

ERF转录因子家族在甜菜块根发育中的功能分析

曹国丽, 张永丰, 孙亚卿, 李国龙, 张少英*

内蒙古农业大学甜菜生理研究所, 呼和浩特010018

摘要: 本研究以AP2/ERF保守结构域序列为检索序列在甜菜(*Beta vulgaris*)基因组数据中搜索并鉴定BvERF转录因子家族成员。通过系统分析, 发现甜菜基因组中共有68个BvERF家族基因, 系统进化分析将它们分为10个组。BvERF家族中15个成员与甜菜块根转入快速生长阶段有关, 其中Bv_ammr可能与甜菜丰产性能有关, Bv_ignp、Bv_sqfr和Bv_khde与苗龄113 d时丰产型品种生长速率较高有关, Bv_wnjc可能与块根生长速率负相关, Bv_feff基因与高糖型品系具有更多的维管束环有关。研究结果为进一步明确BvERF转录因子调控甜菜块根发育的分子机制提供参考。

关键词: 甜菜; 块根发育; BvERF

乙烯响应因子(ethylene-responsive element binding factor, ERF)又称为EREBP (ethylene-responsive element binding protein) (Nakano等2006)。ERF家族是一个成员众多的基因家族, 它与AP2和RAV共同组成AP2/ERF超家族(Riechmann等2000)。AP2/ERF超家族的特征是包含一个具有60~70个氨基酸的AP2/ERF保守结构域, 该结构域和蛋白质与DNA的结合有关。AP2家族蛋白质包含两个AP2/ERF保守结构域。RAV家族蛋白质包含一个AP2/ERF保守结构域和一个B3保守结构域。ERF家族蛋白质仅包含一个AP2/ERF保守结构域。ERF家族也可被分为ERF亚家族和CBF/DREB亚家族。ERF亚家族蛋白质的AP2/ERF保守结构域的第14和19位分别是缬氨酸和谷氨酸, CBF/DREB亚家族蛋白质的AP2/ERF保守结构域的第14和19位分别是丙氨酸和天冬氨酸(Sakuma等2002)。ERF结构域在烟草(*Nicotiana tabacum*)中首先发现, 它可以特异性地结合乙烯应答基因DNA序列中的GCC盒子(Ohme-Takagi和Shinshi 1995)。在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*) AP2蛋白中首次发现AP2结构域具有重复模体(Jofuku等1994)。

前人已经对AP2/ERF转录因子的功能进行了探索。AP2转录因子家族主要与调控植物生长发育过程有关(Kirch等2003; Li等2013; Horstman等2014; Kuluev等2015), 例如花的发育(Aukerman和Sakai 2003)、叶片表皮细胞分化(Moose和Sisco 1996)和种子发育(Jofuku等2005)。ERF家族与植物对生物和非生物胁迫的应答密切相关(Kirch等2003; Seo等2010; 莫纪波等2011; Dong等2015; 魏

海超等2015), 还与多个植物激素的信号转导通路有关(Fujimoto等2000)。玉米(*Zea mays*)中的BD1基因和水稻(*Oryza sativa*)中的FZP基因可编码两个高度同源的ERF转录因子, 这两个基因都与小穗分生组织特性的调控有关(Chuck等2002; Kirch等2003; Komatsu等2003; Zhu等2003)。拟南芥中TINY基因编码ERF转录因子, TINY的突变体表现出由于细胞减少而导致的植株矮小(Wilson等1996); BOLITA编码的ERF转录因子与拟南芥叶片的细胞扩展有关(Marsch-Martinez等2006)。DRN/ESR (DORNROSCHEN/ENHANCER OF SHOOT REGENERATION)与拟南芥茎尖的分生组织分化有关, 其编码的ERF转录因子可以调控CLAVATA3和WUSCHEL基因的表达, 从而参与调控干细胞分化(Banno等2001; Kirch等2003)。

近年来, 随着多个植物基因组不断公布, AP2/ERF转录因子超家族在这些植物中的分布情况也已获报道, 如拟南芥(Nakano等2006)、水稻(Nakano等2006)、大豆(*Glycine max*) (Zhang等2008; 魏海超等2015; 翟莹等2016)、玉米(Zhuang等2010)、葡萄(*Vitis vinifera*) (Licausi等2010)、小麦(*Triticum aestivum*) (Zhuang等2011a)、大麦(*Hordeum vulgare*) (Zhuang等2011b)、苹果(*Malus pumila*) (Girardi等2013)和茄子(*Solanum melongena*) (邵欣欣等2015)。甜菜(*Beta vulgaris*)是主要的糖料作物, 甜菜块根

收稿 2018-02-05 修定 2018-03-27

资助 国家自然科学基金(31760416)和现代农业产业技术体系项目(CARS-170201)。

* 通讯作者(syzh36@aliyun.com)。

的丰产高糖是其主要育种方向。本研究组通过转录组学研究发现丰产型品种与高糖型品系之间产量与含糖率的差异主要是块根生长策略的不同引起的: 丰产型品种的块根更侧重于细胞生长, 高糖型品系块根更侧重于细胞分裂(Zhang等2017)。油菜素内酯、生长素、细胞分裂素和赤霉素的信号转导及多个转录因子家族皆与甜菜块根发育有关(Zhang等2017)。但是由于ERF家族成员众多且表达模式变化复杂, 尚未深入分析ERF家族基因与块根发育的关系。因此, 本文筛选了甜菜基因组中的ERF家族成员, 通过系统进化树、保守性氨基酸模体分析进行功能分类, 并根据本研究组已发表的转录组数据(SRP090408)分析其在甜菜块根不同发育阶段的表达模式, 预测其与甜菜块根发育关系, 为进一步阐明甜菜块根发育调控的分子机制提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 植物材料

所用甜菜(*Beta vulgaris* L.)丰产型品种‘SD-13829’由斯特儒博公司(Sollingen, Germany)提供, 高糖型品系BS02为本研究组自育。

