

引文格式: 杨巍, 赵丽芬, 杨娟, 等. 黄瓜 *AP2/ERF* 基因家族全基因组鉴定及表达模式分析[J]. 云南农业大学学报(自然科学), 2024, 39(3): 127-143. DOI: [10.12101/j.issn.1004-390X\(n\).202307016](https://doi.org/10.12101/j.issn.1004-390X(n).202307016)

黄瓜 *AP2/ERF* 基因家族全基因组 鉴定及表达模式分析*

杨巍^{1,2}, 赵丽芬^{1,2,3}, 杨娟⁴, 李飞^{1,2}, 王天文^{1,2}, 邓英^{1,2**}

(1. 贵州省农业科学院园艺研究所, 贵州 贵阳 550000; 2. 贵州省园艺工程技术研究中心, 贵州 贵阳 550000;
3. 贵州大学农学院, 贵州 贵阳 550025; 4. 安顺学院农学院, 贵州 安顺 561000)

摘要: 【目的】在黄瓜全基因组中鉴定 APETALA2/ethylene responsive factor (*AP2/ERF*) 基因家族, 分析其基因结构与功能及表达模式, 为该家族基因在黄瓜生长发育及抵御逆境胁迫中的作用提供参考。【方法】利用生物信息学对 *CsaAP2/ERF* 家族进行鉴定, 并分析该家族成员的理化性质、结构与功能、蛋白互作关系、进化关系和表达模式。【结果】黄瓜全基因组中鉴定出 148 个 *AP2/ERF* 家族成员, 根据同源性分为 5 个亚族: *AP2*、*ERF*、*DREB*、*RAV* 和 *Soloist*, 各亚族成员的基因结构与保守基序相似。*CsaAP2-11* 和 *CsaAP2-15* 是蛋白互作网络的核心蛋白, 与多个蛋白质存在互作关系。共线性分析显示: *CsaAP2/ERF* 与南瓜同源基因进化关系最为相近。在逆境胁迫(冷、热、盐)下, *CsaAP2-15*、*CsaAP2-18*、*CsaERF-31*、*CsaERF-54*、*CsaERF-64*、*CsaERF-65*、*CsaDERB-37*、*CsaDREB-38*、*CsaDREB-45* 等基因的表达量发生显著变化。【结论】本研究对黄瓜 *AP2/ERF* 家族成员进行系统鉴定和特征分析, 并分析了其在多种胁迫下的表达模式, 为该家族基因的生物功能研究与培育抗逆黄瓜新品种提供了理论基础。

关键词: 黄瓜; *AP2/ERF* 转录因子; 生物信息学; 表达模式

中图分类号: S642.201

文献标志码: A

文章编号: 1004-390X(2024)03-0127-17

Genome-wide Identification and Expression Analysis of the *AP2/ERF* Gene Family in *Cucumis sativus* L.

YANG Wei^{1,2}, ZHAO Lifan^{1,2,3}, YANG Juan⁴, LI Fei^{1,2}, WANG Tianwen^{1,2}, DENG Ying^{1,2}

(1. Institute of Horticulture, Guizhou Academy of Agricultural Sciences, Guiyang 550000, China; 2. Guizhou Horticultural Engineering Technology Research Center, Guiyang 550000, China; 3. College of Agriculture, Guizhou University, Guiyang 550025, China; 4. College of Agriculture, Anshun University, Anshun 561000, China)

Abstract: [Purpose] To identify the APETALA2/ethylene responsive factor (*AP2/ERF*) gene family in the genome-wide of cucumber, analyzing its gene structure, function and expression pattern, and providing reference for the role of this family gene in cucumber growth and development and resistance to stress. [Methods] Using bioinformatics to identify the *CsaAP2/ERF* family, and analyze the

收稿日期: 2023-07-12

修回日期: 2024-06-07

网络首发日期: 2024-06-27

*基金项目: 2024 年贵州省蔬菜产业技术体系 (GZSCCYJSTX); 国家大宗蔬菜产业技术体系贵阳综合试验站 (CARS-23-G37); 贵州省科技计划项目 (黔科合服企 [2022]005); 贵州省蔬菜种质资源精准鉴定评价; 贵州省农业科学院资源专项 (黔农科种质资源 [2023] 17 号)。

作者简介: 杨巍 (1985—), 男, 湖北安陆人, 硕士, 助理研究员, 主要从事蔬菜遗传育种与栽培研究。

E-mail: yangwei139@sina.cn

**通信作者 Corresponding author: 邓英 (1979—), 女, 贵州晴隆人, 博士, 研究员, 主要从事蔬菜遗传育种与栽培研究。E-mail: 87928883@qq.com

网络首发地址: <https://link.cnki.net/urlid/53.1044.S.20240627.1551.002>



physicochemical properties, structure and function, protein interactions, evolutionary relationships, and expression patterns of its members. [**Results**] 148 *AP2/ERF* family members were identified in the cucumber genome. According to the homology, they were divided into five subfamilies: AP2, ERF, DREB, RAV, and Soloist. The gene structure of each subfamily member was similar to the conservative motif. *CsaAP2-11* and *CsaAP2-15*, as the core proteins of the protein interaction network, interacted with multiple proteins. Collinearity analysis showed that *CsaAP2/ERF* had the most similar evolutionary relationship with the pumpkin homologous genes. Under stress (cold, heat, salt), the expression levels of genes such as *CsaAP2-15*, *CsaAP2-18*, *CsaERF-31*, *CsaERF-54*, *CsaERF-64*, *CsaERF-65*, *CsaDERB-37*, *CsaDREB-38*, and *CsaDREB-45* had significantly changed. [**Conclusion**] In this study, members of the *AP2/ERF* family in cucumber are systematically identified and characterized, and their expression patterns under various stresses are analyzed, which provide a theoretical basis for the biological function of this family gene and the cultivation of new stress resistant cucumber varieties.

Keywords: *Cucumis sativus* L.; AP2/ERF transcription factors; bioinformatics; expression pattern

APETALA2/ethylene responsive factor (*AP2/ERF*) 基因家族是植物所特有的转录因子家族之一, 该基因家族成员至少含有 1 个高度保守的 AP2 保守结构域, 此结构域由 60~70 个氨基酸残基组成^[1]。根据 AP2 结构域和其他 DNA 结合域的数量, AP2/ERF 超家族可分为 5 个亚家族, 即 APETALA2 (AP2)、dehydration responsive element-binding (DREB)、ethylene responsive element binding protein (ERF)、related to ABI3/VP (RAV) 和 Soloist, 其中, AP2 亚家族含有 2 个 AP2 结构域, 根据其 AP2 结构域的氨基酸序列与核定位序列差异性, 可进一步被划分为 3 个亚组: euAP2、equant 和 basalANT; 其他亚家族仅含有 1 个 AP2 结构域^[2-3]。尽管 AP2 结构域序列高度保守, 但不同亚族成员结合靶基因的顺式作用元件显著不同。AP2 亚家族特异结合 GCAC(A/G)N(A/T)TC-CC(A/G)ANG (C/T) 元件^[4]; DREB 亚家族可特异结合 DRE/CRT 顺式元件 (脱水反应元件/C-重复序列, RCCGCC 元件); ERF 亚家族可特异结合乙烯响应元件 GCC-Box (AGCCGCC); DREB 与 ERF 亚家族所含有的 AP2 结构域在第 14、19 位氨基酸残基存在差异, 从而决定了这类转录因子对不同顺式作用元件的特异结合^[5]; RAV 亚家族位于 N 端的 1 个 AP2 结构域可识别 CAACA 序列, 而位于 C-末端的 B3 结构域可识别 CACCTG 序列^[6]; Soloist 亚家族作为该家族中最小的群体, 与其他亚家族的蛋白序列和基因结构存在显著差异^[7]。

AP2/ERF 基因家族在植物生命周期中执行了多种生物学功能, 包括植物生长发育过程、生物与非生物胁迫响应以及植物形态发生^[8]。研究表明: 菊花 *CmERF12* 基因在菊花胚发育过程中起负调控作用, 敲除该基因可显著促进菊花远缘杂交的胚发育和结实率^[9]; *AP2/ERF* 基因家族在黄瓜子房培养过程中与芽发育密切相关^[10], 在高等植物中 *MPK14-ERF13-KCS16* 模块介导生长素信号途径, 影响超长链脂肪酸 (VLCFAs) 合成参与侧根的发育^[11]; *OsDREB1C* 作为水稻高产的关键基因, 可显著提高其光合作用和氮利用率, 大幅提高作物产量^[12], *OsEIL1-OsERF115* 模块能调控水稻籽粒发育, 通过 *OsERF115* 基因上调表达可加快籽粒灌浆增加粒质量^[13]。*AP2/ERF* 基因家族能提高植物非生物胁迫的耐受性, 如冷胁迫^[14]、干旱胁迫^[15]、热胁迫^[16]、盐胁迫^[17]等, 也参与番茄晚疫病^[18]、玫瑰灰霉病^[19]、小麦条锈病^[20]、大豆疫霉病^[21]等病原菌侵害的应激反应。此外, *AP2/ERF* 基因家族参与调控关键代谢物的生物合成, 如尼古丁、甾体糖苷生物碱、青蒿素、长春碱、丹参酮、酚酸等^[22-23]。

黄瓜 (*Cucumis sativus* L.) 是世界范围内广泛种植的蔬菜作物, 富含维生素 C、维生素 K、膳食纤维、钾、钙、 β -胡萝卜素等营养物质, 也是植物营养素 (如类黄酮、木质素、三萜) 的良好来源, 具有抗氧化、抗炎和抗癌的功效^[24]。黄瓜的生长发育过程易受到各种逆境胁迫的影响, 导致产量

与品质下降,而利用生物育种技术是提高作物产量、品质及抗逆性的重要途径。本研究基于黄瓜基因组数据,利用生物信息学对 *AP2/ERF* 转录因子进行鉴定,研究其保守基序、基因结构、进化关系、基因功能及多种逆境胁迫下的表达量,以期为黄瓜 *AP2/ERF* 基因家族功能的研究提供参考,也为分子培育抗逆新品种奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 *CsaAP2/ERF* 基因家族的鉴定

从葫芦科基因组数据库 CuGenDBv2^[25](<http://cucurbitgenomics.org/v2/>) 下载黄瓜基因组数据 [Cucumber (Chinese Long) v3 Genome]^[26]; 利用 Pfam 数据库 (<http://pfam.xfam.org/>) 下载 *AP2/ERF* 基因家族的 AP2 保守结构域隐马尔可夫模型 (PF00847); 利用 HMMER 3.3.2 (<http://eddylab.org/software/hmmer/hmmer-3.3.tar.gz>) 提取黄瓜 *AP2/ERF* 基因家族蛋白序列; 利用 NCBI-CCD 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>) 进一步分析 *AP2/ERF* 蛋白保守结构域,筛选出 *CsaAP2/ERF* 基因家族候选成员; 利用 Prot-Para 在线工具 (<https://web.expasy.org/protparam/>) 分析 *CsaAP2/ERF* 蛋白序列的理化性质。

