

生长素反应因子 *ZmARF1* 的表达 分析及互作网络探究

孙建军¹, 郭玉玺¹, 王 瑞¹, 王德新¹, 郭子宁², 帖 奇¹, 鲁晓民¹

(1. 河南省农业科学院粮食作物研究所, 郑州 450002; 2. 河南省农业科学院科技成果示范推广处, 郑州 450002)

摘 要: 以抗旱型玉米自交系郑 36 和弱抗旱型玉米自交系 B73 为试验材料, 利用克隆、qRT-PCR、亚细胞定位、互作蛋白预测等手段验证 *ZmARF1* (GRMZM2G702026) 对干旱胁迫的响应模式及初步探究 *ZmARF1* 基因的互作网络。克隆及测序分析表明, 该基因含有 1 个 2 034 bp 的开放阅读框, 翻译 677 个氨基酸。蛋白分析表明, 该蛋白无跨膜域, 属于高亲水性蛋白, 亚细胞定位于细胞核。潜在磷酸化位点分析显示, *ZmARF1* 蛋白含有潜在的丝氨酸、苏氨酸和酪氨酸磷酸化位点数目分别为 39、16、6 个。复合进化树、功能域和保守 motif 分析表明, 该基因蛋白与其他物种同源性较高, 说明不同物种该基因在功能上较保守。*ZmARF1* 属于组成型表达基因, 受干旱胁迫的正向诱导, 且郑 36 基因表达量上升幅度大于 B73。预测的互作功能蛋白主要通过调节激素应答基因的表达、参与激素介导的信号等途径, 来调控植物对逆境的胁迫应答和生长发育等过程。

关键词: 玉米; 生长素; 响应因子; 蛋白结构; 干旱胁迫; 生长发育

中图分类号: S513.035.3

文献标识码: A

Expression Analysis and Interaction Network of Auxin Reactive Factor *ZmARF1*

SUN Jian-jun¹, GUO Yu-xi¹, WANG Rui¹, WANG De-xin¹, GUO Zi-ning², TIE Qi¹, LU Xiao-min¹

(1. Grain Crop Research Institute, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002;

2. Demonstration and Extension Division of Science and Technology Achievements,
Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: Drought-resistant Zheng 36 and weak drought-resistant B73 were used as experimental materials. Cloning and sequencing analysis indicated that the gene contained a 2034 bp open reading frame and translated 677 amino acids. Protein analysis showed that the protein has no transmembrane domain and belongs to a highly hydrophilic protein. The subcellular localization is located in the nucleus. Analysis of potential phosphorylation sites revealed that the *ZmARF1* protein contains 39, 16, and 6 potential serine, threonine, and tyrosine phosphorylation sites, respectively. The composite phylogenetic tree, functional domain and conserved motif analysis indicated that the homologous gene was highly homologous to other species, indicating that the gene is functionally conserved in different species. *ZmARF1* is a constitutively expressed gene, which is positively induced by drought stress, and the expression level of Zheng 36 gene is increased more than B73. The predicted interaction function proteins mainly regulate the stress response and growth and development of plants under stress by regulating hormone response gene expression and participating in hormone-mediated signaling.

Key words: Maize; Auxin; Response factor; Protein structure; Drought stress; Growth and development

录用日期: 2019-06-28

基金项目: 物种品种资源保护费项目(111821301354051029)

作者简介: 孙建军(1977-), 河南潢川人, 博士, 副研究员, 主要从事水稻栽培生理和 DUS 测试工作。

E-mail: 22637217@qq.com

生长素是最早发现的一类植物激素, 调节或影响植物不同的生理水平如根的发生、向性运动和顶端优势等, 亦可促进细胞扩大、分裂和分化等。近几年, 更多的学者关注其在分子水平上调控基因特异性表达的机制^[1,2]。生长素响应因子(Auxin response factor, ARF)正是这样的一类在接受上游传来的信号

后,特异性的与下游生长素响应基因中的生长素响应元件(auxin response elements, AuxRE)TGTCTC 结合,抑制或激活这些基因的表达,进而调控植物的生长发育。

目前,已从水稻、拟南芥、苹果、大麦、玉米等植物中发现 ARF 类基因,但在动物和微生物中尚未有发现,说明 ARF 类基因或许是植物特有的^[5]。自 1997 年第 1 个 ARF 基因 *ARF1* 被鉴定以来,已有众多的 ARF 基因从植物中分离出来^[6]。研究表明,ARF 蛋白的分子量在 70~130 KD 之间,含有 3 个保守的结构域,分别称为 N 末端 B3 DNA 结合结构域(DBD),可直接结合下游基因启动子的 AuxREs;中间区域(Auxin-resp)结构具有激活或抑制活性,具有激活或抑制转录因子活性的功能;作为 C 末端二聚化结构域(CTD),也就是 AUX/IAA 结构,可调节 ARFs 与 AuxREs 的结合从而调控生长素影响基因的表达^[7~9]。

