DOI:10.13925/j.cnki.gsxb.20240450

库尔勒香梨*HB*基因家族鉴定 及其在越冬过程中的表达分析

刘晓燕^{1,2},王丽娟¹,杨生辉¹,罗光宏^{1*},祝建波^{2*}

(1河西学院•甘肃省微藻工程技术研究中心,甘肃张掖 734000;2石河子大学,新疆石河子 832000)

摘 要:【目的】HB家族转录因子具有调控植物器官发育和响应非生物及生物胁迫的功能。揭示库尔勒香梨 HB 基因 家族成员在越冬过程中的表达模式及其调控机制,为深入研究库尔勒香梨 HB 家族基因的生物学功能提供理论基 础。【方法】基于库尔勒香梨的全基因组数据库,利用生物信息学对 HB 基因家族成员进行鉴定,并对这些基因的系统 发育、染色体定位、基因结构、启动子顺式作用元件及家族内共线性进行分析。同时,利用越冬转录组数据,对这些基 因在越冬过程的差异表达模式进行分析。【结果】库尔勒香梨基因组中共鉴定出93个 HB 基因家族成员,分为8个亚家 族。这些基因在17条染色体上不均匀分布,其编码的蛋白质在大小、相对分子质量和等电点等方面表现出显著多样 性。顺式作用元件分析表明,大量的 HB 基因含有响应光(97.85%)、脱落酸(78.49%)、赤霉素(50.54%)、低温(41.94%) 和干旱(54.84%)等环境应激的顺式作用元件。越冬适应性分析发现,39个 HB 基因在越冬过程中表现出显著的差异 表达,其中23个基因在12月最冷期的表达量达到最高,暗示 HB 基因在低温应激下的适应性。【结论】93个 PsHBs 基因 家族成员在越冬过程的不同时期,其表达模式存在差异。为深入理解 HB 基因在低温应激中的功能及其调控机制提 供新见解,并为库尔勒香梨的遗传改良及环境适应性研究奠定基础。

关键词:库尔勒香梨;转录因子;HB基因;越冬;生物信息学

中图分类号:S661.2 文献标志码:A 文章编号:1009-9980(2025)01-0001-15

Genome-wide identification and expression of the *HB* gene family during overwintering in Korla pear (*Pyrus sinkiangensis*)

LIU Xiaoyan^{1, 2}, WANG Lijuan¹, YANG Shenghui¹, LUO Guanghong^{1*}, ZHU Jianbo^{2*} ('Hexi University/Gansu Microalgae Engineering and Technology Research Center, Zhangye 734000, Gansu, China; ²Shihezi University, Shihezi 832000, Xinjiang, China)

Abstract: [Objective**]** The *HB* (Homeobox) family of transcription factors plays a crucial role in regulating plant organ development and responding to both abiotic and biotic stresses. This study aims to elucidate the expression patterns and regulatory mechanisms of *HB* gene family members in *Pyrus sinkiangensis* during the overwintering process, providing a theoretical foundation for further exploration of the biological functions of the *HB* gene family in this species. **[**Methods**]** Based on the whole-genome database of *P. sinkiangensis*, bioinformatics tools were utilized to identify members of the *HB* gene family. Comprehensive analyses were performed, including phylogenetic relationships, chromosomal localization, gene structure, promoter *cis*-acting elements and family-wide collinearity. In addition, differential expression patterns of these genes during the overwintering process were examined using transcriptome data. **[**Results**]** A total of 93 *HB* gene family members were identified in the *P. sinkiangensis* genome through bioinformatics approaches. Analysis of the physicochemical properties of these HB proteins revealed that their lengths ranged from 176 to 1196 amino acids, with isoelectric points (pI) ranging from 4.69 to 9.32. More than 75% of these proteins had a pI below 7.0, suggesting that the *HB*

作者简介:刘晓燕,女,博士,研究方向为植物基因工程。E-mail:shz2020007@163.com

*通信作者 Author for correspondence. E-mail:13993693452@163.com;E-mail:jianbozh@shzu.edu.cn

收稿日期:2024-09-09 接受日期:2024-10-20

基金项目:甘肃省自然科学基金项目(22JR5RG567)

genes in P. sinkiangensis likely encoded acidic proteins. The molecular weight of these proteins ranged from 20.18 ku to 135.08 ku, with PsHB69 being the largest and PsHB74 the smallest. Among all members, only PsHB5 contained a signal peptide, while the remaining members lacked signal peptides, indicating that the majority were not secreted proteins. Subcellular localization analysis showed that six members (PsHB90, PsHB54, PsHB15, PsHB48, PsHB36 and PsHB12) were localized in the chloroplast, while the others were localized in the nucleus. Chromosomal localization analysis revealed that the 93 HB gene family members were distributed across 17 chromosomes (Chr01-Chr17) in P. sinkiangensis. On chromosome 15, the highest number of HB members was distributed, totaling 12, while the other chromosomes contained 2 to 9 members each. Additionally, two pairs of closely located members on chromosomes 9 (PsHB46 and PsHB47) and 17 (PsHB92 and PsHB93) exhibited high sequence similarity. All four belonged to the HD-ZIP IV subfamily, suggesting that these pairs may have resulted from tandem duplication events. Phylogenetic analysis indicated that the HB gene family in P. sinkiangensis, along with Arabidopsis and Malus domestica, can be divided into eight subfamilies based on the classification of the Arabidopsis HB gene family and the HD-ZIP I-IV gene families in Malus domestica. Among these subfamilies, HD-ZIP I and HD-ZIP IV contained the most members, with a total of 34 genes. In P. sinkiangensis, all HB members contained exons, with the number ranging from 2 to 20. Each HB gene in P. sinkiangensis contained a coding sequence (CDS) region, although 59 members lacked untranslated regions (UTRs). Conserved domain analysis of these proteins revealed that all members possessed the HD domain, and a total of 25 types of domains were identified among the 93 members. Besides the HD domain, the Homeodomain-associated Leucine Zipper (HALZ) domain was the most abundant, which was thought to mediate protein-protein interactions. Collinearity analysis of the HB gene family in P. sinkiangensis revealed 70 pairs of collinear genes. Interestingly, PsHB genes on chromosomes 8 and 15 appeared as tandem duplicates but belonged to different subfamilies. Further examination of the Ka/Ks ratio of these duplicated genes revealed values ranging from 0.06 to 0.49. Among the 70 pairs of collinear genes in *P. sinkiangensis*, 67 pairs had a Ka/Ks ratio of less than 1, indicating that these genes were under purifying selection and that their sequences were conserved throughout evolution. A cis-acting element analysis of the 2000 bp upstream promoter regions of the P. sinkiangensis PsHB gene family members identified 12 types of cis-elements related to plant hormone and stress responses. Among these, 78.49% of the PsHB genes contained an abscisic acid-responsive element (ABRE), and 50.54% contained gibberellin-responsive elements (P-box and GARE-motif). This suggested that the HB gene family may play a role in mitigating environmental stress through hormonemediated pathways. Additionally, 41.94% and 54.84% of the *PsHB* genes contained low-temperature responsive elements (LTR) and drought-responsive elements (MBS), respectively. Transcriptome data analysis during three stages of the overwintering process in P. sinkiangensis revealed that 39 out of the 93 PsHB genes were differentially expressed. Of these differentially expressed genes, more than half (23 genes) showed peak expression during the coldest period in January (TM), 11 genes had the highest expression at the end of the overwintering period in March (TF), and the remaining 5 genes exhibited the highest expression at the beginning of overwintering in October. Notably, during the coldest period in December, PsHB11 and PsHB78 were upregulated by 10.5-fold and 7.0-fold, respectively, indicating that these two genes may play a significant role during bud dormancy. Approximately 42% of the HB genes were significantly and differentially expressed during the overwintering period, with the majority reaching their peak expression in December, the coldest month, suggesting that the *PsHB* gene family played a critical role in cold stress resistance. [Conclusion] The expression patterns of the 93 PsHB

gene family members varied across different stages of the overwintering process. These findings provide new insights into the functional roles and regulatory mechanisms of *HB* genes in response to cold stress, laying a foundation for genetic improvement and environmental adaptability research in *P. sinkiangensis*.