1.2 *CsaAP2/ERF* 蛋白多序列比对及进化分析

使用 MEGA 11 软件对获取的 148 个 *CsaAP2/ERF* 全长蛋白序列进行多序列比对,并构建分子进化树,参数设置为:最佳氨基酸替代模型 JTT+G,最大似然法,Bootstrap 值为 1 000; 运用在线工具 Evolview (<https://www.evolgenius.info/evolview/#/treeview>) 美化分子进化树。

1.3 *CsaAP2/ERF* 基因染色体定位

利用黄瓜基因组注释文件与 TBtools 进行 *CsaAP2/ERF* 基因染色体定位。

1.4 *CsaAP2/ERF* 蛋白保守基序与基因结构分析

运用在线工具 MEME 5.5.3 (<https://meme-suite.org/meme/index.html>) 分析 *CsaAP2/ERF* 蛋白保守基序,参数设置为:最大保守基序数 10,其他为默认参数; 利用 TBtools 进行保守基序与基因结构可视化。

1.5 *CsaAP2/ERF* 基因 GO 功能富集分析

通过 eggNOG 5.0 数据库^[27](<http://eggno5.embl.de/#/app/home>) 对 *CsaAP2/ERF* 基因 GO 功能进行分析。

1.6 *CsaAP2/ERF* 蛋白互作分析及注释

利用 STRING 11.5 数据库 (<https://cn.string-db.org/>) 分析 *CsaAP2/ERF* 蛋白互作网络,并使用 Cytoscape 3.8.0 及 stringApp 插件对蛋白互作网络进行注释分析及可视化。

1.7 *CsaAP2/ERF* 基因共线性分析

利用 TBtools 对 *CsaAP2/ERF* 基因进行种内与种间共线性分析。

1.8 *CsaAP2/ERF* 基因逆境胁迫表达分析

从 NCBI-SRA 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra>) 检索与黄瓜冷胁迫 (PRJNA817708)、热胁迫 (PRJNA634519)、盐胁迫 (PRJNA437579) 相关的 RNA-seq 数据,从中提取 *CsaAP2/ERF* 基因表达量,并使用 TBtools (标度方法: 0 到 1,其他为默认参数) 绘制基因热图。

2 结果与分析

2.1 *CsaAP2/ERF* 基因家族的理化性质

从黄瓜全基因组中鉴定出 148 个 *CsaAP2/ERF* 基因家族成员,其蛋白的氨基酸数量在 128~696 之间; 分子质量在 14.44~75.66 ku 之间; 理论等电点在 4.52~11.34 之间,其中 90 个为酸性蛋白,58 个为碱性蛋白; 不稳定系数在 36.07~81.94 之间,仅有 3 个成员的不稳定系数小于 40,说明该家族以不稳定蛋白为主; 脂肪系数在 37.05~86.62 之间,总平均亲水性均为负值,说明 *CsaAP2/ERF* 蛋白为亲水性蛋白(表 1)。

2.2 *CsaAP2/ERF* 蛋白的分子进化树

148 个 *CsaAP2/ERF* 蛋白可划分为 5 个亚族,分别为 AP2、ERF、DREB、RAV 和 Soloist(图 1)。其中,AP2 亚族包含 20 个家族成员,占 13.5%,可划分成 3 个亚组,即 euAP2、euANT 和 basal-ANT; DREF 亚族包含 48 个家族成员,占 32.4%,可划分成 6 个亚组,即 A1~A6; ERF 亚族包含 73 家族成员,占 49.3%,可划分为 6 个亚组,即 B1~B6; RAV 亚族包含 5 个家族成员,占 3.4%; Soloist 亚组仅有 2 个家族成员,占 1.4%。

2.3 *CsaAP2/ERF* 基因家族的染色体分布

148 个 *CsaAP2/ERF* 基因不均匀地分布于 7 条染色体上,其中 Chr3 和 Chr6 上分布较多,分别有 36 个和 29 个基因,而 Chr7 上分布最少,仅有 11 个基因。各亚族成员不均匀地分布于各

表 1 *CsaAP2/ERF* 基因家族成员理化性质
Tab. 1 Physicochemical properties of *CsaAP2/ERF* gene family members

分类 classification	基因名称 gene name	基因 ID gene ID	氨基酸数量 number of amino acid	分子质量/ku molecular weight	理论等电点 theoretical pI	不稳定系数 instability index	脂肪系数 aliphatic index	总平均亲水性 grand average of hydropathicity
AP2 (euANT)	<i>CsaAP2-1</i>	CsaV3_3G006900.1	517	57.00	6.28	52.72	62.22	-0.586
	<i>CsaAP2-2</i>	CsaV3_1G031650.1	466	51.43	8.64	57.10	50.52	-0.776
	<i>CsaAP2-3</i>	CsaV3_6G044340.1	629	69.60	7.08	59.82	56.52	-0.651
	<i>CsaAP2-4</i>	CsaV3_2G025900.1	696	75.66	6.47	51.26	61.02	-0.653
	<i>CsaAP2-5</i>	CsaV3_4G035300.1	547	61.21	8.30	49.91	61.37	-0.744
	<i>CsaAP2-6</i>	CsaV3_3G031350.1	533	59.07	5.88	52.33	52.81	-0.827
	<i>CsaAP2-7</i>	CsaV3_2G010320.1	650	70.01	6.23	43.45	57.17	-0.645
	<i>CsaAP2-8</i>	CsaV3_4G024120.1	615	67.27	6.34	51.22	55.56	-0.801
AP2 (basalANT)	<i>CsaAP2-9</i>	CsaV3_6G036310.1	164	18.55	9.76	65.95	53.60	-0.824
	<i>CsaAP2-10</i>	CsaV3_3G041670.1	203	23.66	9.93	69.22	53.00	-1.089
	<i>CsaAP2-11</i>	CsaV3_5G035030.1	439	49.20	5.73	62.13	54.28	-0.933
	<i>CsaAP2-12</i>	CsaV3_3G040690.1	432	47.46	8.78	45.42	61.02	-0.716
	<i>CsaAP2-13</i>	CsaV3_7G031730.1	367	41.20	6.19	53.60	56.68	-0.834
	<i>CsaAP2-14</i>	CsaV3_1G029240.1	346	39.42	6.21	64.12	60.40	-0.772
AP2 (euAP2)	<i>CsaAP2-15</i>	CsaV3_6G043390.1	537	59.46	6.79	55.72	58.18	-0.827
	<i>CsaAP2-16</i>	CsaV3_2G016390.1	483	53.73	5.67	62.89	62.80	-0.678
	<i>CsaAP2-17</i>	CsaV3_3G035470.1	476	52.31	5.98	60.55	59.08	-0.517
	<i>CsaAP2-18</i>	CsaV3_5G006350.1	441	48.31	8.76	69.03	58.37	-0.746
	<i>CsaAP2-19</i>	CsaV3_6G021830.1	497	54.27	6.60	52.82	60.12	-0.614
	<i>CsaAP2-20</i>	CsaV3_4G024330.1	456	50.55	6.94	54.56	59.74	-0.570
DREB (A4)	<i>CsaDREB-1</i>	CsaV3_2G002020.1	252	27.21	4.70	68.69	57.78	-0.568
	<i>CsaDREB-2</i>	CsaV3_1G030460.1	250	27.47	5.36	61.30	63.64	-0.573
	<i>CsaDREB-3</i>	CsaV3_3G002570.1	214	23.78	8.84	41.68	61.17	-0.607
	<i>CsaDREB-4</i>	CsaV3_3G048560.1	184	20.74	5.05	51.26	66.36	-0.589
	<i>CsaDREB-5</i>	CsaV3_2G030880.1	168	18.30	4.75	45.68	82.50	-0.333
	<i>CsaDREB-6</i>	CsaV3_3G023680.1	201	22.86	4.84	55.27	62.24	-0.700
	<i>CsaDREB-7</i>	CsaV3_7G033570.1	191	21.27	5.48	63.13	70.63	-0.497
	<i>CsaDREB-8</i>	CsaV3_3G007490.1	224	25.00	9.26	63.06	69.69	-0.387
	<i>CsaDREB-9</i>	CsaV3_6G008650.1	215	24.02	4.85	47.44	65.44	-0.686
DREB (A1)	<i>CsaDREB-10</i>	CsaV3_3G016760.1	213	24.04	5.10	55.38	51.46	-0.558
	<i>CsaDREB-11</i>	CsaV3_5G005890.1	200	22.26	5.16	47.22	68.45	-0.486
	<i>CsaDREB-12</i>	CsaV3_3G036940.1	230	25.57	5.80	43.42	61.70	-0.610
	<i>CsaDREB-13</i>	CsaV3_5G003250.1	213	23.64	5.79	57.89	61.50	-0.636
	<i>CsaDREB-14</i>	CsaV3_3G036930.1	183	19.95	5.61	52.06	64.21	-0.498
	<i>CsaDREB-15</i>	CsaV3_6G040440.1	221	23.85	4.55	48.67	63.71	-0.314
	<i>CsaDREB-16</i>	CsaV3_3G016770.1	196	20.92	7.02	53.11	68.88	-0.299
	<i>CsaDREB-17</i>	CsaV3_3G003710.1	169	18.68	6.64	57.22	58.46	-0.620
	<i>CsaDREB-18</i>	CsaV3_5G003240.1	252	26.94	5.17	67.53	68.57	-0.390
DREB (A6)	<i>CsaDREB-19</i>	CsaV3_5G040010.1	163	18.50	5.80	50.03	63.07	-0.725
	<i>CsaDREB-20</i>	CsaV3_5G040030.1	194	21.92	5.65	48.57	70.41	-0.492
	<i>CsaDREB-21</i>	CsaV3_4G002190.1	167	18.64	6.59	54.80	60.84	-0.623
	<i>CsaDREB-22</i>	CsaV3_5G039410.1	154	16.95	9.90	57.87	65.97	-0.525

表1 (续)

