

# 大豆 ERF 转录因子基因 *GmERF8* 的克隆与表达分析

翟莹<sup>1</sup>, 张军<sup>2</sup>, 赵艳<sup>1</sup>, 任巍巍<sup>1</sup>, 张闯<sup>1</sup>, 孙婉姝<sup>1</sup>, 高士童<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>齐齐哈尔大学生命科学与农林学院, 齐齐哈尔 161006; <sup>2</sup>黑龙江省兽医科学研究所, 齐齐哈尔 161005)

**摘要:** ERF 转录因子广泛存在于植物中并且参与植物应对生物及非生物胁迫的响应。本研究利用 RT-PCR 技术从大豆中克隆获得 1 个新的 ERF 转录因子基因 *GmERF8*, 开放阅读框全长 627 bp, 编码 1 个由 208 个氨基酸残基组成的分子量为 23.43 kD 的蛋白。蛋白结构预测发现, 该蛋白含有 1 个典型的 AP2/ERF 结合域, 2 个预测的核定位信号和 1 个保守的 EAR 抑制元件。进化分析表明 *GmERF8* 蛋白与烟草 NtERF3 蛋白的同源性最高。实时荧光定量 PCR 表明, *GmERF8* 在大豆的根和叶中表达量较高。ABA、高盐和低温处理均使 *GmERF8* 表达量下降; 乙烯 (ET) 和干旱处理则使 *GmERF8* 的表达量先下降后升高。转录调节能力分析结果显示, *GmERF8* 可以抑制报告基因的表达。上述实验结果表明, *GmERF8* 可能作为转录抑制子参与大豆对环境胁迫的应答。

**关键词:** 大豆; ERF 转录因子; *GmERF8*; 表达分析; 抑制子

## Cloning and Expression Analysis of ERF Transcription Factor *GmERF8* in Soybean (*Glycine max* L.)

ZHAI Ying<sup>1</sup>, ZHANG Jun<sup>2</sup>, ZHAO Yan<sup>1</sup>, REN Wei-wei<sup>1</sup>, ZHANG Chuang<sup>1</sup>, SUN Wan-shu<sup>1</sup>, GAO Shi-tong<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>College of Life Science and Agro-forestry, Qiqihar University, Qiqihar 161006;

<sup>2</sup>Heilongjiang Institute of Veterinary Science, Qiqihar 161005)

**Abstract:** ERF transcription factors are widespread in plants, which are widely involved in plant response to biotic and abiotic stress. In this research, a gene *GmERF8* encoding a new ERF protein was isolated using RT-PCR from soybean. *GmERF8* consisted of an ORF (open reading frame) with length of 627 bp, and encoded a 23.43 kD protein with 208 amino acids. Bioinformatics analysis indicated that *GmERF8* contained a typical AP2/ERF binding domain, two putative nuclear localization signal sequences and a conserved repression-associated EAR motif. The amino acid sequences of *GmERF8* and NtERF3 shared high homology through phylogenetic analysis. Real-time fluorescence quantitative PCR results revealed that *GmERF8* expressed highly in roots and leaves. The expression of *GmERF8* decreased under ABA, salt and cold treatments. Whereas it decreased firstly and thereafter increased under ethylene and drought treatments. Transcription regulation experiments demonstrated that *GmERF8* down-regulated the transcriptional level of the reporter gene. As the result, *GmERF8* may response to environmental stress as a transcriptional repressor in soybean.

