysis and expression profile of the bZIP transcription factor gene family in grapevine (*Vitis vinifera*) [J]. BMC Genomics, 2014, 15(1): 281.
- [12] 魏瑞敏, 郑井元, 刘峰, 等. 辣椒 bZIP 家族基因的鉴定与表达分析 [J]. 园艺学报, 2018, 45(8): 1535-1550.
- [13] 邢宇鹏. 棉花 bZIP 基因家族全基因组鉴定及分析 [D]. 泰安: 山东农业大学, 2020.
- [14] 张珍珠, 陈秀玲, 王沛文, 等. 番茄 bZIP 基因家族的系统进化分析 [J]. 东北农业大学学报, 2014, 45(9): 47-55.
- [15] 赵皎. 苹果 bZIP 家族基因的鉴定、表达分析及葡萄 WRKY48 基因的功能分析 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2017.
- [16] 王星文, 吴端, 师玉华, 等. 黄花蒿 bZIP 转录因子基因家族及光调控表达模式分析 [J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2021, 23(1): 20-32.
- [17] HSIEH T, LI C, SU R, et al. A tomato bZIP transcription factor, SIAREB, is involved in water deficit and salt stress response [J]. Planta, 2012, 231(6): 1459-1473.
- [18] WANG Y C, GAO C, LIANG Y, et al. A novel bZIP gene from *Tamarix hispida* mediates physiological responses to salt stress in tobacco plants [J]. Journal of Plant Physiology, 2010, 167(3): 222-230.
- [19] LIU G T, WANG J F, CRAMER G, et al. Transcriptomic analysis of grape (*Vitis vinifera* L.) leaves during and after recovery from heat stress [J]. BMC Plant Biology, 2012, 12(174): 365-370.
- [20] TAK H, MHATRE M. Cloning and molecular characterization of a putative bZIP transcription factor VvbZIP23 from *Vitis vinifera* [J]. Protoplasma, 2013, 250: 333-345.
- [21] SILVEIRA A B, GAUER L, TOMAZ J P, et al. The *Arabidopsis* AtbZIP9 protein fused to the VP16 transcriptional activation domain alters leaf and vascular development [J]. Plant Science, 2007, 172(6): 1148-1156.
- [22] CHUANG C F, RUNING M P, WILLIAMS R W, et al. The *PERANTHIA* gene encodes a bZIP protein involved in the determination of floral organ number in *Arabidopsis thaliana* [J]. Genes & Development, 1999, 13(3): 334-344.
- [23] CHEN H, CHEN W, ZHOU J L, et al. Basic leucine zipper transcription factor OsbZIP16 positively regulates drought resistance in rice [J]. Plant Science, 2012, 193/194: 8-17.
- [24] 王帆. 苹果 MdbZIP26 基因表达模式及其启动子的功能分析 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2019.
- [25] ZHANG X, WANG L, MENG H, et al. Maize ABP9 enhances tolerance to multiple stresses in transgenic *Arabidopsis* by modulating ABA signaling and cellular levels of reactive oxygen species [J]. Plant Journal, 2011, 34(2): 137-148.
- [26] HAWKES J G. The potato, evolution, biodiversity and genetic resources [M]. London: Belhaven Press, 1990.
- [27] CHEN W M, CAI R L, LIN L. Strategic conception of boosting potato staple food normalization [J]. Guizhou Agricultural Sciences, 2016, 44(1): 182-185.
- [28] 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.
- [29] 马晓闻, 周思泓, 王丹玉, 等. 基于转录组分析筛选牛心朴子响应低温胁迫的转录因子家族 [J]. 南方农业学报, 2020, 51(5): 995-1003.
- [30] 邵玉玲, 杨林, 王欢欢, 等. 茶特征成分合成相关新转录因子鉴定 [J]. 江苏农业学报, 2021, 37(6): 1534-1544.
- [31] ESHAGHI M, LEE J H, ZHU L, et al. Genomic binding profiling of the fission yeast stress-activated MAPK Sty1 and the bZIP transcriptional activator Atf1 in response to H₂O₂ [J]. PLoS One, 2010, 5(7): e11620.
- [32] 林延慧, 唐力琼, 徐靖, 等. 大豆响应涝害 bZIP 基因 *Glyma04g04170* 的生物信息学分析及互作蛋白预测 [J]. 大豆科学, 2020, 39(5): 727-733.

(责任编辑:徐艳)