



## 8 个大豆 Dof 转录因子的生物信息学分析及干旱诱导表达

刘 蓓<sup>1</sup>, 邱 爽<sup>2</sup>, 何佳琦<sup>2</sup>, 李铭杨<sup>2</sup>, 翟 莹<sup>2</sup>

(1. 长春科技学院 生命科学学院, 吉林 长春 130600; 2. 齐齐哈尔大学 生命科学与农林学院, 黑龙江 齐齐哈尔 161006)

**摘要:**为探究大豆 Dof 转录因子的功能,本研究对大豆中 8 个 Dof 转录因子的基因序列进行生物信息学分析,通过实时荧光定量 PCR 检测编码基因在干旱胁迫下的表达,并分析主要应答基因的启动子序列中的顺式作用元件。研究结果显示:8 个 Dof 转录因子编码基因分别位于大豆 5、8、11、13、15 和 16 号染色体上,编码蛋白序列的氨基酸残基为 213~403 个,等电点为 6.61~9.36,主要定位于细胞核中。GmDof2 与番茄 SlDof5.4 具有较近的亲缘关系,GmDof1、GmDof8、GmDof3 和 GmDof5 之间具有较近的亲缘关系,GmDof7 与黄瓜 CsDof1.4 具有较近的亲缘关系,而 GmDof4 和 GmDof6 具有较近的亲缘关系。*GmDof1* 和 *GmDof3* 的表达量在干旱胁迫下上升幅度最明显,启动子序列中均含有多重逆境相关的顺式作用元件。研究结果证明大豆 Dof 转录因子具有在植物抗旱基因工程中的应用前景。

**关键词:**大豆;苗期;Dof 转录因子;干旱胁迫;表达分析

## Bioinformatics Analysis and Expression of Eight Dof Transcription Factors in Soybean Under Drought Stress

LIU Bei<sup>1</sup>, QIU Shuang<sup>2</sup>, HE Jia-qi<sup>2</sup>, LI Ming-yang<sup>2</sup>, ZHAI Ying<sup>2</sup>

(1. College of Life Science, Changchun Sci-Tech University, Changchun 130600, China; 2. College of Life Science and Agro-Forestry, Qiqihar University, Qiqihar 161006, China)

**Abstract:** In order to explore the functions of soybean transcription factors Dof, the bioinformatics analysis was performed on eight Dof genes in soybean. The expression levels of them were detected through real-time fluorescence quantitative PCR under drought stress, and the cis-elements in promoter sequences of major responsive genes were also analyzed. The results showed that the eight genes encoding the Dof transcription factors located on chromosome 5, 8, 11, 13, 15 and 16 of soybean, respectively. The length of their proteins ranged from 213 to 403 amino acid residues, and the isoelectric points ranged from 6.61 to 9.36, mainly located in the nucleus. GmDof2 was closely related to tomato SlDof5.4, GmDof1, GmDof8, GmDof3 and GmDof5 were closely related to each other, GmDof7 was closely related to cucumber CsDof1.4, and GmDof4 was closely related to GmDof6. The expression levels of *GmDof1* and *GmDof3* increased obviously under drought stress, and their promoter sequences both contained several cis-elements related to stress. The results showed that soybean Dof transcription factors have potential application in genetic engineering of plant drought resistance.

**Keywords:** Soybean; Seedling stage; Dof transcription factor; Drought stress; Expression analysis

大豆作为一种重要的蛋白质及油料作物,在世界范围内被广泛种植,同时也是中国最主要的经济作物之一。近年来一些非生物因素,例如干旱、极端温度、高盐等严重影响了大豆的生长发育<sup>[1]</sup>。其中,干旱对大豆的影响最为显著,干旱会导致大豆产量降低约 20%,各项营养品质也会大幅下降<sup>[2,3]</sup>。通过长期的生物进化,植物可以通过调节体内一系列基因的表达或合成大量胁迫相关的蛋白来适应

不利的环境条件<sup>[4]</sup>。其中转录因子能够与特定的顺式作用元件结合,组成调控网络,调控植物中众多的胁迫相关的抗性基因表达,从而提高植物对环境胁迫的适应能力<sup>[5]</sup>。

Dof 转录因子是植物中特有的一类转录因子,因其具有 1 个 Cys 残基的单锌指(C<sub>2</sub>-C<sub>2</sub>)结构域而得名 Dof (DNA binding with one finger)<sup>[6]</sup>。其主要包含 2 个区域:一是位于 N 末端的,由 52 个保守

收稿日期:2019-10-14

基金项目:黑龙江省普通本科高等学校青年创新人才培养计划(UNPYSCT-2017153);黑龙江省省属高等学校基本科研业务费科研项目(植物性食品加工技术特色学科专项)(YSTSXK201878);黑龙江省省属高等学校基本科研业务费科研项目(135209264)。

