

柳树 *AP2/ERF* 基因家族全基因组鉴定和表达分析

戴晓港,李淑娴*

(南京林业大学林学院,南方杨树工程技术研究中心,江苏省杨树种质创新与品种改良重点实验室,江苏 南京 210037)

摘要: APETALA2/ethylene-responsive factor (*AP2/ERF*) 转录因子在调控植物的生长和发育、应生物胁迫和非生物胁迫等方面扮演着至关重要的角色。该文对簸箕柳基因组中 *AP2/ERF* 基因进行查找,分析了该基因家族的保守结构域、基因结构、启动子区域顺式作用元件、基因在染色体上的分布及其在干旱胁迫下的差异表达。分析结果发现,簸箕柳中共含有 208 个 *AP2/ERF* 基因。根据系统发育树聚类分析的结果,这些基因可分为 *AP2*, *RAV*, *ERF* 和 *Soloist* 4 个亚类;基因结构分析表明,*AP2* 和 *Soloist* 基因内含子较多,而多数 *ERF* 和所有 *RAV* 基因都无内含子;对启动子区域顺式作用元件分析,发现簸箕柳 *AP2/ERF* 家族基因启动子区域富含响应非生物胁迫的相关元件;对基因在染色体上分布分析表明,簸箕柳 *AP2/ERF* 基因在不同染色体上分布不均匀,其中 42 个基因的扩张与串联复制有关。利用蒿柳杂交子代的干旱胁迫和对照样品的转录组序列进行了差异表达分析,发现了 5 个 *AP2/ERF* 基因在干旱胁迫下显著上调表达。分析结果为深入研究柳树 *AP2/ERF* 基因家族的功能提供了重要参考。

关键词: 簸箕柳;*AP2/ERF* 基因家族;分子进化;干旱胁迫;基因表达

中图分类号: Q756;S792.12

文献标志码: A

doi: 10.3969/j.issn.1001-7380.2021.05.001

Genome-wide identification and characterization of the *AP2/ERF* gene family in willow

Dai Xiaogang, Li Shuxian*

(The Key Laboratory of Tree Genetic Improvement and Biotechnology of Jiangsu Province,

The Southern Poplar Germplasm Engineering and

Wood Processing Technology Center, College of Forestry, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China)

Abstract: APETALA2/ethylene-responsive factor (*AP2/ERF*) transcription factors perform a crucial role in various biological processes, such as regulating plant growth and development, responding to abiotic and biotic stresses. In this study, we identified *AP2/ERF* superfamily genes in *Salix suchowensis*, and analyzed their conserved motif, gene structure, cis-regulatory elements in the promoter, chromosome distribution and expression patterns under drought stress. A total of 208 *AP2/ERF* genes were identified in *S. suchowensis* genome. The identified *AP2/ERF* genes were classified into 4 major clades including *AP2*, *ERF*, *RAV* and *Soloist* based on the phylogenetic trees. Gene structural analysis showed that the genes in *AP2* and *Soloist* clades had more introns than those in *ERF* and *RAV* clades. Cis-regulatory elements which are related to abiotic stresses were identified and enriched in the promoter of the *SsAP2/ERF* genes. Plotting their distribution showed that the *SsAP2/ERFs* unevenly scattered on the 19 chromosomes of *S. suchowensis*, with 42 (20.2%) *SsAP2/ERF* genes related to tandem duplication. The transcriptome reads derived from *S. viminalis* progeny with drought treatment were mapped on to the genome of *S. suchowensis* and five *AP2/ERF* genes were identified which were up-regulated in drought stress compared with control treatment. The above results will provide a valuable clue for further exploring the functional of willow *AP2/ERF* genes.

Key words: *Salix suchowensis*; *AP2/ERF* gene family; Molecular evolution; Drought stress; Gene expression

收稿日期:2021-06-06;修回日期:2021-07-28

基金项目:国家自然科学基金项目“簸箕柳组培再生体系及农杆菌介导的遗传转化研究”(31500533)

作者简介:戴晓港(1984-),男,江苏新沂人,实验师,博士。主要从事林木遗传育种研究。E-mail: xgdai@njfu.edu.cn

* 通信作者:李淑娴(1969-),女,山东烟台人,教授,博士。主要从事观赏植物育种研究。E-mail: shuxianli@njfu.com.cn

发展可再生能源是应对温室效应引起全球气候变化的重要手段^[1]。林木为人类提供了最重要的可再生资源,杨柳科植物由于易于繁殖、生长速度快、产量高,是营建生物质能源林重要的树种之一^[2]。全球柳属有 520 个种,主产北半球温带地区^[3],我国柳树资源丰富,包含种 257 个,变种 122 个和变型 33 种,且基本处于野生和半野生状态,其遗传变异丰富,改良潜力大^[4]。全球范围内,培育高产和抗逆性强的柳树无性系以适应边际土地开发和利用的需求也在不断增长。

AP2/ERF 转录因子是植物中最大的转录因子家族之一。在模式植物中,AP2/ERF 基因家族的生物学功能已有深入研究。研究表明,该基因家族在很多植物生长过程中起着至关重要的作用,这些过程包括调控植物生长和发育^[5-9],对生物胁迫和非生物胁迫的应答^[11-16]等。如 AP2 亚家族中的基因被发现参与调控植物开花时间^[5]、调节花器官生长和发育^[6]、胚珠发育^[7]、决定小穗分生组织形成^[8]及叶表皮细胞形成^[9],而该基因家族的 RAV 基因受乙烯和油菜素内酯等激素调控^[10],过表达此类基因可以提高植物对盐胁迫和干旱胁迫的抗性^[11-12],ERF 亚家族基因则主要参与对生物胁迫和非生物胁迫的应答,包括病原菌和疾病刺激^[13-14]、水分胁迫^[15]、盐胁迫^[16]及高温和低温胁迫等^[17-18]。

AP2/ERF 基因家族重要的生物学功能,使得该家族的基因成为植物育种和基因工程重要的基因资源。簸箕柳基因组染色体水平的组装序列^[19],为开展簸箕柳全基因组 AP2/ERF 基因家族分析提供了基础。对簸箕柳 AP2/ERF 基因家族开展研究,有助于全面了解柳树中该家族基因的组成和进化历史。柳树不仅耐水湿,而且对于干旱生境的适应性很强^[20]。本文还对柳树干旱条件下差异表达的 AP2/ERF 基因进行了分析,旨在获得柳树与干旱胁迫应答有关的 AP2/ERF 基因家族候选基因。

1 材料与方法

1.1 AP2/ERF 转录因子查找

簸箕柳基因组参照 Wei 等^[19]发表的序列。基因家族中基因查找方法如下:首先,以拟南芥 AP2/ERF 基因家族中具有代表性的 AT1G25560.1 和 AT2G28550.1 为参考序列^[21],采用 BLASTp

(2.2.26+)^[22]将所有柳树蛋白质序列比对到上述 2 个基因序列上,比对参数为 E-value = 1e-5, Identity ≥ 50%;然后,将所有柳树蛋白质序列采用 hmmer-3.0 的默认参数^[23]和含有 AP2 domain 的 Pfam 文件 PF00847 比对查找含有 AP2 domain 的簸箕柳基因;最后,将以上查找的基因去冗余后,再采用 SMART (<http://smart.embl-heidelberg.de/>) 在线搜索^[24],进一步确认上述查找的序列中是否含有 AP2 domain 序列。

1.2 AP2/ERF 转录因子系统进化

将拟南芥 AP2/ERF 基因家族^[25]和簸箕柳 AP2/ERF 基因家族蛋白质的 domain 序列采用 Clustal W2.1^[26]进行多重比对,所有参数均为默认设置。采用 MEGA-X^[27]中的邻接法构建进化树,参数设置为泊松校正、pair-wise deletion、bootstrap,重复为 1 000 次,采用 Figtree 对构建的进化树进行可视化(<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>)。

