

鱼腥草 *bZIP* 基因的鉴定与分析

蔡 伟¹, 肖敬忠³, 余小丽³, 姚彩凤³, 陈 蔓³, 曾安杰³, 李芙蓉³, 陈 辽³, 刘 雷^{3*}, 付鸿博^{2*}

1. 绵阳师范学院资源环境工程学院, 四川 绵阳 621000

2. 红河学院生物科学与农学院, 云南 蒙自 661199

3. 绵阳师范学院生命科学与技术学院, 四川 绵阳 621000

摘要: 目的 筛选使鱼腥草 *Houttuynia cordata* 具有不同环境适应性的候选 *bZIP* 基因, 为后续繁育出具有更强环境适应性的鱼腥草品种奠定基础。方法 以鱼腥草转录组数据为基础, 鉴定了 *HcbZIP* 基因家族成员, 并对其理化性质、系统进化树、motif 基序及在 2 个不同生态型鱼腥草中的表达进行分析。结果 共鉴定得到 163 个 *HcbZIP* 基因, 编码蛋白质的氨基酸数量在 115 (*HcbZIP48* 和 *HcbZIP149*)~703 aa (*HcbZIP97*), 超过 53% 的家族成员为碱性蛋白, 超过 84% 的家族成员为不稳定蛋白, 所有家族成员均为亲水性蛋白。二级结构中, 161 个家族成员是由 α -螺旋、延伸链、 β -折叠和无规则卷曲 4 部分构成, β -折叠所占比例最低, α -螺旋和无规则卷曲所占比例较高。系统进化树分析将 163 个家族成员分成了 9 个类别, 包括 C、S、G、A、I、U、H、F 和 D, 其中被归到 D 类别中的 *HcbZIP* 基因数量最多共有 35 个, 数量最少的为 C 类别仅有 4 个, 没有 *HcbZIP* 基因被归类到 E 和 B 类别中。Motif 基序分析发现, motif1 (RLLQNRESARRSRLRKKAYVQELESSVAK) 高度保守在每个家族成员中均鉴定到且构成了 *bZIP* 基因的保守结构域。不同类别下的基因其 motif 基序构成较为接近, 且部分 motif 基序只存在特定类别的基因中。表达分析发现, 在鱼腥草 7 号药材中表达的 *HcbZIP* 基因数量多于鱼腥草 6 号药材, 同时也发现单独在 7 号药材中表达的 *HcbZIP* 基因数量也多于鱼腥草 6 号药材。共发现 6 个 *HcbZIP* 基因, *HcbZIP156*、*HcbZIP153*、*HcbZIP147*、*HcbZIP149*、*HcbZIP48* 和 *HcbZIP127* 在 6 号和 7 号药材中均呈现出较高的表达量。通过比较 6 号和 7 号的差异 *bZIP* 基因发现, 共有 96 个差异表达 *HcbZIP* 基因, 并将其分成了 2 大类, 共 63 个差异基因在 7 号药材中表达量较高, 33 个差异基因在 6 号药材中表达量较高。结论 共筛选出 4 个基因 *HcbZIP154*、*HcbZIP150*、*HcbZIP26* 和 *HcbZIP18* 作为鱼腥草 6 号和 7 号 2 种材料能够形成适应不同生态条件的候选 *HcbZIP* 基因。

关键词: 鱼腥草; 生物信息学; 差异表达基因; 不同生态型; 基因家族

中图分类号: R286.12 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)13-4295-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.13.022

Identification and analysis of *bZIP* gene of *Houttuynia cordata*

CAI Wei¹, XIAO Jing-zhong³, YU Xiao-li³, YAO Cai-feng³, CHEN Man³, ZENG An-jie³, LI Fu-rong³, CHEN Liao³, LIU Lei³, FU Hong-bo²

1. School of Resources and Environmental Engineering, Mianyang Normol University, Mianyang 621000, China

2. College of Biological and Agricultural Sciences, Honghe University, Mengzi 661199, China

3. College of Life Science & Biotechnology, Mianyang Normol University, Mianyang 621000, China

Abstract: Objective To lay a foundation for further study of *Houttuynia cordata bZIP* gene. **Methods** Based on the transcriptome data of *H. cordata*, we identified the *HcbZIP* family genes and analyzed their physicochemical properties, phylogenetic tree, motif compositions and the expressions in two different ecotype *H. cordata*. **Results** A total of 163 *HcbZIP* genes were identified. The number of amino acids encoding proteins ranged from 115 aa (*HcbZIP48* and *HcbZIP149*) to 703 aa (*HcbZIP97*). More than 53% of the family members were basic proteins, and more than 84% of the family members were unstable proteins, all members of the family were hydrophilic proteins. In the secondary structure, 161 family members are composed of four parts: alpha helix, extended strand, beta turn and random coil. The ratio of beta turn was the lowest, and the ratio of alpha helix and random coil

收稿日期: 2022-12-06

基金项目: 四川省科技计划项目 (2021YJ0115); 四川省科技计划项目 (2020YFN0113)

作者简介: 蔡 伟 (1989—), 硕士, 助教, 主要从事环境生物学、植物资源评价与利用研究, Tel: 15983684595 E-mail: 708810337@qq.com

*通信作者: 刘 雷 (1980—), 硕士, 副研究员, 主要从事药用植物资源评价与利用、农业产业化与标准化研究。E-mail: 33020897@qq.com

付鸿博 (1987—), 博士, 讲师, 主要从事植物种质资源创新与分子育种。E-mail: 113311168@qq.com

were the highest. Phylogenetic tree analysis divided these 163 family members into 9 classes, including C, S, G, A, I, U, H, F and D, the largest number was in class D with the number of 35, the lowest number was in classes C with only four, and no *HcbZIP* genes were classified into classes E and B. Motif composition analysis revealed that motif 1 (RLQNRESARRSRLRKKA-YVQELESSVAK) was highly conserved in each family member and constitutes a conserved domain of the *bZIP* gene. The motifs of the genes in different classes were close, and part of the motifs only existed in the genes in specific classes. The expression analysis showed that the number of *HcbZIP* gene expressed in 7# was more than that in 6#, it was also found that the number of *HcbZIP* gene only expressed in 7# was more than that in 6#. A total of 6 *HcbZIP* genes including *HcbZIP156*, *HcbZIP153*, *HcbZIP147*, *HcbZIP149*, *HcbZIP48*, and *HcbZIP127* were highly expressed in 6# and 7#. By comparing the differentially expressed *bZIP* genes of 6# and 7#, we found that a total of 96 differentially expressed *HcbZIP* genes, which were divided into 2 classes, and 63 differentially expressed genes were highly expressed in 7#, the expression level of the other 33 differentially expressed genes were higher in 6#. **Conclusion** A total of 4 genes, including *HcbZIP154*, *HcbZIP150*, *HcbZIP26* and *HcbZIP18* were selected as candidate genes that can adapt to different ecological conditions for these two materials.

Key words: *Houttuynia cordata* Thunb.; bioinformatics; differentially expressed gene; different ecotypes; genes family

植物在其生命周期经常面临不利的环境条件,如干旱,紫外线,极端温度等。为了在这些具有挑战性的环境中生存和茁壮成长,植物经过多年的进化和适应,已经发展出各种各样的防御机制。深入了解这些机制将有助于育种者开发优良品种,供生产实践采用以更有效地应对气候变化。转录因子(transcription factors)已被证明通过自我调节和调节下游靶基因表达在植物生长和发育中起关键作用^[1],并通过结合靶基因的启动子参与主要成分来响应不同的胁迫^[2]。*bZIP* 基因是植物中最大的转录因子家族之一,其家族成员已经在植物、动物和许多其他物种中被鉴定出来。含有大约 70 个氨基酸的 *bZIP* 结构域具有碱性区域(N-x7-R/K 基序)和亮氨酸拉链区域^[3]。*bZIP* 转录因子主要分布在核蛋白植物中。从烟草中分离到 *NbbZIP28* 基因,构建了 *NbbZIP28-GFP* 融合蛋白^[4],前体蛋白从内质网膜分离并进入细胞核发挥作用^[4]。*bZIP* 转录因子家族主要识别 ACGT 的顺式作用元件,例如 ABRE、G-box、A-box 和 C-box 作为启动子区域^[5]。随着 *bZIP* 基因的克隆和功能的发现,由于其在非生物胁迫下具有重要的调节功能,受到了研究者的广泛关注。在白桦的研究中,通过过表达 *BpbZIP1* 后发现转基因株系的耐盐能力提升^[6]。在用不同浓度 PEG-6000 处理糜子幼苗后, *PmbZIP10*、*PmbZIP40*、*PmbZIP80* 和 *PmbZIP94* 这 4 个基因都表达量随处理浓度的变化呈现显著上调或下调,说明了 *bZIP* 转录因子参与了糜子干旱胁迫^[7]。在玉米的研究中,随着 NaCl 处理时间的延长 *ZmbZIP17* 和 *ZmbZIP75* 的表达量显著升高,在低温(4℃)处理时, *ZmbZIP99* 的表达量随处理时间的延长显著升高,说明了 *bZIP* 转录因

