

# 玉米 MYB 转录因子靶基因的全基因组预测及验证

张晓芳,于好强,罗 羲,张于福,李晚忱,付凤玲

(四川农业大学玉米研究所/农业部西南玉米生物学与遗传育种重点实验室,四川 成都 611130)

**摘要:**MYB 转录因子参与调控植物的生长发育及逆境应答过程。为预测 MYB 靶基因,本研究将 HexDIFF 算法与支持向量机结合,根据已验证的 MYB 识别位点的核心序列及其侧翼序列构建分类模型,在玉米全基因组范围内预测 MYB 靶基因及其启动子。结果表明,共预测到 435 个 MYB 结合位点,其下游的 424 个基因判定为 MYB 靶基因,涉及众多生长发育过程。为验证预测结果,经凝胶迁移实验检测玉米 MYB-IF25 蛋白与 30 个预测位点的体外结合,结果有 27 个预测位点可以与 MYB-IF25 蛋白互作。GUS 瞬时表达实验表明,渗透胁迫下,预测的 MYB 逆境相关靶基因启动子能够启动 GUS 基因表达,说明其具有启动活性。以上结果证明,此预测方法可靠性高,可为预测转录因子靶基因提供借鉴。

**关键词:**基因组;玉米;MYB 转录因子;支持向量机;靶基因

**中图分类号:**S513.035 **文献标志码:**A

## Genome-wide prediction and verification for target genes of MYB transcription factor in maize

ZHANG Xiao-fang, YU Hao-qiang, LUO Xi, ZHANG Yu-fu, LI Wan-chen, FU Feng-ling

(Maize Research Institute of Sichuan Agricultural University / Key Laboratory of Maize Biology and Genetic Breeding in Southwest, Ministry of Agriculture, Chengdu, Sichuan 611130, Sichuan)

**Abstract:** The MYB transcription factor are involved in the regulation of plant growth, and stress response. To predict the MYB target genes and their promoters within the whole genome of maize., the HexDIFF algorithm was combined with support vector machines to construct a classification model based on the verified core sequences of MYB recognition sites and their flanking sequences. The results showed that a total of 435 MYB binding sites were obtained and 424 genes downstream of them were identified as MYB target genes, involving in various growth and development processes. To verify the prediction results, the electrophoretic mobility shift assay was performed to detect the combination between maize MYB-IF25 protein and 30 predicted binding sites. As a result, 27 binding sites could interact with MYB-IF25 protein. GUS transient expression showed that the promoters of predicted MYB stress-related target genes could initiate the GUS gene expression, indicating that these promoters possessed driving activity. The above results prove that the prediction method has high reliability and can provide a reference for predicting the target gene of transcription factor.

**Keywords:** genome; maize; MYB transcription factor; support vector machine; target gene

转录因子对靶基因启动子结合位点的识别与结合,是基因表达调控最关键的环节,也是功能基因组学分析的重要内容<sup>[1,2]</sup>。以往通过酵母单杂交、染色质免疫共沉淀(ChIP)、逆转录 PCR(RT-PCR)、基因表达芯片等实验手段筛选转录因子特异

识别的启动子,鉴别其靶基因,准确性不高,效率低。随着生物信息学数据的积累,结合机器学习等智能计算技术的应用,根据转录因子结合位点以及转录因子与其靶基因表达模式的相关性,已开发出一些预测转录因子靶基因的生物信息学软件<sup>[3-5]</sup>。

MYB 是人类成髓细胞瘤 (MYB) 转录因子家族的植物直系同源蛋白, 根据其包含 MYB 重复结构的个数分为不同亚家族。在植物中, 大部分 MYB 转录因子均包含 R2 和 R3 两个 MYB 重复结构, 因此划分为 R2R3 - MYB 亚家族, 调控植物众多生长发育及逆境应答相关基因的表达<sup>[6-12]</sup>。玉米中已克隆的 R2R3 - MYB 亚家族基因有 *C1*、*P1*、*MYB - IF25*、*MYB - IF35* 等, 都与逆境应答有关<sup>[11-12]</sup>。但是, 对于该亚家族更多 MYB 转录因子的靶基因及调控机制, 却鲜有报道<sup>[13]</sup>。R2R3 - MYB 亚家族转录因子识别启动子的核心序列为 TAACTG, 其中第三个碱基 A 具有高度保守性, 在 MYB 识别靶基因中起关键作用。但是, 启动子具有此核心序列的基因并不全是 R2R3 - MYB 转录因子调控的靶基因。

