

茄子AP2/ERF转录因子的鉴定及胁迫条件下的表达分析

邵欣欣^{1,2,3}, 李涛^{2,3,*}, 李植良², 宇丽^{4,*}, 黎振兴², 徐小万^{2,3}

¹暨南大学生命科学技术学院, 广州510532; ²广东省农业科学院蔬菜研究所, 广州510640; ³广东省蔬菜新技术研究重点实验室, 广州510640; ⁴暨南大学医学院, 广州510532

摘要: 植物AP2/ERF是一个庞大的转录因子家族, 在植物的生长发育、器官构建及逆境胁迫和激素信号应答中发挥重要作用。本研究在茄子基因组范围内, 利用生物信息学方法对茄子AP2/ERF转录因子家族的成员、分布及结构和功能等进行分析。结果表明, 茄子AP2/ERF家族包含130个蛋白质, 其中AP2、RAV、ERF亚家族分别含有20、2和108个, ERF分为DREB/CBF (41个成员)和ERF (67个成员)两大亚族, 进化分析将二者分为11个小亚族。MEME分析表明其含有20个重要基序, 相同亚族中的ERF成员蛋白序列的氨基酸保守域构成相似, 且各亚族成员的氨基酸保守域组成类似, 表明这些基序的存在对ERF蛋白功能的执行是必需的。利用实时荧光定量PCR对茄子38个ERF基因进行组织表达分析, 结果表明其存在组织表达差异; 胁迫响应分析结果表明, 33个基因受ABA、SA、盐、重金属镉、高温和低温诱导表达, 其中部分基因显著上调或下调表达, 可能参与茄子逆境胁迫条件下的防御应答反应。本研究结果将为茄子AP2/ERF家族基因的深入研究提供依据, 为进一步解析AP2/ERF基因功能奠定基础。

关键词: 茄子; AP2/ERF转录因子; 生物信息学分析; 表达分析; 逆境胁迫

Genome-Wide Identification and Expression Analysis in Oxidative Stress of AP2/ERF Gene Family in Eggplant (*Solanum melongena*)

SHAO Xin-Xin^{1,2,3}, LI Tao^{2,3,*}, LI Zhi-Liang², YU Li^{4,*}, LI Zhen-Xing², XU Xiao-Wan^{2,3}

¹Department of Biotechnology, Jinan University, Guangzhou 510532, China; ²Vegetable Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, China; ³Guangdong Key Laboratory for New Technology Research of Vegetables, Guangzhou 510640, China; ⁴School of Medicine, Jinan University, Guangzhou 510632, China

Abstract: AP2/ERF transcription factors are a huge gene family in plants, and which have a variety of functions involved in developmental, organ formation, stress response, and hormonal signaling. In this study, a comprehensive computational analysis identified 130 AP2/ERF proteins in eggplant (*Solanum melongena*) genome, a complete overview of AP2/ERF transcription factors including chromosome locations, gene structure, phylogeny, conserved motifs and function of proteins is presented. These results showed that, AP2/ERF proteins could be classified into AP2, RAV and ERF based on phylogenetic analysis, and had 20, 2 and 108 member, respectively; 41 and 67 of them belonged to DREB/CBF and ERF gene family. The eggplant AP2/ERF proteins contained 20 important motifs based on MEME analysis, and the amino acids conservative domains of AP2/ERF members' proteins sequence were similar in the same subtribe, and special in different subtribes members, which indicated that these motifs were necessary to the execution of AP2/ERF protein function. Real-time fluorescence quantitative PCR were used to gain insights into the function of 38 *SmERF* genes during various stages of development, some of the AP2/ERF genes was expressed in specific organs. 33 *SmERF* genes showed distinct expression patterns in response to ABA, SA, salt, cadmium chloride, high temperature and cold, the expressions of several genes were significantly up/down regulated, implying that these members might participate in regulating the defense response against abiotic stresses. These results will provide a very useful reference for cloning and functional analysis of ERF genes in eggplant.

Key words: eggplant (*solanum melongena*); AP2/ERF family; bioinformatics; gene expression; oxidative stress

收稿 2015-07-02 修定 2015-09-23

资助 国家自然科学基金(31301776)、广东省对外科技合作项目(2013B050800012)、广东省省级科技计划项目(2014A020208041、2014A020208044、2012A020100006)、广州市科技和信息化局项目(2014J4100094)、国家星火计划项目(2014GA780007)、农业部现代产业体系项目(CARS-25-G-36)、农业科技成果转化资金项目(2013GB2E000361)、广东省科技厅条件建设项目(粤财教[2013] 112号)、广东省农业科学院院长基金项目(201303)和广东省农业科学院蔬菜研究所所长基金(201502)。

* 共同通讯作者(E-mail: tianxing84@163.com, Tel: 020-38469456; E-mail: doctoryuli@126.com)。

AP2/ERF (APETALA2/ethylene-responsive factor)转录因子因含有由60~70个氨基酸组成的AP2/ERF结构域而得名,是一个由众多成员组成的转录因子超家族(莫纪波等2011;张计育等2012;Licausi等2013;谢腾等2014)。Jofuku等1994年首次从拟南芥中分离获得第一个AP2基因,该蛋白含有2个重复的AP2/ERF结构域(Jofuku等1994)。随后Takagi和Shinshi于1995年从烟草中分离出含有保守ERF结构域的乙烯响应元件结构蛋白(Ohme-Takagi和Shinshi 1995)。Kagaya等于1999年从拟南芥中分离了含有1个AP2/ERF结构域和1个B3结构域的*RAV1* (related-to ABI3/VP1)和*RAV2*基因(Kagaya等1999)。国内外学者根据其序列相似性和AP2/ERF结构域的数量,将其分为AP2、RAV和ERF亚家族(Nakano等2006); AP2蛋白含有2个AP2/ERF结构域,在调节植物生长发育过程中起着非常重要的作用(Elliott等1996; Chuck等1998; Boutillier等2002; Aya等2014); RAV家族蛋白含有1个AP2/ERF结构域和1个B3结构域,在乙烯(Alonso等2003)、油菜素内酯(Hu等2004)、生物和非生物胁迫响应(Sohn等2006; Licausi等2013)过程中发挥重要作用; ERF家族包含1个AP2/ERF结构域,根据AP2/ERF结构域的第14和19位氨基酸残基的差异,将其分为DREB/CBF (dehydration response element-binding protein/C-repeat binding factor)和ERF亚家族(Sakuma等2002); DREB/CBF亚家族第14和19位分别是缬氨酸和谷氨酸,其成员可以识别干旱和冷诱导响应原件,在植物抵抗非生物胁迫过程中具有重要作用(Yamaguchi-Shinozaki和Shinozaki 1994; Thomashow 1999); ERF亚家族第14和19为丙氨酸和天冬氨酸,其成员可以识别GCC盒,在植物抵抗生物胁迫过程中发挥重要作用(Hao等1998)。

近年来,随着许多物种基因组测序计划的完成,在模式植物如拟南芥(Sakuma等2002; Nakano等2006)、水稻(Nakano等2006; Rashid等2012)、大豆(Zhang等2008a)、玉米(Zhou等2012; Du等2014)、杨树(Zhuang等2008)、柳树(Rao等2015)、巨桉(Cao等2015)、高粱(Yan等2013)、葡萄(Zhuang等2009)、苹果(Girardi等2013)、桃(Zhang等2012)、梅花(Du等2013)、棉花(Meng等2009)、

马铃薯(Charfeddine等2015)、番茄(Sharma等2010)、胡萝卜(黄蔚等2014; Li等2015)、黄瓜(Hu和Liu 2011)、甜瓜(Ma等2014)、大白菜(Li等2013; Song等2013)、芜菁(Liu等2013; Thamilarasan等2014)、百脉根(Sun等2014)等植物中发现AP2/ERF家族。AP2/ERF家族在模式植物拟南芥和水稻中分别含有145和157个成员,研究发现其主要参与植物生长、花发育、果实发育、种子发育、损伤、病菌防御、高盐、干旱、高温和低温等环境胁迫响应等(莫纪波等2011;张计育等2012;谢腾等2014)。

在茄果类植物研究方面,Sharma等(2010)利用EST (expressed sequence tag, 表达序列标签)数据库检索发现番茄中含有85个ERF基因,主要参与果实发育和低温等氧化胁迫过程;随着基因组测序工作的完成,在番茄和辣椒基因组发现有168和123个AP2/ERF成员(Kim等2014); Charfeddine等(2015)在马铃薯中发现有155个AP2/ERF基因并利用半定量PCR对其组织表达和胁迫诱导响应开展表达分析。在茄果类AP2/ERF家族成员基因功能研究方面,在烟草中过量表达番茄*JERF1*能够提高耐盐和抗低温能力(Zhang等2004; Wu等2007),过量表达番茄*JERF3*提高对干旱、低温、高盐和渗透压的耐受能力(Wang等2004; Wu等2008; Zhang等2010),过量表达番茄*TERF1*基因可提高对干旱和高盐的耐受能力(Huang等2004; Zhang等2005; Gao等2008);番茄和烟草中过表达番茄*TERF2/LeERF2*基因增强抗冻害的耐受力(Zhang和Huang 2010; Tian等2011);在水稻中过量表达番茄*TSRF1*基因可增强其对高渗透压和干旱的耐受程度(Quan等2010; Zhang等2008b)。国内外学者研究发现AP2/ERF家族抗病方面具有重要作用(Gutterson和Reuber 2004),如:烟草*Tsil1*基因和辣椒*CaERFLP1*基因过量表达增强了烟草对细菌性斑点病抗病性(Park等2001; Lee等2004),烟草*NiERF5*过量表达提高对烟草花叶病毒的抗病性(Fischer和Droge-Laser 2004),水稻和烟草中过量表达番茄*OPBP1*基因增强对烟草疫病、水稻稻瘟病和纹枯病的抗性(Guo等2004; Chen和Guo 2008);拟南芥中过量表达番茄*Pti4*基因可提高对白粉病和细菌性斑点病的抗病能力(Gu等2002; Chakravarthy等2003);过量表达番茄

*SIERF3ΔRD*促进PR基因如*PR1*、*PR2*和*PR5*的表达,且显著提高对青枯病的抗性(Pan等2010);Li等(2011)研究发现,番茄中过量表达*AtCBF1*转基因株系,通过RAV转录因子、ERF家族基因以及致病相关基因(*PR*)持续表达,显著提高对青枯病的抗性,进一步研究发现*SIERF5*可能通过调节*SIRAV*基因的表达来调控*AtCBF1*和*PR*基因的表达,从而导致抗病性的增加。Lai等(2013, 2014)通过在烟草中过量表达大白菜*BrERF11*和辣椒*CaERF5*均显著提高了对青枯病的抗性,该基因主要通过水杨酸(salicylic acid, SA)、茉莉酸(jasmonic acid, JA)、乙烯(ethylene, ETH)途径介导了抗病基因的表达。

茄子是重要的蔬菜作物之一(李涛等2014)。随着茄果类基因组测序计划的完成(Potato Genome Sequencing Consortium 2011; The Tomato Genome Consortium 2012; Kim等2014; Hirakawa等2014),国内外学者在基因组水平对茄果类重要基因家族及重要功能基因的分析 and 分子标记的开发成为可能(苏慧慧等2015),为功能基因组学提供重要的研究数据。鉴于AP2/ERF家族的重要功能,本研究利用生物信息学方法对茄子AP2/ERF转录因子家族基因进行预测、挖掘及表达分析,为茄子AP2/ERF家族的功能分析提供基础信息,从而为分子植物育种提供候选基因。

材料与方法

1 植物材料及处理

挑选饱满的茄子(*Solanum melongena* L.)种子(品种‘农丰长茄’)(黎振兴等2013),10%次氯酸钠消毒20 min,无菌水冲洗干净,播种于1/2MS固体培养基中,而后放置于光照培养箱中培养(白天16 h, 28 °C;晚上8 h, 25 °C),待茄子植株长至四叶阶段时对植株进行胁迫处理。处理方法分为:在1/2MS培养基的基础上开展胁迫处理和激素处理,即将灭菌后的液体培养基中置入不同环境或加入不同试剂。胁迫处理包括42 °C高温处理,4 °C低温处理,NaCl处理(浓度为200 mmol·L⁻¹);CdCl₂处理(浓度为100 μmol·L⁻¹)。激素胁迫包括ABA(100 μmol·L⁻¹)和SA(5 mmol·L⁻¹);对处理过的植株分别进行0、1、2、8 h的取样,3次生物学重复。取样后立即置于液氮中,-80 °C保存。

