

油棕 C2H2 基因家族鉴定及低温胁迫下的表达分析

程秋如^{1,2}, 刘子凡^{2*}, 曾宪海^{1*}

1. 中国热带农业科学院橡胶研究所/农业农村部儋州油棕种质资源圃/海南省油棕种质资源圃/农业农村部儋州热带作物科学观测实验站, 海南儋州 571737; 2. 海南大学热带作物学院, 海南海口 570228

摘要: C2H2 型锌指蛋白是最常见的锌指蛋白之一, 广泛存在于真核生物中, 在植物的生长发育、盐、低温、干旱胁迫等非生物胁迫响应中扮演重要作用。本研究以拟南芥 C2H2 氨基酸序列作为探针, 在油棕基因组数据库中进行本地 BLASTP 比对和保守结构域预测分析, 筛选出油棕 C2H2 型锌指蛋白家族成员, 利用生物信息学手段对基因家族成员的理化性质、进化关系、染色体位置、基因结构、保守基序和启动子顺式元件进行分析, 并利用转录组数据和荧光定量 PCR 方法分析 EgC2H2 基因家族成员在低温胁迫下的表达情况。结果显示: 从油棕基因组中共鉴定出 73 个 C2H2 型锌指蛋白家族成员, EgC2H2 家族成员氨基酸的数目为 128~556 个, 分子量为 14 176.73~58 983.30 Da, 等电点为 4.99~9.62, 不稳定系数为 38.84~86.01, 亲水性为-1.154~-0.226, 亚细胞定位显示 C2H2 基因家族所有成员均定位于细胞核; 系统进化树分析显示 EgC2H2 家族成员可以分为 4 个亚家族, EgC2H2 家族成员多数归类于第 I 亚家族和第 II 亚家族, 且同一亚家族成员的结构域具有较高的一致性; 染色体定位结果显示, EgC2H2 家族成员不均匀地分布于油棕的 16 条染色体上; 启动子顺式元件分析显示, EgC2H2 家族包含许多光响应元件、植物激素响应元件和逆境胁迫响应元件; 转录组数据分析显示, 大部分 EgC2H2 基因响应低温胁迫, 且大多数 EgC2H2 基因在耐寒材料中高表达, 在冷敏感材料中低表达; 荧光定量 PCR 分析显示, EgC2H2-23、EgC2H2-11、EgC2H2-19、EgC2H2-17 和 EgC2H2-21 显著上调表达, 且在耐寒材料中的表达量显著高于冷敏感材料, 推测这些基因可能在油棕低温响应中发挥关键作用, 可以作为候选基因进一步深入研究。本研究为深入研究油棕 C2H2 基因家族功能提供理论参考。

关键词: 油棕; C2H2 型锌指蛋白; 基因家族; 低温胁迫

中图分类号: S565.9 文献标识码: A

Identification and Expression Analysis of the C2H2 Gene Family in Oil Palm under Low Temperature Stress

CHENG Qiuru^{1,2}, LIU Zifan^{2*}, ZENG Xianhai^{1*}

1. Rubber Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences / Danzhou Oil Palm Germplasm Resource Repository, Ministry of Agriculture and Rural Affairs / Oil Palm Germplasm Resource Repository of Hainan / Danzhou Tropical Crop Scientific Observation and Experimental Station, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Danzhou, Hainan 571737, China; 2. College of Tropical Crops, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China

Abstract: C2H2 zinc finger protein is one of the most common zinc finger proteins and widely found in eukaryotes. It plays an important role in plant growth and development, abiotic stress response to salt, low temperature and drought stress. In this study, the C2H2 amino acid sequence of *Arabidopsis thaliana* were used to blast with local BLASTP in the oil palm genome database and to predict the conservative domains, and to screen the C2H2 zinc finger protein family of oil palm. The physical and chemical properties, evolutionary relationships, chromosomal location, gene structure, conservative motif and promoter *cis*-elements were analyzed through bioinformatics softwares, the expression of

收稿日期 2022-04-24; 修回日期 2022-06-27

基金项目 农业农村部品种改良提升专项 (No. NYPZ2020108); 农业农村部热带作物种质资源保护项目“油棕种质资源保护” (No. 18210007)。

作者简介 程秋如 (1996—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 油棕种质资源评价。*通信作者 (Corresponding author): 刘子凡 (LIU Zifan), E-mail: jiangxilaobiao@163.com; 曾宪海 (ZENG Xianhai), E-mail: zxh200888@126.com。

EgC2H2 gene was analyzed by the transcriptome data and real-time fluorescence quantitative PCR under low temperature stress. A total of 73 C2H2 type zinc finger protein family members were identified from the genome of oil palm. The number of amino acids in *EgC2H2* family was between 128 and 556, The molecular weight was between 14 176.73 and 58 983.30 Da, the isoelectric point was between 4.99 and 9.62, the instability index was between 38.84 and 86.01, and the gravy was between -1.154 and -0.226. Subcellular localization showed that the C2H2 gene family were localized in the nucleus. Phylogenetic tree analysis showed that *EgC2H2* family members were divided into four subfamilies, most members of *EgC2H2* family were classified into subfamily I and subfamily II, and the domains of the same subfamily members were highly consistent. Chromosome location results showed that *EgC2H2* family members were unevenly distributed on the 16 chromosomes of oil palm. Analysis of promoter *cis*-elements showed that the *EgC2H2* family contained many promoter *cis*-elements related to light response elements, plant hormones response elements and stress response elements. Transcriptome analysis showed that most *EgC2H2* genes responded to low temperature stress, and most *EgC2H2* genes were highly expressed in cold-tolerant materials and low expressed in cold-sensitive materials. qRT-PCR analysis showed that the expression level of *EgC2H2-23*, *EgC2H2-11*, *EgC2H2-19*, *EgC2H2-17* and *EgC2H2-21* was significantly up-regulated, and the expression level of cold-tolerant materials was significantly higher than that of cold-sensitive materials. It was speculated that the genes would play a key role in oil palm response to low temperature stress, and can be used as candidate genes for further study. This study would provide theoretical reference for further study on the functional analysis of C2H2 gene family in oil palm.

Keywords: oil palm; C2H2 zinc finger protein; gene family; low temperature stress

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2023.03.002

锌指蛋白 (zinc finger protein, ZFP) 是一类广泛存在于植物中的转录因子, 最早在非洲爪蟾的卵母细胞中发现, 具有手指状结构, 通过与 Zn^{2+} 结合来稳定此结构^[1]。根据锌指蛋白二级结构中组氨酸 (H) 和胱氨酸 (C) 的数目和位置, 可将其划分为 C2H2、C3H、C2C2、C4、C6、C8、C2HC、C2HC5 等类型^[2]。C2H2 型锌指蛋白转录因子是目前研究最多的锌指蛋白, 广泛存在于真核生物中, C2H2 型锌指蛋白中含有特殊的 X2-Cys-X(2-4)-CysX12-His-X(3-5)-His 保守结构域, 其中 C 表示半胱氨酸, H 表示组氨酸, X 表示任意氨基酸, P 表示苯丙氨酸, L 表示亮氨酸^[3-4]。多数 C2H2 锌指蛋白含有植物特有的一段高度保守的 QALGGH 基序, 该基序对 DNA 的结合活性至关重要, C2H2 型锌指蛋白不仅能与 DNA、RNA 结合还可以与蛋白质相互作用, 在植物的转录调控、RNA 代谢等途径中发挥重要功能^[5-8]。

C2H2 型锌指蛋白最早在矮牵牛中发现^[9], 随后在其他植物的研究中逐渐增多, 如拟南芥^[10], 水稻^[11], 杨树^[12], 烟草^[13], 小麦^[14], 番茄^[15]、木薯^[16], 马铃薯^[17], 大麻^[18]等, 这些都证明 C2H2 型锌指蛋白参与了植物的营养生长、生殖发育及对逆境胁迫的响应。C2H2 型锌指蛋白在植物的抗寒中发挥重要作用。SAKAMOTO 等^[7]研究发现拟南芥 C2H2 家族的 *STZ*、*AZF1* 和 *AZF3* 基因在低温胁迫下被显著诱导表达。过表达 *ZAT12* 基因

可以有效的提高转基因拟南芥的耐低温能力^[19]。ZHANG 等^[20]研究发现在拟南芥中过表达 *SICZFP1* 基因可以增强转基因拟南芥的耐低温能力。在枳中发现 *PtrZPT2-1* 基因在低温胁迫下表达量显著升高, 且过表达 *PtrZPT2-1* 基因的转基因烟草表现出较强的抗寒性^[21]。在大豆中发现 C2H2 型锌指蛋白家族的 *SCOF-1* 基因可以诱导下游 *COR* 基因的表达, 可以增强转基因拟南芥的抗寒能力^[22]。矮牵牛中 *ZPT2-2* 基因可以增强转基因植物的耐低温能力^[23]。在烟草中转 *OSISAPI* 基因可以提高转基因烟草的抗寒能力^[24]。在水稻中 *ZFP245*、*ZFP18* 基因在低温下被显著诱导表达^[25], 过表达 *OsZFP151* 可以增强转基因水稻的耐低温能力^[26], 上述研究结果说明, C2H2 基因在响应植物的低温胁迫过程中发挥着积极作用, 而油棕 C2H2 型锌指蛋白家族是否参与低温胁迫的应答尚不明析。因此, 在油棕基因组中鉴定 C2H2 型锌指蛋白并明确其在低温胁迫中的功能对油棕抗寒研究是非常重要的。

油棕 (*Elaeis guineensis* Jacq.) 是一种重要的热带木本油料作物, 也是世界上产油效率最高的油料作物, 年均产油量高达 4.27 t/hm², 被誉为“世界油王”^[27]。油棕原产于热带非洲, 喜高温多雨的气候, 适宜在年均气温为 25~28 °C 的地区生长^[28], 我国热区地处热带北缘, 年平均气温 19.0~25.4 °C, 极端最低温达 0~5 °C, 热量低于油