目前,在高粱、拟南芥、水稻、黄瓜、苹果、杨树和玉米中分别发现 26、23、25、18、29、39、31 个 ARF 成员^[10~13]。拟南芥中,*AtARF3* 参与花器官的发育^[14];*AtARF5* 作为生长素反应的转录激活因子,在维管组织形成和发育中起作用^[15];*AtARF2* 参与调节乙烯和生长素调节下胚轴的信号通路^[16]。水稻中,*OsARF1* 对营养器官和生殖器官的发育都起着重要作用^[17]。辣椒中,*CaARF19* 在高盐胁迫下表达量呈下调趋势,相反 *CaARF9* 和 *CaARF3* 随着处理时间的增加表达量呈上升趋势,受高盐胁迫的正向诱导^[18]。坚果转录组测序表明,有 11 个 *ARFs* 基因响应早或盐胁迫^[19]。对激素胁迫的玉米转录组测序发现,7 个 ARF 类基因受到生长素胁迫后表达量显著上升^[13]。

ARFs 类基因研究多集中在生物信息分析家族结构域、进化、组织表达、转录组测序层面和植物的器官发育相关研究上,对 *ARF* 基因在非生物胁迫时的功能报道甚少,尤其是玉米上对 *ARF* 基因的非生物胁迫下表达模式及响应机制几乎没有实验性的报道。本研究利用克隆、qRT-PCR、亚细胞定位、互作蛋白预测等手段验证 *ZmARF1*(GRMZM2G702026) 对干旱胁迫的响应模式及初步探究 *ZmARF1* 基因的互作网络,为进一步研究 ARF 类基因在玉米逆境胁迫和生长发育中的作用提供参考,亦为挖掘抗旱相关分子资源进而培育抗旱品种奠定基础。

1 材料与方法

1.1 供试材料

以河南省农业科学院粮食作物研究所提供的自

选系郑 36(抗旱型)和常用系 B73(弱抗旱型)为试验材料。取大田正常生长的 B73 的主根、次根、成熟叶、雄穗、雌穗、胚和花粉作为时空表达的样品。温室内 B73 和郑 36 植株生长条件为,30℃光照培养 16 h、26℃暗培养 16 h,相对湿度为 30%~50%;当 B73 和郑 36 长至 3 叶 1 心时,对长势一致的玉米苗进行处理,分别为 CK(Hoagland 营养液)、PEG 处理(Hoagland 营养液+20% PEG),在胁迫 8 h 时取每个处理材料的叶片,3 株相同部位混在一起为 1 个样品,每个部位共取 3 个样品,且样品迅速放入液氮,存于-80℃超低温冰箱。

1.2 总 RNA 提取及 cDNA 的合成和 qRT-PCR 定量及数据分析

利用 EasyPure RNA Purification Kit 提取郑 36 和 B73 的总 RNA,根据 Tanscrip One-Step gDNA Removal and cDNA Synthesis 试剂盒所提供的程序进行反转录,合成 cDNA。

根据基因序列设计特异荧光引物(*ZmARF1*-RTF:GGTCATATGGAACAGCTTGA 和 *ZmARF1*-RTR:TGGTGGGCTCACTTTGCT),退火温度为 58℃,扩增片段为 196 bp。以玉米 18S 为内参,设计引物 18S1:5'-CCTGCGGCTTAATTGACTC-3';18S2:5'-GTTAGCAGGCTGAGGTCTGG-3'。利用 CFX96 实时荧光定量 PCR 仪(Bio-Rad, USA),参考 SYBR Premix Ex TaqTM(TaKaRa, Japan)试剂盒说明书,采用两步法进行 Real-time PCR:95℃预变性 30 s;95℃变性 15 s,60℃变性 30 s,共进行 40 个循环。采用上述引物和方法,以反转录的不同部位和旱胁迫处理的 cDNA 为模板进行荧光定量。根据 $2^{-\Delta\Delta CT}$ ($\Delta CT = CT_{\text{目标基因}} - CT_{\text{内参基因}}$, $\Delta\Delta CT = \Delta CT_{\text{处理后}} - \Delta CT_{\text{对照}}$)法进行数据处理。

1.3 *ZmARF1* 转录因子 cDNA 克隆

用 BLAST 在线工具搜索 *ZmARF1*(GRMZM2G702026)基因序列,设计特异扩增引物(*ZmARF1*-F:5'-ATGGCGGAGGCCCGGCGT-3' 和 *ZmARF1*-R:5'-TCAGTCCTTATCAGCAGCA-3'),扩增产物连接 PMD18-T 并转化大肠杆菌 DH5 α 感受态,挑选阳性单克隆在北京华大测序,并利用 NCBI 数据库比对测序结果。

