

不结球白菜 *Dof* 基因家族鉴定及 高温胁迫下的表达特征*

昂海燕¹, 裴徐梨¹, 康家香¹, 黄永莲¹, 荆赞革^{1**},
胡靖锋², 李晓锋³, 孙 茂⁴, 王梦圆¹

(1. 昆明学院 农学与生命科学学院, 云南 昆明 650214; 2. 云南省农业科学院园艺作物研究所,
云南 昆明 650205; 3. 上海市农业科学院 设施园艺研究所 上海市设施园艺技术重点实验室,
上海 201106; 4. 云南大学 农学院, 昆明 云南 650091)

【摘 要】高温会严重影响不结球白菜的商品性。 *Dof* 基因家族广泛参与植物的生长发育进程, 并在环境胁迫响应过程中起着重要作用。 为明确不结球白菜 *BraDof* 基因及其对高温胁迫的响应, 对 *BraDof* 基因家族成员进行鉴定, 并对其序列特征、系统进化及高温胁迫下的表达模式等进行分析。 共鉴定出 80 个 *BraDof* 基因家族成员, 分布在 10 条染色体上。 氨基酸长度介于 77 ~ 443 aa 之间, 分子量介于 2 617. 47 ~ 47 507. 74 Da 之间。 *BraDof* 蛋白属于亲水性蛋白, 大部分为不稳定蛋白, 亚细胞定位主要定位于细胞核。 顺式作用元件预测显示启动子区域包含 4 种激素类型响应元件、4 种胁迫类型响应元件、1 种光响应元件和 1 种细胞周期调控响应元件。 在不结球白菜、拟南芥、水稻和玉米的 *Dof* 基因家族系统进化关系中, *BraDof* 基因家族被分为 9 个亚族。 在响应高温胁迫时, *BraDof* 基因表现出不同表达模式, 其中 *BraC01g 001050. 1*、*BraC07g 019820. 1*、*BraC04g 014230. 1*、*BraC04g 022810. 1* 和 *BraC07g 034480. 1* 基因的表达量随胁迫时间延长持续上升。 研究结果为进一步探讨不结球白菜 *Dof* 基因响应高温胁迫的分子机制提供参考。

【关键词】不结球白菜; *Dof* 基因家族; 系统进化; 高温胁迫; 表达特征

【中图分类号】S634 【文献标志码】A 【文章编号】1674 - 5639 (2025) 06 - 0047 - 11

DOI: 10. 14091/j. cnki. kmxyxb. 2025. 06. 007

Dof (DNA binding with one finger) 转录因子是植物中特有的一类转录因子, 在种子发育、组织分化、代谢调控和胁迫响应等方面起着非常重要的作用^[1-6]。 *Dof* 蛋白氨基酸 N 端含有高度保守的 C2 - C2 型单锌指结构域, 可以与 DNA 和蛋白质结合并相互作用; C 端是特异转录调控结构域, 其序列的多变性和低保守性导致了 *Dof* 基因功能的多样性^[6]。 转录因子通过下游目的基因调控自身生长发育及胁迫响应^[7,8]。 目前, 与干旱、高温、生长发育等密切相关的 *Dof* 转录因子已被相继发现, 它们在提高抗性和适应性等方面具有重要作用^[9-11]。 抗高温干旱方面, He X 等^[12]发现热应激下石斛兰 *CgDof03*、*CgDof22*、*CgDof27*、*CgDof08* 和 *CgDof23* 显示出不同程度的上调, 进而表明 *Dof* 基因可响应高温胁迫。 孙守如等^[13]研究表明, 美洲南瓜中分布着 58 个 *Dof* 基因, 高温胁迫下, *CpDof7*、*CpDof30* 和 *CpDof42* 等与果实发育密切相关。 Zheng K H 等^[14]发现闽楠 *PbDof08* 和 *PbDof16* 基因在高温、干旱和光照胁迫下显著上调。 其他方面, 赵雅欣等^[15]发现欧李 *ChDof11*、*ChDof12* 和 *ChDof17* 基因均能响应盐、渗透 (PEG)、高温和低温胁迫。 甜菜 *BeDofs* 转录因子能够调控叶片衰老进程^[16]。 Song H 等^[17]发现向日葵 *HaDof* 基因在正常组织、激素处理或非生物胁迫下均有差异表达。 此外, *Dof* 基因家族在萝卜^[18]、红花^[19]、梨^[20]、大豆^[21]等众多植物中已被鉴定, 其响应环境胁迫的功能也得到了进一步验证。

* [收稿日期] 2025 - 02 - 25

[作者简介] 昂海燕, 女, 云南弥勒人, 昆明学院在读硕士研究生, 研究方向为蔬菜分子生物学。

** [通信作者] 荆赞革, 男, 河南灵宝人, 昆明学院副研究员, 博士, 研究方向为蔬菜分子生物学, E-mail: jingzange@aliyun. com.

[基金项目] 上海市科委农业领域项目 (23N11900200); 云南省地方本科高校基础研究联合专项项目 (202401BA070001-103), 云南省基础研究计划面上项目 (202501A1T070059), 云南省教育厅科学研究基金项目 (2024Y734, 2023Y0861)。

不结球白菜 (*Brassica campestris* ssp. *chinensis*) 属十字花科芸薹属, 原产于我国. 该作物生长周期短、适应性广、产量高, 在平均气温 18 ~ 20 ℃、阳光充足条件下生长较好, 在我国中部及以南地区可周年栽培种植^[22]. 《2024—2029 年中国白菜行业运营态势与投资前景调查研究报告》显示, 不结球白菜行业以黄淮流域为核心产区, 市场规模约 162 亿元, 占全国白菜产业的 40%^[23].

高温会破坏植物体内的生理生化平衡, 导致植物体内酶系统紊乱、细胞膜破坏、各组分改变等一系列生理生化变化^[24-26]. 在夏季高温条件下, 不结球白菜生长衰弱, 容易感染病虫害, 导致产量和品质严重下降^[27]. 何小艳等研究表明, 35 ℃ 以上高温导致株高、叶面积、鲜质量等指标显著降低, 40 ℃ 胁迫下产量降幅达 20% ~ 30%^[28]. 当前, 全基因组鉴定技术揭示了不同植物中 *Dof* 基因家族成员的结构和功能特征, 但不结球白菜 *BraDof* 基因家族的相关研究还缺少相关报道. 因此, 本文对 *BraDof* 基因家族进行全基因组鉴定与分析, 以期为进一步研究其响应高温胁迫的分子机制提供参考.

1 材料与方法

1.1 试验材料与处理

试验材料为不结球白菜 ‘NHCC19-203’. 种子播种于营养钵中, 五叶期时进行高温胁迫 (40 ℃) 处理 0, 6, 12 h, 光照培养箱光照强度为 12 000 lx, 空气湿度为 70% ~ 80%. 试验设置 3 次生物学重复. 处理结束后取第 3 片叶, 液氮速冻, -80 ℃ 保存, 用于 RNA 提取并反转合成 cDNA.

1.2 *BraDof* 基因家族成员鉴定、理化性质分析

从 NCCWDB 数据库 (<http://tbir.njau.edu.cn/NhCCDbHubs/index.jsp>) 下载不结球白菜基因组序列, 利用 TBtools 软件来检索 *BraDof* 的候选基因家族成员, 利用在线网站 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/bwrpsb/bwrpsb.cgi>) 对候选成员进行真实性检测. 利用 ProtParam 软件分析 *Dof* 家族成员的理化特性; 利用 WoLF PSORT 进行亚细胞定位预测.