分类 classification	基因名称 gene name	基因 ID gene ID	氨基酸数量 number of amino acid	分子质量/ku molecular weight	理论等电点 theoretical pI	不稳定系数 instability index	脂肪系数 aliphatic index	总平均亲水性 grand average of hydropathicity
DREB (A5)	<i>CsaDREB-23</i>	CsaV3_4G028360.1	232	25.88	5.13	59.73	58.53	-0.515
	<i>CsaDREB-24</i>	CsaV3_6G003630.1	224	24.92	5.64	49.40	69.73	-0.273
	<i>CsaDREB-25</i>	CsaV3_4G036190.1	171	18.92	4.53	42.67	48.01	-0.901
	<i>CsaDREB-26</i>	CsaV3_6G031820.1	213	24.26	4.82	56.20	52.77	-0.852
	<i>CsaDREB-27</i>	CsaV3_1G041310.1	203	22.82	4.81	68.35	59.70	-0.555
	<i>CsaDREB-28</i>	CsaV3_2G033120.1	160	17.66	7.81	49.90	71.44	-0.581
	<i>CsaDREB-29</i>	CsaV3_2G016380.1	159	17.78	9.45	44.64	58.36	-0.665
	<i>CsaDREB-30</i>	CsaV3_6G043400.1	173	19.05	6.93	55.39	62.14	-0.803
	<i>CsaDREB-31</i>	CsaV3_2G026500.1	142	16.21	9.47	56.68	70.14	-0.859
	<i>CsaDREB-32</i>	CsaV3_4G034640.1	149	16.93	9.10	38.53	59.66	-0.930
DREB (A2)	<i>CsaDREB-33</i>	CsaV3_6G001910.1	305	33.02	9.45	81.94	57.93	-0.741
	<i>CsaDREB-34</i>	CsaV3_3G039250.1	333	38.14	5.42	45.82	58.32	-1.041
	<i>CsaDREB-35</i>	CsaV3_3G045550.1	185	20.36	5.93	51.04	63.41	-0.612
	<i>CsaDREB-36</i>	CsaV3_2G029160.1	212	23.29	5.89	51.08	67.22	-0.625
	<i>CsaDREB-37</i>	CsaV3_4G026790.1	370	42.01	6.63	44.40	55.62	-0.832
	<i>CsaDREB-38</i>	CsaV3_4G026910.1	364	41.20	6.69	45.07	55.47	-0.854
	<i>CsaDREB-39</i>	CsaV3_6G002010.1	425	47.15	5.09	42.67	65.20	-0.740
	<i>CsaDREB-40</i>	CsaV3_6G012590.1	179	19.88	9.54	46.86	71.45	-0.649
DREB (A3)	<i>CsaDREB-41</i>	CsaV3_4G006510.1	311	34.06	8.78	49.53	69.71	-0.451
	<i>CsaDREB-42</i>	CsaV3_5G002070.1	304	33.64	8.49	48.02	72.57	-0.520
	<i>CsaDREB-43</i>	CsaV3_2G011540.1	400	44.28	6.73	55.96	69.03	-0.620
	<i>CsaDREB-44</i>	CsaV3_6G045580.1	346	38.02	5.44	69.45	60.64	-0.479
	<i>CsaDREB-45</i>	CsaV3_1G022920.1	362	39.31	5.40	53.27	60.41	-0.543
	<i>CsaDREB-46</i>	CsaV3_4G028670.1	358	39.28	6.56	56.77	58.94	-0.603
	<i>CsaDREB-47</i>	CsaV3_7G004340.1	397	44.71	5.79	54.01	56.35	-0.732
	<i>CsaDREB-48</i>	CsaV3_6G013050.1	393	45.15	4.68	68.53	54.91	-0.976
ERF (B5)	<i>CsaERF-1</i>	CsaV3_5G000710.1	268	29.44	6.01	69.04	70.97	-0.498
	<i>CsaERF-2</i>	CsaV3_3G021840.1	326	37.17	4.86	67.94	55.92	-0.814
	<i>CsaERF-3</i>	CsaV3_5G002210.1	318	35.70	4.88	59.93	57.92	-0.615
	<i>CsaERF-4</i>	CsaV3_4G006370.1	319	35.18	5.23	50.59	60.22	-0.539
	<i>CsaERF-5</i>	CsaV3_3G008400.1	283	32.33	5.73	53.27	68.94	-0.687
	<i>CsaERF-6</i>	CsaV3_6G003960.1	243	27.72	5.27	60.74	65.84	-0.637
	<i>CsaERF-7</i>	CsaV3_6G013210.1	282	31.47	5.33	79.32	71.99	-0.677
ERF (B6)	<i>CsaERF-8</i>	CsaV3_2G032360.1	175	19.96	7.76	58.43	76.97	-0.477
	<i>CsaERF-9</i>	CsaV3_7G031980.1	196	22.39	6.35	53.24	67.81	-0.753
	<i>CsaERF-10</i>	CsaV3_4G001740.1	180	20.52	8.42	48.96	60.78	-0.812
	<i>CsaERF-11</i>	CsaV3_2G032370.1	164	18.49	7.78	48.97	72.62	-0.456
	<i>CsaERF-12</i>	CsaV3_4G036780.1	219	25.00	6.13	64.56	78.49	-0.248
	<i>CsaERF-13</i>	CsaV3_4G001520.1	190	21.87	9.49	47.73	78.53	-0.652
	<i>CsaERF-14</i>	CsaV3_3G046440.1	194	21.71	6.08	61.33	62.42	-0.809
	<i>CsaERF-15</i>	CsaV3_1G030200.1	201	22.40	4.79	65.43	77.66	-0.537
	<i>CsaERF-16</i>	CsaV3_2G002900.1	246	27.16	8.90	76.87	65.41	-0.650
	<i>CsaERF-17</i>	CsaV3_5G001400.1	213	22.57	5.36	46.01	68.31	-0.404
	<i>CsaERF-18</i>	CsaV3_1G003450.1	153	17.83	11.34	71.49	60.65	-0.989
	<i>CsaERF-19</i>	CsaV3_3G009290.1	243	26.72	9.19	65.59	67.04	-0.530
	<i>CsaERF-20</i>	CsaV3_4G017490.1	254	28.85	6.86	44.01	70.35	-0.449
	<i>CsaERF-21</i>	CsaV3_4G012210.1	241	26.57	5.64	46.28	71.29	-0.449
	<i>CsaERF-22</i>	CsaV3_5G038270.1	395	44.47	4.62	69.61	66.68	-0.797

表1 (续)

分类 classification	基因名称 gene name	基因 ID gene ID	氨基酸数量 number of amino acid	分子质量/ku molecular weight	理论等电点 theoretical pI	不稳定系数 instability index	脂肪系数 aliphatic index	总平均亲水性 grand average of hydropathicity
ERF (B1)	<i>CsaERF-23</i>	CsaV3_7G018850.1	175	19.67	10.48	78.34	63.14	-0.578
	<i>CsaERF-24</i>	CsaV3_5G021950.1	241	26.13	4.92	71.95	59.21	-0.480
	<i>CsaERF-25</i>	CsaV3_4G002090.1	227	24.96	4.88	56.83	37.05	-0.784
	<i>CsaERF-26</i>	CsaV3_3G014320.1	326	35.74	5.60	51.69	55.43	-0.673
	<i>CsaERF-27</i>	CsaV3_2G024950.1	358	40.20	6.20	43.99	57.32	-0.888
	<i>CsaERF-28</i>	CsaV3_5G031070.1	341	38.12	6.51	55.64	58.45	-0.690
	<i>CsaERF-29</i>	CsaV3_3G004830.1	214	23.62	8.98	69.93	55.19	-0.742
	<i>CsaERF-30</i>	CsaV3_6G015510.1	219	24.29	6.83	65.21	69.50	-0.573
	<i>CsaERF-31</i>	CsaV3_6G037810.1	214	23.74	7.79	63.24	71.07	-0.568
	<i>CsaERF-32</i>	CsaV3_1G012490.1	253	27.33	9.47	64.60	74.07	-0.162
	<i>CsaERF-33</i>	CsaV3_4G033470.1	209	22.60	9.19	51.43	51.91	-0.673
	<i>CsaERF-34</i>	CsaV3_1G012520.1	211	23.20	9.47	54.23	57.44	-0.705
	<i>CsaERF-35</i>	CsaV3_7G005810.1	209	23.02	9.22	46.88	65.41	-0.569
	<i>CsaERF-36</i>	CsaV3_3G041660.1	213	24.02	4.86	52.52	68.31	-0.561
<i>CsaERF-37</i>	CsaV3_6G050320.1	246	27.00	9.43	45.21	69.80	-0.615	
ERF (B4)	<i>CsaERF-40</i>	CsaV3_3G018600.1	274	30.14	6.60	64.23	53.83	-0.588
	<i>CsaERF-41</i>	CsaV3_6G007740.1	237	26.46	8.75	71.71	45.02	-0.986
	<i>CsaERF-42</i>	CsaV3_1G000060.1	216	24.38	8.44	45.60	62.41	-0.710
	<i>CsaERF-43</i>	CsaV3_6G002790.1	310	32.81	8.46	64.14	62.39	-0.330
	<i>CsaERF-44</i>	CsaV3_6G042110.1	327	35.16	6.18	58.72	56.18	-0.484
	<i>CsaERF-45</i>	CsaV3_6G005100.1	404	43.40	6.36	63.59	52.95	-0.633
	<i>CsaERF-46</i>	CsaV3_2G017810.1	285	31.24	5.99	54.61	57.82	-0.748
ERF (B2)	<i>CsaERF-38</i>	CsaV3_6G043230.1	193	22.03	8.90	50.68	57.67	-1.058
	<i>CsaERF-39</i>	CsaV3_7G008630.1	258	28.44	8.71	60.92	61.01	-0.438
	<i>CsaERF-47</i>	CsaV3_5G034270.1	309	34.68	4.73	70.05	55.60	-0.838
	<i>CsaERF-48</i>	CsaV3_3G011230.1	162	18.42	9.95	53.11	48.89	-1.075
	<i>CsaERF-49</i>	CsaV3_6G003510.1	318	35.48	4.52	59.43	69.94	-0.668
	<i>CsaERF-50</i>	CsaV3_1G006600.1	336	38.59	5.41	54.87	62.98	-0.786
	<i>CsaERF-51</i>	CsaV3_3G014920.1	225	25.20	7.70	42.70	86.62	-0.560
	<i>CsaERF-52</i>	CsaV3_6G022740.1	231	25.88	7.57	56.70	65.54	-0.659
	<i>CsaERF-53</i>	CsaV3_6G023790.1	237	26.35	6.66	54.30	66.75	-0.650
	<i>CsaERF-54</i>	CsaV3_4G000990.1	272	30.87	5.33	46.60	62.76	-0.816
ERF (B3)	<i>CsaERF-55</i>	CsaV3_3G030950.1	370	40.88	5.54	43.85	48.32	-0.834
	<i>CsaERF-56</i>	CsaV3_7G034050.1	389	43.26	4.95	36.07	59.23	-0.726
	<i>CsaERF-57</i>	CsaV3_5G004900.1	235	25.88	8.40	65.33	70.55	-0.555
	<i>CsaERF-58</i>	CsaV3_3G002470.1	344	38.97	5.46	55.92	73.87	-0.526
	<i>CsaERF-59</i>	CsaV3_5G004890.1	155	17.84	8.86	72.24	51.68	-1.130
	<i>CsaERF-60</i>	CsaV3_4G004210.1	194	21.59	8.55	49.93	61.96	-0.685
	<i>CsaERF-61</i>	CsaV3_3G012180.1	149	16.67	9.24	44.41	55.03	-1.017
	<i>CsaERF-62</i>	CsaV3_3G007190.1	128	14.44	9.75	56.87	67.97	-0.867
	<i>CsaERF-63</i>	CsaV3_3G007180.1	144	15.89	8.61	46.40	63.89	-0.719
	<i>CsaERF-64</i>	CsaV3_5G004600.1	250	27.28	8.33	51.93	75.24	-0.292
	<i>CsaERF-65</i>	CsaV3_3G002460.1	325	35.36	6.25	61.14	75.60	-0.150
	<i>CsaERF-66</i>	CsaV3_6G050570.1	281	31.81	5.55	49.10	69.79	-0.635
	<i>CsaERF-67</i>	CsaV3_6G050560.1	196	20.93	9.33	49.54	64.44	-0.493
RAV	<i>CsaERF-68</i>	CsaV3_2G012880.1	154	16.90	9.55	65.77	69.74	-0.552
	<i>CsaERF-69</i>	CsaV3_3G012190.1	133	15.11	5.91	59.05	54.36	-0.968
	<i>CsaERF-70</i>	CsaV3_3G022370.1	218	24.63	5.45	59.58	74.27	-0.433
	<i>CsaERF-71</i>	CsaV3_2G012870.1	228	25.89	5.11	59.40	65.44	-0.829
	<i>CsaERF-72</i>	CsaV3_7G027380.1	231	26.70	4.86	74.15	73.33	-0.495
	<i>CsaERF-73</i>	CsaV3_3G012170.1	228	25.04	4.88	59.50	68.90	-0.520
	<i>CsaRAV-1</i>	CsaV3_1G028810.1	339	38.83	8.93	41.58	64.99	-0.695
	<i>CsaRAV-2</i>	CsaV3_1G042340.1	356	41.48	8.11	50.33	68.48	-0.798
	<i>CsaRAV-3</i>	CsaV3_5G023010.1	317	35.57	9.30	44.38	74.42	-0.572
	<i>CsaRAV-4</i>	CsaV3_5G034010.1	344	38.21	9.18	38.47	69.97	-0.661
<i>CsaRAV-5</i>	CsaV3_7G032030.1	183	20.25	10.45	43.05	66.12	-0.573	
Soloist	<i>CsaSoloist-1</i>	CsaV3_7G026330.1	231	26.47	9.67	60.72	70.13	-0.813
	<i>CsaSoloist-2</i>	CsaV3_3G030040.1	199	23.08	9.20	53.35	70.05	-0.752