1.4 *ZmARF1* 转录因子生物信息分析

使用 EXPASY 中的 protparam 在线对该基因氨基酸序列等电点(PI)、蛋白分子量(MW)等属性计算;分别利用 ProtScale、TMHMM Server V 和 SOPMA 分析 *ZmARF1* 的蛋白疏水性、蛋白的跨膜结构和蛋白的二级结构,ExPASy 网站的 NetPhoS 预测蛋白序列

的磷酸化位点;利用 MEGA 软件中的 NJ 法构建该蛋白与其他物种同源蛋白的系统发育树;使用 meme 在线分析工具对该基因的蛋白保守基序(motif)分析,基序的最大数目设置为8;利用 STRING 在线工具预测 *ZmARF1* 的互作基因。

1.5 *ZmARF1*的亚细胞定位

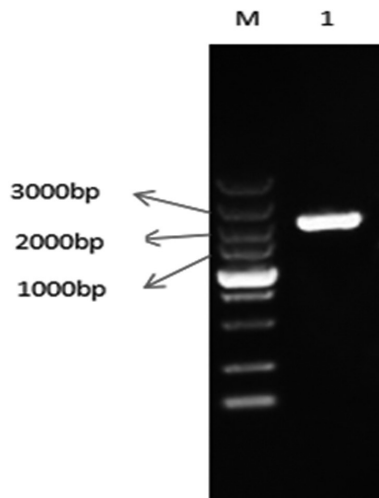
用引物 *ZmARF1*-83-GFP-F:5'-CTAGACTAG-TATGGCGGAGGCCGCGT-3'和 *ZmARF1*-83-GFP-R: 5'-TTGGCGCGCCCAGTCCTTATCAGCAGCA-3' (画线部分为分别为 *SpeI* 和 *AscI* 酶切位点)扩增 *ZmARF1*,经 *SpeI* 和 *AscI* 双酶切 *ZmARF1* 和过表达载体 pMDC83 后用 T4-DNA 连接酶连接,转化并进行测序验证。采用热激法将正确的重组质粒转至农杆菌 EHA105 感受态细胞中,含阳性克隆的农杆菌重悬液采用注射法浸染4~6叶期的本氏烟叶片,48 h 后将注射孔部位的叶片表皮组织倒置于共聚焦荧光显微镜,观察本氏烟表皮细胞内绿色荧光蛋白表达情况。

2 结果与分析

2.1 *ZmARF1*克隆和蛋白结构分析

利用 RT-PCR 技术扩增 *GRMZM2G702026* 基因,分离得到大小为2 000 bp左右的特异条带,测序结果显示,序列包含1个完整的2 034 bp的开放阅读框(图1),翻译677个氨基酸,与B73序列一致,暂时命名为 *ZmARF1*。蛋白结构分析,*ZmARF1* 相对分子质量为75.14 KDa,理论等电点为6.30,亲水性系数

(GRAVY)为-2.867,属于高亲水性蛋白。PHD跨膜螺旋区预测结果显示,该蛋白无跨膜结构域。PROF 预测显示,无规则卷曲(I)为70.75%, β 折叠结构(E)为20.24%, α 螺旋结构(H)为9.01%,该蛋白结构主要以无规则卷曲为主。NetPhoS 分析显示,该基因蛋白有39个丝氨酸位点、16个苏氨酸位点和6个酪氨酸位点。

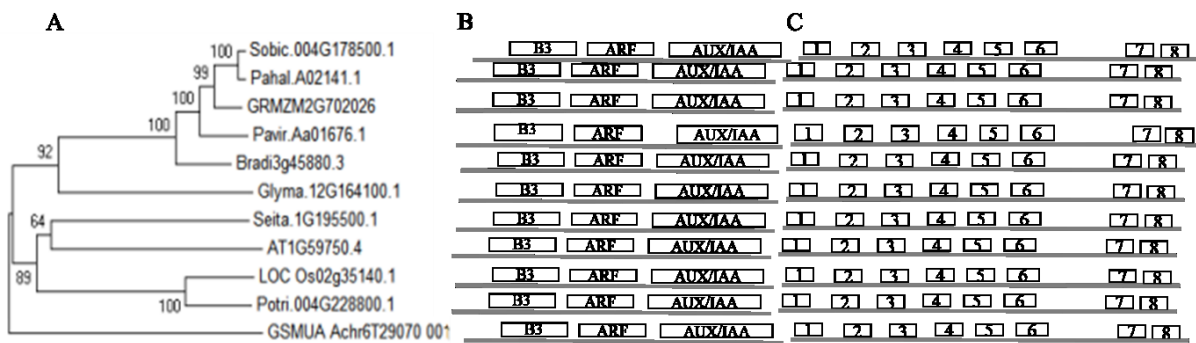


注:M为Trans5K DNA Marker;泳道1为 *ZmARF1* PCR 扩增产物。
Note: M is Trans5K DNA Marker; lane 1 is *ZmARF1* PCR amplification product.