**Key words:** soybean; ERF transcription factor; *GmERF8*; expression analysis; repressor

乙烯响应因子 (ERF, ethylene response factor) 基因以家族形式广泛存在于植物中, 隶属于 AP2/ERF 超家族。它们功能多样, 不仅在植物的生长和发育过程中发挥作用, 更在植物应对不良环境时发挥重

要功能<sup>[1-3]</sup>。ERF 转录因子家族的成员均含有一段由 58 或 59 个氨基酸残基组成的保守序列, 即 ERF 的 DNA 结合域<sup>[4]</sup>。ERF 转录因子能够识别并结合 GCC-box、DRE/CRT 等顺式作用元件就取决于 DNA

收稿日期: 2016-01-18 修回日期: 2016-03-01 网络出版日期: 2016-10-12

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20161012.0916.008.html>

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31301335); 黑龙江省教育厅科学技术研究项目 (12541889); 黑龙江省自然科学基金项目 (C201458)

第一作者研究方向为植物分子育种。E-mail: fairy39809079@126.com

结合域中特定的氨基酸序列,而这些顺式作用元件则通常位于胁迫相关的启动子中<sup>[5-7]</sup>。

ERF 转录因子多数为转录激活子,当植物遭受不利环境时可以提高下游抗逆相关基因的表达量,从而提高植物的抗逆性,这方面的研究资料也比较丰富<sup>[8-10]</sup>。另外还存在着少数的 ERF 转录抑制子,它们不仅可以抑制相关基因的表达,还能够降低其他转录因子的转录激活活性<sup>[8,11]</sup>。研究表明,ERF 抑制子的转录抑制活性通常与位于 ERF 蛋白 C 末端的 EAR (ERF-associated amphiphilic repressor) 元件相关,这是一段保守的 L/FDLNL/F(X)P 序列。EAR 元件中的保守氨基酸若发生突变或整体缺失,将导致抑制活性的丧失<sup>[12]</sup>。近年来,越来越多 ERF 转录抑制子及其功能被阐述。拟南芥中含有 8 个 ERF 转录抑制子,它们是 *AtERF3/4/7/8/9/10/11/12*<sup>[12]</sup>。*AtERF7* 在脱落酸 (ABA) 信号转导途径中起负调控作用,超表达 *AtERF7* 抑制了胁迫诱导基因的表达,提高了转基因植株对高盐、干旱和冻害的敏感性<sup>[13]</sup>。*AtERF4* 则在 ABA 和乙烯 (ET) 2 条信号转导途径中起负调控作用,超表达 *AtERF4* 提高了转基因植株对 ABA 和氯化钠的敏感性<sup>[14]</sup>。相反,某些 ERF 转录抑制子则能够提高转基因植物的多重抗逆性。大豆中 *GmERF4* 可以被多种生物及非生物胁迫诱导表达,在烟草中异源表达后提高了转基因植株对干旱和高盐的抗性<sup>[15]</sup>。大豆中另一个转录抑制子 *GmERF5* 在烟草中异源表达后抑制了 *NtPRI* 和 *NtPR4* 的表达,但在大豆中超表达后却提高了 *GmPRI0*、*GmPRI-1* 和 *GmPRI0-1* 的表达,提高了转基因大豆对疫霉根腐病的抗性<sup>[16]</sup>。

植物中存在大量的 ERF 基因,仅大豆中就发现了 98 个包含有完整 AP2/ERF DNA 结合域的独立基因<sup>[17]</sup>。但这些基因在功能上存在冗余性,因此有必要对大豆 ERF 家族中其他成员作进一步鉴定。本研究从大豆中分离获得 1 个新的 ERF 转录抑制子基因 *GmERF8*,对该基因在逆境胁迫下的表达模式和转录抑制能力进行鉴定,以期丰富大豆 ERF 转录因子的基因资源,并为 *GmERF8* 的进一步应用奠定理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料及处理

大豆品种合丰 46 由齐齐哈尔大学遗传研究室保存。对盆栽的 4 叶期大豆幼苗进行以下逆境处理:(1)参照 Y. Zhai 等<sup>[10]</sup>的方法用 ET 和 ABA 处理