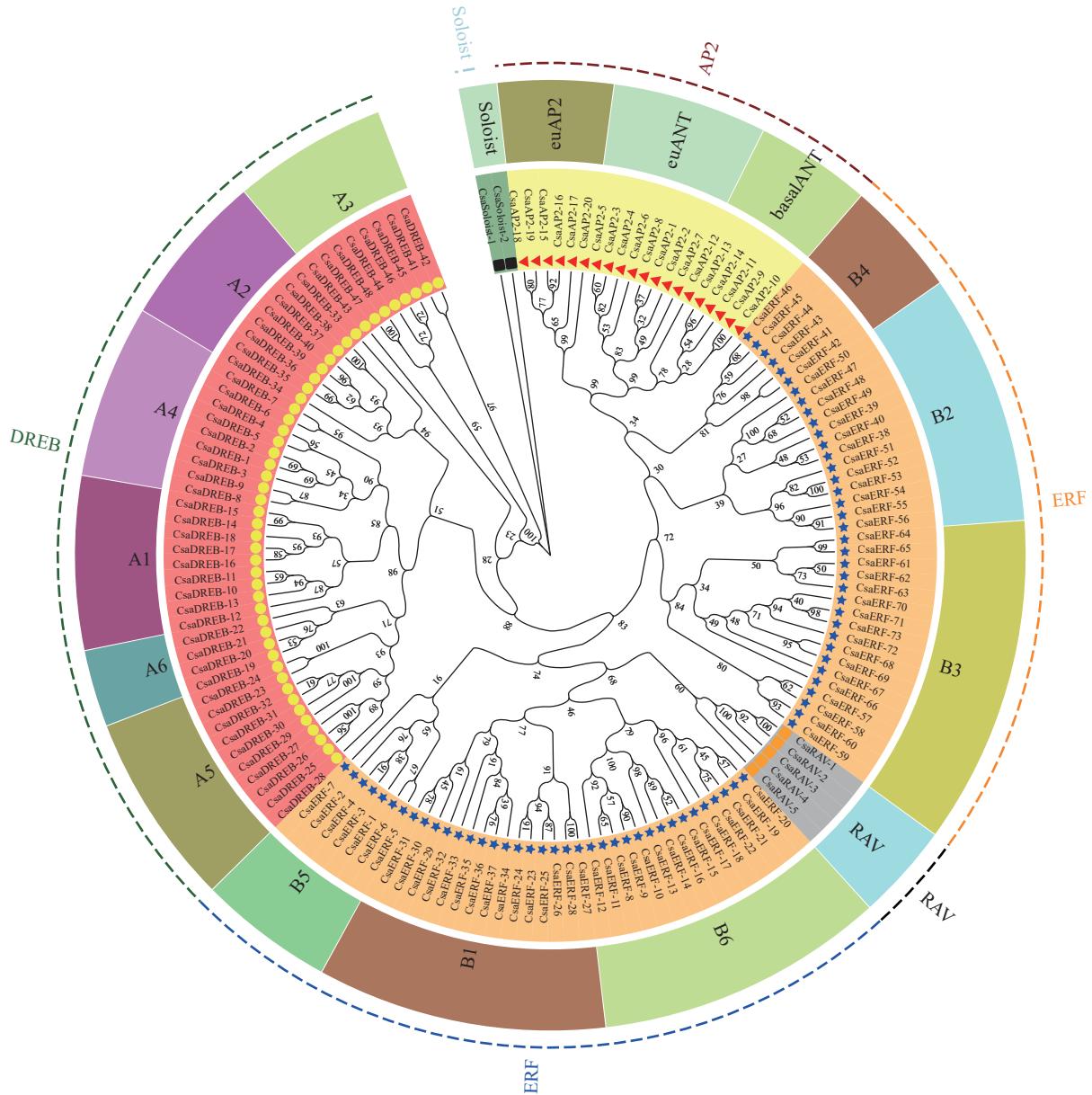


图 1 CsaAP2/ERF 蛋白分子进化树

Fig. 1 Molecular phylogenetic tree of the CsaAP2/ERF protein

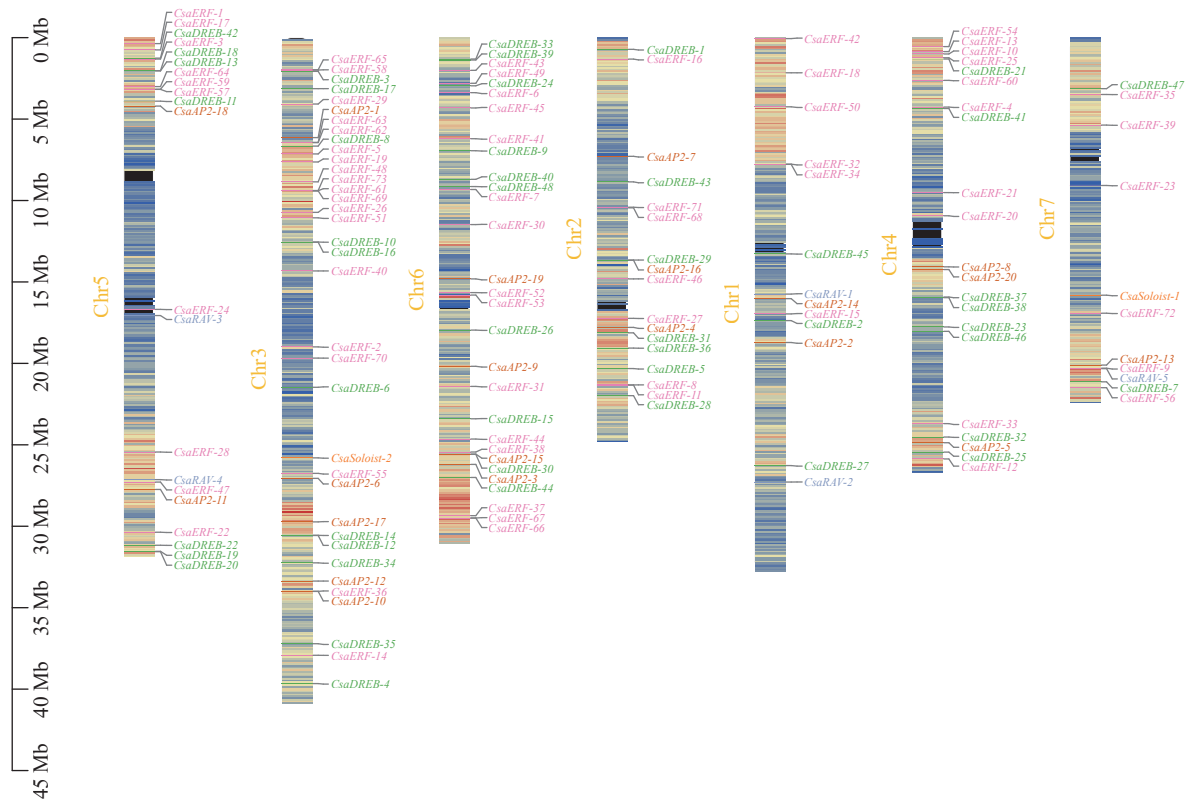
染色体, AP2 亚族主要分布于 Chr3 (5 个) 和 Chr6 (4 个), ERF 亚族在 Chr3 (19 个) 和 Chr6 (15 个) 分布较多, DREB 亚族也在 Chr3 (11 个) 和 Chr6 (10 个) 分布最多, RAV 亚族各有 2 个基因分布于 Chr1 和 Chr5, Soloist 亚族在 Chr3 和 Chr7 均有 1 个基因分布 (图 2)。

2.4 CsaAP2/ERF 蛋白保守基序及基因结构

共鉴定出 10 个 CsaAP2/ERF 蛋白保守基序 (motif1~10)。不同亚族或亚组的保守基序种类和数量不同, 同一亚族或亚组的保守基序相似。AP2 亚族包含 motif1、3、4、5、7、8, 其中 mo-

tif1、3、5 为共有保守基序; DREB 亚族包含 motif1、2、6、7、9, ERF 亚族包含 motif1、2、5、6、7、9、10, motif1 为 DREB 与 ERF 亚族的共有保守基序; RAV 亚族共有保守基序为 motif1、2; Soloist 亚族包含的保守基序较少, motif1 为其共有保守基序 (图 3)。推断为 AP2 保守结构域。

不同亚族的 CsaAP2/ERF 基因结构存在显著差异, 以 AP2 亚族基因结构最复杂, 其外显子 (6~10 个) 和内含子 (5~9 个) 数量明显高于其他亚组; 其次为 Soloist 亚族, 含有 6 个外显子和 5 个内含子; 其他亚族仅包含 1~3 个外显子、0~2 个

图 2 *CsaAP2/ERF* 基因染色体定位Fig. 2 Chromosomal localization of *CsaAP2/ERF* gene

内含子 (图 3)。

2.5 *CsaAP2/ERF* 基因的 GO 功能富集

GO 功能富集分析表明：*CsaAP2/ERF* 基因分子功能主要有 DNA 结合、转录调节活性、杂环化合物结合、有机环状化合物结合、转录顺式调控区结合等；细胞组分主要定位于细胞核、细胞器、膜结合细胞器等；*CsaAP2/ERF* 基因参与了 RNA 生物合成过程、DNA 模板转录、基因表达调控、激素介导的信号通路、糖苷酸代谢过程、化学物质的刺激响应、植物器官发育、逆境胁迫响应、真菌的防御反应等生物学过程 (图 4)。