子参与玉米盐和低温胁迫^[8]。在小麦的研究中,过表达 *TabZIP60s* 可提高植株的耐热性^[9],过表达 *TabZIP15* 可提高植株的耐盐性^[10]。综上, *bZIP* 转录因子在植物应对非生物胁迫,包括干旱、高盐、低温和高温等方面具有重要作用。

鱼腥草为蕺菜 *Houttuynia cordata* Thunb. 干燥地上部分,是一种辛辣的,心形叶状的多年生草本植物,具有很高的食用和药用价值^[11]。幼嫩的茎叶是桌上的一种特殊的蔬菜^[12]。鱼腥草地上部、地下部和地上部干花期的新鲜植物作为常见的药用植物^[13],具有清热解毒、祛痰止咳和镇痛等功效^[14-15],同时鱼腥草还是许多药物的原料,可加工成西药注射剂或称为“中药抗生素”的中成药^[16],在抗菌、抗病毒方面具有良好的作用,是连花清瘟胶囊、抗病毒合剂的重要成分^[17]。鱼腥草由于其较强的环境适应性,广泛分布于我国南方各省区,西北、华北地区及西藏等地区^[18],但由于各地区的生长环境差异较大,各地区的鱼腥草无论是在外观还是营养成分上都会存在着一定的差异,同样也会存在不同的生态适应性^[19]。本研究以 2 种不同生态类型的鱼腥草(6 号和 7 号)作为材料,以转录组数据为基础挖掘鱼腥草 *bZIP* 基因家族成员,以期筛选出使鱼腥草 6 号和 7 号药材具有不同环境适应性的候选 *bZIP* 基因,为后续繁育出具有更强环境适应性的鱼腥草品种奠定基础。

1 材料

共选取 2 种不同生态类型的鱼腥草(6 号和 7 号)作为实验材料。2020 年 9 月在雅安雨城区滨江南岸的老板山脚下收集到 6 号药材。2020 年 9 月在四川省温江市惠和村收集到 7 号药材。经绵阳师范

学院生命科学与技术学院罗明华教授鉴定为三白草科植物戴菜 *Houttuynia cordata* Thunb., 样本材料保存于该校生命科学与技术学院教学农场, 在相同的场地条件和水肥管理 2 年后, 采集地上部分 (茎和叶) 储存在 -80 °C 冰箱用于进一步分析。

2 方法

2.1 转录组测序及差异表达基因分析

转录组测序由武汉迈特维尔生物科技有限公司完成, 对于转录组测序结果, 使用 DESeq2 方法对 6 号和 7 号 2 份材料进行差异表达分析, 经过差异分析后, 需要用 Benjamini-Hochberg 方法修正多重假设检验的假设检验概率 (P 值), 以获得错误发现率 (FDR)。差异表达基因的筛选条件为 $|\log_2 \text{Fold Change}| \geq 1$, $\text{FDR} < 0.05$ 。

2.2 鱼腥草 *bZIP* 基因的鉴定

以转录组测序结果预测的蛋白序列为基础进行鱼腥草 *bZIP* 基因的鉴定, *bZIP* 结构域序列 (PF00170) 下载于 Pfam 数据库, 以此来查询序列以比对蛋白, 通过 hmmer3.0 软件来鉴定鱼腥草 *bZIP* 基因并结合转录组使用 iTAK 软件所预测出来的 *bZIP* 基因为候选鱼腥草 *bZIP* 基因。利用 NCBI-CDD 数据库对所有候选 *HcbZIP* 基因的结构域进行验证, 最终确定鱼腥草 *bZIP* 基因家族成员。

2.3 鱼腥草 *bZIP* 基因的生物信息学分析

利用所鉴定的 *HcbZIP* 基因和已知拟南芥 *bZIP*

基因进行系统树。拟南芥数据下载于 TAIR 数据库, 利用 MEGA 软件的 Neighbor-Joining 方法 (bootstrap replications=1000, Model=p-distance) 构建系统进化树。鱼腥草 *bZIP* 基因的理化性质和二级结构利用 ProtParam 和 SOMPA 在线数据库进行分析。*HcbZIP* 家族成员的保守结构域利用 NCBI 进行分析, 利用 TBtools 软件的 Simple MEME Wrapper 工具分析 *HcbZIP* 家族成员的 motif 基序, 并利用 TBtools 软件进行可视化。

2.4 鱼腥草 *bZIP* 基因的表达分析

根据转录组数据绘制所鉴定得到的鱼腥草 *bZIP* 表达量热图和 Venn 图, 并利用 TBtools 软件进行可视化。将 6 号和 7 号 2 个材料中差异表达的 *bZIP* 基因进行 K-means 聚类分析, 并利用迈维在线云平台 (<https://cloud.metware.cn>) 实现可视化。

3 结果与分析

3.1 鱼腥草 *bZIP* 基因家族成员进化树分析

将所鉴定得到的 163 个鱼腥草 *bZIP* 基因和拟南芥 *bZIP* 进行进化树分析, 并根据拟南芥的分类方式进行分类, 结果表明, 拟南芥 *bZIP* 基因共分成 11 个类别, 包括 C、S、G、A、I、U、E、H、F、B 和 D (图 1)。鱼腥草 *bZIP* 基因被归类到这 11 个类别中的 9 个, 包括 C、S、G、A、I、U、H、F 和 D, 其中被归到 D 类别中的 *HcbZIP* 基因数量最多共有

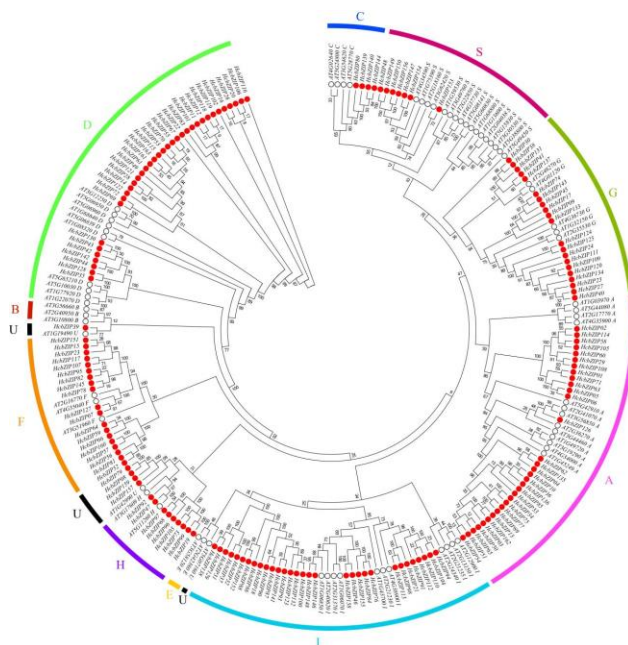


图 1 鱼腥草和拟南芥 *bZIP* 基因的进化树分析

Fig. 1 Phylogenetic relationships of *bZIP* genes in *Houttuynia cordata* and *Arabidopsis thaliana*.