大豆幼苗;(2)将大豆幼苗置于含 20% PEG8000 的 MS 营养液中进行干旱处理;(3)置于含 200 mmol/L NaCl 的 MS 营养液中进行高盐处理;(4)置于 4 °C 培养箱中进行低温处理。对上述处理分别在处理 0 h、1 h、2 h、5 h、10 h 和 24 h 取样,剪取 0.1 g 叶片并迅速置于液氮中保存备用。为研究 *GmERF8* 的组织表达情况,分别剪取大豆的根、茎、花和未成熟胚置于液氮中保存备用。

### 1.2 *GmERF8* 基因的克隆

将 ERF 家族基因的保守结构域在 NCBI 数据库中进行 Blast 比对,获得一个与植物中 ERF 转录因子基因序列同源性较高的且功能未知的 mRNA 序列。采用 Plant RNAzol 试剂 (鼎国) 提取大豆叶片总 RNA,采用 cDNA 第 1 链合成试剂盒 (鼎国) 合成第 1 链 cDNA。利用软件 Primer5 设计引物 (F: 5'-ACGCGTTCGACATGGTCAA GGAGAAGAAGAACGT-3', 下划线代表酶切位点 *Sal* I; R: 5'-GGAATTCCTTAATATTCATTAGCGGAGCC-3', 下划线代表酶切位点 *Eco* R I)。以叶片 cDNA 为模板进行 PCR 扩增 (退火温度 58 °C),产物经切胶回收后连接至 pMD-18T 载体 (Takara),送上海生工生物工程公司测序。

### 1.3 生物信息学分析

用在线软件 Compute pI/Mwtool, ExPASy ([http://expasy.org/tools/pi\\_tool.html](http://expasy.org/tools/pi_tool.html)) 预测 *GmERF8* 蛋白的分子量和等电点。在 GmGDB (<http://www.plantgdb.org/GmGDB/>) 数据库中搜索 *GmERF8* 的内含子。用在线软件 PSORT (<http://psort.hgc.jp/>) 进行核定位信号的预测。用 DNAMAN 软件构建 ERF 蛋白系统进化树。

### 1.4 表达模式分析

根据 *GmERF8* 基因序列设计荧光定量 PCR 引物 (F: 5'-TCGGCACCTTCGACACC-3'; R: 5'-ATGAGGATTTGCTGCTGGAT-3')。在 BIO-RAD CFX96 Real-Time PCR 仪上,以大豆组成型表达基因  $\beta$ -*Tubulin* (GenBank 登录号为 GMU12286) 作为内参 (F: 5'-GGAAGGCTTTCTTGCATTGGTA-3'; R: 5'-AGTGGCATCCTGGTACTGC-3'),以大豆不同组织的 cDNA 和不同处理时间点叶片 cDNA 为模板。反应体系为 2 × SYBR Premix Ex *Taq* (TaKaRa) 10 μL, cDNA 2 μL, Primer 0.8 μL, ROX Reference Dye II 0.2 μL, 补水至总体积 20 μL。反应程序: 95 °C 预变性 10 s; 95 °C 变性 20 s, 58 °C 退火 20 s, 72 °C 延伸 30 s, 循环 40 次。所有处理均做 3 次重复,计算 *GmERF8* 的

相对表达量。利用 BIO-RAD CFX Manager 软件对试验结果进行分析。

#### 1.4 酵母单杂交

将 *GmERF8* 基因全长序列构建至酵母单杂交载体 pGBKT7 上,按照说明书转化酵母菌 AH109 感受态细胞(天恩泽)。同时转化 pGBKT7 空载体质粒作为阴性对照。转化液分别涂布于 SD/-Trp 单缺培养基和 SD/-Trp-His-Ade 三缺培养基,30 °C 倒置培养直至出现菌落。

