

## 巨桉 ARF 转录因子的鉴定与表达分析

何春玲<sup>1</sup>, 齐妍<sup>2</sup>, 沈超<sup>2\*</sup>

(1. 茂名市农业科技推广中心, 广东茂名 525000; 2. 广东石油化工学院生物与食品工程学院, 广东茂名 525000)

**摘要** [目的]揭示巨桉基因组中生长素响应因子(auxin response factor, ARF)基因家族的特征,为深入解析其生物学功能奠定基础。[方法]基于生物信息学分析巨桉中鉴定出17个ARF基因,并对其基因结构特征和表达模式进行综合研究。[结果]巨桉ARF不均匀分布在9条染色体上,二级结构均含有 $\alpha$ -螺旋、延伸链、无规卷曲和 $\beta$ -转角。根据系统发生关系分成4个亚族。表达分析表明ARF基因在巨桉的根、茎、叶等各组织中均有表达,但表达量存在差异。[结论]巨桉*Eucgr. F04380*、*Eucgr. D00264*和*Eucgr. D00588*在花中特异性表达,*Eucgr. D01764*、*Eucgr. E00888*和*Eucgr. K03433*在分生组织中特异性表达。

**关键词** 巨桉;ARF;系统进化;表达分析

中图分类号 S792.39 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2022)17-0083-06

doi:10.3969/j.issn.0517-6611.2022.17.021



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

**Identification and Characterization of ARF Transcription Factors in *Eucalyptus grandis***HE Chun-ling<sup>1</sup>, QI Yan<sup>2</sup>, SHEN Chao<sup>2</sup> (1. Maoming Agricultural Science and Technology Extension Center, Maoming, Guangdong 525000; 2. School of Biological and Food Engineering, Guangdong University of Petrochemical Technology, Maoming, Guangdong 525000)

**Abstract** [Objective] This study aims to reveal the characteristics of the auxin response factor (ARF) gene family in the genome of *Eucalyptus grandis* and lay a foundation for further understanding its biological function. [Method] Based on bioinformatics analysis, 17 ARF genes were identified in *Eucalyptus grandis*, and their structural characteristics and expression patterns were comprehensively studied. [Result] The ARF of *Eucalyptus grandis* is unevenly distributed on 9 chromosomes, and the secondary structure contains  $\alpha$ -helix, extended strand, random coil and  $\beta$ -turn. According to the phylogenetic relationship, it is divided into four sub-families. Expression analysis showed that the ARF gene is expressed in the roots, stems and leaves of *Eucalyptus grandis*, but the amount of expression is different. [Conclusion] *Eucgr. F04380*, *Eucgr. D00264*, and *Eucgr. D00588* are specifically expressed in flowers, and *Eucgr. D01764*, *Eucgr. E00888* and *Eucgr. K03433* are specifically expressed in meristems, laying the foundation for further exploration of their functional identification.

**Key words** *Eucalyptus grandis*; ARF gene; Phylogenetic evolution; Expression analysis

生长素是在植物的胚胎形成、发育、叶片成熟和衰老、不定根的形成、果实发育等生长过程中起着调控作用的一种关键的植物激素,能够促进或者抑制靶基因合成产物<sup>[1]</sup>。生长素响应因子(auxin response factor, ARF)是植物中广泛存在的影响生长素信号转导的重要转录因子,其特异性结合生长素响应元件TGTCTC,从而影响基因的表达,调控植物的生长发育<sup>[2]</sup>。在1997年,Ulmasov等<sup>[3]</sup>在拟南芥中鉴定出第一个生物素响应因子,将其命名为AtARF1。测序技术的发展极大地推动了基因组测序的发展,使越来越多物种的ARF基因家族被鉴定,研究发现ARF在不同物种间表现出差异化,且以多基因家族的形式存在<sup>[4]</sup>。目前,除了拟南芥<sup>[5]</sup>外,水稻<sup>[6]</sup>、杨树<sup>[7]</sup>、番茄<sup>[8]</sup>、玉米<sup>[9]</sup>、大豆<sup>[10]</sup>、葡萄<sup>[11]</sup>、苹果<sup>[12]</sup>、香蕉<sup>[13]</sup>和柳属<sup>[14]</sup>等植物的ARF也陆续被鉴定出来。此外,miRNA与ta-siRNA转录后调控影响ARF基因的表达。如在拟南芥中,microRNA160对AtARF17的调控会对拟南芥不定根的发育产生影响<sup>[15]</sup>。植物种子的萌发是microRNA160通过调控ARF10、ARF16和ARF17来完成<sup>[16]</sup>。TAS3 ta-siRNAs和ARF2、ARF3和ARF4结合,抑制其表达<sup>[17]</sup>。