2 茄子ERF基因家族序列检索和鉴定

根据拟南芥[*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh]和番茄(*Solanum melongena* L.)中已经鉴定出来的AP2/ERF基因及其编码的蛋白质序列,利用茄果类数据库SGN (<http://solgenomics.net/>)和NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)蛋白数据库进行检索和去冗余,得到候选蛋白序列。利用Pfam (<http://www.sanger.ac.uk/Software/Pfam/search.shtml>) (Punta等2012)和SMART (<http://smart.embl-heidelberg.de/>) (Letunic等2012)对氨基酸序列结构域进行鉴定,凡是含有AP2/ERF保守结构域的蛋白即为茄子AP2/ERF成员。将查找到的所有茄子AP2/ERF基因进行归纳整理,去掉重复的基因,并按照其所在染色体顺序对其进行命名。

在ExPASy (http://web.expasy.org/compute_pi/)中查找所有AP2/ERF成员的等电点及其分子量。利用PSORT (<http://psort.ims.u-tokyo.ac.jp/form.html>) (Horton等2007)对成员的亚细胞定位进行了分析。

3 茄子ERF的分类及系统发生分析

利用Clustal X2.1软件,对茄子、番茄和拟南芥AP2/ERF成员比对(Thompson等1997),基于比对结果和拟南芥AP2/ERF的分类依据对茄子AP2/ERF蛋白进行分类。根据AP2/ERF蛋白核心区AP2的数量分为:含有1个AP2的DREB/CBF亚族(命名为A族)和ERF亚族(命名为B族);含有2个AP2结构域的为AP2亚族;含有一个AP2且含有B3区域的RAV亚族。将候选茄子AP2/ERF家族蛋白序列与番茄和拟南芥蛋白序列用ClustalX 2.1软件进行多重匹配分析,基于比对结果,参考Tamura等(2011)构建AP2/ERF进化树的方法,利用MEGA 5.05采用相邻连接法(neighbor-joining, NJ)构建系统发育树,并进行自检(bootstrap),重复设定为1000。

4 保守基序的鉴定及结构分析

利用MEME 4.6.1 (<http://meme.nbcr.net/meme/intro.html>)在线平台进行茄子AP2/ERF蛋白中保守基序(motif)分析,最大motif检索数值定为20。并确定基序的P值、E值和基序在茄子AP2/ERF家族基因中出现的次数。

5 AP2/ERF家族基因的表达分析

分子生物学试验在广东省蔬菜新技术研究重

点实验室完成。采用Trizol (Invitrogen)法提取总RNA, 经DNase I处理去除基因组DNA, 使用Nano-Drop 2000c分光光度计(Thermo)检测RNA样品的浓度和纯度。吸取3 μg RNA经M-MLV反转录合成第1链cDNA, 稀释后做qRT-PCR模板。根据SGN数据库的基因序列, 利用Oligo6.0设计引物(表1), 由英潍捷基(上海)生物公司合成。荧光实时定量PCR反应采用SYBR Green Realtime PCR Master

Mix (Takara, 大连)试剂盒, 在Roche LightCycler 480仪器上进行。反应体系为总体积20.0 μL , 含SYBR Premix Ex TaqTM II (TliRNaseH Plus) (2 \times) 10 μL 、引物(10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)各0.8 μL 、DNA模板2.0 μL 、无菌双蒸馏水6.4 μL 。反应条件为: 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性30 s; 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性5 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 退火20 s, 循环40次; 融解曲线分析95 $^{\circ}\text{C}$ 0 s, 65 $^{\circ}\text{C}$ 15 s, 95 $^{\circ}\text{C}$ 0 s。采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 方法计算基因表达相对量, 每个基因的表达

表1 本研究中使用的Q-PCR引物
Table 1 Q-PCR primers used in this study

名称	序列	名称	序列
SmERF2-Q-F	5'-GGCAGGAGTGTGAAGTTGA-3'	SmERF55-Q-F	5'-CGACATTGGGGATCTTGGGTT-3'
SmERF2-Q-R	5'-AATGTACCCAGCCAGACACG-3'	SmERF55-Q-R	5'-TCTTGGTCCACACATGAGCC-3'
SmERF5-Q-F	5'-TTCGTGGTGTAGGCAGAGG-3'	SmERF56-Q-F	5'-AGCAGAACCAGAGCCTTGTC-3'
SmERF5-Q-R	5'-CAGCTTCTCCGCAGTCTCA-3'	SmERF56-Q-R	5'-TCTTCAGCAACAGTAGCAGCT-3'
SmERF8-Q-F	5'-CGTCCGTCACAGTCCATAGG-3'	SmERF57-Q-F	5'-GAATCGTCTAGTGGGCTCG-3'
SmERF8-Q-R	5'-CTAGCCATACTCTCGACCG-3'	SmERF57-Q-R	5'-ATCATCCACCACAGACGACG-3'
SmERF9-Q-F	5'-TAGAGGGGTAAGGAGGAGGC-3'	SmERF59-Q-F	5'-GGTACTTTCGACACAGCGGA-3'
SmERF9-Q-R	5'-AGCCAAACCCTAGCTCCTTT-3'	SmERF59-Q-R	5'-CTCCGACGAAAGGGGAAAT-3'
SmERF16-Q-F	5'-CAGGGGAGTCAGGAAGAGGA-3'	SmERF61-Q-F	5'-CCGTGGAGTCCGAAAGAGAC-3'
SmERF16-Q-R	5'-TGCCACGTCATGAGCTCTAG-3'	SmERF61-Q-R	5'-ACGAGCAGCATCTTCAGCAG-3'
SmERF17-Q-F	5'-ACAGGGGAGTCAGGAAGAGA-3'	SmERF62-Q-F	5'-GCCAGTGAAGTAGCTGTCTG-3'
SmERF17-Q-R	5'-CTCTAGCCGCCATTTCTGCT-3'	SmERF62-Q-R	5'-GTTGGAGCCTCAGTGATGTGA-3'
SmERF18-Q-F	5'-TACCTTCTTCGTGGATGCGG-3'	SmERF66-Q-F	5'-TACGTCAACCCAAAAGCCGT-3'
SmERF18-Q-R	5'-GGTGGAGGTAGCATGAGTCC-3'	SmERF66-Q-R	5'-CGGGGAATCAGTGGTGGATC-3'
SmERF19-Q-F	5'-AATTTGGCTCGGCACATTCC-3'	SmERF75-Q-F	5'-TGGGATTTGGTTGGAGCTGA-3'
SmERF19-Q-R	5'-CAGTGGATGCAGGTCTAGGC-3'	SmERF75-Q-R	5'-TTCGAGTACAGTTCCTGGGC-3'
SmERF21-Q-F	5'-GTCCCGTAACCTCGTCTTC-3'	SmERF78-Q-F	5'-CCAACGCAGCTCAAGAAACA-3'
SmERF21-Q-R	5'-TGGTTCGCACTCCATGGATTC-3'	SmERF78-Q-R	5'-CCCGATTTCTCCGACAACCT-3'
SmERF24-Q-F	5'-GGGTCTGGGAAGGGTAGGAT-3'	SmERF80-Q-F	5'-CCAAGCACAAAACGAGCACAA-3'
SmERF24-Q-R	5'-CTTGACACCAGTACCAGCAGA-3'	SmERF80-Q-R	5'-GTCACGAATTTTCAGCTGCCC-3'
SmERF26-Q-F	5'-TATGACAGGGCGGCGTTTAA-3'	SmERF85-Q-F	5'-GCTGCAAGGTCCTTTTCATGG-3'
SmERF26-Q-R	5'-ACCCTTTTGCTGCCTGATGA-3'	SmERF85-Q-R	5'-GACGCACCCACTAGATGAT-3'
SmERF27-Q-F	5'-TGATAGGGGAAGACAGGGCA-3'	SmERF86-Q-F	5'-ATGGTGGCGGTTATGGGTTT-3'
SmERF27-Q-R	5'-CGTTGGTTTGGCTTCGGTTT-3'	SmERF86-Q-R	5'-CGGCGGGTGAACAATGTTTT-3'
SmERF30-Q-F	5'-GCTCGTACTCTTCGTGGACC-3'	SmERF91-Q-F	5'-TGTAAGGCAAAGGTCGTCCG-3'
SmERF30-Q-R	5'-GTGCGTACAATCTCGGGTCA-3'	SmERF91-Q-R	5'-CACGAAGGAGACAAGCAGCT-3'
SmERF32-Q-F	5'-GGGGTAAATGGGTGGCTGAA-3'	SmERF93-Q-F	5'-GGGAAATACGCGGCAGAAAT-3'
SmERF32-Q-R	5'-GCAGCAACAGGGGAAGAGTA-3'	SmERF93-Q-R	5'-CCGCCATTGTCCCATGCAA-3'
SmERF38-Q-F	5'-CAGCAGAGATTCGTGACCCA-3'	SmERF94-Q-F	5'-TCTCGGTGGATAAAGTGCGC-3'
SmERF38-Q-R	5'-TGCTGCTCTGTCAATAAGCCA-3'	SmERF94-Q-R	5'-CTGCAACAGGAGACAACAACA-3'
SmERF39-Q-F	5'-CAGAGGGGTGAGGAAAAGGC-3'	SmERF97-Q-F	5'-AGGGGACATCATTCGAGGGA-3'
SmERF39-Q-R	5'-CGCGGCACAATCATAAGCTC-3'	SmERF97-Q-R	5'-GCTGCACCCCTGGATCATT-3'
SmERF47-Q-F	5'-CACCGTTGCTTCCAGTTTCG-3'	SmERF100-Q-F	5'-TGGAGTTCGAGTTTGGTTAGGA-3'
SmERF47-Q-R	5'-TGAACTCAACCGGTACCAA-3'	SmERF100-Q-R	5'-GAAGTGCCAATGGACCTCTCA-3'
SmERF51-Q-F	5'-CGGTTGAGGAAGTGGGGAAA-3'	SmERF101-Q-F	5'-GGTTTCCGTTTCCGTTTCCG-3'
SmERF51-Q-R	5'-GCAGAATCGTAGGAGCCCAA-3'	SmERF101-Q-R	5'-ACGACTCTCCCCGGTACATA-3'
SmERF53-Q-F	5'-GATGATTTCCGCGCGTTTGA-3'	SmERF104-Q-F	5'-AGAAATCTCTGCGGATGGG-3'
SmERF53-Q-R	5'-CGTCAAAGTCAAACCTCGCCG-3'	SmERF104-Q-R	5'-GCCCCAGGTCTTTTGCCTAA-3'

反应重复3次,以*SmEF1*作为内参基因(周晓慧等2014)。Roche LightCycler 480软件根据PCR扩增曲线计算实时荧光定量PCR的扩增效率。

实验结果

1 茄子AP2/ERF基因家族成员的鉴定

根据拟南芥和番茄AP2/ERF转录因子家族基因,在NCBI和SGN数据库检索茄子AP2/ERF家族基因,结合Pfam和SMART在线分析结构域,共得到130个含有AP2/ERF结构域的蛋白序列(表2),其中含有2个AP2/ERF结构域的有20个成员(AP2亚家族),含有1个AP2/ERF和1个B3结构域的有2个成员(RAV亚家族),仅含有1个AP2/ERF结构域的有108个成员(ERF亚家族)(表2)。本文仅对108个ERF亚家族开展后续研究,并根据其在染色体上的位置进行排序(表3)。其中茄子*SmERFs*蛋白长度为128~827 aa, CDS (coding sequence)长度为387~2484 bp, 分子量为15.11~58.9 kDa; 根据其氨基酸序列差异及结构域可将其分为2类亚族: DREB/CBF1 (41个)和ERF (67个), 同一个类别中,基因的相似程度很高; 对所有*SmERF*转录因子的亚细胞定位进行分析得出: *SmERF*转录因子大多分布在细胞核内,少数分布在线粒体以及线粒体基质中(表3)。