甜菜样品2014年种植于内蒙古农业大学教学农场(40°52′54″N 111°43′53″E), 取样时间从苗龄37 d起, 选择晴日下午取样, 间隔为7 d左右, 样品存放于液氮中。

1.2 实验方法

1.2.1 基因组中鉴定*BvERF*家族基因序列

基于隐马尔可夫模型(Hidden Markov Model, HMM)的保守性AP2结构域序列下载自Pfam蛋白家族数据库(<http://pfam.xfam.org/>)。为了筛选出甜菜基因组全部的ERF转录因子基因, 利用该序列在甜菜基因数据集RefBeet-1.1和RefBeet-1.2 (<http://bvseq.molgen.mpg.de/Genome/Download/index.shtml>)中进行BLASTP搜索, 所有可以编码完整AP2结构域的都归为甜菜ERF/AP2超家族基因, 并确保其非冗余。将SMART分析(<http://smart.embl-heidelberg.de/>)作为二次检验的标准, 确保每一条蛋白质序列都包含保守性AP2结构域, 其中仅含有一个AP2结构域的蛋白质属于ERF家族。

1.2.2 *BvERF*家族成员系统进化特性分析

利用ClusterW在默认设置下对来自甜菜和拟

南芥的ERF蛋白氨基酸序列进行多序列比对, 然后使用MEGA 6.0构建无根系统进化树; 统计方法为邻接法(neighbor-joining), 对系统进化各个节点的检验使用自举法(bootstrapping), 引导程序重复1 000次。同时利用极大似然法和最小进化法分别构建系统进化树, 以检验所得到的系统进化树。

1.2.3 基因结构分析和保守性模体鉴定

使用MEME (<http://meme-suite.org/tools/meme>)在线统计分析*BvERF*蛋白序列中的保守性模体, 模体数量设为14, 其他设为默认值。

1.2.4 *BvERF*家族基因在甜菜块根发育过程中的表达模式分析

根据甜菜块根发育分子调控研究中获得的转录组学数据(SRP090408), 分析所有*BvERF*基因在块根发育过程中的表达模式, 将基因表达水平标准化为Z值(Z-score)后用HemI (Heatmap Illustrator, version 1.0.1; <http://hemi.biocuckoo.org/>)作图(Deng等2014)。

1.2.5 实时荧光定量PCR

甜菜RNA提取采用TRIzol法(韩晓敏2015)。将cDNA稀释16倍作为实时荧光定量PCR反应的模板, 耐高温DNA聚合酶和染料为iTaq™ Universal SYBR® Green Supermix (Bio-Rad, USA), 内参基因为*Actin*, 扩增体系为20 μL, 扩增程序为: 95°C 2 min; 95°C 10 s, 55°C 10 s, 72°C 30 s, 循环40次。实验包含3次生物学重复和3次技术重复。相对表达量的计算用 $2^{-\Delta C_t}$ 法。

2 实验结果

2.1 *BvERF*家族基因生物信息学分析

利用AP2/ERF保守性结构域的氨基酸序列在甜菜基因组数据中搜索, 并排除重复序列, 得到88个蛋白质序列。经简单模块构架搜索(SMART, <http://smart.embl-heidelberg.de/>), 共得到88个AP2/ERF超家族成员, 其中68个仅包含一个AP2/ERF结构域的保守性序列, 即为*BvERF*家族成员, 命名为*BvERF*基因家族。

根据甜菜中ERF转录因子家族的AP2保守结构域序列与拟南芥中ERF转录因子的AP2保守结构域序列构建系统进化树, 根据*BvERF*与拟南芥ERF家族成员的进化关系将*BvERF*转录因子的功能进行分类。

构建了基于AP2/ERF保守结构域序列多序列比对的系统进化树, 包含68个甜菜ERF家族成员和122拟南芥ERF家族成员。根据系统进化树并结合拟南芥中已有的研究结果, 将进化树中的ERF家族成员分为10个组; 仍有3个甜菜ERF成员未明确分组(图1)。其中分入第IX组中BvERF家族成员为14个, 分入第VII组中为3个。3个BvERF和9个AtERF家族成员未能明确分组。

系统进化树显示, BvERF与AtERF一样可以被分为10个组(图1), 与大豆不同, 并未出现特异性分组(Zhang等2008), 可能是由于甜菜基因组比大豆基因组小约一倍(Zhang等2008; Schmutz等2010), 甜菜ERF家族成员复杂程度较大豆低。BvERF与AtERF家族成员共同进行系统进化分析导致3个BvERF与9个AtERF家族成员未明确分组, 是因为系统进化分析时引入直系同源基因会改变系统进

化树的分支情况(Yanagisawa 2002; Wu等2016; 李慧峰等2015)。

使用MEME程序对BvERF蛋白序列进行保守性模体预测, 经分析共得到22个保守性模体。根据系统进化树的分组和保守性模体分析的分组如图2所示, BvERF家族成员皆含有模体2, 模体1存在于除Bv_gpem、Bv_tyqu和Bv_urkh之外的所有成员中, 模体3仅存在于分组II和III中, 模体10和12仅存在于分组II中, 模体7和11仅存在于分组III中, 模体9仅存在于分组IV和未明确分组的Bv_emgs和Bv_naps中, 模体6仅存在于分组V中, 模体8仅存在于分组V和IX中, 模体17仅存在于分组VI和未明确分组的Bv_jfsa中, 模体18仅存在于分组VII中, 模体15仅存在于分组I和X中, 模体13仅存在于分组IX中, 模体20仅存在于分组X中。