2.6 *CsaAP2/ERF* 蛋白的互作网络

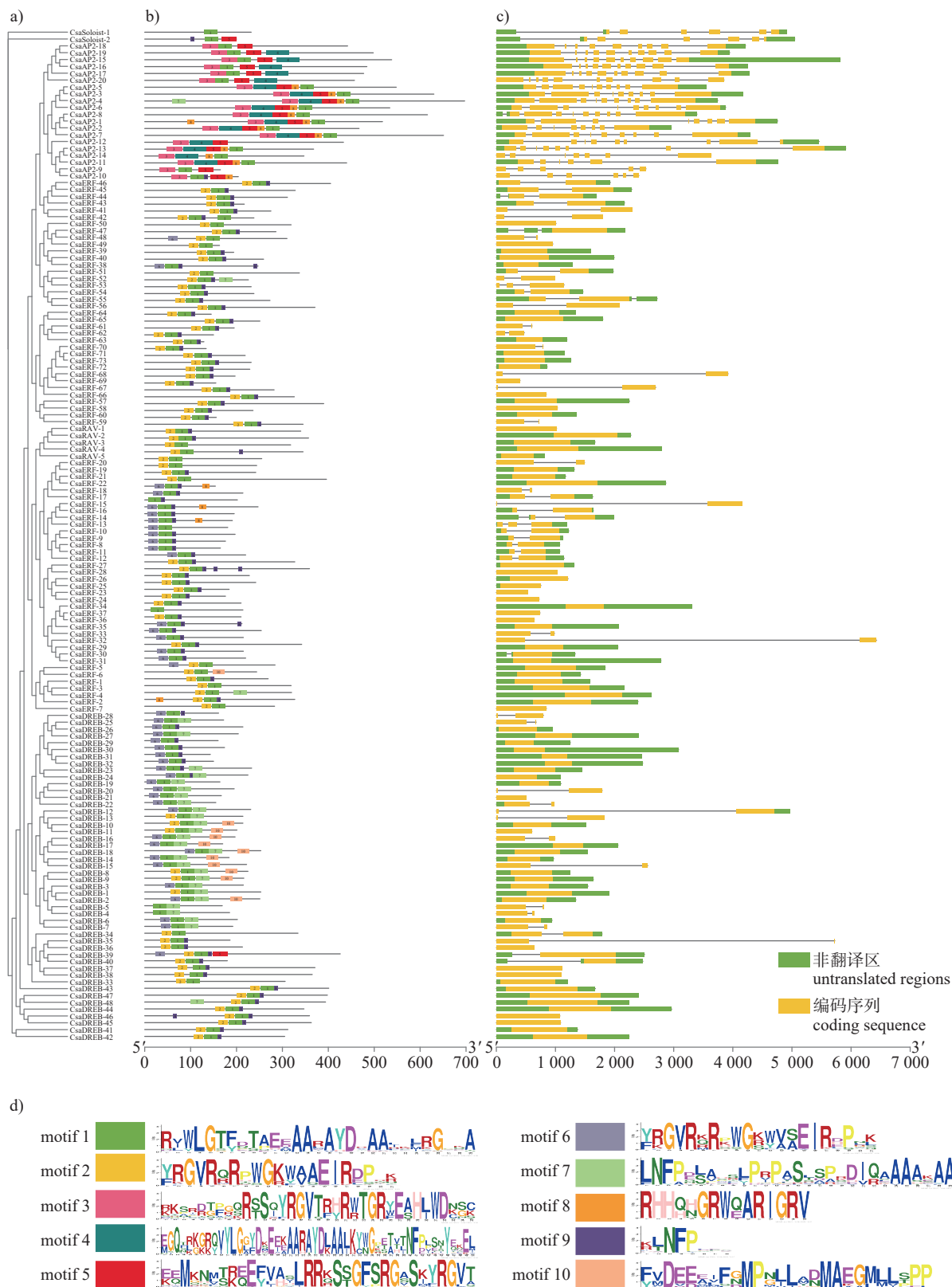
CsaAP2/ERF 的蛋白互作网络包含 130 个蛋白，可组成 546 对蛋白互作关系，其中，*CsaAP2-11* 和 *CsaAP2-15* 蛋白是核心蛋白，均与其他蛋白存在多达 32 对互作关系；*CsaDREB-33* 蛋白与其他蛋白存在 15 对互作关系；*CsaSoloist-1* 和 *CsaSoloist-2* 均与其他蛋白存在 13 对互作关系 (图 5a)。GO 功能富集分析表明：此蛋白互作网络主要参与转录调控、激素介导的信号通路、磷酸信号转导系统、生物过程的调节、细胞代谢过程的调

节、细胞对刺激的反应、硫代葡萄糖代谢过程、植物器官发育、应激反应、防御反应、脂质代谢过程等生物学过程 (图 5b)；而 KEEG 信号通路主要富集于甘油酯代谢、脂肪酸生物合成、昼夜节律—植物、脂肪酸代谢、甘油磷脂代谢、丙酸代谢、丙酮酸代谢途径 (图 5c)。

2.7 *CsaAP2/ERF* 基因的共线性

CsaAP2/ERF 基因复制类型主要以串联复制、片段复制或全基因组复制为主，在 ERF 亚族中，这类基因占该亚族总基因数的 67% 以上，其他则为非重复基因或其他复制类型 (表 2)。种内共线性分析表明：*CsaAP2/ERF* 基因在黄瓜基因组中共有 49 个复制基因对 (图 6)。

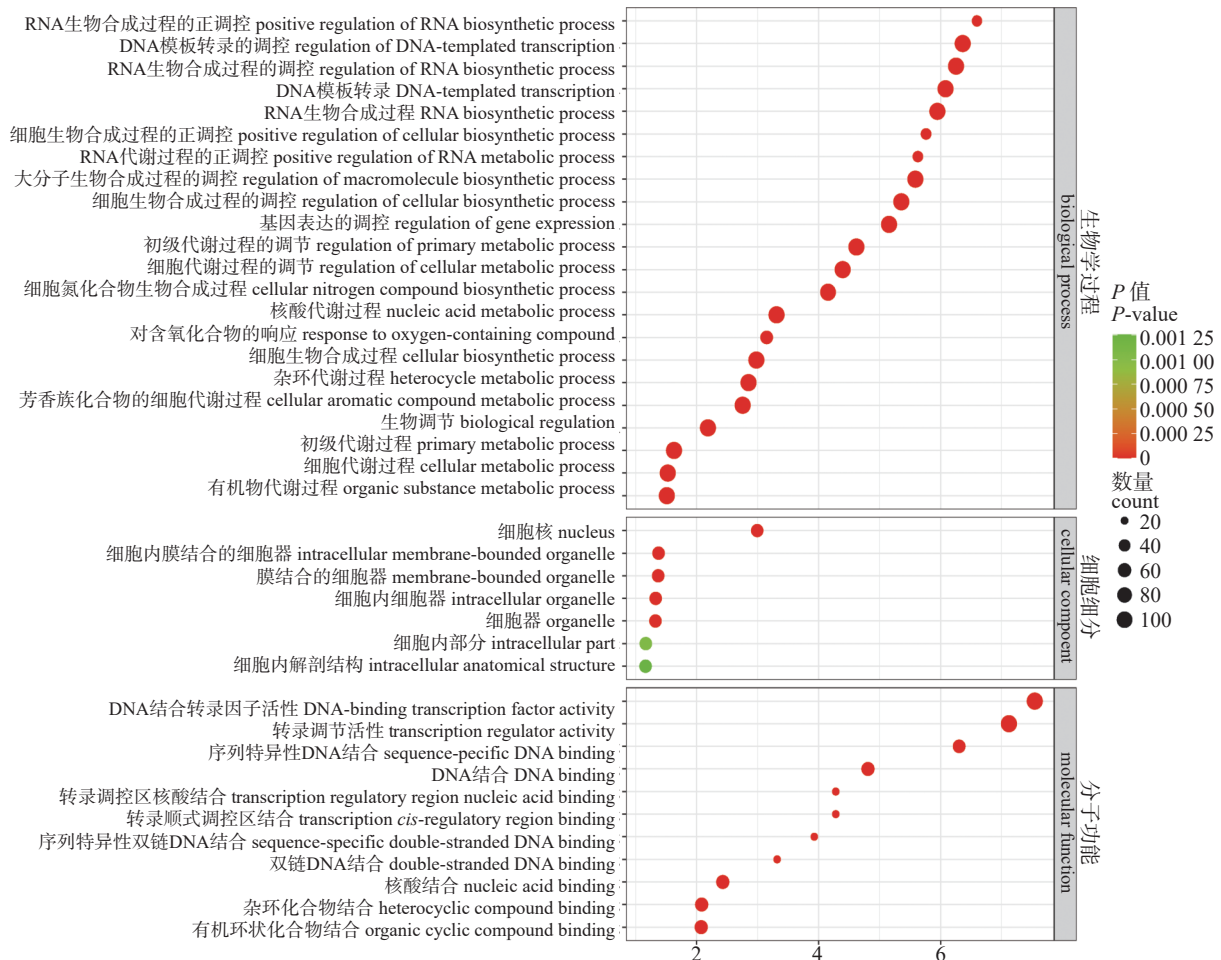
通过种间 *AP2/ERF* 同源基因共线性关系分析发现：在十字花科作物中，87 个 *CsaAP2/ERF* 基因与 138 个大白菜基因存在 201 对共线性关系，91 个 *CsaAP2/ERF* 基因与 266 个芥菜基因存在 342 对共线性关系；在葫芦科作物中，129 个 *CsaAP2/ERF* 基因与 209 个南瓜基因存在 371 对共线性关系，128 个 *CsaAP2/ERF* 基因与 126 个丝瓜基因存在 223 对共线性关系；在茄科作物



注: a) *CsaAP2/ERF* 蛋白分子进化树; b) *CsaAP2/ERF* 蛋白保守基序分析 (各基序标识见图 d); c) *CsaAP2/ERF* 基因结构分析; d) 保守基序标识。
 Note: a) molecular evolution tree of *CsaAP2/ERF* protein; b) conservative motif analysis of *CsaAP2/ERF* protein (each motif is identified in figure d); c) structural analysis of *CsaAP2/ERF* gene; d) conservative motif logo.

图 3 *CsaAP2/ERF* 基因家族保守基序与基因结构

Fig. 3 Conservative motifs and gene structure of *CsaAP2/ERF* gene family



注：生物学过程仅显示了前 22 条目。
 Note: Biological processes only show the top 22 entries.