1.3 AP2/ERF 转录因子保守基序和基因结构

利用在线预测工具 MEME (Multiple Em for Motif Elicitation, <https://meme-suite.org/meme/tools/meme>) 对簸箕柳 AP2/ERF 蛋白的保守基序 (Motif) 进行分析,设置 Motif 个数为 10 个,Minimum width = 10, Maximum width = 70,其他参数均为默认值。根据基因注释的 gff 文件,利用 TBtools^[28]进行基因结构可视化。

1.4 AP2/ERF 转录因子启动子顺式作用元件

根据基因组注释文件,提取基因家族成员起始密码子上游 2 000 bp 序列作为基因的启动子序列,用 Plant CARE (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>) 在线进行预测分析,按照顺式元件中与非生物胁迫和激素相关的顺式作用元件对预测结果分类整理,最后利用 TBtools^[28]工具整合进化树和对启动子区域的顺式作用元件进行可视化。

1.5 AP2/ERF 转录因子染色体分布及扩增方式

根据 AP2/ERF 基因注释 gff 文件中基因的位置,采用 MapChart^[29]将 AP2/ERF 基因绘制在染色体上。

1.6 AP2/ERF 转录因子表达分析

从 EBI 网站中下载了蒿柳杂交子代 (*S. viminalis* × [*S. viminalis* × *S. schwerinii*]) 基因型 520 号干旱胁迫处理和对照的根系转录组数据 (<http://www.ebi.ac.uk/ena/data/view/PRJEB10883>),使用

BWA^[30] (0.7.15-r1140) 软件将上述序列分别比对到所有 *AP2/ERF* 基因上, 比对参数为小于等于 2 个错配, 其余为默认参数, 根据比对结果, 统计对照和干旱胁迫处理分别比对到每个基因的序列数量。采用 RPKM (reads per kilobase of transcripts per million mapped reads) 的方法对统计每个基因表达量。用 DEGseq^[31] 软件包来计算差异表达的基因, 根据 \log_2 RPKM 的值 ≥ 1 , 即其表达量差异超过 1 倍的、且 *P*-value 小于 0.01 的基因定义为差异表达基因。

2 结果与分析

2.1 *AP2/ERF* 转录因子数量及分类

根据隐马尔可夫模型对 Pfam 文件 PF00847 的搜索和拟南芥序列的比对, 同时采用 *SMART* 对上述结果进行验证, 结果表明簸箕柳 *AP2/ERF* 转录因子基因家族中含有 208 个基因(见表 1)。根据基因含有 *AP2* domain 的数量和序列的相似度对这 208 个基因进行分类, 24 个基因含有 2 个完整的 *AP2* domain 序列被分到 *AP2* 家族, 177 个基因属于 *ERF* 家族, 其中每个基因只含有 1 个 *AP2* domain; 4 个基因属于 *RAV* 家族, 每个基因除了含有 1 个 *AP2* domain, 还有 1 个 *B3* domain。

表 1 簸箕柳 *AP2/ERF* 家族基因与毛果杨和拟南芥的比较

家族	亚家族	组	簸箕柳	毛果杨	拟南芥
<i>AP2</i>	<i>DREB</i>	I	10	5	10
		II	15	20	15
		III	32	35	23
		IV	13	6	9
		合计	70	66	57
<i>ERF</i>		V	16	10	5
		VI	7	11	8
		VII	6	6	5
	<i>ERF</i>	VIII	21	17	15
		IX	37	42	17
		X	14	9	8
		VI-L	4	4	4
		Xb-L	2	4	3
		合计	107	103	65
		共计	177	169	122
<i>RAV</i>			4	6	6
<i>Soloist</i>			1	1	1
总计			208	202	147

2.2 *AP2/ERF* 转录因子进化分析

以簸箕柳和拟南芥基因蛋白质保守域序列, 用 *MEGA X* 构建簸箕柳 *AP2/ERF* 基因家族的进化树。进化分析结果表明, 虽然 EVM0033490.1 和 EVM0002376.1 只含有 1 个 *AP2* domain 序列, 但是这 2 个基因和 *AP2* 家族基因序列相似度较高, 将这 2 个基因分类到 *AP2* 家族; 还有 1 个基因 EVM0011433.1 虽然只含有 1 个 *AP2* domain 序列, 但与 *ERF* 和 *AP2* 家族分化较远而被定义为 *Soloist* 基因。按照 Nakano 等^[25] 对 *AP2/ERF* 基因家族的分类标准, *ERF* 家族中的 177 个基因细分为 *ERF* 亚家族和 *DREB* 亚家族共 12 个 group, 其中 *DREB* 亚家族 4 个 group (I—IV) 分别含有 10, 15, 32 和 13 个基因成员, *ERF* 亚家族 8 个 group (V—X, VI-L, Xb-L) 分别含有 16, 7, 6, 21, 37, 14, 4 和 2 个基因成员(如图 1)。

2.3 *AP2/ERF* 转录因子蛋白基序分析

利用 MEME 分析簸箕柳 *AP2/ERF* 基因家族的 Motif, 结果显示只有 *Solista* 基因含有 1 个 Motif, 其余所有 *AP2/ERF* 家族基因含有 2—6 个不等的 Motif (如图 2)。簸箕柳 208 个 *AP2/ERF* 基因, 98.6% 的基因都含有 Motif 2, 其次 93.8% 和 91.8% 的基因含有 Motif 1 和 Motif 4。大多数的 *AP2* 亚家族的基因都有 6 个 Motif, 其中 Motif 3, Motif 5 和 Motif 6 是 *AP2* 亚家族特有的 Motif, *AP2* 亚家族的 26 个基因中, 分别有 24 个基因含有 Motif 3, 25 个含有 Motif 5, 23 个含有 Motif 6。Motif 8 是 *ERF* 亚家族中特有的, 其中 group III 的 32 个基因中均含有 Motif 8。Motif 9 和 Motif 10 是 *DREB* 亚家族中的 group IX 特有的。

2.4 *AP2/ERF* 家族基因结构

对簸箕柳 *AP2/ERF* 家族基因结构分析发现, 不同基因亚家族之间基因结构存在较大的差异。*AP2* 家族中的 26 个基因全部含有内含子, 其内含子数目在 5—11 个不等; 而 *ERF* 家族 70 个基因中, 只有 14 个基因含有内含子, 除了 EVM0020240.1 基因含有 3 个内含子外, 其余基因内含子数量为 1—2 个; *DREB* 家族中 107 个基因, 也只有 48 个基因有内含子, 其内含子数目在 1—2 个, 而含有内含子的基因主要集中在 V, VII 和 X 3 个亚家族, 共 30 个基因含有内含子; *RAV* 家族中的 4 个基因都没有内含子, 这与 *AP2* 家族中的基因结构截然不同(如图 3), 而 *Soloist* 家族中 1 个基因含有 5 个内含子。