2 *SmERF*亚家族基因蛋白质系统进化发生分析

为了研究AP2/ERF转录因子家族的进化关系,本研究对拟南芥、杨树、番茄、水稻、大豆等AP2/ERF家族成员数目进行分析(表2), AP2/ERF转录因子家族可分为AP2、ERF、RAV和其他共4个亚族。其中ERF亚族基因成员在AP2/ERF转录因子家族中数目最多。为研究茄子ERF亚家族蛋白的进化关系,对拟南芥和番茄ERF亚家族氨基酸进行系统进化分析(图1)。由图1可见, ERF亚家族整体分为DREB/CBF和ERF两类,相同类型的ERF基因在进化树图中相离很近,拟南芥的基因各亚族中基本聚类在一起,而番茄和茄子的ERF基因之间聚类比与拟南芥相离较近; 其中在DREB/CBF亚族中,茄子和番茄ERF基因如*SmERF67*和*SlERF47*、*SmERF41*和*SlERF11*、*SmERF47*和*SlERF10*、*SmERF31*和*SlERF8*、*SmERF92*和*SlERF14*、*SmERF66*和*SlERF17*、*SmERF51*和*SlERF15*、*SmERF58*和*SlERF18*、*SmERF40*和*SlERF22*、*SmERF90*和*SlERF26*二者聚类在一起,茄子和拟南芥如*SmERF62*和*AtERF61*、*SmERF88*和*AtERF51*、*SmERF17*和*AtERF23*、*SmERF67*和*AtERF40*、*SmERF76*和*AtERF42*二者聚类在一起,茄子ERF基因之间如*SmERF89*和*SmERF91*、

表2 多种植物中AP2/ERF家族成员的数目

Table 2 The number of AP2/ERF family member in different plants

组分	茄子	拟南芥	番茄	水稻	大豆	杨树	甜瓜
AP2	20	18	16	-	26	26	13
ERF	108	122	93	139	120	168	119
RAV	2	6	3	-	2	5	4
其他	-	-	-	-	-	1	-
总计	130	147	112	188	148	200	136

数据来自文献(Rashid等2012; Nakano等2006; Zhuang等2008; 张计育等2012; Ma等2014)。

表3 茄子*SmERF*转录因子亚家族分布及理化性质分析

Table 3 The distribution and physico-chemical analysis of *SmERF* gene family in eggplant

基因名称	类别	SGN编号	染色体	CDS长度/bp	氨基酸数目/个	等电点	分子量/kDa	亚细胞定位
<i>SmERF1</i>	A1	Sme2.5_02826.1_g00003.1	E01	651	216	5.23	24.57	细胞核
<i>SmERF2</i>	B2	Sme2.5_12868.1_g00001.1	E01	774	257	6.32	28.95	细胞核
<i>SmERF3</i>	B1	Sme2.5_05038.1_g00002.1	E01	999	332	5.27	37.29	细胞核
<i>SmERF4</i>	B3	Sme2.5_03732.1_g00002.1	E01	768	255	7.63	28.25	细胞核
<i>SmERF5</i>	B5	Sme2.5_04437.1_g00004.1	E01	816	240	5.21	27.70	细胞核
<i>SmERF6</i>	B3	Sme2.5_04475.1_g00002.1	E01	504	167	6.42	18.51	细胞核

表3 (续1)

基因名称	类别	SGN编号	染色体	CDS长度/bp	氨基酸数目/个	等电点	分子量/kDa	亚细胞定位
<i>SmERF7</i>	B3	Sme2.5_04475.1_g00003.1	E01	612	203	7.84	23.03	细胞质
<i>SmERF8</i>	B3	Sme2.5_09500.1_g00002.1	E02	510	169	9.51	19.00	细胞核
<i>SmERF9</i>	B3	Sme2.5_09500.1_g00003.1	E02	795	264	5.17	30.82	细胞核
<i>SmERF10</i>	A5	Sme2.5_00029.1_g00016.1	E02	504	167	8.32	18.42	细胞质
<i>SmERF11</i>	B4	Sme2.5_00010.1_g00006.1	E02	639	212	8.73	24.06	细胞核
<i>SmERF12</i>	B1	Sme2.5_00787.1_g00017.1	E03	636	211	6.43	21.98	细胞核
<i>SmERF13</i>	B3	Sme2.5_03951.1_g00001.1	E03	603	200	8.80	22.54	细胞核
<i>SmERF14</i>	B3	Sme2.5_05774.1_g00004.1	E03	387	128	5.69	14.60	细胞核
<i>SmERF15</i>	B3	Sme2.5_05774.1_g00005.1	E03	462	153	7.76	17.34	细胞核
<i>SmERF16</i>	A1	Sme2.5_04750.1_g00001.1	E03	636	211	4.90	23.66	细胞核
<i>SmERF17</i>	A1	Sme2.5_04750.1_g00002.1	E03	528	175	9.45	19.32	叶绿体
<i>SmERF18</i>	A1	Sme2.5_04750.1_g00004.1	E03	603	200	5.72	22.05	细胞核
<i>SmERF19</i>	A1	Sme2.5_16389.1_g00001.1	E03	603	200	7.11	36.75	细胞核
<i>SmERF20</i>	B1	Sme2.5_05640.1_g00001.1	E03	993	330	7.11	36.75	叶绿体
<i>SmERF21</i>	B5	Sme2.5_08423.1_g00001.1	E03	1 200	399	4.57	44.38	细胞核
<i>SmERF22</i>	B1	Sme2.5_00022.1_g00002.1	E03	759	252	9.78	28.20	细胞核
<i>SmERF23</i>	B6	Sme2.5_00022.1_g00009.1	E03	498	165	5.86	18.73	细胞核
<i>SmERF24</i>	B3	Sme2.5_00125.1_g00017.1	E03	2 391	796	5.68	88.63	细胞核
<i>SmERF25</i>	A4	Sme2.5_00372.1_g00002.1	E03	741	246	5.64	26.88	细胞质
<i>SmERF26</i>	B3	Sme2.5_00837.1_g00012.1	E03	759	252	6.46	28.51	细胞核
<i>SmERF27</i>	B5	Sme2.5_05202.1_g00002.1	E03	1 239	412	5.38	46.12	细胞核
<i>SmERF28</i>	B6	Sme2.5_07921.1_g00003.1	E03	609	202	9.17	22.55	细胞核
<i>SmERF29</i>	B1	Sme2.5_02649.1_g00005.1	E04	687	228	9.27	24.67	细胞核
<i>SmERF30</i>	B1	Sme2.5_03788.1_g00003.1	E04	663	220	9.02	24.25	细胞核
<i>SmERF31</i>	A2	Sme2.5_00003.1_g00046.1	E04	2 427	808	9.06	87.37	细胞核
<i>SmERF32</i>	A5	Sme2.5_00038.1_g00024.1	E04	543	180	8.67	20.36	细胞核
<i>SmERF33</i>	A6	Sme2.5_00086.1_g00004.1	E04	1 077	358	5.34	39.51	细胞核
<i>SmERF34</i>	B4	Sme2.5_05971.1_g00001.1/TE	E04	1 374	457	6.38	49.73	细胞核
<i>SmERF35</i>	B3	Sme2.5_00211.1_g00009.1	E05	696	231	5.79	26.49	细胞核
<i>SmERF36</i>	B3	Sme2.5_00388.1_g00003.1	E05	558	185	9.87	21.37	细胞核
<i>SmERF37</i>	B3	Sme2.5_02014.1_g00005.1	E05	711	236	9.17	26.18	细胞核
<i>SmERF38</i>	B3	Sme2.5_02014.1_g00007.1	E05	849	282	6.18	31.93	细胞核
<i>SmERF39</i>	B3	Sme2.5_02014.1_g00008.1	E05	609	202	9.18	22.85	细胞核
<i>SmERF40</i>	A4	Sme2.5_03441.1_g00007.1	E05	762	253	5.73	28.77	细胞核
<i>SmERF41</i>	A2	Sme2.5_04615.1_g00005.1	E05	1 155	384	4.61	42.54	细胞核
<i>SmERF42</i>	A6	Sme2.5_00374.1_g00013.1	E05	936	311	6.91	34.00	细胞核
<i>SmERF43</i>	B4	Sme2.5_00713.1_g00012.1	E05	1 191	396	8.80	43.04	细胞核
<i>SmERF44</i>	A1	Sme2.5_09576.1_g00003.1	E05	603	200	6.12	22.83	细胞核
<i>SmERF45</i>	B4	Sme2.5_10605.1_g00001.1	E05	2 484	827	8.76	93.43	细胞核
<i>SmERF46</i>	A4	Sme2.5_11126.1_g00001.1	E05	636	211	5.15	23.77	细胞核
<i>SmERF47</i>	A2	Sme2.5_02766.1_g00005.1	E06	1 002	333	4.86	36.67	细胞核
<i>SmERF48</i>	B5	Sme2.5_03270.1_g00005.1	E06	1 131	376	4.89	42.06	细胞核
<i>SmERF49</i>	B6	Sme2.5_03707.1_g00008.1	E06	597	198	9.11	22.09	线粒体
<i>SmERF50</i>	A4	Sme2.5_09825.1_g00001.1	E06	540	179	4.82	19.40	细胞核
<i>SmERF51</i>	A4	Sme2.5_03119.1_g00002.1	E06	717	238	4.69	26.51	细胞核
<i>SmERF52</i>	B2	Sme2.5_00377.1_g00002.1	E06	1 035	344	4.68	37.98	细胞核
<i>SmERF53</i>	B5	Sme2.5_00001.1_g00045.1	E06	744	247	5.04	27.84	细胞核
<i>SmERF54</i>	B4	Sme2.5_00008.1_g00028.1	E06	777	258	7.87	29.39	细胞核
<i>SmERF55</i>	B6	Sme2.5_00018.1_g00009.1	E06	746	181	8.82	20.70	细胞核
<i>SmERF56</i>	B4	Sme2.5_01189.1_g00007.1	E07	669	222	7.01	24.86	细胞核
<i>SmERF57</i>	B1	Sme2.5_10386.1_g00004.1	E07	777	258	6.21	28.90	细胞核
<i>SmERF58</i>	A4	Sme2.5_02248.1_g00002.1	E07	495	164	5.33	18.21	叶绿体

表3 (续2)