#### 1.5 转录调节能力分析

采用植物基因组 DNA 提取试剂盒(鼎国)提取拟南芥叶片基因组 DNA。以拟南芥基因组 DNA 为模板,用引物 AtPDF1.2P-F (5'-GGGAATTCAT-TATTTTCTTGAGTC-3',下划线代表酶切位点 *Eco*RI) 和 AtPDF1.2P-R (5'-GGCCATGGGATGATTAT-TACTATT-3',下划线代表酶切位点 *Nco*I) 进行 PCR 扩增(退火温度 50 °C),得到 *AtPDF1.2* 基因启动子序列 AtPDF1.2P(起始密码子 ATG 上游 346 bp 序列,包含 1 个 GCC-box 元件)。用 AtPDF1.2P 替换 pCAMBIA1301 载体上的 CaMV35S 启动子,作为报告质粒表达载体;将 *GmERF8* 构建至植物表达载体 pRI101-AN 上,作为效应质粒表达载体。参照 Y. N. Yang 等<sup>[18]</sup>的方法,将 pCAMBIA1301 表达载体、报告质粒表达载体和效应质粒表达载体进行烟草叶片的农杆菌转化,共培养 40 h 后进行 GUS 组织化学染色<sup>[19]</sup>。

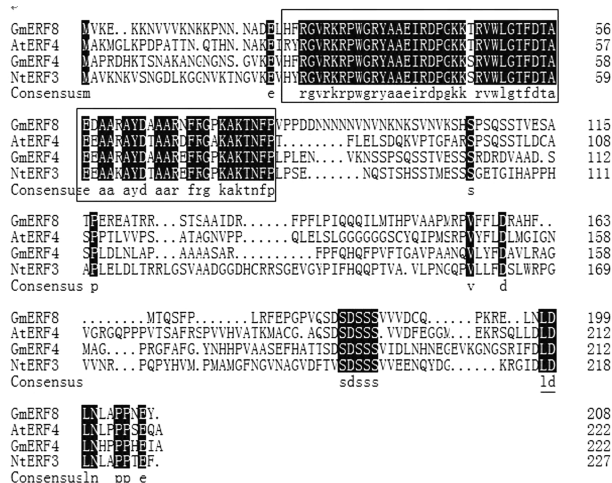
## 2 结果与分析

### 2.1 *GmERF8* 基因克隆和序列分析

通过 RT-PCR 技术从大豆中获得一个功能未知的 ERF 转录因子基因,命名为 *GmERF8* (GenBank 登录号为 XM003527375)。序列分析表明,*GmERF8* 基因全长 627 bp,其蛋白含有 208 个氨基酸残基,预测分子量为 23.43 kD,等电点为 9.81。搜索大豆基因组序列发现 *GmERF8* 定位于大豆的第 6 条染色体上,基因序列内不含有内含子。靠近 *GmERF8* 蛋白序列 N 端含有一个由 58 个氨基酸组成的 AP2/ERF 结合域(图 1),在结合域内含有 2 个预测的核定位信号(R28KRP 和 P42GKKTRV),在 C 末端含有一个保守的 EAR 抑制元件(图 1)。由此推测 *GmERF8* 蛋白可能位于大豆的细胞核中,作为转录抑制子发挥调控功能。

将 *GmERF8* 的氨基酸序列与 GenBank 中已登录的 8 个 ERF 转录抑制因子的氨基酸序列构建系

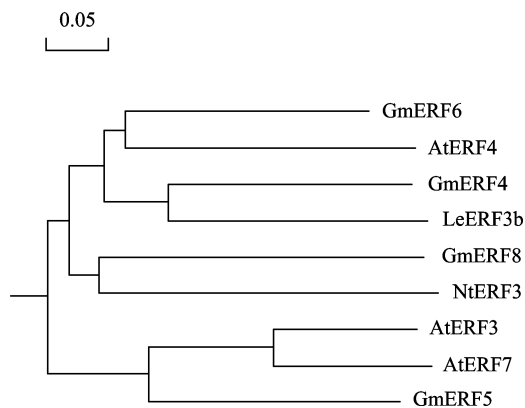
统进化树,结果显示,*GmERF8* 蛋白与烟草 *NtERF3* 蛋白的同源性最高,氨基酸序列相似性达到 42.29%,说明它们具有较近的亲缘关系,与拟南芥 *AtERF3* 蛋白的同源性最低(图 2)。