棕原产区,严重影响了油棕的生长发育和产量^[29]。本研究以拟南芥 C2H2 氨基酸序列作为探针,在油棕基因组数据库中进行本地 BLASTP 比对,筛选出油棕 C2H2 型锌指蛋白家族,对其进行生物信息学分析,并根据转录组数据和 qRT-PCR 方法分析油棕 C2H2 家族基因在低温胁迫下的表达情况,以为后续油棕 C2H2 家族基因的低温胁迫研究提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为本课题组前期筛选的云南大理(东经 100°72', 北纬 25°50', 海拔 1381 m, 年均温 14.9 °C, 极端最低温 -3.3~2.3 °C^[30]) 抗寒高产油棕成龄树的自交子一代耐寒材料和冷敏感材料各 3 株^[31], 苗龄约为 3 年, 现存叶片数为 5~10 片, 株高 100~150 cm。

将耐寒材料和冷敏感材料放置于中国热带农业科学院橡胶研究所冷库中进行 4 °C 低温处理(每天光照时间 12 h), 分别在低温处理 0、1、3、5 d 时进行取样。采集植株第 2~3 片叶叶轴中部两边的小叶作为样品, 将叶样用去离子水洗净后再用锡箔纸严密包裹然后放到液氮中速冻, 最后转移到 -80 °C 超低温冰箱保存, 用于总 RNA 提取, 每个处理 3 个重复。

本研究将耐寒材料命名为 CT (cold tolerance), 冷敏感材料命名为 CS (cold sensitive), CT 低温处理 0、1、3、5 d 的样品命名为 CT0、CT1、CT3、CT5, CS 低温处理 0、1、3、5 d 的样品命名为 CS0、CS1、CS3、CS5, 每个处理 3 个重复。

1.2 方法

1.2.1 油棕 C2H2 家族成员鉴定及理化性质分析 从 NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 网站下载油棕基因组序列和基因组蛋白质序列, 从 TAIR 数据库中下载 176 个拟南芥 C2H2 型锌指蛋白家族氨基酸序列, 以拟南芥 C2H2 氨基酸序列作为探针, 在油棕基因组数据库中进行本地 BLASTP 比对, 阈值设置为 $1e^{-5}$, 获得与拟南芥 C2H2 型锌指蛋白相似度高的油棕蛋白质全长序列。将获得的油棕 C2H2 基因序列在 pfam (<http://pfam.xfam.org/>)、Batch Web CD-Search Tool (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/bwrpsb/bwrpsb.cgi>) 和 SMART9.0 (<http://smart.embl-heidelberg.de/>) 等在

线软件进行结构域验证, 筛选含有 C2H2 结构域的蛋白序列确定为油棕 C2H2 型锌指蛋白家族成员。在 ExPASy 网站 (<http://web.expasy.org/protparam/>) 对获得的油棕 C2H2 型锌指蛋白家族成员进行氨基酸数、分子量 (MW)、等电点 (pI)、不稳定系数等理化性质分析。使用 WOLFPSORT 网站 (<http://www.genscript.com/wolf-psort.html>) 进行亚细胞定位。

1.2.2 系统进化树的构建及染色体定位 将获得的油棕和拟南芥的 C2H2 型锌指蛋白序列使用 MEGA7.0 软件基于 NJ (Neighbor join) 法构建系统进化树, bootstrap 值为 1000 次。以油棕基因组注释信息为依据, 使用 TBtools 软件^[33]进行油棕 C2H2 锌指蛋白家族基因的染色体定位。

1.2.3 基因结构与保守基序分析 使用在线软件 GSDS2.0 (<http://gsds.gao-lab.org/>) 进行基因结构分析, 并使用 TBtools 软件^[32]进行可视化图片的输出。保守基序使用在线软件 MEME (<http://meme-suite.org/>) 分析, 并使用 TBtools 软件^[32]进行可视化图片的输出。

1.2.4 启动子顺式元件分析 使用 TBtool 软件^[32]提取油棕 C2H2 型锌指蛋白家族成员的启动子序列, 使用 PlantCARE (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/htm>) 在线网站进行顺式元件预测, 并使用 TBtools 软件^[32]进行可视化图片的输出。

1.2.5 低温胁迫下 EgC2H2 基因家族成员的表达分析 根据前期进行转录组测序(未发表数据)的结果, 从转录组测序数据中提取油棕 C2H2 型锌指蛋白家族成员的 FPKM 值, 利用 TBtools 软件^[32]绘制热图。

根据转录组数据分析筛选 16 个显著差异表达的 *EgC2H2* 基因进行 qRT-PCR 分析。采用 RNAPrep Pure 多糖多酚植物总 RNA 提取试剂盒提取 RNA, 用琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 质量, 使用 Agilent2100 对 RNA 的浓度和 A_{260}/A_{280} 进行检测。使用 thermo scientific RevertAid First Strand cDNA Kit 试剂盒进行 cDNA 反转录。使用 CFX96 Real-time PCR System (Bio-Rad, United States) 仪器进行 qRT-PCR 验证, 每个样品 3 个重复, 反应体积为 20 μ L, 包括 ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix 10.0 μ L、正向及反向引物 (10 μ mol/L) 各 0.4 μ L、cDNA (10 ng/L) 1.0 μ L 以及 ddH₂O 8.2 μ L。qRT-PCR 反应程序: 95 °C 预变性 30 s,

95 °C 变性 5 s, 60 °C 退火延伸 30 s, 40 个循环。*Egβ-actin* 为内参基因^[33], 利用 NCBI 中的 primer-BLAST 设计特异性引物, 并由擎科生物科技有限

公司海南分公司合成, 引物序列见表 1。采用 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 方法, 计算基因的表达量, 使用 Originpro 2018 软件进行绘图。

表 1 qRT-PCR 引物
Tab. 1 Primers of genes in qRT-PCR

基因名称 Gene name	上游引物序列 (5'-3') Forward primer sequence (5'-3')	下游引物序列 (5'-3') Reverse primer sequence (5'-3')	产物长度 Product length/bp
<i>EgC2H2-07</i>	GCGAATGTATTGATGCTGCTC	GCTTGGAACGAAGGGAAC	125
<i>EgC2H2-09</i>	CGGCATAAACGACGACACC	GAGGAAGGACTTCCAGGAGA	196
<i>EgC2H2-11</i>	GAGCATCGACATGGCTAACG	TTGGAACGACGGGAAC	130
<i>EgC2H2-16</i>	GACGTGCGTCTCTTCTCT	TCTCTCACAGTGACACCCGA	194
<i>EgC2H2-17</i>	CGGAGACAAGGCAGAAATACA	CGACAGTGGAGCCGATAGA	147
<i>EgC2H2-19</i>	GCCTAAGAGCAACCGACAGA	AGGGCTTCATTGACCCACA	143
<i>EgC2H2-20</i>	GCCAACCAGGATTGAAGACG	CTCCTAAAGCAAACAGAGCACC	126
<i>EgC2H2-21</i>	CATGAGTGCCCTGTTTGTGG	TCTTCTGCATGGATCTCACCCG	104
<i>EgC2H2-23</i>	GAGGCGCCACTATGAAGGAA	CGAATCCCCTGTCCTGAC	104
<i>EgC2H2-24</i>	AGTGTTCCGGTCTGTGGCAAG	GACCCTACCGCTAACAGAG	158
<i>EgC2H2-26</i>	GTGTGCCACAAGACGTTCC	AGCTTGGCGTCCAAACTGAT	186
<i>EgC2H2-27</i>	AGGAGGCACTGGAATGGTC	CTCCGTAGGGCTCTCAGAT	102
<i>EgC2H2-30</i>	TGGTCCAGAAAAGAAATGGATGG	GCCGATGAAGAAGAACTCC	157
<i>EgC2H2-40</i>	CGGTGAGCCAGCCTATCAAT	AACCAACACCCTTCACTCCG	156
<i>EgC2H2-71</i>	TCAAGCCGTTCTGTCAAG	GAAGTGGGTGTGTGGTGCTA	134
<i>EgC2H2-73</i>	TGTTGACGATGATCCCAGCTC	GTCGCAAGACCCTGAAGGAA	136
<i>Egβ-actin</i>	TGGAAGCTGCTGGAATCCAT	TCCTCCACTGAGCACAACGTT	101

1.3 数据处理

使用 DPS 软件进行数据分析, 用 Duncan's 法进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 油棕 C2H2 家族成员鉴定及理化性质分析

根据拟南芥 C2H2 氨基酸序列在油棕基因组数据库中进行 BLASTP 比对、筛选和验证, 共获得 73 个油棕 C2H2 型锌指蛋白家族成员, 并将其命名为 *EgC2H2-01~EgC2H2-73*, 如表 2。在油棕 C2H2 基因编码的蛋白质中, 氨基酸的数目为 128~556 个, 分子量为 14 176.73~58 983.30 Da, 等电点为 4.99~9.62, 不稳定系数为 38.84~86.01, 除 *EgC2H2-67* 属于稳定蛋白, 其他均为不稳定蛋白, 亲水性为 -1.154~-0.226, 亚细胞定位显示 C2H2 基因家族所有成员均定位于细胞核。

2.2 C2H2 家族成员进化树分析

利用 MEGA7.0 软件对油棕和拟南芥 C2H2 氨基酸序列构建系统进化树, 根据进化树分析结果 (图 1), 可以将 C2H2 基因分成 4 个亚家族, 分别命名为 I~IV。拟南芥和油棕 C2H2 基因在 4 个亚家族中均有分布, 第 I 亚家族 C2H2 基因最多,