35 个, 其次为 A 和 I 类别, 分别有 32 和 31 个, 被归类到 C、S、H 和 U 类别中的 *HcbZIP* 基因数量均少于 10 个, 数量最少的为 C 类别仅有 4 个, 同时可以发现, 没有 *HcbZIP* 基因被归类到 E 和 B 类别中。

3.2 鱼腥草 *bZIP* 基因家族成员的理化性质分析

对所鉴定的 163 个鱼腥草 *bZIP* 基因的理化性质和二级结构进行分析 (表 1), 编码蛋白质的氨基酸数量在 115 aa (*HcbZIP48* 和 *HcbZIP149*) ~ 703 aa (*HcbZIP97*), 其中类别 A 中的 32 个蛋白的氨基酸数量均在 400 aa 左右, 类别 S 中的 7 个蛋白的氨基酸数量较少, 均在 110~160 aa。在这 163 个 *HcbZIP* 蛋白中, 相对分子质量在 13 090 (*HcbZIP48* 和 *HcbZIP149*) ~ 75 470 (*HcbZIP97*)。等电点在 4.60 (*HcbZIP159*) ~ 9.96 (*HcbZIP136*), 其中有 76 个蛋白的等电点小于 7 为酸性蛋白, 有 87 个蛋白的等电点大于 7 为碱性蛋白。不稳定系

数在 28.24 (*HcbZIP15*、*HcbZIP23* 和 *HcbZIP151*) ~ 79.99 (*HcbZIP153*), 其中有 25 个蛋白的不稳定系数小于 40 为稳定蛋白, 有 138 个蛋白的不稳定系数大于 40 为不稳定蛋白。脂肪族氨基酸指数在 43.37 (*HcbZIP17*) ~ 105.32 (*HcbZIP08*)。亲水性系数在 -1.284 (*HcbZIP30*) ~ -0.065 (*HcbZIP79*), 表明所有的蛋白均为亲水性蛋白。对二级结构预测后发现, 共有 161 个 *HcbZIP* 家族成员由 α -螺旋、延伸链、 β -折叠和无规则卷曲 4 部分构成, *HcbZIP30* 由 α -螺旋、 β -折叠和无规则卷曲 3 部分构成, 延伸链的占比为 0, *HcbZIP30* 由 α -螺旋、延伸链和无规则卷曲 3 部分构成, β -折叠的占比为 0。 β -折叠在所有蛋白中的占比均较低, 均低于 10%, 延伸链在所有蛋白中的占比均低于 20%, α -螺旋的占比在 15.67% (*HcbZIP17*) ~ 84.17% (*HcbZIP08*), 无规则卷曲的占比在 9.57% (*HcbZIP48*) ~ 75.00% (*HcbZIP17*)。

表 1 鱼腥草 *bZIP* 基因家族成员的理化性质分析

Table 1 Physicochemical properties of *HcbZIP* genes

分类	基因名称	基因编号	编码氨基酸长度/aa	相对分子质量	等电点	不稳定系数	脂肪族氨基酸指数	亲水性	α -螺旋/%	延伸链/%	β -折叠/%	无规则卷曲/%
A	<i>HcbZIP85</i>	A22110063c_transcript_35869	415	44.72	9.37	37.13	65.86	-0.620	30.84	11.08	1.45	56.63
	<i>HcbZIP126</i>	A22110063c_transcript_50982	335	37.26	6.88	52.02	69.31	-0.834	35.52	6.87	2.09	55.52
	<i>HcbZIP05</i>	A22110060c_transcript_13729	386	42.14	5.27	45.33	68.47	-0.551	34.97	10.62	2.33	52.07
	<i>HcbZIP06</i>	A22110060c_transcript_14712	386	42.14	5.27	45.33	68.47	-0.551	34.97	10.62	2.33	52.07
	<i>HcbZIP02</i>	A22110060c_transcript_11066	385	41.90	5.2	45.88	70.21	-0.511	31.69	10.91	2.34	55.06
	<i>HcbZIP10</i>	A22110060c_transcript_22070	415	44.73	9.44	37.10	66.31	-0.620	30.84	11.08	2.41	55.66
	<i>HcbZIP36</i>	A22110060c_transcript_32489	415	44.73	9.44	37.10	66.31	-0.620	30.84	11.08	2.41	55.66
	<i>HcbZIP50</i>	A22110060c_transcript_6252	415	44.61	9.00	36.75	67.71	-0.478	30.60	13.49	2.65	53.25
	<i>HcbZIP108</i>	A22110063c_transcript_44673	406	44.39	5.52	45.82	69.68	-0.558	31.77	11.82	2.71	53.69
	<i>HcbZIP34</i>	A22110060c_transcript_31497	402	43.04	8.66	34.19	64.10	-0.634	30.10	8.46	2.74	58.71
	<i>HcbZIP51</i>	A22110060c_transcript_6706	390	41.68	8.78	37.38	65.82	-0.569	30.26	14.87	2.82	52.05
	<i>HcbZIP54</i>	A22110063c_transcript_10230	390	41.68	8.78	37.38	65.82	-0.569	30.26	14.87	2.82	52.05
	<i>HcbZIP65</i>	A22110063c_transcript_1624	390	41.68	8.78	37.38	65.82	-0.569	30.26	14.87	2.82	52.05
	<i>HcbZIP62</i>	A22110063c_transcript_15462	385	41.17	8.69	38.50	65.61	-0.618	29.87	9.87	2.86	57.40
	<i>HcbZIP01</i>	A22110060c_transcript_10560	393	43.06	5.39	44.11	71.45	-0.387	30.03	11.45	3.05	55.47
	<i>HcbZIP58</i>	A22110063c_transcript_13346	361	39.14	5.43	49.85	69.70	-0.456	22.99	11.36	3.05	62.60
	<i>HcbZIP03</i>	A22110060c_transcript_11243	447	48.36	6.94	34.08	70.49	-0.491	34.00	11.86	3.13	51.01
	<i>HcbZIP135</i>	A22110063c_transcript_53089	410	44.19	9.19	43.90	65.17	-0.657	30.24	10.98	3.17	55.61
	<i>HcbZIP114</i>	A22110063c_transcript_45777	406	44.41	5.54	45.28	71.85	-0.541	32.51	8.37	3.20	55.91
	<i>HcbZIP105</i>	A22110063c_transcript_44078	406	44.35	5.52	44.27	69.43	-0.557	32.27	12.32	3.20	52.22
	<i>HcbZIP13</i>	A22110060c_transcript_25273	447	48.33	6.94	34.40	70.07	-0.496	36.24	10.74	3.36	49.66
	<i>HcbZIP162</i>	A22110063c_transcript_9360	447	48.33	6.94	34.40	70.07	-0.496	36.24	10.74	3.36	49.66
	<i>HcbZIP04</i>	A22110060c_transcript_11413	411	44.01	8.40	40.38	68.10	-0.543	32.60	10.46	3.65	53.28
	<i>HcbZIP75</i>	A22110063c_transcript_24901	402	43.00	8.66	34.40	64.35	-0.626	29.10	12.19	3.73	54.98
	<i>HcbZIP136</i>	A22110063c_transcript_53611	466	50.71	9.96	41.78	66.39	-0.637	27.90	12.45	3.86	55.79
	<i>HcbZIP63</i>	A22110063c_transcript_16155	386	42.17	5.27	44.77	67.46	-0.553	34.46	10.88	3.89	50.78
	<i>HcbZIP29</i>	A22110060c_transcript_29302	406	44.44	5.60	46.38	70.42	-0.549	31.77	9.36	3.94	54.93
	<i>HcbZIP77</i>	A22110063c_transcript_29078	418	45.06	5.48	39.02	64.45	-0.692	32.78	12.92	4.31	50.00
	<i>HcbZIP89</i>	A22110063c_transcript_41273	418	45.06	5.48	39.02	64.45	-0.692	32.78	12.92	4.31	50.00
	<i>HcbZIP33</i>	A22110060c_transcript_31411	430	46.14	8.85	37.42	65.14	-0.514	32.09	10.47	4.42	53.02
	<i>HcbZIP60</i>	A22110063c_transcript_15088	361	39.04	5.52	50.11	72.13	-0.427	25.21	12.19	4.71	57.89
	<i>HcbZIP71</i>	A22110063c_transcript_21574	394	43.02	5.64	42.81	71.27	-0.383	30.46	12.94	4.82	51.78
C	<i>HcbZIP139</i>	A22110063c_transcript_53977	466	50.15	5.55	60.45	65.94	-0.689	36.70	3.22	0.86	59.23
	<i>HcbZIP140</i>	A22110063c_transcript_54018	483	52.23	5.63	54.89	68.28	-0.588	35.82	5.18	1.66	57.35
	<i>HcbZIP144</i>	A22110063c_transcript_55046	456	49.32	5.66	56.54	61.40	-0.747	36.40	1.75	1.75	60.09