方框:AP2/ERF 结合域;横线:EAR 元件  
Box: AP2/ERF binding domain, Underline: EAR element

图 1 大豆 *GmERF8* 蛋白和其他物种 ERF 蛋白核苷酸序列比对

Fig. 1 Amino acid sequences alignment of *GmERF8* protein and other ERF proteins



AtERF3: 拟南芥 (NP175479); AtERF4: 拟南芥 (NP188139);  
AtERF7: 拟南芥 (NP188666); LeERF3b: 番茄 (NP001233796);  
GmERF4: 大豆 (ACE76905); GmERF5: 大豆 (AEX25891);  
GmERF6: 大豆 (AEQ55267); NtERF3: 烟草 (BAJ72663)  
AtERF3: *Arabidopsis thaliana* (NP175479), AtERF4:  
*Arabidopsis thaliana* (NP188139), AtERF7: *Arabidopsis thaliana* (NP188666), LeERF3b: *Solanum lycopersicum* (NP001233796), GmERF4: *Glycine max* (ACE76905), GmERF5: *Glycine max* (AEX25891), GmERF6: *Glycine max* (AEQ55267),  
NtERF3: *Nicotiana tabacum* (BAJ72663)

图 2 *GmERF8* 与其他物种 ERF 的进化树分析  
Fig. 2 Phylogenetic tree of *GmERF8* and other ERF proteins



### 2.2 *GmERF8* 基因组织表达分析

通过实时荧光定量 PCR 检测 *GmERF8* 在大豆不同组织中的表达情况。结果显示, *GmERF8* 主要在大豆的根和叶中表达, 且根中的表达量大约是叶中表达量的 4.5 倍, 在茎、花和未成熟胚中的表达量则相对很低, 表明 *GmERF8* 主要在大豆的根部和叶片中行使一定的调控功能(图 3)。

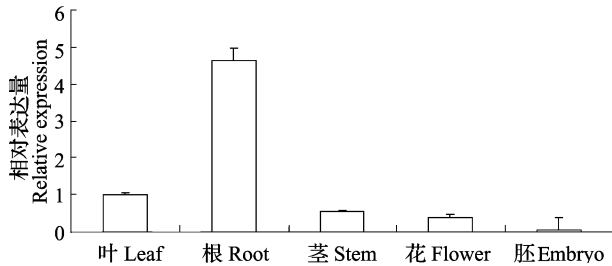


图 3 *GmERF8* 在大豆不同组织中的表达

Fig. 3 Expression of *GmERF8* in different tissues of soybean

### 2.3 *GmERF8* 基因逆境处理表达分析

用 ABA、ET、干旱、高盐和低温处理大豆幼苗, 通过实时荧光定量 PCR 检测 *GmERF8* 在逆境下的表达动态。结果显示, ABA、高盐和低温处理 24 h 内, *GmERF8* 表达量均有所下降; ET 处理使 *GmERF8* 的表达量先下降后升高, 在处理 10 h 时开始高于对照; 干旱处理同样使 *GmERF8* 的表达量先下降后升高, 在处理 5 h 时开始高于对照(图 4)。