模体3仅存在于分组II和III中, 表明分组II和

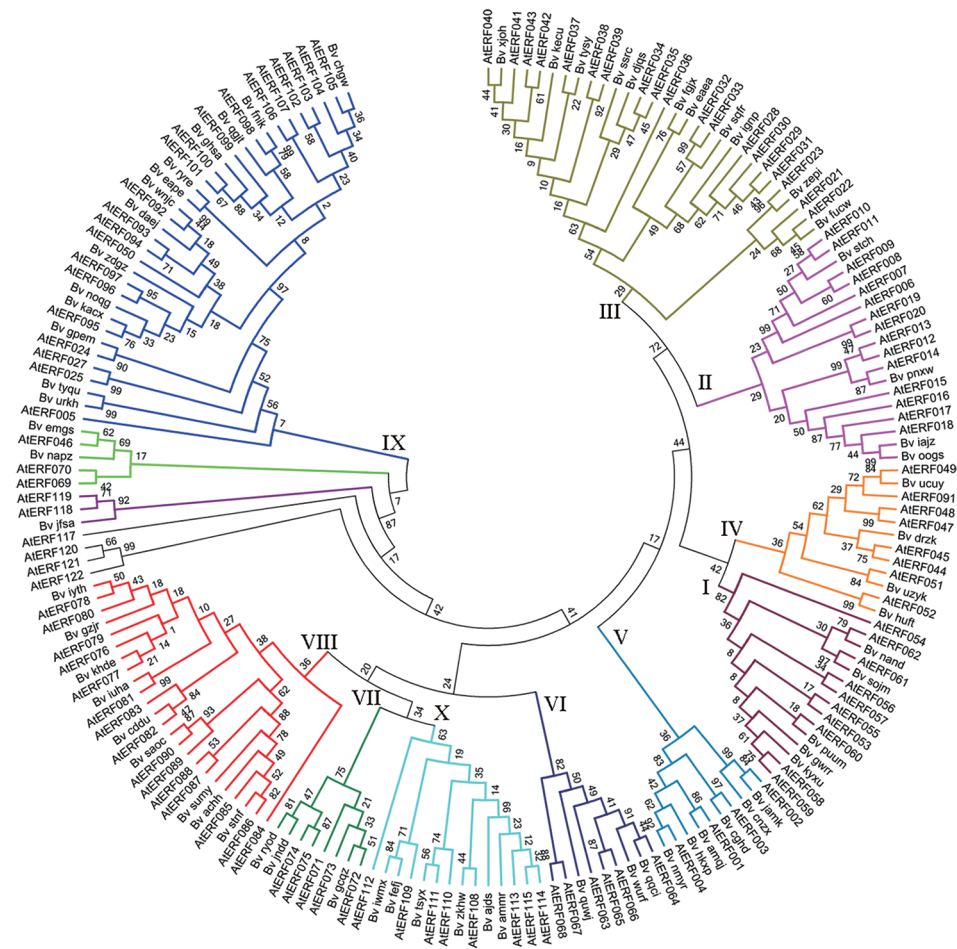


图1 ERF系统进化分析和分组

Fig.1 Phylogenetic profiling and groups of ERF gene family

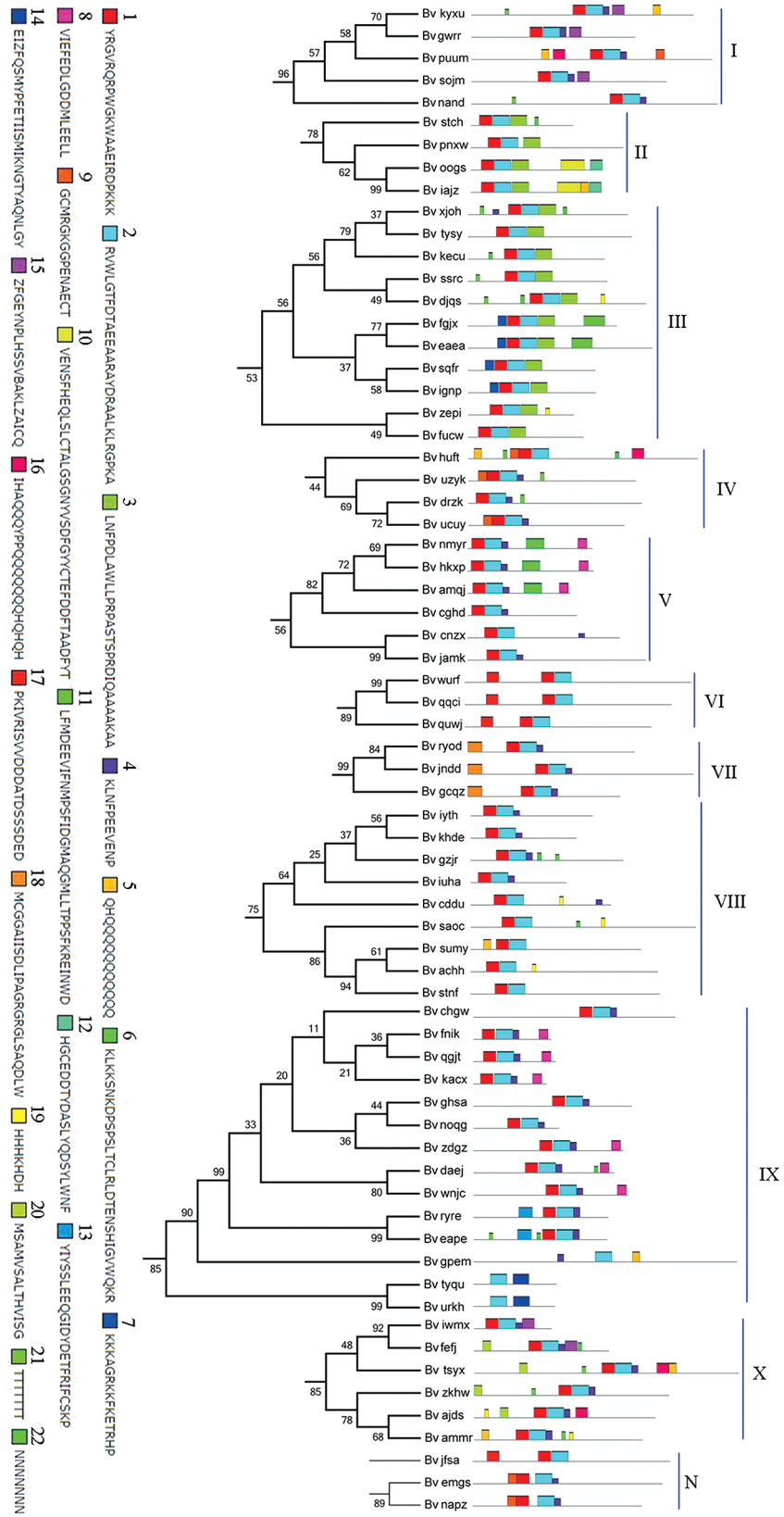


图2 甜菜ERF转录家族蛋白保守性模体分布
Fig.2 Distribution of conserved motifs for BvERF proteins

III功能相近(图2)。上述结果与系统进化树的分组结果互相验证,并且与拟南芥中的结果类似(Nakano等2006)。Bv_emgs和Bv_naps与分组IV都包含特异性模体9,据此可以将系统进化树中未分组的Bv_emgs和Bv_naps分入分组IV。同理Bv_jfsa可分入组VI。