1.3 *BraDof* 基因家族的保守基序和基因结构分析

利用 MEME (<http://meme-suite.org/tools/meme>) 搜索 *BraDof* 的保守基序. 利用在线网站 GSDS 2.0 (<http://lgsds.cbi.pku.edu.cn>) 对 *BraDof* 家族基因结构进行分析.

1.4 *BraDof* 基因家族染色体定位分析

获取不结球白菜基因组染色体长度和 *BraDof* 基因在染色体上的位置信息, 使用 MG2C 在线网站绘制染色体定位示意图.

1.5 *BraDof* 基因家族顺式作用元件分析

提取 *BraDof* 基因的启动子序列 (上游 1 500 bp 的序列), 将该文件提交至 Plant CARE 在线网站进行启动子顺式作用元件分析, 而后用 TBtools 进行可视化.

1.6 *BraDof* 基因家族与不同物种系统发育分析

使用 MEGA5.20 软件对不结球白菜、拟南芥、水稻和玉米的 *Dof* 蛋白序列进行多序列比对, 再用邻接法构建系统发育树, Bootstraps 重复次数设为 1 000.

1.7 *BraDof* 基因高温胁迫下的表达特征分析

使用 Beacon Designer 软件设计定量引物, 长度为 18 ~ 24 bp, 以 *Actin* (登录号: AF111812)^[29] 为内参, 见表 1. RT-qPCR 反应体系 (20 μL): 引物各 1 μL、2x M5 Hlper SYBR Premix 10 μL、cDNA 1 μL、无菌水 7 μL; RT-qPCR 反应程序: 95 ℃ 预变性 1 min, 95 ℃ 变性 15 s, 60 ℃ 退火 30 s, 72 ℃ 延伸 10 s, 42 个循环. qPCR 相对定量计算方式为 $2^{-\Delta\Delta C_t}$, 其中 C_t 值与起始模板量的对数存在线性关系.

表 1 引物序列

基因	正向引物 (5' - 3')	反向引物 (5' - 3')
<i>BraC02g 000490.1</i>	ACAGTAAGTCTCAAGATAGCA	ATCCAGCGTTGTAAGAAGA
<i>BraC07g 011770.1</i>	GGCTTCATCAACAACCTCTAC	CCATCATCTCACCAACCAT
<i>BraC08g 021770.1</i>	ACTGTCCAAGATGTAACCTCA	CCTTCCGTCCAATACCTT
<i>BraC09g 071170.1</i>	GGTGAAGATGGAAGAACAAC	TGATGATCGTTAGAAGAAGGA

续表 1

基因	正向引物 (5'-3')	反向引物 (5'-3')
<i>BraC01g 001050. 1</i>	TTCAAGCCTCCAAGTCAT	GGTCTATCATCGCTCTGT
<i>BraC01g 015170. 1</i>	TTCTTCTTCATCAGCAACAAT	ATCCTCCACTCAACATCC
<i>BraC07g 019820. 1</i>	TTACTATACTGATGTGACTATTGC	CTGTGACGACGACTCTTC
<i>BraC08g 034440. 1</i>	CACTGAAGATGGAAGAACAA	ACAAGAGTTGCTGCTGAT
<i>BraC09g 006070. 1</i>	GAGGAGGAGGAAGAACAG	AACGAGGACACTTGAGAG
<i>BraC05g 031670. 1</i>	CAACCTCTGCGTCTTCTC	CACCACCCATCTCCATAC
<i>BraC04g 014230. 1</i>	GAACATCAAGACCAGAATCC	TCTCGCTATCTCCACAAC
<i>BraC04g 034320. 1</i>	TTCATCAAGCATAACACAAGA	CACTCCAGTATCCATTATTAGG
<i>BraC03g 045240. 1</i>	ATCAAGTAGCAGCGAGAG	AGGCATATCAGTGTCATAA
<i>BraC04g 022810. 1</i>	GCTAACAAACAACAATGAG	GCTGTGGAAGAAGATAATACC
<i>BraC07g 034480. 1</i>	TGAGGATTATGAGAACAACAAT	GGAGAAGTATTATTAGGTGACATT
<i>Actin</i>	GTTGCTATCCAGGCTGTTCT	AGCGTGAGGAAGAGCATAAC

2 结果与分析

2.1 *BraDof* 基因家族成员的鉴定及理化分析

利用 Tltools 软件检索 *BraDof* 候选基因的家族成员，根据保守结构域、基因完整性和相似性等进行排除，最终从全基因组鉴定到 80 个 *BraDof* 基因家族成员，均为 C2C2 型锌指结构（表 2）。*BraDof* 蛋白的氨基酸长度介于 77 ~ 443 aa 之间，其中 *BraC04g014230. 1* 的氨基酸长度最长（443 aa），*BraC08g015170. 1* 的氨基酸长度最短（77 aa）；分子量大小介于 2 617. 47 ~ 47 507. 74 Da 之间；等电点介于 4. 73 ~ 10. 14 之间，其中共有 11 个蛋白的等电点小于 7；碱性蛋白远多于酸性蛋白。不稳定系数介于 30. 56 ~ 68. 35 之间，有 74 个蛋白的不稳定系数大于 40，大部分 *Dof* 为不稳定蛋白。脂肪系数介于 37. 54 ~ 63. 45 之间。*Dof* 蛋白的亲水系数介于 -1. 105 ~ -0. 340 之间，总平均亲水性均为负值。*Dof* 亚细胞定位主要定位于细胞核（72 个），其余少数定位于叶绿体（5 个）和线粒体（3 个）。