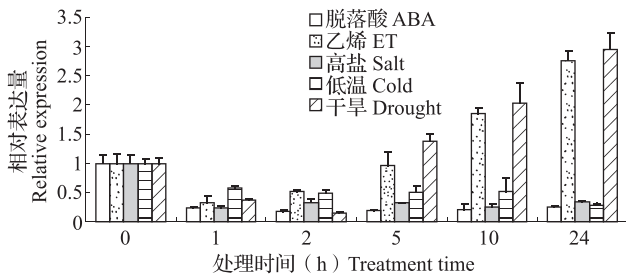


图 4 *GmERF8* 在胁迫处理下的表达

Fig. 4 Expression of *GmERF8* in various stress treatments

### 2.4 *GmERF8* 基因转录抑制能力分析

将 *GmERF8* 构建至酵母单杂交载体 pGBKT7 上并转化酵母菌 AH109。结果显示, 在 SD/-Trp 单缺陷培养基上, 含有对照质粒和重组质粒的酵母菌均能生长, 说明各载体均已转入酵母中。但在 SD/-Trp-His-Ade 三缺陷培养基上, 含有对照质粒和重组质粒的酵母菌均不能生长, 表明 *GmERF8* 在酵母中不具有转录激活能力(图 5)。

利用烟草瞬时表达 GUS 染色试验来验证 *GmERF8*

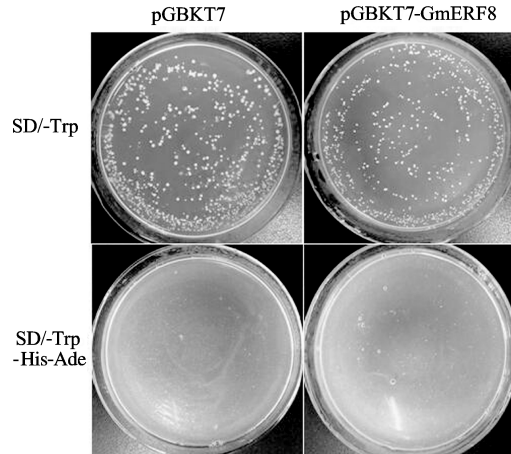
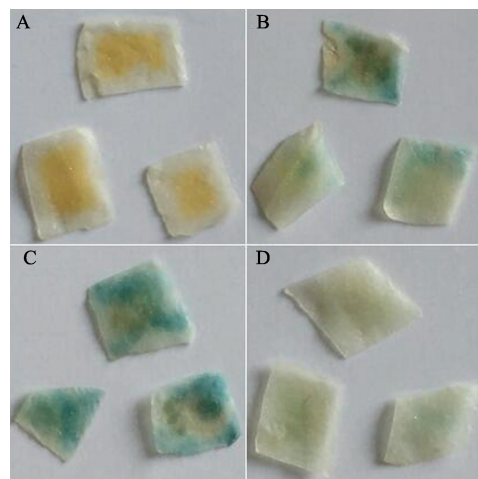


图 5 *GmERF8* 在酵母中的转录激活能力分析

Fig. 5 Transcriptional activation assay of *GmERF8* in yeast expression system

是否可以在植物体内通过调控含有 GCC-box 的启动子来抑制下游报告基因的表达。通过农杆菌注射, 将报告质粒载体单独或与效应质粒载体一起共转化烟草叶片, 同时转化 1301 空载体作为对照。GUS 组织化学染色结果显示, 未转化的正常叶片没有被染成蓝色(图 6A); 单独转化报告质粒载体时, 叶片被染成蓝色(图 6C), 说明 *AtPDF1.2P* 具有启动活性; 当报告质粒载体与效应质粒载体共转化时, 叶片基本没有被染成蓝色(图 6D), 说明 *GmERF8* 通过与 GCC-box 的识别调节 *AtPDF1.2P* 的启动活性, 抑制了 *GUS* 基因的表达。以上 2 个实验结果证明 *GmERF8* 为转录抑制子, 具有转录抑制能力。



A:对照;B:1301;C:报告质粒载体;D:报告质粒载体+效应质粒载体

A:Control, B:1301, C:Reporter plasmid, D:Reporter plasmid + effector plasmid

图 6 *GmERF8* 在烟草叶片中的转录抑制能力分析

Fig. 6 Transcriptional repression analysis of *GmERF8* in tobacco leaves

### 3 讨论

植物在生长发育过程中总会遇到各种各样的生物及非生物胁迫(例如病原侵染、干旱、极端温度和盐碱等)。作为对不良环境的应答,植物会在染色体 DNA、转录及转录后 3 个水平上精确调控相关基因的表达<sup>[20]</sup>。转录因子通过与启动子中顺式作用元件的特异结合可以在转录水平上调控下游基因的表达。ERF 转录因子是一个庞大的基因家族,不同的 ERF 转录因子对于基因的转录调控既存在差异,又存在功能冗余。