2.2 BvERF家族基因在甜菜块根膨大过程中的表达模式分析

甜菜丰产型品种‘SD13829’和高糖型品系BS02块根在苗龄37~59 d生长缓慢,随后在苗龄82 d转入块根快速生长阶段,直到苗龄113 d;在整个生长阶段,丰产型品种‘SD13829’的块根生长速率明显大于高糖型品系BS02(图3)。

根据甜菜块根发育过程中的转录组数据对68个BvERF基因的表达模式进行了分析。参照系统进化分析,各组基因的表达模式相近(图4)。15个基因在甜菜块根快速生长阶段(苗龄82 d)在两个品种中皆表达上调(图5-A)。聚类分析将其中13个基因分为两个亚组,A1亚组成员的表达水平于苗龄82 d出现峰值,A2亚组成员的表达水平同样在苗龄82 d出现峰值;与A1亚组成员不同的是A2成员在高糖型品系的块根中还存在一个位于苗龄37 d的峰值(图5-A)。除时间梯度的表达模式外,分析BvERF基因在丰产型品种块根与高糖型品系块根中表达水平之间的差异(图5-B),聚类分析将其中14个成员分为B1、B2和B3。

根据图5-B所示,苗龄82 d, B1亚组中的Bv_ammr在丰产型品种‘SD13829’块根中的表达水平明显高于高糖型品系BS02块根。苗龄82 d, B2亚

组中各成员在两个品种块根中的表达水平之间差异不明显。苗龄113 d, B2亚组中的Bv_ignp和Bv_sqfr在丰产型品种‘SD13829’块根中的表达水平明显高于高糖型品系BS02块根。在苗龄37和134 d, B2亚组中的5个BvERF基因在丰产型品种‘SD13829’块根中的表达水平明显低于高糖型品系BS02块根。在苗龄113 d, B3亚组中的Bv_wnjc和Bv_khde在丰产型品种‘SD13829’块根中的表达水平明显高于高糖型品系BS02块根;其中Bv_wnjc从苗龄37 d至苗龄82 d在丰产型品种‘SD13829’块根中的表达水平明显低于高糖型品系BS02块根。

2.3 BvERF基因在甜菜不同器官中的表达特异性

根据BvERF基因在甜菜块根发育过程中表达模式的分析,从与块根生长速率相关的15个基因中筛选出11个基因,分析两个品种于苗龄82 d在甜菜块根、叶柄和叶片中的相对表达量,以明确其不同器官中的表达差异。结果表明, Bv_gcqz在块根中的表达水平显著高于叶柄和叶片中的表达水平, Bv_djqs在块根和叶柄中的表达水平都较高, Bv_ghsa、Bv_gzjr、Bv_iajz、Bv_ignp、Bv_khde、Bv_oogs、Bv_quwj、Bv_wnjc和Bv_feff在叶片中的表达水平显著高于块根和叶柄中的表达水平(图6)。这一结果使通过器官差异性表达调控块根发育成为可能。