第一作者简介:刘蓓(1982-),女,硕士,高级实验师,主要从事植物遗传育种和植物生理病理研究。E-mail:39809079@qq.com。

通讯作者:翟莹(1982-),女,博士,副教授,主要从事大豆分子育种研究。E-mail:fairy39809079@126.com。

氨基酸残基构成的 DNA 结合结构域,其中包含 4 个保守的 Cys 残基和 1 个  $Zn^{2+}$ ,它们通过共价结合形成 CX2CX21CX2C 基序<sup>[7]</sup>,此结构域能够特异性结合核心序列为 AAAG 的顺式作用元件<sup>[8-10]</sup>。另一个是位于 C 末端的转录调控区,该区由 1 个色氨酸的单锌指保守结构域组成,其稳定性对 DNA 结合也非常重要<sup>[11]</sup>。研究表明,Dof 转录因子在植物种子萌发、碳氮代谢、光响应、逆境胁迫等过程中均能发挥重要作用<sup>[6-7, 12-13]</sup>。自 1993 年 Dof 转录因子首次在玉米中被发现以来,越来越多的干旱胁迫相关的 Dof 转录因子在其它物种中被发现。胡萝卜中 *DcDofD1* 基因能够被高温、低温、干旱和高盐胁迫所诱导<sup>[14]</sup>。在水稻的 30 个 Dof 基因中,仅有 3 个基因的表达在 PEG 处理后受到显著抑制,而其它基因的表达则明显上调,表明它们可能正向调控植物的干旱适应性<sup>[15]</sup>。但在小麦的 31 个 Dof 转录因子中,除 TaDof14 和 TaDof15 外,多数都被干旱诱导下调表达,表明多数的小麦 Dof 基因可能负向调控植物的干旱适应性<sup>[16]</sup>。此外,TaDof5、TaDof17 和 TaDof19 的表达还因热胁迫而下调,而 TaDof1 的表达则因盐胁迫而上调<sup>[16]</sup>。

Guo 等<sup>[17]</sup>报道大豆中存在 79 个 Dof 转录因子。其中,GmDof4 和 GmDof11 通过调控脂肪酸生物合成相关基因的表达从而调控大豆种子的油脂含量<sup>[18]</sup>。但到目前为止,大豆 Dof 转录因子的研究仅限于种子发育等方面,其与非生物胁迫,尤其是与干旱胁迫之间关系的研究尚未见报道。本研究对大豆中 8 个 Dof 转录因子的编码基因序列及启动子序列进行生物信息学分析,并对其在干旱处理下表达量进行检测,以期为大豆 Dof 转录因子在植物抗旱基因工程中的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试大豆品种为北豆 9 号,由齐齐哈尔大学植物分子育种研究室保存。

1.2 试验设计

通过序列分析选择尚未有功能鉴定研究结果的 Dof 转录因子家族成员,对其进行生物信息学分析,并通过实时荧光定量检测方法分析 8 个编码基因在干旱胁迫下的表达量变化情况,预测对干旱胁迫存在应答的基因启动子序列中的顺式作用元件,进而解析其响应干旱胁迫的原因。

1.3 方法

1.3.1 生物信息学分析 在大豆转录因子数据库 PlantTFDB (<http://www.plantgdb.org/GmGDB/>) 中搜索 Dof 转录因子编码基因。选取其中 8 个未进行功能鉴定的 Dof 基因,依次命名为 *GmDof1* ~ 8(表 1),进行以下分析:使用在线软件 ExPASy ([http://expasy.org/tools/pi\\_tool.html](http://expasy.org/tools/pi_tool.html)) 预测 Dof 蛋白的分子量和等电点;使用在线软件 PSORT (<https://wolfpsort.hgc.jp/>) 预测 Dof 蛋白的亚细胞定位;利用 NCBI 数据库 (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) 搜索 Dof 同源基因;使用在线软件 SMART 预测 Dof 蛋白序列的保守结构域及位置;使用 DNAMAN 软件进行蛋白序列比对并构建进化树。利用 GmGDB 数据库 (<http://www.plantgdb.org/GmGDB/>) 搜索 Dof 基因上游启动子序列。使用 PlantCARE 在线软件 (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>) 预测 Dof 启动子中的顺式作用元件。

1.3.2 大豆幼苗干旱胁迫处理 使用 Hoagland 营养液在培养室内水培大豆幼苗,16 h 光照/8 h 黑暗,室温 25 ℃。待大豆幼苗的第一片三出复叶完全展开时,选取长势一致的幼苗从培养液中取出,置于含 20% PEG8000 的营养液中模拟干旱胁迫。分别在处理的 0,1,2,5,10 和 24 h 剪取 0.1 g 第一片三出复叶并迅速置于液氮中,在 -80 ℃超低温冰箱中保存备用。

1.3.3 RNA 提取及 cDNA 合成 使用 RNAiso Plus (Takara) 分别提取上述各样本的总 RNA,通过琼脂糖凝胶电泳和 OD<sub>260/280</sub> 值检测 RNA 的质量。使用 cDNA 反转录试剂盒 (Novoprotein) 合成第一链 cDNA。