续表 1

分类	基因名称	基因编号	编码氨基酸长度/aa	相对分子质量	等电点	不稳定系数	脂肪族氨基酸指数	亲水性	α -螺旋/%	延伸链/%	β -折叠/%	无规则卷曲/%
C	HcbZIP80	A22110063c_transcript_32080	239	26.43	6.61	53.33	70.96	-0.708	44.77	2.51	2.93	49.79
D	HcbZIP11	A22110060c_transcript_22406	464	51.36	7.82	58.93	72.44	-0.621	55.82	4.31	1.29	38.58
	HcbZIP12	A22110060c_transcript_23824	464	51.36	7.82	58.93	72.44	-0.621	55.82	4.31	1.29	38.58
	HcbZIP101	A22110063c_transcript_43744	464	51.36	7.82	58.93	72.44	-0.621	55.82	4.31	1.29	38.58
	HcbZIP118	A22110063c_transcript_46677	464	51.36	7.82	58.93	72.44	-0.621	55.82	4.31	1.29	38.58
	HcbZIP119	A22110063c_transcript_46723	464	51.36	7.82	58.93	72.44	-0.621	55.82	4.31	1.29	38.58
	HcbZIP35	A22110060c_transcript_31999	361	40.72	7.77	47.08	82.19	-0.428	62.60	5.82	1.39	30.19
	HcbZIP49	A22110060c_transcript_4543	333	37.19	8.85	62.68	81.29	-0.559	66.67	6.01	1.50	25.83
	HcbZIP83	A22110063c_transcript_33762	464	51.36	7.82	59.34	71.59	-0.632	53.66	5.60	1.51	39.22
	HcbZIP16	A22110060c_transcript_26951	464	51.33	7.82	57.57	75.58	-0.590	55.17	5.39	1.51	37.93
	HcbZIP20	A22110060c_transcript_27895	464	51.33	7.82	57.57	75.58	-0.590	55.17	5.39	1.51	37.93
	HcbZIP26	A22110060c_transcript_28584	464	51.33	7.82	57.57	75.58	-0.590	55.17	5.39	1.51	37.93
	HcbZIP106	A22110063c_transcript_44350	464	51.33	7.82	57.57	75.58	-0.590	55.17	5.39	1.51	37.93
	HcbZIP116	A22110063c_transcript_46037	464	51.33	7.82	57.57	75.58	-0.590	55.17	5.39	1.51	37.93
	HcbZIP128	A22110063c_transcript_51802	361	40.74	8.28	46.23	82.19	-0.432	62.33	6.09	1.66	29.92
	HcbZIP102	A22110063c_transcript_43849	464	51.36	7.17	58.10	75.58	-0.581	54.53	6.03	1.72	37.72
	HcbZIP163	A22110063c_transcript_9751	332	37.00	9.09	62.55	80.66	-0.552	70.48	6.33	1.81	21.39
	HcbZIP161	A22110063c_transcript_8547	332	37.00	9.09	62.55	80.66	-0.552	70.48	6.33	1.81	21.39
	HcbZIP43	A22110060c_transcript_33714	351	39.31	5.79	53.26	83.13	-0.479	62.68	5.41	1.99	29.91
	HcbZIP44	A22110060c_transcript_33820	351	39.31	5.79	53.26	83.13	-0.479	62.68	5.41	1.99	29.91
	HcbZIP14	A22110060c_transcript_25890	449	50.11	8.52	59.67	77.02	-0.516	53.45	5.35	2.00	39.20
	HcbZIP28	A22110060c_transcript_29161	449	50.11	8.52	59.67	77.02	-0.516	53.45	5.35	2.00	39.20
	HcbZIP42	A22110060c_transcript_33452	346	38.77	5.79	56.22	80.12	-0.508	63.58	8.09	2.02	26.30
	HcbZIP22	A22110060c_transcript_28009	437	48.02	6.53	57.24	69.95	-0.590	51.72	5.03	2.06	41.19
	HcbZIP121	A22110063c_transcript_47425	332	37.10	8.51	57.18	80.06	-0.539	68.37	6.02	2.11	23.49
	HcbZIP53	A22110063c_transcript_10072	332	37.02	9.27	62.17	80.66	-0.556	66.57	6.33	2.11	25.00
	HcbZIP55	A22110063c_transcript_10671	332	37.02	9.27	62.17	80.66	-0.556	66.57	6.33	2.11	25.00
	HcbZIP67	A22110063c_transcript_18191	332	37.02	9.27	62.17	80.66	-0.556	66.57	6.33	2.11	25.00
	HcbZIP70	A22110063c_transcript_21090	332	37.02	9.27	62.17	80.66	-0.556	66.57	6.33	2.11	25.00
	HcbZIP72	A22110063c_transcript_21816	240	26.72	9.51	54.40	74.46	-0.559	48.75	14.58	2.50	34.17
	HcbZIP130	A22110063c_transcript_52420	351	39.06	6.12	53.74	81.74	-0.488	62.39	5.70	2.56	29.34
	HcbZIP122	A22110063c_transcript_47632	332	37.15	8.51	57.57	80.93	-0.524	67.47	6.02	2.71	23.80
	HcbZIP115	A22110063c_transcript_45801	332	36.90	8.42	62.37	81.84	-0.506	68.98	6.33	2.71	21.99
	HcbZIP142	A22110063c_transcript_54618	351	39.22	5.95	53.40	82.85	-0.471	62.68	5.41	2.85	29.06
	HcbZIP61	A22110063c_transcript_15307	303	33.70	9.19	64.03	83.23	-0.478	73.60	5.94	2.97	17.49
	HcbZIP69	A22110063c_transcript_20624	240	26.76	9.64	53.84	72.83	-0.594	45.00	16.25	5.00	33.75
F	HcbZIP56	A22110063c_transcript_11663	237	26.53	9.55	56.27	56.03	-1.013	32.07	8.02	0.84	59.07
	HcbZIP127	A22110063c_transcript_51755	275	29.66	6.55	46.01	64.87	-0.539	26.91	12.00	1.09	60.00
	HcbZIP52	A22110060c_transcript_8291	338	37.63	8.58	54.49	65.59	-0.745	38.17	9.47	1.78	50.59
	HcbZIP23	A22110060c_transcript_28101	233	25.95	6.21	28.24	77.73	-0.623	36.91	11.59	2.15	49.36
	HcbZIP151	A22110063c_transcript_56354	233	25.95	6.21	28.24	77.73	-0.623	36.91	11.59	2.15	49.36
	HcbZIP15	A22110060c_transcript_25930	233	25.95	6.21	28.24	77.73	-0.623	36.91	11.59	2.15	49.36
	HcbZIP57	A22110063c_transcript_13174	338	37.66	8.58	53.35	65.59	-0.753	40.83	9.76	2.66	46.75
	HcbZIP07	A22110060c_transcript_18645	261	28.75	6.22	41.68	71.38	-0.636	28.74	9.58	2.68	59.00
	HcbZIP81	A22110063c_transcript_32418	351	39.09	9.09	53.53	63.16	-0.802	35.33	8.83	2.85	52.99
	HcbZIP160	A22110063c_transcript_7604	338	37.66	8.58	53.92	64.44	-0.768	36.09	9.76	2.96	51.18
	HcbZIP107	A22110063c_transcript_44359	233	25.93	6.21	30.45	77.34	-0.635	37.34	11.16	3.00	48.50
	HcbZIP117	A22110063c_transcript_46526	233	25.96	6.21	29.64	78.15	-0.625	36.48	11.59	3.00	48.93
	HcbZIP59	A22110063c_transcript_14661	209	23.62	9.04	56.98	74.78	-0.755	57.42	9.09	3.35	30.14
	HcbZIP64	A22110063c_transcript_16199	209	23.62	9.04	56.98	74.78	-0.755	57.42	9.09	3.35	30.14
	HcbZIP66	A22110063c_transcript_17727	209	23.62	9.04	56.98	74.78	-0.755	57.42	9.57	3.35	29.67
	HcbZIP78	A22110063c_transcript_29098	233	25.82	6.37	29.84	77.77	-0.608	34.33	11.59	4.29	49.79
	HcbZIP82	A22110063c_transcript_32783	233	25.82	6.37	29.84	77.77	-0.608	34.33	11.59	4.29	49.79
	HcbZIP95	A22110063c_transcript_42830	233	25.82	6.37	29.84	77.77	-0.608	34.33	11.59	4.29	49.79
	HcbZIP145	A22110063c_transcript_55254	233	25.82	6.37	29.84	77.77	-0.608	34.33	11.59	4.29	49.79
G	HcbZIP30	A22110060c_transcript_29526	142	15.87	9.47	60.21	66.62	-1.284	67.61	0.00	0.70	31.69
	HcbZIP24	A22110060c_transcript_28317	382	40.68	6.13	59.99	45.60	-0.982	20.68	5.76	0.79	72.77
	HcbZIP25	A22110060c_transcript_28329	382	40.68	6.13	59.99	45.60	-0.982	20.68	5.76	0.79	72.77
	HcbZIP27	A22110060c_transcript_28723	382	40.68	6.13	59.99	45.60	-0.982	20.68	5.76	0.79	72.77
	HcbZIP40	A22110060c_transcript_33210	382	40.68	6.13	59.99	45.60	-0.982	20.68	5.76	0.79	72.77
	HcbZIP125	A22110063c_transcript_49926	382	40.79	6.47	61.71	44.06	-0.981	21.99	5.76	0.79	71.47
	HcbZIP124	A22110063c_transcript_48688	382	40.84	6.33	60.99	45.05	-0.961	19.37	5.24	1.05	74.35
	HcbZIP120	A22110063c_transcript_46805	382	40.72	6.02	62.00	44.58	-0.997	20.16	5.76	1.05	73.04
	HcbZIP133	A22110063c_transcript_52773	168	18.57	9.43	56.07	70.42	-0.809	41.67	7.14	1.19	50.00
	HcbZIP111	A22110063c_transcript_45059	382	40.70	6.02	60.50	45.10	-0.987	21.20	3.93	1.31	73.56
	HcbZIP134	A22110063c_transcript_52781	382	40.73	6.13	60.54	45.60	-0.991	20.42	3.40	1.31	74.87