图1 *ZmARF1*基因的cDNA电泳图

Fig.1 Electrophoresis result of the *ZmARF1* cDNA

2.2 *ZmARF1*的系统进化及保守结构功能域分析



注:Pahal.A02141.1 为胡桃木;Pavir.Aa01676.1 为柳枝稷;Seita.1G195500.1 为谷子;Sobic.004G178500.1 为高粱;LOC_Os02g35140.1 为水稻;Bradi3g45880.3 为二穗短柄草;GSMUA_Achr6T29070.001 为芭蕉;AT1G59750.4 为拟南芥;Glyma.12G164100.1 为大豆;Potri.004G228800.1 为杨树。B3 为 DNA binding domain;ARF 为 Auxin response factor;AUX/IAA 为 AUX/IAA family。
Note: Pahal.A02141.1, walnut; Pavir.Aa01676.1, switchgrass; Seita.1G195500.1, millet; Sobic.004G178500.1, sorghum; LOC_Os02g35140.1, rice; Bradi3g45880.3, two ear brachypodium; GSMUA_Achr6T29070.001, plantain; AT1G59750.4, Arabidopsis; Glyma.12G164100.1, soybean; Potri.004G228800.1, poplar. B3, DNA binding domain; ARF, Auxin response factor; AUX/IAA, AUX/IAA family.

图2 *ZmARF1*与其他物种的进化树及保守结构功能结构域

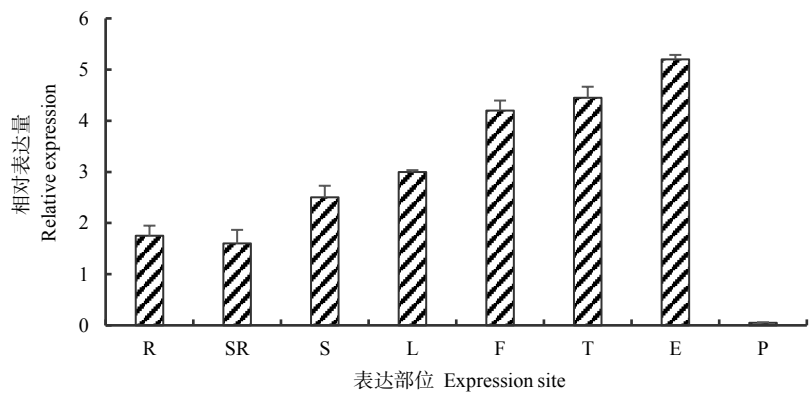
Fig.2 The phylogenetic tree and conserved functional structure domains of the *ZmARF1* and other species

进化树分析发现, *ZmARF1* 与其他几个物种的同源性均比较高, 其中, 与胡桃木、高粱和柳枝稷进化关系最为紧密。PFAM 分析, 玉米 ARF 及其他物种同源的 ARF 的保守结构域, 发现几个物种均含有 3 个保守的结构域, N 末端 B3 DNA 结合结构域, 中间区域 Auxin-resp 结构域; C 末端 AUX/IAA 结构域, 说明 ARF 基因在进化中这些结构域是极为保守的。为了进一步分析 *ZmARF1* 及其他同源物种基因的保守性, 利用 MEME 软件, 鉴定了 8 个(从左至右为 motif 1 ~ motif 8)保守基序。由图 2 可知, 玉米及其他几个同源物种的 ARF 蛋白序列高度保守, *ZmARF1* 基因与高粱和胡桃木进化关系最为紧密,

其三者保守基序所在氨基酸位置一致, 说明或许不同物种间进化树遗传距离越近其 motif 相似度越高(除了柳枝稷)。

2.3 *ZmARF1* 基因组织表达模式分析

为了进一步了解 *ZmARF1* 基因的表达模式, 利用 qRT-PCR 分析该基因在不同组织的表达情况(图 3), 结果显示, 该基因在主根、次根、茎、成熟叶、雌穗、雄穗、胚和花粉中均有表达, *ZmARF1* 基因在胚和生殖器官(雌穗、雄穗)表达量较高, 表明 *ZmARF1* 属于组成型表达基因, 但不同部位表达存在一定的差异, 说明 *ZmARF1* 基因在植物生长发育中发挥重要的作用。



注: R、SR、S、L、F、T、E 和 P 分别代表玉米的主根、次根、茎、成熟叶、雌穗、雄穗、胚和花粉。
Note: R, SR, S, L, F, T, E and P represent the main root, secondary root, stem, mature leaf, female ear, Tassel, embryo and pollen of maize, respectively.