C. S. Moffat 等<sup>[21]</sup>和 X. Z. Meng 等<sup>[22]</sup>研究发现,在拟南芥中超表达 *AtERF6* 可以提高转基因植株对灰霉菌的抗性,相反,将 *AtERF6* 基因序列与 EAR 元件融合后在拟南芥中超表达,却抑制了相关防御基因的表达,提高了转基因植株对灰霉菌的敏感性。另外,拟南芥中含有 EAR 元件的 *AtERF4* 可以抑制茉莉酸响应基因 *PDF1.2* 的表达,相反,一旦将 *AtERF4* 的 EAR 元件去除后则可以正调控 *PDF1.2* 的表达<sup>[23]</sup>。这些结果均表明 EAR 元件对于抑制 ERF 转录因子的活性起关键作用,但有关 EAR 抑制元件的作用机制目前还不是很明了。序列分析结果显示 *GmERF8* 也同样含有 EAR 元件,转录抑制试验结果也证明 *GmERF8* 确实具有转录抑制活性,为大豆中的 ERF 转录抑制子基因。

本研究中的 *GmERF8* 与大豆中先前鉴定的 *GmERF4*、*GmERF5* 和 *GmERF6* 类似,均为 ERF 转录抑制子,但它们对逆境胁迫的应答并不一致<sup>[11,15-16]</sup>,这与前人发现的拟南芥中不同的 ERF 成员在胁迫下具有不同表达模式的研究结果一致<sup>[8]</sup>。*GmERF4/5/6* 能够被多种胁迫诱导表达,而 *GmERF8* 除了在 ET 和干旱处理后表达量有所升高外(并且升高量也并不明显),其他处理均使其表达量下降。由此推测,*GmERF8* 可能在大豆中抑制某些相关基因的表达,起到负调控作用。