巨桉木材材质结构粗、纹理笔直、耐朽性适中、易劈裂,因此在造纸、纤维板、矿柱材原料等方面普遍应用,成为一种拥有高商业价值的树种。同时,巨桉培育面积大,树干通直,

树冠茂密,抵御外界恶劣环境能力强,易于生存,且萌芽能力强,一次造林能够萌芽更新2代,广泛用于人工造林,经济效益巨大。巨桉基因组测序已经完成且已更新,极大地促进了其分子遗传学研究<sup>[18-19]</sup>,为巨桉功能基因组学研究奠定了基础。笔者基于巨桉基因组和转录组数据,鉴定分析了巨桉ARF基因家族的结构特征与组织表达模式,为后期进一步对巨桉ARF基因进行功能解析提供基础,弥补相关基因研究的不足。

**1 材料与方法**

**1.1 巨桉ARF家族基因序列的提取鉴定** 从PlantFDB (<http://plantfdb.gao-lab.org/family.php?sp=Egr&fam=ARF>)数据库中下载巨桉的基因序列信息和蛋白质信息。在Pfam蛋白质家族数据库(<http://pfam.xfam.org/>)下载ARF基因的HMM Profile,并将其作为查询( $P < 0.001$ )搜索巨桉蛋白质序列数据。去除所有冗余序列后,将输出的ARF蛋白序列提交给CDD(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/cdd/>)、SMART(<http://smart.embl-heidelberg.de/>)和Pfam,以确认保守的ARF基因结构域。所有非冗余高置信度基因均命名为巨桉ARF基因,在巨桉中共分析和筛选出17个ARF基因。

**1.2 巨桉ARF蛋白的理化性质分析与二级三级结构预测** 使用ExPASy的ProtParam tool(<https://web.expasy.org/protparam/>)进行巨桉ARF蛋白理化性质分析。利用SOPMA([http://npsa-pbil.ibcp.fr/cgi-bin/npsa\\_automat.pl?page=npsa\\_sopma.html](http://npsa-pbil.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=npsa_sopma.html))进行二级结构分析。应用SWISS-MODEL

**基金项目** 广东石油化工学院人才引进项目(2019rc112)。**作者简介** 何春玲(1970—),女,广西桂林人,农艺师,从事农业技术研究。\*通信作者,讲师,博士,从事基因组学研究。**收稿日期** 2022-02-17;修回日期 2022-04-06

(<https://swissmodel.expasy.org/>) 进行建模,分析 ARF 蛋白的 3 级结构。

**1.3 巨桉 ARF 基因家族的系统进化分析** 利用 MEGA (<https://meme-suite.org/meme/index.html>) 对巨桉 ARF 基因序列进行分析,使用 MEGA 打开巨桉 ARF 基因的 fas 格式氨基酸序列,用 ClustalW 算法对巨桉 ARF 氨基酸序列进行多序列比对,选择距离模型 p-distance 构建 NJ 树,设置 Bootstrap method 值为 1 000。

**1.4 巨桉 ARF 基因的染色体定位与基序分析** 从巨桉数据库 (<https://eucgenie.org/>) 中获取基因,将巨桉 11 条染色体上的位置信息数据导入 Mapchart 软件进行染色体定位分析图的绘制。巨桉 ARF 基因结构以及 Motif 结构分析使用在线网站 MEME (<https://meme-suite.org/meme/tools/meme>),将 motif 个数设定为 10,其余参数均不变。

**1.5 巨桉 ARF 基因家族组织表达模式分析** 从桉树功能基因组数据库中的转录组数据分析巨桉 ARF 基因家族成员各组织 FPKM 数值,利用 TBtools (<https://github.com/CJ-Chen/TBtools>) 软件进行基因表达 HEATMAP 的绘制。