有 59 个成员, 第 II 亚家族有 56 个成员, 第 III 亚家族有 12 个成员, 第 IV 亚家族最少, 有 9 个成员。油棕 C2H2 与拟南芥 C2H2 发生明显聚类, 表明 C2H2 型锌指蛋白在进化上具有保守性。

2.3 油棕 C2H2 基因家族染色体定位

根据油棕基因组注释文件, 利用 TBtools 软件对油棕 C2H2 家族基因的染色体位置进行可视化图片的输出。如图 2 所示, 73 个油棕 C2H2 家族中的 55 个基因不均匀的分布于 16 条染色体上, 其中 Chrom04、Chrom05 和 Chrom11 染色体上分布的基因数目最多, 均分布有 6 个 *EgC2H2* 基因, Chrom02 和 Chrom15 染色体上均分布 5 个 *EgC2H2* 基因, Chrom08、Chrom13 和 Chrom16 染色体上均分布有 4 个 *EgC2H2* 基因, Chrom03 染色体上分布有 3 个 *EgC2H2* 基因, Chrom01、Chrom07、Chrom10、Chrom12 和 Chrom14 染色体上均分布有 2 个 *EgC2H2* 基因, Chrom06 和 Chrom09 染色体上基因数目最少, 均分布有 1 个 *EgC2H2* 基因, 18 个 *EgC2H2* 基因未确定染色体位置。

2.4 油棕 C2H2 基因家族基因结构分析

本研究对 *EgC2H2* 家族基因结构进行了分析 (图 3), 73 个 *EgC2H2* 基因含有 1~4 个外显子,

表 2 油棕 C2H2 基因家族基因的理化性质
Tab. 2 Physicochemical properties C2H2 gene family in oil palm

基因名称 Gene name	基因登录号 Gene ID	氨基酸数 Amino acids	分子量 MW/Da	等电点 pI	不稳定系数 Instability index	亲水性 Gravy	亚细胞定位 Subcellular location
<i>EgC2H2-01</i>	LOC105043641	373	40 612.01	6.05	70.67	-0.760	细胞核
<i>EgC2H2-02</i>	LOC105054978	357	37 850.37	6.38	73.24	-0.698	细胞核
<i>EgC2H2-03</i>	LOC105059519	345	36 320.94	7.12	70.33	-0.622	细胞核
<i>EgC2H2-04</i>	LOC105054000	364	39 022.92	5.58	69.07	-0.709	细胞核
<i>EgC2H2-05</i>	LOC105046688	500	55 000.76	5.88	55.13	-0.883	细胞核
<i>EgC2H2-06</i>	LOC105058139	490	53 605.31	7.57	42.07	-0.796	细胞核
<i>EgC2H2-07</i>	LOC105045719	168	18 431.08	8.60	56.47	-0.510	细胞核
<i>EgC2H2-08</i>	LOC105053630	276	29 400.16	7.62	61.99	-0.430	细胞核
<i>EgC2H2-09</i>	LOC105054341	503	54 703.30	6.03	55.45	-0.683	细胞核
<i>EgC2H2-10</i>	LOC105032261	495	55 010.33	8.11	51.62	-0.863	细胞核
<i>EgC2H2-11</i>	LOC105056987	168	18 744.62	9.00	44.45	-0.526	细胞核
<i>EgC2H2-12</i>	LOC105055986	498	54 756.81	7.57	53.40	-0.859	细胞核
<i>EgC2H2-13</i>	LOC105055625	283	30 248.88	6.46	58.73	-0.559	细胞核
<i>EgC2H2-14</i>	LOC105036747	282	29 651.32	6.67	61.53	-0.451	细胞核
<i>EgC2H2-15</i>	LOC105044471	165	18 531.32	8.58	47.94	-0.493	细胞核
<i>EgC2H2-16</i>	LOC105058031	205	22 114.88	8.97	73.86	-0.606	细胞核
<i>EgC2H2-17</i>	LOC105060714	239	25 004.99	7.70	66.15	-0.433	细胞核
<i>EgC2H2-18</i>	LOC105059071	291	31 093.82	6.71	60.03	-0.536	细胞核
<i>EgC2H2-19</i>	LOC105044475	216	24 278.39	9.53	46.19	-0.541	细胞核
<i>EgC2H2-20</i>	LOC105032504	211	22 749.82	9.62	86.01	-0.537	细胞核
<i>EgC2H2-21</i>	LOC105036887	196	21 763.09	8.64	53.02	-0.529	细胞核
<i>EgC2H2-22</i>	LOC105043642	508	55 287.80	5.71	58.03	-0.668	细胞核
<i>EgC2H2-23</i>	LOC105034068	244	25 537.60	7.72	62.17	-0.370	细胞核
<i>EgC2H2-24</i>	LOC105033259	247	25 270.31	8.16	58.36	-0.226	细胞核
<i>EgC2H2-25</i>	LOC105050037	418	45 409.61	6.80	60.61	-0.933	细胞核
<i>EgC2H2-26</i>	LOC105058057	247	25 672.72	9.10	79.12	-0.528	细胞核
<i>EgC2H2-27</i>	LOC105039036	476	51 713.46	5.58	60.57	-0.764	细胞核
<i>EgC2H2-28</i>	LOC105050607	313	35 048.20	7.25	60.43	-0.810	细胞核
<i>EgC2H2-29</i>	LOC105034450	281	30 906.03	9.42	62.55	-0.712	细胞核
<i>EgC2H2-30</i>	LOC105052793	292	31 457.06	8.76	60.26	-0.726	细胞核
<i>EgC2H2-31</i>	LOC105032342	536	55 720.74	9.08	65.64	-0.442	细胞核
<i>EgC2H2-32</i>	LOC105060971	556	57 325.59	9.01	65.24	-0.451	细胞核
<i>EgC2H2-33</i>	LOC105045823	263	29 079.48	8.88	52.36	-0.818	细胞核
<i>EgC2H2-34</i>	LOC105045380	245	25 383.92	6.78	57.88	-0.588	细胞核
<i>EgC2H2-35</i>	LOC105032825	150	16 254.26	9.04	70.59	-0.666	细胞核
<i>EgC2H2-36</i>	LOC105033779	252	26 331.21	6.49	62.01	-0.506	细胞核
<i>EgC2H2-37</i>	LOC105048556	242	24 981.79	6.43	53.09	-0.367	细胞核
<i>EgC2H2-38</i>	LOC105041240	243	25 377.91	8.31	56.45	-0.520	细胞核
<i>EgC2H2-39</i>	LOC105056470	269	28 525.34	7.32	68.16	-0.652	细胞核
<i>EgC2H2-40</i>	LOC105058647	267	28 851.71	7.26	63.58	-0.713	细胞核
<i>EgC2H2-41</i>	LOC105041881	291	30 874.77	7.08	61.63	-0.721	细胞核
<i>EgC2H2-42</i>	LOC105039404	158	17 329.45	5.44	61.53	-0.628	细胞核
<i>EgC2H2-43</i>	LOC105058684	230	25 224.99	6.16	66.65	-0.489	细胞核

续表 2 油棕 C2H2 锌指蛋白家族基因的理化性质
Tab. 2 Physicochemical properties of oil palm C2H2 zinc finger protein family genes (continued)

基因名称 Gene name	基因登录号 Gene ID	氨基酸数 Amino acids	分子量 MW/Da	等电点 pI	不稳定系数 Instability index	亲水性 Gravy	亚细胞定位 Subcellular location
<i>EgC2H2-44</i>	LOC105056396	221	24 431.21	6.12	71.64	-0.456	细胞核
<i>EgC2H2-45</i>	LOC105035591	156	16 692.76	6.50	84.80	-0.467	细胞核
<i>EgC2H2-46</i>	LOC105049582	317	33 158.11	6.68	61.60	-0.462	细胞核
<i>EgC2H2-47</i>	LOC105052945	295	31 276.32	6.90	55.06	-0.408	细胞核
<i>EgC2H2-48</i>	LOC105039618	128	14 176.73	6.20	60.87	-0.757	细胞核
<i>EgC2H2-49</i>	LOC105034374	186	20 326.37	5.26	62.88	-0.923	细胞核
<i>EgC2H2-50</i>	LOC105050705	254	26 688.93	6.45	60.45	-0.442	细胞核
<i>EgC2H2-51</i>	LOC105060224	263	27 801.56	8.80	55.94	-0.367	细胞核
<i>EgC2H2-52</i>	LOC109506417	196	21 165.78	5.16	67.68	-0.437	细胞核
<i>EgC2H2-53</i>	LOC105048557	257	28 253.32	7.20	42.18	-0.854	细胞核
<i>EgC2H2-54</i>	LOC105041214	267	29 394.54	7.19	41.28	-0.840	细胞核
<i>EgC2H2-55</i>	LOC105056898	286	31 719.81	9.02	72.55	-0.707	细胞核
<i>EgC2H2-56</i>	LOC105046388	283	32 145.23	9.41	62.45	-0.784	细胞核
<i>EgC2H2-57</i>	LOC105044349	279	31 256.13	8.17	70.27	-0.723	细胞核
<i>EgC2H2-58</i>	LOC105034368	282	31 580.18	8.72	71.88	-0.860	细胞核
<i>EgC2H2-59</i>	LOC105043099	219	24 262.93	6.44	57.12	-0.783	细胞核
<i>EgC2H2-60</i>	LOC105053599	215	23 907.53	5.64	57.77	-0.748	细胞核
<i>EgC2H2-61</i>	LOC105043899	186	20 664.22	5.90	60.21	-0.529	细胞核
<i>EgC2H2-62</i>	LOC105043101	184	20 490.18	4.99	59.44	-1.154	细胞核
<i>EgC2H2-63</i>	LOC105053598	182	20 490.70	7.06	51.84	-0.965	细胞核
<i>EgC2H2-64</i>	LOC105059229	182	20 525.41	5.09	69.97	-1.138	细胞核
<i>EgC2H2-65</i>	LOC105061280	146	16 601.90	6.65	69.11	-0.630	细胞核
<i>EgC2H2-66</i>	LOC105056814	384	41 404.77	6.94	48.42	-0.351	细胞核
<i>EgC2H2-67</i>	LOC105035784	534	58 983.30	5.96	38.84	-0.514	细胞核
<i>EgC2H2-68</i>	LOC105058423	363	39 477.35	6.25	52.86	-0.639	细胞核
<i>EgC2H2-69</i>	LOC105037944	535	58 865.64	6.16	41.57	-0.422	细胞核
<i>EgC2H2-70</i>	LOC105043095	346	38 355.24	8.98	50.93	-0.614	细胞核
<i>EgC2H2-71</i>	LOC105038395	465	51 959.72	6.65	42.42	-0.508	细胞核
<i>EgC2H2-72</i>	LOC105059228	352	38 570.83	8.80	42.94	-0.485	细胞核
<i>EgC2H2-73</i>	LOC105051874	508	56 186.43	5.49	47.97	-0.633	细胞核

