

大豆AP2/ERF基因家族的分子进化分析

魏海超^{1,2}, 刘媛¹, 豆明珠³, 杨素欣¹, 冯献忠^{1,*}

¹中国科学院东北地理与农业生态研究所, 大豆分子设计育种重点实验室, 长春130102; ²中国科学院大学, 北京100049; ³山东师范大学生命科学学院, 山东省高校系统生物学重点实验室, 济南250014

摘要: AP2/ERF类型基因家族在植物发育中起着重要的作用, 本文鉴定了大豆AP2/ERF基因家族, 分析了该基因家族的进化途径, 研究了其在种子发育过程中的基因表达模式, 并对其功能进行了预测。研究表明: 大豆AP2/ERF家族包括355个基因, 分属于AP2、RAV和ERF三个亚家族; AP2/ERF基因在进化过程中出现了两次较大的分歧; 发现了7个与大豆分化显著相关的AP2/ERF基因, 利用拟南芥直系同源基因对这些基因的功能进行了预测; 在大豆种子发育的过程中, 该家族基因呈现10类不同的表达模式, 在种子发育的各个过程中起着不同的作用。

关键词: 大豆; AP2/ERF基因家族; 进化分析; 表达谱分析

Molecular Evolution of AP2/ERF Gene Family in *Glycine max*

WEI Hai-Chao^{1,2}, LIU Yuan¹, DOU Ming-Zhu³, YANG Su-Xin¹, FENG Xian-Zhong^{1,*}

¹Key Laboratory of Soybean Molecular Design Breeding, Northeast Institute of Geography and Agroecology, Chinese Academy of Sciences, Changchun 130102, China; ²University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; ³Key Laboratory of Systems Biology in Universities of Shandong, College of Life Sciences, Shandong Normal University, Jinan 250014, China

Abstract: AP2/ERF gene family plays an important role in the development of plant. In this paper, we identified the soybean AP2/ERF gene family, analyzed its evolutionary pathway, and studied the expression pattern of its members during seed development. The results showed that the soybean AP2/ERF gene family contained 355 genes which could be classified into AP2, RAV and ERF three subfamilies, which experienced two divergence events during the soybean evolution. Seven of them were characterized associating with the differentiation between cultivated soybean and wild soybean during the domestication, and their functions were predicted by their orthologous in *Arabidopsis*. Ten types of expression pattern of this gene family were revealed by expression profiles during the seed development of soybean, which play various roles in the seed development.

Key words: soybean; AP2/ERF gene family; phylogenetic analysis; expression profile analysis

在植物界中, AP2/ERF基因家族具有众多的家族成员, 占植物转录因子的6%~7% (Velasco等2010)。长期以来, 人们对AP2/ERF基因家族的研究发现, AP2/ERF基因家族参与了植物发育的许多重要过程。譬如, 参与花分生组织的建立(Irish和Sussex 1990; Bowman等1992; Huala和Sussex 1992)、花器官(如花瓣和萼片)属性的决定(Bowman等1989; Kunst等1989; Bowman等1991)、抵抗生物胁迫与非生物胁迫(Kunkel和Brooks 2002; Chinnusamy等2004; Fujita等2006; 杜磊等2013; 黄蔚等2014)、调节基因的表达(Ohta等2000, 2001)以及对乙烯和油菜素类固醇的刺激反应(Alonso等2003; Hu等2004)等。

AP2/ERF基因家族是植物界中一类含有一个或多个AP2/ERF结构域的转录因子家族, 每个AP2/

ERF结构域由60~70个氨基酸组成。根据AP2/ERF结构域的特点, 将其分为AP2、ERF和RAV三个亚家族(Nakano等2006): ERF亚家族基因含有一个AP2保守结构域; AP2亚家族基因含有两个AP2结构域(Riechmann和Meyerowitz 1998; Licausi等2010); RAV亚家族基因含有一个AP2保守结构域和一个B3保守结构域(Hu和Liu 2011)。ERF亚家族根据AP2保守结构域中第14位与第19位氨基酸的不同分为两个类型, CBF/DREB类和ERF类: CBF/DREB类基因在AP2保守结构域的第14位和第19位

收稿 2015-07-21 修定 2015-09-14

资助 国家自然科学基金面上项目(31171571)和国家自然科学基金重大研究计划培育项目(91131008)。

* 通讯作者(E-mail: fengxianzhong@iga.ac.cn; Tel: 0431-85655051)。

的氨基酸分别是缬氨酸和谷氨酸, 而ERF类基因在第14位与第19位的氨基酸分别为丙氨酸和天冬氨酸(Sakuma等2002)。

大豆种子可以提供人类与动物所需的蛋白与植物油(Biswas等2011; Van Holle和Van Damme 2015), 具有重要的经济价值。随着大豆研究的不断深入, 对其*AP2/ERF*基因家族的研究也逐渐增多: *GmERF057*可以提高大豆对盐和病原菌的抗性(Zhang等2008); *GmERF3*调节大豆生物和非生物胁迫反应(Zhang等2009); *GmSRG*参与了大豆种子发育过程(Niu等2002); *GmRAV*作为负调控因子调节大豆的光合作用和衰老(Zhao等2008)等, 但在该基因家族的全基因组水平进行分析的研究尚未见报道。同时, 随着大豆基因组信息的不断完善, 原有的基因预测的数量和基因结构发生了较大的变化, 利用最新的数据库对大豆*AP2/ERF*基因家族进行分析和鉴定, 将有助于进一步研究该基因家族成员在大豆生长发育、环境应答和产量品质形成中的作用。

本文利用PlantTFDB v3.0 (Plant Transcription Factor Database)最新的数据库(Jin等2014), 对大豆*AP2/ERF*基因家族成员进行了鉴定和分类; 对该基因家族中与野生大豆和栽培大豆分化相关的基因进行了分析和功能注释; 通过对7个不同表达时期的大豆种子材料进行转录组分析, 鉴定了大豆种子不同发育时期及特异时期表达量较高的*AP2/ERF*基因, 本研究为了解大豆中*AP2/ERF*基因的功能提供了重要的理论基础。

材料与方法

1 *AP2/ERF*基因鉴定及染色体分布分析

选取PlantTFDB V3.0数据库(Jin等2014)用于大豆与拟南芥中*AP2/ERF*基因家族基因的筛选。利用Pfam网站(Finn等2014)对筛选到的*AP2/ERF*基因进行结构域判定(Finn等2014), 去除冗余基因, 在phytozome 10 (<http://www.phytozome.net>)与TAIR10 (<https://www.arabidopsis.org/>)中确定大豆与拟南芥*AP2/ERF*基因位置信息, 利用Circos 0.6 (Krzywinski等2009)构建*AP2/ERF*基因染色体分布图谱。利用SMART (Letunic等2012)及Weblog 3.4 (Crooks等2004)分析*AP2/ERF*保守结构域的特征。

利用DNAMAN version7对序列相似进行比对分析。

2 *AP2/ERF*基因序列比对与系统发育树构建

将筛选后的拟南芥与大豆*AP2/ERF*氨基酸全序列保存为FASTA格式, 利用MEGA5.05进行序列比对及系统发育树分析(Tamura等2011), 构建NJ (neighbor-joining)树, bootstrap 1 000次。

3 大豆*AP2/ERF*分化相关基因鉴定

在NCBI网站上, 下载14个栽培品种及17个野生品种测序原始数据(登录号SRA020131)。在phytozome网站中获取大豆基因Gmax_275_v2.0.fa。将NCBI中的SRA数据通过fastq-dump转换成fastq文件(./fastq-dump --split-files *.sra), 获得用于下一步分析的文件。利用sickle软件(<https://github.com/najoshi/sickle>) (参数: -n -q 20 -l 35 或 -n -q 20 -l 20)对原始序列进行测序质量筛选, 获取高质量的测序数据。利用bwa-0.7.8软件将筛选后的reads比对到参考基因组, 选择默认参数。利用picard-tools-1.115 (<http://sihua.us/picard.htm>)及GATK (McKenna等2010)对比对后的结果进行SNP及INDELs的筛选。利用GATK将31个测序品种的SNP进行合并, 通过vcftools_0.1.12b (Danecek等2011)分析野生及栽培大豆在人工选择中的遗传分化系数(Fst值)。对得到的Fst值进行筛选, 选取Fst \geq 0.9的SNP位点, 结合基因组注释确定人工选择下产生较大分歧的*AP2/ERF*基因。