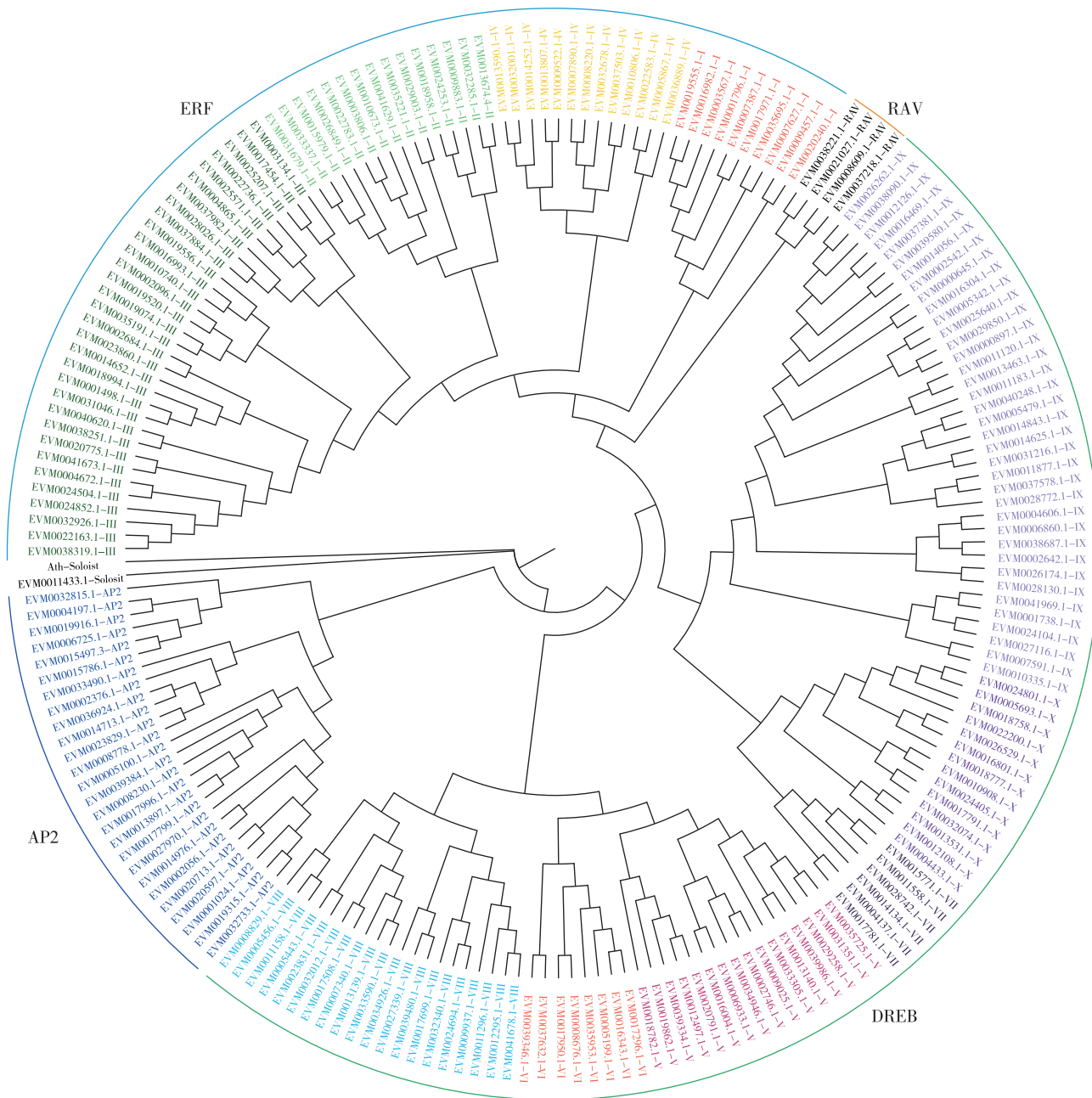


图1 簕箕柳208个AP2/ERF转录因子进化树

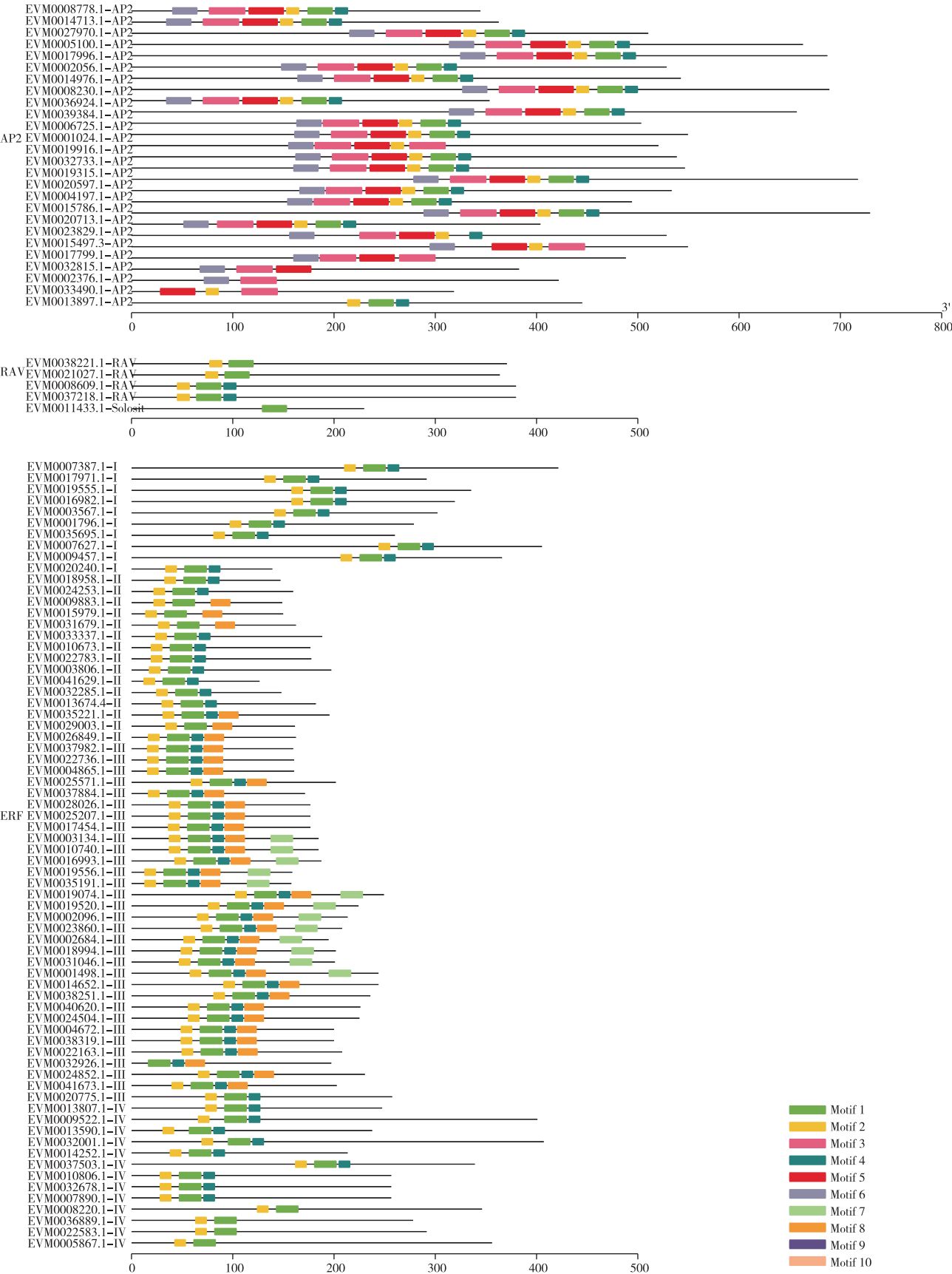
2.5 AP2/ERF 转录因子启动子区域顺式作用元件

为了解簕箕柳 AP2/ERF 家族基因的潜在功能,利用 PlantCARE 软件对基因上游 2 000 bp 的序列开展启动子顺式作用元件分析。结果显示(如图4),顺式作用元件中含有参与激素、光、低温、防御胁迫、昼夜节律控制和干旱诱导等响应元件。在激素类响应元件中,响应水杨酸和茉莉酸甲酯应答的基因最多,分别有 148 个和 138 个基因,而应答生长素和赤霉素的基因成员较少,分别有 21 个和 34 个。簕箕柳 AP2/ERF 家族中也有大量参与非生物胁迫

等相关的作用元件,如干旱诱导、低温响应、防御胁迫等。其中分别有 89 个基因成员含有干旱诱导和防御胁迫作用元件,78 个基因含有低温响应作用元件。推测这些基因在对非生物胁迫的应答中起着重要的作用。