基因名称	类别	SGN编号	染色体	CDS长度/bp	氨基酸数目/个	等电点	分子量/kDa	亚细胞定位
<i>SmERF59</i>	B1	Sme2.5_00165.1_g00011.1	E07	687	228	9.25	24.46	叶绿体
<i>SmERF60</i>	A6	Sme2.5_04588.1_g00001.1	E07	1 233	410	5.03	46.69	细胞核
<i>SmERF61</i>	B1	Sme2.5_06218.1_g00001.1	E07	723	240	7.71	26.15	叶绿体
<i>SmERF62</i>	A6	Sme2.5_00013.1_g00022.1	E07	1 014	337	5.84	38.01	细胞核
<i>SmERF63</i>	A1	Sme2.5_00250.1_g00012.1	E08	972	323	5.78	36.08	细胞核
<i>SmERF64</i>	A1	Sme2.5_00250.1_g00013.1	E08	720	239	4.85	27.06	叶绿体
<i>SmERF65</i>	A4	Sme2.5_00250.1_g00015.1	E08	603	200	5.05	22.25	细胞核
<i>SmERF66</i>	A4	Sme2.5_03078.1_g00003.1	E08	432	143	9.25	16.38	细胞核
<i>SmERF67</i>	A6	Sme2.5_00009.1_g00006.1	E08	660	219	9.23	24.51	细胞核
<i>SmERF68</i>	B5	Sme2.5_00009.1_g00032.1	E08	1 041	346	5.06	38.22	细胞核
<i>SmERF69</i>	A4	Sme2.5_00860.1_g00007.1	E08	591	196	6.74	21.60	细胞核
<i>SmERF70</i>	B5	Sme2.5_02928.1_g00003.1	E08	1 020	339	4.62	37.87	细胞核
<i>SmERF71</i>	A4	Sme2.5_04219.1_g00003.1	E08	564	187	4.68	19.87	叶绿体
<i>SmERF72</i>	B3	Sme2.5_06205.1_g00001.1	E08	717	238	5.07	26.99	细胞核
<i>SmERF73</i>	B3	Sme2.5_10584.1_g00003.1	E08	978	325	5.63	36.64	细胞核
<i>SmERF74</i>	B3	Sme2.5_11018.1_g00001.1	E08	687	228	5.64	25.58	细胞核
<i>SmERF75</i>	A4	Sme2.5_15558.1_g00001.1	E08	624	207	9.72	23.28	细胞核
<i>SmERF76</i>	A4	Sme2.5_04736.1_g00007.1	E09	600	199	4.95	21.80	细胞核
<i>SmERF77</i>	B1	Sme2.5_00248.1_g00018.1	E09	468	155	9.68	16.99	细胞核
<i>SmERF78</i>	B3	Sme2.5_00595.1_g00009.1	E09	723	240	5.50	26.70	细胞核
<i>SmERF79</i>	B3	Sme2.5_00595.1_g00011.1	E09	414	137	5.94	15.32	细胞核
<i>SmERF80</i>	B2	Sme2.5_06157.1_g00002.1	E09	810	269	6.47	30.38	细胞核
<i>SmERF81</i>	B3	Sme2.5_08027.1_g00002.1	E09	459	152	8.96	17.34	细胞核
<i>SmERF82</i>	B3	Sme2.5_08722.1_g00002.1	E09	585	194	5.60	22.15	细胞核
<i>SmERF83</i>	B3	Sme2.5_20235.1_g00001.1	E09	417	138	5.64	15.56	细胞核
<i>SmERF84</i>	B5	Sme2.5_00817.1_g00006.1	E10	984	327	4.79	36.37	细胞核
<i>SmERF85</i>	B1	Sme2.5_00128.1_g00014.1/TE	E10	570	189	8.30	21.27	高尔基体
<i>SmERF86</i>	B1	Sme2.5_03682.1_g00007.1	E10	954	317	7.19	34.08	细胞核
<i>SmERF87</i>	A2	Sme2.5_05394.1_g00005.1	E10	1 071	356	4.70	41.17	细胞骨架
<i>SmERF88</i>	A2	Sme2.5_00072.1_g00009.1	E10	885	294	6.42	33.43	细胞核
<i>SmERF89</i>	B6	Sme2.5_01443.1_g00004.1	E10	1 269	422	4.65	47.64	细胞核
<i>SmERF90</i>	A4	Sme2.5_02955.1_g00003.1	E10	591	196	5.42	20.61	细胞核
<i>SmERF91</i>	B6	Sme2.5_13587.1_g00002.1	E10	819	272	8.80	30.69	细胞核
<i>SmERF92</i>	A4	Sme2.5_00540.1_g00005.1	E11	648	215	5.50	23.97	叶绿体
<i>SmERF93</i>	B3	Sme2.5_00798.1_g00006.1	E11	621	206	4.96	23.33	细胞核
<i>SmERF94</i>	B3	Sme2.5_00984.1_g00004.1	E11	474	157	5.38	18.00	细胞核
<i>SmERF95</i>	B3	Sme2.5_00984.1_g00005.1	E11	552	183	9.41	20.88	线粒体
<i>SmERF96</i>	B2	Sme2.5_01098.1_g00004.1	E11	1 158	385	4.73	42.37	细胞核
<i>SmERF97</i>	B4	Sme2.5_02371.1_g00003.1	E11	1 167	388	7.17	43.89	细胞核
<i>SmERF98</i>	A6	Sme2.5_02705.1_g00003.1	E11	1 152	383	5.61	41.88	细胞核
<i>SmERF99</i>	B1	Sme2.5_00276.1_g00007.1	E11	921	306	5.40	34.74	细胞核
<i>SmERF100</i>	B3	Sme2.5_03151.1_g00003.1	E11	765	254	5.67	29.14	细胞核
<i>SmERF101</i>	A4	Sme2.5_01200.1_g00005.1	E12	744	247	4.31	27.60	细胞核
<i>SmERF102</i>	A4	Sme2.5_03330.1_g00005.1	E12	927	308	4.90	33.72	细胞核
<i>SmERF103</i>	B6	Sme2.5_03438.1_g00003.1	E12	627	208	8.96	23.76	细胞质
<i>SmERF104</i>	A2	Sme2.5_03585.1_g00005.1	E12	402	133	9.74	15.12	细胞核
<i>SmERF105</i>	A5	Sme2.5_06802.1_g00002.1	E12	513	170	8.97	18.63	细胞核
<i>SmERF106</i>	A4	Sme2.5_10325.1_g00001.1	E12	588	195	5.06	21.78	细胞质
<i>SmERF107</i>	B2	Sme2.5_01459.1_g00005.1	E03	1 149	382	4.93	42.23	细胞核
<i>SmERF108</i>	A2	Sme2.5_02100.1_g00003.1	E03	837	278	6.31	30.55	细胞核

类别A: DREB/CBF亚族; 类别B: ERF亚族。

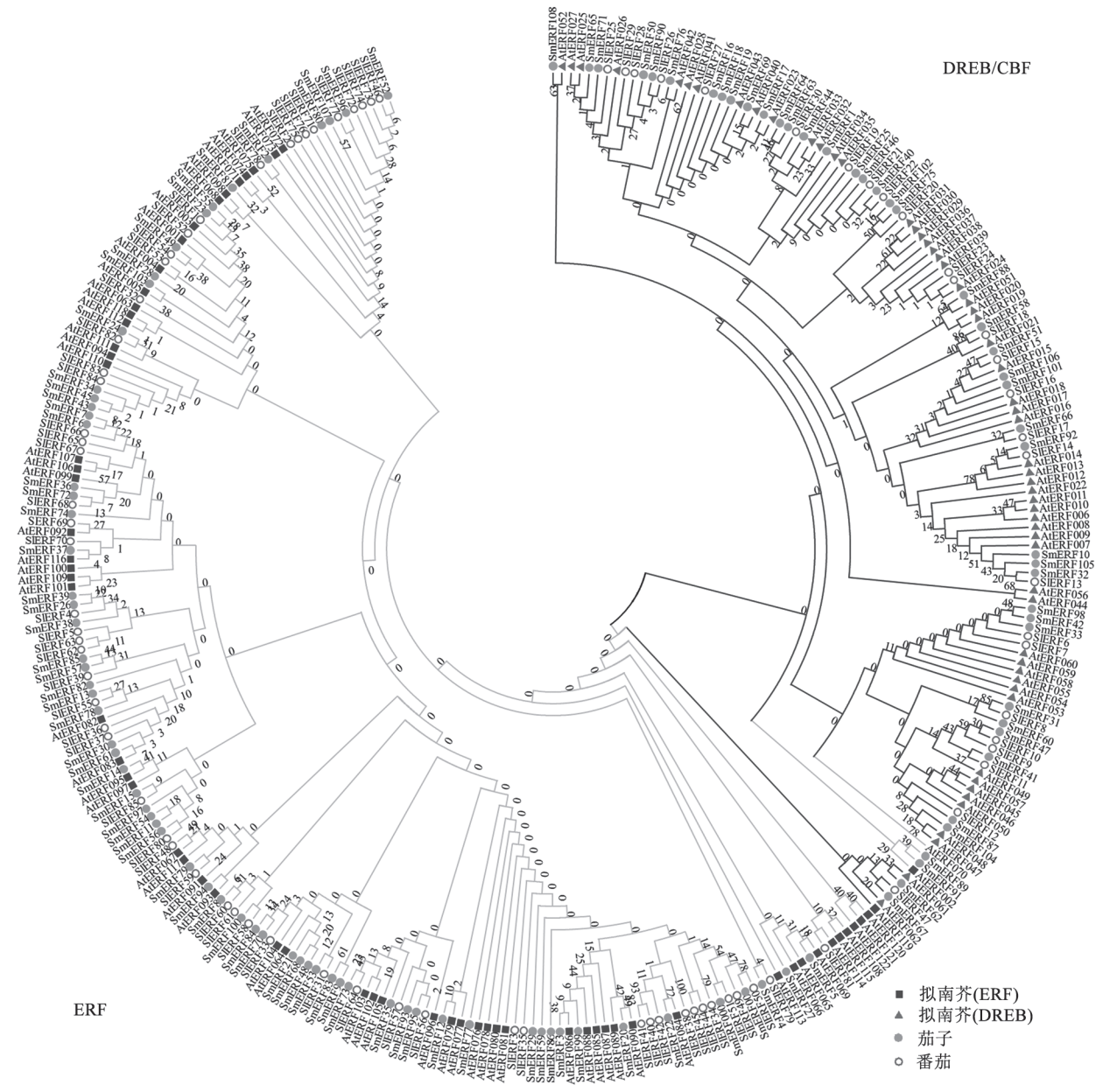


图1 茄子、拟南芥和番茄中ERF基因亚家族蛋白质系统进化分析
 Fig.1 Phylogenetic tree of ERF gene family in eggplant, *Arabidopsis* and tomato

SmERF98、*SmERF42*和*SmERF33*、*SmERF102*和
SmERF75、*SmERF63*和*SmERF64*聚类在一起; 在
 ERF亚族中, 茄子和番茄如*SmERF96*和*SIERF77*、
*SmERF2*和*SIERF78*、*SmERF49*和*SIERF54*、
*SmERF24*和*SIERF82*、*SmERF72*和*SIERF68*、
*SmERF13*和*SIERF55*、*SmERF56*和*SIERF80*、
*SmERF79*和*SIERF59*、*SmERF8*和*SIERF60*、
*SmERF100*和*SIERF58*、*SmERF53*和*SIERF31*、

*SmERF73*和*SIERF64*、*SmERF95*和*SIERF56*、
*SmERF4*和*SIERF79*二者聚类在一起; 茄子和拟南
 芥如*SmERF53*和*AtERF4*、*SmERF103*和*AtERF5*、
*SmERF69*和*AtERF92*、*SmERF37*和*AtERF116*、
*SmERF61*和*AtERF83*等二者聚类在一起, 茄子ERF
 基因之间如*SmERF23*和*SmERF55*、*SmERF43*、
*SmERF45*和*SmERF34*、*SmERF6*和*SmERF7*、
*SmERF26*和*SmERF39*等聚类在一起; 茄子与番茄

共有25对基因进化关系较近, 茄子与拟南芥有17对基因进化关系较近, 说明基因发生与物种间进化关系相关, 且茄子自身有13对来自相同或不同染色体的基因聚类在一起, 说明其序列同源性较高且存在片段和串联复制现象。

3 茄子ERF亚家族蛋白基序分析

为了进一步分析茄子ERF蛋白质氨基酸的保守性, 利用MEME 4.6.1在线工具开展保守基序(motif)分析(图2), 结果表明在ERF基因亚家族中含有20个保守基序(表4), 通常聚类分析在一个亚族的蛋白质有着相似的motif组成, 其中基序1~4共同组成AP2/ERF结构域(图3中A1), 基本均出现在所有茄子的ERF亚族中; Sakuma等(2002)根据AP2/

ERF结构域第14和19位氨基酸残基的差异, 将其分为DREB/CBF和ERF次亚家族, 其中DREB/CBF亚家族第14和19位分别是缬氨酸和谷氨酸, ERF亚家族第14和19位为丙氨酸和天冬氨酸, 本研究根据拟南芥的分类标准将茄子ERF亚家族分为两类, 其中DREB/CBF又分为A1、A2、A4、A5和A6共5个小亚族, ERF分为B1、B2、B3、B4、B5和B6共6个小亚族; 其中在拟南芥中A1的保守基序为CMIII-3 (ETRH[AP2/ERF结构域]DSAWR), 茄子中该基序对应MEME预测的基序7, 共有8个成员; 本研究发现在拟南芥中相对应A2 (保守基序CMIV1)、A4 (CMIII-1)和A6 (CMI-2)分别对应茄子的基序13、5和17 (图3、表4); 我们根据拟南芥A5的特征序列