1.3.4 基因表达分析 根据 8 个 Dof 基因的编码序列,使用 Primer Premier 5 软件设计特异性实时荧光定量 PCR 引物,以大豆组成型表达基因  $\beta$ -Tubulin 作为内参基因<sup>[19]</sup>,引物序列如表 1 所示,由上海生工公司合成。使用 BIO-RAD CFX96 Real-Time PCR 仪,检测干旱胁迫下 Dof 基因的表达量。实时荧光定量 PCR 反应体系为 20  $\mu$ L: cDNA 2  $\mu$ L、2  $\times$  TB Green Premix Ex Taq II (Takara) 10  $\mu$ L、上下游引物各 0.8  $\mu$ L。反应程序如下:95 ℃预变性 30 s;95 ℃退火 5 s,58 ℃延伸 30 s,循环 40 次。3 次重复,利用  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  法计算基因的相对表达量。

表 1 实时荧光定量 PCR 引物序列

Table 1 Sequences of primers in real-time fluorescent quantitative PCR

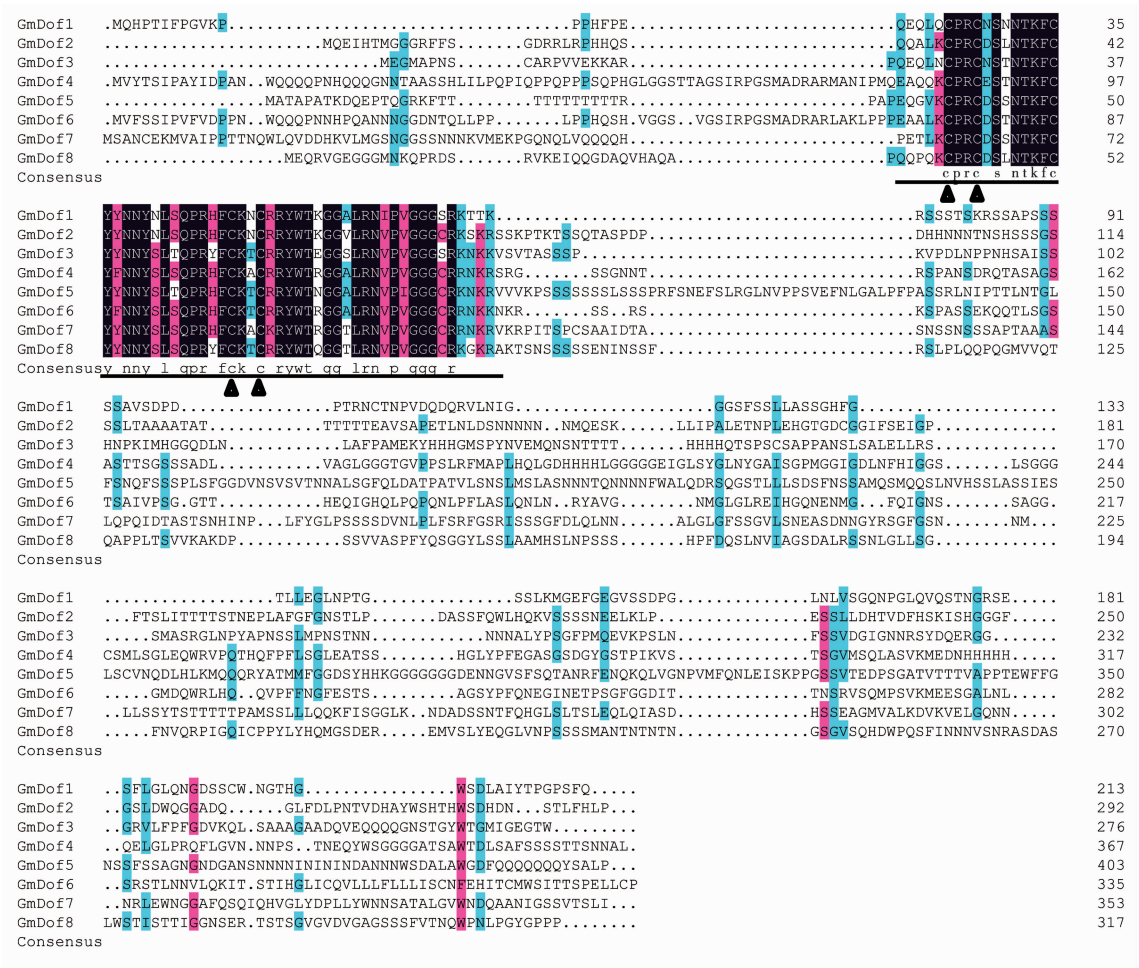
基因	GenBank 登录号	上游引物	下游引物
Gene	Accession number	Forward primer	Reverse primer
GmDof1	XM006585467	5'-AACAGAACAACCTCCAGTGTCAC-3'	5'-GTGGCTCGCAGAGGTTATAGTTG-3'
GmDof2	XM003524447	5'-GCAGCAGCAGCAACGAAGAG-3'	5'-GCCAATCCAACGATCCGAATCC-3'
GmDof3	XM006598832	5'-GTACCATCATCATGGCATGTCACC-3'	5'-TGGAGGAGCAGAACAAGAAGGAG-3'
GmDof4	XM003532264	5'-AGGAACAAGAGGAGCAGAGGAAG-3'	5'-TCTAAGCGACGCTGGCACTC-3'
GmDof5	XM006586451	5'-CACCACCACCACCACAACAAC-3'	5'-ATGAATCGCATCTGGACACTTC-3'
GmDof6	XM006590925	5'-CATCAGTTGCCACACCCACAG-3'	5'-TCCATTCTCCACCAGCAGAAG-3'
GmDof7	XM003545945	5'-CGCTATTGGACAAGAGTGGAAC-3'	5'-TTGTACTGAAGCAGCAGCAGTG-3'
GmDof8	XM006594518	5'-GAGCACCATCAGCACCCTATTG-3'	5'-AGAACCAGCACCAACATCAACAC-3'
β-Tubuin	GMU12286	5'-GGAAGGCTTTCTTGCATTGTA-3'	5'-AGTGGCATCTGTGTACTGC-3'