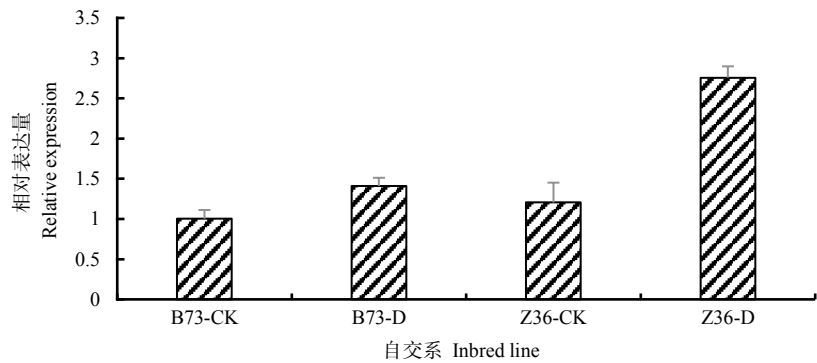
图3 *ZmARF1* 基因组织表达模式

Fig.3 Expression pattern of *ZmARF1* gene in different organs of maize

2.4 *ZmARF1* 基因对旱胁迫的响应分析

为了研究 *ZmARF1* 基因对于干旱胁迫的响应模式, 对 3 叶期抗旱型玉米自交系郑 36 和弱抗旱型 B73 进行 20%PEG 模拟干旱胁迫。图 4 定量结果分

析发现, *ZmARF1* 基因响应 PEG 胁迫, 且在两个材料中都是上调表达。进一步分析发现, 胁迫后该基因在抗旱型郑 36 中表达量升高幅度大于弱抗旱型 B73, 说明该基因在干旱胁迫下可能发挥重要的作用。



注: Z36 为郑 36; CK 代表正常水分; D 代表干旱胁迫。
Note: Z36 is Zheng 36; CK stands for normal water; D stands for drought stress.

图4 *ZmARF1* 基因响应旱胁迫诱导表达模式

Fig.4 Expression pattern of *ZmARF1* gene in response to PEG

2.5 *ZmARF1*基因的定位分析

构建好的 *ZmARF1*-pMDC83-GFP 载体用农杆菌法瞬时转化烟草叶片(图 5),通过激光显微镜观察发现,对照载体 pMDC83-GFP 在烟草的细胞膜和细

胞质核中均有表达,含有 *ZmARF1*-pMDC83-GFP 的融合表达载体主要在细胞核中发出绿色荧光信号,说明该基因定位于细胞核中。

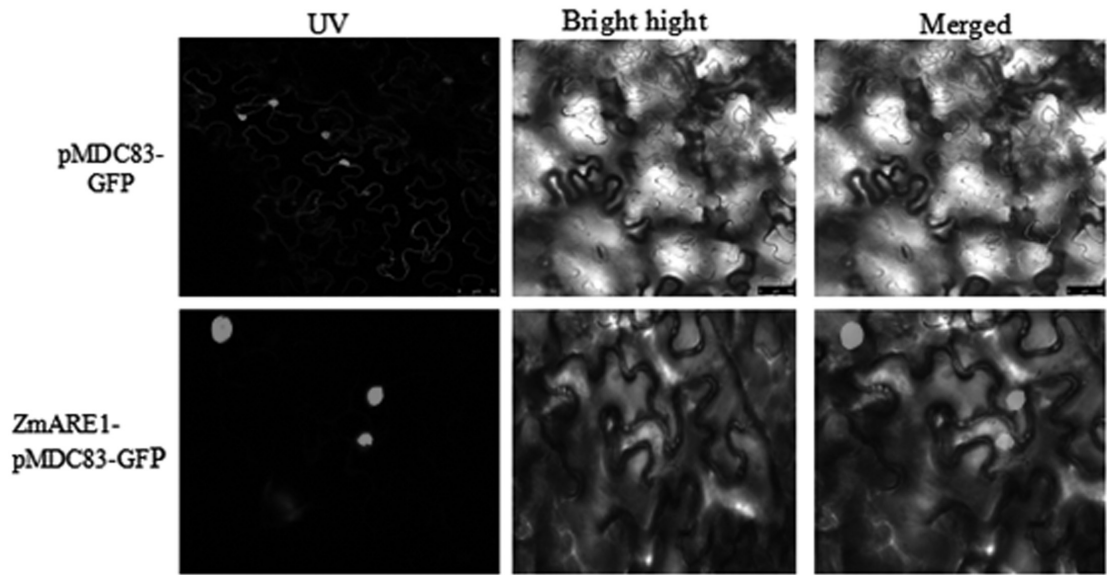


图 5 *ZmARF1*基因在烟草中的细胞定位
Fig.5 Cellular localization of *ZmARF1* gene in tobacco

2.6 *ZmARF1*基因的互作蛋白网络预测

表 1 *ZmARF1*功能互作蛋白预测
Table 1 functional interaction protein predictio of *ZmARF1* genen