3 讨论

ERF是一个数量庞大的转录因子家族。近年来,基因家族分析成为帮助人们研究基因进化和功能分析的重要方法。随着第二代测序技术的发

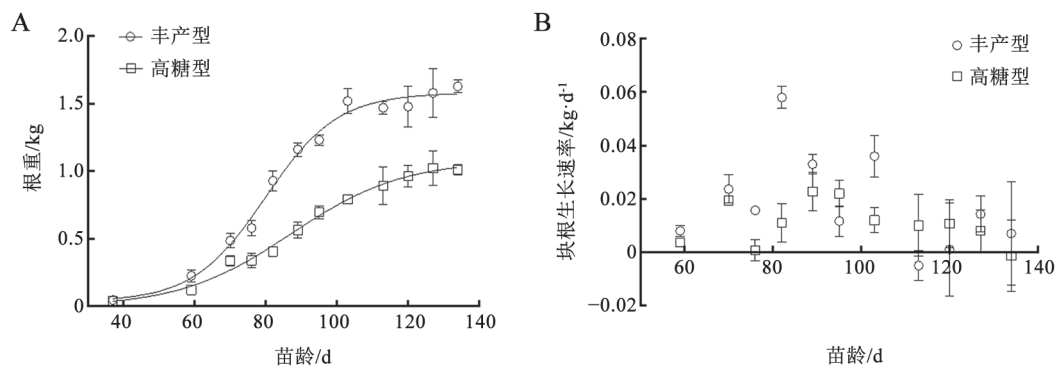
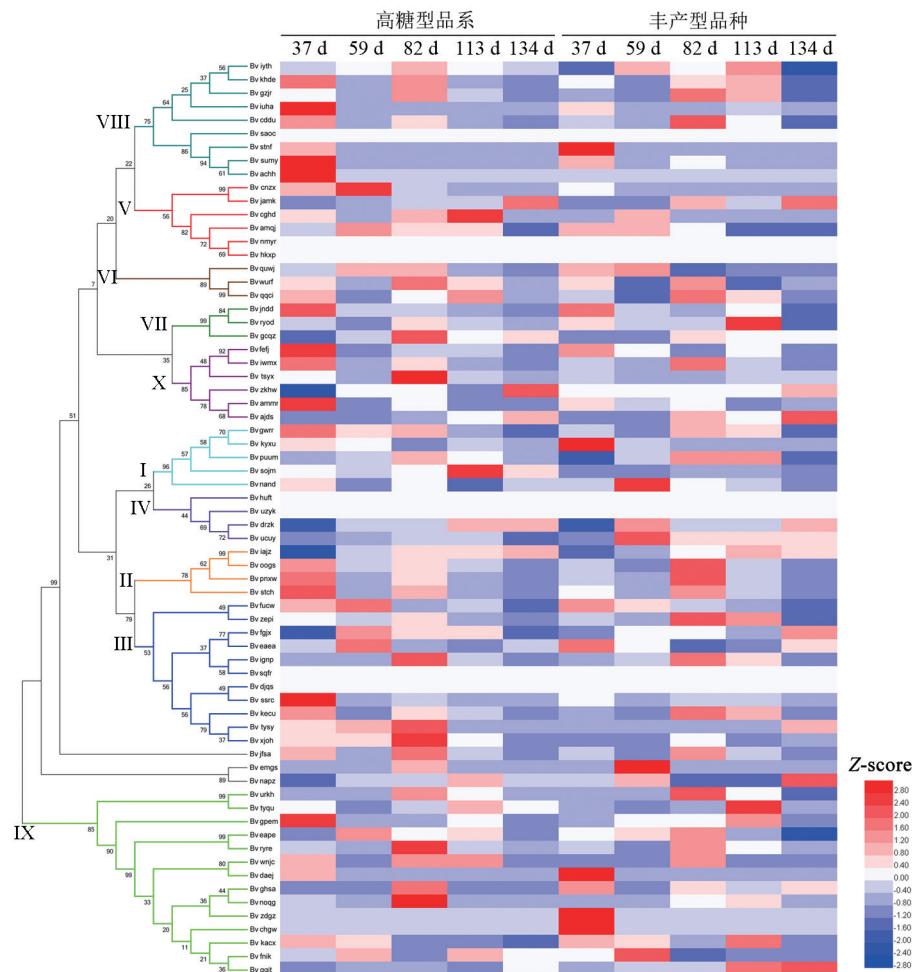


图3 甜菜块根生长规律

Fig.3 Taproot growth rhythm of sugar beet

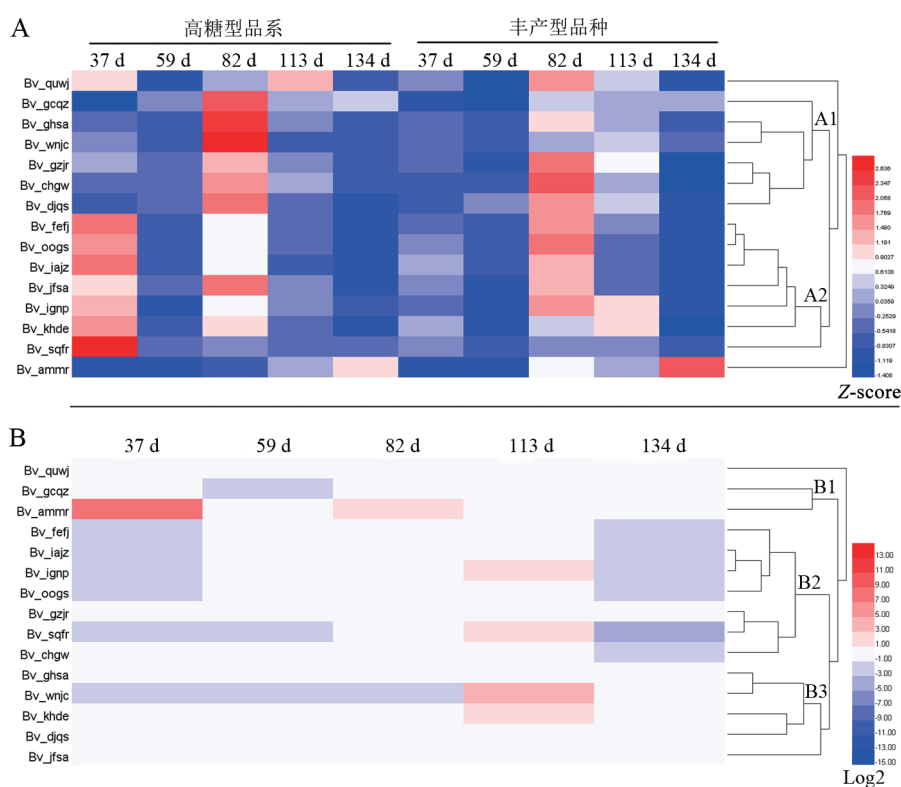
A: 块根生长曲线; B: 块根生长速率。根据Zhang等(2017)并略作修改。

图4 *BvERF*家族基因在块根发育过程中的表达模式分析Fig.4 Analysis for expression pattern of *BvERF* family gene in taproot development

展和植物基因组测序工作的不断完成, 已经有学者对多个植物基因组中的ERF家族进行了鉴定和研究(Nakano等2006; Zhang等2008; 魏海超等2015; 翟莹等2016; Zhuang等2010, 2011a, 2011b; Licausi等2010; Nakano等2006; Girardi等2013)。ERF基因家族分析为进一步研究ERF在植物生长发育和胁迫应答过程中的功能研究提供了参考。甜菜是以收获块根为目的的糖料作物, 为了探明ERF转录因子在甜菜块根发育分子调控机制中扮演的角色, 须对甜菜ERF家族进行系统进化和功能分析。甜菜基因组大小为567 Mb, 而拟南芥和水稻基因组的长度分别为145和420 Mb, 成员数分别为122和139 (Nakano等2006); 除大麦以外, 其他几个植物中ERF转录因子家族皆包含100个以上的成员(Zhuang等2011b), 表明*BvERF*基因家族保守性较差(张计