#### 参考文献

- [1] 刘武,戴良英. 植物抗逆相关 ERF 转录因子研究综述[J]. 农业生物技术科学,2007,23(4):78-81
- [2] Upadhyay R K, Soni D H, Singh R, et al. *SIERF36*, an EAR-motif-containing ERF gene from tomato, alters stomatal density and modulates photosynthesis and growth[J]. J Exp Bot, 2013, 64(11):3237-3247
- [3] Van der Fits L, Memelink J. ORCA3, a jasmonate-responsive transcriptional regulator of plant primary and secondary metabolism[J]. Science, 2000, 289(5477):295-297
- [4] Jofuku K D, Boer B G, Montagu M V, et al. Control of *Arabidopsis* flower and seed development by the homeotic gene *APETALA2*[J]. Plant Cell, 1994, 6(9):1211-1225
- [5] Ohme-Takagi M, Shinshi H. Ethylene-inducible DNA binding proteins that interact with an ethylene-responsive element[J]. Plant Cell, 1995, 7(2):173-182
- [6] Hao D, Ohme-Takagi M, Sarai A. Unique mode of GCC box recognition by the DNA-binding domain of ethylene-responsive element-binding factor (ERF domain) in plants[J]. J Biol Chem, 1998, 273(41):26857-26861
- [7] Park J M, Park C J, Lee S B, et al. Overexpression of the tobacco Tsil gene encoding an EREBP/AP2-type transcription factor enhances resistance against pathogen attack and osmotic stressing tobacco[J]. Plant Cell, 2001, 13(5):1035-1046
- [8] Fujimoto S Y, Ohta M, Usui A, et al. *Arabidopsis* ethylene-responsive element binding factors act as transcriptional activators or repressors of GCC box-mediated gene expression[J]. Plant Cell, 2000, 12(3):393-404
- [9] Xu Z S, Xia L Q, Chen M, et al. Isolation and molecular characterization of the *Triticum aestivum* L. ethylene-responsive factor 1 (*TaERF1*) that increases multiple stress tolerance[J]. Plant Mol Biol, 2007, 65(6):719-732
- [10] Zhai Y, Wang Y, Li Y J, et al. Isolation and molecular characterization of *GmERF7*, a soybean ethylene-response factor that increases salt stress tolerance in tobacco[J]. Gene, 2013, 513(1):174-183
- [11] Zhai Y, Li J W, Li X W, et al. Isolation and characterization of a novel transcriptional repressor *GmERF6* from soybean[J]. Biol Plantarum, 2013, 57(1):26-32
- [12] Ohta M, Matsui K, Hiratsu K, et al. Repression domains of class II ERF transcriptional repressors share an essential motif for active repression[J]. Plant Cell, 2001, 13(8):1959-1968
- [13] Song C P, Agrawal M, Ohta M, et al. Role of an *Arabidopsis* AP2/EREBP-type transcriptional repressor in abscisic acid and drought stress responses[J]. Plant Cell, 2005, 17(8):2384-2396
- [14] Yang Z, Tian L, Latoszek-Green M, et al. *Arabidopsis* ERF4 is a transcriptional repressor capable of modulating ethylene and abscisic acid responses[J]. Plant Mol Biol, 2005, 58(4):585-596
- [15] Zhang G Y, Chen M, Chen X P, et al. Isolation and characterization of a novel EAR-motif-containing gene *GmERF4* from soybean (*Glycine max* L.)[J]. Mol Biol Rep, 2010, 37(2):809-818
- [16] Dong L D, Cheng Y X, Wu J J, et al. Overexpression of *GmERF5*, a new member of the soybean EAR motif-containing ERF transcription factor, enhances resistance to *Phytophthora sojae* in soybean[J]. J Exp Bot, 2015, 66(9):2635-2647
- [17] Zhang G Y, Chen M, Chen X P, et al. Phylogeny, gene structures, and expression patterns of the ERF gene family in soybean (*Glycine max* L.)[J]. J Exp Bot, 2008, 59(15):4095-4107
- [18] Yang Y N, Li R G, Qi M. *In vivo* analysis of plant promoters and transcription factors by agroinfiltration of tobacco leaves[J]. Plant J, 2000, 22(6):543-551
- [19] 张庆林, 赵艳, 李晓薇, 等. 大豆硬脂酸-ACP 脱饱和酶基因启动子的克隆及其表达活性分析[J]. 作物学报, 2011, 37(7):1205-1211
- [20] Zhang Y Y, Yang C W, Li Y, et al. SDIR1 is a RING finger E3 ligase that positively regulates stress-responsive abscisic acid signaling in *Arabidopsis*[J]. Plant Cell, 2007, 19(6):1912-1929
- [21] Moffat C S, Ingle R A, Wathugala D L, et al. ERF5 and ERF6 play redundant roles as positive regulators of JA/Et-mediated defense against *Botrytis cinerea* in *Arabidopsis*[J]. PLoS ONE, 2012, 7(4):e35995
- [22] Meng X Z, Xu J, He Y X, et al. Phosphorylation of an ERF transcription factor by *Arabidopsis* *MPK3/MPK6* regulates plant defense gene induction and fungal resistance[J]. Plant Cell, 2013, 25(3):1126-1142
- [23] McGrath K C, Dombrecht B, Manners J M, et al. Repressor and activator-type ethylene response factors functioning in jasmonate signaling and disease resistance identified via a genome-wide screen of *Arabidopsis* transcription factor gene expression[J]. Plant Physiol, 2005, 139(2):949-959