## 2 结果与分析

**2.1 巨桉 ARF 家族基因的鉴定与性质分析** 通过转录本数据 CDD、Pfam 和 SMART 保守结构域分析,共鉴定出 17 个巨桉 ARF 基因,并对其理化性质分析。根据理化性质分析结果(表 1)得知,巨桉 ARF 基因的氨基酸数量为 454~1 119 个残基,其中带负电荷的残基总数在 52~98,带正电荷的残基总数在 56~93,最短的 *Eucgr. K03433* 由 454 个氨基酸残基组成,最长的 *Eucgr. C03293* 和 *Eucgr. C02178* 由 1 119 个氨基酸残基组成。蛋白质分子量为 50 713.28~124 934.23 Da,其中 *Eucgr. C03293* 的分子量最大,*Eucgr. K03433* 的分子量最小。巨桉 ARF 蛋白等电点处于 5.37~8.38,其中 *Eucgr. F04380*、*Eucgr. J00923*、*Eucgr. K02197* 和 *Eucgr. K03433* 等电点大于 7.5,偏向于碱性。不稳定系数在 45.96~72.98,均大于 40.00,属于不稳定蛋白,脂肪族指数在 67.38~77.35,其中 *Eucgr. B02480* 脂肪族指数最高,热稳定性最强;*Eucgr. K03433* 的脂肪族指数最低,热稳定性最差。亲水性指数为 -0.621~-0.276,亲水指数较低,均小于 0,为亲水性蛋白。亚细胞定位分析表明巨桉 ARF 均定位于细胞核中。

表 1 巨桉 ARF 蛋白的理化性质

Table 1 Physico-chemical properties of *Eucalyptus grandis* ARF protein

基因 ID Gene ID	氨基酸个数 Number of amino acids	分子量 Molecular weight	等电点 PI	不稳定系数 Coefficient of instability	脂肪族指数 Aliphatic index	亲水性的平均值 Hydrophilic index	亚细胞定位 Subcellular localization
<i>Eucgr. A02065</i>	870	96 640.47	6.06	68.44	74.64	-0.443	细胞核
<i>Eucgr. B02480</i>	797	88 532.77	6.31	54.34	77.35	-0.431	细胞核
<i>Eucgr. B03551</i>	787	88 090.61	6.62	60.39	71.08	-0.541	细胞核
<i>Eucgr. C02178</i>	1 119	123 242.19	5.98	66.47	68.09	-0.513	细胞核
<i>Eucgr. C03293</i>	1 119	124 934.23	6.30	72.98	71.97	-0.621	细胞核
<i>Eucgr. D00264</i>	897	99 039.54	6.04	68.91	76.62	-0.399	细胞核
<i>Eucgr. D00588</i>	723	79 187.84	6.36	57.62	71.04	-0.386	细胞核
<i>Eucgr. D01764</i>	656	73 528.19	6.15	62.84	71.45	-0.523	细胞核
<i>Eucgr. E00888</i>	687	76 456.41	6.09	55.34	69.78	-0.490	细胞核
<i>Eucgr. F02090</i>	839	92 273.96	5.37	55.08	76.66	-0.380	细胞核
<i>Eucgr. F04380</i>	545	59 334.25	7.73	50.66	74.39	-0.276	细胞核
<i>Eucgr. G00076</i>	675	75 299.77	6.06	53.71	68.86	-0.528	细胞核
<i>Eucgr. G02838</i>	692	76 328.08	6.80	45.96	71.45	-0.402	细胞核
<i>Eucgr. J00923</i>	712	77 677.77	8.32	49.11	72.06	-0.357	细胞核
<i>Eucgr. K01240</i>	707	77 911.11	6.91	53.04	68.26	-0.435	细胞核
<i>Eucgr. K02197</i>	671	74 818.34	8.31	52.27	67.85	-0.585	细胞核
<i>Eucgr. K03433</i>	454	50 713.28	8.38	49.21	67.38	-0.550	细胞核