为了鉴定更多 R2R3 - MYB 转录因子调控的靶基因, 进一步研究其在玉米逆境应答及生长发育过程中的功能, 本研究根据 MYB 识别序列的核心序列及其侧翼序列, 结合运用 HexDIFF 算法和支持向量机 (SVM) 构建分类模型, 在玉米全基因组范围内对 MYB 转录因子的靶基因进行预测, 根据功能注释分析其可能的生物学功能。以电泳迁移率实验 (EMSA) 在体外验证 MYB 转录因子与预测序列的结合, 并在玉米愈伤组织中瞬时表达检测预测的 MYB 靶基因启动子的活性。

## 1 材料和方法

### 1.1 模体框数据集构建

综合运用加州大学圣克鲁兹分校开发的基因组浏览器 UCSC Genome Browser (<http://genome.ucsc.edu/>)、真核启动子数据库 EPD (<http://www.epd.isb-sib.ch/>)、转录因子数据库 TFD (<http://www.ifti.org/>)、转录调控区数据库 TRRD (<http://www.mgs.bionet.nsc.ru/mgs/gnw/trrd>)、真核转录因子基因组结合位点和 DNA 结合谱数据库 TransFac (<http://www.gene-regulation.com/>)、转录因子与 DNA 结合位点模体数据库 Jaspar ([http://jaspar.cgb.ki.se/cgi-bin/jaspar\\_db.pl](http://jaspar.cgb.ki.se/cgi-bin/jaspar_db.pl))、转录起始位点数据库 dbTSS (<http://dbtss.hgc.jp/>)、植物顺式作用调控元件及启动子序列分析数据库 PlantCare (<http://oberon.fvms.ugent.be:8080/PlantCARE/index.html>)、植物顺式调控 DNA 元件中的基序数据库 PLACE (<http://www.dna.affrc.go.jp/htdocs/PLACE/>)、植物启动子数据库 PlantPromDB ([\[ac.uk/mendel.php?topic=plantprom\]\(http://mendel.cs.rhul.ac.uk/mendel.php?topic=plantprom\)\)、美国国立生物技术信息中心文献数据库 PubMed \(\[www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed\]\(http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed\)\) 等数据库, 搜索经酵母单杂交、ChIP、RT-PCR、基因表达芯片等技术筛选鉴定的植物 R2R3 - MYB 转录因子的靶基因。用 PERL 语言编写脚本, 分别从拟南芥资源网 \(\[www.arabidopsis.com\]\(http://www.arabidopsis.com\)\)、禾本科资源网 \(\[www.gramene.org\]\(http://www.gramene.org\)\) 和玉米基因组数据库 \(\[www.maizesequence.org\]\(http://www.maizesequence.org\)\) 下载转录起始位点上游 2000 bp 序列, 用启动子预测软件 Promoter 2.0 \(<http://www.cbs.dtu.dk/services/Promoter/>\) 预测其中的启动子序列, 分别构建 Arab + oryza\\_promoter 和 Zea\\_promoter 数据库, 从中截取已验证 MYB 转录因子结合位点核心序列 TAACTG 及其两侧各 100 bp 的序列, 构建阳性模体框数据集 \(Positive motif frame data\)。从 Arab + oryza\\_promoter 数据库中, 检索已验证 MYB 转录因子以外但具有核心序列 TAACTG 的序列, 截取其两侧共 206 bp 序列, 构建阴性模体框数据集 \(Negative motif frame data\); 以 TAACTG 核心六聚体为中心, 在两侧以 A、T、C、G 四种核苷酸为元素随机函数生成 100 bp 的序列, 构建随机模体框数据集 \(Random motif frame data\); 再从 Zea\\_promoter 数据库中, 检索核心序列 TAACTG, 截取其两侧共 206 bp 序列, 构建待测模体框数据集 \(Test motif frame data\)。前 3 个数据集又合称为训练模体框数据集 \(Train motif frame data\)。](http://mendel.cs.rhul.</a></p>
</div>
<div data-bbox=)

### 1.2 玉米 MYB 转录因子识别启动子预测

用 PERL 语言编写脚本, 在上述各模体框数据集序列中截取所有可能的 6 bp 六聚体, 用 HexDIFF 算法分别计算其在阳性模体框数据集、阴性模体框数据集和随机模体框数据集中出现的频率  $R(h)$ <sup>[14]</sup>:

$$R(h) = \frac{F_p(h)}{F_n(h)}$$

参照 Huang 等介绍的方法<sup>[16]</sup>, 将阳性模体框数据集、阴性模体框数据集和随机模体框数据集中所有可能六聚体的出现频率, 用智能计算的 SVM, 综合使用线性和非线性方法分类。将训练模体框数据集和待测模体框数据集归一化处理, 在一定的保证概率预测待测模体框数据集中 R2R3 - MYB 转录因子识别的核心序列 TAACTG 及侧翼序列, 用 WEBLOGO 软件 (<http://weblogo.berkeley.edu/logo.cgi>) 在线生成模体框碱基频率图<sup>[17]</sup>。