续表 1

分类	基因名称	基因编号	编码氨基酸长度/aa	相对分子质量	等电点	不稳定系数	脂肪族氨基酸指数	亲水性 α -螺旋/%	延伸链/%	β -折叠/%	无规则卷曲/%		
G	HcbZIP09	A22110060c_transcript_22066	151	17.04	9.33	62.12	84.64	-0.352	60.93	6.62	1.32	31.13	
	HcbZIP45	A22110060c_transcript_34025	350	37.27	8.72	56.81	48.91	-0.878	25.14	4.86	1.43	68.57	
	HcbZIP109	A22110063c_transcript_44827	382	40.65	6.13	60.95	44.58	-0.988	21.20	7.07	1.83	69.90	
	HcbZIP74	A22110063c_transcript_23973	350	37.26	8.72	56.81	48.63	-0.877	24.29	4.57	2.57	68.57	
	HcbZIP143	A22110063c_transcript_54688	350	37.26	8.72	56.81	48.63	-0.877	24.29	4.57	2.57	68.57	
	HcbZIP38	A22110060c_transcript_32658	378	40.39	8.48	54.21	52.43	-0.959	29.37	4.23	2.65	63.76	
	HcbZIP137	A22110063c_transcript_53790	378	40.39	8.48	54.21	52.43	-0.959	29.37	4.23	2.65	63.76	
	HcbZIP41	A22110060c_transcript_33222	382	40.63	9.08	56.04	54.71	-0.934	30.10	3.40	2.88	63.61	
	HcbZIP17	A22110060c_transcript_27141	300	31.45	9.54	60.91	43.37	-0.805	15.67	5.33	4.00	75.00	
	HcbZIP131	A22110063c_transcript_52628	318	33.93	9.33	53.07	54.97	-0.996	33.02	5.03	4.09	57.86	
H	HcbZIP47	A22110060c_transcript_35335	177	19.32	9.51	66.18	67.29	-0.888	46.89	5.08	2.26	45.76	
	HcbZIP92	A22110063c_transcript_42016	202	22.52	8.62	72.36	77.82	-0.655	58.42	2.97	2.48	36.14	
	HcbZIP97	A22110063c_transcript_42877	703	75.47	8.58	49.82	75.12	-0.482	22.19	12.66	2.56	62.59	
	HcbZIP19	A22110060c_transcript_27739	690	73.57	7.63	48.47	78.13	-0.420	23.04	11.16	2.61	63.19	
	HcbZIP99	A22110063c_transcript_43497	684	72.92	7.62	48.26	78.51	-0.419	21.35	12.13	2.92	63.60	
	HcbZIP96	A22110063c_transcript_42858	699	75.01	8.69	49.55	76.11	-0.474	19.74	11.73	3.00	65.52	
	HcbZIP103	A22110063c_transcript_43884	691	73.75	8.27	50.27	78.57	-0.423	22.29	12.59	3.04	62.08	
	HcbZIP68	A22110063c_transcript_19921	560	60.40	8.39	51.40	74.86	-0.541	25.89	10.36	3.21	60.54	
	HcbZIP73	A22110063c_transcript_21889	580	62.45	6.81	47.20	77.52	-0.417	28.79	9.66	4.48	57.07	
	I	HcbZIP129	A22110063c_transcript_52222	386	43.58	6.4	67.98	62.72	-1.005	31.35	5.70	0.52	62.44
HcbZIP138		A22110063c_transcript_53805	386	43.58	6.4	67.98	62.72	-1.005	31.35	5.70	0.52	62.44	
HcbZIP93		A22110063c_transcript_42089	360	40.30	7.18	51.81	74.06	-0.725	36.94	4.17	0.56	58.33	
HcbZIP90		A22110063c_transcript_41753	360	40.39	7.16	52.86	74.06	-0.743	34.44	5.28	0.56	59.72	
HcbZIP100		A22110063c_transcript_43632	360	40.29	6.43	51.33	73.78	-0.729	36.67	4.17	0.56	58.61	
HcbZIP123		A22110063c_transcript_48097	360	40.29	6.43	51.33	73.78	-0.729	36.67	4.17	0.56	58.61	
HcbZIP132		A22110063c_transcript_52691	360	40.29	6.43	51.33	73.78	-0.729	36.67	4.17	0.56	58.61	
HcbZIP141		A22110063c_transcript_54369	360	40.44	7.18	54.26	73.78	-0.736	33.06	5.28	0.56	61.11	
HcbZIP31		A22110060c_transcript_30871	386	43.54	6.58	68.21	60.70	-1.039	31.35	4.40	1.04	63.21	
HcbZIP152		A22110063c_transcript_56672	381	43.00	9.23	55.00	74.78	-0.693	40.16	5.25	1.05	53.54	
HcbZIP88		A22110063c_transcript_40238	334	37.59	8.65	55.21	74.49	-0.722	36.52	2.99	1.20	59.28	
HcbZIP86		A22110063c_transcript_40023	334	37.57	8.65	54.47	75.66	-0.719	38.92	3.59	1.20	56.29	
HcbZIP18		A22110060c_transcript_27518	245	27.59	8.46	55.69	63.39	-0.838	26.12	4.08	1.22	68.57	
HcbZIP37		A22110060c_transcript_32653	386	43.46	6.66	66.12	63.96	-0.940	32.90	4.66	1.30	61.14	
HcbZIP87		A22110063c_transcript_40027	360	40.42	7.18	55.57	72.97	-0.751	35.00	5.56	1.39	58.06	
HcbZIP46		A22110060c_transcript_35060	337	37.03	5.89	66.02	62.37	-0.780	35.01	6.82	1.48	56.68	
HcbZIP158		A22110063c_transcript_57906	337	37.03	5.89	66.02	62.37	-0.780	35.01	6.82	1.48	56.68	
HcbZIP32		A22110060c_transcript_31256	386	43.50	6.66	67.12	62.95	-0.961	33.94	4.15	1.81	60.10	
HcbZIP98		A22110063c_transcript_43466	547	59.25	6.22	68.09	55.01	-0.876	35.83	4.02	1.83	58.32	
HcbZIP113		A22110063c_transcript_45548	547	59.30	6.22	67.09	55.72	-0.866	36.93	4.94	2.01	56.12	
HcbZIP91		A22110063c_transcript_41796	588	62.88	6.63	61.03	56.48	-0.799	32.14	4.59	2.04	61.22	
HcbZIP21		A22110060c_transcript_27943	549	59.34	6.22	68.22	54.83	-0.865	36.07	3.46	2.37	58.11	
HcbZIP94		A22110063c_transcript_42485	635	67.90	9.05	66.05	59.97	-0.754	28.50	6.93	2.52	62.05	
HcbZIP112		A22110063c_transcript_45138	578	61.66	6.92	63.11	58.29	-0.760	30.80	5.02	2.60	61.59	
HcbZIP104		A22110063c_transcript_43974	578	61.59	6.92	62.86	58.63	-0.762	27.85	5.71	2.77	63.67	
HcbZIP110		A22110063c_transcript_44850	578	61.59	6.92	62.86	58.63	-0.762	27.85	5.71	2.77	63.67	
HcbZIP155		A22110063c_transcript_57274	334	36.70	6.08	59.95	64.67	-0.721	38.62	5.99	2.99	52.40	
HcbZIP148		A22110063c_transcript_55727	367	39.75	5.65	60.92	66.62	-0.623	32.97	4.09	3.27	59.67	
HcbZIP146		A22110063c_transcript_55298	386	41.88	6.17	57.13	67.64	-0.648	34.20	5.44	3.37	56.99	
HcbZIP84		A22110063c_transcript_34842	292	32.18	5.57	53.09	88.94	-0.121	46.58	11.99	5.14	36.30	
HcbZIP76		A22110063c_transcript_28476	292	32.17	5.57	53.13	89.62	-0.128	47.95	11.99	6.51	33.56	
S		HcbZIP156	A22110063c_transcript_57344	157	17.88	8.85	49.51	72.10	-0.799	65.61	4.46	1.27	28.66
		HcbZIP153	A22110063c_transcript_56686	143	16.38	7.74	79.99	76.43	-0.639	63.64	1.40	1.40	33.57
		HcbZIP48	A22110060c_transcript_35393	115	13.09	9.64	58.34	76.35	-0.765	83.48	5.22	1.74	9.57
		HcbZIP149	A22110063c_transcript_56084	115	13.09	9.64	58.34	76.35	-0.765	83.48	5.22	1.74	9.57
	HcbZIP150	A22110063c_transcript_56241	157	17.93	8.85	51.71	70.83	-0.781	62.42	2.55	2.55	32.48	
	HcbZIP147	A22110063c_transcript_55716	155	17.79	6.41	51.50	69.23	-0.684	63.23	1.29	3.23	32.26	
	HcbZIP154	A22110063c_transcript_57023	155	17.79	6.41	51.50	69.23	-0.684	63.23	1.29	3.23	32.26	
	U	HcbZIP08	A22110060c_transcript_19270	139	16.35	9.48	50.97	105.32	-0.087	84.17	2.16	0.00	13.67
HcbZIP39		A22110060c_transcript_32794	458	51.23	8.52	57.67	61.66	-0.747	36.46	5.02	1.75	56.77	
HcbZIP79		A22110063c_transcript_29550	139	16.36	9.40	50.97	103.24	-0.065	75.54	10.07	2.16	12.23	
HcbZIP157		A22110063c_transcript_57869	330	37.32	4.79	64.29	89.55	-0.521	58.18	5.76	3.03	33.03	
HcbZIP159		A22110063c_transcript_58534	340	38.45	4.6	59.97	84.59	-0.467	50.29	10.88	5.00	33.82	