Key words: Pyrus sinkiangensis; Transcription Factor; HB Gene; Overwintering; Bioinformatics

同源盒基因家族(HB基因家族)广泛存在于植 物和动物中。HB基因家族的成员通常都包含一个 高度保守的同源异型框结构域(homeodomain, HD),能够与特定的DNA序列结合,调控下游基因 的表达[1-3]。Mukherjee 等[4]根据蛋白质序列进化分 析,将植物中HB基因家族分为14类:HD-ZIP [、HD-ZIP II , HD- ZIP III , HD- ZIP IV , PLINC, WOX, NDX、DDT、PHD、LD、SAWADEE、PINTOX、BEL 和 KNOX^[5]。其中HD-ZIP I~IV亚家族共同含有HD和 亮氨酸拉链(leucine zipper,LZ)结构域⁶⁰,HD-ZIP III 亚族蛋白包含 START 结构域和 MEKHLA 结构域, HD-ZIP IV相比于HD-ZIP III亚族不含有 MEKHLA 结构域^[7-8]。PLINC 亚族特有的是 PLINC 结构域; WOX家族特有的是WUS Box结构域;NDX家族具 有NDX A 和NDX B 结构域; DDT 亚族特有的是 DDT和WSD结构域;PHD亚族特有的是PHD结构 域;LD亚族特有的是LD1~5结构域;SAWADEE亚 族特有的是 SAWADEE 结构域; PINTOX 亚族特有 的是ACID PINT 和PINTOX 结构域; BEL 亚族特有 的是ZIBEL结构域;KONX亚族含有KNOX结构 域[4]。

HB基因家族编码的转录因子在植物生长发育、 形态建成以及逆境胁迫响应中发挥着关键作用^[6]。 KNOX基因可以参与细胞分生组织能力的调控,从 而促进芽的形成^[9]。PtrWOX4能够促进形成层分 化^[10],WOX11/12可以调控叶子边缘形状、大小和长 宽^[11-12]。通过RNA干扰技术沉默SIBL4基因的番茄 突变体表现出脱落区表皮细胞的显著增大,进而影 响了果柄的正常形成,并导致了果实的过早脱 落^[13]。苹果中MdHB7和MdHB7-like基因在ABA和 干旱胁迫下被上调,其过表达显著提高了ABA水平 进而增强了植物的抗逆性^[14]。CaHB12转录因子的 过表达提高了棉花的抗旱性,并通过抑制茉莉酸响 应基因负调控对大丽弧菌的抗性^[15]。CaATHB-12沉 默提高了寒冷胁迫下辣椒果实中的抗氧化酶活性, 而过表达降低了低温胁迫下转基因拟南芥品系中抗 氧化酶活性,表明*CaATHB-12*参与辣椒果实中寒冷胁迫的调节^{116]}。

库尔勒香梨(Pyrus sinkiangensis Yü)是蔷薇科 梨属中的一个优良新疆地方梨品种,属于多年生木 本植物,主要种植在中国新疆的库尔勒和阿克苏地 区。该品种因独特的香气和高品质深受消费者青 睐,并且已经有1400多年的栽培历史,成为当地的 重要经济作物四。然而,随着气候变化的加剧,新疆 地区频繁出现极端低温天气,导致库尔勒香梨树体 受到严重的冻害[18-19],进而引发腐烂病等病害,对梨 树的健康和产量产生严重影响。HB基因家族作为 一类调控植物发育和逆境胁迫应答的转录因子,在 库尔勒香梨的抗寒性研究中具有重要意义。目前关 于HB家族的研究主要集中在模式植物中,且绝大 部分为草本植物,例如拟南芥^[20]、水稻^[21]和马铃薯^[22] 等,但是对于多年生木本植物的研究相对较为匮 乏。笔者在本研究中对库尔勒香梨基因组中HB基 因进行了比较全面的分析,为后续研究库尔勒香梨 HB基因功能研究提供一定的基础,也为库尔勒香梨 优良抗性品种的进一步选育提供理论指导,对库尔 勒香梨产业的可持续发展具有重要的经济价值和指 导意义。

1 材料和方法

1.1 试验材料

基因组测序所用的库尔勒香梨组培苗试验材料 由石河子大学生命科学学院保存。基因组数据的测 定由百迈克生物有限公司(http://www.biomarker. com.cn/)完成。

1.2 试验方法

1.2.1 库尔勒香梨HB家族成员全基因组的鉴定 为 鉴定库尔勒香梨基因组中全部的HB家族成员,从 拟南芥(Arabidopsis thaliana)数据库(https://www. arabidopsis.org/)和苹果(Malus domestica)数据库 (https://iris.angers.inra.fr/gddh13/)中下载全部的HB 家族成员的蛋白序列,使用本团队前期构建的库尔 勒香梨全基因组数据^[23](https://ngdc.cncb.ac.cn/,数 据编号为PRJCA007928)进行比对。以拟南芥和苹 果HB基因序列为靶序列,参考Li等^[24]的方法筛选 库尔勒香梨的HB序列,利用BLASTp检索出库尔 勒香梨全基因组中的HB候选序列,用隐马尔可夫 模型(HMM)进一步检索库尔勒香梨HB基因结构 域(PF00046、PF02183),E值为e⁻⁵。检索后的序列利 用NCBI网站中的Batch CD-Search工具对笔者上一 步筛选出的库尔勒香梨HB基因家族蛋白结构域进 行预测,剔除不含有HB相关结构域的序列。将获 得的PsHB基因家族蛋白序列的长度、相对分子质 量、等电点等信息,由在线网站ExPASY(http://www. expasy.org)分析。库尔勒香梨HB基因家族的亚细 胞定位预测利用 SignaIP4.1(http://www.cbs.dtu.dk/ services/SignaIP-4.1/)完成。

1.2.2 库尔勒香梨*HB*基因在染色体上的分布 库尔勒香梨*HB*基因家族的染色体定位分析参照林艺灵等^[5]的方法。

1.2.3 库尔勒香梨HB基因家族系统进化树构建 库尔勒香梨HB基因家族系统进化树构建参照林艺 灵等^[5]的方法。利用MEGA11软件^[25]构建进化树。 进化树美化使用tvBOT在线网站(https://www.chiplot.online/tvbot.html)完成^[26]。

1.2.4 库尔勒香梨HB基因结构和所编码蛋白的保守结构域分析 基因结构的注释和MEME保守基序分析参考叶明辉等^[22]的方法。使用NCBI中蛋白结构保守结构域预测网站CDD(https://www.ncbi.nlm.nih.gov/cdd/)来搜索库尔勒香梨HB蛋白包含的结构域,可视化图形利用TBtools软件^[27]完成。