图 4 *CsaAP2/ERF* 基因家族 GO 功能富集分析
 Fig. 4 GO functional enrichment analysis of *CsaAP2/ERF* genes

中，99 个 *CsaAP2/ERF* 基因与 98 个番茄基因存在 176 对共线性关系，108 个 *CsaAP2/ERF* 基因与 101 个茄子基因存在 189 对共线性关系；在豆科作物中，109 个 *CsaAP2/ERF* 基因与 101 个菜豆基因存在 221 对共线性关系，113 个 *CsaAP2/ERF* 基因与 126 个豇豆基因存在 221 对共线性关系；在禾本科作物中，35 个 *CsaAP2/ERF* 基因与 47 个玉米基因存在 69 对共线性关系，39 个 *CsaAP2/ERF* 基因与 42 个水稻基因存在 66 对共线性关系 (图 7)。这表明 *CsaAP2/ERF* 基因与葫芦科的丝瓜、南瓜直系同源基因的亲缘关系最近，而禾本科的水稻与玉米直系同源基因的亲缘关系最远。

2.8 *CsaAP2/ERF* 基因的表达

冷胁迫下，大多数 *CsaAP2/ERF* 基因在根组

织的表达量显著高于叶片组织，特别是 AP2 (eu-AP2、euANT)、ERF (B1、B2、B3、B4) 和 DERB (A2、A3) 亚族中的部分 *CsaAP2/ERF* 基因的表达量显著高于其他成员，冷耐受型根部与叶片组织中 *CsaAP2-15*、*CsaAP2-18*、*CsaERF-37*、*CsaERF-41*、*CsaERF-49*、*CsaERF-56*、*CsaERF-73*、*CsaDERB-31*、*CsaDERB-32*、*CsaDERB-37*、*CsaDERB-38* 等基因的表达量显著高于冷敏感型 (图 8a)。

热胁迫下，AP2 (euAP2)、ERF (B1、B2、B3、B4)、DERB (A2、A3、A4)、RAV 和 Soloist 亚族中的部分 *CsaAP2/ERF* 基因的表达量显著高于其他家族成员，随着胁迫时间的推移，*CsaAP2-15*、*CsaAP2-16*、*CsaAP2-19*、*CsaERF-29*、*CsaERF-31*、*CsaERF-47*、*CsaERF-50*、*CsaERF-54*、*CsaERF-59*、*CsaERF-60*、*CsaERF-64*、*CsaERF-65*、*CsaRAV-1*、

表 2 *CsaAP2/ERF* 基因复制类型
Tab. 2 *CsaAP2/ERF* gene replication types

类型 types	AP2	DERB	ERF	RAV	Soloist
非重复基因 non-duplicated genes	11	23	22	5	—
染色体附近的不相邻重复 non-contiguous duplication of chromosomes	—	—	—	—	—
串联复制 tandem duplication	—	2	10	—	—
片段复制或全基因组复制 segmental duplication or genome-wide duplication	9	20	39	—	2
其他重复 other duplication	—	3	2	—	—



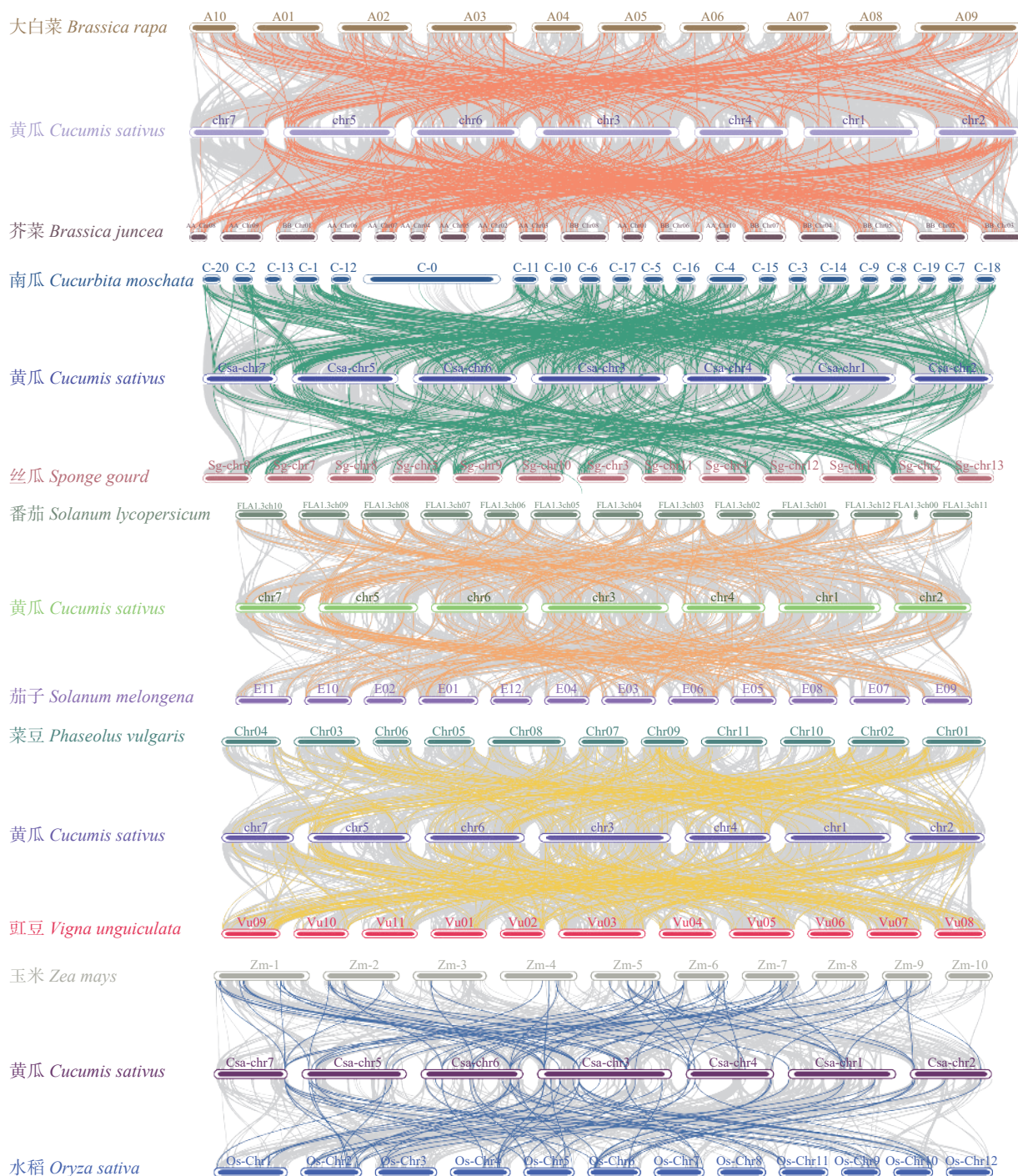
图 6 *CsaAP2/ERF* 基因家族种内的共线性分析

Fig. 6 Intraspecies colinearity analysis of *CsaAP2/ERF* gene family

CsaDERB-30、*CsaDERB-37*、*CsaDERB-38*、*CsaDERB-45* 等基因上调表达，*CsaERF-20*、*CsaDERB-40* 等少数基因下调表达 (图 8b)。

盐胁迫下，AP2 (euAP2)、ERF (B1、B2、B3、B4、B5)、DERB (A2、A3、A4) 和 Soloist 亚族中的部分 *CsaAP2/ERF* 基因的表达量显著高于其他家族成员，*CsaAP2-10*、*CsaAP2-18*、*CsaERF-*

7、*CsaERF-31*、*CsaERF-34*、*CsaERF-35*、*CsaERF-36*、*CsaERF-39*、*CsaERF-40*、*CsaERF-43*、*CsaERF-44*、*CsaERF-45*、*CsaERF-54*、*CsaERF-58*、*CsaERF-62*、*CsaERF-63*、*CsaERF-64*、*CsaERF-65*、*CsaERF-71*、*CsaERF-72*、*CsaERF-73*、*CsaDERB-8*、*CsaDERB-11*、*CsaDERB-37*、*CsaDERB-38*、*CsaDERB-39*、*CsaDERB-40* 等基因显著上调表达，而 *CsaERF-*

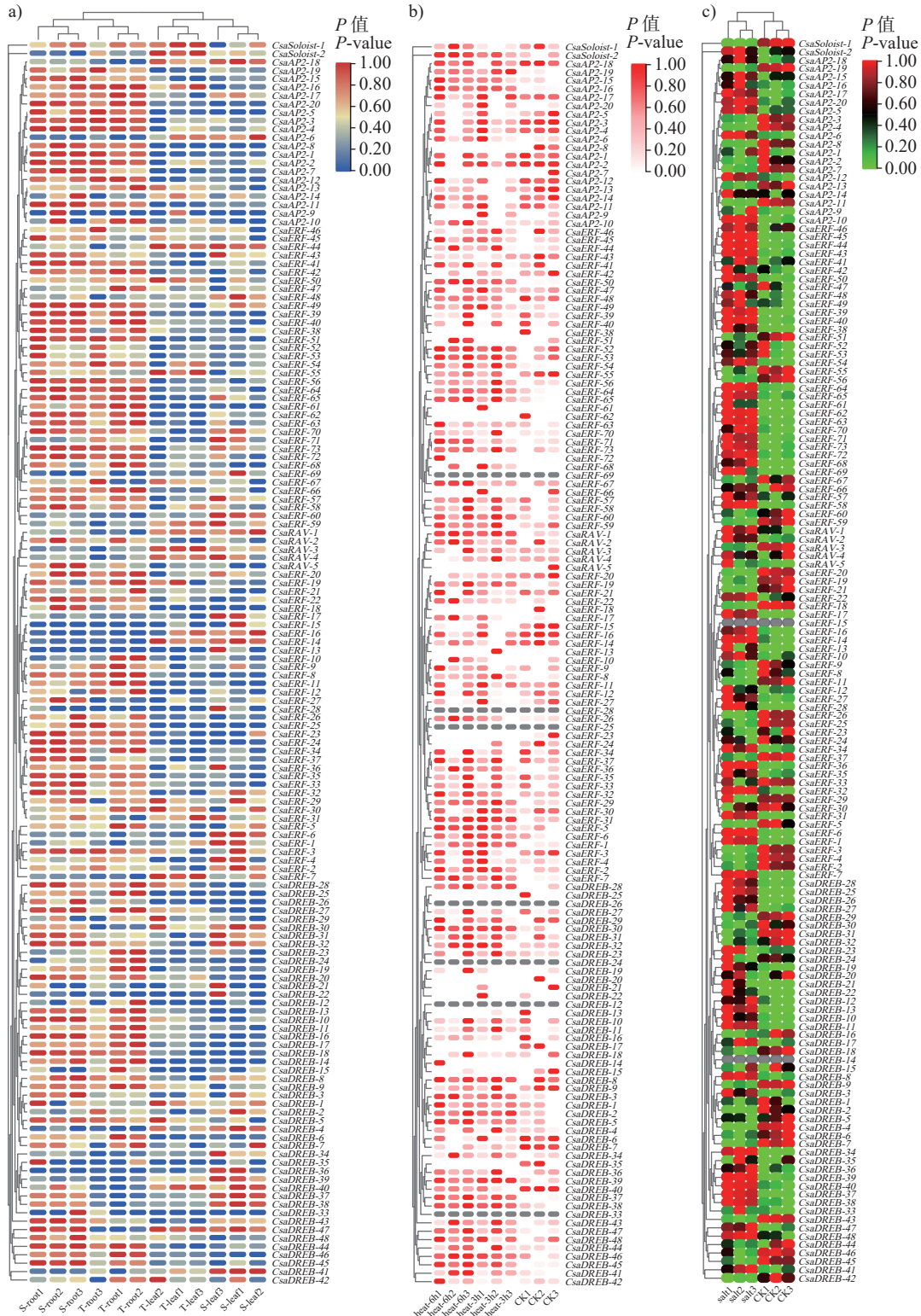
图 7 *CsaAP2/ERF* 基因家族种间的共线性分析Fig. 7 Interspecies colinearity analysis of the *CsaAP2/ERF* gene family

18、*CsaAP2-19*、*CsaERF-20*、*CsaERF-37*、*CsaERF-56*、*CsaDERB-31*、*CsaDERB-45* 等基因显著下调表达 (图 8c)。

3 讨论

AP2/ERF 转录因子广泛存在于各类植物中,

参与调节多种生物学过程, 在不同植物中 *AP2/ERF* 基因家族的成员数量存在差异。本研究从黄瓜全基因组中共鉴定了 148 个 *AP2/ERF* 基因家族成员, 这与苦荞麦 (134 个)^[28]、苧麻 (138 个)^[29] 和准噶尔无叶豆 (153 个)^[30] 基因组中的数量相近, 但明显少于甘薯 (198 个)^[31]、玉米 (229 个)^[32] 和油



注: a) 不同黄瓜组织 6 °C 低温处理 24 h 的 *CsaAP2/ERF* 基因表达, S 表示敏感品种, T 表示耐受品种; b) 黄瓜叶片组织 42 °C 高温胁迫 3 h 和 6 h 的 *CsaAP2/ERF* 基因表达; c) 黄瓜幼苗根尖在 75 mmol/L NaCl 胁迫 24 h 的 *CsaAP2/ERF* 基因表达。

Note: a) expression of *CsaAP2/ERF* gene under cold stress in different cucumber tissues treated at 6 °C for 24 hours, S represents sensitive varieties, and T represents tolerant varieties; b) expression of *CsaAP2/ERF* gene in cucumber leaf tissues under 42 °C heat stress for three hours and six hours; c) expression of *CsaAP2/ERF* gene in the root tips of cucumber seedlings after 24 hours of 75 mmol/L NaCl stress.