表 2 不结球白菜 *BraDof* 蛋白理化分析

基因 ID	氨基酸长度/aa)	分子量/Da	理论等电点	不稳定系数	脂肪族指数	亲水性	亚细胞定位
<i>BraC01g 001050. 1</i>	242	26 994. 300	9. 68	61. 51	53. 64	-0. 709	细胞核
<i>BraC01g 012030. 1</i>	246	27 607. 480	9. 33	49. 55	49. 84	-0. 813	细胞核
<i>BraC01g 012040. 1</i>	241	27 439. 330	9. 04	39. 72	51. 24	-0. 897	细胞核
<i>BraC01g 012050. 1</i>	249	28 223. 260	8. 81	33. 34	49. 20	-0. 860	细胞核
<i>BraC01g 012060. 1</i>	287	32 020. 000	8. 79	44. 57	61. 71	-0. 457	细胞核
<i>BraC01g 015170. 1</i>	345	37 377. 830	7. 69	48. 11	46. 64	-0. 827	细胞核
<i>BraC01g 024670. 1</i>	235	24 613. 280	9. 28	30. 56	58. 94	-0. 340	叶绿体
<i>BraC01g 036340. 1</i>	200	21 607. 010	9. 44	65. 15	40. 50	-0. 970	细胞核
<i>BraC02g 000490. 1</i>	406	42 813. 840	9. 26	60. 60	53. 65	-0. 644	细胞核
<i>BraC02g 010680. 1</i>	258	28 077. 150	8. 64	52. 49	46. 16	-0. 744	细胞核
<i>BraC02g 045010. 1</i>	286	30 966. 700	7. 07	47. 55	42. 27	-0. 845	细胞核
<i>BraC02g 046080. 1</i>	292	33 425. 630	8. 93	40. 95	57. 71	-0. 879	细胞核
<i>BraC02g 047630. 1</i>	304	34 175. 830	8. 79	48. 26	53. 88	-0. 873	细胞核
<i>BraC02g 048560. 1</i>	304	34 134. 770	8. 79	48. 89	53. 55	-0. 863	细胞核
<i>BraC03g 001050. 1</i>	403	42 483. 620	9. 17	62. 05	51. 84	-0. 611	细胞核
<i>BraC03g 011160. 1</i>	275	30 051. 480	8. 72	52. 69	46. 91	-0. 616	细胞核
<i>BraC03g 019880. 1</i>	283	30 212. 010	9. 24	46. 68	50. 04	-0. 633	细胞核
<i>BraC03g 024580. 1</i>	369	40 532. 520	8. 25	50. 64	50. 16	-0. 849	细胞核
<i>BraC03g 040820. 1</i>	205	22 294. 910	9. 15	60. 00	38. 59	-0. 960	细胞核
<i>BraC03g 045240. 1</i>	294	31 554. 460	7. 65	51. 86	44. 46	-0. 770	细胞核
<i>BraC03g 046360. 1</i>	242	25 436. 020	8. 13	41. 80	53. 68	-0. 429	细胞核
<i>BraC03g 047430. 1</i>	241	26 400. 970	5. 52	54. 11	58. 67	-0. 563	细胞核
<i>BraC03g 050970. 1</i>	148	17 026. 020	9. 74	47. 59	46. 08	-1. 092	细胞核

续表 2

基因 ID	氨基酸长度/aa)	分子量/Da	理论等电点	不稳定系数	脂肪族指数	亲水性	亚细胞定位
<i>BraC03g 050980.1</i>	206	23 306.590	6.65	49.11	52.91	-0.934	细胞核
<i>BraC03g 053300.1</i>	350	38 048.770	6.69	48.60	50.71	-0.764	细胞核
<i>BraC04g 000950.1</i>	322	35 938.390	8.91	46.33	41.55	-0.967	细胞核
<i>BraC04g 005150.1</i>	350	38 434.910	8.77	57.67	48.49	-0.873	细胞核
<i>BraC04g 014230.1</i>	443	47 507.740	5.51	55.08	53.16	-0.766	细胞核
<i>BraC04g 022560.1</i>	286	31 372.770	8.44	53.64	53.81	-0.783	细胞核
<i>BraC04g 022810.1</i>	344	36 872.550	9.25	45.17	55.32	-0.694	细胞核
<i>BraC04g 026480.1</i>	157	17 570.070	9.68	45.22	60.32	-0.660	叶绿体
<i>BraC04g 028610.1</i>	246	2 617.470	9.39	49.97	51.54	-0.649	细胞核
<i>BraC04g 034320.1</i>	376	41 116.010	8.91	49.07	46.86	-0.851	细胞核
<i>BraC05g 001670.1</i>	365	40 029.100	8.85	52.77	49.62	-0.811	细胞核
<i>BraC05g 008300.1</i>	325	34 787.060	9.06	51.42	53.48	-0.680	细胞核
<i>BraC05g 031670.1</i>	195	21 234.630	9.22	57.87	37.54	-1.062	细胞核
<i>BraC06g 016450.1</i>	253	28 563.230	4.73	57.18	52.45	-0.829	细胞核
<i>BraC06g 017120.1</i>	253	28 473.110	4.76	56.67	52.85	-0.816	细胞核
<i>BraC06g 019610.1</i>	427	46 956.370	8.85	52.19	47.78	-0.898	细胞核
<i>BraC06g 020320.1</i>	426	46 809.190	8.86	51.50	47.65	-0.894	细胞核
<i>BraC06g 031800.1</i>	237	27 371.550	8.16	47.21	49.70	-1.011	细胞核
<i>BraC06g 032450.1</i>	368	39 368.520	8.03	40.91	56.47	-0.600	细胞核
<i>BraC06g 035210.1</i>	306	33 998.520	8.69	46.22	51.93	-0.864	细胞核
<i>BraC07g 011440.1</i>	177	19 599.300	9.53	55.35	63.45	-0.602	线粒体
<i>BraC07g 011770.1</i>	303	32 854.490	9.53	58.00	57.59	-0.619	细胞核
<i>BraC07g 015240.1</i>	262	29 432.390	4.86	68.35	54.73	-0.710	细胞核
<i>BraC07g 016950.1</i>	220	23 296.790	9.10	44.34	54.09	-0.424	叶绿体
<i>BraC07g 019820.1</i>	413	45 475.880	7.09	58.74	54.82	-0.759	细胞核
<i>BraC07g 030260.1</i>	386	42 620.070	9.00	58.47	47.02	-0.857	细胞核
<i>BraC07g 034480.1</i>	368	40 685.050	8.91	54.12	48.48	-0.833	细胞核
<i>BraC08g 002630.1</i>	201	21 977.440	9.11	64.06	51.44	-0.805	细胞核
<i>BraC08g 015160.1</i>	254	29 007.690	7.21	48.56	46.77	-1.033	细胞核
<i>BraC08g 015170.1</i>	77	8 763.100	10.14	30.99	59.48	-0.755	细胞核
<i>BraC08g 015190.1</i>	263	30 071.050	8.40	43.10	49.96	-0.966	细胞核
<i>BraC08g 015240.1</i>	263	30 137.140	8.66	49.67	49.20	-1.005	细胞核
<i>BraC08g 021770.1</i>	352	38 352.960	7.70	45.49	49.60	-0.817	细胞核
<i>BraC08g 024780.1</i>	175	19 427.060	9.48	44.00	61.37	-0.539	线粒体
<i>BraC08g 025120.1</i>	326	35 351.370	9.29	58.05	60.09	-0.558	细胞核
<i>BraC08g 026810.1</i>	335	37 880.740	8.04	63.91	54.06	-0.902	细胞核
<i>BraC08g 034440.1</i>	270	29 112.200	9.58	46.89	60.00	-0.676	细胞核
<i>BraC09g 000810.1</i>	297	33 326.420	7.75	49.15	38.75	-1.105	细胞核
<i>BraC09g 006070.1</i>	266	28 617.330	7.13	51.10	40.75	-0.763	细胞核
<i>BraC09g 006920.1</i>	340	36 608.500	8.05	50.85	53.68	-0.685	细胞核
<i>BraC09g 008030.1</i>	285	31 897.240	8.88	49.10	48.21	-0.896	细胞核
<i>BraC09g 008610.1</i>	211	22 571.070	9.20	41.57	56.45	-0.463	线粒体
<i>BraC09g 013240.1</i>	341	36 757.580	8.44	55.35	54.11	-0.715	细胞核
<i>BraC09g 041370.1</i>	175	19 276.750	9.35	47.28	56.40	-0.691	细胞核
<i>BraC09g 042070.1</i>	297	32 313.860	9.15	62.02	54.48	-0.650	叶绿体
<i>BraC09g 045000.1</i>	332	37 733.580	7.59	65.95	48.98	-0.898	细胞核
<i>BraC09g 048430.1</i>	222	23 903.510	8.80	39.05	53.15	-0.518	细胞核
<i>BraC09g 050410.1</i>	242	26 820.580	5.98	45.50	58.39	-0.676	细胞核
<i>BraC09g 050560.1</i>	220	23 648.240	8.56	37.48	53.64	-0.493	细胞核
<i>BraC09g 051190.1</i>	242	26 829.550	5.92	45.15	58.39	-0.674	细胞核
<i>BraC09g 054010.1</i>	343	37 571.390	9.22	53.97	56.03	-0.741	细胞核