1.2.5 库尔勒香梨 HB 基因家族共线性和选择压力 分析 库尔勒香梨 HB 基因家族共线性和选择压力 分析参考林艺灵等^[5]的方法。

1.2.6 库尔勒香梨 HB基因家族启动子顺式作用元件分析 利用 PlantCARE^[28]在线网站对库尔勒香梨 HB基因家族 ATG 上游 2000 bp 的启动子序列进行预测分析。使用基因结构可视化网站 GSDS v2.0 (http://gsds.gao-lab.org/)进行可视化。

1.2.7 越冬过程中库尔勒香梨HB基因的表达特性 分析 根据本课题组前期库尔勒香梨1年生枝条韧 皮部的转录组序列数据^[23]进行库尔勒香梨HB基因 家族的表达分析,库尔勒香梨越冬转录组测定的取 样时间分别是2019年10月中旬的越冬初期(TB)、 2020年1月中旬的越冬最冷期(TM)和2020年3月 中旬的越冬末期(TF)。根据基因组ID号从转录组 数据中提取*HB*基因在越冬过程中的基因表达量信 息,以|log₂foldchange|≥1为条件筛选差异表达基因, 使用TBtools绘制热图。

笔者选取3个HB基因(PsHB3、PsHB23和 *PsHB66*)用于 qRT-PCR 验证。使用 Primer Premier 软件设计用于实时荧光定量PCR的引物,PsHB3使 用的引物序列(5'→3')上游:GTGGGTCTGTGTC-TAATCTTGG,下游:GCATCAGGGTTCAAGGTC-TAG; PsHB23 使用的引物序列(5'→3')上游: GGTCTCTGAAGGCGAAGTATC,下游: AAGAAT-CACCAGGCTCCAAG; PsHB66 使用的引物序列 (5'→3')上游:TCAAAGTCCCACAAGTTCTCC,下 游: AGGTGAATGATCCGAAGCTATG。 采用 ROCHE LightCycler(R) 480 system 仪器检测各基因 的表达水平,以SYBR Green (KAPA Biosystems, Wilmington, MA, USA)作为荧光染料。PCR总体系 为10 µL,每管分别加入2 ng RNA模板、上下游引物 各为0.5 μL和5 μL荧光染料,最后用去离子水补足 至10 μL。以PsGADPH作为内参基因,采用2-ΔΔCt法 计算基因的相对表达水平。

1.3 数据处理

数据统计分析采用 Excel 和 SPSS v23.0 统计软件(SPSS Inc.; Chicago, IL, USA)。作图与相关性分析采用 Origin 2020 软件(OriginLab; Northampton, MA, USA)和 TBtools 软件。

2 结果与分析

2.1 库尔勒香梨 HB 家族成员鉴定及理化性质分析

以拟南芥和苹果 HB 基因家族的蛋白序列作为 参考,最终在库尔勒香梨基因组中鉴定出93个HB 基因。根据其在库尔勒香梨染色体上的分布位置情况,将这些基因命名为库尔勒香梨 HB(PsHB)1~93 (表1)。基因编码的蛋白长度、相对分子质量、等电 点、信号肽的预测和亚细胞定位的预测如表1所 示。HB蛋白的长度范围在176~1196个氨基酸,分 子质量范围在20.18~135.08 kDa之间,最大的是 PsHB89,最小的是PsHB4。由此可见,库尔勒香梨 HB基因家族的氨基酸和相对分子质量的差异是比 较大的。等电点(pI)的范围为4.69~9.32(表1),其 中超过75%的蛋白等电点在7.0以下,表明库尔勒香 表1 库尔勒香梨 HB 基因家特征

		Table 1HB gene fa	amily characteristic	es of <i>Pyrus s</i>	inkiangensis	
基因名称 Gene name	基因 ID Gene ID	蛋白长度 Protein length/aa	相对分子质量 MW/kDa	等电点 PI	信号肽 Signal peptide	亚细胞定位 Subcellular localization
PsHB1	Psin01G003020	371	41.36	5.16	No	细胞核Nucleus
PsHB2	Psin01G004170	824	89.49	5.97	No	细胞核Nucleus
PsHB3	Psin01G007480	243	27.76	4.94	No	细胞核Nucleus
PsHB4	Psin01G011730	176	20.18	8.76	No	细胞核Nucleus
PsHB5	Psin01G015770	811	89.67	5.83	Yes	细胞核Nucleus
PsHB6	Psin01G018160	236	27.44	5.18	No	细胞核Nucleus
PsHB7	Psin02G001270	371	42.00	5.42	No	细胞核Nucleus
PsHB8	Psin02G007830	277	31.95	6.76	No	细胞核Nucleus
PsHB9	Psin02G013720	289	32.10	8.31	No	细胞核Nucleus
PsHB10	Psin02G023910	368	40.92	6.35	No	细胞核Nucleus
PsHB11	Psin03G007200	245	28.12	8.23	No	细胞核Nucleus
PsHB12	Psin03G008180	843	92.41	6.06	No	叶绿体 Chloroplast
PsHB13	Psin04G003580	288	32.83	6.31	No	细胞核Nucleus
PsHB14	Psin04G012400	329	36.62	5.32	No	细胞核Nucleus
PsHB15	Psin05G020650	852	92.90	6.03	No	叶绿体 Chloroplast
PsHB16	Psin05G023400	409	45.19	7.86	No	细胞核Nucleus
PsHB17	Psin05G026110	736	80.81	5.70	No	细胞核Nucleus
PsHB18	Psin05G026820	381	42.47	6.28	No	细胞核Nucleus
PsHB19	Psin06G000780	221	25.56	4.85	No	细胞核Nucleus
PsHB20	Psin06G006440	286	32.64	6.31	No	细胞核Nucleus
PsHB21	Psin06G007660	680	75.81	6.35	No	细胞核Nucleus
PsHB22	Psin06G013140	352	39.35	5.30	No	细胞核Nucleus
PsHB23	Psin06G014330	324	36.39	4.69	No	细胞核Nucleus
PsHB24	Psin06G018210	752	83.25	6.39	No	细胞核Nucleus
PsHB25	Psin07G000160	370	41.02	7.22	No	细胞核Nucleus
PsHB26	Psin07G012370	242	27.94	4.83	No	细胞核Nucleus
PsHB27	Psin07G016270	179	20.34	9.15	No	细胞核Nucleus
PsHB28	Psin07G019720	808	87.81	5.43	No	细胞核Nucleus
PsHB29	Psin07G021980	231	26.71	6.27	No	细胞核Nucleus
PsHB30	Psin08G001850	590	65.75	5.59	No	细胞核Nucleus
PsHB31	Psin08G001860	439	48.35	6.12	No	细胞核Nucleus
PsHB32	Psin08G003340	567	63.18	6.29	No	细胞核Nucleus
PsHB33	Psin08G005490	399	45.25	6.06	No	细胞核Nucleus
PsHB34	Psin08G005500	303	34.21	6.73	No	细胞核Nucleus
PsHB35	Psin08G007010	239	26.82	9.26	No	细胞核Nucleus
PsHB36	Psin08G008400	844	92.94	5.90	No	细胞质Cytosol
PsHB37	Psin08G011400	450	50.03	5.86	No	细胞核Nucleus
PsHB38	Psin08G014640	277	31.38	5.58	No	细胞核Nucleus
PsHB39	Psin09G002810	334	37.92	5.25	No	细胞核Nucleus
PsHB40	Psin09G003930	302	34.31	6.39	No	细胞核Nucleus
PsHB41	Psin09G007830	747	81.26	5.50	No	细胞核Nucleus
PsHB42	Psin09G008500	333	37.59	6.46	No	细胞核Nucleus
PsHB43	Psin09G012920	1186	133.97	8.35	No	细胞核Nucleus
PsHB44	Psin09G015610	838	91.88	6.03	No	细胞核Nucleus
PsHB45	Psin09G015920	762	84.69	6.17	No	细胞核Nucleus
PsHB46	Psin09G021490	696	77.46	5.76	No	细胞核Nucleus