### 1.3 基因功能富集分析

用禾本科资源网 (<http://www.gramene.org>) 的

GmeneMART 在线软件,选择 Ensembl Gene ID 过滤器,从 Plant Genes 的 *Zea mays* genes (AGPv2) 数据库,导出所预测 MYB 转录因子靶基因的功能注释。再将导出的靶基因功能注释 (GO) 导入 AgriGO 在线软件的 Singular Enrichment Analysis (SEA) 工具<sup>[18]</sup>,选择玉米基因组 *Zea mays* AGPv2 作背景,以 0.05 显著水平、Fisher 统计测试算法提交数据,得到靶基因的功能富集分析结果。

#### 1.4 凝胶迁移率检测

从玉米模式自交系 B73 的 cDNA 样品扩增 R2R3 - MYB 转录因子基因 *ZmMYB - IF25* 的开放阅读框序列,经 DNAsworks 在线软件 (<https://omic-tools.com/dnaworks-tool>) 对密码子偏好性优化后,构建原核表达载体 pET-21a(+)-*ZmMYB-IF25*,转化大肠杆菌 BL21 菌株,在 0.4 mmol/L 异丙基- $\beta$ -D-硫代半乳糖苷 (Isopropyl -  $\beta$  - D - thiogalactoside, IPTG) 诱导下,37 $^{\circ}$ C 240 r/min 培养 3 h,用 12% 十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳 (Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS - PAGE) 进行表达检测后,装柱洗脱,分离纯化 MYB - IF25 蛋白。

随机选取 30 条预测模体框序列 (表 1),生工生物工程 (上海) 股份有限公司合成,以已验证的玉米靶基因 *Bz1* 和 *Bz2* 启动子 MYB 核心序列 TAACTG 及两侧各 106 bp 序列为阳性对照,用地高辛标记后与纯化的 *ZmMYB - IF25* 蛋白在 5 $\times$ EMSA 结合缓冲液中混合,以 2 倍浓度的未标记双链探针为冷竞争结合对照,室温保持 20 min 上样,进行连续非变形聚丙烯酰胺凝胶电泳,转膜和紫外交联后化学发光并成像,根据显色条带的迁移率鉴别 MYB - IF25 蛋白与预测模体框序列的结合。

#### 1.5 瞬时表达验证

从体外验证的预测模体框序列中随机选取 4 条,扩增其全长启动子序列,构建成启动  $\beta$ -葡萄糖苷酸酶 ( $\beta$  - glucuronidase) 基因 GUS 的瞬时表达载体 pBI221 - *pCandidate - GUS*,混合 1/3 荧光素酶 (Luciferase) 基因 *LUC* 表达载体 pUbi - *LUC* 为内参,用 DuPont PDS1000/He 型基因枪 (Bio - Rad, USA),在 1100 psi 系统压力和 25 mm 汞柱真空度下,转化玉米胚性愈伤组织。每个处理重复 3 次,每次重复转化 15 块大小、形状和质地基本一致的愈伤组织。转化后在 8% 甘露醇高渗培养基上 27 $^{\circ}$ C 黑暗培养 24 h,GUS 组织化学染色后在解剖镜下观察拍

照蓝色斑点。剩余愈伤组织用荧光素酶检测试剂盒 (Promega, 上海) 显色后,用 Fluoroskan Ascent FL 型荧光/化学发光微孔检测仪 (天齐生物科技有限公司,上海),检测高渗胁迫 0 (对照) 和 24 h 的 GUS 与 LUC 荧光强度比值 GUS/LUC,对预测靶序列响应高渗胁迫的体内启动活性进行相对定量。

表 1 随机选取的预测模体框序列

Table 1 Randomly selected predicted motif frame sequences

编号 No.	基因 ID Gene ID	预测结合位点 Predicted binding site
1	GRMZM2G016241	-2048
2	GRMZM2G165433	-2032
3	GRMZM2G113640	-1702
4	GRMZM2G086773	-644
5	GRMZM2G086773	-1473
6	GRMZM2G007708	-1005
7	GRMZM2G118646	-1328
8	GRMZM2G044829	-2892
9	GRMZM2G046065	-1182
10	GRMZM2G038622	-2312
11	GRMZM2G114459	-2892
12	GRMZM2G137596	-2154
13	GRMZM2G162274	-1178
14	GRMZM2G359559	-2338
15	GRMZM2G440925	-2748
16	GRMZM2G578411	-1026
17	GRMZM2G703598	-1709
18	GRMZM2G087719	-2585
19	GRMZM2G115698	-984
20	GRMZM5G859220	-2187
21	GRMZM5G859220	-1514
22	GRMZM2G075488	-1343
23	GRMZM2G145480	-103
24	GRMZM2G117755	-852
25	GRMZM2G078641	-1754
26	GRMZM2G419085	-2766
27	GRMZM2G168552	-2043
28	GRMZM2G062527	-2340
29	GRMZM2G310161	-473
30	GRMZM2G430675	-1774