4 *AP2/ERF*基因表达模式分析

选取大豆种子发育关键的7个部位时期: 4 DAF (days after flowering)种子, 12~14 DAF种子, 22~24 DAF种子和5~6 mg种子, 5~6 mg子叶, 5~6 mg种皮, 100~200 mg子叶, 400~500 mg子叶以及100~200 mg种子的转录组(NCBI登录号: GSE42871) (Jones和Vodkin 2013), 进行*AP2/ERF*基因表达模式分析。下载的数据格式为SRA文件, 通过fastq-dump将SRA数据转换成fastq文件(./fastq-dump --split-files *.sra), 获得可用于进一步分析的文件。选用*Glycine max* v1.1的大豆注释基因组作为参照, 重新对大豆种子发育时期的表达谱进行整理, 通过tophat及cufflinks的分析(Trapnell等2009; Pollier等2013), 筛选得到*AP2/ERF*基因在不同时期的表达量(fragment per kilobase of exon model per million mapped reads, FPKM)。通过对基因组版本

的比较,得到对应基因的表达数据。将FPKM以 \log_{10} 为底取对数,将处理后的数据利用cluster 3.0及treeview进行K-means聚类及结果分析(de Hoon等2004)。

5 AP2/ERF基因GO及interpro功能注释

利用Blast2go 3.0对拟南芥、大豆AP2/ERF基因进行功能注释(Conesa和Gotz 2008),选取GO及interpro数据库进行blastp比对, E-value为 $1e^{-5}$ 。整合GO及interpro注释结果,保留level2的注释结果进行AP2/ERF基因功能注释统计。

实验结果

1 大豆AP2/ERF基因的鉴定

利用PlantTFDB数据库,提取了大豆与拟南芥AP2/ERF候选基因,通过结构域的判定,最终筛选到355个大豆AP2/ERF基因、146个拟南芥AP2/ERF基因。为了确定AP2/ERF基因在染色体上的分布特点,构建了大豆、拟南芥AP2/ERF基因在染色体上的分布图(图1)。其中354个大豆AP2/ERF基因(图1浅灰色部分)分布在大豆20条染色体上(其中1个基因处于未完成位置标定的Scaffold中,因此,未显示在染色体分布图中);146个拟南芥AP2/ERF基因(图1深黑色部分)分布在拟南芥5条染色体上。在大豆中,AP2/ERF基因在13号染色体上分布最多,有30个基因,在9号染色体上分布最少,有11个基因;而在拟南芥中,该基因家族在1号染色体上分布最多,有50个基因,在3号染色体分布最少,有18个基因。该结果显示,AP2/ERF基因在同一物种中不同染色体上的分布是不均匀的,在同一染色体上的分布也是不均匀的,主要分布于染色体的两臂上。

2 大豆AP2/ERF基因保守结构域比较分析

利用SMART网站提取了大豆与拟南芥AP2/ERF家族成员中所包含的保守结构域,在大豆中得到399个AP2/ERF结构域,拟南芥得到160个。对AP2亚家族基因的2个AP2结构域(AP2-1 domain, AP2-2 domain), RAV亚家族基因的1个AP2结构域(RAV-AP2 domain), ERF亚家族基因的1个AP2结构域(ERF-AP2 domain)进行了保守区域的分析。大豆中AP2-1结构域相似度为76.49%,一致序列为RGVRRHRWTGREHLWD(x)Q(x)KGQ(x)GY(x)

E(x)AA(x)YDAALKYWG(x)NF(x)Y;拟南芥中AP2-1结构域相似度为83.56%,一致序列为RHR-WTGREAHLWD(x)GQVYLYGDE(x)AA(x)YD-LAALKYWG(x)NF(x)Y(图2-A)。大豆中AP2-2结构域相似度为68.13%,一致序列为YRGV(x)GRW(x)K(x)YLG(x)AAAYDAAI(x)G(x)A(x)NF(x)Y;拟南芥中AP2-2结构域的相似度为65.86%,一致序列为YRGV(x)GRW(x)K(x)YLG(x)T(x)AAAYDAAI(x)G(x)A(x)NF(x)Y(图2-B)。大豆中RAV-AP2结构域相似度为88.33%,一致序列为KKGV-VQNGWGQIY(x)QRWLGTF(x)EEAAAYDA(x)R(x)NF(x);拟南芥中RAV-AP2结构域相似度为78.10%,一致序列为KGVVQNGWGAQIY(x)HRWLGTF(x)EAA(x)YDA(x)R(x)NF(x)(图2-C)。大豆中ERF-AP2结构域相似度为59.24%,一致序列为(x)GRR(x)EI(x)RWLG(x)AA(x)D(x)G(x)N(x);拟南芥中ERF-AP2结构域相似度为55.42%,一致序列为(x)GRR(x)G(x)EIR(x)RWLG(x)AA(x)D(x)N(x)(图2-D)。

通过对大豆和拟南芥中不同类型结构域的比较发现:在两个物种之间,AP2-1和RAV-AP2结构域在氨基酸的长度和序列上,均有较好的一致性,而AP2-2和ERF-AP2结构域中则存在较大的差异。两个物种的AP2-2结构域的差异主要表现在大豆AP2-2结构域在第7位后面多了8个不保守的氨基酸,其余主要位点则基本保持一致,说明该结构域的前端有较大的开放性。ERF-AP2结构域两者的差异性最大,这与两者包含此类型的结构域家族成员,数目众多的情况是一致的。

根据AP2/ERF基因家族保守域的特点,大豆AP2/ERF基因家族包含49个AP2亚家族基因、301个ERF亚家族基因和5个RAV亚家族基因;而拟南芥中该家族包含18个AP2亚家族基因、122个ERF亚家族基因和6个RAV亚家族基因(图3)。大豆与拟南芥AP2/ERF基因家族成员数目比较发现,其中AP2、ERF亚家族基因在大豆与拟南芥中的数目差异较大(分别为2.7:1, 2.5:1),基本符合大豆作为古四倍体其基因的数目是二倍体拟南芥两倍的规律;而大豆与拟南芥中RAV亚家族基因的数目非常接近(1:1.2),这表明大豆AP2/ERF基因家族中,RAV亚家族基因与AP2、ERF亚家族基因经历了