2.6 AP2/ERF 基因在染色体上的分布

通过物理作图绘制出簕箕柳 AP2/ERF 基因在染色体上的分布(如图5)。从图5中可以看出,簕箕柳 AP2/ERF 基因在 19 条染色体上的分布是不均匀的,Ⅲ号染色体和 XVI 号染色体含有 AP2/ERF



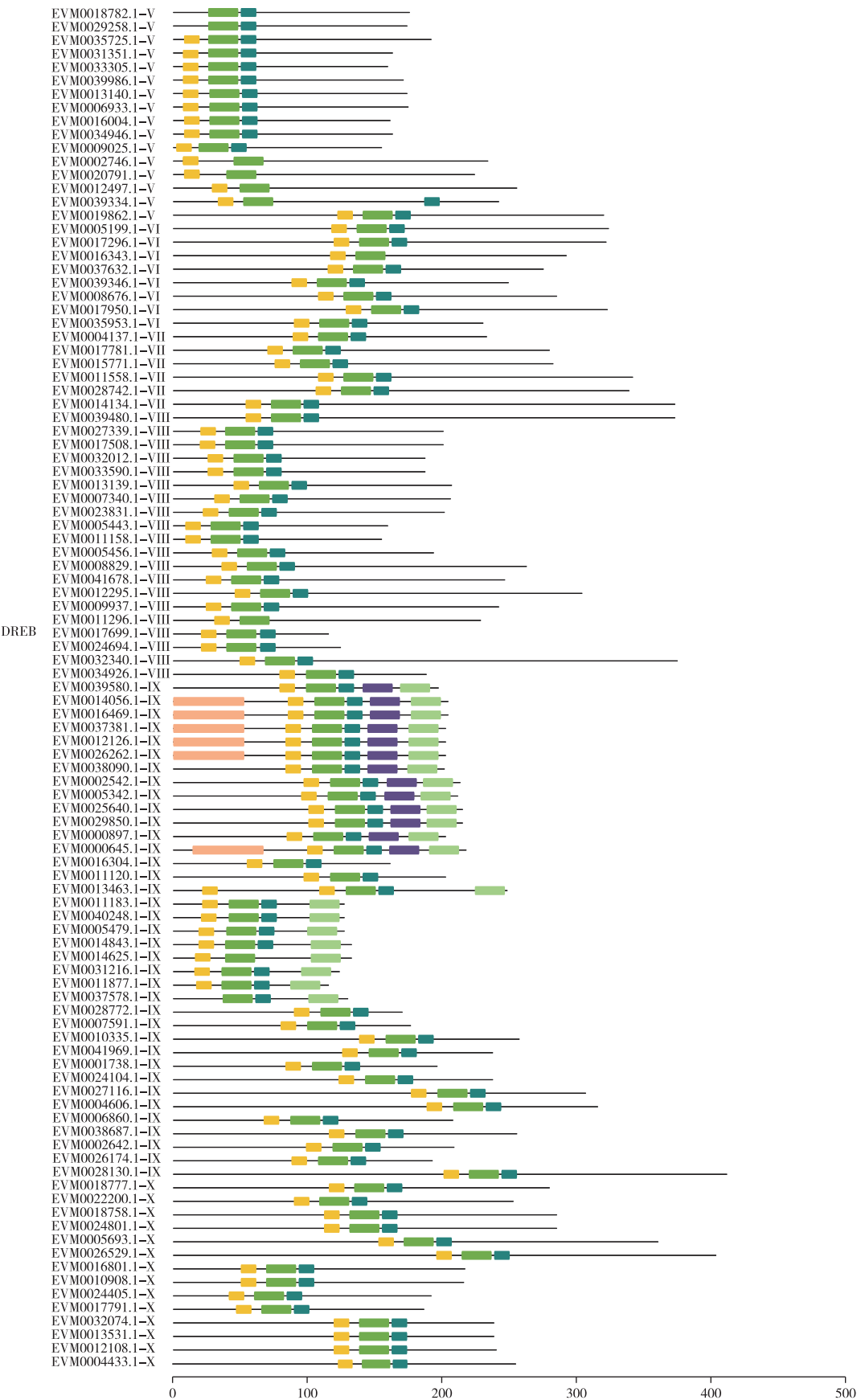
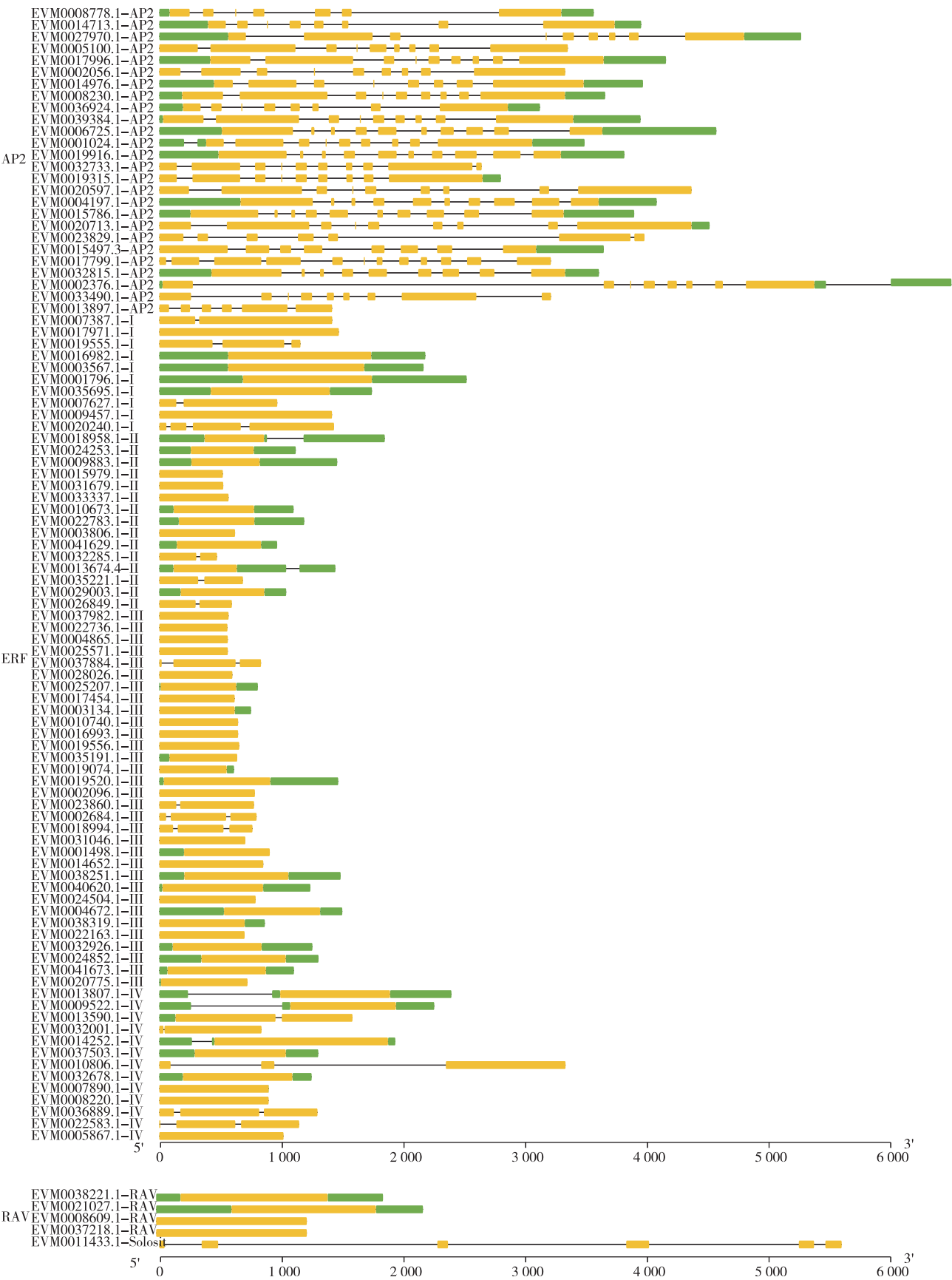