续表 2

基因 ID	氨基酸长度/aa)	分子量/Da	理论等电点	不稳定系数	脂肪族指数	亲水性	亚细胞定位
<i>BraC09g059420.1</i>	327	36 316.120	9.27	44.17	46.82	-0.865	细胞核
<i>BraC09g071170.1</i>	317	34 605.110	9.38	44.60	55.08	-0.884	细胞核
<i>BraC10g006290.1</i>	223	23 337.630	6.58	53.75	58.25	-0.462	叶绿体
<i>BraC10g018850.1</i>	258	27 910.900	8.88	55.37	42.79	-0.704	细胞核
<i>BraC10g035120.1</i>	360	38 450.320	9.13	59.24	48.28	-0.678	细胞核
<i>BraCxxg006700.1</i>	261	29 215.210	5.07	67.95	57.16	-0.659	细胞核

2.2 *BraDof* 基因家族的保守基序和基因结构分析

BraDof 中一共含有 10 个 Motif 类型, 所有成员均含有 Motif1, 说明 Motif1 是 *BraDof* 基因中保守性强的保守基序. 在 *BraDof* 家族基因中, Motif1、Motif4、Motif6 和 Motif9 类型的保守基序出现频率最高 (图 1). 位于同一亚族内的成员具有相似的 Motif 类型. 基因结构分析表明, *BraDof* 基因的编码区 (CDS) 和非翻译区域 (UTR) 长度和大小不同, 内含子数目和长度也存在较大差异, 但同一亚族的基因成员结构较为相似, 其中 *BraC03g011160.1* 含有最长的内含子区域, *BraC04g026480.1* 含有最短的内含子区域, 44 个 *BraDof* 基因不含内含子.

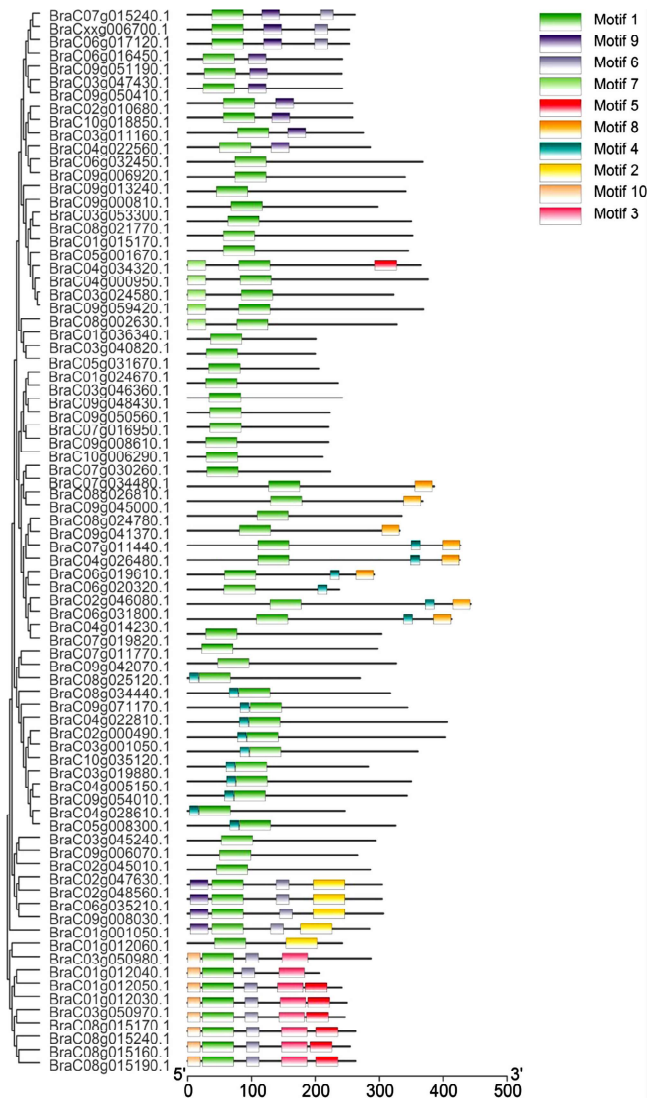


图 1 *BraDof* 基因家族系统发育树和保守基序

2.3 BraDof 基因家族染色体定位分析

79 个 *BraDof* 基因分布在 10 条染色体上 (Chrom01 ~ Chrom10), 有 1 个基因并未锚定到具体染色体上 (图 2). 其中, Chrom09 染色体上分布的 *Dof* 基因数目最多 (16), Chrom03 染色体上分布的 *Dof* 基因数目次之 (11). Chrom05 和 Chrom10 染色体上 *Dof* 基因数目分布最少, 均为 3 个.