EgC2H2-42 和 *EgC2H2-66* 含有 2 个外显子, *EgC2H2-19* 和 *EgC2H2-33* 含有 3 个外显子, *EgC2H2-31*、*EgC2H2-32*、*EgC2H2-53* 和 *EgC2H2-54* 含有 4 个外显子, 其他 *EgC2H2* 基因仅含有 1 个外显子。此外, 9 个 *EgC2H2* 基因含有内含子, 其他均无内含子。

2.5 油棕 C2H2 基因家族保守基序分析

利用在线网站 MEME 搜索获得了 73 个 *EgC2H2* 基因的 10 个保守基序(图 4), 其中 Motif 1、Motif 2 和 Motif 6 含有 C2H2 型锌指蛋白保守结构域, 都存在典型的 QALGGH 基序, 属于 Q 型 C2H2 锌指蛋白; Motif 1 和 Motif 2 含有 21 个

保守氨基酸, Motif 6 含有 26 个保守氨基酸。*EgC2H2* 基因家族成员含有 1 个或多个保守结构域, 其中 Motif 1 在 *EgC2H2* 基因家族分布最广, 62 个 *EgC2H2* 基因含有 Motif 1, 说明 Motif 1 在 *EgC2H2* 基因家族发挥关键作用, 7 个 *EgC2H2* 基因同时具有 Motif 1、Motif 2 和 Motif 6。此外 Motif 7、Motif 9 和 Motif 5 在 *EgC2H2* 基因家族中也分布较多, 说明 *EgC2H2* 基因家族保守结构域的种类和数量比较丰富。Motif 10 和 Motif 5 为第 I 亚家族所特有, 且每个成员均含 1 个 Motif 5, Motif 8 为第 III 亚家族特有, 同一亚家族成员的保守结构域具有较高的一致性。