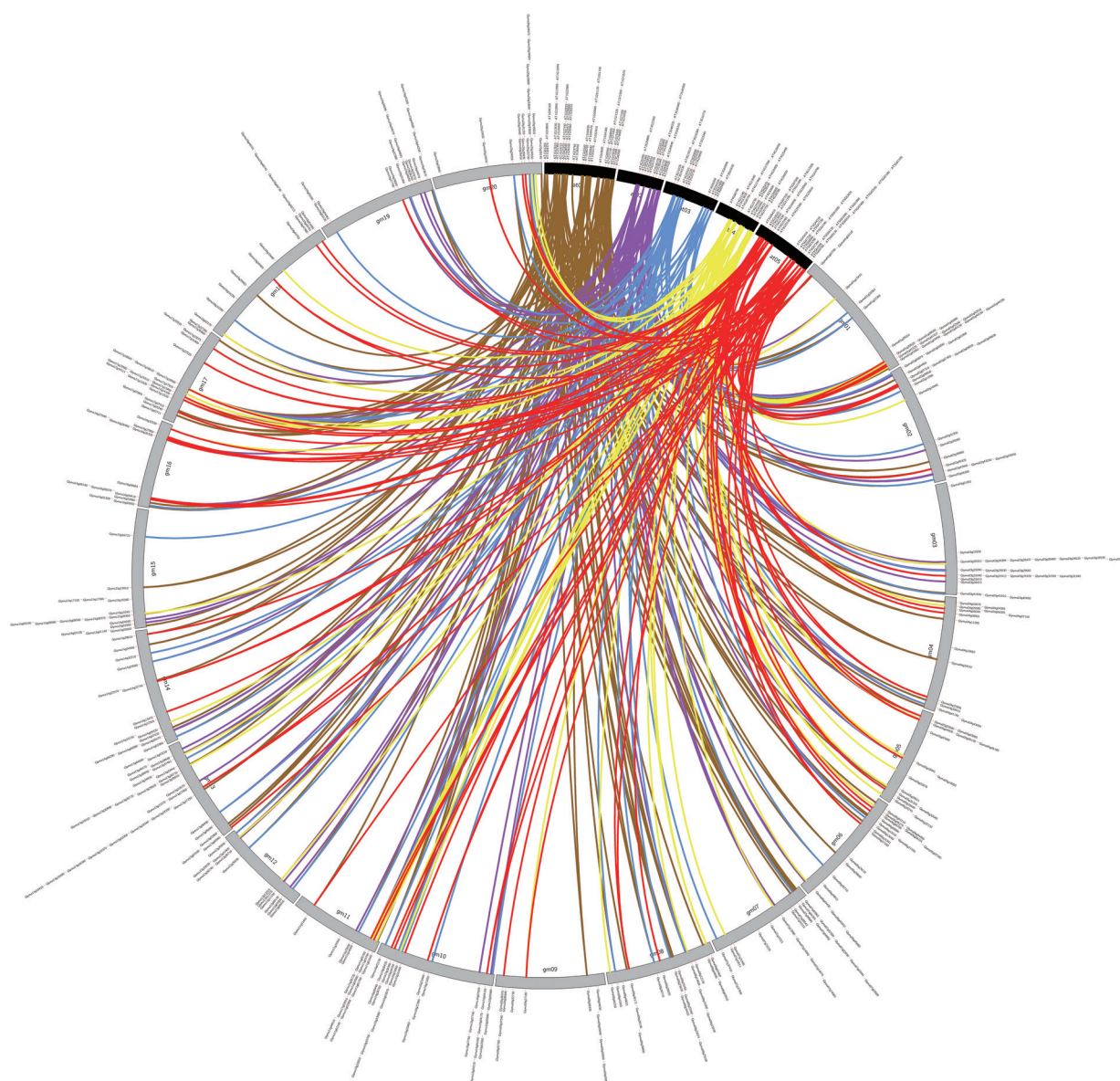


图1 大豆和拟南芥AP2/ERF直系同源基因关系分布图

Fig.1 The distribution diagram of AP2/ERF orthologous genes between soybean and *Arabidopsis thaliana*

不同的进化途径。

3 大豆AP2/ERF基因的分子进化分析

为了比较大豆与拟南芥AP2/ERF基因的进化关系, 以已筛选到的大豆与拟南芥AP2/ERF基因蛋白全序列构建系统发育树(图3-A)。进化分析显示, 两个物种中AP2/ERF基因家族成员可以聚类为13个主要的进化支(图3-B)。以最小分支树中的基因为直系同源基因(Chervitz等1998; Rubin等2000), 进一步分析了大豆与拟南芥系统发育树的13个进化枝的关系(图3-C~O)。在AP2, RAV及ERF分支

中, 我们共发现具有直系同源关系的基因共65组(219个大豆AP2/ERF基因, 104个拟南芥AP2/ERF基因): 在AP2分支中共有11组具有明显直系同源关系的基因(其中有8组拟南芥与大豆相比大于1:2, 其余三组为2:2, 2:3, 2:6) (图3-C); 在RAV分支中有2组直系同源基因(拟南芥与大豆相比为2:1, 4:4) (图3-D); 在ERF-I分支中共有1组直系同源基因(拟南芥与大豆相比为4:4) (图3-E); 在ERF-II分支中共有4组直系同源基因(拟南芥与大豆相比为1:2, 1:3; 1:4; 2:4) (图3-F); 在ERF-III分支中共有3组直系同



图 2 AP2/ERF结构域不同类型保守结构域

Fig.2 The sites statistic of AP2/ERF conservation domains

A: AP2-1结构域; B: AP2-2结构域; C: RAV-AP2结构域; D: ERF-AP2结构域。

源基因(拟南芥与大豆相比为1:3, 2:3) (图3-G); 在ERF-IV分支中有4组直系同源基因(拟南芥与大豆相比为1:2, 1:3, 1:4) (图3-H); 在ERF-V分支中有4组直系同源基因(拟南芥与大豆相比为1:1, 2:4, 2:5, 3:6) (图3-I); 在ERF-VI分支中共有6组直系同源基因(拟南芥与大豆相比为1:1, 1:2, 1:3, 2:4) (图3-J); 在ERF-VII分支中共有4组直系同源基因(拟南芥与大豆相比为1:2, 2:2, 2:4) (图3-K); 在ERF-VIII分支中共有4组直系同源基因(拟南芥与大豆相比为1:2, 1:4, 2:3) (图3-L); 在ERF-IX分支中共有11组直系同源基因(拟南芥与大豆相比为1:2, 1:4, 1:6, 2:3, 2:4) (图3-M); 在ERF-X分支中共有4组直系同源基因(拟南芥与大豆相比为1:4, 2:2, 2:4, 4:4) (图3-N); 在ERF-XI分支中共有9组直系同源基因(拟南芥与大豆相比为1:1, 1:2, 1:4, 1:5, 2:3, 2:4, 2:6, 4:4) (图3-O)。

上述结果显示: 大豆与拟南芥两个物种中, *AP2/ERF*基因之间存在较大的差异, 除了普遍存在的大豆中基因数目2倍于拟南芥中的直系同源基因数目外, 也存在1倍、1.5倍、2.5倍、3倍、4倍乃至6倍的现象, 说明在大豆中该基因家族发生了多次的加倍和丢失的现象; 在同一进化支内部, 所呈现的两个物种中直系同源基因的变化类型, 从1种(ERF-I分支, 图3-E)到8种(ERF-XI分支, 图3-O), 说明不同类型的*AP2/ERF*基因存在不同的进化途径和进化速度。

4 大豆*AP2/ERF*分化候选基因的确定及检测

为了解*AP2/ERF*基因在人工选择过程中的作用, 利用14个栽培品种与17个野大豆品种全基因组序列, 对于所获得大豆*AP2/ERF*基因进行了遗传分化系数(*F_{st}*)的分析(图4)。结果显示, 有7个*AP2/*

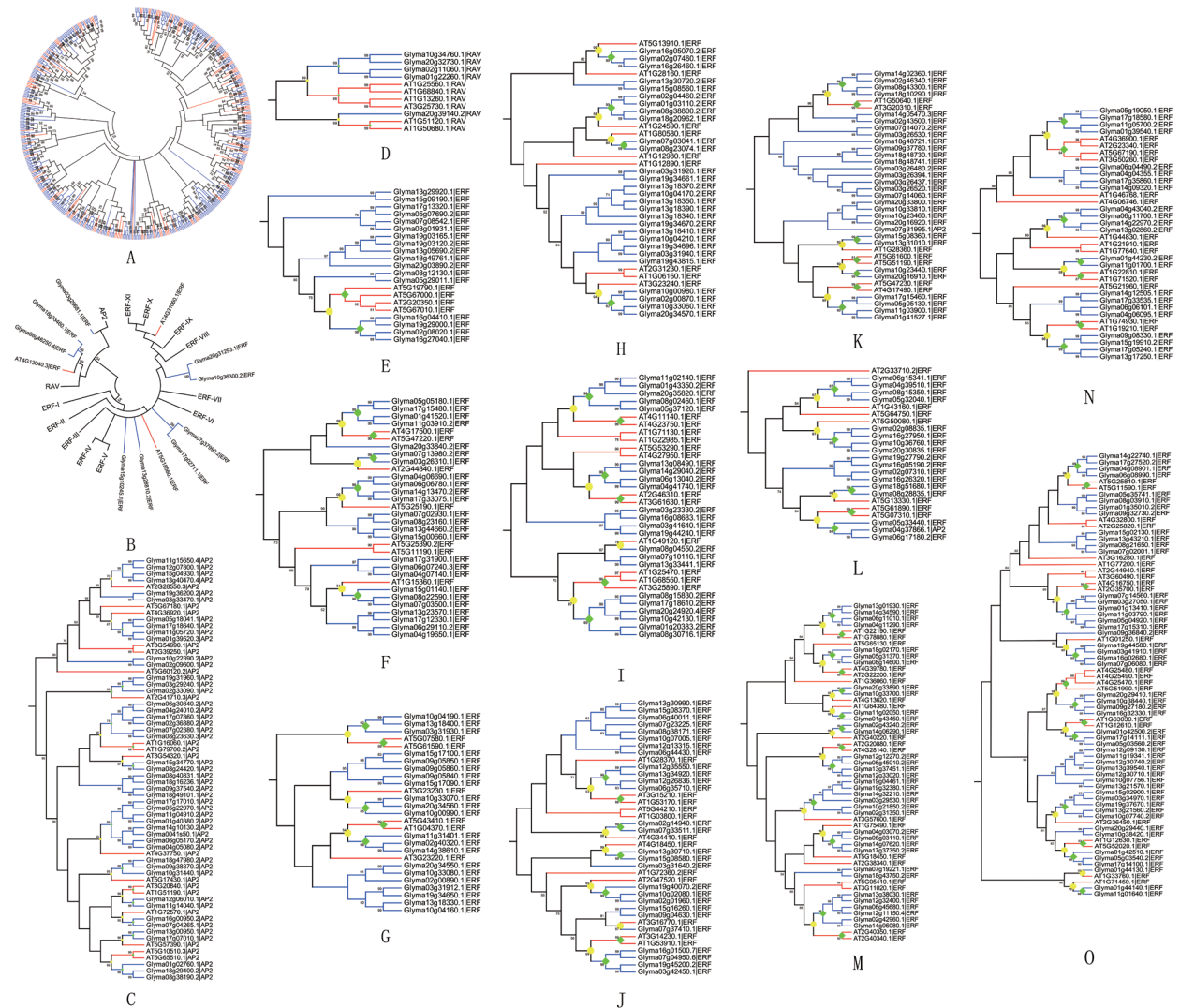


图3 大豆与拟南芥AP2/ERF基因系统发育树

Fig.3 The phylogenetic tree of AP2/ERF genes between soybean and *Arabidopsis thaliana*
蓝色线代表旁系大豆基因, 红色线代表拟南芥基因, 黄色节点代表直系同源基因, 绿色节点代表旁系同源基因。