3.3 鱼腥草 *bZIP* 基因家族成员保守结构域及 motif 基序分析

将所鉴定得到的 *HcbZIP* 蛋白进行单独进化树构建 (图 2-a), 同样分成了 9 个类别。通过分析 *HcbZIP* 基因的保守结构域发现, 所鉴定的 163 个 *HcbZIP* 基因均有 *bZIP* 家族的保守结构域 (图 3-c), 进一步证实这些基因均属于 *bZIP* 家族成员。为了分析 *bZIP* 家族成员的蛋白特征, 对其 motif 基序及组成进行分析 (图 2-b 和图 3), 共设定了 20 个 motif 基序, 其中 motif1 在 163 个家族成员中均被鉴定到为最保守的 motif 基序, 它也构成了 *bZIP* 家族成员的保守结构域, motif1 (RLLQNRESARRSLR-KKAYVQELESSVAK) 由 29 个氨基酸位点组成。在类别 C 和 U 中的基因其 motif 基序结构简单, 只

鉴定到了 motif1。类别 S 中的基因 motif 基序结构也较为简单, 只包含 motif1 和 motif11。类别 A 中的基因除了 *HcbZIP126* 外的其他基因的 motif 基序组成均较为丰富, 包含了 8~9 个 motif 基序, 其中 motif6、motif7、motif9 和 motif20 只在类别 A 中的基因中鉴定到。Motif18 (HIRHQRTSSES-FIFDEQPSWLNLDLDEPETPVGRGTHRRSSSDSV-AYLDI) 和 motif19 (RRPAIKDWETIVDTTCGY-QNSVASAREWLVEKHEADRSMDHAYGY) 只在类别 I 的部分基因中被鉴定到。Motif5 (MADTSPRTDTSTDGDLDDKNQRLDPGH SVM-AVASDSSDRSK) 和 motif12 (FDKALGSFDTASAA-RILSQTQSLNQGQESNIPVLNSNFELKW) 只在类别 D 和 F 的部分基因中被鉴定到。Motif8 (ILVSHLEP-

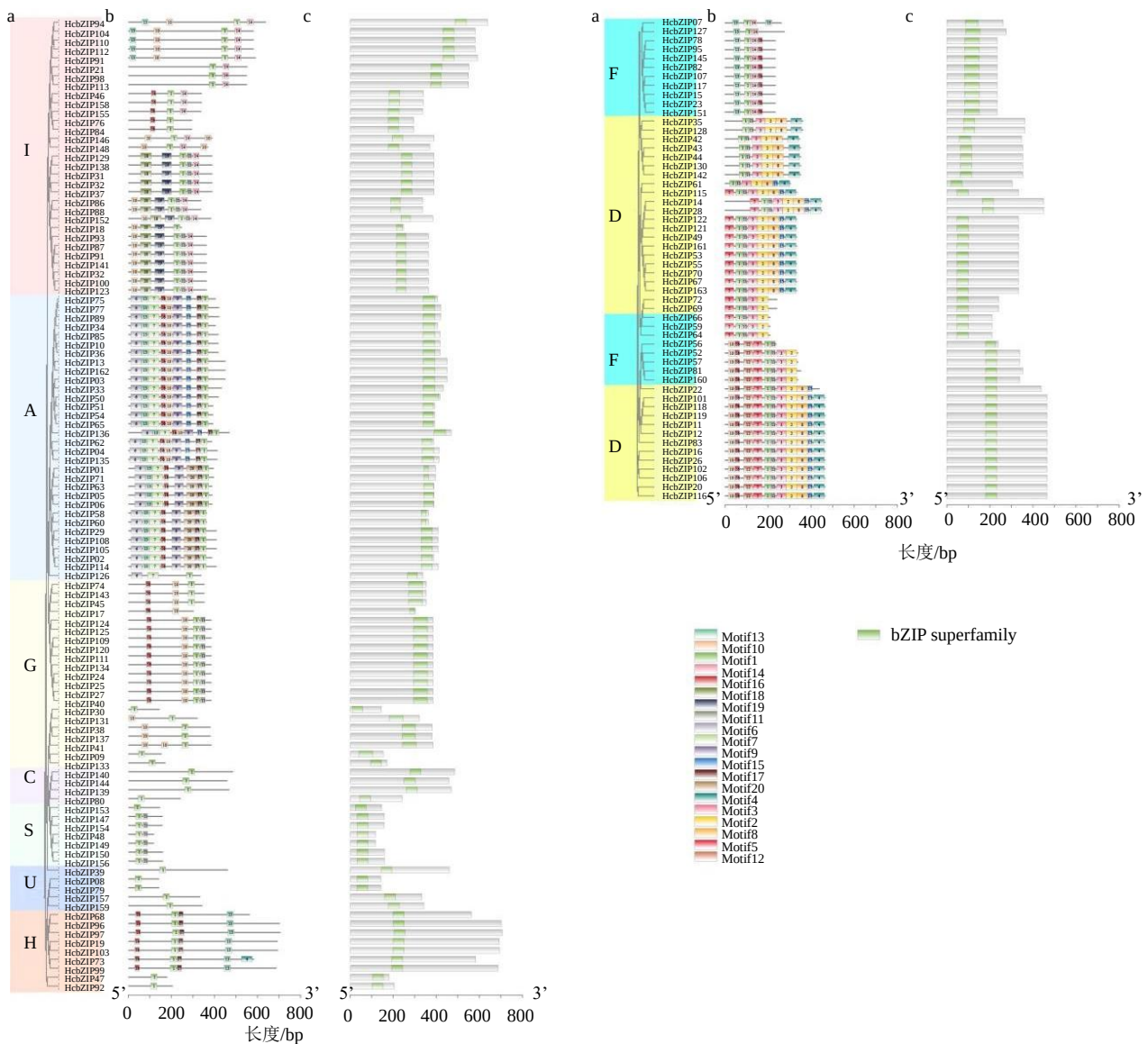


图 2 鱼腥草 *bZIP* 蛋白进化树 (a), motif 基序 (b) 和保守结构域 (c) 分析

Fig. 2 Phylogenetic tree (a), motif composition (b) and conserved domain (c) of *HcbZIP* genes



图 3 鱼腥草 bZIP motif 基序组成分析

Fig. 3 Motif composition analysis of HcbZIP

LTEQQLMGICNLQQSSQQAEDALSQGMEALQQS-LAETLASGS) 只在类别 D 的部分基因中被鉴定到。

3.4 鱼腥草 bZIP 基因表达分析

根据转录组数据将所鉴定得到的 163 个基因在 6 号和 7 号药材中的表达模式进行分析并绘制了表达量热图和 Venn 图 (图 4-A、B)。通过表达量热图 (图 4-A) 可以发现, *HcbZIP* 基因在 6 号和 7 号鱼腥草的中表现出不同的表达模式, 在 6 号药材中表达的 *HcbZIP* 基因共有 142 个, 在 7 号药材中表