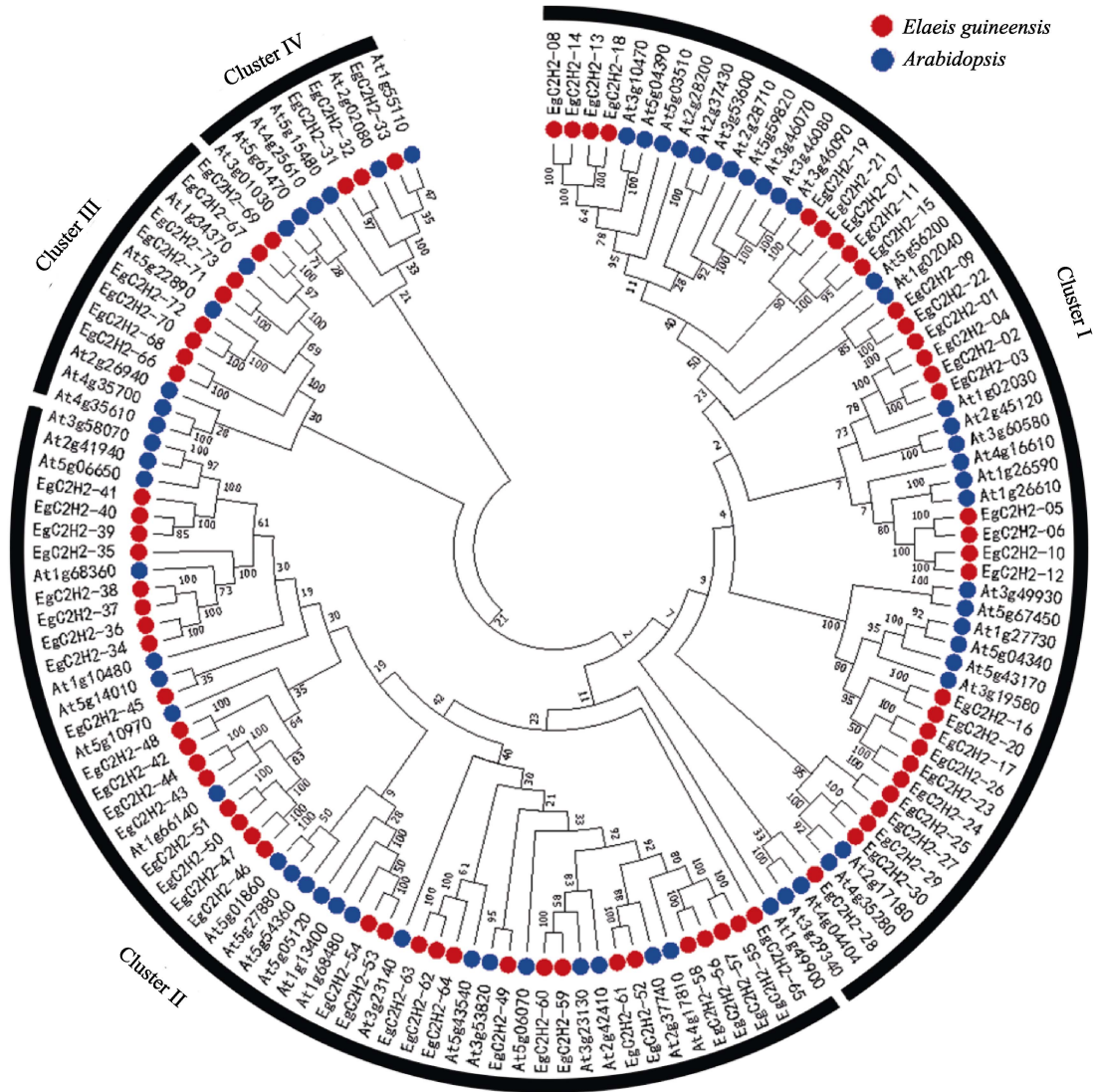


图 1 油棕和拟南芥的 C2H2 基因家族的系统进化关系

Fig. 1 Phylogenetic relationship of C2H2 gene between oil palm and *Arabidopsis*

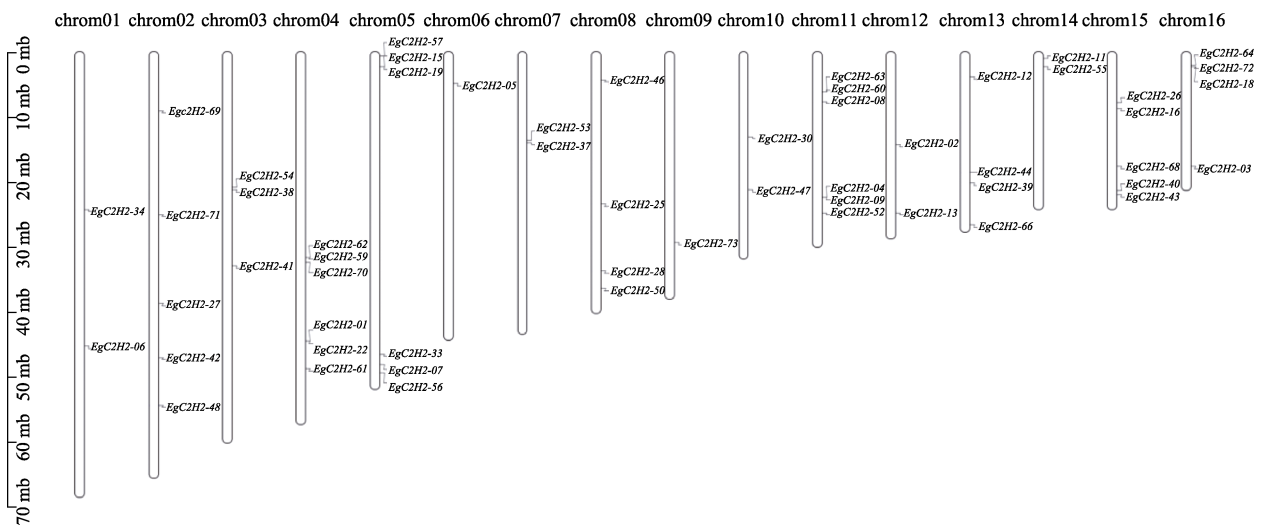


图 2 油棕 C2H2 基因家族染色体定位

Fig. 2 Chromosomal distribution of C2H2 gene family in oil palm

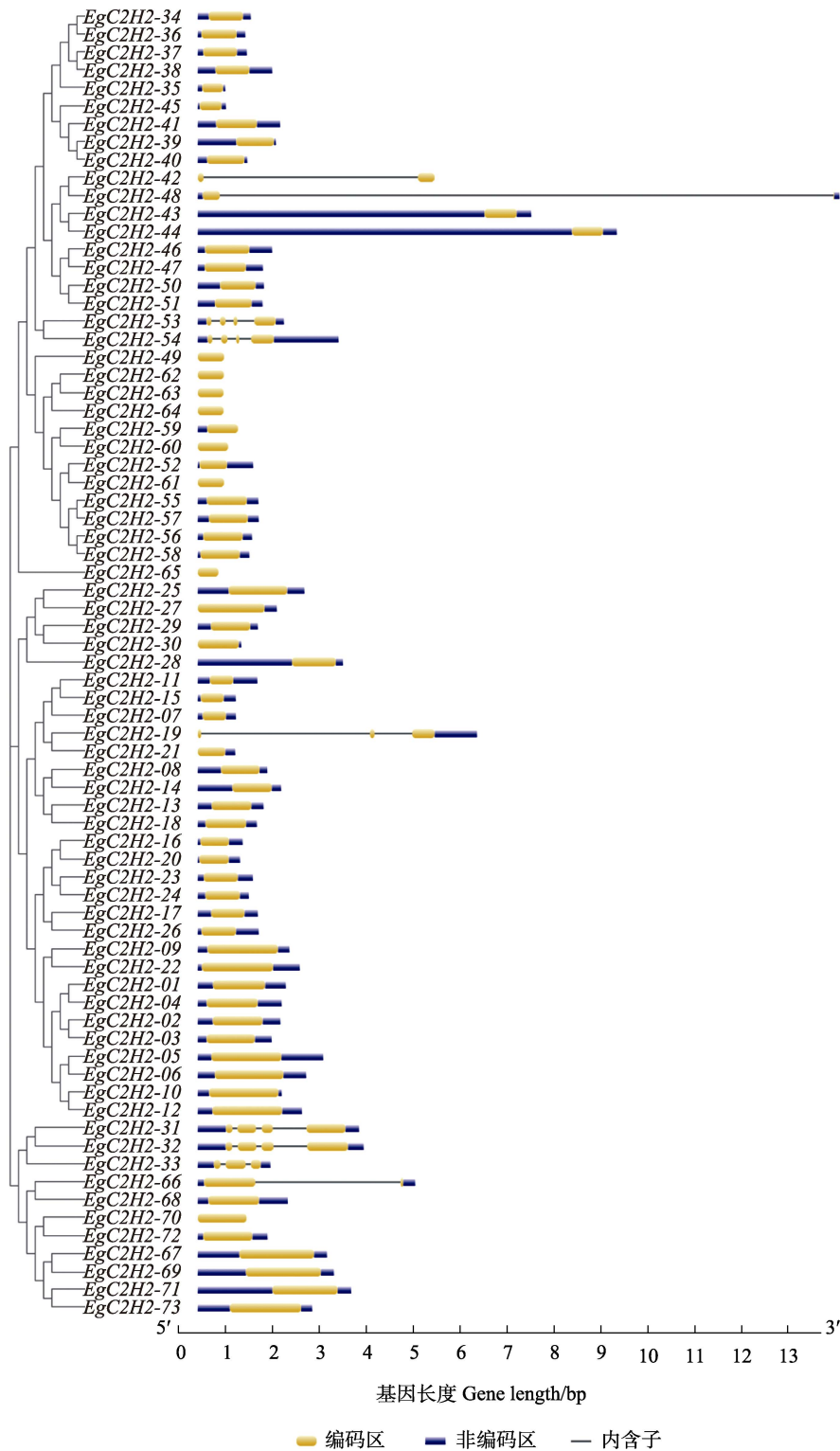


图 3 油棕 C2H2 基因家族基因结构分析

Fig. 3 Gene structure analysis of C2H2 gene family in oil palm

2.6 油棕 C2H2 基因家族启动子顺式元件分析

对油棕 C2H2 基因家族起始位点上游 2000 bp 的启动子序列进行顺式元件分析 (图 5), 结果表明, 油棕 C2H2 基因家族含有多种启动子顺式元

件, 除 *EgC2H2-36* 和 *EgC2H2-06* 外, 所有 C2H2 启动子均含有 1 个或多个启动子顺式元件。光响应元件在 *EgC2H2* 基因家族分布最广, 除 *EgC2H2-36*、*EgC2H2-41*、*EgC2H2-21* 和 *EgC2H2-06* 外,

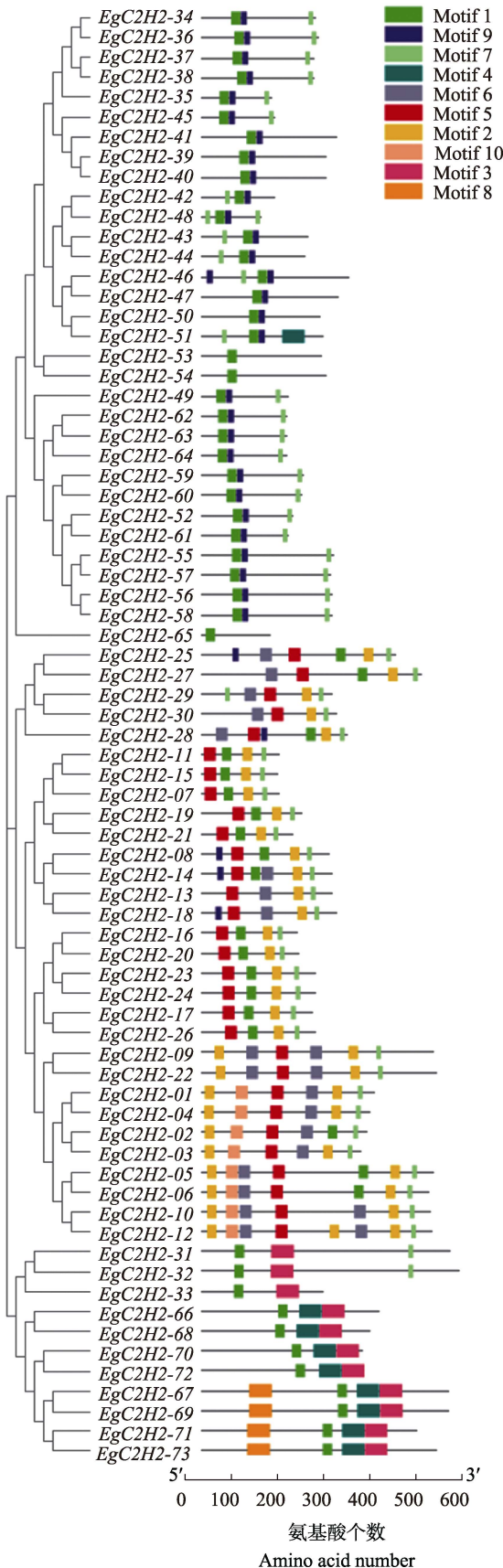


图 4 油棕 C2H2 基因家族蛋白保守基序分析

Fig. 4 Conserved motifs analysis of C2H2 gene family in oil palm

其他 *EgC2H2* 基因均含有光响应元件，此外，*EgC2H2* 基因家族还含有大量与植物激素和逆境胁迫有关的响应元件，如 83.6% 的 *EgC2H2* 家族成员含有厌氧诱导响应元件，75.3% 的 *EgC2H2* 家族成员含有脱落酸响应元件，47.9% 的 *EgC2H2* 家族成员含有生长素响应元件，58.9% 的 *EgC2H2* 家族成员含有赤霉素响应元件，69.9% 的 *EgC2H2* 家族成员含有茉莉酸甲酯诱导响应元件，54.8% 的 *EgC2H2* 家族成员含有干旱响应元件，50.7% 的 *EgC2H2* 家族成员含有水杨酸响应元件，42.5% 的 *EgC2H2* 家族成员含有低温响应元件，此外，部分 *EgC2H2* 家族成员还含有防御与胁迫响应元件。表明 *EgC2H2* 家族在响应逆境胁迫中发挥重要作用。

2.7 油棕 C2H2 基因家族表达分析

对耐寒材料和低温敏感材料低温胁迫 0、1、3、5 d 的转录组数据进行分析，使用 TBtools 软件绘制油棕 C2H2 基因家族表达模式的热图（图 6）。结果显示，低温胁迫下，*EgC2H2* 基因在不同材料之间和同一材料不同处理时间之间的表达量有明显差异，说明 *EgC2H2* 家族基因能够被低温诱导。低温胁迫下，*EgC2H2* 基因家族中有 10 个基因未表达，其他基因均有表达，且在 CT 的表达量变化较 CS 显著，上调表达基因中大量基因在 CT3 和 CT5 中表达量相对较高，少量基因在 CS3 和 CS5 中表达量高，下调表达基因中大量基因在 CT0 和 CT1 中表达量高，少量基因在 CS0 和 CS1 中表达量高。随低温胁迫时间的延长，*EgC2H2-11*、*EgC2H2-07*、*EgC2H2-23*、*EgC2H2-17*、*EgC2H2-21*、*EgC2H2-33*、*EgC2H2-67*、*EgC2H2-16* 和 *EgC2H2-28* 的表达量在 CT 中持续升高，在 CT5 处理下表达量最高。*EgC2H2-25*、*EgC2H2-26* 和 *EgC2H2-30* 的表达量在 CS 中持续升高，在 CS5 处理下表达量最高。随低温胁迫时间的延长，*EgC2H2-43*、*EgC2H2-39*、*EgC2H2-66*、*EgC2H2-69*、*EgC2H2-14* 和 *EgC2H2-50* 表达量持续降低，在低温处理 5 d 时表达量最低。

2.8 油棕 C2H2 基因家族成员在低温胁迫下 qRT-PCR 分析

根据转录组数据分析筛选了 16 个显著差异表达的 *EgC2H2* 基因进行荧光定量 PCR 分析（图 7）。结果表明，低温胁迫处理后，16 个 *EgC2H2* 基因在同一材料不同处理时间下差异显著，且变化趋势与转录组数据基本一致，*EgC2H2-20*、