第42卷

	表 1 (续) Table 1 (Continued)									
基因名称 Gene name	基因 ID Gene ID	蛋白长度 Protein length/aa	相对分子质量 MW/kDa	等电点 PI	信号肽 Signal peptide	亚细胞定位 Subcellular localization				
PsHB47	Psin09G021500	683	77.24	6.57	No	细胞核Nucleus				
PsHB48	Psin10G019220	851	93.19	5.96	No	叶绿体 Chloroplast				
PsHB49	Psin10G021900	407	44.69	6.99	No	细胞核Nucleus				
PsHB50	Psin10G024530	740	80.93	5.80	No	细胞核Nucleus				
PsHB51	Psin10G025380	389	43.58	6.30	No	细胞核Nucleus				
PsHB52	Psin11G007500	271	30.48	8.52	No	细胞核Nucleus				
PsHB53	Psin11G008270	237	27.19	8.75	No	细胞核Nucleus				
PsHB54	Psin11G009430	841	92.15	6.02	No	叶绿体 Chloroplast				
PsHB55	Psin12G002960	344	38.04	8.17	No	细胞核Nucleus				
PsHB56	Psin12G006790	253	29.22	8.65	No	细胞核Nucleus				
PsHB57	Psin13G002240	317	35.51	8.86	No	细胞核Nucleus				
PsHB58	Psin13G006180	289	32.94	5.89	No	细胞核Nucleus				
PsHB59	Psin13G018400	242	27.23	7.53	No	细胞核Nucleus				
PsHB60	Psin14G000940	279	30.61	6.09	No	细胞核Nucleus				
PsHB61	Psin14G004450	336	37.17	8.69	No	细胞核Nucleus				
PsHB62	Psin14G004470	190	22.01	9.32	No	细胞核Nucleus				
PsHB63	Psin14G008570	232	26.98	8.61	No	细胞核Nucleus				
PsHB64	Psin14G009540	687	76.77	6.46	No	细胞核Nucleus				
PsHB65	Psin14G014830	347	38.77	5.29	No	细胞核Nucleus				
PsHB66	Psin14G015230	324	36.40	4.95	No	细胞核Nucleus				
PsHB67	Psin14G019400	377	42.92	6.58	No	细胞核Nucleus				
PsHB68	Psin14G020110	709	78.17	6.24	No	细胞核Nucleus				
PsHB69	Psin15G001620	585	65.53	5.80	No	细胞核Nucleus				
PsHB70	Psin15G004780	567	63.45	6.14	No	细胞核Nucleus				
PsHB71	Psin15G005000	397	44.99	6.03	No	细胞核Nucleus				
PsHB72	Psin15G005010	303	34.24	6.60	No	细胞核Nucleus				
PsHB73	Psin15G006240	255	28.59	8.86	No	细胞核Nucleus				
PsHB74	Psin15G007270	842	92.81	5.90	No	细胞核Nucleus				
PsHB75	Psin15G012200	438	48.91	6.07	No	细胞核Nucleus				
PsHB76	Psin15G018570	277	31.61	5.61	No	细胞核Nucleus				
PsHB77	Psin15G019670	325	35.67	6.79	No	细胞核Nucleus				
PsHB78	Psin15G024130	289	32.11	8.07	No	细胞核Nucleus				
PsHB79	Psin15G025160	329	37.34	5.22	No	细胞核Nucleus				
PsHB80	Psin15G030500	274	31.14	5.79	No	细胞核Nucleus				
PsHB81	Psin16G002300	221	24.92	8.94	No	细胞核Nucleus				
PsHB82	Psin16G006270	286	32.58	6.01	No	细胞核Nucleus				
PsHB83	Psin16G006540	327	37.15	4.82	No	细胞核Nucleus				
PsHB84	Psin16G018450	232	26.38	7.52	No	细胞核Nucleus				
PsHB85	Psin17G002660	333	37.74	5.13	No	细胞核Nucleus				
PsHB86	Psin17G003610	303	34.18	6.43	No	细胞核Nucleus				
PsHB87	Psin17G007530	758	82.52	5.46	No	细胞核Nucleus				
PsHB88	Psin17G008050	327	36.87	6.27	No	细胞核Nucleus				
PsHB89	Psin17G012050	1196	135.08	8.16	No	细胞核Nucleus				
PsHB90	Psin17G015080	932	102.94	6.50	No	细胞质Cytosol				
PsHB91	Psin17G015420	760	84.52	5.78	No	细胞核Nucleus				
PsHB92	Psin17G021300	698	77.24	6.46	No	细胞核Nucleus				
PsHB93	Psin17G021310	684	77.21	6.71	No	细胞核Nucleus				

梨的HB基因编码的可能是一类酸性蛋白。所有的成员中仅PsHB5具有信号肽,剩下的PsHB成员没有信号肽。将库尔勒香梨PsHB蛋白序列上传至SignaIP4.1网站,发现有6个成员(PsHB90、PsHB5、 PsHB15、PsHB48、PsHB36和PsHB12)定位在叶绿体上,其余全部定位于细胞核。

2.2 库尔勒香梨 HB 基因家族染色体定位分析

93个库尔勒香梨HB基因家族成员分别定位在

17条染色体上(图1)。其中在库尔勒香梨 Chr15上 HB基因家族的成员数量最多,为12个,其余染色体 上的成员个数较少(2~9个)。多数成员存在染色体 的上端和下端,在染色体中部分布较少。有1/3以上 的成员集中分布在 Chr14~17 这4条染色体上面。另 外,在9号染色体和17号染色体上的 PsHB46、 PsHB47和 PsHB92、PsHB93两对成员位置相近且序 列具有高度一致性。同时,它们4个均属于 HD-ZIP



IV家族的成员。

2.3 库尔勒香梨 HB 基因家族系统进化树分析

为了解库尔勒香梨 HB 基因家族间的进化关系,构建了库尔勒香梨、拟南芥和苹果 HB 基因家族系统进化树(图2)。参考拟南芥 HB 基因家族与苹果 HD-ZIP I~IV基因家族分类,使用 ClustalW多重序列比对方法将笔者获得的库尔勒香梨 HB 蛋白序列进行对比,最终根据进化关系将其分为8个亚家族。其中 HD-ZIP I和IV家族的成员在基因组中包含 HB 的成员数量较多,两者共有 34 个,占所有成员的 1/3 以上。最少的亚家族是 DDT,有 2 个成员。

2.4 库尔勒香梨 HB 基因结构和蛋白保守结构域分析

库尔勒香梨中HB成员均包含CDS(Coding

DNA Sequence),数目在2~20个(图3),34个成员有 非翻译区(Untranslated Region,UTR)。库尔勒香梨 HD-ZIP I 亚家族的CDS数量为2~4个,且CDS和内 含子(Intron)排列的分布规律一致,为CDS-Intron-CDS。由于一些基因在长度上差异较大,不同亚家 族的内含子和外显子的分布位置和数目也存在很大 差异。