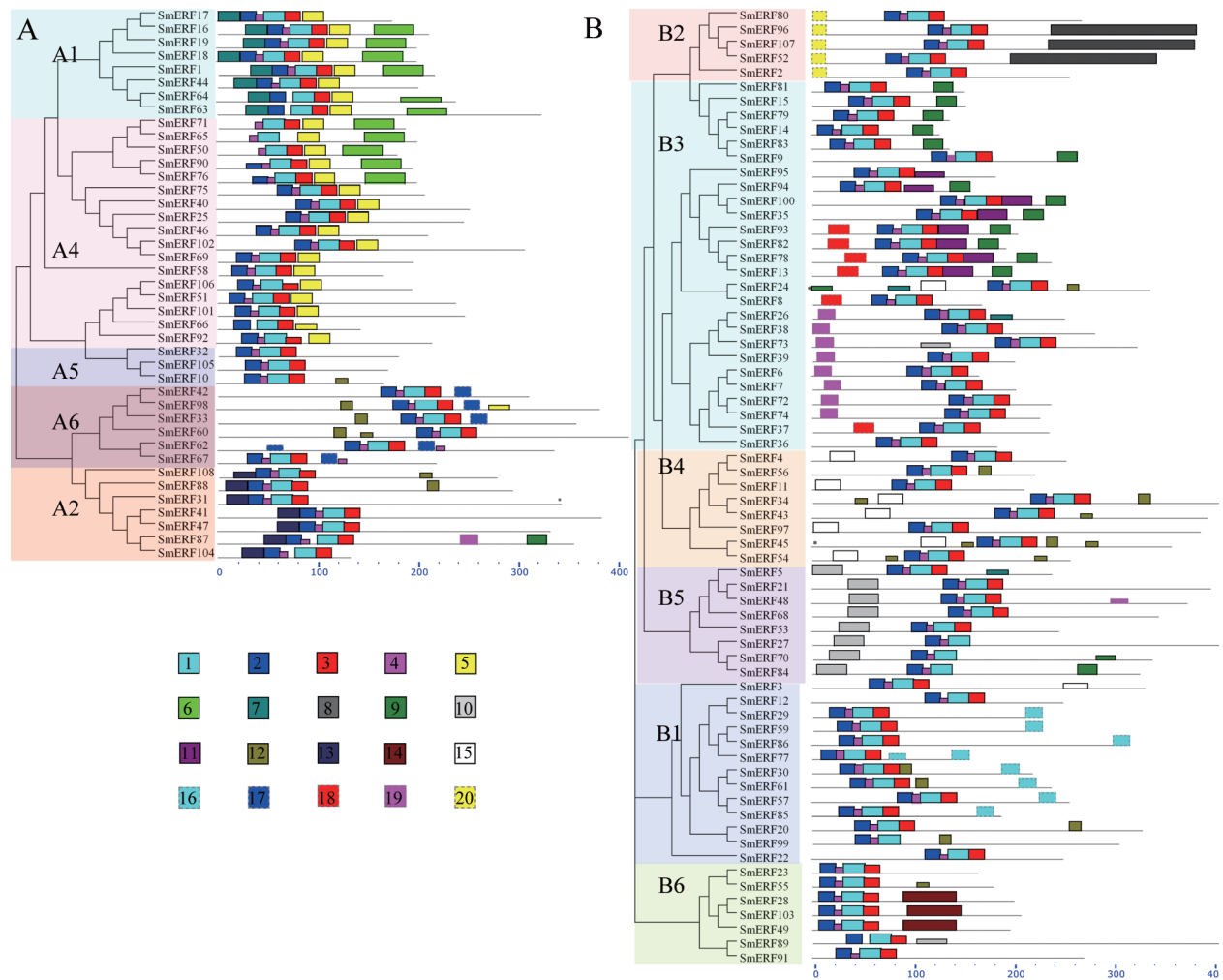


图2 茄子ERF亚家族分类及保守基序组成分析

Fig.2 Classification and conserved motif of eggplant ERF gene family

A: DREB/CBF亚族; B: ERF亚族。不同颜色方块内数字代表基序编号(与表4中编号一致)。

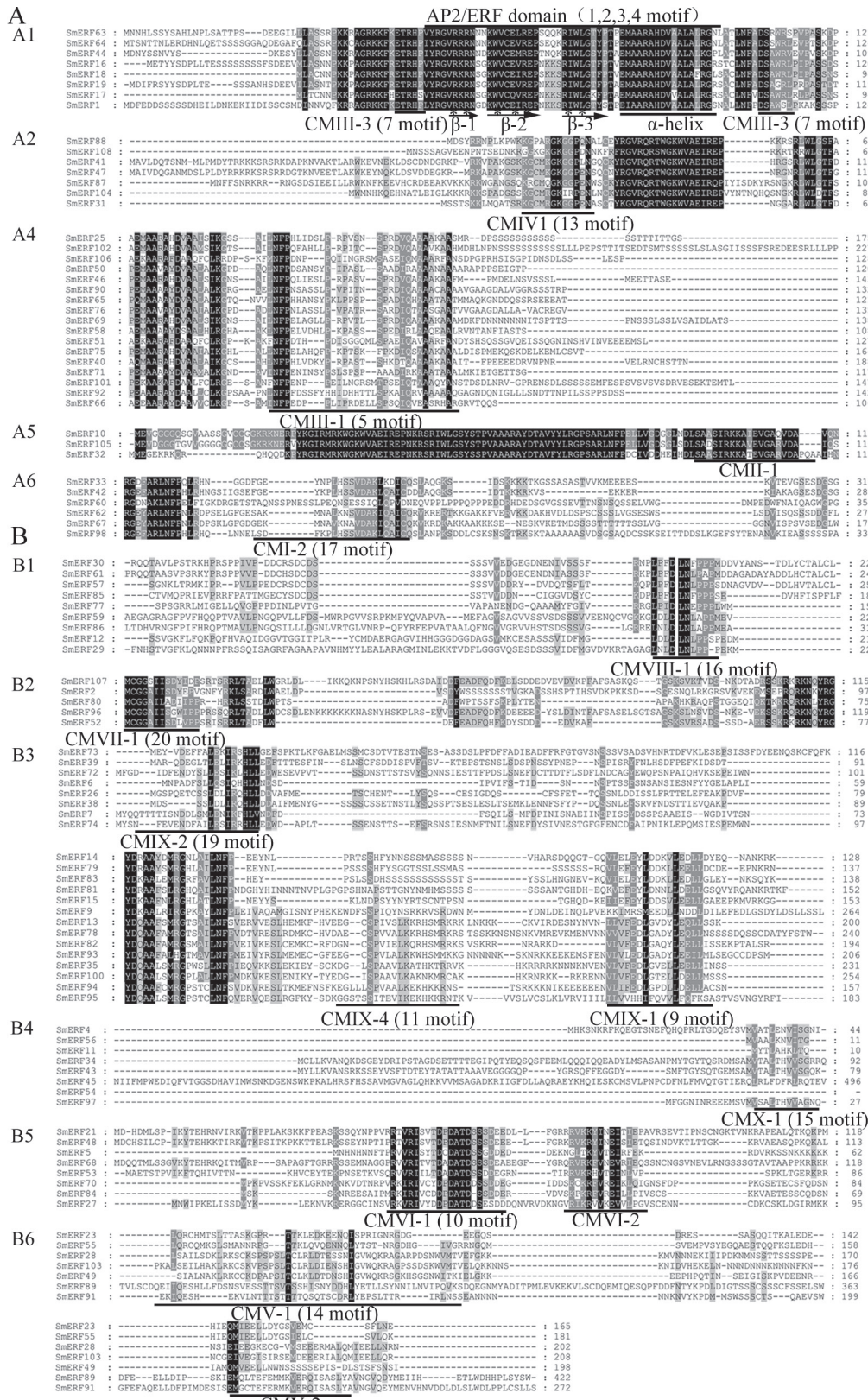


图3 茄子ERF亚家族保守结构域分析
Fig.3 Analysis of conserved domain from eggplant ERF subfamily

A: DREB/CBF亚族; B: ERF亚族。

表4 MEME对茄子ERF蛋白中的基序分析

Table 4 Motif analysis of eggplant ERF protein predicted by MEME

基序编号	基序序列	基因数目	E值	基序长度/kb	家族
1	RVWLGTFDTAEAAARAYDEAA	107	6.2e-1715	21	ERF (A, B)
2	YRGVQRQRPWGKWVAE	103	4.5e-1247	15	ERF (A, B)
3	FKMRGPKAKLNFPHL	101	6.0e-590	15	ERF (A, B)
4	IRDPNKKG	108	4.6e-238	8	ERF (A, B)
5	LPVPASMSPKDIQAAAAKAA	24	6.1e-113	20	A4
6	ENHFFMDEEALFDPNLLVNMMAEGMMLSPPRMCMHPDDD	9	2.0e-100	39	A1, A2
7	LACNNPKKPAGRKKFKETRHP	8	4.5e-069	21	A1
8	DTGLGSYAPSAGADVYFSSDQGSNSFDCSDFGWGEPSCRTP- DISSVLSAAIECNEGQFVEDADPEEKLKSCSNNPVPDDGNTV- NVLSEELSAFESQMKFFQIPYIEGNWDASVDAFLNTSATQGG- ENAMDLWSFDDVPSLMGGVF	3	1.2e-065	145	B2
9	NVLVFEYLGDDYLEELMS	15	3.9e-065	19	B3
10	KNHEYNPIPPRVVIVCTDPDATDSSDDE	8	3.8e-044	29	B5
11	VKESLCEMKCHFEDGCSPVVALKKRHSMR	6	7.8e-033	29	B3
12	YQHQQQQQQ	11	1.8e-031	11	—
13	PAKGSKKGCMRGKGGPENACQ	6	7.2e-030	21	A2
14	ILHAKLRKCKDPSPLTCLRLDTENSHIGVWQKRAGPHSDS- NWVMTVELGKK	3	1.6e-028	53	B6
15	MYHGYTQQQDMSAMVSALHVISG	8	7.8e-025	24	B4
16	RKPLPFDLNLPPMED	9	1.4e-021	16	B1
17	PLHNSVDAKLQAICQ	5	4.1e-016	15	A6
18	LPFNVNDEDMFLYGVLAEA	6	4.2e-016	20	B3
19	DDYSMLELIRHLLLED	9	2.1e-013	16	B3
20	MCGGAIISDYIPP	5	4.4e-013	13	B2

CMII-1将茄子中的3个成员归类至A5小亚族中。同样,我们根据拟南芥ERF亚族特征基序将茄子ERF分为B1 (CMVIII-1对应茄子基序16)、B2 (CMVII-1对应茄子基序20)、B3 (CMIX-2、CMIX4和CMIX-1对应茄子基序19、11和9)、B4 (CMX-1对应茄子基序15)、B5 (CMVI-1对应茄子基序10)和B6 (CMV-1对应茄子基序14) (图3、表4);其中每个小亚族含有ERF蛋白序列数量不同,其中A4和B3小亚族含有的蛋白序列最多(图2、表4)。

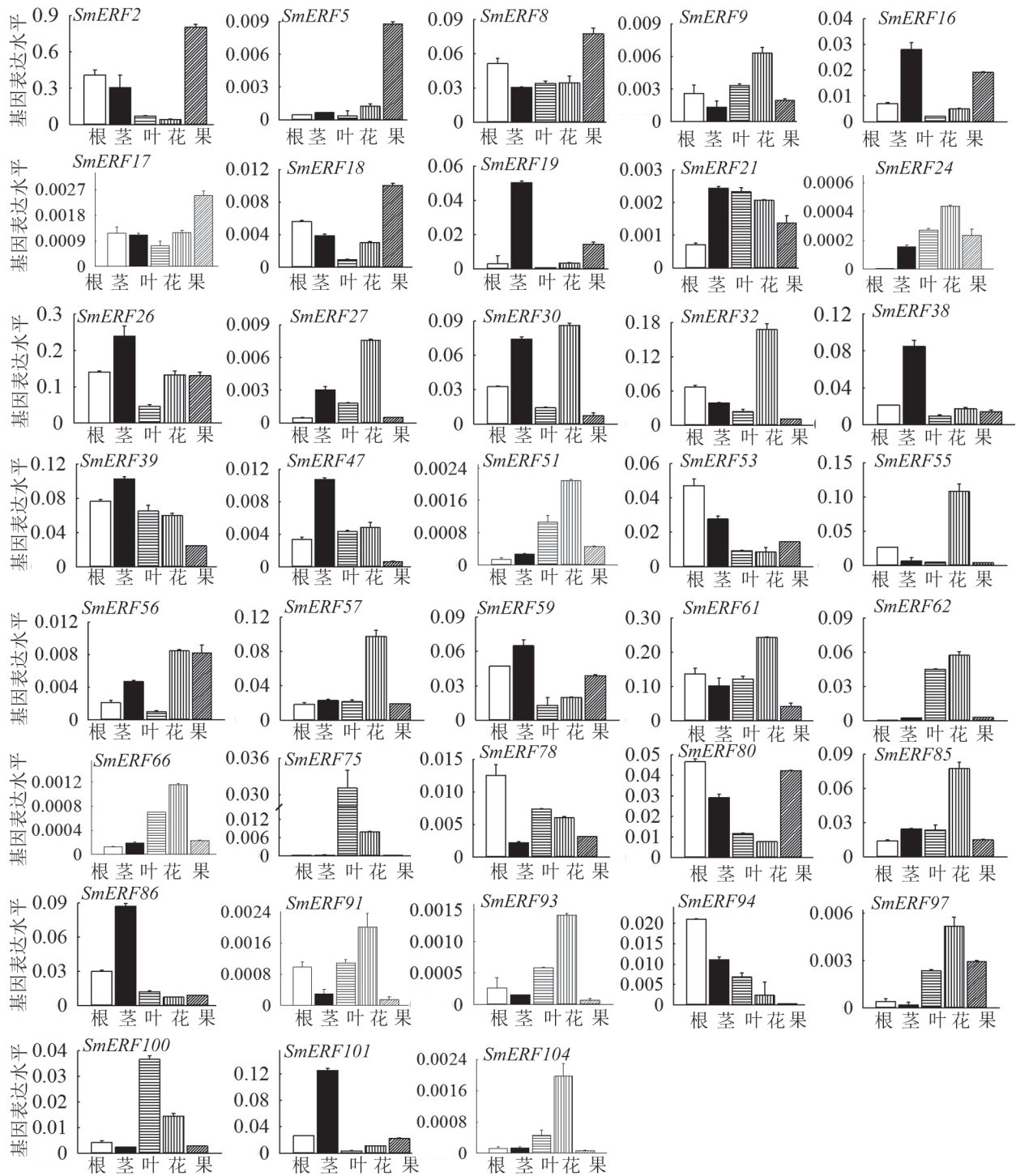
4 茄子*SmERF*基因的组织表达分析

选取茄子ERF亚族中的38个基因开展根、茎、叶、花及商品果中的表达分析,结果显示所选取的基因在茄子各组织或发育阶段基本都有表达(图4)。其中*SmERF2*、*SmERF5*、*SmERF8*、*SmERF16*、*SmERF17*、*SmERF18*、*SmERF56*和*SmERF80*在果中的表达较高;*SmERF9*、*SmERF21*、*SmERF24*、*SmERF27*、*SmERF30*、*SmERF32*、*SmERF51*、*SmERF55*、*SmERF56*、*SmERF57*、*SmERF61*、*SmERF62*、*SmERF66*、