ERF基因的11个位点的Fst值大于0.9 (表1), 表明这7个AP2/ERF基因在野生大豆与栽培大豆中出现明显的分化。这7个基因分别为: *Glyma06g44430.1*、*Glyma08g38171.1*、*Glyma08g38190.2*、*Glyma10g07740.2*、*Glyma10g34760.1*、*Glyma10g42130.1*和*Glyma12g12270.2*。进一步利用GO、interpro数据库及拟南芥直系同源基因完成了分化相关基因的功能注释(表1)。与拟南芥直系同源基因相比, 拟南芥中*Glyma08g38190.2*的直系同源基因AT5G65510(AIL7)、AT5G10510(AIL6)和AT5G17430(AIL2)与根及茎尖分生组织的发育相关(Aida等2004; Mudunkothge和Krizek 2012); 与*Gly-*

*ma10g07740.2*具有直系同源关系的AT2g36450(HARDY)的过表达可以提高植株对盐及干旱胁迫的抗性(Abogadallah等2011); 与*Glyma10g34760.1*具有直系同源关系的AT1G25560(EDF1)、AT1g68840(EDF2)、AT3G25730(EDF3)和AT1G13260(EDF4)参与了乙烯的信号通路(Alonso等2003; Castillejo和Pelaz 2008), 直系同源基因AT1g13260(EDF4)可以引起叶片的衰老(Woo等2010); *Glyma12g12270.2*的直系同源基因AT4g28140促进叶片的衰老(Xu等2010)。

5 大豆种子发育时期转录组分析

为了确定AP2/ERF基因在大豆种子发育中的

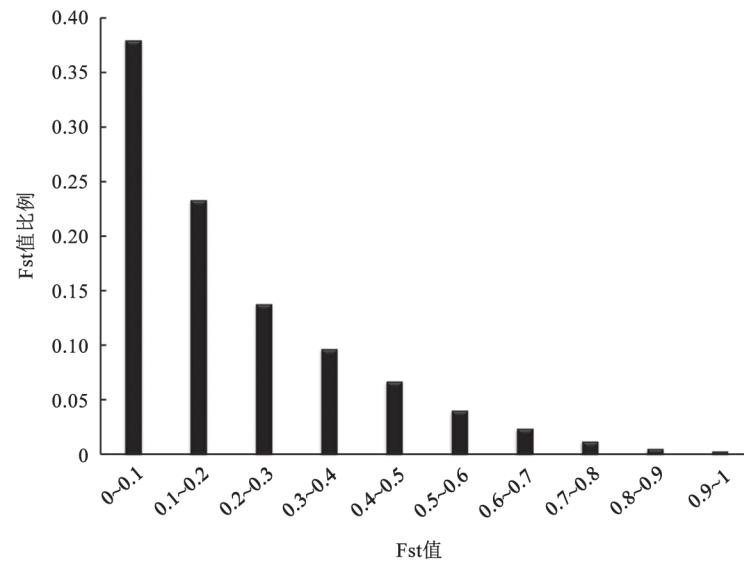


图4 野生大豆群体与栽培大豆群体间的Fst值分布图

Fig.4 The distribution of Fst-value between wild soybean and cultivated soybean populations

表1 与大豆分化相关的AP2/ERF基因

Table 1 The AP2/ERF genes associated with soybean differentiation

基因名(v1.1)	基因名(a2.v1)	类型	位置	Fst值	功能
<i>Glyma06g44430.1</i>	<i>Glyma.06G290000</i>	ERF	47878677	1	非生物及生物胁迫反应
<i>Glyma08g38171.1</i>	<i>Glyma.08G278800</i>	ERF	37683665	1	参与了乙烯的信号通路
<i>Glyma08g38171.1</i>	<i>Glyma.08G278800</i>	ERF	37682790	0.923077	参与了乙烯的信号通路
<i>Glyma08g38190.2</i>	<i>Glyma.08G279000</i>	AP2	37694286	0.930552	与根及茎尖分生组织相关
<i>Glyma08g38190.2</i>	<i>Glyma.08G279000</i>	AP2	37695936	0.919771	与根及茎尖分生组织相关
<i>Glyma10g07740.2</i>	<i>Glyma.10G066900</i>	ERF	6537611	1	提高对盐及干旱胁迫的抗性
<i>Glyma10g34760.1</i>	<i>Glyma.10G204400</i>	RAV	43559165	0.931422	参与了乙烯的信号通路
<i>Glyma10g42130.1</i>	<i>Glyma.10G274600</i>	ERF	49752994	0.928228	未知
<i>Glyma10g42130.1</i>	<i>Glyma.10G274600</i>	ERF	49753594	0.924834	未知
<i>Glyma10g42130.1</i>	<i>Glyma.10G274600</i>	ERF	49752352	0.916126	未知
<i>Glyma12g12270.2</i>	<i>Glyma.12G110400</i>	ERF	10529808	0.904382	叶片的衰老

作用, 我们分析了种子发育过程中7个重要部位时期的转录组数据(Jones和Vodkin 2013)。筛选得到AP2/ERF基因的基因表达数据, 采用K-means方法进行聚类, 最终获得10组表达差异亚家族基因(图5)。聚类结果显示在种子发育过程中, AP2/ERF基因在不同部位存在特异性表达: 在第I组中, 有19个基因在12~14 DAF和5~6 mg种子中表达量较高, 在5~6 mg的子叶中表达量低; 在第II组中, 有17个基因在100~200mg和400~500mg的子叶中表达量较高; 在第III组中, 有31个基因在12~14 DAF、22~24 DAF、5~6 mg时期有较高表达; 在第IV组中有49个基因在种子发育时期表达量差异不大; 第V组中,

有23个基因在干燥的种子中有较高表达; 第VI组中, 有67个基因在4 DAF、12~14 DAF、22~24 DAF、5~6 mg的种子中表达较高; 在第VII组中, 有34个基因在12~14 DAF、22~24 DAF、5~6 mg的种子及100~200 mg和400~500 mg的子叶中表达量较高; 在第VIII组中, 有23个基因在5~6 mg的种子和子叶、100~200 mg和400~500 mg的子叶及干种子中表达量较高, 而在5~6 mg的种皮中表达量较低; 在第IX组中, 有25个基因在12~14 DAF、22~24 DAF、5~6 mg的种子中表达量较高, 但在5~6 mg的种皮及子叶中表达量较低; 在第X组中, 有67个基因在所选的7个不同部位时期中表达量均较低(表2)。

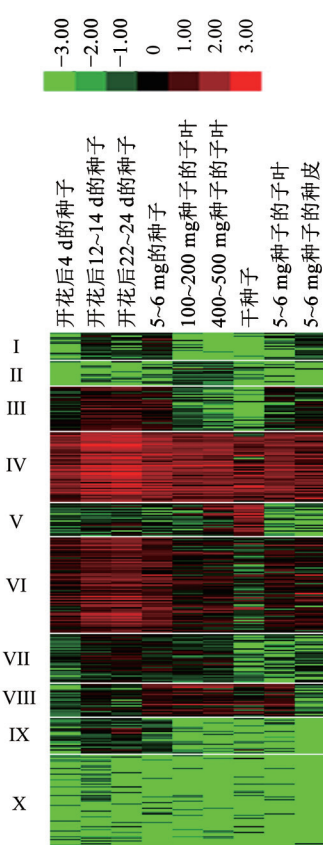


图5 AP2/ERF基因在大豆种子发育时期的表达谱
Fig.5 The expression pattern of AP2/ERF genes during soybean seed development

讨 论

AP2/ERF基因在高等植物的生长发育、应对外界刺激反应以及基因的调控等方面发挥重要的作用(张计育等2012)。本研究在全基因组范围内鉴定了355个大豆AP2/ERF基因家族成员,其中包含了三个主要的类型: AP2亚家族、RAV亚家族及ERF亚家族。大豆与拟南芥AP2/ERF基因保守结构域的比较分析表明: AP2类型中的两个AP2/ERF结构域、RAV类型结构域、ERF类型结构域的保守氨基酸存在差异,一般均出现在保守域的C段,但保守域的核心结构均是一致的,这表明AP2/ERF基因家族结构的保守性较高。