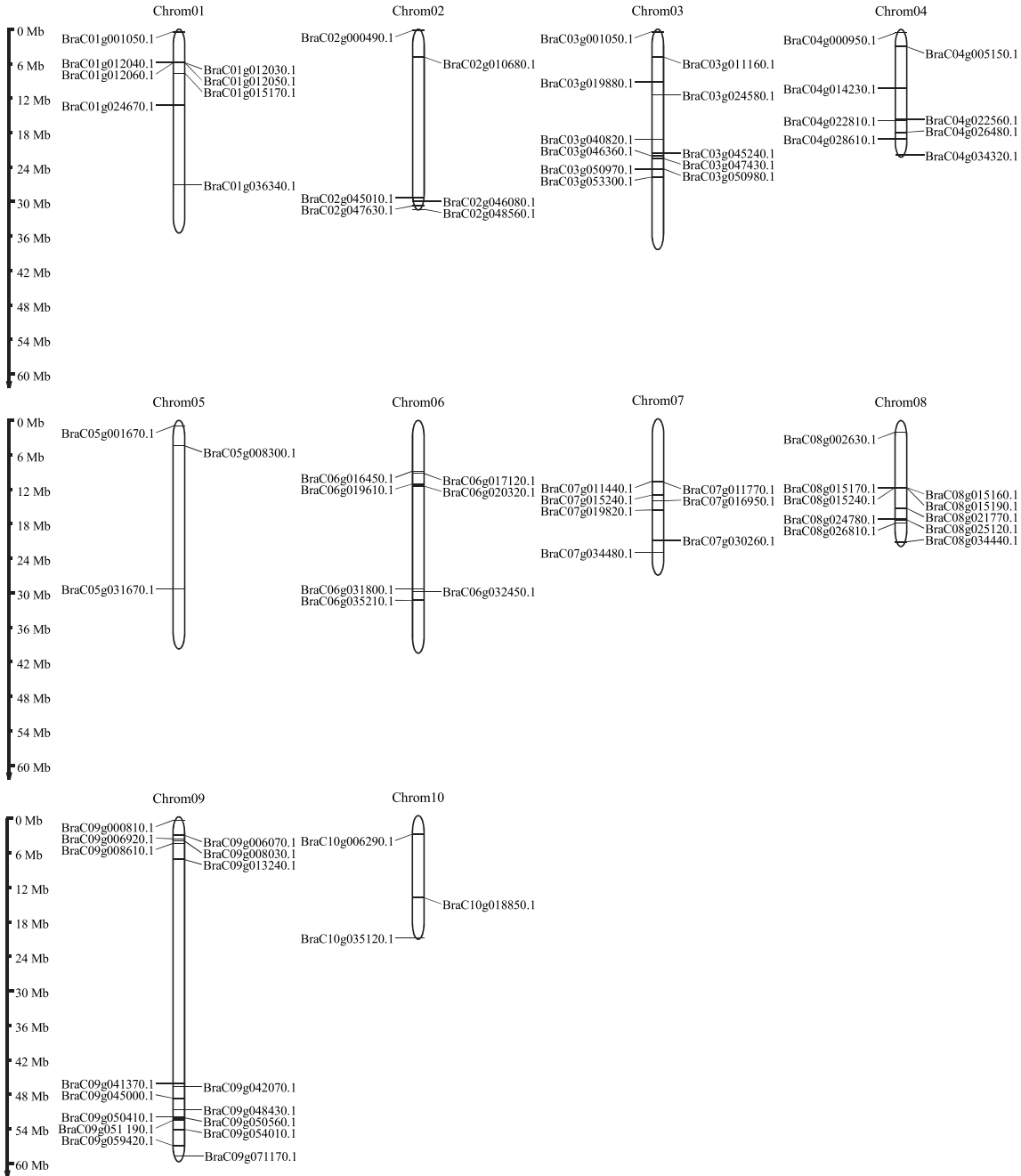


图 2 BraDof 基因家族染色体定位

2.4 BraDof 基因家族顺式作用元件分析

在 80 个 *BraDof* 基因成员的启动子区域找到 4 种激素类型响应元件 (脱落酸、水杨酸、生长素和赤霉素响应元件)、4 种胁迫类型响应元件 (干旱、防御和应激、低温以及茉莉酸甲酯响应元件)、1 种光 (Light) 响应元件和 1 种细胞周期调控响应元件, 共 10 种顺式元件. 其中, 低温响应元件存在于 31 个基因中, 且在 *BraC03g 045240.1* 基因上存在元件最多; 光响应元件存在于 56 个基因中; 干旱响应元件存在于 32 个基因中, 且分布均较为均匀. 大部分 *BraDof* 基因上分布多种响应元件 (图 3).

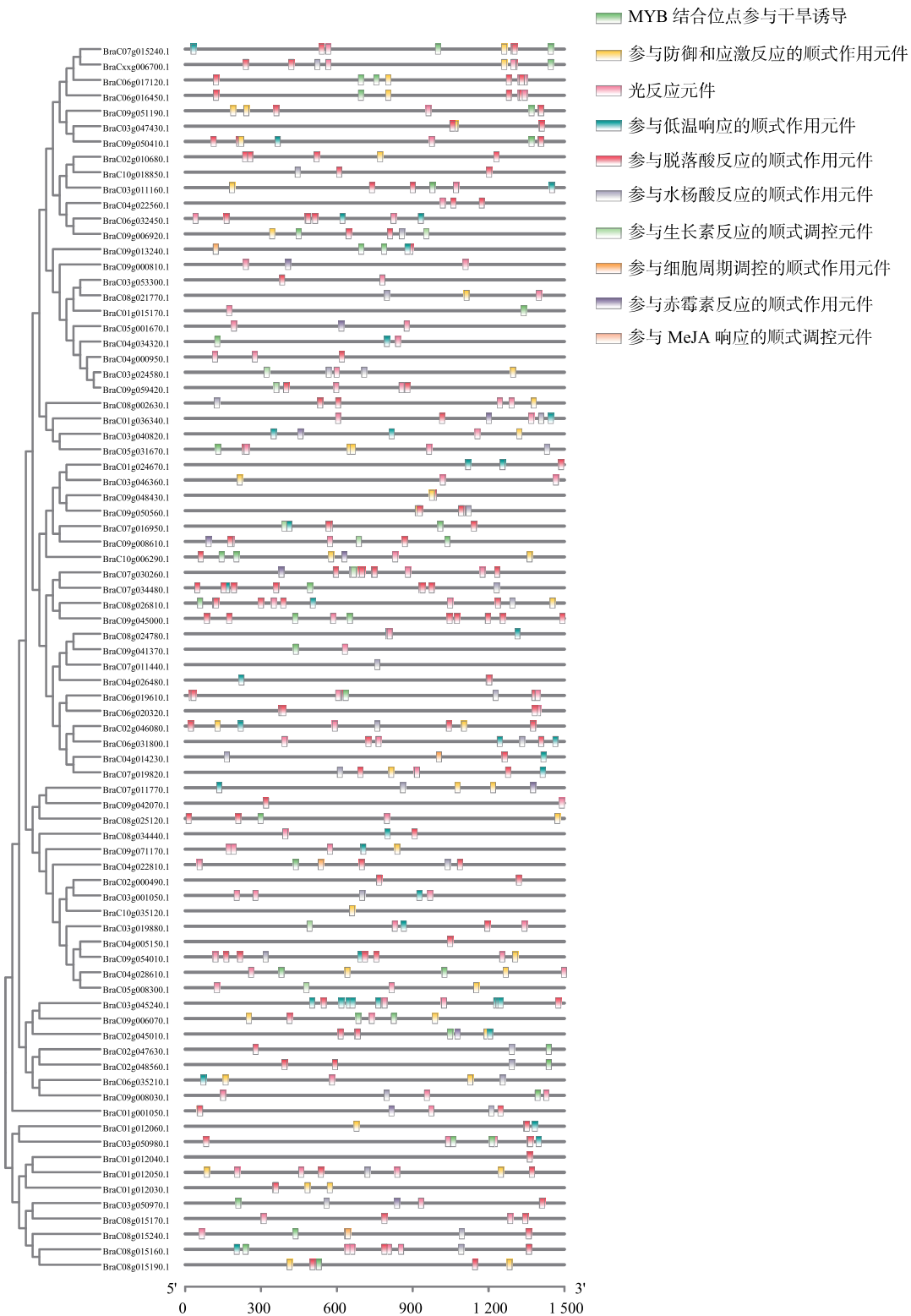


图3 不结球白菜 *BraDof* 基因家族启动子序列顺式元件分析

2.5 *BraDof* 基因家族与不同物种系统发育分析

系统进化结果显示: *Dof* 成员被清晰地分为 9 个大的亚家族 (A – I), 9 个亚家族中均有 *BraDof* 基因成员的分布 (图 4). 其中, E 亚家族中的成员分布最多 (61); F 亚家族中的成员分布最少 (2), 仅包含不结球白菜和玉米的成员. 不结球白菜、拟南芥、水稻和玉米的 *Dof* 基因家族成员在进化树中的分布高度

相似, 四者多数基因成员均分布在 E 亚家族中, 余下成员分布在除 F 亚家族外的亚家族中, 说明 *BraDof* 基因家族与拟南芥、水稻和玉米的进化发育相近, 在进化过程中经历了相似的分化和功能保守性。