SmERF75、*SmERF85*、*SmERF91*、*SmERF93*、*SmERF97*和*SmERF104*在花中的表达较高;*SmERF8*、*SmERF17*、*SmERF18*、*SmERF26*、*SmERF32*、*SmERF38*、*SmERF39*、*SmERF47*、*SmERF53*、*SmERF55*、*SmERF59*、*SmERF61*、*SmERF78*、*SmERF80*、*SmERF86*、*SmERF94*、*SmERF101*在根中有较强的表达水平;*SmERF9*、*SmERF21*、*SmERF24*、*SmERF51*、*SmERF62*、*SmERF66*、*SmERF75*、*SmERF78*、*SmERF85*、*SmERF91*、*SmERF93*、*SmERF100*、*SmERF104*在叶中有较高的表达;*SmERF16*、*SmERF19*、*SmERF21*、*SmERF26*、*SmERF30*、*SmERF36*、*SmERF39*、*SmERF47*、*SmERF56*、*SmERF59*、*SmERF80*、*SmERF86*、*SmERF94*、*SmERF101*在茎中表达水平较高。这些基因可能在茄子生长发育和器官构成中发挥重要作用。

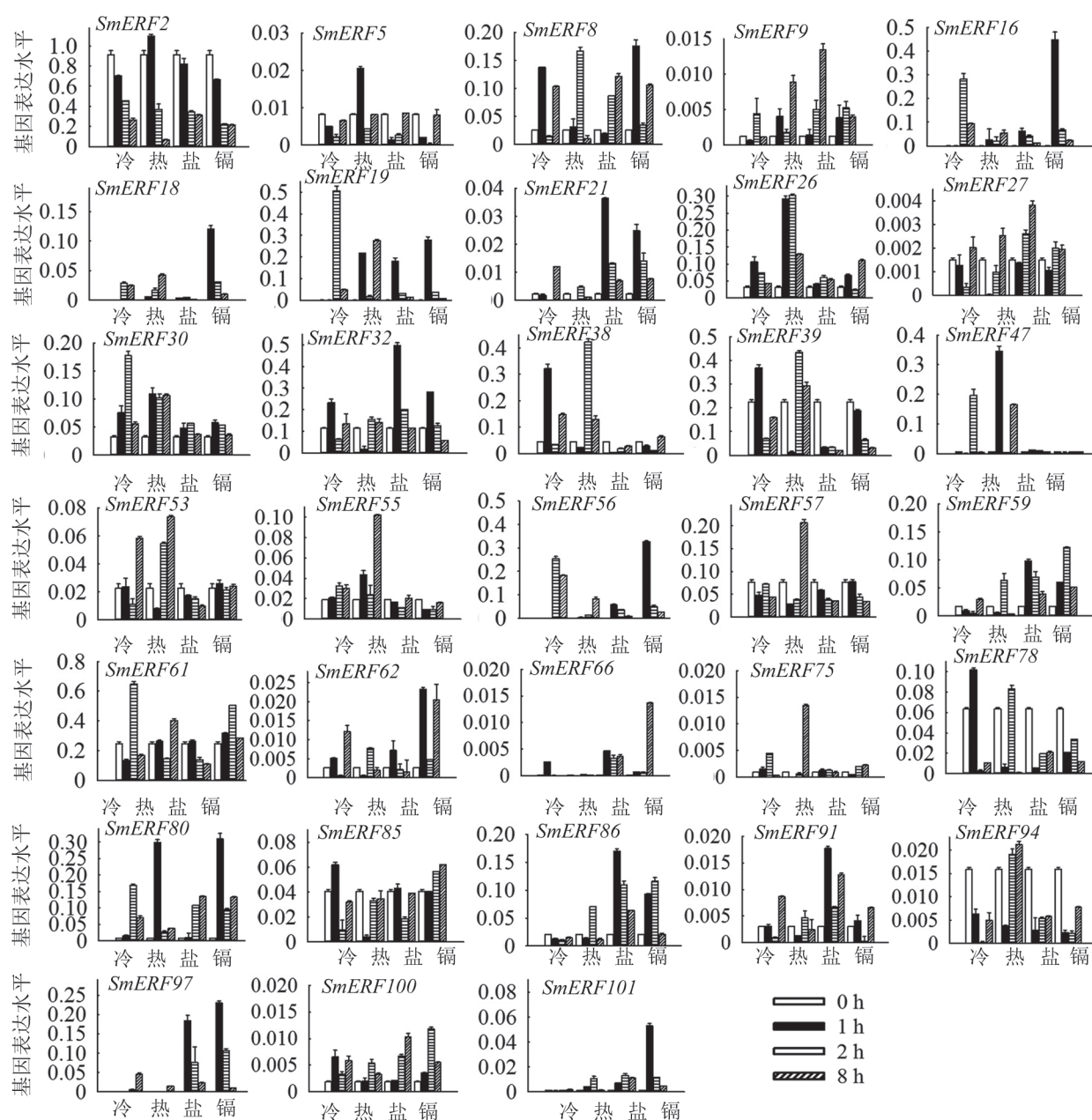
5 *SmERF*基因在氧化胁迫条件下的响应分析

为了检测茄子ERF基因对胁迫的应答反应,本文利用Q-PCR分析了33个*SmERF*基因在高温

图4 *SmERFs*基因在茄子器官中的表达分析Fig.4 Expression profiles of eggplant *SmERFs* genes in various organs

(42 °C)、低温(4 °C)、盐和重金属胁迫处理下的表达模式(图5)。结果表明: 在0~8 h内高温处理与低温处理呈现出明显不同的趋势; 在一定的时间

内, 高温处理表达值高时, 低温处理大多会表现出较低的表达值; 高温处理表达值低时, 低温处理同样会出现较高的表达值, 其中有22个基因(如

图5 *SmERF*基因在不同胁迫条件下的表达分析Fig.5 Expression profiles of *SmERF* genes under different abiotic stress treatments

SmERF8、*SmERF9*、*SmERF19*、*SmERF21*、*SmERF26*、*SmERF32*、*SmERF38*、*SmERF39*、*SmERF53*、*SmERF55*、*SmERF59*、*SmERF61*、*SmERF62*、*SmERF75*、*SmERF78*、*SmERF80*、*SmERF85*、*SmERF86*、*SmERF91*、*SmERF94*、*SmERF100*、*SmERF101*在高温和低温处理条件下呈对应互补的表达形式;在冷处理条件下有7个基因(*SmERF16*、*SmERF18*、*SmERF55*、

SmERF56、*SmERF80*、*SmERF97*、*SmERF101*)持续上调表达,有1个基因(*SmERF2*)持续下调表达;在高温处理条件下有8个基因(*SmERF16*、*SmERF18*、*SmERF26*、*SmERF30*、*SmERF56*、*SmERF75*、*SmERF100*、*SmERF101*)持续上调表达,有1个基因(*SmERF2*)持续下调表达;在盐处理条件下有11个基因(*SmERF8*、*SmERF9*、*SmERF26*、*SmERF27*、*SmERF59*、*SmERF66*、

SmERF75、*SmERF80*、*SmERF86*、*SmERF100*、*SmERF101*)持续上调表达,有5个基因(*SmERF2*、*SmERF39*、*SmERF53*、*SmERF57*、*SmERF61*)持续下调表达;在重金属镉处理条件下有7个基因(*SmERF9*、*SmERF30*、*SmERF59*、*SmERF61*、*SmERF85*、*SmERF86*、*SmERF100*)基本表现为上调表达且在长时间处理条件下有下调趋势,有4个

基因(*SmERF2*、*SmERF39*、*SmERF55*、*SmERF57*)持续下调表达。

对*SmERF*进行激素处理(ABA和SA)表达分析的结果显示(图6),两种激素处理在0 h~8h时间内表达趋势较为一致,如 *SmERF8*、*SmERF16*、*SmERF18*、*SmERF19*、*SmERF21*、*SmERF32*、*SmERF56*、*SmERF59*、*SmERF62*、*SmERF66*、

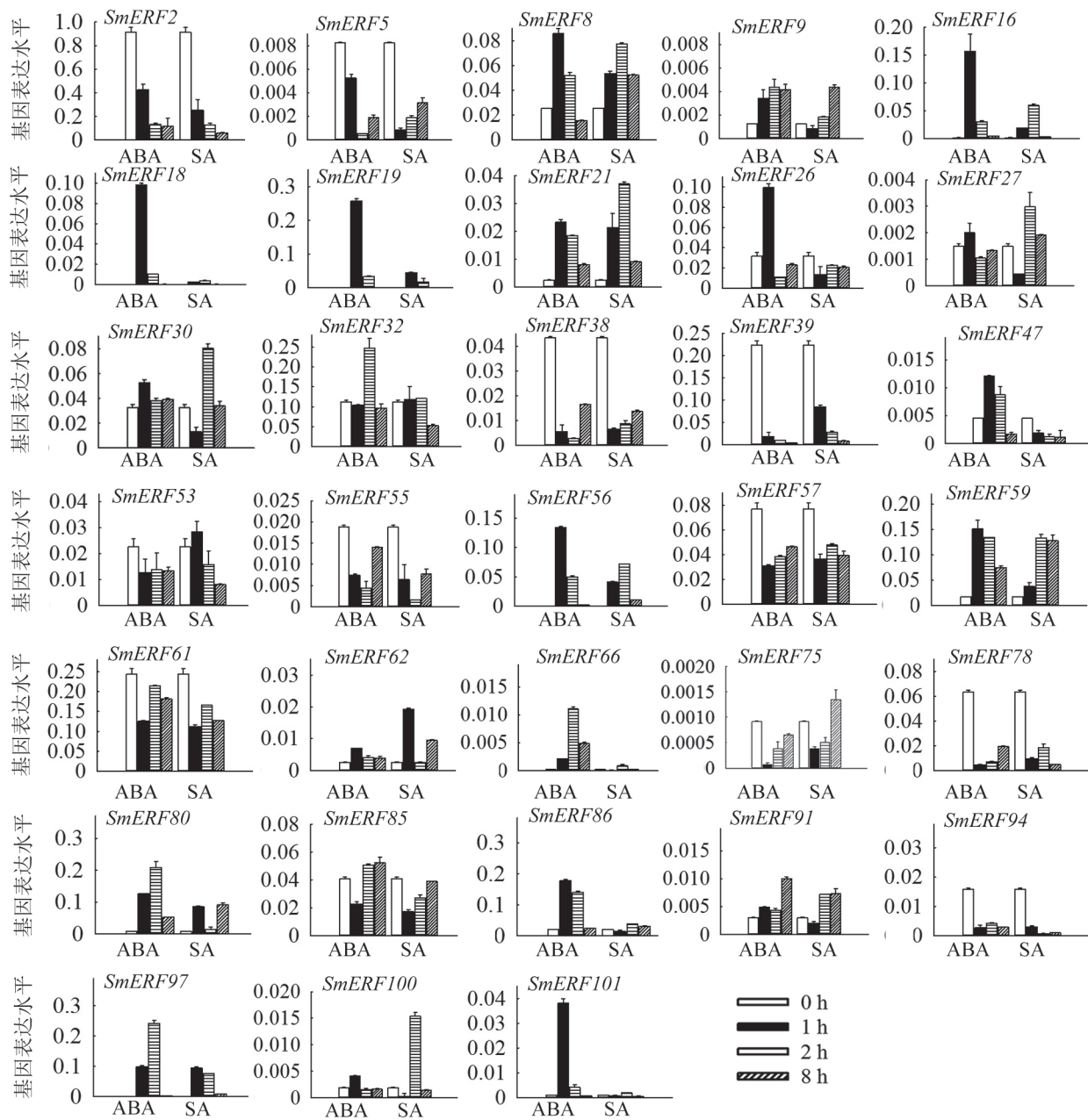


图6 *SmERF*基因在激素ABA和SA处理条件下的表达分析

Fig.6 Expression profiles of *SmERF* genes under ABA and SA treatments

SmERF80、*SmERF97*在0 h~8h内均表现出先增加后减少的趋势; *SmERF5*、*SmERF9*、*SmERF38*、*SmERF55*、*SmERF57*、*SmERF61*、*SmERF75*、*SmERF78*、*SmERF85*在0 h~8h中表现为先减少后增加的趋势。此外有5个基因(*SmERF26*、*SmERF27*、*SmERF30*、*SmERF91*、*SmERF100*)在0 h~8h内的变化趋势完全相反, 表现为在ABA水平上先增加后减少, 在SA水平上表现为先减少后增加的趋势。