AP2、RAV及ERF亚家族基因在植物生长发育中发挥着不同的功能: AP2亚家族基因在植物生长发育过程中发挥重要的作用(Elliott等1996; Chuck等1998; Boutilier等2002); ERF亚家族基因在植物应对生物及非生物胁迫过程中发挥重要作用

(Yamaguchi-Shinozaki和Shinozaki 1994; Thomas-show 1999; Sakuma等2002); RAV亚家族基因主要对乙烯和油菜素内酯的刺激产生应答(Alonso等2003; Hu等2004)。从系统发育树的结果中(AP2分支、RAV分支、ERF-I~XI分支),我们发现在大豆和拟南芥中这些基因是比较保守的,且表现出大量的基因加倍现象,表明其对应蛋白的功能相似,同时可能出现基因冗余现象。在AP2/ERF基因家族进化的过程中AP2亚家族基因、RAV亚家族基因与ERF亚家族基因存在两次主要的分歧事件: 一次是AP2亚家族基因与RAV亚家族基因的分歧; 另一次是ERF亚家族基因与AP2和RAV亚家族基因的分歧。

人工选择在大豆选育过程中发挥了重要的作用,使栽培大豆保留了大量适于人类生活的性状。通过对野生大豆与栽培大豆分化相关基因的鉴定,我们获取了7个明显分化相关的AP2/ERF基因,对其功能研究发现,其参与了大豆生长发育的主要过程: 野生大豆比栽培大豆对一些非生物胁迫抗性较高, *Glyma10g07740.2*和*Glyma06g44430.1*与干旱胁迫相关; 野生大豆蔓生,无限结荚习性,栽培大豆大部分为有限结荚习性,而*Glyma08g-38190.2*与根、茎顶端的分生组织功能相关等。

通过对种子发育不同时期的转录组进行分析显示: 在第I组中有19个基因在5~6 mg的种子中有较高表达量,而在对应的子叶中表达量较低,推测这些基因可能并没有参与胚乳的吸收及水分养料的积累过程; 第II组中有17个基因在100~200 mg和400~500 mg的子叶中表达量升高,推测这些基因的表达可能参与了营养成分积累及蛋白贮存; 在第III组中有31个基因在12~14 DAF、22~24 DAF、5~6 mg的时期种子中有较高表达,推测这些基因可能主要参与了子叶、胚乳的发育及胚乳的养分吸收; 在第IV组中有49个基因在种子发育的所有时期表达量均很高,推测可能参与了种子发育的所有过程; 在第V组中有23个基因在种子水分含量最少的时期表达; 在第VI组中有67个基因在100~200 mg的种子中表达量低,推测可能不是种子发育过程中蛋白质合成过程的主要基因; 在第VII组中有34个基因可能不在心形胚时期发挥重要作用; 在第VIII组中有23个基因可能不参与胚乳

表 2 大豆AP2/ERF基因种子发育表达谱聚类分组

Table 2 The cluster groups of AP2/ERF genes during soybean seed development

基因名称	分组	基因名称	分组	基因名称	分组
<i>Glyma03g41910.1 ERF</i>	I	<i>Glyma18g49761.1 ERF</i>	III	<i>Glyma06g45680.1 ERF</i>	IV
<i>Glyma08g04550.2 ERF</i>	I	<i>Glyma06g07240.3 ERF</i>	III	<i>Glyma12g11150.4 ERF</i>	IV
<i>Glyma10g07740.2 ERF</i>	I	<i>Glyma04g07140.1 ERF</i>	III	<i>Glyma13g38030.1 ERF</i>	IV
<i>Glyma14g13470.2 ERF</i>	I	<i>Glyma10g22390.2 AP2</i>	III	<i>Glyma07g04950.6 ERF</i>	IV
<i>Glyma03g29681.1 ERF</i>	I	<i>Glyma0041s50.1 AP2</i>	III	<i>Glyma01g41527.1 ERF</i>	IV
<i>Glyma13g30710.1 ERF</i>	I	<i>Glyma11g04910.2 AP2</i>	III	<i>Glyma16g01500.7 ERF</i>	IV
<i>Glyma03g29530.1 ERF</i>	I	<i>Glyma08g23630.3 AP2</i>	III	<i>Glyma02g01960.1 ERF</i>	IV
<i>Glyma01g03110.2 ERF</i>	I	<i>Glyma20g29410.1 ERF</i>	III	<i>Glyma03g31640.2 ERF</i>	IV
<i>Glyma03g41640.1 ERF</i>	I	<i>Glyma05g03560.2 ERF</i>	III	<i>Glyma02g43500.1 ERF</i>	IV
<i>Glyma20g29440.1 ERF</i>	I	<i>Glyma17g14111.1 ERF</i>	III	<i>Glyma02g46340.1 ERF</i>	IV
<i>Glyma08g23074.1 ERF</i>	I	<i>Glyma08g21650.1 ERF</i>	III	<i>Glyma14g02360.1 ERF</i>	IV
<i>Glyma20g31293.1 ERF</i>	I	<i>Glyma07g02001.1 ERF</i>	III	<i>Glyma14g05470.3 ERF</i>	IV
<i>Glyma16g26460.1 ERF</i>	I	<i>Glyma05g35741.1 ERF</i>	III	<i>Glyma18g10290.1 ERF</i>	IV
<i>Glyma13g23570.1 ERF</i>	I	<i>Glyma13g37451.1 ERF</i>	III	<i>Glyma13g30990.1 ERF</i>	IV
<i>Glyma15g01140.1 ERF</i>	I	<i>Glyma11g03910.2 ERF</i>	III	<i>Glyma02g07310.1 ERF</i>	V
<i>Glyma04g19650.1 ERF</i>	I	<i>Glyma01g41520.1 ERF</i>	III	<i>Glyma10g21850.2 ERF</i>	V
<i>Glyma13g21570.1 ERF</i>	I	<i>Glyma12g26836.1 ERF</i>	IV	<i>Glyma19g29000.1 ERF</i>	V
<i>Glyma07g14070.2 ERF</i>	I	<i>Glyma06g35710.1 ERF</i>	IV	<i>Glyma06g15341.1 ERF</i>	V
<i>Glyma13g18410.1 ERF</i>	I	<i>Glyma06g44430.1 ERF</i>	IV	<i>Glyma20g16920.1 ERF</i>	V
<i>Glyma07g31995.1 AP2</i>	II	<i>Glyma12g13315.1 ERF</i>	IV	<i>Glyma20g30835.1 ERF</i>	V
<i>Glyma06g17180.2 ERF</i>	II	<i>Glyma16g00950.2 AP2</i>	IV	<i>Glyma10g36760.1 ERF</i>	V
<i>Glyma06g40011.1 ERF</i>	II	<i>Glyma07g04265.1 AP2</i>	IV	<i>Glyma08g15350.1 ERF</i>	V
<i>Glyma10g07005.1 ERF</i>	II	<i>Glyma13g00950.1 AP2</i>	IV	<i>Glyma05g32040.1 ERF</i>	V
<i>Glyma10g00990.1 ERF</i>	II	<i>Glyma17g07010.1 AP2</i>	IV	<i>Glyma16g05190.2 ERF</i>	V
<i>Glyma19g04461.1 ERF</i>	II	<i>Glyma09g36840.2 ERF</i>	IV	<i>Glyma17g35860.1 ERF</i>	V
<i>Glyma16g05070.2 ERF</i>	II	<i>Glyma13g31010.1 ERF</i>	IV	<i>Glyma02g08835.1 ERF</i>	V
<i>Glyma14g12505.1 ERF</i>	II	<i>Glyma15g08360.1 ERF</i>	IV	<i>Glyma16g27950.1 ERF</i>	V
<i>Glyma02g00890.1 ERF</i>	II	<i>Glyma20g16910.1 ERF</i>	IV	<i>Glyma04g39510.1 ERF</i>	V
<i>Glyma09g05840.1 ERF</i>	II	<i>Glyma12g35550.1 ERF</i>	IV	<i>Glyma07g19221.1 ERF</i>	V
<i>Glyma09g05850.1 ERF</i>	II	<i>Glyma10g23440.1 ERF</i>	IV	<i>Glyma18g43750.2 ERF</i>	V
<i>Glyma15g09190.1 ERF</i>	II	<i>Glyma13g34920.1 ERF</i>	IV	<i>Glyma06g04490.2 ERF</i>	V
<i>Glyma05g29011.1 ERF</i>	II	<i>Glyma17g15460.1 ERF</i>	IV	<i>Glyma04g04355.1 ERF</i>	V
<i>Glyma17g27520.2 ERF</i>	II	<i>Glyma05g05130.1 ERF</i>	IV	<i>Glyma02g42960.1 ERF</i>	V
<i>Glyma18g48741.1 ERF</i>	II	<i>Glyma14g29040.2 ERF</i>	IV	<i>Glyma14g06080.1 ERF</i>	V
<i>Glyma18g48730.1 ERF</i>	II	<i>Glyma09g08330.1 ERF</i>	IV	<i>Glyma04g03070.2 ERF</i>	V
<i>Glyma13g18370.2 ERF</i>	II	<i>Glyma01g44130.1 ERF</i>	IV	<i>Glyma06g03110.1 ERF</i>	V
<i>Glyma01g44140.1 ERF</i>	III	<i>Glyma19g40070.2 ERF</i>	IV	<i>Glyma12g33020.1 ERF</i>	V
<i>Glyma11g01640.1 ERF</i>	III	<i>Glyma10g42130.1 ERF</i>	IV	<i>Glyma19g36200.2 AP2</i>	VI
<i>Glyma04g06690.1 ERF</i>	III	<i>Glyma20g24920.4 ERF</i>	IV	<i>Glyma07g37410.1 ERF</i>	VI
<i>Glyma06g06780.1 ERF</i>	III	<i>Glyma10g02080.1 ERF</i>	IV	<i>Glyma17g18640.1 AP2</i>	VI
<i>Glyma17g33075.1 ERF</i>	III	<i>Glyma09g04630.1 ERF</i>	IV	<i>Glyma01g39520.3 AP2</i>	VI
<i>Glyma19g44580.1 ERF</i>	III	<i>Glyma15g16260.1 ERF</i>	IV	<i>Glyma11g05720.1 AP2</i>	VI
<i>Glyma07g02380.1 AP2</i>	III	<i>Glyma06g11010.1 ERF</i>	IV	<i>Glyma19g32380.1 ERF</i>	VI
<i>Glyma03g23330.2 ERF</i>	III	<i>Glyma14g34590.1 ERF</i>	IV	<i>Glyma11g03900.1 ERF</i>	VI
<i>Glyma15g00660.1 ERF</i>	III	<i>Glyma04g11290.1 ERF</i>	IV	<i>Glyma11g02140.1 ERF</i>	VI
<i>Glyma04g43040.2 ERF</i>	III	<i>Glyma13g01930.1 ERF</i>	IV	<i>Glyma08g02460.1 ERF</i>	VI
<i>Glyma07g06080.1 ERF</i>	III	<i>Glyma19g45200.2 ERF</i>	IV	<i>Glyma20g35820.1 ERF</i>	VI
<i>Glyma06g45010.2 ERF</i>	III	<i>Glyma03g42450.1 ERF</i>	IV	<i>Glyma05g37120.1 ERF</i>	VI
<i>Glyma18g02170.1 ERF</i>	III	<i>Glyma01g43350.2 ERF</i>	IV	<i>Glyma06g13040.2 ERF</i>	VI
<i>Glyma02g14940.1 ERF</i>	III	<i>Glyma18g29400.2 AP2</i>	IV	<i>Glyma04g41740.1 ERF</i>	VI
<i>Glyma10g36300.2 ERF</i>	III	<i>Glyma12g32400.1 ERF</i>	IV	<i>Glyma06g11700.1 ERF</i>	VI