2 结果与分析

2.1 8 个大豆 Dof 转录因子的生物信息学分析

将大豆转录因子数据库 PlantTFDB 中获得的 8 个 Dof 基因编码的氨基酸序列进行比对,结果如图 1

所示:它们都具有 1 个保守的 Dof 结构域,此结构域均存在 CX2CX21CX2C 基序,含 4 个保守的 Cys 残基,证实它们均属于 Dof 转录因子家族成员。



下划线代表 Dof 结构域;三角代表 4 个保守的 Cys 残基。  
The Dof domain is underlined; The triangle represents the four conserved Cys residues.

图 1 8 个大豆 Dof 蛋白氨基酸序列比对

Fig. 1 Alignment of amino acid sequences of eight soybean Dof proteins

由表2可知:8个 *Dof* 基因分别位于大豆第5、8、11、13、15和16号染色体上,编码的蛋白序列长度为213~403个氨基酸,等电点为6.61~9.36。

亚细胞定位预测结果显示:*GmDof6* 蛋白外可能定位于质膜上或/和细胞核中,其它 *Dof* 蛋白均主要定位于细胞核中。

表2 大豆 *Dof* 转录因子基因及蛋白的鉴定及特性

Table 2 Identification and features of *Dof* genes and proteins in soybean

基因 Gene	染色体分布 Chromosome distribution	ORF/bp	氨基酸 Amino acid	分子量 Molecular weight/kD	I <sub>p</sub>	亚细胞定位 Subcellular localization
<i>GmDof1</i>	8	642	213	22.86	9.05	细胞核
<i>GmDof2</i>	5	879	292	31.92	6.61	细胞核
<i>GmDof3</i>	16	831	276	30.16	9.16	细胞核
<i>GmDof4</i>	8	1104	367	38.57	9.01	细胞核
<i>GmDof5</i>	8	1212	403	43.34	8.45	细胞核
<i>GmDof6</i>	11	1008	335	36.56	9.36	质膜/细胞核
<i>GmDof7</i>	15	1062	353	38.02	8.74	细胞核
<i>GmDof8</i>	13	954	317	34.10	9.18	细胞核

2.2 8个大豆 *Dof* 蛋白的进化分析

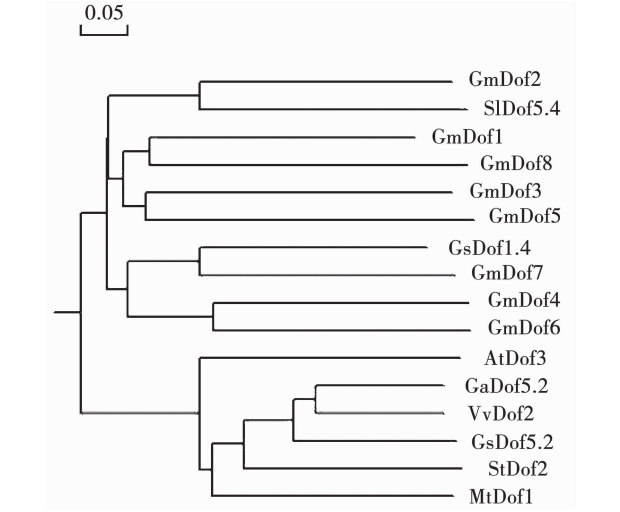
将8个大豆 *Dof* 蛋白与拟南芥、棉花、苜蓿、野生大豆和马铃薯等8个物种中的 *Dof* 蛋白进行同源性分析,构建系统进化树。结果表明:*GmDof2* 与番茄 *SlDof5.4* 具有较近的亲缘关系,*GmDof1*、*GmDof8*、*GmDof3* 和 *GmDof5* 之间具有较近的亲缘关系,*GmDof7* 与黄瓜 *CsDof1.4* 具有较近的亲缘关系,而 *GmDof4* 和 *GmDof6* 具有较近的亲缘关系(图2)。