育等2012), 进化过程中有多个基因丢失。

结果分析显示, 15个*BvERF*基因在苗龄82 d时的表达模式与此时块根生长速率的变化模式一致(图3和5-A), 表明甜菜块根的快速生长与图5-A所示的15个*BvERF*基因的表达水平有关。A2亚组的*BvERF*基因在丰产型品种和高糖型品系块根发育过程表达模式的差异表明A2组的*BvERF*基因还与丰产型品种‘SD13829’和高糖型品系BS02块根生长速率的差异有关(图3和5-A)。在此基础上, 结合块根生长规律对各发育阶段上述15个*BvERF*基因在两个品种之间的表达差异进行分析可以深入了解*BvERF*基因与丰产型品种和高糖型品系间产量差异的关系。苗龄82 d, *Bv_ammr*在两个品种间的表达水平差异与两个品种间的块根生长速率差异一致(图3和5-B), 可能与不同甜菜品种的丰产性能

图5 *BvERF*家族基因在块根发育过程中的表达模式聚类分析Fig.5 Clustering analysis for expression pattern of *BvERF* family gene in taproot development

A: 时间梯度的表达模式; B: Log₂表示Log₂(丰产型品种‘SD13829’块根中的基因表达水平/高糖型品系BS02块根中的基因表达水平)。

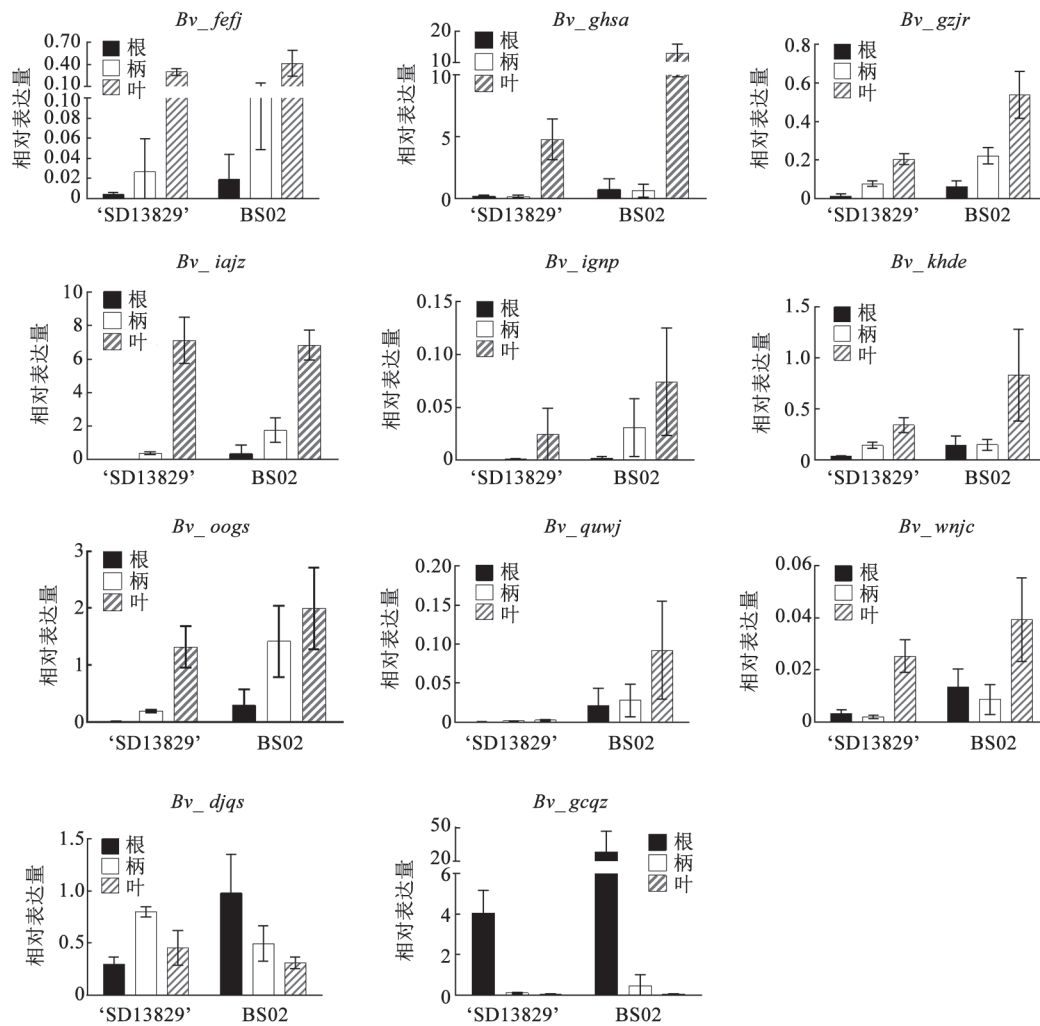
有关。苗龄113 d, *Bv_ignp*、*Bv_sqfr*、*Bv_wnjc*和*Bv_khde*在两个品种中的表达水平差异与此时两个品种间块根生长速率的差异一致。从苗龄37 d至苗龄82 d, *Bv_wnjc*在两个品种块根中的表达水平差异与两者之间的生长速率差异成反比(图3和5-B)。如图1所示*Bv_wnjc*位于分组IX, 其直系同源基因为AtERF092 (ERF1), 可提高植物耐受生物胁迫的能力(Gu等2000; Berrocal-Lobo等2002; Gu等2002)。除此之外有研究表明第IX组的基因表达水平在不同程度上受多种防御相关激素(例如乙烯、茉莉酸甲酯和水杨酸)的诱导(Gu等2000; Oñate-Sánchez和Singh 2002), 这与高糖型品系具有木质化程度更高的维管束环这一典型性状相符。上述结果表明, *Bv_ignp*、*Bv_sqfr*和*Bv_khde*与苗龄113 d时丰产型品种生长速率较高有关, *Bv_wnjc*可能与块根生长速率负相关。

在苗龄37和134 d, B2亚组中的*Bv_fefj*、*Bv_iajz*、*Bv_ignp*、*Bv_oogs*和*Bv_sqfr*基因在品种间差异表达的模式与块根重量差异的模式相反(图3和