图 2 簸箕柳 AP2/ERF 转录因子蛋白基序



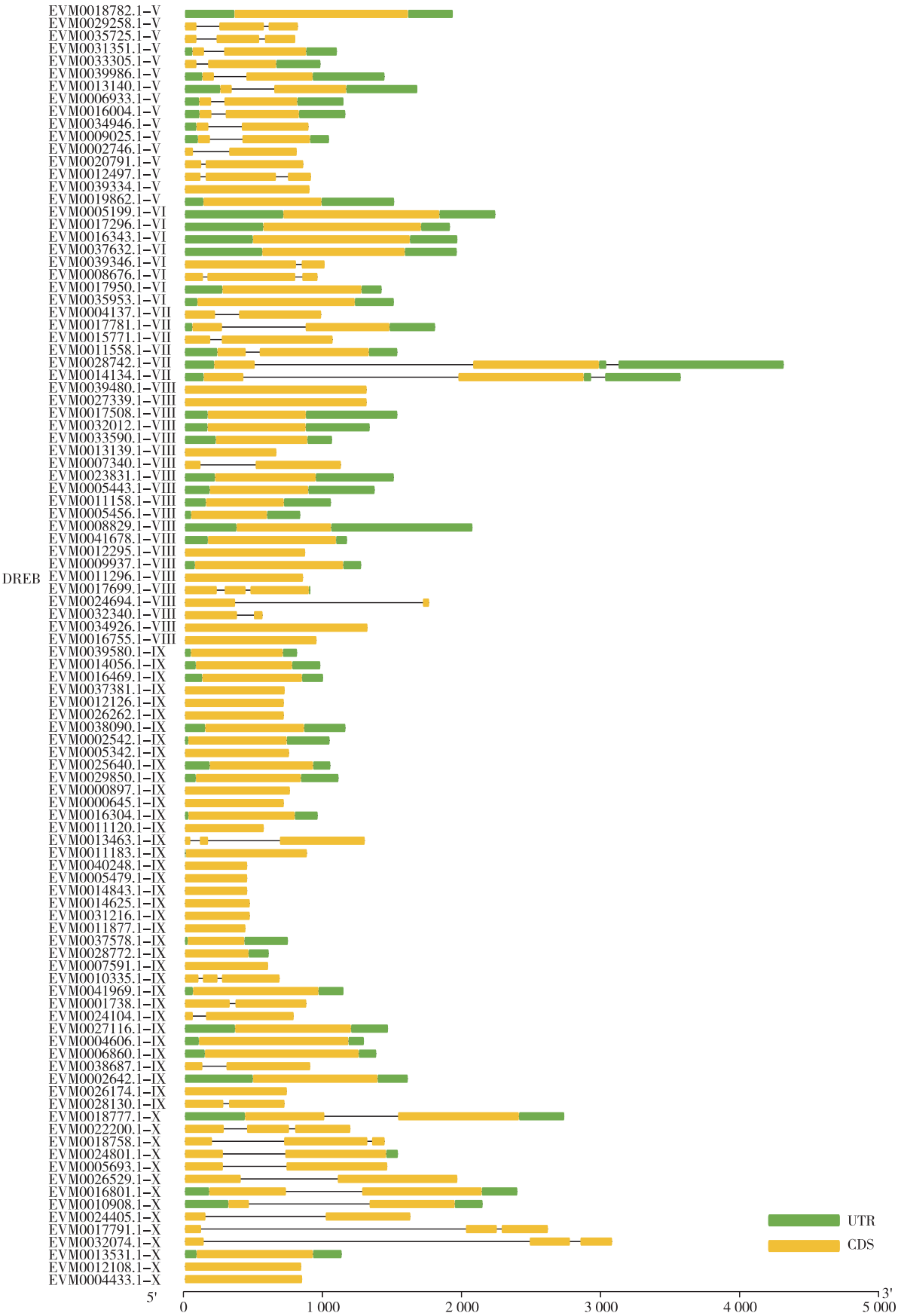
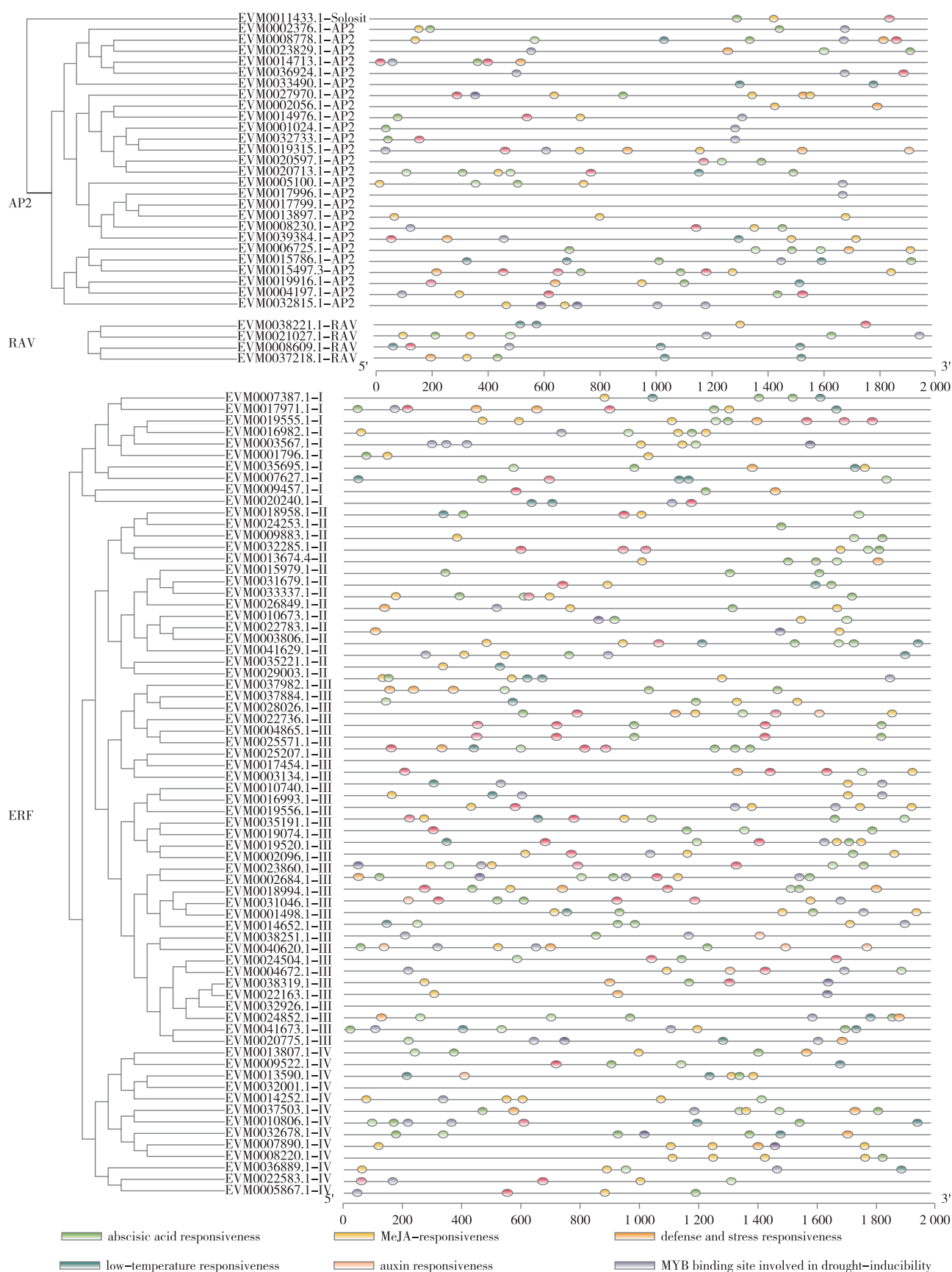