图 8 逆境胁迫下 *CsaAP2/ERF* 基因的表达

Fig. 8 Expression of *CsaAP2/ERF* gene under stress

棕(172个)^[33]基因组中的数量。与对其他植物的研究结果相似, *CsaAP2/ERF* 基因家族可分为5个亚族, 即 AP2、ERF、DREB、RAV 和 Soloist。在这些 *CsaAP2/ERF* 蛋白结构中鉴定出10个保守基序, 同一亚族的成员具有相似的基序类型和数量, 表明亚族内的成员在进化过程中高度保守; AP2 亚组具有更多的外显子和内含子, 表明该亚组成员执行了更为复杂的生物学功能, 且相较于 ERF、DREB 和 RAV 亚族, AP2 亚族所包含的外显子与内含子数量也更为保守; 相较而言, Soloist 亚族的基因结构更复杂, 但目前对该亚族的研究较少, 仅已知该亚族成员在拟南芥中作为调节因子参与水杨酸介导的植物细菌病原体的基础防御^[34]。

基因复制事件在基因家族的进化扩张中起着至关重要的作用, 促使进化产生新的功能基因, 以支持生物体适应不同的环境。植物体的基因复制模型主要由串联复制、片段复制、全基因组复制、反转录转座、转座子介导复制构成^[35]。 *CsaAP2/ERF* 基因复制主要以串联复制、片段复制、全基因组复制为主, 在黄瓜基因组中发生了49个 *CsaAP2/ERF* 基因复制事件, 这可能是导致各亚族成员数量不等、染色体分布不均匀的主要原因。 *AP2/ERF* 基因种间共线性分析表明: 黄瓜与双子叶植物(十字花科、葫芦科、茄科、豆科) *AP2/ERF* 基因的同源进化关系较为保守, 与南瓜同源基因的亲缘关系最近, 而与单子叶植物的 *AP2/ERF* 同源基因出现高度分离。GO 功能富集与蛋白互作分析表明: *CsaAP2/ERF* 家族基因具有 DNA 结合、转录调节、杂环化合物结合等转录因子分子功能, 广泛参与生长发育、逆境胁迫响应、生物合成等生物学过程。 *CsaAP2-11*、*CsaAP2-15*、*CsaDREB-33* 等蛋白作为互作网络的核心蛋白, 与多个家族成员及其他蛋白存在复杂的互作关系。已有研究表明: *AP2/ERF* 家族是多种植物中生长发育和应激反应的关键调节因子, 可作为作物遗传改良的潜在基因^[36]。

利用黄瓜低温、高温和盐胁迫的 RNA-seq 数据集研究 *CsaAP2/ERF* 基因的表达模式, 发现在低温胁迫下, AP2、ERF 和 DREB 亚族的多个成员显著上调表达, 其中 ERF 与 DREB 亚族的基因数量较多。已有研究表明: *ERF* 与 *DREB* 基因在参与冷胁迫应激响应中发挥了重要的功能作

用, 如: 核桃楸的5个 ERF 与 DREB 亚族基因可显著提高其耐寒性^[37]; 三叶青中多个 ERF 家族成员的表达易受低温影响, 尤其是 *ThERF46* 对冷胁迫具有特异耐受性^[38]; 芹菜 *AgDREB1* 和 *AgDREB2* 基因通过调控下游 *COR* 基因提高植物的冷胁迫耐受性^[39]。在高温胁迫下, 除 Solosit 亚族外, 其他 *CsaAP2/ERF* 亚族均有成员参与热胁迫响应。小麦参与热胁迫响应的8个 *AP2/ERF* 基因中, *TaERF*、*TaDREB* 和 *TaAP2* 的部分成员被鉴定为热耐受基因, 其他 *TaERF*、*TaDREB* 和 *TaRAV* 则为热敏感基因^[16]; 葡萄 *VvDREB2c* 可调控过量光能转换为热量来减少光损伤、增强光保护能力, 进而提高作物对高温的耐受性^[40]; 菊花 *CmDREB6* 的过表达可增强热胁迫响应基因 (*CmHsfA4* 和 *CmHSP90*) 及活性氧清除基因 (*CmSOD* 和 *CmCAT*) 的表达, 从而提高其耐热性^[41]。由此可见, 植物 *AP2/ERF* 基因家族广泛参与了植物对环境温度的响应, *CsaAP2-15*、*CsaDREB-37* 和 *CsaDREB-38* 在低温和高温胁迫下均显著上调表达, ERF 亚族成员在低温/高温响应机制中出现了功能分化, 这些基因在维持黄瓜正常生长发育和新陈代谢而免受不利环境温度的影响中发挥了重要的调控作用。

AP2/ERF 基因家族作为盐胁迫响应信号通路中的重要调节因子而受到广泛关注。异源过表达甘薯 *IbRAP2-12* 可上调脱落酸信号传导、茉莉酸信号传导、脯氨酸生物合成和活性氧清除相关过程的基因, 进而增强作物盐与干旱胁迫的耐受性; *HuERF1* 过表达可减少转基因系中超氧化物和过氧化氢的积累, 并提高抗氧化酶活性, 与火龙果的耐盐性密切相关^[42]; *OsEREBP2* 调控蛋白激酶受体 *OsRMC* 参与水稻盐胁迫应激反应^[43]。盐胁迫下, 黄瓜多个 AP2、ERF 和 DREB 亚族的基因表达发生显著变化, 以 ERF 亚族的基因数量最多, 这与对旱柳的研究结果^[17]相似, 其中, *CsaAP2-18*、*CsaERF-31*、*CsaERF-54*、*CsaERF-64*、*CsaERF-65*、*CsaDREB-38* 和 *CsaDREB-45* 在温度胁迫与盐胁迫下均显著差异表达。尽管 AP2 亚族的基因成员少于 ERF 和 DREB 亚族, 但参与执行多个生物学过程, 这可能与该亚族基因结构的复杂性和多样性有关, 而 ERF 与 DREB 家族成员较多, 基因功能出现分化。这些显著差异表达基因在黄瓜逆境胁迫响应中发挥了重要的调控作用。

4 结论

本研究从黄瓜全基因组中鉴定出 148 个 *AP2/ERF* 基因家族成员, 对该基因家族成员开展基因与蛋白结构、进化关系、功能注释、表达模式等分析, 并鉴定出与逆境胁迫相关的候选基因, 在一定程度上为黄瓜的抗逆遗传改良研究提供了依据。

[参考文献]