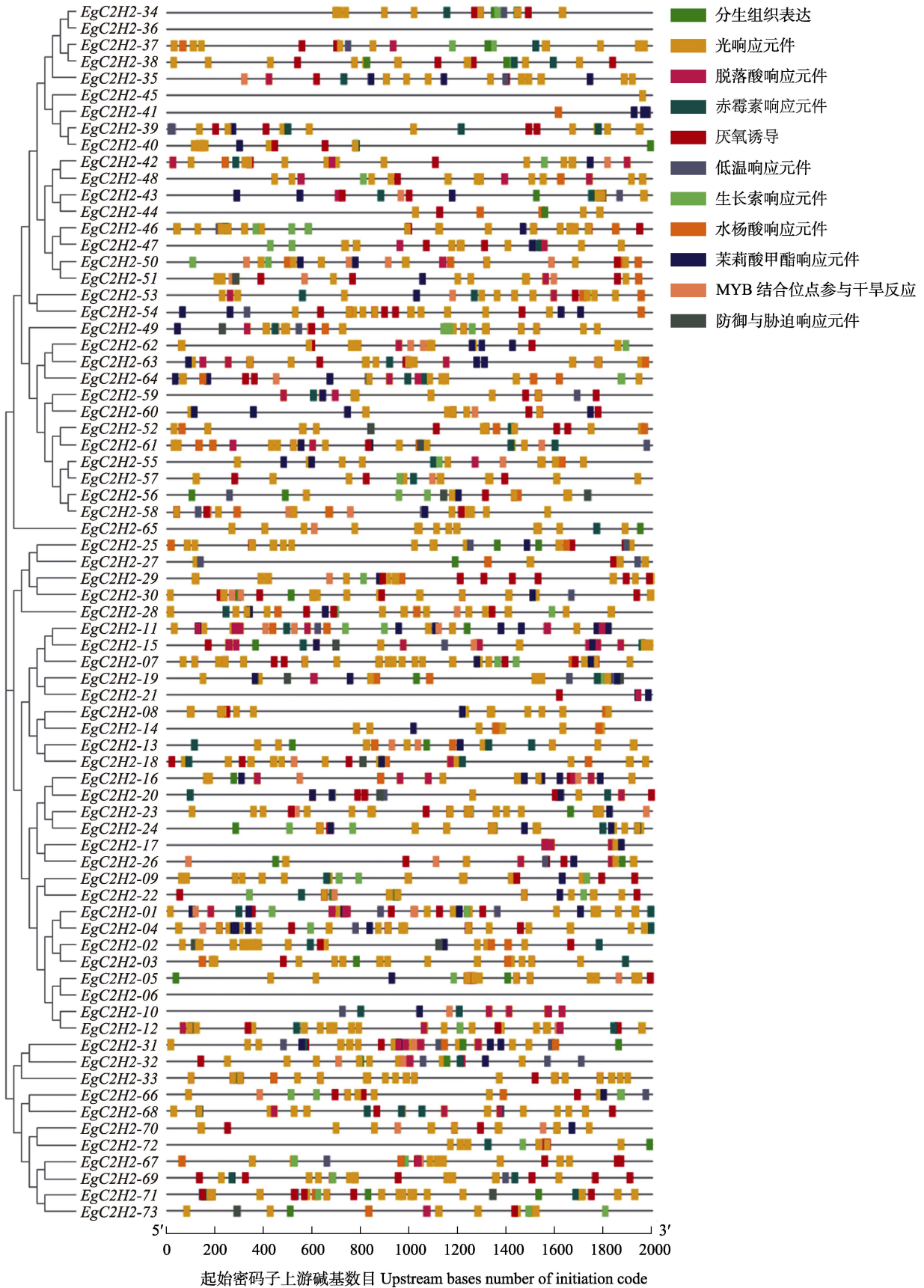


图 5 油棕 C2H2 基因家族启动子顺式作用元件分析
 Fig. 5 Analysis of *cis*-acting elements in promoters of C2H2 gene family in oil palm

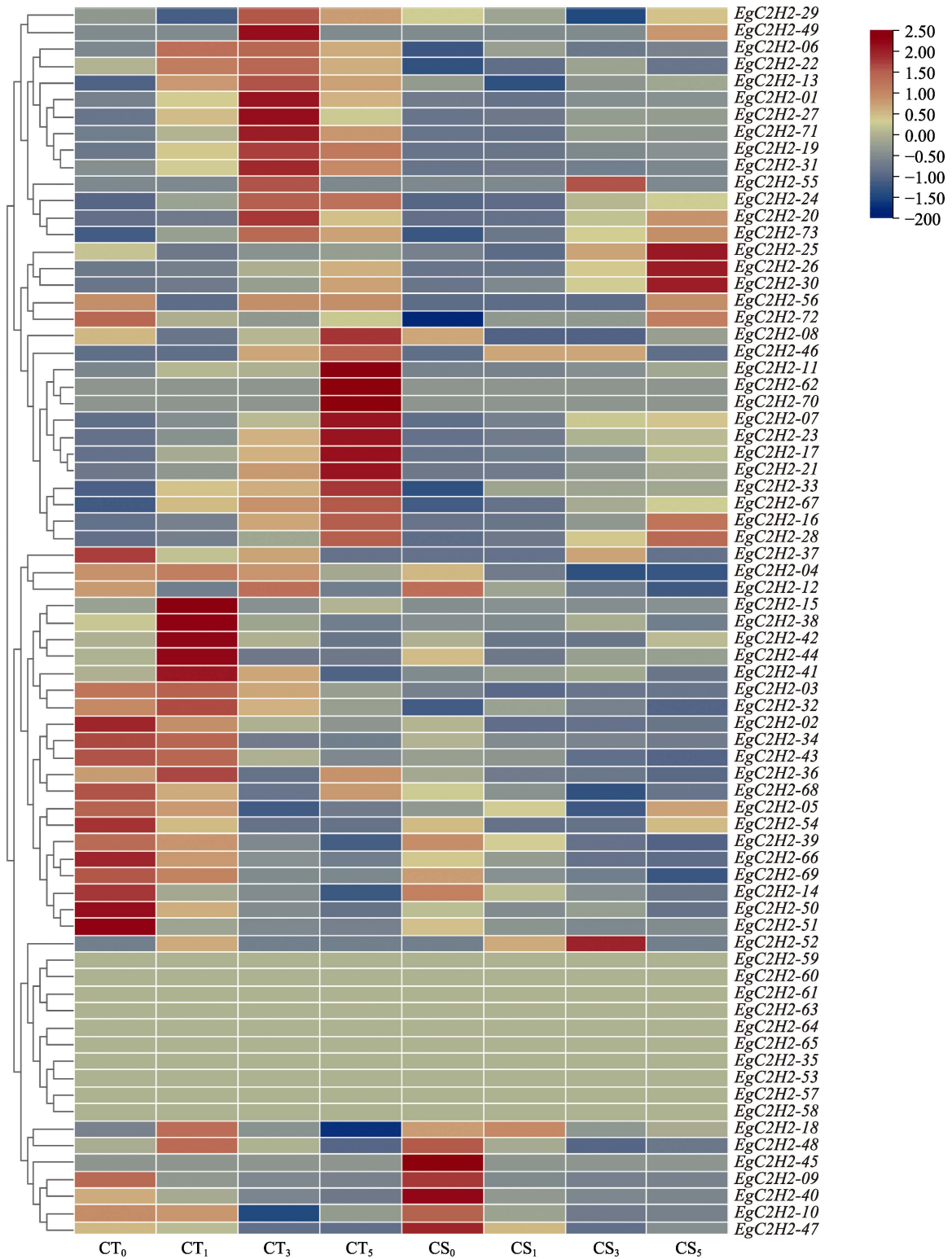
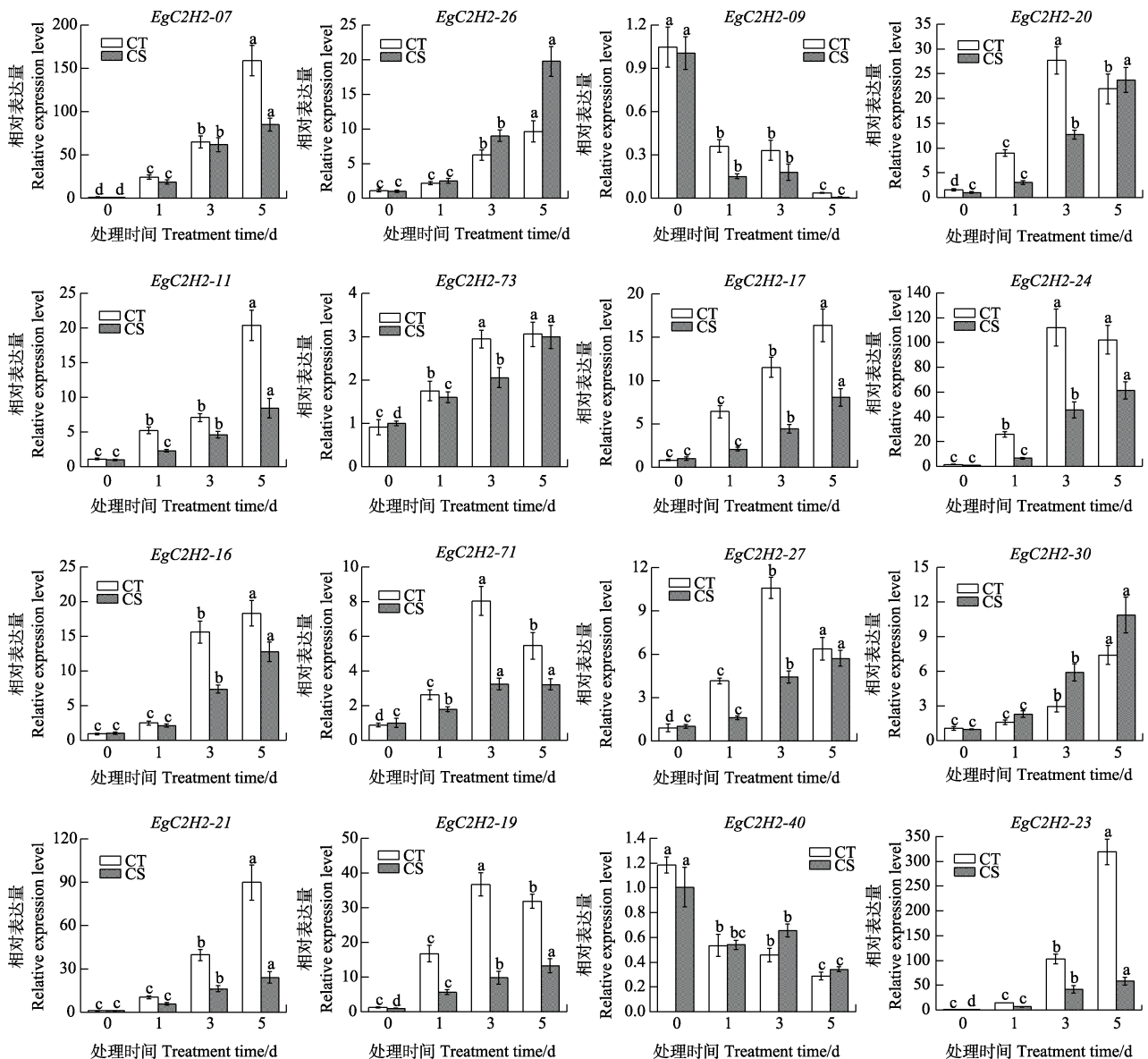