2.3 8个大豆 *Dof* 基因在干旱胁迫下的表达

大豆幼苗经 PEG 模拟干旱处理后,利用实时荧光定量 PCR 对8个大豆 *Dof* 基因的表达动态进行检测。结果显示:随着干旱处理的进行,各基因的表达量均有不同程度的上下浮动,但总体趋势以上调表达为主。其中,*GmDof1*、*GmDof2*、*GmDof3*、*GmDof4* 和 *GmDof8* 的表达量均在处理后24 h达到最大值,*GmDof5* 的表达量在处理后10 h达到最大值,*GmDof6* 和 *GmDof7* 的表达量均在处理后2 h达到最大值。且 *GmDof1* 和 *GmDof3* 的表达量上调幅度较大,处理24 h时表达量已高于对照15倍,而其它几个基因的表达量上调幅度不大,均处于对照的8倍以下。由此推测8个 *Dof* 转录因子在大豆中均可不同程度的响应干旱胁迫(图3)。

2.4 *GmDof1* 和 *GmDof3* 启动子序列分析

*GmDof1* 和 *GmDof3* 对于干旱胁迫的应答较为明显,所以在大豆基因组数据库中搜索 *GmDof1* 和 *GmDof3* 基因起始密码子 ATG 上游2 000 bp 的启动子序列,对启动子序列中的顺式作用元件进行预测分析。结果如表3所示:*GmDof1* 启动子序列中含有3种逆境响应相关的元件(ARE、MBS和WUN-motif)和1种激素响应相关的元件(ABRE);*GmDof3* 启动子序列中含有4种逆境响应相关的元件(ARE、LTR、MBS和TC-rich repeats)和1种激素响应相关的元件(TCA-element)。此外 *GmDof1* 和 *GmDof3* 启动子序列中还含有昼夜节律调控相关元件以及大量光响应元件。此预测结果也为 *GmDof1* 和 *GmDof3* 基因参与大豆对于干旱胁迫的应答提供理论支持。



*SlDof5.4*: 番茄 XP004241613; *CsDof1.4*: 黄瓜 XP004134698; *AtDof3*: 拟南芥 AEE78290; *GaDof5.2*: 棉花 KHG00596; *VvDof2*: 葡萄 XP002283706511; *GsDof5.2*: 野生大豆 KHN11617; *StDof2*: 马铃薯 XP006338444; *MtDof1*: 苜蓿 XP003607748。

*SlDof5.4*: *Solanum lycopersicum* XP004241613; *CsDof1.4*: *Cucumis sativus* XP004134698; *AtDof3*: *Arabidopsis thaliana* AEE78290; *GaDof5.2*: *Gossypium arboreum* KHG00596; *VvDof2*: *Vitis vinifera* XP002283706511; *GsDof5.2*: *Glycine soja* KHN11617; *StDof2*: *Solanum tuberosum* XP006338444; *MtDof1*: *Medicago truncatula* XP003607748。

图2 *Dof* 蛋白系统进化树

Fig. 2 Phylogenetic tree of *Dof* proteins

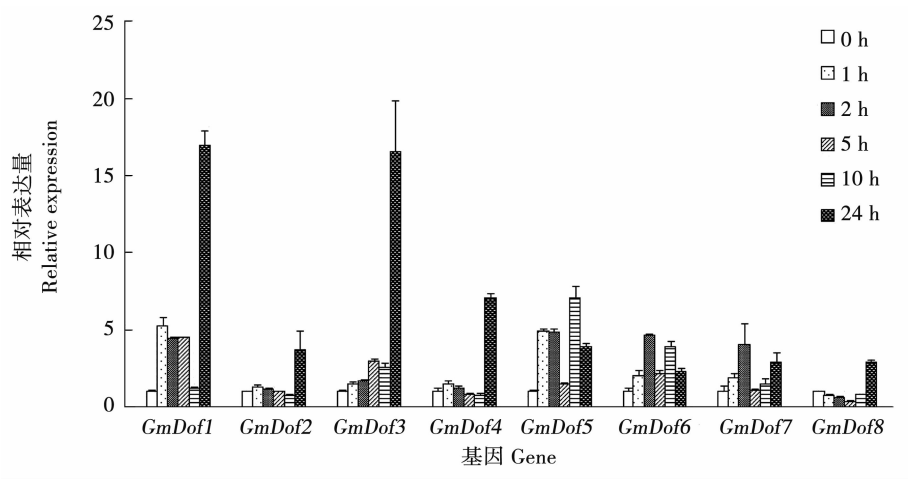


图 3 大豆 *Dof* 基因干旱处理下的表达

Fig. 3 Expression of soybean *Dof* genes under drought treatment

表 3 *GmDof1* 和 *GmDof3* 启动子顺式作用元件预测

Table 3 Prediction of *cis*-elements in *GmDof1* and *GmDof3* promoters in soybean