表2 (续1)

基因名称	分组	基因名称	分组	基因名称	分组
<i>Glyma17g05240.1 ERF</i>	VI	<i>Glyma05g05180.1 ERF</i>	VI	<i>Glyma11g14040.1 AP2</i>	VIII
<i>Glyma13g17250.1 ERF</i>	VI	<i>Glyma02g08020.1 ERF</i>	VII	<i>Glyma12g06010.1 AP2</i>	VIII
<i>Glyma15g19910.2 ERF</i>	VI	<i>Glyma13g30720.2 ERF</i>	VII	<i>Glyma17g37350.2 ERF</i>	VIII
<i>Glyma16g02680.1 ERF</i>	VI	<i>Glyma10g33060.1 ERF</i>	VII	<i>Glyma06g08990.1 ERF</i>	VIII
<i>Glyma12g12270.2 ERF</i>	VI	<i>Glyma10g00980.1 ERF</i>	VII	<i>Glyma03g26437.1 ERF</i>	VIII
<i>Glyma01g43450.1 ERF</i>	VI	<i>Glyma07g02930.1 ERF</i>	VII	<i>Glyma03g26480.2 ERF</i>	VIII
<i>Glyma10g33700.1 ERF</i>	VI	<i>Glyma13g08490.1 ERF</i>	VII	<i>Glyma08g23160.1 ERF</i>	IX
<i>Glyma10g33810.1 ERF</i>	VI	<i>Glyma13g44660.2 ERF</i>	VII	<i>Glyma07g37990.2 ERF</i>	IX
<i>Glyma07g33511.1 ERF</i>	VI	<i>Glyma14g22970.2 ERF</i>	VII	<i>Glyma17g02711.1 ERF</i>	IX
<i>Glyma08g30716.1 ERF</i>	VI	<i>Glyma13g02860.2 ERF</i>	VII	<i>Glyma15g08580.1 ERF</i>	IX
<i>Glyma01g20383.2 ERF</i>	VI	<i>Glyma01g44230.2 ERF</i>	VII	<i>Glyma18g20962.1 ERF</i>	IX
<i>Glyma08g14600.1 ERF</i>	VI	<i>Glyma03g27050.1 ERF</i>	VII	<i>Glyma19g44240.1 ERF</i>	IX
<i>Glyma05g31370.1 ERF</i>	VI	<i>Glyma07g14560.1 ERF</i>	VII	<i>Glyma16g08683.1 ERF</i>	IX
<i>Glyma11g15650.4 AP2</i>	VI	<i>Glyma01g13410.1 ERF</i>	VII	<i>Glyma10g38420.1 ERF</i>	IX
<i>Glyma03g33470.1 AP2</i>	VI	<i>Glyma05g04920.1 ERF</i>	VII	<i>Glyma01g42510.1 ERF</i>	IX
<i>Glyma02g09600.1 AP2</i>	VI	<i>Glyma17g15310.1 ERF</i>	VII	<i>Glyma11g03790.1 ERF</i>	IX
<i>Glyma18g33460.1 ERF</i>	VI	<i>Glyma11g02050.1 ERF</i>	VII	<i>Glyma10g04190.1 ERF</i>	IX
<i>Glyma08g46250.4 ERF</i>	VI	<i>Glyma10g23460.1 ERF</i>	VII	<i>Glyma20g34550.1 ERF</i>	IX
<i>Glyma14g38610.1 ERF</i>	VI	<i>Glyma20g33800.1 ERF</i>	VII	<i>Glyma02g07460.1 ERF</i>	IX
<i>Glyma02g40320.1 ERF</i>	VI	<i>Glyma18g51680.1 ERF</i>	VII	<i>Glyma03g01931.1 ERF</i>	IX
<i>Glyma11g31401.1 ERF</i>	VI	<i>Glyma07g10116.1 ERF</i>	VII	<i>Glyma06g29110.2 ERF</i>	IX
<i>Glyma01g22260.1 RAV</i>	VI	<i>Glyma19g03120.2 ERF</i>	VII	<i>Glyma17g12330.1 ERF</i>	IX
<i>Glyma02g11060.1 RAV</i>	VI	<i>Glyma19g03165.1 ERF</i>	VII	<i>Glyma13g33441.1 ERF</i>	IX
<i>Glyma10g34760.1 RAV</i>	VI	<i>Glyma17g18610.2 ERF</i>	VII	<i>Glyma08g38800.2 ERF</i>	IX
<i>Glyma08g38190.2 AP2</i>	VI	<i>Glyma19g34650.1 ERF</i>	VII	<i>Glyma05g07690.2 ERF</i>	IX
<i>Glyma04g05080.2 AP2</i>	VI	<i>Glyma20g32730.1 RAV</i>	VII	<i>Glyma03g26530.1 ERF</i>	IX
<i>Glyma06g05170.2 AP2</i>	VI	<i>Glyma01g40380.2 AP2</i>	VII	<i>Glyma13g18350.1 ERF</i>	IX
<i>Glyma17g17010.1 AP2</i>	VI	<i>Glyma18g16236.1 AP2</i>	VII	<i>Glyma10g04210.1 ERF</i>	IX
<i>Glyma08g40831.1 AP2</i>	VI	<i>Glyma10g38440.1 ERF</i>	VII	<i>Glyma03g31940.1 ERF</i>	IX
<i>Glyma19g31960.1 AP2</i>	VI	<i>Glyma15g02130.1 ERF</i>	VII	<i>Glyma19g43815.1 ERF</i>	IX
<i>Glyma02g33090.1 AP2</i>	VI	<i>Glyma16g32330.1 ERF</i>	VII	<i>Glyma03g26394.1 ERF</i>	IX
<i>Glyma03g29240.1 AP2</i>	VI	<i>Glyma17g13320.1 ERF</i>	VII	<i>Glyma07g03500.1 ERF</i>	X
<i>Glyma17g18580.1 ERF</i>	VI	<i>Glyma03g26520.1 ERF</i>	VII	<i>Glyma08g38171.1 ERF</i>	X
<i>Glyma11g05700.2 ERF</i>	VI	<i>Glyma07g14060.1 ERF</i>	VII	<i>Glyma19g27790.2 ERF</i>	X
<i>Glyma14g09320.1 ERF</i>	VI	<i>Glyma09g37780.1 ERF</i>	VII	<i>Glyma07g23225.1 ERF</i>	X
<i>Glyma01g42500.2 ERF</i>	VI	<i>Glyma14g06290.1 ERF</i>	VIII	<i>Glyma15g02900.1 ERF</i>	X
<i>Glyma14g07620.1 ERF</i>	VI	<i>Glyma02g43240.2 ERF</i>	VIII	<i>Glyma13g21560.2 ERF</i>	X
<i>Glyma14g22740.1 ERF</i>	VI	<i>Glyma09g38370.2 AP2</i>	VIII	<i>Glyma02g00870.1 ERF</i>	X
<i>Glyma09g32730.2 ERF</i>	VI	<i>Glyma18g47980.2 AP2</i>	VIII	<i>Glyma02g31350.1 ERF</i>	X
<i>Glyma01g35010.2 ERF</i>	VI	<i>Glyma11g01700.1 ERF</i>	VIII	<i>Glyma03g26310.1 ERF</i>	X
<i>Glyma13g43210.1 ERF</i>	VI	<i>Glyma20g33890.1 ERF</i>	VIII	<i>Glyma08g22590.1 ERF</i>	X
<i>Glyma04g08901.1 ERF</i>	VI	<i>Glyma07g03041.1 ERF</i>	VIII	<i>Glyma19g34661.1 ERF</i>	X
<i>Glyma08g03910.1 ERF</i>	VI	<i>Glyma16g26320.1 ERF</i>	VIII	<i>Glyma07g13980.2 ERF</i>	X
<i>Glyma09g27180.2 ERF</i>	VI	<i>Glyma12g07800.1 AP2</i>	VIII	<i>Glyma14g32210.1 ERF</i>	X
<i>Glyma17g15480.1 ERF</i>	VI	<i>Glyma15g04930.1 AP2</i>	VIII	<i>Glyma04g37866.1 AP2</i>	X
<i>Glyma20g34570.1 ERF</i>	VI	<i>Glyma13g40470.4 AP2</i>	VIII	<i>Glyma02g04460.2 ERF</i>	X
<i>Glyma08g43300.1 ERF</i>	VI	<i>Glyma08g24420.1 AP2</i>	VIII	<i>Glyma08g28835.1 ERF</i>	X
<i>Glyma15g08370.1 ERF</i>	VI	<i>Glyma15g34770.1 AP2</i>	VIII	<i>Glyma13g28810.2 ERF</i>	X
<i>Glyma05g18041.1 AP2</i>	VI	<i>Glyma15g08560.1 ERF</i>	VIII	<i>Glyma15g10245.1 ERF</i>	X
<i>Glyma05g22970.1 AP2</i>	VI	<i>Glyma08g15830.2 ERF</i>	VIII	<i>Glyma07g08542.1 ERF</i>	X
<i>Glyma05g19050.1 ERF</i>	VI	<i>Glyma01g02760.1 AP2</i>	VIII	<i>Glyma17g33535.1 ERF</i>	X
<i>Glyma01g39540.1 ERF</i>	VI	<i>Glyma14g10130.2 AP2</i>	VIII	<i>Glyma06g06101.1 ERF</i>	X