使用NCBI网站中提供的Batch CD-Search 工具 对库尔勒香梨 HB 基因家族蛋白结构域进行预测, 结果显示均含有 HD 结构域(图3)。所有库尔勒香 梨 PsHB 成员共有 25 种结构域,除 HD 结构域外,同 源异型盒相关亮氨酸(HALZ)结构域的数量最多。

2.5 库尔勒香梨 HB 基因家族共线性和选择压力分析

通过TBtools中的MCScanX插件分析库尔勒香



图 2 拟南芥、苹果和库尔勒香梨 HB 基因家族系统进化树 Fig. 2 Phylogenetic tree of HB gene families in Arabidopsis thaliana, Malus domestica and P. sinkiangensis

梨HB基因家族的共线性关系,结果(表2和图4)表明 库尔勒香梨HB基因家族有70对共线性基因。共鉴定 出了6个串联复制事件(PsHB30/PsHB31、PsHB33/ PsHB34、PsHB46/PsHB47、PsHB61/PsHB62、PsHB70/ PsHB71/PsHB72、PsHB92/PsHB93),分别位于第8、 8、9、14、15和17号染色体上。笔者发现,在第8号 染色体和15号染色体上PsHB基因以串联复制的形 式出现,但属于不同的亚家族,这表明在串联复制 之后,这些基因的序列发生了很大程度的改变,可 以通过结构域的重组获得蛋白质的多样化。通过 鉴定库尔勒香梨HB家族复制基因的Ka/Ks值发现, Ka/Ks值的取值范围在0.06~0.49之间。库尔勒香梨 70对共线性基因中67对复制基因鉴定出Ka/Ks值 小于1。表明整体序列偏向于保守型,进化时受纯 化选择影响。其中3对复制基因鉴定产生异常值, 异常值产生的原因可能是序列分歧度太大,进化距 离太远。

2.6 库尔勒香梨 HB 基因顺式作用元件分析

对 PsHB 基因家族成员上游 2000 bp 的启动子 进行顺式作用元件分析,鉴定出与植物激素和胁迫 响应相关的 12 种启动子顺式作用元件(图 5)。其 中,激素类相关的响应元件包括茉莉酸甲酯响应元 件(CGTCA-motif、TGACG-motif)、水杨酸响应元件 (TCA-element、SARE)、赤霉素响应元件(P-box、 GARE-motif)、脱落酸响应元件(ABRE)和生长素响 应元件(TGA-element、AuxRR-core)等5类。PsHB 基因中,78.49%含有 ABRE,50.54%含有 P-box、 GARE-motif。与胁迫响应相关的元件有7类,包括



左边是库尔勒香梨 HB 基因家族的系统进化树,中间是保守蛋白结构域,右边是库尔勒香梨 HB 基因家族成员的基因结构图;黄色方块是 外显子,线条是内含子,绿色方块是 UTR。

On the left is the phylogenetic tree of the *HB* gene family in *P. sinkiangensis*, in the center is the conserved protein domains, and on the right is the gene structure diagram of the *HB* gene family members in *P. sinkiangensis*. The yellow squares represent exons, the lines represent introns, and the green squares represent UTR.

图 3 库尔勒香梨 HB 基因结构及其所编码蛋白的保守结构域

Fig. 3 HB gene structure and the conserved domains of the encoded proteins in P. sinkiangensis

表 2 库尔勒香梨 HB 基因家族共线性关系及非同义替换率(Ka)和同义替换率(Ks)

 Table 2
 Collinearity of HB gene family and non-synonymous replacement rate (Ka) and synonymous replacement rate (Ks)

in <i>P</i> .	sinkian	gensis
---------------	---------	--------

共线性序列 1 Collinear sequence 1	共线性序列 2 Collinear sequence 2	Ka	Ks	Ka/Ks	共线性序列 1 Collinear sequence 1	共线性序列 2 Collinear sequence 2	Ka	Ks	Ka/Ks
PsHB1	PsHB38	0.34	-	-	PsHB9	PsHB34	0.31	2.58	0.12
PsHB1	PsHB79	0.05	0.33	0.15	PsHB9	PsHB72	0.34	2.64	0.13
PsHB1	PsHB80	0.32	_	-	PsHB9	PsHB78	0.03	0.11	0.30
PsHB3	PsHB26	0.05	0.13	0.40	PsHB10	PsHB25	0.06	0.14	0.44
PsHB3	PsHB29	0.49	4.31	0.11	PsHB10	PsHB61	0.36	2.02	0.18
PsHB3	PsHB6	0.41	2.70	0.15	PsHB11	PsHB53	0.07	0.15	0.44
PsHB4	PsHB27	0.03	0.12	0.29	PsHB12	PsHB54	0.02	0.21	0.09
PsHB5	PsHB28	0.06	0.17	0.32	PsHB13	PsHB20	0.01	0.24	0.06
PsHB6	PsHB26	0.49	1.83	0.27	PsHB15	PsHB48	0.02	0.18	0.09
PsHB6	PsHB29	0.06	0.22	0.28	PsHB16	PsHB49	0.05	0.16	0.32
PsHB8	PsHB19	0.21	1.33	0.16	PsHB17	PsHB41	0.14	1.66	0.09
PsHB8	PsHB76	0.07	0.30	0.23	PsHB17	PsHB50	0.02	0.12	0.18

9

			表2(续)	Table 2 (Continued)				
共线性序列 1 Collinear sequence 1	共线性序列 2 Collinear sequence 2	Ka	Ks	Ka/Ks	共线性序列 1 Collinear sequence 1	共线性序列 2 Collinear sequence 2	Ka	Ks	Ka/Ks
PsHB17	PsHB87	0.13	1.60	0.08	PsHB39	PsHB85	0.04	0.19	0.22
PsHB18	PsHB42	0.28	2.02	0.14	PsHB40	PsHB58	0.25	1.94	0.13
PsHB18	PsHB51	0.03	0.22	0.12	PsHB40	PsHB82	0.24	1.55	0.15
PsHB18	PsHB88	0.32	2.06	0.16	PsHB40	PsHB86	0.03	0.17	0.16
PsHB21	PsHB64	0.04	0.20	0.18	PsHB41	PsHB87	0.02	0.12	0.15
PsHB22	PsHB65	0.06	0.13	0.49	PsHB42	PsHB51	0.26	2.16	0.12
PsHB23	PsHB66	0.05	0.14	0.32	PsHB42	PsHB88	0.06	0.30	0.21
PsHB23	PsHB83	0.32	1.56	0.21	PsHB43	PsHB89	0.05	0.14	0.34
PsHB24	PsHB68	0.06	0.25	0.24	PsHB44	PsHB74	0.11	1.44	0.07
PsHB25	PsHB61	0.36	1.95	0.18	PsHB44	PsHB90	0.02	0.19	0.10
PsHB26	PsHB29	0.46	2.35	0.20	PsHB45	PsHB91	0.02	0.13	0.14
PsHB30	PsHB69	0.05	0.25	0.22	PsHB46	PsHB92	0.07	0.19	0.37
PsHB32	PsHB70	0.06	0.18	0.35	PsHB51	PsHB88	0.30	2.21	0.13
PsHB33	PsHB71	0.02	0.16	0.10	PsHB56	PsHB63	0.07	0.18	0.37
PsHB34	PsHB72	0.03	0.16	0.18	PsHB57	PsHB81	0.04	0.16	0.24
PsHB34	PsHB78	0.34	1.95	0.17	PsHB58	PsHB82	0.02	0.24	0.09
PsHB35	PsHB73	0.10	0.21	0.48	PsHB58	PsHB86	0.25	1.87	0.14
PsHB36	PsHB44	0.10	1.38	0.07	PsHB59	PsHB84	0.07	0.24	0.30
PsHB36	PsHB74	0.01	0.15	0.07	PsHB66	PsHB83	0.32	1.73	0.19
PsHB36	PsHB90	0.11	1.27	0.09	PsHB72	PsHB78	0.32	2.16	0.15
PsHB37	PsHB75	0.03	0.24	0.12	PsHB74	PsHB90	0.11	1.36	0.08
PsHB38	PsHB79	0.32	4.06	0.08	PsHB79	PsHB80	0.32	_	_
PsHB38	PsHB80	0.07	0.23	0.32	PsHB82	PsHB86	0.25	1.62	0.16