**2.2 巨桉 ARF 蛋白的结构预测** 根据二级结构预测结果(表 2)可知,巨桉 ARF 蛋白二级结构均由  $\alpha$ -螺旋、 $\beta$ -转角、延伸链和无规卷曲组成。其中,无规卷曲占比最多,为 44.41%~66.11%,其中 *Eucgr. C02178* 占比最少,*Eucgr. D00588* 中占比最多。 $\beta$ -转角占比最少,为 2.57%~7.77%,*Eucgr. F04380* 中  $\beta$ -转角占比最少,*Eucgr. C03293* 和 *Eucgr. C02178* 中  $\beta$ -转角占比最多。三级结构预测所示,巨桉 ARF 蛋白三级结构相似,主要以无规则卷曲为主(图 1)。

**2.3 巨桉 ARF 基因家族的系统进化分析** 进化树聚类分析结果显示,17 个巨桉 ARF 基因可分为 4 个亚群,其中第 1 亚群含有 2 个(*Eucgr. D00588*、*Eucgr. B02480*),第 2 亚群含有

4 个(*Eucgr. G02838*、*Eucgr. F04380*、*Eucgr. K01240*、*Eucgr. J00923*),第 3 亚群含有 5 个(*Eucgr. F02090*、*Eucgr. D00264*、*Eucgr. A02065*、*Eucgr. C02178*、*Eucgr. C03293*),第 4 亚群含有 6 个(*Eucgr. K02197*、*Eucgr. B03551*、*Eucgr. D01764*、*Eucgr. E00888*、*Eucgr. G00076*、*Eucgr. K03433*)成员(图 2)。亲缘关系越近,基因的结构越相似。

**2.4 巨桉 ARF 基因的染色体定位分析** 该研究发现,ARF 基因在巨桉染色体上的分布不均匀(图 3)。其中,染色体 Chr8 和 Chr9 上不含 ARF 基因,Chr4 和 Chr11 上含有 3 个 ARF 基因,Chr2、Chr3、Chr6 和 Chr7 号染色体上有 2 个 ARF 基因,Chr1、Chr5 和 Chr10 号染色体上含有 1 个 ARF 基因。

表 2 ARF 蛋白二级结构

Table 2 Secondary structure of ARF proteins

基因 ID Gene ID	$\alpha$ -螺旋 $\alpha$ -helix		延伸链 Extending chain		$\beta$ -转角 $\beta$ -angle		无规卷曲 Random coil	
	氨基酸长度 Amino acid length	占比 Proportion %	氨基酸长度 Amino acid length	占比 Proportion %	氨基酸长度 Amino acid length	占比 Proportion %	氨基酸长度 Amino acid length	占比 Proportion %
<i>Eucgr. A02065</i>	271	31.15	120	13.79	43	4.94	436	50.11
<i>Eucgr. B02480</i>	146	18.32	128	16.06	39	4.89	484	60.73
<i>Eucgr. B03551</i>	148	18.81	118	14.99	33	4.19	488	62.01
<i>Eucgr. C02178</i>	353	31.55	182	16.26	87	7.77	497	44.41
<i>Eucgr. C03293</i>	331	29.58	172	15.37	87	7.77	529	47.27
<i>Eucgr. D00264</i>	229	25.53	131	14.60	36	4.01	501	55.85
<i>Eucgr. D00588</i>	113	15.63	103	14.25	29	4.01	478	66.11
<i>Eucgr. D01764</i>	127	19.36	114	17.38	30	4.57	385	58.69
<i>Eucgr. E00888</i>	131	19.07	122	17.76	29	4.22	405	58.95
<i>Eucgr. F02090</i>	208	24.79	145	17.28	34	4.05	452	53.87
<i>Eucgr. F04380</i>	97	17.80	96	17.61	14	2.57	338	62.02
<i>Eucgr. G00076</i>	129	19.11	118	17.48	26	3.85	402	59.56
<i>Eucgr. G02838</i>	129	18.64	110	15.90	33	4.77	420	60.69
<i>Eucgr. J00923</i>	119	16.71	112	15.73	35	4.92	446	62.64
<i>Eucgr. K01240</i>	138	19.52	111	15.70	37	5.23	421	59.55
<i>Eucgr. K02197</i>	127	18.93	110	16.39	35	5.22	399	59.46
<i>Eucgr. K03433</i>	72	15.86	86	18.94	31	6.83	265	58.37