讨 论

随着茄果类基因组测序的完成(Potato Genome Sequencing Consortium 2011; The Tomato Genome Consortium 2012; Kim等2014; Hirakawa等2014), 从全基因组层面鉴定和研究基因家族的分类、进化特征和功能预测是当前茄果类功能基因研究的热点(苏慧慧等2015)。国内外学者在模式植物拟南芥AP2/ERF转录因子家族及功能研究方面开展了较多的研究, 发现其主要参与植物生长发育、生物和非生物胁迫等过程(莫纪波等2011; 张计育等2012; 王洁琳等2013; 谢腾等2014)。Nakano等(2006)报道指出在拟南芥和水稻中分别含有147和157个AP2/ERF基因家族成员, 其中拟南芥中有122个基因属于DREB/CBF和ERF亚家族, 水稻中有139个基因属于ERF家族; Zhang等(2008a)报道了大豆148个AP2/ERF转录因子基因家族成员, 其中120个是ERF类; 在番茄和辣椒中分别含有168和123个AP2/ERF成员(Kim等2014), 在马铃薯中有中发现有155个AP2/ERF基因(Charfeddine等2015); 本研究利用拟南芥和番茄AP2/ERF转录因子在SGN数据库检索获得130个AP2/ERF转录因子, 其中AP2、RAV和ERF亚族分别含有20、2和108个成员; ERF亚族108个基因基于进化树分析结果表明, 其与番茄ERF成员关系较近, 有25个番茄ERF基因与茄子聚为一类, 而拟南芥则为17对; 这说明AP2/ERF转录因子在番茄和茄子的进化特征相似。

Nakano等(2006)将拟南芥122个ERF亚族分为11类, 每一类均含有其特定的保守基序。本研究通过MEME分析发现茄子108个ERF基因中含有20个基序; 根据拟南芥的分类标准结合AP2/ERF结构域

第14和19位氨基酸残基的差异, 将108个ERF基因分为DREB/CBF (41个)和ERF (67个)两个次亚家族; 并结合拟南芥中DREB/CBF (A1~A6)和ERF (B1~B6)保守基序将茄子分为11类, 其中A1 (CMIII-3, 保守基序7)、A2 (CMIV1, 保守基序13)、A4 (CMIII-1, 保守基序5)、A5 (CMII-1)、A6 (CMI-2, 保守基序17)分别含有8、7、17、3和6个成员, 其中在拟南芥中A3仅含有1个成员*AtERF52*进化分析表明该基因与*SmERF108*聚为一类。结合前人通过分析不同物种如拟南芥、水稻、大豆、大麦、苹果、小麦、玉米等中的AP2/ERF类转录因子成员发现, 该基因家族的结构和进化在物种间是相对保守的(张计育等2012)。

亚细胞定位分析发现, 在茄子108个成员中, 91个成员定位于细胞核中, 这与前人研究ERF转录因子定位于细胞核的结果基本一致(Charfeddine等2015)。组织表达分析表明, ERF家族基因在茄子各组织中基本都有表达, 且存在不同成员组织的表达存在差异, 大多数基因在果和花中表达较高, 这与前人报道的ERF蛋白参与果实发育相关(Licausi等2013; Yamasaki等2013), 可能预示茄子ERF基因也参与了花器官和果实的发育过程。对33个基因开展氧化胁迫分析发现, 大多数基因受胁迫诱导表达, 有22个基因在高温和冷胁迫条件下存在互补表达差异, 在高温和冷处理条件下分别有8和7个基因持续上调表达, 这与前人报道的ERF参与冷和热胁迫相关的研究结果一致(莫纪波等2011; 张计育等2012; 谢腾等2014; 刘志薇等2014); 在盐和镉处理条件下分别有11个和7个基因持续上调表达; 大多数基因受ABA和SA处理诱导表达。这为进一步研究茄子ERF转录因子家族基因的功能及机制提供了重要的依据。

参考文献

- 黄蔚, 王枫, 谭国飞, 徐志胜, 李梦瑶, 熊爱生(2014). 胡萝卜AP2/ERF-B1亚族两个转录因子的克隆及其非生物胁迫响应分析. 植物生理学报, 50 (8): 1184~1194
- 黎振兴, 李植良, 孙保娟, 罗少波(2013). 杂交一代茄子新品种‘农丰长茄’. 园艺学报, 40 (8): 1617~1618
- 李涛, 黎振兴, 罗少波, 李植良, 徐小万(2014). 东南亚茄子种质资源ISSR遗传多样性分析. 中国农学通报, 30 (25): 104~110
- 刘志薇, 熊洋洋, 李彤, 严雅君, 韩洪润, 吴致君, 庄静(2014). 茶树中两个ERF类转录因子的分离及不同茶树中温度胁迫的响应分

- 析. 植物生理学报, 50 (12): 1821~1832
- 莫纪波, 李大勇, 张慧娟, 宋凤鸣(2011). ERF转录因子在植物对生物和非生物胁迫反应中的作用. 植物生理学报, 47 (12): 1145~1154
- 苏慧慧, 李涛, 黎振兴, 李植良, 王永飞(2015). 番茄GRX基因家族的鉴定及表达分析. 核农学报, 29 (4): 663~673
- 谢腾, 王升, 周良云, 唐金富, 郭兰萍(2014). 新疆紫草AP2/ERF转录因子的电子克隆和生物信息学分析. 中国中药杂志, 39 (12): 2251~2257
- 王洁琳, 邹长松, 陆才瑞(2013). 陆地棉耐盐相关基因*GhERF79*的克隆与分析. 棉花学报, 25 (2): 95~102
- 张计育, 王庆菊, 郭忠仁(2012). 植物AP2/ERF类转录因子研究进展. 遗传, 34 (7): 44~56
- 周晓慧, 刘军, 庄勇(2014). 喀西茄内参基因实时荧光定量PCR表达稳定性评价. 园艺学报, 41 (8): 1731~1738
- Alonso JM, Stepanova AN, Leisse TJ, Kim CJ, Chen H, Shinn P, Stevenson DK, Zimmerman J, Barajas P, Cheuk R et al (2003). Genome-wide insertional mutagenesis of *Arabidopsis thaliana*. Science, 301 (5633): 653~657
- Aya K, Hobo T, Sato-Izawa K (2014). A novel AP2-type transcription factor, *SMALL ORGAN SIZE1*, controls organ size downstream of an auxin signaling pathway. Plant Cell Physiol, 55 (5): 897~912
- Boutillier K, Offringa R, Sharma VK, Kieft H, Ouellet T, Zhang L, Hattori J, Liu CM, van Lammeren AA, Miki BL et al (2002). Ectopic expression of BABY BOOM triggers a conversion from vegetative to embryonic growth. Plant Cell, 14 (8): 1737~1749
- Cao PB, Azar S, SanClemente H, Mounet F, Dunand C, Marque G, Marque C, Teulieères C (2015). Genome-wide analysis of the AP2/ERF family in eucalyptus grandis: an intriguing over-representation of stress-responsive. PLoS ONE, 10 (4): e0121041
- Charfeddine M, Saïdi MN, Charfeddine S, Hammami A, Gargouri BR (2015). Genome-wide analysis and expression profiling of the erf transcription factor family in potato (*Solanum tuberosum* L.). Mol Biotechnol, 57 (4): 348~358
- Chakravarthy S, Tuori RP, D'Ascenzo MD, Fobert PR, Despres C, Martin GB (2003). The tomato transcription factor *Pti4* regulates defense-related gene expression via GCC box and non-GCC box cis elements. Plant Cell, 15 (12): 3033~3050
- Chen X, Guo Z (2008). Tobacco *OPBP1* enhances salt tolerance and disease resistance of transgenic rice. Int J Mol Sci, 9 (12): 2601~2613
- Chuck G, Meeley RB, Hake S (1998). The control of maize spikelet meristem fate by the *APETALA2*-like gene *indeterminate spikelet1*. Genes Dev, 12 (8): 1145~1154
- Du D, Hao R, Cheng T, Pan H, Yang W, Wang J, Zhang Q (2013). Genome-wide analysis of the AP2/ERF gene family in *Prunus mume*. Plant Mol Biol Rep, 31 (3): 741~750
- Du H, Huang M, Zhang Z, Cheng S (2014). Genome-wide analysis of the AP2/ERF gene family in maize waterlogging stress response. Euphytica, 198 (1): 115~126
- Elliott RC, Bentzner AS, Huttner E, Oaker MP, Tucker WQ, Gerentes D, Perez P, Smyth DR (1996). *AINTEGUMENTA*, an *APETALA2*-like gene of *Arabidopsis* with pleiotropic roles in ovule development and floral organ growth. Plant Cell, 8 (2): 155~168
- Fischer U, Droge-Laser W (2004). Overexpression of *NiERF5*, a new member of the tobacco ethylene response transcription factor family enhances resistance to tobacco mosaic virus. Mol Plant Microbe In, 17 (10): 1162~1171
- Gao S, Zhang H, Tian Y, Li F, Zhang Z, Lu X, Chen X, Huang R (2008). Expression of *TERF1* in rice regulates expression of stress-responsive genes and enhances tolerance to drought and high-salinity. Plant Cell Rep, 27 (11): 1787~1795
- Girardi CL, Rombaldi CV, Dal CJ, Nobile PM, Laurens F, Bouzayen M, Quecini V (2013). Genome-wide analysis of the AP2/ERF superfamily in apple and transcriptional evidence of ERF involvement in scab pathogenesis. Sci Horti, 151 (28): 112~121
- Gu YQ, Wildermuth MC, Chakravarthy S (2002). Tomato transcription factors *pti4*, *pti5*, and *pti6* activate defense responses when expressed in *Arabidopsis*. Plant Cell, 14 (4): 817~831
- Guo ZJ, Chen XJ, Wu XL, Ling JQ, Xu P (2004). Overexpression of the AP2/EREBP transcription factor OPBP1 enhances disease resistance and salt tolerance in tobacco. Plant Mol Biol, 55 (4): 607~618
- Gutterson N, Reuber TL (2004). Regulation of disease resistance pathway by AP2/ERF transcription factors. Curr Opin Plant Biol, 7 (4): 26857~26861
- Hao DY, Ohme-Takagi M, Sarai A (1998). Unique mode of GCC box recognition by the DNA-binding domain of ethylene responsive element-binding factor (ERF domain) in plants. J Biol Chem, 273 (41): 26857~26861
- Hirakawa H, Shirasawa K, Miyatake K, Nunome T, Negoro S, Ohyama A, Yamaguchi H, Sato S, Isobe S, Tabata S et al (2014). Draft genome sequence of eggplant (*Solanum melongena* L.): the representative *Solanum* species indigenous to the old world. DNA Res, 21 (6): 649~660
- Horton P, Park KJ, Obayashi T, Fujita N, Harada H, Adams-Collier CJ, Nakai K (2007). WoLF PSORT: protein localization predictor. Nucleic Acids Res, 35: 585~587
- Hu YX, Wang YX, Liu XF, Li JY (2004). *Arabidopsis* RAV1 is down-regulated by brassinosteroid and may act as a negative regulator during plant development. Cell Res, 14 (1): 8~15
- Hu LF, Liu SQ (2011). Genome-wide identification and phylogenetic analysis of the ERF gene family in cucumbers. Genet Mol Biol, 34 (4): 624~633
- Huang Z, Zhang Z, Zhang X, Zhang H, Huang D, Huang R (2004). Tomato *TERF1* modulates ethylene response and enhances osmotic stress tolerance by activating expression of downstream genes. FEBS Lett, 573 (13): 110~116
- Jofuku KD, den Boer BG, Van Montagu M, Okamoto JK (1994). Control of *Arabidopsis* flower and seed development by the homeotic gene *APELATA2*. Plant Cell, 6 (9): 1211~1225
- Kagaya Y, Ohmiya K, Hattori T (1999). RAV1 a novel DNA-binding protein, binds to bipartite recognition sequence through two distinct DNA-binding domains uniquely found in higher plants. Nucleic Acids Res, 27 (2): 470~478
- Kim S, Park M, Yeom SI, Kim YM, Lee JM, Lee HA, Seo E, Choi J, Cheong K, Kim KT (2014). Genome sequence of the hot pepper