图 4 库尔勒香梨 HB 基因共线性分析 Fig. 4 Collinearity analysis of HB gene in P. sinkiangensis

树 学 报

果

第42卷





无防御和应激反应元件(TC-rich repeats、TATC-box)、伤口响应元件(WUN-motif)、光响应元件(ACE、GT1-motif、3-AF1 binding site、AAAC-motif、MRE、Sp1、G-Box/box)、氧诱导响应元件(ARE)、低温响应诱导元件(LTR)、缺氧特异性诱导元件(GC-motif)和干旱响应诱导元件(MBS)。其中,含有MBS和LTR元件的PsHB基因分别占41.94%和54.84%。而PsHB25、PsHB55、PsHB61、PsHB84和PsHB91这4个基因含有与创伤修复相关的元件。这些结果表明PsHB基因广泛参与库尔勒香梨的胁迫响应及激素信号转导过程。

2.7 库尔勒香梨 HB基因家族在越冬过程中的表达分析

对库尔勒香梨越冬过程中3个时期转录组数据

分析发现,有39个基因在越冬过程中差异表达。图 6-A显示,在鉴定出来的差异表达基因中有超过半数的基因(21个)在3月份越冬末期(TF)高表达,11 个基因在12月份的越冬最冷期(TM)高表达,其余7 个基因在10月份越冬初期(TB)高表达。其中在12 月份的越冬最冷期,PsHB11和PsHB78相比于越冬 初期分别上调10.5和7.0倍,表明这两个基因可能在 芽休眠期发挥一定的作用。大约42%的PsHB基因 在越冬过程中显著差异表达,并且大部分基因在越 冬最冷时期12月份时表达量达到最高,提示库尔勒 香梨中的HB基因家族在越冬时期低温胁迫中发挥 作用。荧光定量PCR的结果显示,PsHB3、PsHB23 和PsHB66基因在越冬过程中的表达趋势与转录组 测序一致(图6-B)。



A. 库尔勒香梨越冬过程 3 个时期 HB 基因的表达情况;每个时期拥有 3 次重复,其中红色代表高表达,蓝色代表低表达。B. 通过 qRT-PCR 验证转录组测序结果。其中 qRT-PCR 结果以柱状图表示,转录组测序结果相应数据使用折线图表示。

A. Expression of *HB* genes during the three stages of overwintering process in *P. sinkiangensis*; Each stage has three replicates, with red representing high expression and blue representing low expression. B. Verification of transcriptome sequencing results by qRT-PCR. The qRT-PCR results are expressed as bar graphs, while the corresponding data from the transcriptome sequencing are represented by line graphs.

图 6 PsHB 基因在越冬过程中的表达情况 Fig. 6 Expression of PsHB gene family in P. sinkiangensis during overwintering

3 讨 论

前人的研究已经对多个物种中的HD-Zip转录 因子进行了鉴定。例如,拟南芥中发现了110个HB 基因^[20],胡萝卜(Daucus carota)中鉴定出了140个 HB 基因^[20],水稻(Oryza sativa)中有107个HB 基 因^[21],油菜(Brassica rapa)中有113个HB 基因^[30],毛 杨果(Populus trichocarpa)中有156个HB 基因^[31]。 而在笔者的研究中,库尔勒香梨的基因组中共鉴定 出了93个HB 基因。与其他物种相比,库尔勒香梨 中HB 基因的数目相对来说比较少,库尔勒香梨 HB 基因可能在进化过程中发生了部分基因缺失。根据 库尔勒香梨基因组基因结构的注释,PsHBs 基因在 所有17条染色体上分布不均匀,染色体编号为14、 15和17这几条染色体上的PsHBs 基因约占总数的 三分之一。因此,笔者推测这3条染色体上存在 PsHBs 基因的进化热点。类似的结果也在其他物种 中得到了验证。例如,在毛杨果中 Chrs 1、2和5同样是约占 PtrHBs 基因总数的三分之一^[31]。葡萄中的 VvHBs 基因在 Chrs 4、8和18上占基因总数的三分之一^[5]。

根据拟南芥和苹果HB基因家族的分类和系统 发育树,笔者将库尔勒香梨的HB基因划分为8个亚 家族,包括HD-Zip I~IV、WOX、BEL、KNOX和 DDT。与拟南芥相比,库尔勒香梨的HB基因家族 缺少了PINTOX、NDX、LD、PLINC、PHD和 SAWADEE类成员^[20]。而在其他物种中对HB基因 家族的鉴定也发现存在差异,如在水稻、油菜中也仅 分别鉴定出10个和9个HB基因亚家族^[21,30]。将与其 同为蔷薇科的苹果HB基因家族成员数量进行比较 分析,发现HD-Zip II家族成员的数量是一致的,均 为13个^[32]。而且库尔勒香梨HD-Zip I 、HD-Zip III 和HD-Zip IV亚家族成员的数量与苹果中亚家族的 数量相似,分别为19、8和15个。表明库尔勒香梨和

苹果作为蔷薇科植物,在进化过程中表现出一定程 度的保守性,并且在形态发育、生长和逆境响应等方 面可能存在类似的基因调控机制。这种相似性可能 源于他们的共同祖先或者遗传机制的保守性,这对 笔者理解这些植物的遗传调控网络以及他们之间的 关系具有重要意义。库尔勒香梨HB基因中存在70 对片段重复基因,表明在库尔勒香梨讲化过程中可 能促进了基因组的重组和重排,进而增加了遗传多 样性,在进化过程中发挥了重要作用。此外,还存在 6对串联重复基因,这将可能导致基因副本间的相 互作用,可能影响基因的表达和功能,有助于库尔勒 香梨在逆境胁迫下进行基因组调节和进化,表明HB 基因家族成员的扩增以片段重复为主。在9号染色 体和17号染色体上的PsHB46、PsHB47和PsHB92、 PsHB93两对成员位置相近并且序列具有高度的一 致性,它们4个都属于HD-ZIP IV家族的成员,推测 可能是基因间的串联重复造成的。8号染色体第2 个位置和15号染色体上PsHBs基因以串联复制的 形式出现,但属于不同的亚家族。这表明在串联复 制之后这些基因的序列发生了很大程度的改变,可 以通过结构域的重组获得蛋白质的多样化,推测这 些基因可能在串联复制后失去了原有的功能或获得 了新的功能。