5-B)。值得关注的是, 与*Bv_fefj*直系同源的At-ERF109参与调控维管形成层的细胞分裂(Etchells等2012), 推断*Bv_fefj*可能具有调控甜菜次生形成层细胞分裂的功能, 这与本研究组研究表明高糖型品系的生长策略更侧重于细胞分裂(Zhang等2017)相一致, 推断*Bv_fefj*基因与高糖型品系具有更多的维管束环有关。在后续的研究中, 将对*Bv_ammr*、*Bv_wnjc*与*Bv_fefj*进行克隆, 转化甜菜, 进一步研究这些基因在甜菜块根发育中的功能, 并探索通过基因工程手段改良甜菜。

参考文献(References)

- Aukerman MJ, Sakai H (2003). Regulation of flowering time and floral organ identity by a microRNA and its *APETA-LA2*-like target genes. *Plant Cell*, 15 (11): 2730–2741
- Banno H, Ikeda Y, Niu QW, et al (2001). Overexpression of *Arabidopsis ESRI* induces initiation of shoot regeneration. *Plant Cell*, 13 (12): 2609–2618
- Berrocal-Lobo M, Molina A, Solano R (2002). Constitutive expression of *ETHYLENE-RESPONSE-FACTOR1* in *Arabidopsis* confers resistance to several necrotrophic

图6 11个*BvERF*家族基因表达的器官特异性分析Fig.6 Analysis of organ-specific expression for eleven *BvERF* genes

- fungi. *Plant J*, 29 (1): 23–32
- Chuck G, Muszynski M, Kellogg E, et al (2002). The control of spikelet meristem identity by the *branched silkless1* gene in maize. *Science*, 298 (5596): 1238–1241
- Deng W, Wang Y, Liu Z, et al (2014). HemI: a toolkit for illustrating heatmaps. *PLoS ONE*, 9 (11): e111988
- Dong L, Cheng Y, Wu J, et al (2015). Overexpression of *GmERF5*, a new member of the soybean EAR motif-containing ERF transcription factor, enhances resistance to *Phytophthora sojae* in soybean. *J Exp Bot*, 66 (9): 2635–2647
- Etchells JP, Provost CM, Turner SR (2012). Plant vascular cell division is maintained by an interaction between PXY and ethylene signalling. *PLoS Genet*, 8 (11): e1002997
- Fujimoto SY, Ohta M, Usui A, et al (2000). *Arabidopsis* ethylene-responsive element binding factors act as transcriptional activators or repressors of GCC box-mediated gene expression. *Plant Cell*, 12 (3): 393–404
- Girardi CL, Rombaldi CV, Dal Cero J, et al (2013). Genome-wide analysis of the *AP2/ERF* superfamily in apple and transcriptional evidence of ERF involvement in scab pathogenesis. *Sci Hortic*, 151 (2): 112–121
- Gu YQ, Wildermuth MC, Chakravarthy S, et al (2002). Tomato transcription factors Pti4, Pti5, and Pti6 activate defense responses when expressed in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 14 (4): 817–831
- Gu YQ, Yang C, Thara VK, et al (2000). Pti4 is induced by ethylene and salicylic acid, and its product is phosphorylated by the Pto kinase. *Plant Cell*, 12 (5): 771–786
- HAN X (2015). The cloning and analysis of three stress-related transcription factors from *Caragana intermedia* (dissertation). Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University (in Chinese with English abstract) [韩晓敏(2015). 中间锦鸡儿3个非生物胁迫相关转录因子的克隆与功