表2 (续2)

基因名称	分组	基因名称	分组	基因名称	分组
<i>Glyma04g06095.1 ERF</i>	X	<i>Glyma13g05690.2 ERF</i>	X	<i>Glyma12g30740.2 ERF</i>	X
<i>Glyma19g37670.1 ERF</i>	X	<i>Glyma13g29920.1 ERF</i>	X	<i>Glyma11g19341.1 ERF</i>	X
<i>Glyma03g34970.1 ERF</i>	X	<i>Glyma08g12130.1 ERF</i>	X	<i>Glyma13g39540.1 ERF</i>	X
<i>Glyma05g03540.2 ERF</i>	X	<i>Glyma16g27040.1 ERF</i>	X	<i>Glyma10g07756.1 ERF</i>	X
<i>Glyma17g14100.1 ERF</i>	X	<i>Glyma16g04410.1 ERF</i>	X	<i>Glyma12g30710.1 ERF</i>	X
<i>Glyma03g31912.1 ERF</i>	X	<i>Glyma20g03890.2 ERF</i>	X	<i>Glyma12g09130.1 ERF</i>	X
<i>Glyma13g18400.1 ERF</i>	X	<i>Glyma17g31900.1 ERF</i>	X	<i>Glyma20g33840.2 ERF</i>	X
<i>Glyma10g33080.1 ERF</i>	X	<i>Glyma09g37540.2 AP2</i>	X	<i>Glyma18g48721.1 ERF</i>	X
<i>Glyma03g31930.1 ERF</i>	X	<i>Glyma10g33070.1 ERF</i>	X	<i>Glyma13g18340.1 ERF</i>	X
<i>Glyma09g05860.1 ERF</i>	X	<i>Glyma20g39140.2 RAV</i>	X	<i>Glyma19g34696.1 ERF</i>	X
<i>Glyma20g34560.1 ERF</i>	X	<i>Glyma06g30840.2 AP2</i>	X	<i>Glyma19g34670.2 ERF</i>	X
<i>Glyma13g18330.1 ERF</i>	X	<i>Glyma18g49101.1 AP2</i>	X	<i>Glyma03g31920.1 ERF</i>	X
<i>Glyma10g04160.1 ERF</i>	X	<i>Glyma17g07860.1 AP2</i>	X	<i>Glyma13g18390.1 ERF</i>	X
<i>Glyma15g17100.1 ERF</i>	X	<i>Glyma02g36880.2 AP2</i>	X	<i>Glyma10g04170.2 ERF</i>	X
<i>Glyma15g17090.1 ERF</i>	X	<i>Glyma04g24010.2 AP2</i>	X		
<i>Glyma05g33440.1 ERF</i>	X	<i>Glyma10g31440.1 AP2</i>	X		

对养分的吸收; 在第IX组中有25个基因在子叶的形成过程中发挥重要作用; 在第X组中67个基因可能在种子发育各时期均不发挥重要作用。上述研究结果为将来进一步认识AP2/ERF基因在大豆种子发育过程中的功能提供了线索。