ID	基因描述 Description	蛋白结构域 Protein domain				Protein size (aa)	互作系数 Interaction coefficient
		AUX/IAA	PB1	Myb	Homeobox		
GRMZM2G138268	Auxin-responsive protein	+	+			271	0.781
GRMZM2G087955	Transcription factor MYB44			+	+	285	0.767
GRMZM2G050550	MYB-Related transcription factor			+	+	345	0.767
GRMZM2G142768	Auxin-responsive protein	+	+			294	0.756
GRMZM2G479834	Auxin-responsive protein	+	+			347	0.733
GRMZM2G163848	Auxin-responsive protein	+	+			486	0.733
GRMZM2G037368	Auxin-responsive protein	+	+			269	0.733
GRMZM2G077356	Auxin-responsive protein	+	+			228	0.713

注:“+”代表存在该结构域。
Note: + indicated the existence of this domain.

为了进一步探究 *ZmARF1* 基因可能存在的网络作用机制,利用 STRING 在线软件预测 *ZmARF1* 互作基因。表 1 结果表明,与 *ZmARF1* 基因互作的蛋白有两大类,一类为生长素响应蛋白,另一类为 MYB 转录因子。InterPro 分析这两类蛋白,生长素响应蛋白包含 AUX/IAA 和 PB1 蛋白结构域,MYB 转录因子

包含 Myb 和 Homeobox 结构域。这些结构域参与调节激素应答基因表达、参与激素介导的信号等途径,说明 *ZmARF1* 可能与这些互作基因构成一张互作网络,协同参与调控植物对逆境的胁迫应答和生长发育等过程。

3 结论与讨论

本研究利用克隆技术分离到1个位于第5染色体的生长素响应因子 *ZmARF1*, 该基因无跨膜结构域, 蛋白以无规则卷曲为主, 分子量为 75.14 KDa。蛋白含有潜在的丝氨酸、苏氨酸和酪氨酸磷酸化位点数目分别为 39、16、6 个, 说明该蛋白可能被丝氨酸、苏氨酸和酪氨酸蛋白激酶激活, 从而调控下游响应基因的表达, 参与植物的生长发育、信号传导及逆境过程。蛋白含有 B3 DNA 结合结构域、Auxin-resp 结构域和 AUX/IAA 结构域。*ZmARF1* 复合进化树、结构域和保守 motif 分析发现, 该类基因在进化过程中极度保守, 与高粱进化关系较紧密, 与高粱家族分析鉴定结果一致。单子叶植物和双子叶植物中鉴定的 ARF 基因数目相差甚小, 也说明了 ARF 类基因在进化上比较保守^[20]。

本研究中 *ZmARF1* 基因在主根、次根、茎、成熟叶、雌穗、雄穗、胚和花粉中均有表达, 属于组成型表达基因, 但是在不同组织的表达存在差异, *ZmARF1* 基因的表达模式与甘蓝^[21]、拟南芥、水稻、杨树和玉米等转录组结果较相似, 推测植物 ARF 基因家族的表达模式较一致, 但基因之间也存在差异性, 需要进一步试验验证。*JcARF16* 基因在根中表达量最高, 在坚果的根形成中发挥作用。*OsARF1* 转基因表明, *OsARF1* 对营养器官和种子发育至关重要^[22]。本研究中, *ZmARF1* 基因在胚中表达量最高, 其次是生殖器官, 说明不同的作物基因表达模式存在一定的差异, *ZmARF1* 参与调控胚的发育和种子的形成。

已有研究初步报道, ARF 转录因子能够调控种子发育、器官分化、激素信号传导、维持逆境胁迫环境下正常生长, 甘蓝的 *BoARF8* 和 *BoARF17* 基因可促进甘蓝花器官成熟以及逆境胁迫环境中维持甘蓝的正常生长发育。甘蓝 *BoARF6* 和 *BoARF9* 基因与拟南芥的 *AtARF11* 基因同源, 参与激素信号传导途径, 促进植物侧根发育^[23, 24]。玉米中转录组测序表明, 7 个 ARF 类基因受到生长素胁迫后表达量显著上升。坚果转录组测序表明, 有 11 个 ARFs 基因响应早或盐胁迫。本研究结果发现, *ZmARF1* 响应早胁迫, 受早胁迫的正向诱导, 且胁迫后其表达量在抗旱型郑 36 中上升幅度大于弱抗型 B73, 说明 *ZmARF1* 基因可能通过某种途径进行正向的抗旱作用。