- [1] WESSLER S R. Homing into the origin of the AP2 DNA binding domain[J]. Trends in Plant Science, 2005, 10(2): 54. DOI: [10.1016/j.tplants.2004.12.007](https://doi.org/10.1016/j.tplants.2004.12.007).
- [2] DOSSA K, WEI X, LI D H, et al. Insight into the AP2/ERF transcription factor superfamily in sesame and expression profiling of DREB subfamily under drought stress[J]. BMC Plant Biology, 2016, 16(1): 171. DOI: [10.1186/s12870-016-0859-4](https://doi.org/10.1186/s12870-016-0859-4).
- [3] DIPP-ÁLVAREZ M, CRUZ-RAMÍREZ A. A phylogenetic study of the ANT family points to a *preANT* gene as the ancestor of basal and euANT transcription factors in land plants[J]. Frontiers in Plant Science, 2019, 10: 17. DOI: [10.3389/fpls.2019.00017](https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00017).
- [4] NOLE-WILSON S, KRIZEK B A. DNA binding properties of the *Arabidopsis* floral development protein AINTEGUMENTA[J]. Nucleic Acids Research, 2000, 28(21): 4076. DOI: [10.1093/nar/28.21.4076](https://doi.org/10.1093/nar/28.21.4076).
- [5] OHME-TAKAGI M, SHINSHI H. Ethylene-inducible DNA binding proteins that interact with an ethylene-responsive element[J]. The Plant Cell, 1995, 7(2): 173. DOI: [10.1105/tpc.7.2.173](https://doi.org/10.1105/tpc.7.2.173).
- [6] KAGAYA Y, OHMIYA K, HATTORI T. RAV1, a novel DNA-binding protein, binds to bipartite recognition sequence through two distinct DNA-binding domains uniquely found in higher plants[J]. Nucleic Acids Research, 1999, 27(2): 470. DOI: [10.1093/nar/27.2.470](https://doi.org/10.1093/nar/27.2.470).
- [7] SAKUMA Y, LIU Q, DUBOUZET J G, et al. DNA-binding specificity of the ERF/AP2 domain of *Arabidopsis* DREBs, transcription factors involved in dehydration- and cold-inducible gene expression[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2002, 290(3): 998. DOI: [10.1006/bbrc.2001.6299](https://doi.org/10.1006/bbrc.2001.6299).
- [8] FENG K, HOU X L, XING G M, et al. Advances in AP2/ERF super-family transcription factors in plant[J]. Critical Reviews in Biotechnology, 2020, 40(6): 750. DOI: [10.1080/07388551.2020.1768509](https://doi.org/10.1080/07388551.2020.1768509).
- [9] XU S J, HOU H Z, WU Z, et al. Chrysanthemum embryo development is negatively affected by a novel ERF transcription factor, *CmERF12*[J]. Journal of Experimental Botany, 2022, 73(1): 197. DOI: [10.1093/jxb/erab398](https://doi.org/10.1093/jxb/erab398).
- [10] DENG Y, FU W Y, TANG B, et al. Transcriptome analysis of ovary culture-induced embryogenesis in cucumber (*Cucumis sativus* L.)[J]. PeerJ, 2021, 9(2): e12145. DOI: [10.7717/peerj.12145](https://doi.org/10.7717/peerj.12145).
- [11] LYU B S, WEI K J, HU K Q, et al. MPK14-mediated auxin signaling controls lateral root development via ERF13-regulated very-long-chain fatty acid biosynthesis[J]. Molecular Plant, 2021, 14(2): 285. DOI: [10.1016/j.molp.2020.11.011](https://doi.org/10.1016/j.molp.2020.11.011).
- [12] WEI S B, LI X, LU Z F, et al. A transcriptional regulator that boosts grain yields and shortens the growth duration of rice[J]. Science, 2022, 377(6604): eabi8455. DOI: [10.1126/science.abi8455](https://doi.org/10.1126/science.abi8455).
- [13] LIU C, MA T, YUAN D Y, et al. The *OsEIL1-OsERF115*-target gene regulatory module controls grain size and weight in rice[J]. Plant Biotechnology Journal, 2022, 20(8): 1470. DOI: [10.1111/pbi.13825](https://doi.org/10.1111/pbi.13825).
- [14] RITONGA F N, NGATIA J N, WANG Y R, et al. *AP2/ERF*, an important cold stress-related transcription factor family in plants: a review[J]. Physiology and Molecular Biology of Plants, 2021, 27(9): 1953. DOI: [10.1007/s12298-021-01061-8](https://doi.org/10.1007/s12298-021-01061-8).
- [15] XIE Z L, NOLAN T, JIANG H, et al. The AP2/ERF transcription factor TINY modulates brassinosteroid-regulated plant growth and drought responses in *Arabidopsis*[J]. The Plant Cell, 2019, 31(8): 1788. DOI: [10.1105/tpc.18.00918](https://doi.org/10.1105/tpc.18.00918).
- [16] MAGAR M M, LIU H, YAN G J. Genome-wide analysis of AP2/ERF superfamily genes in contrasting wheat genotypes reveals heat stress-related candidate genes[J]. Frontiers in Plant Science, 2022, 13: 853086. DOI: [10.3389/fpls.2022.853086](https://doi.org/10.3389/fpls.2022.853086).
- [17] ZHANG J, SHI S Z, JIANG Y, et al. Genome-wide investigation of the AP2/ERF superfamily and their expression under salt stress in Chinese willow (*Salix matsudana*)[J]. PeerJ, 2021, 9: e11076. DOI: [10.7717/peerj.11076](https://doi.org/10.7717/peerj.11076).
- [18] LUAN Y S, CUI J, LI J, et al. Effective enhancement of resistance to *Phytophthora infestans* by overexpression of miR172a and b in *Solanum Lycopersicon*[J]. Planta, 2018, 247(1): 127. DOI: [10.1007/s00425-017-2773-x](https://doi.org/10.1007/s00425-017-2773-x).
- [19] LI D D, LIU X T, SHU L Z, et al. Global analysis of the AP2/ERF gene family in rose (*Rosa chinensis*) genome unveils the role of *RcERF099* in botrytis resistance[J]. BMC Plant Biology, 2020, 20(1): 533. DOI: [10.1186/s12870-020-02740-6](https://doi.org/10.1186/s12870-020-02740-6).
- [20] HAWKU M D, GOHER F, ISLAM M A, et al. *TaAP2-15*, an AP2/ERF transcription factor, is positively involved in wheat resistance to *Puccinia striiformis* f. sp. *Tritici*[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(4): 2080. DOI: [10.3390/ijms22042080](https://doi.org/10.3390/ijms22042080).
- [21] ZHANG C Z, GAO H, SUN Y, et al. The BTB/POZ domain protein GmBTB/POZ promotes the ubiquitination and degradation of the soybean AP2/ERF-like transcription factor GmAP2 to regulate the defense response to *Phytophthora sojae*[J]. Journal of Experimental Botany, 2021, 72(22): 7891. DOI: [10.1093/jxb/erab363](https://doi.org/10.1093/jxb/erab363).
- [22] SHOJI T, YUAN L. *ERF* gene clusters: working together to regulate metabolism[J]. Trends in Plant Science, 2021, 26(1): 23. DOI: [10.1016/j.tplants.2020.07.015](https://doi.org/10.1016/j.tplants.2020.07.015).

- [23] HUANG Q, SUN M H, YUAN T P, et al. The AP2/ERF transcription factor *SmERF1L1* regulates the biosynthesis of tanshinones and phenolic acids in *Salvia miltiorrhiza*[J]. Food Chemistry, 2019, 274: 368. DOI: [10.1016/j.foodchem.2018.08.119](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.119).
- [24] JHANSIRANI N, DEVAPPA V, SANGEETHA C G, et al. Identification of potential phytochemical/antimicrobial agents against *Pseudoperonospora cubensis* causing downy mildew in cucumber through in-silico docking[J]. Plants, 2023, 12(11): 2202. DOI: [10.3390/plants12112202](https://doi.org/10.3390/plants12112202).
- [25] YU J Y, WU S, SUN H H, et al. CuGenDBv2: an updated database for cucurbit genomics[J]. Nucleic Acids Research, 2023, 51(D1): D1457. DOI: [10.1093/nar/gkac921](https://doi.org/10.1093/nar/gkac921).
- [26] LI Q, LI H B, HUANG W, et al. A chromosome-scale genome assembly of cucumber (*Cucumis sativus* L.)[J]. GigaScience, 2019, 8(6): giz072. DOI: [10.1093/gigascience/giz072](https://doi.org/10.1093/gigascience/giz072).
- [27] HUERTA-CEPAS J, SZKLARCZYK D, HELLER D, et al. eggNOG 5.0: a hierarchical, functionally and phylogenetically annotated orthology resource based on 5090 organisms and 2502 viruses[J]. Nucleic Acids Research, 2019, 47(D1): D309. DOI: [10.1093/nar/gky1085](https://doi.org/10.1093/nar/gky1085).
- [28] LIU M Y, SUN W J, MA Z T, et al. Genome-wide investigation of the *AP2/ERF* gene family in tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum*) [J]. BMC Plant Biology, 2019, 19(1): 84. DOI: [10.1186/s12870-019-1681-6](https://doi.org/10.1186/s12870-019-1681-6).
- [29] QIU X J, ZHAO H H, ABUBAKAR A S, et al. Genome-wide analysis of *AP2/ERF* gene superfamily in ramie (*Boehmeria nivea* L.) revealed their synergistic roles in regulating abiotic stress resistance and ramet development[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(23): 15117. DOI: [10.3390/ijms232315117](https://doi.org/10.3390/ijms232315117).
- [30] ZHAO M Q, HAXIM Y, LIANG Y Q, et al. Genome-wide investigation of *AP2/ERF* gene family in the desert legume *Eremosparton songoricum*: identification, classification, evolution, and expression profiling under drought stress[J]. Frontiers in Plant Science, 2022, 13: 885694. DOI: [10.3389/fpls.2022.885694](https://doi.org/10.3389/fpls.2022.885694).
- [31] HE S T, HAO X M, HE S L, et al. Genome-wide identification, phylogeny and expression analysis of AP2/ERF transcription factors family in sweet potato[J]. BMC Genomics, 2021, 22(1): 748. DOI: [10.1186/s12864-021-08043-w](https://doi.org/10.1186/s12864-021-08043-w).
- [32] CHENG C, AN L K, LI F Z, et al. Wide-range portrayal of AP2/ERF transcription factor family in maize (*Zea mays* L.) development and stress responses[J]. Genes, 2023, 14(1): 194. DOI: [10.3390/genes14010194](https://doi.org/10.3390/genes14010194).
- [33] ZHOU L X, YARRA R. Genome-wide identification and characterization of AP2/ERF transcription factor family genes in oil palm under abiotic stress conditions[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(6): 2821. DOI: [10.3390/ijms22062821](https://doi.org/10.3390/ijms22062821).
- [34] GIRI M K, SWAIN S, GAUTAM J K, et al. The *Arabidopsis thaliana At4g13040* gene, a unique member of the AP2/EREBP family, is a positive regulator for salicylic acid accumulation and basal defense against bacterial pathogens[J]. Journal of Plant Physiology, 2014, 171(10): 860. DOI: [10.1016/j.jplph.2013.12.015](https://doi.org/10.1016/j.jplph.2013.12.015).
- [35] PANCHY N, LEHTI-SHIU M, SHIU S H. Evolution of gene duplication in plants[J]. Plant Physiology, 2016, 171(4): 2294. DOI: [10.1104/pp.16.00523](https://doi.org/10.1104/pp.16.00523).
- [36] KABIR S M T, HOSSAIN M S, BASHAR K K, et al. Genome-wide identification and expression profiling of *AP2/ERF* superfamily genes under stress conditions in dark jute (*Corchorus olitorius* L.) [J]. Industrial Crops and Products, 2021, 166: 113469. DOI: [10.1016/j.indcrop.2021.113469](https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113469).
- [37] ZHAO M H, LI Y, ZHANG X X, et al. Genome-wide identification of *AP2/ERF* superfamily genes in *Juglans mandshurica* and expression analysis under cold stress[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(23): 15225. DOI: [10.3390/ijms232315225](https://doi.org/10.3390/ijms232315225).
- [38] XIE Z M, YANG C Y, LIU S Y, et al. Identification of AP2/ERF transcription factors in *Tetrastigma hemsleyanum* revealed the specific roles of ERF46 under cold stress[J]. Frontiers in Plant Science, 2022, 13: 936602. DOI: [10.3389/fpls.2022.936602](https://doi.org/10.3389/fpls.2022.936602).
- [39] LI M Y, LIU J X, HAO J N, et al. Genomic identification of AP2/ERF transcription factors and functional characterization of two cold resistance-related *AP2/ERF* genes in celery (*Apium graveolens* L.) [J]. Planta, 2019, 250(4): 1265. DOI: [10.1007/s00425-019-03222-2](https://doi.org/10.1007/s00425-019-03222-2).
- [40] ZHA Q, YIN X J, XI X J, et al. Heterologous *VvDREB2c* expression improves heat tolerance in *Arabidopsis* by inducing photoprotective responses[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(6): 5989. DOI: [10.3390/ijms24065989](https://doi.org/10.3390/ijms24065989).
- [41] DU X P, LI W Y, SHENG L P, et al. Over-expression of chrysanthemum *CmDREB6* enhanced tolerance of chrysanthemum to heat stress[J]. BMC Plant Biology, 2018, 18(1): 178. DOI: [10.1186/s12870-018-1400-8](https://doi.org/10.1186/s12870-018-1400-8).
- [42] QU Y J, NONG Q D, JIAN S G, et al. An *AP2/ERF* gene, *HuERF1*, from pitaya (*Hylocereus undatus*) positively regulates salt tolerance[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(13): 4586. DOI: [10.3390/ijms21134586](https://doi.org/10.3390/ijms21134586).
- [43] SERRA T S, FIGUEIREDO D D, CORDEIRO A M, et al. *OsRMC*, a negative regulator of salt stress response in rice, is regulated by two AP2/ERF transcription factors[J]. Plant Molecular Biology, 2013, 82(4/5): 439. DOI: [10.1007/s11103-013-0073-9](https://doi.org/10.1007/s11103-013-0073-9).

责任编辑: 何馨成