## 2 结果与分析

### 2.1 玉米 MYB 靶基因及启动子结合位点

当 SVM 参数  $C=2$ ,  $\gamma=0.03125$  时,以 98.38% 的保证概率,从 *Zea\_promoter* 数据库 136770 条序列中,预测到 435 个 MYB 转录因子结合位点,对应下游 424 个靶基因。其中,*Bz1* (GRMZM2G165390) 和 *Bz2* (GRMZM2G016241) 是已验证的 MYB 转录因子靶基因<sup>[19]</sup>。与玉米基因组序列比对结果,绝大部分预测靶基因随机分布于全部 10 个玉米染色体上,没

有染色体偏好,但有的区段有集中分部情况,没有分布于线粒体和叶绿体基因组,极少部分预测靶基因不能与基因组序列匹配(图 1)。

预测靶基因启动子 MYB 识别位点及其侧翼序列的碱基频率与已知 MYB 靶基因相似,具有高度保守性,但距离核心序列较远的碱基存在一定的变异(图 2)。这既与物种差异有关,也可能是同一物种基因间的差异。

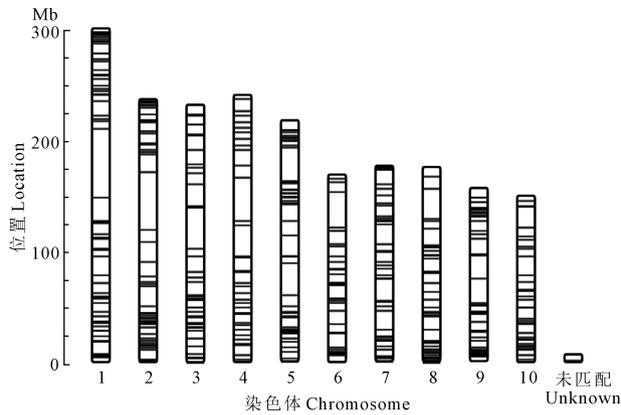


图 1 预测 MYB 靶基因在玉米染色体上的分布

Fig.1 Distribution of predicted MYB targeted genes on the maize chromosomes

## 2.2 玉米 MYB 靶基因的生物學功能

用 GrameneMART 软件从 Plant Genes 的 *Zea mays* genes (AGPv2) 数据库中共搜索到 229 个预测 MYB 靶基因的功能注释共计 1471 条。其中,45 个 (19.7%) 基因涉及刺激响应 (GO:0050896),33 个 (14.4%) 基因介导逆境应答 (GO:0006950),10 个 (4.3%) 基因与再生过程 (GO:0000003) 相关,10 个 (4.3%) 基因参与发育过程 (GO:0032502)。以细胞组分类分析发现,93 个 (40.6%) 基因编码蛋白定位于细胞内 (GO:0005622),12 个 (5.2%) 基因编码蛋白定位于细胞外 (GO:0005576)。

## 2.3 MYB 转录因子与预测靶基因启动子序列的体外结合

EMSA 结果表明,随机选取的 30 条预测模体框序列中,除基因 ID 为 GRMZM2G086773、GRMZM2G137596 和 GRMZM2G087719 的 3 个基因的预测模体框序列以外(表 1),其余 27 条 (90%) 预测模体框序列均可在体外与 MYB-IF25 蛋白结合,电泳迁移条带滞后(图 3),表明本研究所用的转录因子全基因组预测方法具有较高的可靠性。