- 能分析(学位论文). 呼和浩特: 内蒙古农业大学]
- Horstman A, Willemsen V, Boutillier K, et al (2014). AINTEGUMENTA-LIKE proteins: hubs in a plethora of networks. *Trends Plant Sci*, 19 (3): 146–157
- Jofuku KD, den Boer BGW, Van Montagu M, et al (1994). Control of *Arabidopsis* flower and seed development by the homeotic gene *APETALA2*. *Plant Cell*, 6 (9): 1211–1225
- Jofuku KD, Omidyar PK, Gee Z, et al (2005). Control of seed mass and seed yield by the floral homeotic gene *APETALA2*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 102 (8): 3117–3122
- Kirch T, Simon R, Grünwald M, et al (2003). The *DORN-RÖSCHEN/ENHANCER OF SHOOT REGENERATION1* gene of *Arabidopsis* acts in the control of meristem cell fate and lateral organ development. *Plant Cell*, 15 (3): 694–705
- Komatsu M, Chujo A, Nagato Y, et al (2003). *FRIZZY PANICLE* is required to prevent the formation of axillary meristems and to establish floral meristem identity in rice spikelets. *Development*, 130 (16): 3841–3850
- Kuluev B, Avalbaev A, Nurgaleeva E, et al (2015). Role of AINTEGUMENTA-like gene *NtANTL* in the regulation of tobacco organ growth. *J Plant Physiol*, 189 (2015): 11–23
- Li A, Zhou Y, Jin C, et al (2013). *LaAP2L1*, a heterosis-associated AP2/EREBP transcription factor of *Larix*, increases organ size and final biomass by affecting cell proliferation in *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiol*, 54 (11): 1822–1836
- Li HF, Ran K, He P, et al (2015). Genome-wide identification and expression analysis of *auxin response factor (ARF)* gene family in apple. *J Plant Physiol*, 51 (7): 1045–1054 (in Chinese with English abstract) [李慧峰, 冉昆, 何平等 (2015). 苹果生长素响应因子(ARF)基因家族全基因组鉴定及表达分析. *植物生理学报*, 51 (7): 1045–1054]
- Licausi F, Giorgi FM, Zenoni S, et al (2010). Genomic and transcriptomic analysis of the AP2/ERF superfamily in *Vitis vinifera*. *BMC Genomics*, 11: 719
- Marsch-Martinez N, Greco R, Becker JD, et al (2006). *BOLITA*, an *Arabidopsis* AP2/ERF-like transcription factor that affects cell expansion and proliferation/differentiation pathways. *Plant Mol Biol*, 62 (6): 825–843
- Moose SP, Sisco PH (1996). *Glossy15*, an *APETALA2*-like gene from maize that regulates leaf epidermal cell identity. *Gene Dev*, 10 (23): 3018–3027
- Mo JB, Li DY, Zhang HJ, et al (2011). Roles of ERF transcription factors in biotic and abiotic stress response in plants. *Plant Physiol J*, 47 (12): 1145–1154 (in Chinese with English abstract) [莫纪波, 李大勇, 张慧娟等(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]
- Nakano T, Suzuki K, Fujimura T, et al (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
- Oñate-Sánchez L, Singh KB (2002). Identification of *Arabidopsis* ethylene-responsive element binding factors with distinct induction kinetics after pathogen infection. *Plant Physiol*, 128 (4): 1313–1322
- Riechmann JL, Heard J, Martin G, et al (2000). *Arabidopsis* transcription factors: genome-wide comparative analysis among eukaryotes. *Science*, 290 (5499): 2105–2110
- Sakuma Y, Liu Q, Dubouzet JG, et al (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
- Schmutz J, Cannon SB, Schlueter J, et al (2010). Genome sequence of the palaeopolyploid soybean. *Nature*, 463 (7278): 178–183
- Seo YJ, Park JB, Cho YJ, et al (2010). Overexpression of the ethylene-responsive factor gene *BrERF4* from *Brassica rapa* increases tolerance to salt and drought in *Arabidopsis* plants. *Mol Cells*, 30 (3): 271–277
- Shao XX, Li T, Li ZL, et al (2015). Genome-wide identification and expression analysis in oxidative stress of AP2/ERF gene family in eggplant (*Solanum melongena*). *Plant Physiol J*, 51 (11): 1901–1918 (in Chinese with English abstract) [邵欣欣, 李涛, 李植良等(2015). 茄子AP2/ERF转录因子的鉴定及胁迫条件下的表达分析. *植物生理学报*, 51 (11): 1901–1918]
- Wei HC, Liu Y, Dou MZ, et al (2015). Molecular evolution of AP2/ERF gene family in *Glycine max*. *Plant Physiol J*, 51 (10): 1706–1718 (in Chinese with English abstract) [魏海超, 刘媛, 豆明珠等(2015). 大豆AP2/ERF基因家族的分子进化分析. *植物生理学报*, 51 (10): 1706–1718]
- Wilson K, Long D, Swinburne J, et al (1996). A dissociation insertion causes a semidominant mutation that increases expression of *TINY*, an *Arabidopsis* gene related to *APETALA2*. *Plant Cell*, 8 (4): 659–671
- Wu Z, Cheng J, Cui J, et al (2016). Genome-wide identification and expression profile of Dof transcription factor gene family in pepper (*Capsicum annuum* L.). *Front Plant Sci*, 7 (164): 574
- Yanagisawa S (2002). The Dof family of plant transcription factors. *Trends Plant Sci*, 7 (12): 555–560
- Zhai Y, Zhang J, Zhao Y, et al (2016). Bioinformatics and expression analysis of 5 newfound ERF genes in soybean. *Acta Agr Zhejiangensis*, 47 (10): 1644–1649 (in Chinese with English abstract) [翟莹, 张军, 赵艳等(2016). 大豆5个新发现ERF基因的生物信息学及表达分析. *浙江农业学报*, 47 (10): 1644–1649]
- Zhang G, Chen M, Chen X, et al (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 JY, Wang QJ, Guo ZR, et al (2012). Progresses on plant AP2/ERF transcription factors. *Hereditas Beijing*, 34 (7): 44–56 (in Chinese with English abstract) [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]
- Zhang YF, Li GL, Wang XF, et al (2017). Transcriptomic profiling of taproot growth and sucrose accumulation in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) at different developmental stages. *PLoS ONE*, 12 (4): e0175454
- Zhu QH, Hoque MS, Dennis ES, et al (2003). *Ds* tagging of *BRANCHED FLORETLESS 1 (BFL1)* that mediates the transition from spikelet to floret meristem in rice (*Oryza sativa* L.). *BMC Plant Biol*, 3 (1): 6
- Zhuang J, Anyia A, Vidmar J, et al (2011b). Discovery and expression assessment of the AP2-like genes in *Hordeum vulgare*. *Acta Physiol Plant*, 33 (5): 1639–1649
- Zhuang J, Chen JM, Yao QH, et al (2011a). Discovery and expression profile analysis of AP2/ERF family genes from *Triticum aestivum*. *Mol Biol Rep*, 38 (2): 745–753
- Zhuang J, Deng DX, Yao QH, et al (2010). Discovery, phylogeny and expression patterns of AP2-like genes in maize. *Plant Growth Regul*, 62 (1): 51–58

Functional analysis of ERF transcription factor family in taproot development of sugar beet

CAO Guo-Li, ZHANG Yong-Feng, SUN Ya-Qing, LI Guo-Long, ZHANG Shao-Ying*

Sugar Beet Physiological Research Institute, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, China

Abstract: In this study, in order to identify BvERF transcription factor family, the sequence of AP2/ERF conserved domain was used as baits to search in sugar beet (*Beta vulgaris*) genome. According to phylogenetic analysis, conservative motif analysis and the expression pattern profiling of *BvERF*, 68 *BvERFs* were identified, and classified into 10 groups. A total of 15 members of BvERF family were involved in taproot turning to rapid growth. Among them, *Bv_ammr* may be related to the high yield characteristic of sugar beet. *Bv_ignp*, *Bv_sqfr* and *Bv_khde* were related to that the taproot of high taproot yield cultivar grew more rapidly than the taproot of high sucrose content cultivar. *Bv_wnjc* may be negatively relevant to the growth rate of taproot. *Bv_feff* may be involved in taproot with more vascular ring in high sucrose content line. These results provide a reference for the further study of the molecular mechanism that was involved in how BvERF regulates the taproot development of sugar beet.

Key words: sugar beet; taproot development; BvERF

Received 2018-02-05 Accepted 2018-03-27

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (31760416), and China Agriculture Research System (CARS-170201).

*Corresponding author (syzh36@aliyun.com).