基序 Motif	预测功能 Predicted function	序列 Sequence	数目 Amount
ABRE	脱落酸响应元件 ABA responsive element	ACGTG	GmDof1 :1 ; GmDof3 :0
ARE	厌氧诱导元件 Anaerobic induction element	AAACCA	GmDof1 :2 ; GmDof3 :3
AE-box	光响应元件 Light responsive element	AGAAACTT	GmDof1 :1 ; GmDof3 :0
Box 4	光响应元件 Light responsive element	ATTAAT	GmDof1 :7 ; GmDof3 :4
G-Box	光响应元件 Light responsive element	ACGT	GmDof1 :2 ; GmDof3 :0
GT1-motif	光响应元件 Light responsive element	GGTTAA	GmDof1 :1 ; GmDof3 :2
I-box	光响应元件 Light responsive element	TGATAATGT	GmDof1 :0 ; GmDof3 :1
LAMP-element	光响应元件 Light responsive element	CTTTATCA	GmDof1 :0 ; GmDof3 :2
LTR	低温响应元件 Low temperature response element	CCGAAA	GmDof1 :0 ; GmDof3 :2
MBS	干旱诱导的 MYB 结合位点 MYB binding site involved in drought-inducibility	CAACTG	GmDof1 :1 ; GmDof3 :1
MRE	光响应的 MYB 结合位点 MYB binding site involved in light-inducibility	AACCTAA	GmDof1 :0 ; GmDof3 :1
TCA-element	水杨酸响应元件 SA responsive element	CCATCTTTTT	GmDof1 :0 ; GmDof3 :2
TC-rich repeats	防御和胁迫响应元件 Defense and stress responsive element	ATTCTCTAAC	GmDof1 :0 ; GmDof3 :1
TCT-motif	光响应元件 Light responsive element	TCTTAC	GmDof1 :1 ; GmDof3 :1
WUN-motif	创伤应答元件 Wound responsive element	AAATTACT	GmDof1 :1 ; GmDof3 :0
chs-CMA1a	光响应元件 Light responsive element	TTACTTAA	GmDof1 :1 ; GmDof3 :1
circadian	昼夜节律调控相关元件 Cis-acting regulatory element involved in circadian control	CAAAGATATC	GmDof1 :1 ; GmDof3 :1

3 讨论

干旱作为农作物生长发育的主要制约因素,已经成为农业生产发展的主要障碍。干旱胁迫会导致植物脱水,体内产生大量自由基,引起细胞伤害,进而影响光合作用,最终影响作物的产量<sup>[20]</sup>。Dof 转录因子作为转录激活子或抑制子可以参与调节植物的光、激素及防御等反应<sup>[5, 21]</sup>。对大豆中 *Dof* 基因在干旱胁迫下的表达进行分析,可为阐明 *Dof* 基因的功能研究、*Dof* 基因与大豆抗旱性之间的关系及其分子调控机制提供参考。

本研究首先对大豆中 8 个 *Dof* 基因及其蛋白结构、理化性质、亚细胞定位、进化关系等进行预测。李辉等<sup>[22]</sup>研究表明不同植物中 *Dof* 转录因子理论等电点存在差异,但基本处于 5.41 ~ 6.97,且碱性氨基酸数目普遍高于酸性氨基酸。但本研究的预测结果显示,大豆 *Dof* 转录因子的等电点普遍偏高,为 6.61 ~ 9.36,多为偏碱性类型,与王海波等<sup>[23]</sup>的研究结果相符,说明不同物种间 *Dof* 家族成员的变异性较大<sup>[24]</sup>。8 个 *Dof* 蛋白的序列长度变化范围也较大(213 ~ 403 个氨基酸),且位于 C 末端的调控结构域在氨基酸序列上不具有保守性,这也是 *Dof* 基因功能存在多样性的一个重要原因<sup>[25]</sup>。亚细胞定位预测结果显示 8 个 *Dof* 蛋白均主要存在于细胞核中,符合转录因子在细胞核中发挥转录调控作用的特点<sup>[26]</sup>。

基因表达量的不同是由其转录水平不同所造成的,逆境诱导下基因表达量的检测结果对于功能基因的筛选及鉴定具有重要的参考价值<sup>[27]</sup>。本研究中的 8 个 *Dof* 基因均能对干旱胁迫产生应答,但在响应时间和响应强度上存在差异。研究表明,高等植物中同一家族转录因子不同成员之间对非生物胁迫的响应存在相互调控的关系<sup>[28-29]</sup>。因此,大豆中 *Dof* 转录因子参与的逆境调控是一个复杂的网络,本研究中的 8 个 *Dof* 基因只是整体调控体系中的一部分。其中, *GmDof1* 和 *GmDof3* 对干旱胁迫的应答最为明显,顺式作用元件预测结果显示它们的启动子序列中均含 1 个干旱诱导的 MYB 结合位点 MBS,推测大豆中干旱诱导的 MYB 转录因子蛋白可能通过与 MBS 位点的结合从而调控 *GmDof1* 和 *GmDof3* 对干旱胁迫的应答。另外, *GmDof1* 和 *GmDof3* 的启动子序列中还有多种逆境相关的顺式作用元件,例如厌氧诱导元件 ARE、创伤应答元件 WUN-motif、低温响应元件 LTR、防御和胁迫响应元件 TC-rich repeats 等。此外还含有大量的光应答元件及昼夜节律调控相关元件。由此推测, *GmDof1* 和 *GmDof3*