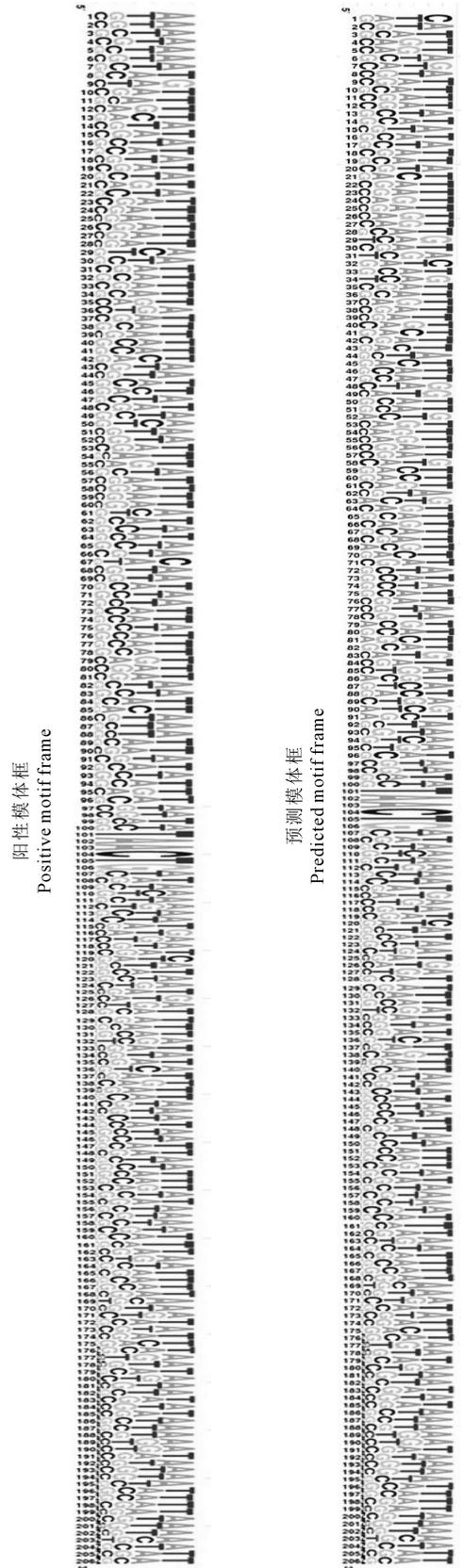
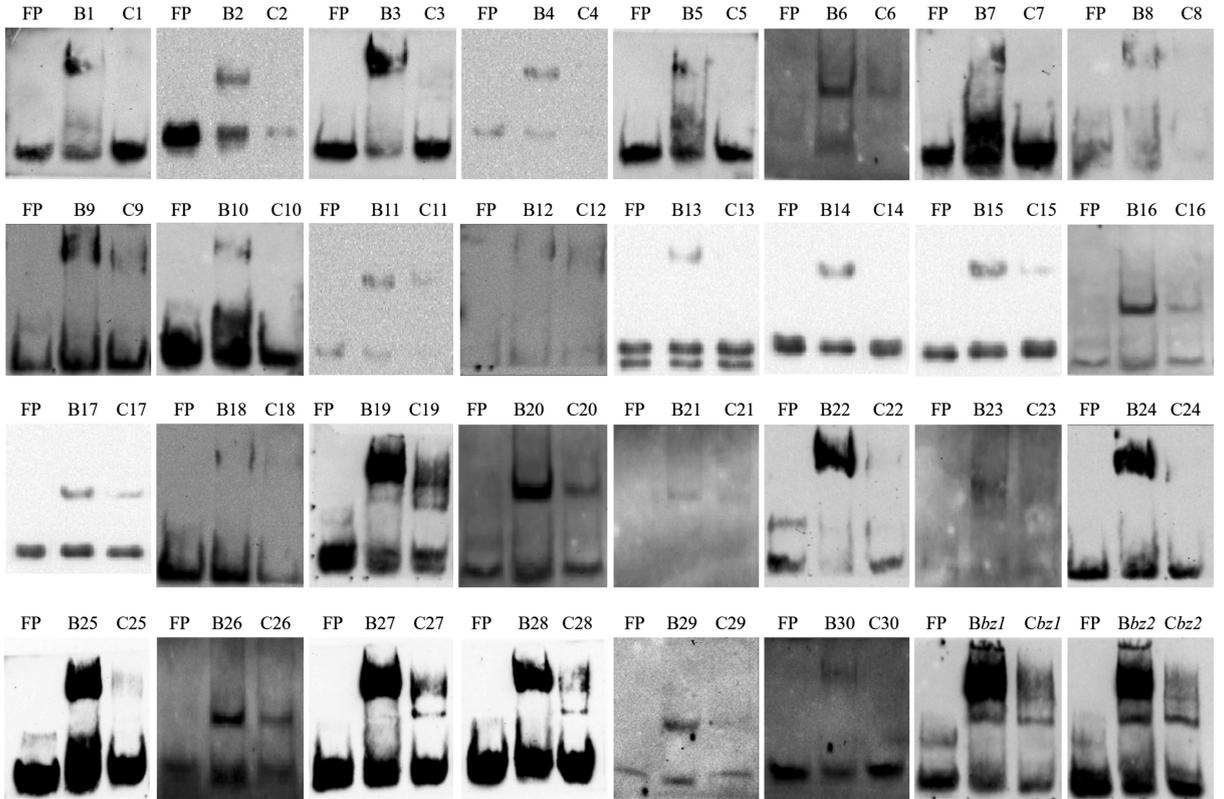


图 2 MYB 靶基因核心及侧翼序列碱基频率  
Fig.2 Base frequency during core and flanking sequences of MYB targeted genes