植物的大多数功能不是某一个特定的基因所起的作用, 是一些基因协同完成。本研究利用 STRING 在线软件预测 *ZmARF1* 互作基因, 发现

ZmARF1 基因互作的蛋白有两大类, 其中, C 末端 AUX/IAA 蛋白属于核蛋白, 其降解是生长素信号转导通路中必不可少的一环, 当生长素浓度低时, ARFs 与 AuxREs 结合形成同源或异源二聚体, 从而调节生长素响应基因的表达^[25]。AUX/IAA 家族基因编码的蛋白质均为亲水性蛋白, 研究表明, 蛋白质的高亲水性使植物即使受到干旱胁迫, 蛋白质也能够代替细胞中的水分子, 从而抵御干旱胁迫对植物造成的损伤^[26]。本研究中 *ZmARF1* 蛋白属于高亲水性蛋白, 说明 *ZmARF1* 基因的抗旱能力或许是与此类基因互作共同缓解干旱胁迫给植物带来的伤害; PB1 结构域是一种由 80 个左右氨基酸残基组成的功能性结构域, 它存在于许多信号转导蛋白中, 主要参与丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号通路和细胞核因子 κ B(NF- κ B)信号通路; Homeobox 结构域中的亮氨酸拉链蛋白含有 ABA 反应元件, 是种子和营养组织中 ABA 信号传导的重要参与者, 是非生物胁迫(干旱、盐、冷)响应的关键过程^[27]。以上结果表明, *ZmARF1* 与这些互作基因构成一张互作网络, 协同参与调控植物对逆境的胁迫应答和生长发育等过程。

参考文献:

- [1] Woodward A W, Bartel B. Auxin: Regulation, Action, and Interaction [J]. Annals of Botany, 2005, 95(5): 707-735.
- [2] Theologis A. Rapid gene regulation by auxin[J]. Annual Review Plant Physiology, 1986, 20(37): 407-438.
- [3] Chandler J W. Auxin response factors[J]. Plant Cell and Environment, 2016, 39(5): 1014-1028.
- [4] Abel S. Early genes and auxin action[J]. Plant Physiology, 1996, 111(1): 9-17.
- [5] 江海洋, 魏巍, 刘艳, 等. 高粱生长素反应因子(ARF)基因的全基因组分析与进化研究[J]. 安徽农业大学学报, 2010, 37(3): 395-400.
Jiang H Y, Wei W, Liu Y, et al. Genome-wide analysis and evolution of the auxin response factor(ARF) gene family in Sorghum bicolor[J]. Journal of Anhui Agricultural University, 2010, 37(3): 395-400. (in Chinese)
- [6] Ulmasov T, Hagen G, Guilfoyle T J. ARF1, a transcription factor that binds to Auxin response elements[J]. Science, 276: 1865-1868.
- [7] Tiwari S B. The Roles of auxin response factor domains in Auxin-Responsive transcription[J]. The Plant Cell Online, 2003, 15(2): 533-543.
- [8] Guilfoyle T J, Hagen G. Auxin response factors[J]. Current Opinion in Plant Biology, 2007, 10(5): 453-460.
- [9] Abel, Oeller P W, Theologis A. Early auxin-induced genes encode short-lived nuclear proteins[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1994, 91(1): 326-330.
- [10] Okushima, Y. Functional genomic analysis of the auxin response factor gene family members in Arabidopsis thaliana: unique and