在大豆中也可能响应其它的逆境胁迫,参与多种代谢调控。

4 结论

本研究中的 8 个大豆 *Dof* 转录因子基因分别位于大豆的 6 条染色体上,编码的蛋白序列长度为 213 ~ 403 个氨基酸残基,等电点为 6.61 ~ 9.36。大豆 *Dof* 蛋白主要定位于细胞核中。*GmDof2* 与番茄 *SlDof5.4* 具有较近的亲缘关系, *GmDof1*、*GmDof8*、*GmDof3* 和 *GmDof5* 之间具有较近的亲缘关系, *GmDof7* 与黄瓜 *CsDof1.4* 具有较近的亲缘关系,而 *GmDof4* 和 *GmDof6* 具有较近的亲缘关系。8 个 *Dof* 基因均能对干旱胁迫产生应答,其中 *GmDof1* 和 *GmDof2* 的表达量在干旱胁迫下的上升幅度最明显,其启动子序列中均含有多种逆境相关的顺式作用元件。

参考文献

[1] 张红梅,刘晓庆,陈华涛,等. 大豆转录因子 GmWRKY58 亚细胞定位及在非生物胁迫下的表达分析[J]. 华北农学报, 2018, 33(2): 49-57. (Zhang H M, Liu X Q, Cheng H T, et al. Subcellular localization and expression analysis of a soybean transcription factor GmWRKY58 in response to abiotic stresses[J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2018, 33(2): 49-57.)

[2] 寿惠霞,朱丹华,陈彩霞,等. 8 个春大豆品种对旱境的反应及抗旱指标初探[J]. 浙江农业科学, 1991, 6: 278-281. (Shou H X, Zhu D H, Chen C X, et al. Preliminary study on drought response and drought resistance index of eight spring soybean varieties[J]. Zhejiang Agricultural Science, 1991, 6: 278-281.)

[3] Barbosa H S, Arruda S C, Azevedo R A, et al. New insights on proteomics of transgenic soybean seeds: Evaluation of differential expressions of enzymes and proteins[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2012, 402(1): 299-314.

[4] Xiong L, Ishitani M, Zhu J K. Interaction of osmotic stress, temperature and abscisic acid in the regulation of gene expression in *Arabidopsis*[J]. Plant Physiology, 1999, 119(1): 205-211.

[5] 刘文婷,马田田,周春菊,等. 禾本科植物单锌指家族基因对逆境应答的研究进展[J]. 生物工程学报, 2016, 32(5): 541-553. (Liu W T, Ma T T, Zhou C J, et al. Advances in stress response of DNA binding with one finger transcription factor family genes in graminaceous plants[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2016, 32(5): 541-553.)

[6] Yanagisawa S. Dof domain proteins: Plant-specific transcription factors associated with diverse phenomena unique to plants[J]. Plant and Cell Physiology, 2004, 45(4): 386-391.

[7] Gupta S, Malviya N, Kushwaha H, et al. Insights into structural and functional diversity of Dof (DNA binding with one finger) transcription factor[J]. Planta, 2015, 241(3): 549-562.

[8] Yanagisawa S, Izui K. Molecular cloning of two DNA-binding proteins of maize that are structurally different but interact with the same sequence motif[J]. Journal of Biological Chemistry, 1993,



268(21): 16028-16036.

[9] Yanagisawa S. A novel DNA-binding domain that may form a single zinc finger motif[J]. Nucleic Acids Research, 1995, 23(17): 3403-3410.

[10] Yanagisawa S, Schmidt R J. Diversity and similarity among recognition sequences of Dof transcription factors[J]. Plant Journal, 1999, 17(2): 209-214.

[11] 郭彦秀, 陈静, 王艳芳, 等. Dof 转录因子在植物中的调控作用[J]. 生物技术通报, 2019, 35(5): 146-156. (Guo Y X, Cheng J, Wang Y F, et al. Roles of Dof transcription factors in the regulation of plant[J]. Biotechnology Bulletin, 2019, 35(5): 146-156. )

[12] Huang W, Huang Y, Li M Y, et al. Dof transcription factors in carrot: Genome-wide analysis and their response to abiotic stress[J]. Biotechnology Letters, 2016, 38(1): 145-155.