图 3 簇箕柳 AP2/ERF 家族基因结构



基因最多,分别含有 23 和 22 个基因,Ⅱ号染色体含有 18 个 *AP2/ERF* 基因,V 号和Ⅷ号染色体分别含有 15 个 *AP2/ERF* 基因,VI 号和 X 号染色体分别含有 15 个 *AP2/ERF* 基因,然而 IX 号染色体却只含有 2 个 *AP2/ERF* 基因。这个结果和对杨树 *AP2/ERF* 基因家族的分析相似,多数 *AP2/ERF* 基因成簇的聚集在一起。基因的复制方式分析发现,这个基因家族中有 19 个串联复制事件共产生 42 个 *AP2/ERF*

基因,每个串联复制基因簇基因数量为 2—3 个。在这 19 条染色体中,Ⅱ,Ⅲ和 XVI 号染色体均发生 3 次串联复制包含 20 个基因,VI 和 XIV 号染色体发生 2 次串联复制包含 8 个基因,有 7 条染色体上均检测到 1 个串联复制。串联重复导致基因家族成员扩张是引起基因家族成员在染色体上分布不均匀的重要原因之一。

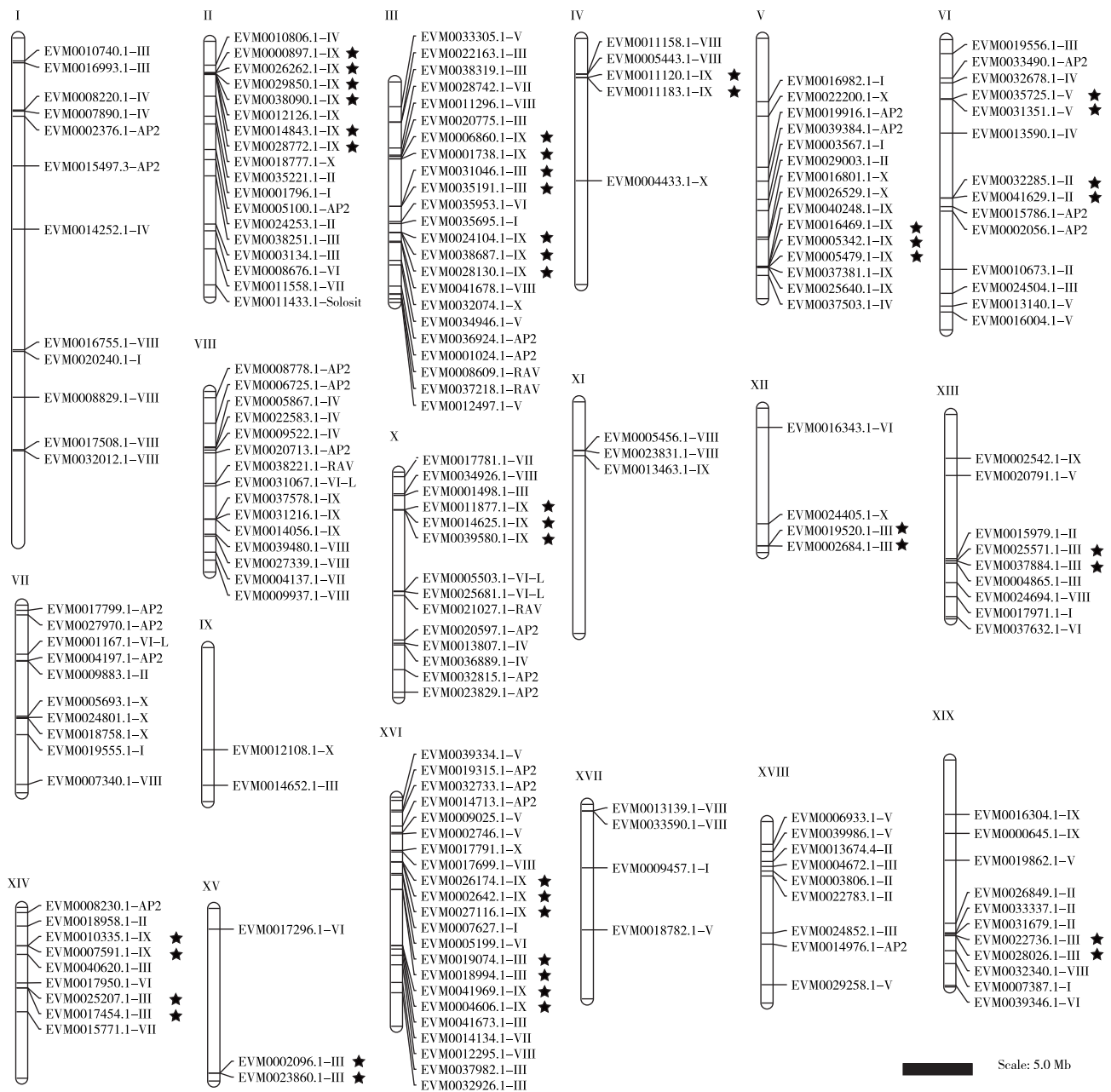


图 5 *AP2/ERF* 转录因子在簇簕柳 19 条染色体上的分布 (★: 串联复制)

2.7 柳树 *AP2/ERF* 抗旱相关基因分析

Pucholt 等^[32]完成了蒿柳杂交子代干旱胁迫及对照根系的转录组测序,得到了一批抗旱有关的基因,主要包括 MYBs 转录因子家族、bZIPs 转录因子家族和叶绿素 a/b 结合蛋白等,有 1 个 *AP2* 基因和 *ERF* 基因在对照和干旱胁迫中存在差异表达。将蒿柳杂交子代干旱胁迫及对照处理根系的转录组序列分别比对到簸箕柳 *AP2/ERF* 家族基因序列上,查找差异表达的基因,结果如表 2 所示。从表 2 中可以看出,蒿柳杂交子代在干旱胁迫下有 5 个 *ERF* 基因(见表 2)和对照相比存在显著的上调表达,Log₂RPKM 都大于 1。在这 5 个上调表达的基因中,EVM0039334.1 和 EVM0014843.1 属于 DREB 亚家族,且这 2 个基因的启动子区域都分别含有 1 个干旱诱导的响应元件,其余 3 个基因属于 *ERF* 亚家族,其中 EVM0028026.1 在对照处理中不表达,只有在干旱胁迫状态下才高表达。

表 2 蒿柳杂交子代干旱处理后根系差异表达的 *AP2/ERF* 基因

Gene ID	蒿柳		Log ₂ (B/A)
	Control RPKM ^A	Drought RPKM ^B	
EVM0039334.1	127.9	558.0	2.12
EVM0037884.1	1 685.2	4 458.3	1.40
EVM0009883.1	24 122.0	48 694.8	1.01
EVM0028026.1	1.0	511.5	9.00
EVM0014843.1	127.9	686.8	2.42