FP: 无 MYB-IF25 蛋白结合的自由探针; B: MYB-IF25 蛋白与地高辛标记预测模体框序列结合; C: MYB-IF25 蛋白与未标记预测模体框序列结合(冷竞争结合); 1~30: 随机选取的 30 条预测模体框序列; *bz1* 和 *bz2*: *Bz1* 和 *Bz2* 基因核心序列 TAACTG 及两侧 106 bp 序列(阳性对照)。

FP: free probes without the MYB-IF25 protein combination; B: the predicted motif frame sequences marked with gadoxin and combining to the MYB-IF25 protein; C: the predicted motif frame sequences unmarked but combining to the MYB-IF25 protein (cold target competition); 1~30: randomly selected samples of the predicted motif frame sequences; *bz1* and *bz2*: the core sequence and its 106 bp flanking sequences of the *Bz1* and *Bz2* genes (positive control)。

图 3 ZmMYB-IF25 蛋白与预测模体框序列结合的 EMSA 检测

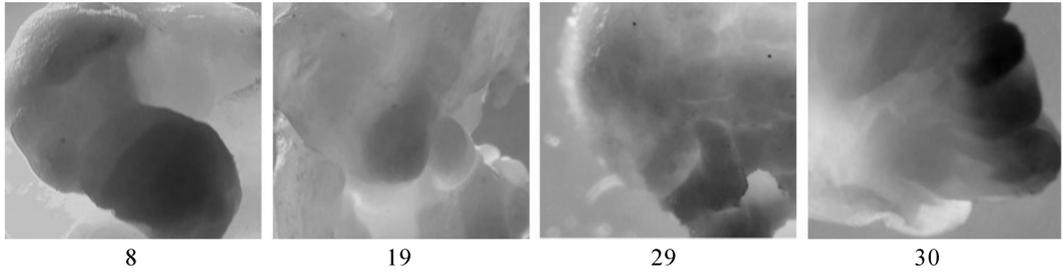
Fig.3 EMSA detection for combination between the ZmMYB-IF25 protein and the predicted motif frame sequences

## 2.4 预测靶基因启动子序列的体内表达活性

从体外验证的 27 条预测模体框序列中随机选取 4 条涉及逆境刺激响应相关靶基因 (GRMZM2G044829、GRMZM2G115698、GRMZM2G310161 和 GRMZM2G430675), 扩增其全长启动子序列, 构建成启动 *GUS* 基因的瞬时表达载体 pBI221-*pCandidate-GUS*, 基因 F 枪法转化玉米愈伤组织, 8% 甘露醇高渗培养基 27°C 黑暗培养 24 h 后, *GUS* 组织化学染色结果显示, 4 个预测靶基因的启动子均能在玉米愈伤组织内启动 *GUS* 基因的表达, 产生显色反应(图 4)。这 4 个启动子 8% 甘露醇渗透胁迫下启动 *GUS* 表达产生的 *GUS* 荧光强度与 LUC 荧光强度的比值, 均比胁迫前显著增高(图 5), 说明这 4 个靶基因的启动子在玉米细胞内具有启动活性, 且受高渗胁迫诱导。

## 3 结论与讨论

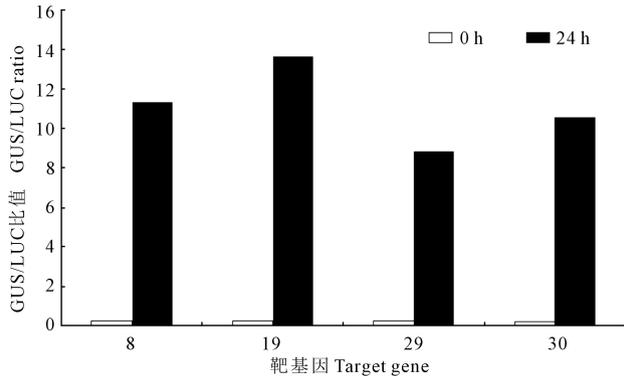
本研究将 HexDIFF 算法与 SVM 结合, 用已知 MYB 结合位点序列建模, 在玉米全基因组范围内预测到 424 个 MYB 靶基因和 435 个 MYB 结合位点(图 1、2), 涉及逆境刺激响应、再生和发育等众多生长发育过程。EMSA 实验表明, 预测的结合位点与玉米 MYB 可相互结合(图 3)。GUS 瞬时表达证实预测得到的 MYB 靶基因启动子具有启动活性(图 4、5), 而且预测的逆境相关靶基因启动子启动报告基因 *GUS*, 在渗透胁迫下的表达量显著提高, 更说明预测的 MYB 靶基因有一部分的功能确与植物抗逆反应相关。以上结果证明本研究预测方法可靠性高, 为预测转录因子靶基因提供借鉴。随着第三代测序技术(尤其是转录组学)的快速发展, 人们必将对玉米 MYB 转录因子进行更为深入的研究, 届时, 玉米 MYB 转录因子参与的生长、发育等调控机制将会被更好地解析。