- provides insights into the evolution of pungency in *Capsicum* species. *Nat Genet*, 46 (3): 270~278
- Lai Y, Dang F, Lin J, Yu L, Shi Y, Xiao Y, Huang M, Lin J, Chen C, Qi A et al (2013). Overexpression of a Chinese cabbage *BrERF11* transcription factor enhances disease resistance to *Ralstonia solanacearum* in tobacco. *Plant Physiol Biochem*, 62: 70~78
- Lai Y, Dang F, Lin J, Yu L, Lin J, Lei Y, Chen C, Liu Z, Qiu A, Mou S et al (2014). Overexpression of a pepper *CaERF5* gene in tobacco plants enhances resistance to *Ralstonia solanacearum* infection. *Funct Plant Biol*, 41 (7): 758~767
- Lee JH, Hong JP, Oh SK, Lee S, Choi D, Kim WT (2004). The ethylene-responsive factor like protein 1 (*CaERFLP1*) of hot pepper (*Capsicum annuum* L.) interacts *in vitro* with both GCC and DRE/CRT sequences with different binding affinities: possible biological roles of *CaERFLP1* in response to pathogen infection and high salinity conditions in transgenic tobacco plants. *Plant Mol Biol*, 55 (1): 61~81
- Letunic I, Doerks T, Bork P (2012). SMART 7: recent updates to the protein domain annotation resource. *Nucleic Acids Res*, 40 (D1): 302~305
- Li CW, Su RC, Cheng CP, Sanjaya-You SJ, Hsieh TH, Chao TC, Chan MT (2011). Tomato RAV transcription factor is a pivotal modulator involved in the AP2/EREBP-mediated defense pathway. *Plant Physiol*, 156 (1): 213~227
- Li MY, Wang F, Jiang Q, Li R, Ma J, Xiong AS (2013). Genome-wide analysis of the distribution of AP2/ERF transcription factors reveals duplication and elucidates their potential function in chinese cabbage (*Brassica rapa* ssp. *pekinensis*). *Plant Mol Biol Rep*, 31 (4): 1002~1011
- Li MY, Xu ZS, Huang Y, Tian C, Wang F, Xiong AS (2015). Genome-wide analysis of AP2/ERF transcription factors in carrot (*Daucus carota* L.) reveals evolution and expression profiles under abiotic stress. *Mol Genet Genomics*, doi: 10.1007/s00438-015-1061-3
- Licausi F, Ohme-Takagi M, Perata P (2013). APETALA2/Ethylene Responsive Factor (AP2/ERF) transcription factors: Mediators of stress responses and developmental programs. *New Phytol*, 199 (3): 639~649
- Liu Z, Kong L, Zhang M, Lv Y, Liu Y, Zou M, Lu G, Cao J, Yu X (2013). Genome-wide identification, phylogeny, evolution and expression patterns of AP2/ERF genes and cytokinin response factors in *Brassica rapa* ssp. *pekinensis*. *PLoS ONE*, 8 (12): e83444
- Ma Y, Zhang F, Bade R, Daxibater A, Men Z, Hasi A (2014). Genome-wide identification and phylogenetic analysis of the ERF gene family in melon. *J Plant Growth Regul*, 34 (1): 66~77
- Meng X, Li F, Liu C, Zhang C, Wu Z, Chen Y (2009). Isolation and characterization of an ERF transcription factor gene from cotton (*Gossypium barbadense* L.). *Plant Mol Biol Rep*, 28 (1): 176~183
- Nakano T, Suzuki K, Fujimura T, Shinshi H (2006). Genome-wide analysis of the ERF gene family in *Arabidopsis* and rice. *Plant Physiol*, 140 (2): 411~432
- Ohme-Takagi M, Shinshi H (1995). Ethylene-inducible DNA binding proteins that interact with an ethylene-responsive element. *Plant Cell*, 7 (2): 173~182
- Pan IC, Li CW, Su RC, Cheng CP, Lin CS, Chan MT (2010). Ectopic expression of an EAR motif deletion mutant of *SlERF3* enhances tolerance to salt stress and *Ralstonia solanacearum* in tomato. *Planta*, 232 (5): 1075~1086
- Park JM, Park CJ, Lee SB (2001). Over-expression of the tobacco *Tsi1* gene encoding an EREBP/AP2-type transcription factor enhances resistance against pathogen attack and osmotic stress in tobacco. *Plant Cell*, 13 (5): 1035~1046
- Potato Genome Sequencing Consortium (2011). Genome sequence and analysis of the tuber crop potato. *Nature*, 475 (7355): 189~195
- Punta M, Coggill PC, Eberhardt RY, Mistry J, Tate J, Boursnell C, Pang N, Forslund K, Ceric G, Clements J (2012). The Pfam protein families database. *Nucleic Acids Res*, 40: 290~301
- Quan R, Hu S, Zhang Z, Zhang H, Huang R (2010). Overexpression of an ERF transcription factor *TSRF1* improves rice drought tolerance. *Plant Biotechnol J*, 8 (4): 476~488
- Rao G, Sui J, Zeng Y, He C, Zhang J (2015). Genome-wide analysis of the AP2/ERF gene family in *Salix arbutifolia*. *FEBS Open Bio*, 24 (5): 132~137
- Rashid M, Guangyuan H, Guangxiao Y, Hussain J, Xu Y (2012). AP2/ERF transcription factor in rice: Genome-wide canvas and syntenic relationships between monocots and eudicots. *Evol Bioinform*, (8): 321~355.
- Sakuma Y, Liu Q, Dubouzet JG, Abe H, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K (2002). DNA-binding specificity of the ERF/AP2 domain of *Arabidopsis* DREBs transcription factors involved in dehydration and cold-inducible gene expression. *Biochem Biophys Res Commun*, 290 (3): 998~1009
- Sharma MK, Kumar R, Solanke AU, Sharma R, Tyagi AK, Sharma AK (2010). Identification, phylogeny, and transcript profiling of ERF family genes during development and abiotic stress treatments in tomato. *Mol Genet and Genomics*, 284 (6): 455~475
- Sohn KH, Sung Chul Lee SC, Jung HW, Hong JK, Kook Hwang BK (2006). Expression and functional roles of the pepper pathogen-induced transcription factor *RAV1* in bacterial disease resistance, and drought and salt stress tolerance. *Plant Mol Biol*, 61 (6): 897~915
- Song X, Li Y, Hou X (2013). Genome-wide analysis of the AP2/ERF transcription factor superfamily in Chinese cabbage (*Brassica rapa* ssp. *pekinensis*). *BMC Genomics*, 14: 573
- Sun ZM, Zhou ML, Xiao XG, Tang YX, Wu YM (2014). Genome-wide analysis of AP2/ERF family genes from *Lotus corniculatus* shows *LcERF054* enhances salt tolerance. *Funct Integr Genomics*, 14 (3): 453~466
- Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S (2011). MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol Biol Evol*, 28 (10): 2731~2739
- Thomashow MF (1999). PLANT COLD ACCLIMATION: freezing tolerance genes and regulatory mechanisms. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 50: 571~599
- Thamilarasan SK, Park JI, Jung HJ, Nou IS (2014). Genome-wide

- analysis of the distribution of AP2/ERF transcription factors reveals duplication and *CBFs* genes elucidate their potential function in brassica oleracea. *BMC Genomics*, 15 (1): 1002~1011
- The Tomato Genome Consortium (2012). The tomato genome sequence provides insights into fleshy fruit evolution. *Nature*, 485 (7400): 635~641
- Thompson JD, Gibson TJ, Plewniak F (1997). The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Res*, 25 (24): 4876~4882
- Tian Y, Zhang H, Pan X, Chen X, Zhang Z, Lu X, Huang R (2011). Overexpression of ethylene response factor *TERF2* confers cold tolerance in rice seedlings. *Transgenic Res*, 20 (4): 857~866
- Wang H, Huang Z, Chen Q, Zhang Z, Zhang H, Wu Y, Huang D, Huang R (2004). Ectopic overexpression of tomato *JERF3* in tobacco activates downstream gene expression and enhances salt tolerance. *Plant Mol Biol*, 55 (2): 183~192
- Wu L, Chen X, Ren H, Zhang Z, Zhang H, Wang J, Wang XC, Huang R (2007). ERF protein *JERF1* that transcriptionally modulates the expression of abscisic acid biosynthesis-related gene enhances the tolerance under salinity and cold in tobacco. *Planta*, 226 (4): 815~825
- Wu L, Zhang Z, Zhang H, Wang XC, Huang R (2008). Transcriptional modulation of ethylene response factor protein *JERF3* in the oxidative stress response enhances tolerance of tobacco seedlings to salt, drought, and freezing. *Plant Physiol*, 148 (4): 1953~1963
- Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K (1994). A novel *cis*-acting element in an *Arabidopsis* gene is involved in responsiveness to drought, low-temperature, or high-salt stress. *Plant Cell*, 6 (2): 251~264
- Yamasaki K, Kigawa T, Seki M (2013). DNA-binding domains of plant-specific transcription factors: Structure, function, and evolution. *Trends Plant Sci*, 18: 267~276
- Yan HW, Hong L, Zhou YQ, Jiang HY, Zhu SW, Fan J, Cheng BJ (2013). A genome-wide analysis of the ERF gene family in sorghum. *Genet and Mol Res*, 12 (2): 2038~2055
- Zhang CH, Shangguan LF, Ma RJ, Sun X, Tao R, Guo L, Korir NK, Yu ML (2012). Genome-wide analysis of the AP2/ERF superfamily in peach (*Prunus persica*). *Genet Mol Res*, 11 (4): 4789~4809
- Zhang G, Chen M, Chen X, Xu Z, Guan S, Li LC, Li A, Guo J, Mao L, Ma Y (2008a). Phylogeny, gene structures, and expression patterns of the ERF gene family in soybean (*Glycine max* L.). *J Exp Bot*, 59 (15): 4095~4107
- Zhang H, Huang Z, Xie B, Chen Q, Tian X, Zhang X, Lu X, Huang D, Huang R (2004). The ethylene-, jasmonate-, abscisic acid- and NaCl-responsive tomato transcription factor *JERF1* modulates expression of GCC box-containing genes and salt tolerance in tobacco. *Planta*, 220 (2): 262~270
- Zhang H, Liu W, Wan L (2010). Functional analyses of ethylene response factor *JERF3* with the aim of improving tolerance to drought and osmotic stress in transgenic rice. *Transgenic Res*, 19 (5): 809~818
- Zhang H, Yang Y, Zhang Z, Chen J, Wang XC, Huang R (2008b). Expression of the ethylene response factor gene *TSRF1* enhances abscisic acid responses during seedling development in tobacco. *Planta*, 228 (5): 777~787
- Zhang Z, Huang R (2010). Enhanced tolerance to freezing in tobacco and tomato overexpressing transcription factor *TERF2/LeERF2* is modulated by ethylene biosynthesis. *Plant Mol Biol*, 73 (3): 241~249
- Zhang X, Zhang Z, Chen J, Chen Q, Wang XC, Huang R (2005). Expressing *TERF1* in tobacco enhances drought tolerance and abscisic acid sensitivity during seedling development. *Planta*, 222 (3): 494~501
- Zhuang J, Cai B, Peng RH, Zhu B, Jin XF, Xue Y, Gao F, Fu XY, Tian YS, Zhao W et al (2008). Genome-wide analysis of the AP2/ERF gene family in *Populus trichocarpa*. *Biochem Biophys Res Commun*, 371 (3): 468~474
- Zhuang J, Peng RH, Cheng ZM, Zhang J, Cai B, Zhang Z, Gao F, Zhu B, Fu XY, Jin XF et al (2009). Genome-wide analysis of the putative AP2/ERF family genes in *Vitis vinifera*. *Sci Hort*, 123 (1): 73~81
- Zhou ML, Tang YX, Wu YM (2012). Genome-wide analysis of AP2/ERF transcription factor family in *Zea mays*. *Curr Bioinform*, 7 (3): 324~332