转录因子与基因启动子或增强子上的顺式作 用元件结合以在各种生物过程中调节基因表 达^[33-35]。笔者分析了库尔勒香梨所有*PsHBs*基因上 游2000 bp启动子区的顺式作用元件,发现这些启 动子含有多种参与激素和非生物胁迫反应的顺式作 用元件,包括茉莉酸甲酯(MeJA)反应元件、光反应 元件、ABA反应元件和厌氧诱导反应元件。这些结 果在油菜中也存在^[30],大多数HB基因启动子含有与 光反应、激素反应和应激反应相关的顺式作用元 件。其中只有*PsHB25、PsHB55、PsHB61、PsHB84* 和*PsHB91*这5个基因含有创伤修复相关的元件,暗 示其可能在库尔勒香梨受到创伤时发挥一定作用。 表明*PsHBs*基因广泛参与库尔勒香梨的胁迫响应和 激素信号转导。

植物在越冬过程中,ABA是最主要的诱导剂和 维持者^[36]。大量的HD-Zip I蛋白在受到ABA信号 诱导时参与植物应对胁迫的过程^[37]。*PsHBs*基因上 游2kb的启动子中包含大量的ABA响应元件。此 外,笔者前期的研究中发现,库尔勒香梨越冬过程中 PsHBs基因随着越冬过程中环境温度的波动,其表达水平也随之发生动态变化。PsHB基因的上调表达可能与越冬过程中ABA信号的调控相关联。油菜型甘蓝HB7/12提高了拟南芥种子在萌发时对ABA的敏感性,并且过表达株系具有更高的抗旱性^{138]}。油菜型甘蓝HB7/12与越冬最冷时期高表达的PsHB3和PsHB23同属HD-ZipI亚家族,具有大量的ABA响应元件并且在越冬过程中具有较高的表达量。因此,推测PsHB3和PsHB23基因在库尔勒香梨越冬过程中扮演着参与ABA信号调控的重要角色,并响应越冬时期低温胁迫。这一结果深化了对库尔勒香梨越冬适应性的理解,为未来探究其越冬机制提供了重要线索。然而,需进一步的研究来明确HB基因在ABA信号调控中的具体调控机制,以及他们在库尔勒香梨越冬过程中的具体作用机制。

综上所述,本研究全面鉴定并分析了库尔勒香 梨 HB 基因家族,揭示了其在环境响应特别是越冬 适应性中的重要潜在作用。这些结果不仅丰富了对 库尔勒香梨基因组资源的了解,还为深入探究 HB 基因家族在其他植物物种中的功能提供了参考。

4 结 论

通过对库尔勒香梨全基因组的系统分析,成功 鉴定出93个HB基因家族成员。这些基因在17条 染色体上不均匀分布,且编码的蛋白质在大小、相对 分子质量和等电点等参数表现出显著的差异。系统 进化分析将这些基因归为BEL、DDT、HD-ZIP I~IV、 KNOX 和 WOX 等8个亚家族。顺式作用元件分析 显示,大部分HB基因含有响应脱落酸、赤霉素、低 温、干旱和无氧等环境应激的元件,暗示这些基因可 能在库尔勒香梨的环境适应性中发挥重要作用。越 冬适应性分析进一步发现,在越冬过程中有39个 HB基因表现出显著的差异表达,还有11个基因在 最冷的12月(TM时期)表达量达到最高。这些结果 表明,HB基因家族可能在库尔勒香梨的越冬适应性 中扮演关键角色。综上所述,本研究不仅为库尔勒 香梨的基因组研究提供了新的资源,也为探讨HB 基因在其他植物中的功能及其在环境适应性中的调 控机制提供了重要参考。

参考文献 References:

[1] WANG H L, CHENG X, YIN D M, CHEN D L, LUO C, LIU

H,HUANG C L. Advances in the research on plant WRKY transcription factors responsive to external stresses[J]. Current Issues in Molecular Biology,2023,45(4):2861-2880.

- [2] RADANI Y, LI R X, KORBOE H M, MA H Y, YANG L M. Transcriptional and post-translational regulation of plant bHLH transcription factors during the response to environmental stresses[J]. Plants, 2023, 12(11):2113.
- [3] LIU H T, TANG X, ZHANG N, LI S G, SI H J. Role of bZIP transcription factors in plant salt stress[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(9): 7893.
- [4] MUKHERJEE K, BROCCHIERI L, BÜRGLIN T R. A comprehensive classification and evolutionary analysis of plant homeobox genes[J]. Molecular Biology and Evolution, 2009, 26(12): 2775-2794.
- [5] 林艺灵,刘众杰,王子诚,杨毓贤,王令宇,张川,王晨,贾海锋, 卢素文,房经贵,上官凌飞.葡萄 HB 基因家族全基因组鉴定 及表达分析[J].南京农业大学学报,2022,45(6):1126-1139. LIN Yiling, LIU Zhongjie, WANG Zicheng, YANG Yuxian, WANG Lingyu, ZHANG Chuan, WANG Chen, JIA Haifeng, LU Suwen, FANG Jinggui, SHANGGUAN Lingfei. Genomewide identification and expression analysis of HB gene family in *Vitis vinifera*[J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2022,45(6):1126-1139.
- [6] SESSA G, CARABELLI M, SASSI M. The ins and outs of homeodomain-leucine zipper/hormone networks in the regulation of plant development[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2024, 25(11): 5657.
- [7] ŻYŁA N, BABULA- SKOWROŃSKA D. Evolutionary consequences of functional and regulatory divergence of HD- zip I transcription factors as a source of diversity in protein interaction networks in plants[J]. Journal of Molecular Evolution, 2023,91(5):581-597.
- [8] SCHRICK K, AHMAD B, NGUYEN H V. HD-zip IV transcription factors: Drivers of epidermal cell fate integrate metabolic signals[J]. Current Opinion in Plant Biology, 2023, 75:102417.
- [9] YANG Q Q, CONG T C, YAO Y C, CHENG T R, YUAN C Q, ZHANG Q X. KNOX genes were involved in regulating axillary bud formation of Chrysanthemum × morifolium[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(8): 7081.
- [10] DAI X F, ZHAI R, LIN J J, WANG Z F, MENG D K, LI M, MAO Y L, GAO B Y, MA H Y, ZHANG B F, SUN Y, LI S, ZHOU C G, LIN Y C J, WANG J P, CHIANG V L, LI W. Celltype-specific PtrWOX4a and PtrVCS₂ form a regulatory nexus with a histone modification system for stem cambium development in *Populus trichocarpa*[J]. Nature Plants, 2023, 9(1): 96-111.
- [11] 李真,王留强,卢孟柱. 毛白杨 PtoWOX11/12a 对杨树扦插苗 生长发育的影响[J]. 林业科学,2017,53(11):69-76.
 LI Zhen, WANG Liuqiang, LU Mengzhu. Effects of PtoWOX11/ 12a gene from Populus tomentosa on the growth and develop-

ment of cutting seedlings in poplar[J]. Scientia Silvae Sinicae, 2017, 53(11):69-76.