参考文献

- 杜磊, 张德春, 邓治, 刘向红, 李德军(2013). 巴西橡胶树一个AP2/EREBP转录因子的克隆及表达分析. 植物生理学报, 49 (11): 1238~1244
- 黄蔚, 王枫, 谭国飞, 徐志胜, 李梦瑶, 熊爱生(2014). 胡萝卜AP2/ERF-BI亚族两个转录因子基因的克隆及其非生物胁迫响应分析. 植物生理学报, 50 (8): 1184~1194
- 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): 835~847
- Abogadallah GM, Nada RM, Malinowski R, Quick P (2011). Overexpression of *HARDY*, an AP2/ERF gene from *Arabidopsis*, improves drought and salt tolerance by reducing transpiration and sodium uptake in transgenic *Trifolium alexandrinum* L. *Planta*, 233: 1265~1276
- Aida M, Beis D, Heidstra R, Willemsen V, Blilou I, Galinha C, Nussaume L, Noh YS, Amasino R, Scheres B (2004). The *PLETHORA* genes mediate patterning of the *Arabidopsis* root stem cell niche. *Cell*, 119: 109~120
- 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: 653~657
- Biswas B, Scott PT, Gresshoff PM (2011). Tree legumes as feedstock for sustainable biofuel production: opportunities and challenges. *J Plant Physiol*, 168: 1877~1884
- 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: 1737~1749
- Bowman JL, Drews GN, Meyerowitz EM (1991). Expression of the *Arabidopsis* floral homeotic gene *AGAMOUS* is restricted to specific cell types late in flower development. *Plant Cell*, 3: 749~758
- Bowman JL, Sakai H, Jack T, Weigel D, Mayer U, Meyerowitz EM (1992). *SUPERMAN*, a regulator of floral homeotic genes in *Arabidopsis*. *Development*, 114: 599~615
- Bowman JL, Smyth DR, Meyerowitz EM (1989). Genes directing flower development in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 1: 37~52
- Castillejo C, Pelaz S (2008). The balance between CONSTANS and TEMPRANILLO activities determines *FT* expression to trigger flowering. *Curr Biol*, 18: 1338~1343
- Chervitz SA, Aravind L, Sherlock G, Ball CA, Koonin EV, Dwight SS, Harris MA, Dolinski K, Mohr S, Smith T et al (1998). Comparison of the complete protein sets of worm and yeast: orthology and divergence. *Science*, 282 (5396): 2022~2028
- Chinnusamy V, Schumaker K, Zhu JK (2004). Molecular genetic perspectives on cross-talk and specificity in abiotic stress signalling in plants. *J Exp Bot*, 55 (395): 225~236
- Chuck G, Meeley RB, Hake S (1998). The control of maize spikelet meristem fate by the *APETALA2*-like gene *indeterminate spikelet1*. *Genes Dev*, 12: 1145~1154
- Conesa A, Gotz S (2008). Blast2GO: A comprehensive suite for functional analysis in plant genomics. *Int J Plant Genomics*, 2008: 619832
- Crooks GE, Hon G, Chandonia JM, Brenner SE (2004). WebLogo: a sequence logo generator. *Genome Res*, 14: 1188~1190
- Danecek P, Auton A, Abecasis G, Albers CA, Banks E, DePristo MA, Handsaker RE, Lunter G, Marth GT, Sherry ST et al (2011).

- The variant call format and VCFtools. *Bioinformatics*, 27 (15): 2156~2158
- de Hoon MJ, Imoto S, Nolan J, Miyano S (2004). Open source clustering software. *Bioinformatics*, 20 (9): 1453~1454
- Elliott RC, Betzner AS, Huttner E, Oakes MP, Tucker WQ, Gerentes D, Perez P, Smyth DR (1996). *AINTEGUMENTA*, an *APETA-LA2-like* gene of *Arabidopsis* with pleiotropic roles in ovule development and floral organ growth. *Plant Cell*, 8: 155~168
- Finn RD, Bateman A, Clements J, Coggill P, Eberhardt RY, Eddy SR, Heger A, Hetherington K, Holm L, Mistry J et al (2014). Pfam: the protein families database. *Nucleic Acids Res*, 42: D222~D230
- Fujita M, Fujita Y, Noutoshi Y, Takahashi F, Narusaka Y, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K (2006). Crosstalk between abiotic and biotic stress responses: a current view from the points of convergence in the stress signaling networks. *Curr Opin Plant Biol*, 9: 436~442
- Hu L, Liu S (2011). Genome-wide identification and phylogenetic analysis of the *ERF* gene family in cucumbers. *Genet Mol Biol*, 34 (4): 624~633
- 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
- Huala E, Sussex IM (1992). *LEAFY* interacts with floral homeotic genes to regulate *Arabidopsis* floral development. *Plant Cell*, 4: 901~913
- Irish VF, Sussex IM (1990). Function of the *apetala-1* gene during *Arabidopsis* floral development. *Plant Cell*, 2: 741~753
- Jin J, Zhang H, Kong L, Gao G, Luo J (2014). PlantTFDB 3.0: a portal for the functional and evolutionary study of plant transcription factors. *Nucleic Acids Res*, 42: D1182~D1187
- Jones SI, Vodkin LO (2013). Using RNA-Seq to profile soybean seed development from fertilization to maturity. *PLoS ONE*, 8 (3): e59270
- Krzywinski M, Schein J, Birol I, Connors J, Gascoyne R, Horsman D, Jones SJ, Marra MA (2009). Circos: an information aesthetic for comparative genomics. *Genome Res*, 19: 1639~1645
- Kunkel BN, Brooks DM (2002). Cross talk between signaling pathways in pathogen defense. *Curr Opin Plant Biol*, 5: 325~331
- Kunst L, Klenz JE, Martinez-Zapater J, Haughn GW (1989). *AP2* gene determines the identity of perianth organs in flowers of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell*, 1: 1195~1208
- Letunic I, Doerks T, Bork P (2012). SMART 7: recent updates to the protein domain annotation resource. *Nucleic Acids Res*, 40: D302~D305
- Licausi F, Giorgi FM, Zenoni S, Osti F, Pezzotti M, Perata P (2010). Genomic and transcriptomic analysis of the *AP2/ERF* superfamily in *Vitis vinifera*. *BMC Genomics*, 11: 719
- McKenna A, Hanna M, Banks E, Sivachenko A, Cibulskis K, Kernytzky A, Garimella K, Altshuler D, Gabriel S, Daly M et al (2010). The genome analysis toolkit: a MapReduce framework for analyzing next-generation DNA sequencing data. *Genome Res*, 20: 1297~1303
- Mudunkothge JS, Krizek BA (2012). Three *Arabidopsis AIL/PLT* genes act in combination to regulate shoot apical meristem function. *Plant J*, 71: 108~121
- Nakano T, Suzuki K, Fujimura T, Shinshi H (2006). Genome-wide analysis of the *ERF* gene family in *Arabidopsis* and rice. *Plant Physiol*, 140: 411~432
- Niu X, Helentjaris T, Bate NJ (2002). Maize ABI4 binds coupling element1 in abscisic acid and sugar response genes. *Plant Cell*, 14: 2565~2575
- Ohta M, Matsui K, Hiratsu K, Shinshi H, Ohme-Takagi M (2001). Repression domains of class II *ERF* transcriptional repressors share an essential motif for active repression. *Plant Cell*, 13: 1959~1968
- Ohta M, Ohme-Takagi M, Shinshi H (2000). Three ethylene-responsive transcription factors in tobacco with distinct transactivation functions. *Plant J*, 22 (1): 29~38
- Pollier J, Rombauts S, Goossens A (2013). Analysis of RNA-Seq data with TopHat and Cufflinks for genome-wide expression analysis of jasmonate-treated plants and plant cultures. *Methods Mol Biol*, 1011: 305~315
- Riechmann JL, Meyerowitz EM (1998). The *AP2/EREBP* family of plant transcription factors. *Biol Chem*, 379: 633~646
- Rubin GM, Yandell MD, Wortman JR, Gabor MG, Nelson CR, Hariharan IK, Fortini ME, Li PW, Apweiler R, Fleischmann W et al (2000). Comparative genomics of the eukaryotes. *Science*, 287 (5461): 2204~2215
- 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: 998~1009
- 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
- Trapnell C, Pachter L, Salzberg SL (2009). TopHat: discovering splice junctions with RNA-Seq. *Bioinformatics*, 25 (9): 1105~1111
- Van Holle S, Van Damme EJ (2015). Distribution and evolution of the *Lectin* family in soybean (*Glycine max*). *Molecules*, 20: 2868~2891
- Velasco R, Zharkikh A, Affourtit J, Dhingra A, Cestaro A, Kalyanaraman A, Fontana P, Bhatnagar SK, Troggio M, Pruss D et al (2010). The genome of the domesticated apple (*Malus x domestica Borkh.*). *Nat Genet*, 42: 833~839
- Woo HR, Kim JH, Kim J, Kim J, Lee U, Song IJ, Kim JH, Lee HY, Nam HG, Lim PO (2010). The RAV1 transcription factor positively regulates leaf senescence in *Arabidopsis*. *J Exp Bot*, 61 (14): 3947~3957

- Xu H, Wang X, Chen J (2010). Overexpression of the *Rap2.4f* transcriptional factor in *Arabidopsis* promotes leaf senescence. *Sci China Life Sci*, 53 (10): 1221~1226
- 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: 251~264
- Zhang G, Chen M, Chen X, Xu Z, Guan S, Li LC, Li A, Guo J, Mao L, Ma Y (2008). Phylogeny, gene structures, and expression patterns of the *ERF* gene family in soybean (*Glycine max* L.). *J Exp Bot*, 59 (15): 4095~4107
- Zhang G, Chen M, Li L, Xu Z, Chen X, Guo J, Ma Y (2009). Overexpression of the soybean *GmERF3* gene, an *AP2/ERF* type transcription factor for increased tolerances to salt, drought, and diseases in transgenic tobacco. *J Exp Bot*, 60 (13): 3781~3796
- Zhao L, Luo Q, Yang C, Han Y, Li W (2008). A *RAV-like* transcription factor controls photosynthesis and senescence in soybean. *Planta*, 227: 1389~1399