图 6 油棕 C2H2 基因家族在低温胁迫下表达量热图

Fig. 6 Heat map of C2H2 gene family in oil palm expression under low temperature stress

EgC2H2-24、*EgC2H2-71*、*EgC2H2-27* 和 *EgC2H2-19* 基因的表达量随胁迫时间的延长在 CT 中呈先升高再降低的趋势，在低温处理 3 d 时达到最高水平，且表达量明显高于 CS，但在 CS

中则呈持续升高的趋势。*EgC2H2-07*、*EgC2H2-26*、*EgC2H2-11*、*EgC2H2-73*、*EgC2H2-17*、*EgC2H2-16*、*EgC2H2-30*、*EgC2H2-21*、和 *EgC2H2-23* 基因的表达量随胁迫时间的延长呈升高的趋势，其



不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant differences ($P < 0.05$).

图 7 油棕 C2H2 基因在低温胁迫下的 qRT-PCR 分析

Fig. 7 qRT-PCR analysis of C2H2 gene family oil palm under low temperature stress

中 *EgC2H2-26* 和 *EgC2H2-30* 基因低温胁迫后在 CS 中的表达量高于 CT, *EgC2H2-11*、*EgC2H2-17*、*EgC2H2-16*、*EgC2H2-21* 和 *EgC2H2-23* 基因低温胁迫后在 CT 中的表达量显著高于 CS, 且升高的幅度较大, 低温胁迫 5 d 时表达量分别是 CS 的 2.0、3.7、2.4、5.5 和 1.4 倍。*EgC2H2-11*、*EgC2H2-17*、*EgC2H2-21*、*EgC2H2-19* 和 *EgC2H2-23* 基因低温胁迫下表达量上升的幅度远远高于其他基因, 可能与耐寒材料较强的抗寒能力有关。

3 讨论

锌指蛋白是植物中最大的转录因子家族之

一, C2H2 型锌指蛋白转录因子是目前研究较多的锌指蛋白, 在植物的生长发育以及高盐、低温、干旱等非生物胁迫响应中扮演重要作用^[23, 34-35]。目前国内外关于 C2H2 型锌指蛋白在其他植物中的报道越来越多, 如矮牵牛、拟南芥、水稻、杨树、小麦、马铃薯等^[9-12, 14, 17], 然而油棕 C2H2 型锌指蛋白家族的研究还未见报道。本研究对油棕 C2H2 型锌指蛋白家族的全基因组鉴定, 共获得 73 条含有 C2H2 锌指蛋白保守结构域的油棕 C2H2 基因, 比拟南芥 (176 个)^[10]、烟草 (116 个)^[13]、水稻 (189 个)^[11]、小麦 (122 个)^[14]、杨树 (109 个)^[12]、番茄 (92)^[15]和木薯 (85)^[16]

的 C2H2 基因家族成员数目少, 说明不同物种间数量差异较大, C2H2 基因在进化过程中可能发生了基因复制。

构建系统进化树发现, 油棕 C2H2 基因家族可以分为 4 个亚家族, 每个亚家族的结构域类型存在高度的一致性, 第Ⅲ、Ⅳ亚家族的 *EgC2H2* 基因均含有 zf-C2H2 结构域, 而第Ⅰ、Ⅱ亚家族的 *EgC2H2* 基因均含有典型的 zf-C2H2-6 结构域, 且第Ⅰ和第Ⅱ亚家族成员数量占总数的 85%, 说明 zf-C2H2-6 结构域是油棕 C2H2 家族中发挥作用的重要结构域。保守基序分析发现, 每个成员均至少含有 1 个锌指蛋白保守结构域, 不同亚家族 motif 类型和数量存在明显差异, 但同一亚家族 C2H2 成员的保守基序和数量具有较高的一致性, 推测同一亚家族基因功能接近或相同。Motif 1、Motif 2 和 Motif 6 结构域中均含有植物 C2H2 锌指蛋白特有的一段高度保守的 QALGGH 基序, 早期研究报道 QALGGH 基序是与 DNA 的结合的重要基序, 在植物的生长发育中发挥重要作用^[7-8]。基因结构分析发现, 油棕 C2H2 基因家族的基因结构简单, 大部分成员含有 1 个外显子, 且数量差异较小, 仅极少数成员含有内含子, 属于内含子缺失型, 说明油棕 C2H2 基因家族在进化过程中可能发生了内含子丢失的现象, 这与在大麻、木薯、小麦、烟草等植物中的研究结果类似^[13-14, 16, 18]。C2H2 基因家族的外显子和内含子数目在不同物种间具有较高的保守性, 有研究报道, 内含子缺失型基因可以更快速地响应逆境胁迫^[36]。启动子顺式元件预测分析发现油棕 C2H2 家族含有大量与植物激素和逆境胁迫有关的响应元件, 这些结果与其他植物发现的顺式元件结果类似^[12, 14, 35], 进一步说明油棕 C2H2 基因家族参与非生物胁迫过程。

大量研究表明, C2H2 型锌指蛋白在植物的抗寒中发挥重要作用。过表达 *C2H2* 基因可以增强拟南芥、水稻、烟草等多种植物的抗寒性^[19-21, 24-26]。本研究对不同低温处理时间的转录组数据分析显示, 油棕 C2H2 基因家族成员中 63 个基因在不同处理时间之间的表达量有明显差异, 说明油棕 C2H2 基因家族响应低温胁迫, 这些基因大多数在耐寒材料中高表达, 而在冷敏感材料中低表达, 这可能与耐寒材料较强的抗寒能力有关。qRT-PCR 结果显示, 16 个 *EgC2H2* 基因在低温胁迫下的表达量均发生了显著变化, 除 *EgC2H2-26*、

EgC2H2-09 和 *EgC2H2-30* 外, 其他基因的表达量变化趋势均显著高于冷敏感材料, 推测 *EgC2H2* 基因在耐寒材料中感受低温的速度快于冷敏感材料, 耐寒材料可能通过增加 *EgC2H2* 基因的快速表达加快了低温信号的传递, 并诱导下游冷响应基因的表达, 从而使植株表现出较强的抗寒能力。本研究还发现, *EgC2H2-11*、*EgC2H2-17*、*EgC2H2-21*、*EgC2H2-19* 和 *EgC2H2-23* 显著上调表达与谷子中 *SiC2H2-78* 的表达模式类似^[37], 且表达量显著高于冷敏感材料, 表明耐寒材料可能通过提高这些基因的表达量来抵御低温伤害, 预示着这些基因在低温胁迫中起正向调控作用, 可以作为抗寒候选基因进一步深入研究。

参考文献

- [1] MILER J, MCLACHLAN A D, KLUG A. Repetitive zinc-binding domains in the protein transcription factor TFIIIA from *Xenopus oocytes*[J]. EMBO Journal, 1985, 4(6): 1609-1614.
- [2] BERG J M, SHI Y. The galvanization of biology: a growing appreciation for the roles zinc[J]. Science, 1996, 271(5252): 1081-1085.
- [3] HUANG J, WANG J, ZHANG H. Rice *ZFP15* gene encoding for a novel C2H2-type zinc finger protein lacking DLN box, is regulated by spike development but not by abiotic stresses[J]. Molecular Biology Reports, 2005, 32(3): 177-183.
- [4] PABO C O, PEISACH E, GRANT R A. Design and selection of novel Cys2His2 zinc finger proteins[J]. Annu Rev Biochem, 2001, 70: 313-340.
- [5] PATRYK K, EWA S, KRZYSZTOF S. MBNL proteins and their target RNAs, interaction and splicing regulation[J]. Nucleic Acids Research, 2014, 42(17): 10873-10887.
- [6] FONT J, MACKAY J P. Beyond DNA: zinc finger domains as RNA-binding modules[J]. Methods in Molecular Biology, 2010, 649: 479-491.
- [7] SAKAMOTO H, ARAKI T, MESHU T, IWABUCHI M. Expression of a subset of the *Arabidopsis* Cys 2 / His 2 -type zinc-finger protein gene family under water stress[J]. Gene, 2000, 248(1): 23-32.
- [8] TAKATSUJI H. Zinc-finger transcription factors in plants[J]. Cellular and Molecular Life Sciences, 1998, 54(6): 582-596.
- [9] TAKATSUJI H, MORI M, BENFEY P N, REN L, CHUA N H. Characterization of a zinc finger DNA-binding protein expressed specifically in petunia petals and seedlings[J]. EMBO Journal, 1992, 11(1): 241-249.