- [12] 文爽爽,王留强,卢孟柱. 银腺杨 PagWOX11/12a 基因对茎生 长发育的影响[J]. 林业科学研究,2023,36(1):39-46.
 WEN Shuangshuang, WANG Liuqiang, LU Mengzhu. Effects of PagWOX11/12a gene on stem growth and development of Populus alba × P. Glandulosa[J]. Forest Research, 2023, 36(1): 39-46.
- [13] YAN F, GONG Z H, HU G J, MA X S, BAI R Y, YU R N, ZHANG Q, DENG W, LI Z G, WURIYANGHAN H. Tomato SIBL4 plays an important role in fruit pedicel organogenesis and abscission[J]. Horticulture Research, 2021, 8(1):78.
- [14] ZHAO S, GAO H B, JIA X M, WEI J T, MAO K, MA F W. Md-HB-7 regulates water use efficiency in transgenic apple (Malus domestica) under long-term moderate water deficit[J]. Frontiers in Plant Science, 2021, 12:740492.
- [15] BASSO M F, COSTA J A, RIBEIRO T P, ARRAES F B M, LOURENÇO-TESSUTTI I T, MACEDO A F, DAS NEVES M R, NARDELI S M, ARGE L W, PEREZ C E A, SILVA P L R, DE MACEDO L L P, LISEI-DE-SA M E, AMORIM R M S, DE CAMPOS P E R, SILVA M C M, MORGANTE C V, FLOH E I S, ALVES-FERREIRA M, GROSSI-DE-SA M F. Overexpression of the *CaHB12* transcription factor in cotton (*Gossypium hirsutum*) improves drought tolerance[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2021, 165: 80-93.
- [16] ZHANG R X, ZHU W C, CHENG G X, YU Y N, LI Q H, HAQ S U, SAID F, GONG Z H. A novel gene, *CaATHB-12*, negatively regulates fruit carotenoid content under cold stress in *Capsicum annuum*[J]. Food & Nutrition Research, 2020, 64:64.
- [17] 饶媛媛,王晗瑶.库尔勒市香梨产业发展现状、问题及对策[J]. 山西农经,2024(14):192-194.
 RAO Yuanyuan, WANG Hanyao. The current status, problems, and strategies of the fragrant pear industry development in Korla city[J]. Shanxi Agricultural Economy,2024(14):192-194.
- [18] 马建江,陈久红,黄国辉.库尔勒香梨冻害发生原因及预防措施[J].果树实用技术与信息,2021(6):28-29.
 MA Jianjiang, CHEN Jiuhong, HUANG Guohui. The causes of freeze damage to *Pyrus sinkiangensis* and preventive measures[J].
 Practical Fruit Tree Technology and Information, 2021(6): 28-29.
- [19] 林彩霞,吴运建,鲁晓燕,刘艳,王刚.不同冻害程度对香梨生 理指标的影响[J]. 安徽农业科学,2015,43(10):121-123.
 LIN Caixia, WU Yunjian, LU Xiaoyan, LIU Yan, WANG Gang. Effect of different freezing injury degree on physiological indexes in fragrant pear[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2015,43(10):121-123.
- [20] CHAN R L, GAGO G M, PALENA C M, GONZALEZ D H. Homeoboxes in plant development[J]. Biochimica Et Biophysica Acta, 1998, 1442(1): 1-19.
- [21] JAIN M, TYAGI A K, KHURANA J P. Genome-wide identifica-

tion, classification, evolutionary expansion and expression analyses of homeobox genes in rice[J]. FEBS Journal, 2008, 275 (11):2845-2861.

[22] 叶明辉,赵朋,牛洋,王冬冬,陈勤.马铃薯同源异形框基因家族的鉴定和表达分析[J].农业生物技术学报,2021,29(2):224-239.

YE Minghui, ZHAO Peng, NIU Yang, WANG Dongdong, CHEN Qin. Identification and expression analysis of homeobox gene family in potato (*Solanum tuberosum*)[J]. Journal of Agricultural Biotechnology, 2021, 29(2): 224-239.

- [23] XIA W W, WANG S S, LIU X Y, CHEN Y F, LIN C X, LIU R N, LIU H L, LI J, ZHU J B. Chromosome-level genome provides new insight into the overwintering process of Korla pear (*Pyrus sinkiangensis* Yu)[J]. BMC Plant Biology, 2024, 24(1):773.
- [24] LI Y D, ZHU Y X, YAO J, ZHANG S L, WANG L, GUO C L, VAN NOCKER S, WANG X P. Genome-wide identification and expression analyses of the homeobox transcription factor family during ovule development in seedless and seeded grapes[J]. Scientific Reports, 2017, 7(1): 12638.
- [25] TAMURA K, STECHER G, KUMAR S. MEGA11: Molecular evolutionary genetics analysis version 11[J]. Molecular Biology and Evolution, 2021, 38(7): 3022-3027.
- [26] XIE J M, CHEN Y R, CAI G J, CAI R L, HU Z, WANG H. Tree visualization by one table (tvBOT): A web application for visualizing, modifying and annotating phylogenetic trees[J]. Nucleic Acids Research, 2023, 51(W1): W587-W592.
- [27] CHEN C J, WU Y, LI J W, WANG X, ZENG Z H, XU J, LIU Y L, FENG J T, CHEN H, HE Y H, XIA R. TBtools-II: A "one for all, all for one" bioinformatics platform for biological big-data mining[J]. Molecular Plant, 2023, 16(11):1733-1742.
- [28] LESCOT M, DÉHAIS P, THIJS G, MARCHAL K, MOREAU Y, VAN DE PEER Y, ROUZÉ P, ROMBAUTS S. 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.
- [29] QUE F, WANG G L, LI T, WANG Y H, XU Z S, XIONG A S. Genome-wide identification, expansion, and evolution analysis of homeobox genes and their expression profiles during root development in carrot[J]. Functional & Integrative Genomics,

2018, 18(6): 685-700.

- [30] KHAN N, HU C M, KHAN W A, WANG W L, KE H, DONG H J, ZHANG Z S, HOU X L. Genome-wide identification, classification, and expression pattern of homeobox gene family in *Brassica rapa* under various stresses[J]. Scientific Reports, 2018, 8 (1):16265.
- [31] HOU J, SUN Y, WANG L, JIANG Y Z, CHEN N N, TONG S
 F. Genome- wide analysis of the homeobox gene family and identification of drought-responsive members in *Populus trichocarpa*[J]. Plants, 2021, 10(11):2284.
- [32] 赵双.苹果 MdHB-7和 MdHB7-like 在抗旱耐盐中的功能及其机制研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2021.
 ZHAO Shuang. Study on the function and mechanism of MdHB-7 and MdHB7-like in apple on drought and salt tolerance[D].
 Yangling:Northwest A & F University,2021.
- [33] GAO Y L, MA X L, ZHANG Z X, WANG Y X. Transcription factors and plant hormones mediate wax metabolism in response to drought stress[J]. Physiologia Plantarum, 2024, 176(4): e14478.
- [34] WEI H, WANG X, WANG K T, TANG X, ZHANG N, SI H J. Transcription factors as molecular switches regulating plant responses to drought stress[J]. Physiologia Plantarum, 2024, 176 (3):e14366.
- [35] DHATTERWAL P, SHARMA N, PRASAD M. Decoding the functionality of plant transcription factors[J]. Journal of Experimental Botany, 2024, 75(16): 4745-4759.
- [36] SINGH R K, MISKOLCZI P, MAURYA J P, BHALERAO R P. A tree ortholog of SHORT VEGETATIVE PHASE floral repressor mediates photoperiodic control of bud dormancy[J]. Current Biology, 2019, 29(1): 128-133.
- [37] ZHU Y Y, SONG D L, XU P, SUN J Y, LI L G. A HD-ZIP III gene, PtrHB4, is required for interfascicular cambium development in *Populus*[J]. Plant Biotechnology Journal, 2018, 16(3): 808-817.
- [38] 张馨. 过表达甘蓝型油菜 HB7 和 HB12 基因对拟南芥生长发育的影响[D]. 曲阜: 曲阜师范大学, 2024.
 ZHANG Xin. The impact of overexpressing Brassica napus HB7 and HB12 genes on the growth and development of Arabidopsis thaliana[D]. Qufu: Qufu Normal University, 2024.