[13] 张雪, 尹悦佳, 范贝, 等. 植物 Dof 转录因子的结构特点及功能研究进展[J]. 作物杂志, 2016, 2: 14-20. (Zhang X, Yin Y J, Fan B, et al. Advances on the structural characteristics and function of Dof transcription factors in plant[J]. Crops, 2016, 2: 14-20. )

[14] 却枫, 黄莹, 王枫, 等. 胡萝卜中 *DcDofDI* 转录因子的克隆及其对非生物逆境胁迫的响应分析[J]. 植物遗传资源学报, 2015, 16(5): 1073-1079. (Que F, Huang Y, Wang F, et al. Cloning and expression analysis of a transcription factor, *DcDofDI* related to abiotic stress reaction in carrot [J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2015, 16(5): 1073-1079. )

[15] 周淑芬, 颜静宛, 刘华清, 等. 水稻 *DOF* 基因家族的组织表达谱及胁迫诱导表达特征分析[J]. 分子植物育种, 2012, 10(6): 635-643. (Zhou S F, Yan J W, Liu H Q, et al. Transcriptional profiling analysis of *OsDof* gene family in various rice tissues and their expression characteristics under different stresses [J]. Molecular Plant Breeding, 2012, 10(6): 635-643. )

[16] Shaw L M, McIntyre C L, Gresshoff P M, et al. Members of the Dof transcription factor family in *Triticum aestivum* are associated with light-mediated gene regulation[J]. Functional and Integrative Genomics, 2009, 9(4): 485-498.

[17] Guo Y, Qiu L J. Genome-wide analysis of the *Dof* transcription factor gene family reveals soybean-specific duplicable and functional characteristics[J]. PLoS One, 2013, 8(9): e76809.

[18] Wang H W, Zhang B, Hao Y J, et al. The soybean Dof-type transcription factor genes, *GmDof4* and *GmDof11*, enhance lipid content in the seeds of transgenic *Arabidopsis* plants[J]. Plant Journal, 2007, 52(4): 716-729.

[19] Zhai Y, Shao S, Sha W, et al. Overexpression of soybean *GmERF9* enhances the tolerance to drought and cold in the transgenic tobacco[J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 2017, 128(3): 607-618.

[20] 毕黎明, 刘伟丽, 李杨瑞. 甘蔗抗旱性研究进展与展望[J]. 广西农业科学, 2006, 37(5): 522-527. (Bi L M, Liu W L, Li Y R. Advances and prospects in study on sugarcane drought resistance [J]. Guangxi Agricultural Science, 2006, 37(5): 522-527. )

[21] Shinozaky K, Yamaguchi-shinozaki K, Seki M. Regulatory network of gene expression in the drought and cold stress responses[J]. Current Opinion in Plant Biology, 2003, 6(5): 410-417.

[22] 李辉, 黄蔚, 刘志薇, 等. 茶树两个 Dof 转录因子的分离及其在温度胁迫中的响应分析[J]. 茶叶科学, 2016, 36(3): 312-322. (Li H, Huang W, Liu Z W, et al. Isolation and expression analysis of two temperature responsive *Dof* genes from *Camellia sinensis*[J]. Journal of Tea Science, 2016, 36(3): 312-322. )

[23] 王海波, 唐利洲. 基于基因组鉴定小桐子 Dof 转录因子家族及其表达分析[J]. 分子植物育种, 2018, 16(3): 764-771. (Wang H B, Tang L Z. Genome-wide identification and expression analysis of Dof transcription factor family in *Jatropha curcas* [J]. Molecular Plant Breeding, 2018, 16(3): 764-771. )

[24] 程冬梅, 邓志勇, 郭霁光. 小麦高分子量麦谷蛋白亚基等电点的特性分析[J]. 西北植物学报, 2006, 26(3): 532-536. (Cheng D M, Deng Z Y, Guo A G. Properties of isoelectric point of high-molecular-weight gluten in subunits in common wheat[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2006, 26(3): 532-536. )

[25] Yanagisawa S. Dof DNA-binding domains of plant transcription factors contribute to multiple protein-protein interactions[J]. European Journal of Biochemistry, 1997, 250(2): 403-410.

[26] 丁恺, 麻鹏达, 贾彦彦, 等. 丹参 3 个 R2R3-MYB 转录因子的亚细胞定位和自激活活性分析[J]. 西北农业学报, 2018, 27(4): 140-148. (Ding K, Ma P D, Jia Y Y, et al. Subcellular localization and transactivation analysis of three R2R3-MYB in *Salvia miltiorrhiza* Bunge[J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2018, 27(4): 140-148. )

[27] Saddee A A, Malvankar M R, Kumar K. Selection of reference genes for quantitative real-time PCR analysis in halophytic plant *Rhizophora apiculata*[J]. The Journal of Life and Environmental Sciences, 2018, 6(8): e5226.

[28] Zhao T J, Sun S, Liu Y, et al. Regulating the drought-responsive element (DRE)-mediated signaling pathway by synergic functions of trans-active and trans-inactive DRE binding factors in *Brassica napus*[J]. Journal of Biological Chemistry, 2006, 281(16): 10752-10759.

[29] Zhuang J, Jiang H H, Wang F, et al. A rice OsAP23, functioning as an AP2/ERF transcription factor, reduces salt tolerance in transgenic *Arabidopsis* [J]. Plant Molecular Biology Reporter, 2013, 31(6): 1336-1345.