3 讨论

本研究从簸箕柳的全基因组中查找出 208 个 *AP2/ERF* 转录因子,基因家族成员总数量和毛果杨(202 个)^[33]中的数量基本相等,高于钻天柳(173 个)^[34]和拟南芥(148 个)^[25]中的数量。根据 Nakano 等^[25]的分类标准,簸箕柳的 208 个 *AP2/ERF* 转录因子,其中 26 个基因属于 *AP2* 家族,107 个基因属于 DREB 亚家族,70 个基因属于 *ERF* 亚家族,4 个基因被分类到 RAV 家族中,还有 1 个基因被分类到 Soloist 中。在簸箕柳和毛果杨基因组中,*AP2/ERF* 转录因子每个亚家族基因的数量几乎是相等的,都含有 26 个 *AP2* 基因和 1 个 Soloist 基因,*ERF* 亚家族分别含有 70 个和 66 个基因,DREB 亚家族中分别含有 107 个和 103 个基因,簸箕柳 RAV 家族只含有 4 个基因,而毛果杨中含有 6 个基因。每个亚家族中基因的数量分布在杨树和柳树中基

本相似,上述结果也说明了 *AP2/ERF* 转录因子家族在杨柳科植物的进化过程中是高度保守的。

AP2/ERF 转录因子在植物基因组中的分布是不均匀的,如毛果杨中 40% 的基因主要分布在其中的 4 条染色体上($2n=38$),葡萄^[35]中 36% 的基因主要分布在其中的 3 条染色体上($2n=38$),*AP2/ERF* 基因在簸箕柳染色体上的分布与杨树相似,58.2% 的基因主要分布在其中的 7 条染色体上($2n=38$)。这种基因在染色体上的不均匀分布可能与基因复制扩张的方式有关^[33-34]。在簸箕柳 208 个 *AP2/ERF* 转录因子中,有 42 个基因是通过串联复制产生的,如第 II、III 和 XVI 是含有 *AP2/ERF* 转录因子最多的染色体,在这 3 条染色体上共有 9 个串联复制,包含 20 个 *AP2/ERF* 基因。簸箕柳第 I 号染色体的物理长度约是其他 18 条染色体长度的 2 倍,但簸箕柳第 I 染色体只含有 12 个 *AP2/ERF* 转录因子,其数量约是第 III 和第 XVI 等染色体的 1/2。

AP2/ERF 转录因子保守的广泛分布于植物中,参与控制植物的多种代谢^[36],主要包括控制植物生长和发育、对生物和非生物胁迫的应答反应等。由于该基因家族的可塑性和这个基因家族每个成员的特异性,通过转基因和过表达 *AP2/ERF* 某些转录因子可以提高植物对生物胁迫和非生物胁迫的抗逆性,如 DREB 亚家族转录因子主要和顺式作用脱水应答元件相互作用提高植物对胁迫的响应,在烟草中过表达 *AhDREB1* 基因可以提高抗盐和抗旱能力^[37];在拟南芥中过表达 *DREB19* 可以显著提高植株对干旱和高盐胁迫的能力,且对植株的表型不会带来有害的影响^[38]。Pucholt 等^[32]对蒿柳杂交子代在干旱胁迫下及对照处理转录组的分析,发现了 1 个 *AP2* 和 1 个 *ERF* 基因在干旱胁迫处理后显著上调表达,而全基因组测序的完成为转录组差异表达分析提供了重要的参考,将上述对照和干旱处理获得的柳树转录组数据,比对到簸箕柳基因组上,发现 5 个 *ERF* 家族基因在干旱胁迫条件下显著上调表达,其中 EVM0039334.1 和 EVM0014843.1 属于 DREB 亚家族。之前的研究也表明,过表达 *DREB* 基因可以提高植株抗旱性^[37-38],且这 2 个基因的启动子区域都分别含有 1 个干旱诱导的响应元件,推测这 2 个基因在柳树的抗旱中起到重要的作用。簸箕柳 *AP2/ERF* 转录因子的鉴定和分析,将为通过转基因培育对生物和非生物胁迫抗逆性高的柳树提供基因资源。

参考文献:

- [1] PLEGUEZUELO C R R, ZUAZO V H D, BIELDERS C, et al. Bioenergy farming using woody crops. A review[J]. Agronomy for Sustainable Development, 2015, 35(1):95-119.
- [2] ARGUS G W. *Salix* (Salicaceae) distribution maps and a synopsis of their classification in North America, North of Mexico[J]. Harvard Papers in Botany, 2007, 12(2):335-368.
- [3] 施士争,潘明建,王保松,等.培育灌木柳生物质能源林的前景[J].江苏林业科技, 2006, 33(3):1-5.
- [4] 王保松,施士争.中国柳树种质资源[M].北京:中国林业出版社, 2018.
- [5] JOFUKU K D, DEN BOER B G, VAN MONTAGU M, et al. Control of *Arabidopsis* flower and seed development by the homeotic gene *APETALA2*[J]. Plant Cell, 1994, 6(9):1211.
- [6] AUKERMAN M J. Regulation of flowering time and floral organ identity by a MicroRNA and its *APETALA2*-like target genes[J]. The Plant Cell, 2003, 15(11):2730-2741.
- [7] KLUCHER K M, CHOW H, REISER L, et al. The *AINTEGUMENTA* gene of *Arabidopsis* required for ovule and female gametophyte development is related to the floral homeotic gene *APETALA2*[J]. Plant Cell, 1996, 8(2):137-53.
- [8] GUILLAUMOT L W M A, GERMOT A, MEYTRAUD F, et al. Expression patterns of *LmAP2L1* and *LmAP2L2* encoding two-*APETALA2* domain proteins during somatic embryogenesis and germination of hybrid larch (*Larix×marschlinii*) [J]. Journal of Plant Physiology, 2008, 165(9):1003-1010.
- [9] MOOSE S P, SISCO P H. Glossy15, an *APETALA2*-like gene from maize that regulates leaf epidermal cell identity[J]. Genes & Development, 1997, 10(23):3018-3027.
- [10] HU Y X, WANG Y X, LIU X F, et al. *Arabidopsis* *RAV1* is down-regulated by brassinosteroid and may act as a negative regulator during plant development[J]. Cell Research, 2004, 14(1):8-15.
- [11] SOHN K H, LEE S C, JUNG H W, et al. Expression and functional roles of the pepper pathogen-induced transcription factor *RAV1* in bacterial disease resistance, and drought and salt stress tolerance[J]. Plant Molecular Biology, 2006, 61(6):897-915.
- [12] LI X J, LI M, ZHOU Y, et al. Overexpression of cotton *RAV1* gene in *Arabidopsis* confers transgenic plants high salinity and drought sensitivity[J]. Plos One, 2015, 10(2): e0118056.
- [13] ZHANG G Y, MING C, LI L C, et al. Overexpression of the soybean *GmERF3* gene, an *AP2/ERF* type transcription factor for increased tolerances to salt, drought, and diseases in transgenic tobacco[J]. Journal of Experimental Botany, 2009, 60(13):3781-3796.
- [14] ZHU X L, QI L, LIU X, et al. The wheat ethylene response factor transcription factor pathogen-induced *ERF1* mediates host responses to both the necrotrophic pathogen *Rhizoctonia cerealis* and freezing stresses [J]. Plant Physiology, 2014, 164(3):1499-1514.
- [15] HONG J P, KIM W T. Isolation and functional characterization of the *Ca-DREBLP1* gene encoding a dehydration-responsive element binding-factor-like protein 1 in hot pepper (*Capsicum annuum* L. cv. Pukang)[J]. Planta, 2005, 220(6):875-888.
- [16] WU L, ZHANG Z, ZHANG H, et al. Transcriptional modulation of ethylene response factor protein *JERF3* in the oxidative stress response enhances tolerance of tobacco seedlings to salt, drought, and freezing[J]. Plant Physiology, 2008, 148(4):1953-1963.
- [17] ITO Y, KATSURA K, MARUYAMA K, et al. Functional analysis of rice *DREB1/CBF*-type transcription factors involved in cold-responsive gene expression in transgenic rice[J]. Plant & Cell Physiology, 2006, 47(1):141-153.
- [18] QIN F, KAKIMOTO M, SAKUMA Y, et al. Regulation and functional analysis of *ZmDREB2A*, in response to drought and heat stresses in *Zea mays* L.[J]. Plant Journal, 2007, 50(1):54-69.
- [19] WEI S, YANG Y, YIN T. The chromosome-scale assembly of the willow genome provides insight into Salicaceae genome evolution [J]. Horticulture research, 2020, 7(1): 1-12.
- [20] 张珏,黄瑞芳,韩杰峰.乔木柳4个无性系耐旱性的初步研究[J].江苏林业科技, 2020, 47(6):47-49.
- [21] GUO A, HE K, LIU D, et al. DATF: a database of *Arabidopsis* transcription factors [J]. Bioinformatics, 2005, 21(10):2568-2569.
- [22] LOBO. Basic local alignment search tool (BLAST)[J]. Journal of Molecular Biology, 2008, 215(3):403-410.
- [23] EDDY S R. Accelerated profile HMM searches[J]. Plos Computational Biology, 2011, 7(10):e1002195.
- [24] LETUNIC I, DOERKS T, BORK P. SMART: recent updates, new developments and status in 2015 [J]. Nucleic Acids Research, 2015, 43(Database issue):257-260.
- [25] NAKANO T, SUZUKI K, FUJIMURA T, et al. Genome-wide analysis of the *ERF* gene family in *Arabidopsis* and rice[J]. Plant Physiology, 2006, 140(2):411-432.
- [26] TANG Z, BLACQUIERE G, LEUS G. Clustal W and Clustal X version 2.0[J]. Bioinformatics, 2007, 23(21):2947-2948.
- [27] TAMURA K, STECHER G, PETERSON D, et al. MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0[J]. Molecular Biology & Evolution, 2013, 30(12):2725-2729.
- [28] CHEN C, CHEN H, ZHANG Y, et al. TBtools: an integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data[J]. Molecular Plant, 2020, 13(8):1194-1202.
- [29] VOORRIJS R E. MapChart: software for the graphical presentation of linkage maps and QTLs[J]. Journal of heredity, 2002, 93(1):77-78.
- [30] LI H, DURBIN R. Fast and accurate short read alignment with Burrows-Wheeler transform[J]. Bioinformatics, 2009, 25(14):1754-1760.
- [31] WANG L, FENG Z, WANG X, et al. DEGseq: an R package for identifying differentially expressed genes from RNA-seq data[J]. Bioinformatics, 2010, 26(1):136-138.