- [10] ENGLBRECHT C C, SCHOOF H, BOHM S. Conservation, diversification and expansion of C2H2 zinc finger proteins in the *Arabidopsis thaliana* genome[J]. BMC Genomics, 2004, 5(1): 39.
- [11] AGARWAL P, ARORA R, RAY S, SINGH A K, SINGH V P. Genome-wide identification of C2H2 zinc-finger gene family in rice and their phylogeny and expression analysis[J]. Plant Molecular Biology, 2007, 65(4): 467-485.
- [12] LIU Q G, WANG Z C, XU X M, ZHANG H Z, LI C H. Genome-wide analysis of C2H2 zinc-finger family transcription factors and their responses to abiotic stresses in poplar (*Populus trichocarpa*)[J]. PLoS One, 2015, 10(8): e0134753.
- [13] 杨明磊, 晁江涛, 王大伟, 胡军华, 吴华, 龚达平, 刘贯山. 烟草 C2H2 锌指蛋白转录因子家族成员的鉴定与表达分析[J]. 遗传, 2016, 38(4): 337-349.
- YANG M L, CHAO J T, WANG D W, HU J H, WU H, GONG D P, LIU G S. Genome-wide identification and expression profiling of the C2H2-type zinc finger protein transcription factor family in tobacco[J]. Hereditas, 2016, 38(4): 337-349. (in Chinese)
- [14] FARAJI S, RASOULI S H, KAZEMITABAR S K. Genome-wide exploration of C2H2 zinc finger family in durum wheat (*Triticum turgidum* ssp. Durum): insights into the roles in biological processes especially stress response[J]. BioMetals, 2018, 31(6): 1019-1042.
- [15] 胡军华, 王大伟, 杨明磊, 王新, 朱海, 朱佩, 刘贯山. 番茄 C2H2 型锌指蛋白的鉴定及生物信息学分析[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(12): 23-27. (in Chinese)
- HU J H, WANG D W, YANG M L, WANG X, ZHU H, ZHU P, LIU G S. Identification and bioinformatics analysis of the C2H2-zinc finger protein in tomato[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2018, 46(12): 23-27.
- [16] 井建玲, 张鹏, 王振宇, 马秋香. 木薯 C2H2 型锌指蛋白转录因子家族全基因组鉴定及表达分析[J]. 植物生理学报, 2020, 56(12): 2664-2676.
- JING J L, ZHANG P, WANG Z Y, MA Q X. Genome-wide identification and expression analysis of the C2H2-type zinc finger protein transcription factor family in cassava[J]. Plant Physiology Journal, 2020, 56(12): 2664-2676. (in Chinese)
- [17] LIU Z, COULTER J A, LI Y M, ZHANG X J, MENG J G, ZHANG J L, LIU Y H. Genome-wide identification and analysis of the Q-type C2H2 gene family in potato (*Solanum tuberosum* L.)[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 153: 327-340.
- [18] 刘美琦, 孙伟, 孟祥霄, 万会花, 刘廷霞, 孙嘉莹, 王震, 米要磊, 马伟. 药用植物大麻 C2H2 基因家族鉴定与表达分析[J]. 药学报, 2021, 56(5): 1486-1496.
- LIU M Q, SUN W, MENG X X, WAN H H, LIU T X, SUN J Y, WANG Z, MI Y L, MA W. Identification and expression analysis of the C2H2 gene family in *Cannabis sativa* L.[J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 2021, 56(5): 1486-1496. (in Chinese)
- [19] VOGEL J T, ZARKA D G, VAN B H A, FOWLER S G, THOMASHOW M F. Roles of the CBF2 and ZAT12 transcription factors in configuring the low temperature transcriptome of *Arabidopsis*[J]. The Plant Journal, 2005, 41(2): 195-211.
- [20] ZHANG X, GUO X P, LEI C L, CHENG Z J, LIN Q B, WANG J L, WU F Q, WANG J, WAN J M. Overexpression of *SICZFP1*, a novel TFIIIA-type zinc finger protein from tomato, confers enhanced cold tolerance in transgenic *Arabidopsis* and rice[J]. Plant Molecular Biology Reporter, 2011, 29(1): 185-196.
- [21] LIU D C, YANG L, LUO M, WU Q, LIU S B, LIU Y. Molecular cloning and characterization of *PtrZPT2-1*, a *ZPT2* family gene encoding a Cys2/His2-type zinc finger protein from trifoliate orange [*Poncirus trifoliata* (L.) Raf.] that enhances plant tolerance to multiple abiotic stresses[J]. Plant Science, 2017, 263: 66-78.
- [22] KIM J C, LEE S H, CHEONG Y H, YOO C M, LEE S I, CHUN H J, YUN D J, HONG J C, LEE S Y, LIM C O, CHO M J. A novel cold-inducible zinc finger protein from soybean, *SCOF-1*, enhances cold tolerance in transgenic plants[J]. The Plant Journal, 2001, 25(3): 247-259.
- [23] DER K A, POECKE R, VORST, VOOGT, LEEUWEN W, BORST V, TAKATSUJI, DER P L H. Developmental and wound-, cold-, desiccation-, ultraviolet-B-stress-induced modulations in the expression of the petunia zinc finger transcription factor gene *ZPT2-2*[J]. Plant Physiology, 1999, 121(4): 1153-1162.
- [24] TYAGI A K, MUKHOPADHYAY A, VIJ S. Enhanced tolerance to abiotic stress in transgenic tobacco by overexpression of a zinc-finger protein gene from rice[J]. Science, 2004, 101: 6309-6314.
- [25] 黄骥. 水稻非生物胁迫相关锌指蛋白基因的克隆与功能分析[D]. 南京: 南京农业大学, 2005.
- HUANG J. Cloning and functional analysis of abiotic stress-related zinc finger protein genes from rice (*Oryza sativa* L.)[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2005. (in Chinese)
- [26] 黄凯. 水稻 C2H2 型转录因子 *OsZFP151* 在低温胁迫中的功能研究[D]. 长春: 吉林大学, 2017.
- HUANG K. Function analysis of C2H2 transcription factor *OsZFP151* in rice (*Oryza sativa* L.) under low temperature stress[D]. Changchun: Jilin university, 2017. (in Chinese)
- [27] CORLEY. The oil palm, Fourth edition[M]. Oxford:

- Blackwell Science Ltd., 2003: 50-70.
- [28] 中国热带农业科学院, 华南热带农业大学. 中国热带作物栽培学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998.
Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, South China University of Tropical Agriculture. China tropical crop cultivation[M]. Beijing: China Agriculture Press, 1998. (in Chinese)
- [29] 曾宪海, 张希财, 邹积鑫. 中国热带北缘油棕种植生产潜力研究[M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2015.
ZENG X H, ZHANG X C, ZOU J X. Study on the production potential of oil palm planting in the northern margin of tropical China[M]. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2015. (in Chinese)
- [30] 申文斌, 王龙, 杨蕊, 张昌天, 高瑞. 大理地区极端气候事件长期变化特征研究[J]. 人民珠江, 2018, 39(7): 45-50.
SHEN W B, WANG L, YANG R, ZHANG C T, GAO R. Study on the long-term change of extreme climate events in Dali Area[J]. Pearl River, 2018, 39(7): 45-50. (in Chinese)
- [31] 程秋如, 刘子凡, 曾宪海, 曾精, 杨宗明. 云南大理油棕自交子一代对低温胁迫的生理响应及抗寒性评价[J]. 热带作物学报, 2022, 43(2): 328-336.
CHENG Q R, LIU Z F, ZENG X H, ZENG J, YANG Z M. Physiological response under low temperature stress and evaluation on cold tolerance in inbreeding F1 group of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) in Dali, Yunnan province[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2022, 43(2): 328-336. (in Chinese)
- [32] CHEN C, CHEN H, ZHANG Y, THOMAS H R, FRANK M H, HE Y, XIA R. TBtools: an integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data[J]. Molecular Plant, 2020, 13(8): 1194-1202.
- [33] 陈红. 油棕长链脂肪酰基 CoA 合成酶(LACS)基因克隆及功能分析[D]. 海口: 海南大学, 2018.
CHEN H. Cloning and functional characterization of long-chain acyl-CoA synthase 1 and long-chain acyl-CoA synthase 9 from the mesocarp of African oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.)[D]. Haikou: Hainan University, 2018. (in Chinese)
- [34] MUKHOPADHYAY A, VIJ S, TYAGI A K. Overexpression of a zinc-finger protein gene from rice confers tolerance to cold, dehydration, and salt stress in transgenic tobacco[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2004, 101(16): 6309-6314.
- [35] SHOJI S, HIRONORI K, ZBIGNIEW R, RRAFAEL C, JULIO S, KYOKO M, MASARU O T, HIROSHI T. Stress-responsive zinc finger gene *ZPT2-3* plays a role in drought tolerance in petunia[J]. The Plant Journal, 2003, 36(6): 830-841.
- [36] CHUNG B Y, SIMONS C, FIRTH A E, BROWN C, HELLENS R. Effect of 5'UTR introns on gene expression in *Arabidopsis thaliana*[J]. BMC Genomics, 2006, 7: 120.
- [37] MUTHAMILARASAN M, BONTHALA V S, MISHRA A K, KHANDELWAL R, KHAN Y, ROY R, PRASAD M. C2H2 type of zinc finger transcription factors in foxtail millet define response to abiotic stresses[J]. Functional & Integrative Genomics, 2014, 14(3): 531-543.