8; GRMZM2G044829, 19; GRMZM2G115698, 29; GRMZM2G310161, 30; GRMZM2G430675

图 4 MYB 靶基因启动子启动 GUS 基因瞬时表达

Fig.4 Transient expression of the GUS gene under the control of the promoters of the predicted MYB target genes



8; GRMZM2G044829, 19; GRMZM2G115698, 29; GRMZM2G310161, 30; GRMZM2G430675

图 5 MYB 靶基因启动子在高渗胁迫下的启动活性

Fig.5 Promotion activity of the promoters of the predicted MYB targeted genes under osmotic stress

EMSA 体外验证实验发现, 预测结果可能存在 10% 假阳性, 可能的原因是各数据库能够检索到的 MYB 靶基因及其结合位点有限, 构建的阳性模板数据集代表性可能不够全面。随着转录因子靶基因数据量的积累, 本研究方法可能会得到更好的验证。本研究的分析还表明, 核心序列 TAACTG 是 MYB 结合位点的必要条件, 在我们检索的阳性数据和预测的全部玉米 MYB 结合位点中 100% 保守, 但并不是充分条件, MYB 的结合还决定于核心序列的侧翼序列 (图 2)。用 TRANSFAC (<http://gene-regulation.com/pub/databases.html>) 和 JASPAR (<http://jaspar.genereg.net/>) 等软件搜索可发现, TAACTG 序列还存在于 DREB (Dehydration responsive element binding)、NAC (NAM/ATAF1/2/CUC2) 等转录因子的启动子序列中<sup>[20-21]</sup>。这也说明, MYB 对其靶基因的转录调控可能还与 DREB、NAC 等转录因子存在协同关系。

#### 参考文献:

[1] Levine M, Tjian R. Transcription regulation and animal diversity [J]. Nature, 2003, 424(6945):147 - 151.

- [2] Smale T, Kadonaga T. The RNA polymerase II core promoter [J]. Ann Rev Biochem, 2003, 72(72):449 - 479.
- [3] Qian J, Lin J, Luscombe N M, et al. Prediction of regulatory networks: genome-wide identification of transcription factor targets from gene expression data [J]. Bioinformatics, 2003, 19(15): 1917 - 1926.
- [4] Horsman S, Moorhouse M J, de Jager V C, et al. TF Target Mapper: a BLAST search tool for the identification of transcription factor target genes [J]. BMC Bioinformatics, 2006, 7(1):1 - 7.
- [5] Jolly E R, Chin C S, Herskowitz I, et al. Genome-wide identification of the regulatory targets of a transcription factor using biochemical characterization and computational genomic analysis [J]. BMC Bioinformatics, 2005, 6(1):1 - 12.
- [6] Christian D, Ralf S, Erich G, et al. MYB transcription factors in Arabidopsis [J]. Cell, 2010, 15(10):573 - 581.
- [7] Riechmann J L, Ratcliffe O J. A genomic perspective on plant transcription factors [J]. Curr Opin Plant Biol, 2000, 3(5):423 - 434.
- [8] Stracke R, Ishihara H, Hupé G, et al. Differential regulation of closely related R2R3 - MYB transcription factors controls flavonol accumulation in different parts of the Arabidopsis thaliana seedling [J]. Plant J, 2007, 50(4):660 - 677.
- [9] Fornale S, Sonbol F M, Capelletes M, et al. ZmMYB31&ZmMYB42: two maize R2R3 - MYB transcription factors having complementary roles in the lignin and phenylpropanoid metabolism regulation [J]. New Biotechnol, 2009, 25(S): 5279 - 5280.
- [10] Dugassa N F, Solveig M O, Behzad H. Nitrogen depletion and small R3 - MYB transcription factors affecting anthocyanin accumulation in Arabidopsis leaves [J]. Photochemistry, 2014, 98(1):34 - 40.
- [11] Zhao K, Bartley L E. Comparative genomic analysis of the R2R3 MYB secondary cell wall regulators of Arabidopsis, poplar, rice, maize, and switchgrass. BMC Plant Biol, 2014, 14(1):135.
- [12] Du H, Feng B R, Yang S S, et al. The R2R3 - MYB transcription factor gene family in maize [J]. PLoS One, 2012, 7(6):e37463.
- [13] Song S S, Qi T C, Huang H, et al. The jasmonate - ZIM domain proteins interact with the R2R3 - MYB transcription factors