达的 *HcbZIP* 基因共有 158 个。共发现 6 个 *HcbZIP* 基因, 包括 *HcbZIP156*、*HcbZIP153*、*HcbZIP147*、*HcbZIP149*、*HcbZIP48* 和 *HcbZIP127* 在 6 号和 7 号药材中均呈现出较高的表达量, 其中 *HcbZIP156* 和 *HcbZIP147* 在 6 号药材中的 FPKM 值均超过 100, *HcbZIP156* 和 *HcbZIP153* 在 7 号药材中的 FPKM 值超过 100, 在 6 号和 7 号药材中所有的 *HcbZIP* 基因中表达量最高的均为 *HcbZIP156*。但大部分的 *HcbZIP* 基因的表达量较低, 6 号药材中有 41 个

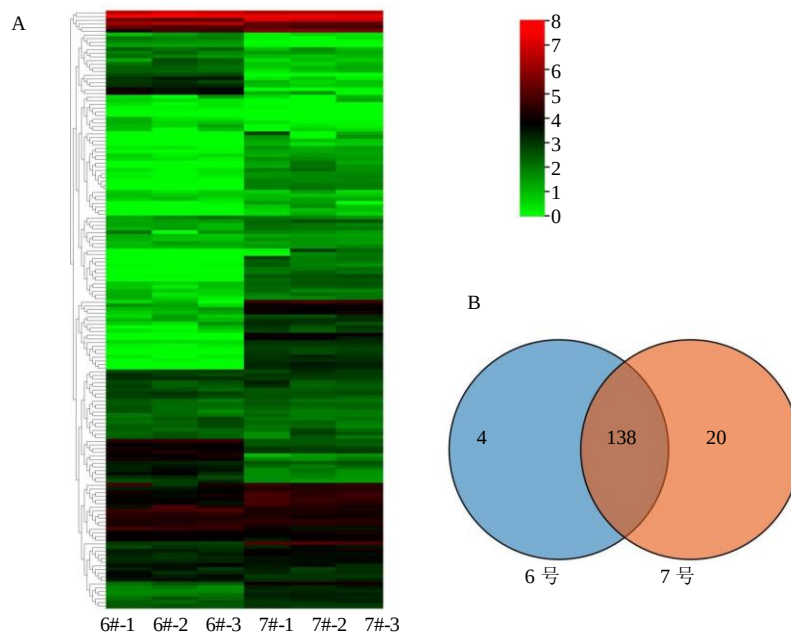


图 4 鱼腥草 bZIP 基因在 6 号和 7 号药材中的表达模式分析 (A) 和 Venn 图 (B)

Fig. 4 Expression pattern analysis of *HcbZIP* gene in 6# and 7# (A), Venn diagram analysis of *HcbZIP* gene in 6# and 7# (B)

HcbZIP 基因的 FPKM 值小于 1, 7 号药材中有 23 个 *HcbZIP* 基因的 FPKM 值小于 1。同时还发现 1 个基因 *HcbZIP70* 在 6 号和 7 号药材中均不表达。通过 Venn 图 (图 4-B) 可以发现, 在 6 号和 7 号中均表达的 *HcbZIP* 基因共有 138 个, 只在 7 号药材中表达的基因有 20 个, 其中 *HcbZIP102* 和 *HcbZIP137* 的表达量相对较高, FPKM 值大于 10。只在 6 号药材中表达的基因有 4 个且表达量均较低, 其中有 3 个基因的 FPKM 值小于 1。

3.5 不同生态品种中 *bZIP* 基因差异表达分析

为了进一步比较 *HcbZIP* 在不同生态型鱼腥草材料中的表达差异, 对 6 号和 7 号药材中差异表达 *bZIP* 基因进行了分析, 共有 96 个 *HcbZIP* 基因在 6

号和 7 号 2 个品种中呈现出差异表达。通过 K-means 聚类分析后可以发现 (图 5), 这 96 个基因被分成了 2 个类别, 其中 A 类别中包括了 63 个差异 *HcbZIP* 基因, 这 63 个基因表现出在 7 号药材中的表达量与 6 号相比为上调, 其中多个基因是在 6 号药材中不表达而与 7 号药材形成差异且差异倍数较大, 在 2 个材料中均表达而形成较大差异倍数的基因包括 *HcbZIP154* 和 *HcbZIP150*。B 类别中包括了 33 个差异基因, 这 33 个基因表现出在 7 号药材中的表达量与 6 号相比下调, 其中 *HcbZIP13* 是在 7 号药材中不表达而与 6 号药材形成的差异, 有 2 个基因包括 *HcbZIP26* 和 *HcbZIP18* 在 6 号和 7 号药材中均表达, 但形成了较大的差异倍数。

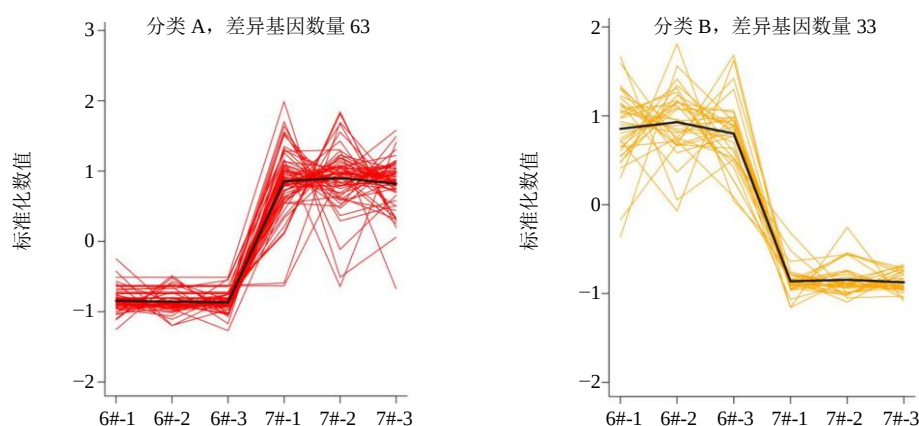


图 5 鱼腥草 6 号和 7 号药材中差异表达的 *bZIP* 基因分析

Fig. 5 Analysis of differentially expressed *HcbZIP* genes between 6# and 7#

4 讨论

bZIP 转录因子是植物中最大和最多样化的家族之一^[20]。目前, *bZIP* 基因家族已在许多物种中被鉴定, 在西瓜^[21]和文冠果^[20]中分别鉴定得到 62 和 64 个 *bZIP* 基因家族成员, 分析后发现这 2 个物种中均有 14 对节段复制事件。在葡萄的研究中发现^[22], 共鉴定到 55 个 *bZIP* 基因家族成员, 同样存在 14 对节段复制事件。在苹果^[23]和大豆^[24]的研究中分别鉴定到 112 和 160 个 *bZIP* 基因家族成员, 在这 2 个物种中发现了更多的节段复制和串联复制事件。这些也表明节段复制和串联复制均对基因家族成员的扩增具有很大的贡献。在本研究中, 共鉴定得到 163 个 *HcbZIP* 基因家族成员, 由于鱼腥草基因组数据测序还未完成, 本研究是基于转录组数据进行的家族成员鉴定, 因此无法直接判断 *HcbZIP* 基因家族成员扩增的具体原因, 通过以上前人的结

果推测鱼腥草 *HcbZIP* 基因同样存在着数量较多的节段和串联复制事件。鱼腥草在长时间的不断进化过程中需要适应环境变化带来的生存压力, 由于 *bZIP* 对非生物胁迫具有重要的作用, 需要存储环境信息, 因此可能也导致了 *bZIP* 基因的产生、复制和进化。

为了进一步研究鱼腥草 *bZIP* 基因的进化和起源, 用拟南芥和鱼腥草 *bZIP* 基因进行了系统发生树分析, 结果显示 163 个 *HcbZIP* 蛋白分为 9 个类别, 包括 C、S、G、A、I、U、H、F 和 D, 每个类别都包含一个或多个 *HcbZIP* 基因。该分类类似于拟南芥^[25], 文冠果^[20]和柳枝稷^[26]。A 类别的大多数功能信息提示在脱落酸或应激信号中的作用。因此, A 类别的 *bZIPs* 在种子和营养组织中似乎都是 ABA 信号转导的重要参与者^[25]。本研究共有 32 个 *bZIP* 基因被分到类别 A 中, 其中 *HcbZIP36* 在 2 个材料