- overlapping functions of *ARF7* and *ARF19*[J]. The Plant Cell Online, 2005, 17(2): 444–463.
- [11] Wang D, Pei K, Fu Y, et al. Genome-wide analysis of the auxin response factors(*ARF*) gene family in rice(*Oryza sativa*)[J]. Gene(Amsterdam), 2007, 394(1–2): 0–24.
- [12] Kalluri U C, Difazio S P, Brunner A M, et al. Genome-wide analysis of Aux/IAA and ARF gene families in *Populus trichocarpa*[J]. BMC Plant Biology, 2007, 7(1): 59–60.
- [13] Xing H, Pudake R N, Guo G, et al. Genome-wide identification and expression profiling of auxin response factor(ARF) gene family in maize[J]. BMC Genomics, 2011, 12(1): 178.
- [14] Ellis C M, Nagpal P, Young J C, et al. Auxin response factor1 and Auxin response factor2 regulate senescence and floral organ abscission in *Arabidopsis thaliana*[J]. Development, 2005, 132(20): 4563–4574.
- [15] Schruff M C. The auxin response factor 2 gene of *Arabidopsis* links auxin signaling, cell division, and the size of seeds and other organs [J]. Development, 2005, 133(2): 251–261.
- [16] Tian C E, Muto H, Higuchi K, et al. Disruption and overexpression of *auxin response factor 8* gene of *Arabidopsis* affect hypocotyl elongation and root growth habit, indicating its possible involvement in auxin homeostasis in light condition[J]. The Plant Journal, 2004, 40(3): 11.
- [17] Attia K A, Abdelkhalik A F, Ammar M H, et al. Antisense phenotypes reveal a functional expression of *OsARF1*, an Auxin response factor, in transgenic rice[M]. Plant Genomics, 2009.
- [18] 魏瑞敏, 谢玲玲, 欧阳嫔, 等. 辣椒 ARF 基因家族的鉴定与表达分析[J]. 西北植物学报, 2017, 37(6): 1047–1058.
- Wei R M, Xie L L, Ou Y X, et al. Identification and expression analysis of ARF gene family in pepper[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2017, 37(6): 1047–1058. (in Chinese)
- [19] Tang Y H, Bao X X, Liu K, et al. Genome-wide identification and expression profiling of the auxin response factor(ARF) gene family in physic nut[J]. PLOS One, 2018, 13(8): e0201024.
- [20] Kumar R, Tyagi A K, Sharma A K. Genome-wide analysis of auxin response factor(*ARF*) gene family from tomato and analysis of their role in flower and fruit development[J]. Molecular Genetics & Genomics, 2011, 285(3): 245–260.
- [21] 卫聪聪, 江定, 吴根堃, 等. 甘蓝 ARF 基因家族的鉴定与生物信息学分析[J]. 北方园艺, 2017(19): 22–30.
- Wei C C, Jiang D, Wu G K, et al. Genome-wide Identification and Bioinformatics Analysis of ARF Gene Family in *Brassica oleracea* [J]. Northern Horticulture, 2017(19): 22–30. (in Chinese)
- [22] Attia K A, Abdelkhalik A F, Ammar M H, et al. Antisense phenotypes reveal a functional expression of *OsARF1*, an Auxin Response factor, in transgenic rice[M]// Plant Genomics, 2009.
- [23] Okushima Y, Fukaki H, Onoda M, et al. ARF7 and ARF19 Regulate lateral root formation via direct activation of LBD/ASL genes in *Arabidopsis*[J]. The Plant Cell Online, 2007, 19(1): 118–130.
- [24] Feng Z, Zhu J, Du X, et al. Effects of three auxin-inducible LBD members on lateral root formation in *Arabidopsis thaliana*[J]. Planta, 2012, 236(4): 1227–1237.
- [25] Sarbottam Piy, Sandesh K Shrestha, Brad Binder, et al. Protein interaction and gene co-expression maps of ARFs and Aux/IAAs in *Arabidopsis*[J]. Frontiers in Plant Science, 2014, 5: 744.
- [26] Jain M, Khurana J P. Transcript profiling reveals diverse roles of auxin-responsive genes during reproductive development and abiotic stress in rice[J]. Febs Journal, 2009, 276(11): 3148–3162.
- [27] Uno Y, Furihata T, Abe H, et al. *Arabidopsis* basic leucine zipper transcription factors involved in an abscisic acid-dependent signal transduction pathway under drought and high-salinity conditions [J]. Proc Natl Acad Sci., USA, 2000, 97: 11632–11637.

(责任编辑: 朴红梅)

(上接第 41 页)

- [11] Makarevitch I, Waters A J, West P T, et al. Transposable elements contribute to activation of maize genes in response to abiotic stress [J]. PLoS Genetics, 2015, 11(1): e1004915.
- [12] Lei L, Shi J, Chen J. Ribosome profiling reveals dynamic translational landscape in maize seedlings under drought stress[J]. Plant Journal for Cell & Molecular Biology, 2016, 84: 1206–1218.
- [13] Cao D, Wang J, Ju Z, et al. Regulations on growth and development in tomato cotyledon, flower and fruit via destruction of miR396 with short tandem target mimic[J]. Plant Science An International Journal of Experimental Plant Biology, 2016, 247: 1–12.
- [14] He Y, Wu J, Lv B, et al. Involvement of 14–3–3 protein GRF9 in root growth and response under polyethylene glycol-induced water stress[J]. Journal of Experimental Botany, 2015, 66(8): 2271–2281.
- [15] Sun X, Luo X, Sun M. A Glycine Soja 14–3–3 Protein GsGF14 participates in stomata and root hair development and drought tolerance in *Arabidopsis thaliana*[J]. Plant & Cell Physiology, 2014, 55: 99.
- [16] Paul A L, Denison F C, Schultz E R. 14–3–3 phosphoprotein interaction networks does isoform diversity present functional interaction specification[J]. Frontiers in Plant Science, 2012, 3: 190.

(责任编辑: 朴红梅)