(下转第52页)

芦可以进行无害化处理和利用,产生一定的经济效益^[21]。其余几种植物也都具有一定的净化能力,并且挺水植物具有很好的景观效应,在今后具体的应用中,可以综合植物的景观效应和生态净化能力以及经济效益,合理选择和搭配不同植物进行运用,可以综合运用挺水、浮水和沉水植物形成立体净化水体的层次,更好发挥水生植物在净化富营养水体领域的综合效益。

参考文献:

- [1] 张家铜,郎文博.探讨我国水污染的现状及其修复[J].山东工业技术,2018(24):62.
- [2] 张振兴.北方中小河流生态修复方法及案例研究[D].长春:东北师范大学,2012.
- [3] 黄慧慧,张 舒,屈云芳.夏阳湖蓝藻水华生态治理初探[J].上海水务,2018,34(2):34-37,28.
- [4] 田如男,孙欣欣,魏 勇.不同类型水生植物群落对铜绿微囊藻的化感作用[J].生态环境学报,2010,19(9):2149-2154.
- [5] 刘松岩,何 涛,周本翔.水生植物净化受污染水体研究进展[J].安徽农业科学,2006,34(19):5019-5021.
- [6] 孙 刚,盛连喜.湖泊富营养化治理的生态工程[J].应用生态学报,2001,12(4):590-592.
- [7] 王国祥,濮培民,张圣照,等.人工复合生态系统对太湖局部水域水质的净化作用[J].中国环境科学,1998,18(5):26-30.
- [8] 许木启,黄玉瑶.受损水域生态系统恢复与重建研究[J].生态学报,1998,18(5):101-112.
- [9] 高吉喜,叶 春,杜 娟,等.水生植物对面源污水净化效率研究[J].中国环境科学,1997,17(3):247-251.
- [10] 田如男,朱 敏,吴 彤,等.南京城区水体水生植物调查[J].东北林业大学学报,2012,40(5):91-97.
- [11] 朱 斌,陈飞星,陈增奇.利用水生植物净化富营养化水体的研究进展[J].上海环境科学,2002,21(9):564-567.
- [12] 环境保护部.中华人民共和国国家环境保护标准 HJ 667-2013[S].北京:中国环境科学出版社,2013.
- [13] 环境保护部.中华人民共和国国家环境保护标准 HJ 671-2013[S].北京:中国环境科学出版社,2013.
- [14] 鲍士旦.土壤农化分析[M].北京:中国农业出版社,2000:264-268.
- [15] ZHANG X B, LIU P, YANG Y S, et al. Phytoremediation of urban wastewater by model wetlands with ornamental hydrophytes[J]. Journal of Environmental Sciences, 2007, 19(8):902-909.
- [16] 田如男,朱 敏,孙欣欣,等.不同水生植物组合对水体氮磷去除效果的模拟研究[J].北京林业大学学报,2011,33(6):191-195.
- [17] VYMAZAL J. The use of sub-surface constructed wetlands for wastewater treatment in the Czech Republic: 10 years experience[J]. Ecological Engineering, 2002, 18(5):633-646.
- [18] 张家洋,陈丽丽,李 慧.水生植物对富营养化水体除磷去氮的研究概述[J].西北师范大学学报(自然科学版),2013,49(1):115-120.
- [19] 陈照方,陈 凯,杨司嘉.水生植物对淡水生态系统的修复效果[J].分子植物育种,2019,17(13):4501-4506.
- [20] 张 力,朱普平,高 岩,等.水葫芦控制性种养安全围栏设计及抗风浪能力[J].江苏农业学报,2013,29(6):1360-1364.
- [21] 黄明意.水葫芦无害化处理及利用[D].福州:福州大学,2015.
- [32] PUCHOLT P, SJÄDIN P, WEIH M, et al. Genome-wide transcriptional and physiological responses to drought stress in leaves and roots of two willow genotypes[J]. BMC Plant Biology, 2015, 15(1):1-16.
- [33] ZHUANG J, CAI B, PENG R H, et al. Genome-wide analysis of the AP2/ERF gene family in *Populus trichocarpa*[J]. Biochemical & Biophysical Research Communications, 2008, 371(3):468-474.
- [34] RAO G D, SUI J K, ZENG Y F, et al. Genome-wide analysis of the AP2/ERF gene family in *Salix arbutifolia*[J]. FEBS Open Bio, 2015, 5(1):132-137.
- [35] LICAUSI F, GIORGI F M, ZENONI S, et al. Genomic and transcriptomic analysis of the AP2/ERF superfamily in *Vitis vinifera*[J]. BMC Genomics, 2010, 11(1):719.
- [36] LICAUSI F, OHME-TAKAGI M, PERATA P. APETALA2/Ethylene Responsive Factor (AP2/ERF) transcription factors: mediators of stress responses and developmental programs[J]. New Phytologist, 2013, 199(3):639-649.
- [37] KASUGA M, MIURA S, SHINOZAKI K, et al. A combination of the *Arabidopsis* DREB1A gene and stress-inducible rd29A promoter improved drought-and low-temperature stress tolerance in tobacco by gene transfer[J]. Plant & Cell Physiology, 2004, 45(3):346-50.
- [38] KRISHNASWAMY S, VERMA S, RAHMAN M H, et al. Functional characterization of four APETALA2-family genes (RAP2.6, RAP2.6L, DREB19 and DREB26) in *Arabidopsis* [J]. Plant Molecular Biology, 2011, 75(1-2):107-127.

(上接第12页)