中的表达量较高且差异较大, 推着该基因可能参与到鱼腥草 ABA 信号转导途径。S 类别是拟南芥最大的 *bZIP* 类别之一, 在胁迫处理后也被转录激活或在花的特定部分特异表达^[25]。拟南芥 *bZIP* 家族中的 S 类别的基因在响应低温和干旱有重要作用^[27], 本研究中共有 7 个 *HcbZIP* 基因被分到 S 类别下, 其中与 6 号药材相比 *HcbZIP48* 在 7 号中下调表达, *HcbZIP149*、*HcbZIP150*、*HcbZIP153* 和 *HcbZIP154* 在 7 号中上调表达, 推测这些 *bZIP* 基因可能影响 6 号和 7 号鱼腥草对低温和干旱的响应差异。

bZIP 在植物发育和应对不同生存环境方面起着重要作用。例如, 几个水稻 *bZIP* 基因如 *OsbZIP73* 被鉴定为对冷胁迫反应的调节因子^[28]。西瓜的 *ClabZIP4* 和 *ClabZIP31* 可能在保护植物免受线虫感染和低温胁迫方面发挥重要作用^[21]。文冠果中的有多个 *bZIP* 基因对盐胁迫和冻害都有反应, 而 *XsbZIP3* 和 *XsbZIP17* 对脱落酸和低温都有反应^[20]。在马铃薯中 *StbZIP12* 和 *StbZIP40* 在不同环境中均有高表达且稳定表达^[29]。有研究发现, 几个 *bZIP* 基因在冷处理后上调或下调表达^[30]。本研究选用了原产地具有不同生态类型的鱼腥草 6 号和 7 号药材, 6 号和 7 号鱼腥草在表观形态上具有明显的差异, 同时通过我们前期测定的相关生理数据发现, 它们在多种代谢物含量具有明显差异, 包括黄酮类物质, 生物碱类物质, 挥发性代谢物, 这些物质上的差异均导致了这 2 个药材具有明显的差异。通过对 *HcbZIP* 基因在 6 号和 7 号鱼腥草中的表达情况进行分析, 所鉴定到的 163 个 *HcbZIP* 基因中有 142 个在 6 号药材中表达, 有 158 个在 7 号药材中表达, 同时还发现, 只在 7 号药材中表达的基因有 20 个, 只在 6 号药材中表达的基因有 4 个。为了比较 2 个品种中 *HcbZIP* 表达差异, 筛选得到 96 个差异表达基因, 7 号与 6 号相比, 有 63 个 *HcbZIP* 基因在 7 号中表达上调, 33 个表达下调。结合表观形态、生态条件、物质含量及表达量的差异筛选出 *HcbZIP154*、*HcbZIP150*、*HcbZIP26* 和 *HcbZIP18* 这 4 个基因将作为 6 号和 7 号鱼腥草能够适应低温和干旱等不良环境的候选 *HcbZIP* 基因, 为研究鱼腥草抗非生物胁迫的分子基础及相关抗性品种的选育提供理论数据

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] Wang Z, Tang J, Hu R, et al. Genome-wide analysis of

the R2R3-MYB transcription factor genes in Chinese cabbage (*Brassica rapa* ssp. *pekinensis*) reveals their stress and hormone responsive patterns [J]. *BMC Genomics*, 2015, 16(1): 17.

[2] Lindemose S, O'Shea C, Jensen M K, et al. Structure, function and networks of transcription factors involved in abiotic stress responses [J]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14(3): 5842-5878.

[3] 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 Physiol*, 2008, 146(2): 333-350.

[4] Shen L L, Li F F, Dong W F, et al. *Nicotiana benthamiana* NbbZIP28, a possible regulator of unfolded protein response, plays a negative role in viral infection [J]. *Eur J Plant Pathol*, 2017, 149(4): 831-843.

[5] Foster R, Izawa T, Chua N H. Plant bZIP proteins gather at ACGT elements [J]. *FASEB J*, 1994, 8(2): 192-200.

[6] 郭依萍, 石晶静, 周美琪, 等. 白桦 BpbZIP1 基因抗旱耐盐分析及 ABRE 元件结合鉴定 [J]. 林业科学研究, 2020, 33(5): 68-76.

[7] 王媚, 刘天鹏, 何继红, 等. 糜子 bZIP 基因家族鉴定及幼苗期聚乙二醇 6000 处理下的表达特征 [J]. 应用与环境生物学报, 2022, 28(4): 920-930.

[8] 贾利强, 赵秋芳, 陈曙. 11 个玉米 bZIP 基因应答逆境胁迫的表达分析 [J]. 安徽农业大学学报, 2022, 49(2): 197-204.

[9] Geng X L, Zang X S, Li H R, et al. Unconventional splicing of wheat TabZIP60 confers heat tolerance in transgenic *Arabidopsis* [J]. *Plant Sci*, 2018, 274: 252-260.

[10] Bi C X, Yu Y H, Dong C H, et al. The bZIP transcription factor TabZIP15 improves salt stress tolerance in wheat [J]. *Plant Biotechnol J*, 2021, 19(2): 209-211.

[11] 尹明星, 陈婧, 施春阳, 等. 从马兜铃内酰胺探讨鱼腥草安全性 [J]. 中草药, 2021, 52(19): 6045-6051.

[12] Liu X C, Tian J, Pan Y Z, et al. Structural characterization and biological activity of polysaccharides from stems of *Houttuynia cordata* [J]. *Foods*, 2022, 11(22): 3622.

[13] Luo Q, Meng P H, Jiang D W, et al. Comprehensive assessment of *Houttuynia cordata* thunb., an important medicinal plant and vegetable [J]. *Agronomy*, 2022, 12(10): 2582.

[14] 陈龙, 彭程琪, 樊明旭, 等. 鱼腥草药理作用及抗肺炎作用研究进展 [J]. 人参研究, 2022, 34(5): 52-54.

[15] 武营雪, 丁倩云, 刘静, 等. 鱼腥草化学成分、药理及质量控制研究进展 [J]. 药物分析杂志, 2022, 42(1): 108-120.

[16] Ji K M, Li M, Chen J J, et al. Anaphylactic shock and

- lethal anaphylaxis caused by *Houttuynia Cordata* injection, a herbal treatment in China [J]. *Allergy*, 2009, 64(5): 816-817.
- [17] 刘苗苗, 崔清华, 范路路, 等. 鱼腥草多糖的制备及其体外抗病毒活性研究 [J]. *天然产物研究与开发*, 2020, 32(1): 110-117.
- [18] 黄世琼, 肖礼娥. 药用植物鱼腥草的研究进展 [J]. *现代医药卫生*, 2010, 26(19): 2953-2954.
- [19] 倪俊, 靖恒烨, 高玉婷, 等. 滇西北地区鱼腥草抗氧化活性研究 [J]. *化学与生物工程*, 2022, 39(7): 26-31.
- [20] Chang Q Y, Lu X, Liu Z, *et al.* Identification and characterization of the bZIP transcription factor family in yellowhorn [J]. *J For Res*, 2021, 32(1): 273-284.
- [21] Yang Y X, Li J W, Li H, *et al.* The bZIP gene family in watermelon: Genome-wide identification and expression analysis under cold stress and root-knot nematode infection [J]. *PeerJ*, 2019, 7: e7878.
- [22] 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 Genom*, 2014, 15(1): 1-18.
- [23] Zhao J, Guo R R, Guo C L, *et al.* Evolutionary and expression analyses of the apple basic leucine zipper transcription factor family [J]. *Front Plant Sci*, 2016, 7: 376.
- [24] 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.
- [25] Jakoby M, Weissshaar B, Dröge-Laser W, *et al.* bZIP transcription factors in *Arabidopsis* [J]. *Trends Plant Sci*, 2002, 7(3): 106-111.
- [26] Wang W W, Wang Y F, Zhang S M, *et al.* Genome-wide analysis of the abiotic stress-related bZIP family in switchgrass [J]. *Mol Biol Rep*, 2020, 47(6): 4439-4454.
- [27] 徐洪伟, 金妍, 刘美琦, 等. 番茄 bZIP 转录因子响应低温胁迫的功能研究 [J]. *吉林师范大学学报: 自然科学版*, 2023, 44(1): 112-122.
- [28] Liu C T, Ou S J, Mao B G, *et al.* Early selection of bZIP73 facilitated adaptation of *Japonica rice* to cold climates [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 3302.
- [29] Mirzaei K, Bahramnejad B, Fatemi S. Genome-wide identification and characterization of the bZIP gene family in potato (*Solanum tuberosum*) [J]. *Plant Gene*, 2020, 24: 100257.
- [30] Hwang I, Jung H J, Park J I, *et al.* Transcriptome analysis of newly classified bZIP transcription factors of *Brassica rapa* in cold stress response [J]. *Genomics*, 2014, 104(3): 194-203.

[责任编辑 时圣明]