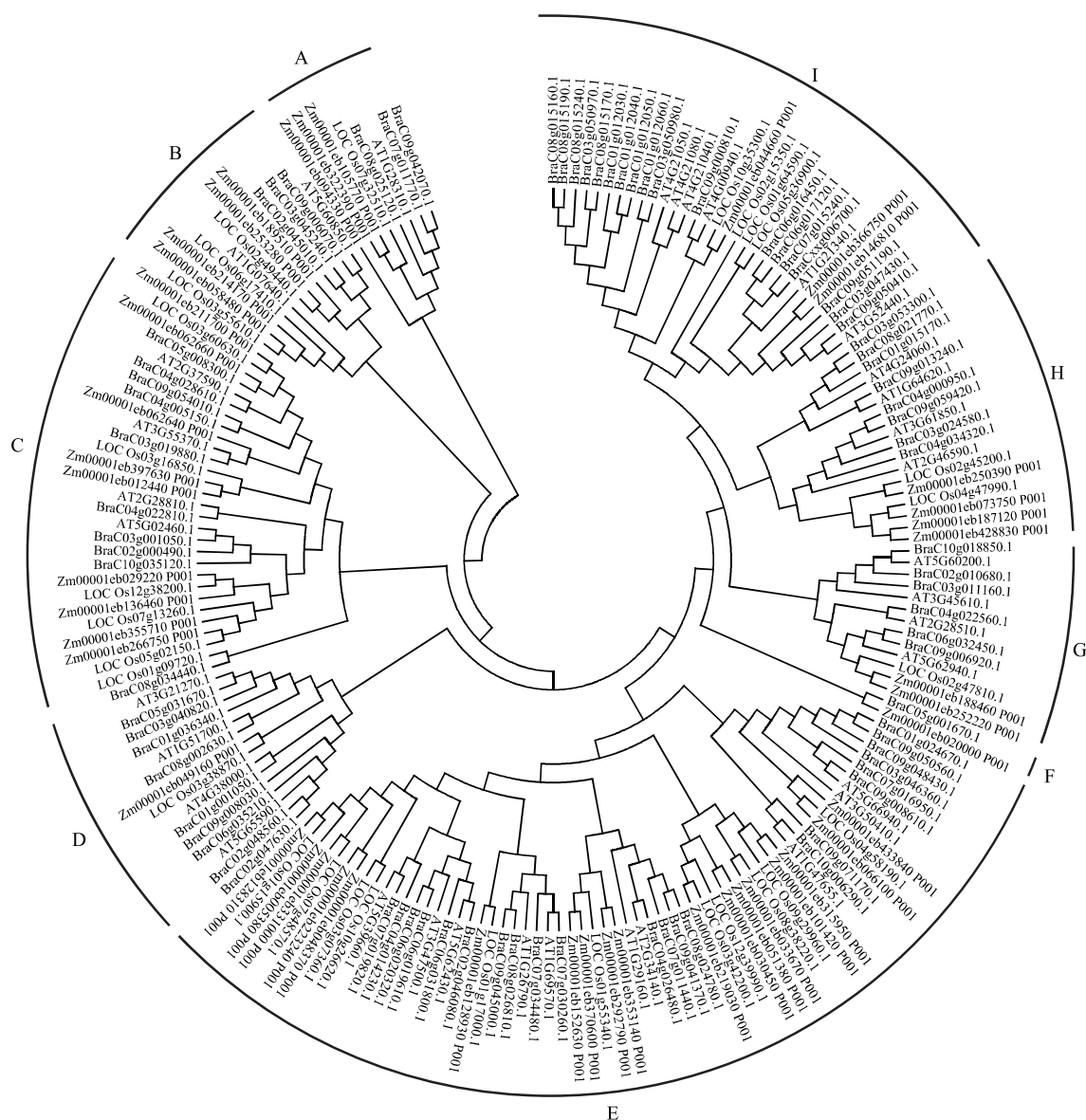
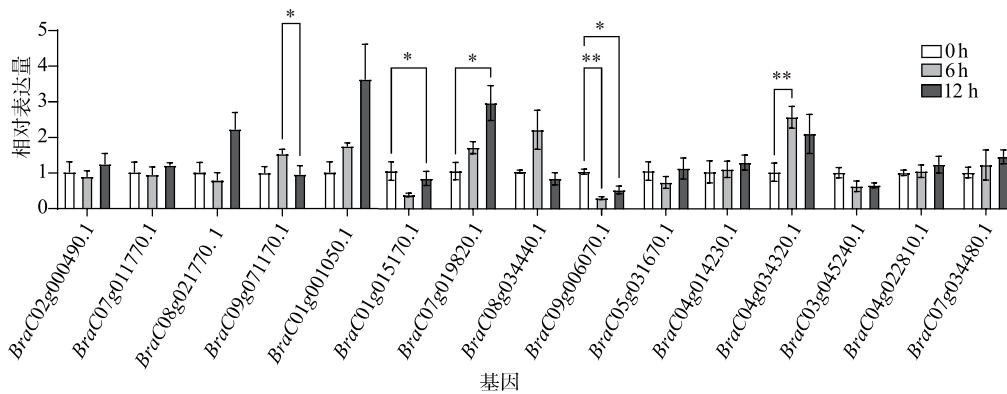


图4 *Dof* 系统发育树

2.6 不结球白菜高温胁迫下 *BraDof* 基因的表达特征分析

荧光定量 PCR 结果 (图 5) 表明, 筛选出的 *BraDof* 基因均对高温胁迫产生响应。高温胁迫处理 12 h 内, 随胁迫时间延长, *BraC02g 000490.1*、*BraC07g 011770.1*、*BraC08g 021770.1*、*BraC01g 015170.1*、*BraC09g 006070.1*、*BraC05g 031670.1* 和 *BraC03g 045240.1* 基因的表达量先下降后上升。其中 *BraC01g 015170.1* 和 *BraC09g 006070.1* 基因在胁迫处理 12 h 的表达量均显著低于 0 h 的表达量, *BraC09g 006070.1* 基因在胁迫处理 0 h 和 6 h 之间的表达量差异极为显著。 *BraC09g 071170.1*、*BraC08g 034440.1* 和 *BraC04g 034320.1* 基因的表达量先上升后下降; 其中 *BraC09g 071170.1* 基因在胁迫处理 12 h 的表达量显著低于胁迫处理 6 h 的表达量, *BraC04g 034320.1* 基因在胁迫处理 0 h 和 6 h 之间的表达量差异极为显著。 *BraC01g 001050.1*、*BraC07g 019820.1*、*BraC04g 014230.1*、*BraC04g 022810.1* 和 *BraC07g 034480.1* 基因的表达量随胁迫时间延长持续上升。其中 *BraC07g 019820.1* 在胁迫处理 12 h 的表达量显著高于胁迫处理 0 h 的表达量。



注: * 表示差异显著 ($P < 0.05$); ** 表示差异极显著 ($P < 0.01$).