- MYB21 and MYB24 to affect jasmonate-regulated stamen development in *Arabidopsis* [J]. *Plant cell*, 2011, 23 (3): 1000 - 1013.
- [14] Velez-Bermudez I C, Salazar-Henao J E, Fornale S, et al. A MYB/ZML complex regulates wound-induced lignin genes in maize [J]. *Plant Cell*, 2015, 27(11): 3245 - 3259
- [15] Blanchette M, Tompa M. Discovery of regulatory elements by a computational method for phylogenetic footprinting [J]. *Genome Res*, 2002, 12(5): 739 - 748.
- [16] Huang W L, Tung C W, Huang H L, et al. ProLoc: prediction of protein subnuclear localization using SVM with automatic selection from physicochemical composition features [J]. *Biosystems*, 2007, 90(2): 573 - 581.
- [17] Crooks G E, Hon G, Chandonia J M, et al. WebLogo: a sequence logo generator [J]. *Genome Res*, 2004, 14(6): 1188 - 1190.
- [18] Du Z, Zhou X, Ling Y, et al. agriGO: a GO analysis toolkit for the agricultural community [J]. *Nucleic Acid Res*, 2010, 38: W64 - 70.
- [19] Wang Q, Dooner H K. Remarkable variation in maize genome structure inferred from haplotype diversity at the *bz* locus [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(47): 17644 - 17649.
- [20] Matys V, Fricke E, Geffers R, et al. TRANSFAC®: transcriptional regulation, from patterns to profiles [J]. *Nucleic Acid Res*, 2003, 31(1): 374 - 378.
- [21] Bryne J C, Valen E, Tang M H E, et al. JASPAR, the open access database of transcription factor-binding profiles: new content and tools in the 2008 update [J]. *Nucleic Acid Res*, 2008, 36: D102 - D106.

(上接第 43 页)

## 5 结 论

1) 由于垄作沟灌灌溉水是通过横向扩散作用湿润垄体,因此与畦田灌溉不同,采用灌水均匀度、灌溉水利用率、田间储水率三指标评价灌水质量不能客观反映其灌水质量,研究表明,增加垄体湿润度评价指标能更全面反映其灌水质量。

2) 实际应用中为了简化测试工作量,将沟入渗水深采用实测单位湿周入渗量代替,由此通过总入渗量推求垄体入渗深,利用公式计算储水量及灌水质量各评价指标,此方法与实测法相比具有较高精度。

### 参 考 文 献:

- [1] 王旭清,王法宏.小麦垄作栽培技术的肥水效应及光能利用率[J].*山东农业科学*,2002,(4):3-5.
- [2] 王旭清,王法宏,李升东,等.垄作栽培对小麦产量和品质的影响[J].*山东农业科学*,2003(6):15-17.
- [3] 李方红,李援农,侯吉鹰.膜孔沟灌技术要素对灌水质量评价指标的影响[J].*人民黄河*,2007,29(8):50-51.
- [4] 聂卫波,费良军,马孝义.沟灌土壤入渗参数和糙率估算及灌水技术要素组合研究[J].*干旱地区农业研究*,2012,30(1): 49-53.
- [5] 汪顺生,王兴,史尚,等.不同沟灌方式下灌水质量的试验研究[J].*灌溉排水学报*,2013,32(6):68-71.
- [6] 张新民,张吉孝,单于洋.春小麦垄作沟灌水分入渗模拟与灌水沟断面优化[J].*水土保持研究*,2014,21(1):137-141.
- [7] 张新民,张吉孝,单于洋.考虑水分再分布的沟灌水分入渗模拟与春小麦垄作沟灌合理垄宽[J].*干旱地区农业研究*,2014, 32(2):201-205,227.
- [8] 张吉孝,张新民,单于洋,等.春小麦垄沟灌土壤水分入渗数值模拟[J].*干旱区资源与环境*,2014,28(6):165-170.
- [9] 张吉孝.干旱区春小麦垄作沟灌入渗试验研究及数值模拟[D].兰州:甘肃农业大学,2013.
- [10] 王文娟,张新民,金建新,等.干旱区春小麦垄作沟灌技术研究[J].*干旱区资源与环境*,2015,29(2):138-143.
- [11] 王文娟.干旱区春小麦垄作沟灌合理技术参数的研究[D].兰州:甘肃农业大学,2014.
- [12] 金建新.干旱区沟灌水流运动和入渗模型研究及数值模拟[D].兰州:甘肃农业大学,2014.
- [13] 孙克翠,张新民,金建新,等.干旱区春小麦产量对沟垄参数和灌水技术的响应[J].*水土保持研究*,2015,22(6):155-166.
- [14] 孙克翠,张新民,金建新,等.干旱区春小麦灌水质量评价指标研究[J].*干旱地区农业研究*,2016,34(2):252-257.
- [15] 陈丽娟,冯起,王昱,等.民勤绿洲地下水环境动态研究[J].*干旱区资源与环境*,2012,26(7):8-13.