图5 高温胁迫下部分 *BraDof* 基因的表达特征

3 讨论

全基因组数据分析为 *Dof* 家族基因的克隆和功能验证奠定关键基础^[30]. 目前, 已有多种植物的 *Dof* 基因得到鉴定, 例如, 水稻^[31]、玉米^[32]、烟草^[33] 和欧李^[13] 中分别发现 30、46、69 和 23 个 *Dof* 基因. 本研究采用生物信息学方法在不结球白菜基因组数据库中鉴定出 80 个 *Dof* 基因. 其数量明显多于水稻、玉米和欧李中的 *Dof* 基因数, 与烟草中的 *Dof* 基因数较为相近. 不同物种间 *Dof* 基因数量存在显著差异, 揭示了该基因家族的进化具有多样性和复杂性.

BraDof 蛋白的氨基酸长度 (77 ~ 443 aa) 与水稻^[31] (175 ~ 551 aa)、烟草^[33] (128 ~ 527 aa) 比相对较短; 且其分子量 (2 617.47 ~ 47 507.74 Da) 与水稻^[31] (17.37 ~ 59.97 kDa)、烟草^[33] (14.70 ~ 58.48 kDa) 相比较小, 而其等电点则 (4.73 ~ 10.14) 大于烟草^[33] (4.51 ~ 9.78). 该家族成员蛋白均属于亲水性蛋白, 与赵雅欣等^[15] 研究结果一致; 然而, 大部分蛋白为不稳定蛋白, 与赵雅欣等^[15] 研究结果存在差异. 可见 *Dof* 基因成员的理化性质在不同物种间存在差异.

玉米中的 *Dof* 基因分布在 9 条染色体上^[32]. 而本研究发现, 不结球白菜的 79 个 *BraDof* 基因则分布在 10 条不同的染色体上. 本研究的亚细胞定位结果显示, 不结球白菜中有 72 个 *BraDof* 基因定位于细胞核. 这与黄州^[31] 和赵雅欣等^[15] 在不同物种中的研究存在差异, 表明 *BraDof* 基因在不结球白菜中的分布更为广泛. MEME 分析表明, *BraDof* 基因中一共含有 10 个 Motif 类型. 值得注意的是, Motif1 存在于所有 *Dof* 蛋白中, 这表明它是该家族一个高度中保守的基序. 这一发现与黄州等^[31] 研究结果一致, 进一步确认了 Motif 1 在 *Dof* 蛋白中的核心地位.

基于不结球白菜、拟南芥、水稻和玉米的 *Dof* 基因家族系统发育关系, 不结球白菜 *BraDof* 基因可分为 9 个亚家族, 与既往研究结果相符^[33]. 此种跨物种的高度保守性反映 *Dof* 基因在植物生长发育和基因表达调控中具有一定的保守性.

本研究顺式作用元件预测表明, 80 个基因成员的启动子区域共找到 4 种激素类型响应元件、4 种胁迫类型响应元件、1 种光 (Light) 响应元件和 1 种细胞周期调控响应元件, 比赵雅欣等^[15] 在欧李中发现的响应元件类型与数量更多, 由此推断 *BraDof* 基因家族成员积极参与不结球白菜逆境胁迫反应.

绝大多数 *BraDof* 基因均对高温胁迫产生响应, 且呈现出多种相对表达模式, 与 Zheng K^[14] 和赵雅欣等^[15] 的研究类似. 随着胁迫时间延长, *BraC02g000490.1* 和 *BraC07g011770.1* 等 7 个基因的表达量先下降后上升; *BraC09g071170.1*、*BraC08g034440.1* 和 *BraC04g034320.1* 基因的表达量先上升后下降, 而其他基因的表达量持续上升, 表明不结球白菜中的 *Dof* 基因家族成员在高温胁迫下的表达方式存在差异, 以不同方式响应逆境的应答.

4 结论

Dof 基因家族在植物逆境响应等过程中发挥重要调控作用. 鉴定不结球白菜 *Dof* 基因家族, 检测其高温胁迫下的表达特征, 不仅能够从分子层面解析 *BraDof* 对高温胁迫的响应机制, 还能为培育耐热品种提供理论基础和实践指导, 对于保障不结球白菜的稳定生产、满足市场需求具有重要现实意义. 本研究从

不结球白菜中鉴定出 80 个 *Dof* 基因家族成员, 它们分布于 10 条染色体上, 对应编码的氨基酸长度介于 77 ~ 443 aa 之间, 分子量介于 2 617.47 ~ 47 507.74 Da 之间. 理化分析结果表明, 该家族成员蛋白均属于亲水性蛋白, 大部分蛋白为碱性蛋白且稳定性较差. 启动子序列分析发现, 不结球白菜 *BraDof* 基因启动子区域存在多个与激素和胁迫相关的顺式调控元件. 系统进化分析将其划分为 9 个亚家族. 在响应高温胁迫时, 该基因家族成员中的 *BraC01g 001050.1*、*BraC07g 019820.1*、*BraC04g 014230.1*、*BraC04g 022810.1* 和 *BraC07g 034480.1* 基因的表达量随胁迫时间延长持续上升.

[参考文献]

- [1] 付嘉欣, 刘赫, 于冰, 等. 甜菜 *BvDof* 转录因子家族全基因组鉴定及盐胁迫应答分析 [J]. 黑龙江大学自然科学学报, 2025, 42 (2): 191-201.
- [2] 张洁雯, 刘建国, 蔡墩旭, 等. *Dof* 转录因子在植物碳氮代谢中的调控作用综述 [J]. 江苏农业科学, 2022, 50 (15): 6-13.
- [3] RUTA V, LONGO C, LEPRI A, et al. The DOF transcription factors in seed and seedling development [J]. Plants, 2020, 9 (2): 218.
- [4] WEI P C, TAN F, GAO X Q, et al. Overexpression of AtDOF4.7, an Arabidopsis DOF family transcription factor, induces floral organ abscission deficiency in Arabidopsis [J]. Plant Physiology, 2010, 153 (3): 1031-1045.
- [5] 王康宇, 郭彦秀, 马翀, 等. 吉林人参 *Dof* 基因家族的鉴定及表达模式分析 [J]. 中国中药杂志, 2022 (1): 62-71.
- [6] 刘俊, 金钰, 吴耀松, 等. 植物 *Dof* 基因结构特点及功能研究进展 [J]. 生物技术通报, 2020, 47 (1): 180-190.
- [7] WASCHBURGER E L, FILGUEIRAS J P C, TURCHETTO-ZOLET A C. DOF gene family expansion and diversification [J]. Genetics and Molecular Biology, 2024, 46 (3 Suppl 1): 20230109.
- [8] LIAO B, LIANG P, TONG L, et al. The role of liriiodendron *dof* gene family in abiotic stress response [J]. Plants, 2024, 13 (14): 2009-2009.
- [9] WANG S, BAI Y, LI P, et al. Genome-wide identification and expression analysis of the *dof* (DNA binding with one finger) protein family in monocot and dicot species [J]. Physiological and Molecular Plant Pathology, 2019, 108: 101431.
- [10] 卢宏杰, 侯喜林. 不结球白菜 GRAS 基因家族鉴定及其在低温胁迫下的表达分析 [J/OL]. 分子植物育种, 2024: 1-11. (2024-04-19). <https://kns.cnki.net/KCMS/detail/detail.aspx?filename=FZZW20240415008&dbname=CJFD&dbcode=CJFQ>.
- [11] 朱红芳, 高璐, 何小艳, 等. 高温和淹水胁迫对不结球白菜纤维素相关酶活性的影响 [J]. 分子植物育种, 2022, 20 (15): 5107-5114.
- [12] HE X, ZHANG M M, HUANG Y, et al. Genome-based identification of the *Dof* gene family in three cymbidium species and their responses to heat stress in *Cymbidium goeringii* [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2024, 25 (14): 7662.
- [13] 孙守如, 胡德菊, 常静依, 等. 美洲南瓜 *Dof* 基因家族鉴定与表达模式分析 [J]. 中国瓜菜, 2023, 36 (5): 16-28.
- [14] ZHENG K, LV M, QIAN J, et al. Identification and characterization of the DOF gene family in *Phoebebournei* and its role in abiotic stress: drought, heat and light stress [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2024, 25 (20): 11147.
- [15] 赵雅欣, 郭夕雯, 郭子微, 等. 欧李 *Dof* 基因家族鉴定及非生物胁迫表达分析 [J]. 经济林研究, 2023, 41 (1): 143-153.
- [16] 倪渊嵘, 翟妍, 刘大丽, 等. 外源 ABA 处理下甜菜 *BvDofs* 家族全基因组序列鉴定与表达分析 [J/OL]. 分子植物育种, 2023: 1-11 (2023-10-10). <https://kns.cnki.net/KCMS/detail/detail.aspx?filename=FZZW20231007001&dbname=CJFD&dbcode=CJFQ>.
- [17] SONG H, JI X, WANG M, et al. Genome-wide identification and expression analysis of the *Dof* gene family reveals their involvement in hormone response and abiotic stresses in sunflower (*Helianthus annuus* L.) [J]. Gene, 2024, 910: 148336.
- [18] GOU C, LI J, CHEN B, et al. Genome wide identification of *Dof* transcription factors in Carmine radish reveals RsDof33 role in cadmium stress and anthocyanin biosynthesis [J]. Scientific Reports, 2025, 15: 4766.
- [19] 贾昶. 红花 *Dof* 家族生物信息学分析及 *CtDof2* 基因的功能鉴定 [D]. 长春: 吉林农业大学硕士学位论文, 2022.
- [20] 刘金明, 郭彩华, 袁星, 等. 梨 *Dof* 家族基因鉴定及其在宿存与脱落萼片中的表达分析 [J]. 园艺学报, 2022, 49 (8): 1637-1649.
- [21] 赵秋竹. 大豆 *Dof* 类转录因子 *GmDof4* 和 *GmDof11* 调控油脂合成的功能研究 [D]. 长春: 吉林农业大学硕士学位论文

- 文, 2023.
- [22] 侯喜林, 李英, 刘同坤. 不结球白菜遗传育种与分子生物学研究进展 [J]. 南京农业大学学报, 2022, 45 (5): 864-873.
- [23] 中国报告大厅. 2024—2029 年中国白菜行业运营态势与投资前景调查研究报告 [R/OL]. (2024-09-06) [2025-03-22]. <https://www.chinabgao.com/report/14885582.html>.
- [24] 贾婧怡, 陶心怡, 魏艳欣, 等. 高温胁迫对不结球白菜幼苗生理指标的影响及相关基因筛选 [J]. 江苏农业科学, 2024, 52 (17): 140-148.
- [25] 王坤, 杨淑华, 丁杨林. 植物应答高温胁迫的机制研究进展 [J]. 植物生理学报, 2023, 59 (4): 759-772.
- [26] 高璐, 李晓峰, 奚丹丹, 等. 不同温度条件下淹水胁迫对不结球白菜植物激素的影响 [J]. 上海农业学报, 2022, 38 (1): 33-40.
- [27] 余长春, 罗本钊, 傅强, 等. 不结球白菜遗传多样性分析以及耐热性鉴定 [J]. 华中农业大学学报, 2021, 40 (6): 119-125.
- [28] 何小艳, 朱红芳, 李晓峰, 等. 高温和淹水胁迫对不结球白菜生长发育的影响 [J]. 上海农业学报, 2021, 37 (2): 38-45.
- [29] 张飞雪, 虞章红, 刘坤宇, 等. 不结球白菜醛酮还原酶 *BcAKR4C9* 基因的克隆及表达分析 [J]. 南京农业大学学报, 2018, 41 (2): 240-247.
- [30] 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.
- [31] 黄州, 任伟芳, 黄永萍, 等. 水稻 *Dof* 家族的全基因组鉴定及干旱处理表达模式分析 [J/OL]. 分子植物育种, 2024; 1-15 (2024-04-19). <https://kns.cnki.net/KCMS/detail/detail.aspx?filename=FZZW2024041500D&dbname=CJFD&dbcode=CJFQ>.
- [32] 葛敏, 吕远大, 李坦, 等. 玉米 *Dof* 转录因子家族的全基因组鉴定与分析 [J]. 中国农业科学, 2014, 47 (23): 4563-4572.
- [33] 赵振祥, 崔露莹, 周东波, 等. 普通烟草 *Dof* 转录因子家族的全基因组鉴定与分析 [J]. 中国烟草科学, 2022, 43 (4): 70-78.

Identification of *BraDof* Gene Family and Expression Characteristics under High Temperature Stress in Non-head Chinese Cabbage

ANG Haiyan¹, PEI Xuli¹, KANG Jiaxiang¹, HUANG Yonglian¹, JING Zange¹,
HU Jingfeng², LI Xiaofeng³, SUN Mao⁴, WANG Mengyuan¹

(1. School of Agronomy and Life Sciences, Kunming University, Kunming, Yunnan, China 650214; 2. Horticultural Crop Research Institute in Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming, Yunnan, China 650205; 3. Shanghai Key Laboratory of Protected Horticulture Technology, Protected Horticultural Research Institute, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai, China 201106; 4. School of Agriculture, Yunnan University, Kunming, Yunnan, China 650091)

Abstract: High temperature can seriously affect the commercial quality of non-heading Chinese cabbage. The *Dof* gene family is involved in the growth and development process in plants and plays important roles in response to environmental stress. To clarify the *BraDof* gene in non-heading Chinese cabbage, this study identified the members of *BraDof* gene family and analyzed their sequence characteristics, system evolution, and expression patterns under high-temperature stress. A total of 80 *BraDof* members were identified, which were distributed on 10 chromosomes. Their amino acid length ranges from 77 to 443 aa, and the molecular weight is between 2 617.47 and 47 507.74 Da. All *BraDof* proteins were hydrophilic proteins, most of which were unstable proteins, and their subcellular localizations were mainly in nucleus. The cis-acting element prediction showed that the promoter region contained four hormone type response elements, four stress type response elements, one light response element and one cell cycle regulatory response element. In the systematic evolutionary relationship of the *Dof* gene family in non-head Chinese cabbage, *Arabidopsis thaliana*, rice and corn, the *BraDof* gene family could be divided into nine subfamilies. In response to high-temperature stress, the *BraDof* gene exhibited different expression patterns in leaves. Among them, the expression levels of *BraC01g001050.1*, *BraC07g019820.1*, *BraC04g01423.1*, *BraC04g022810.1* and *BraC07G0344801.1* continued to increase with the extension of stress time. The research results can provide a reference for further studying the molecular mechanism of *BraDof* under high-temperature stress in Non-head Chinese cabbage.

Key words: non-heading chinese cabbage; *dof* gene family; system evolution; high temperature stress; expression pattern

(责任编辑: 陈伟超)