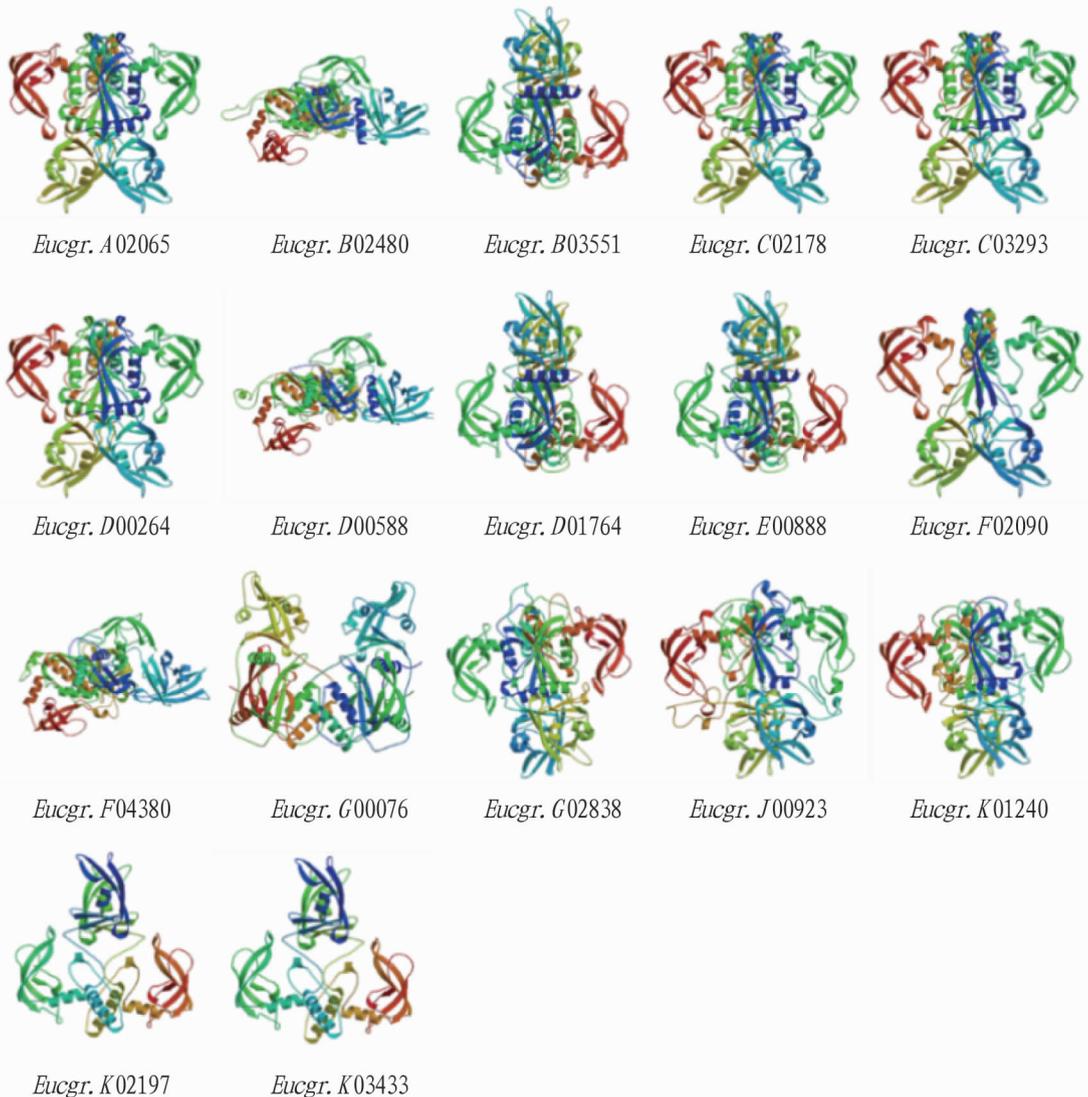


图 1 巨桉 ARF 蛋白三级结构预测

Fig. 1 Tertiary structure of *Eucalyptus grandis* ARF protein

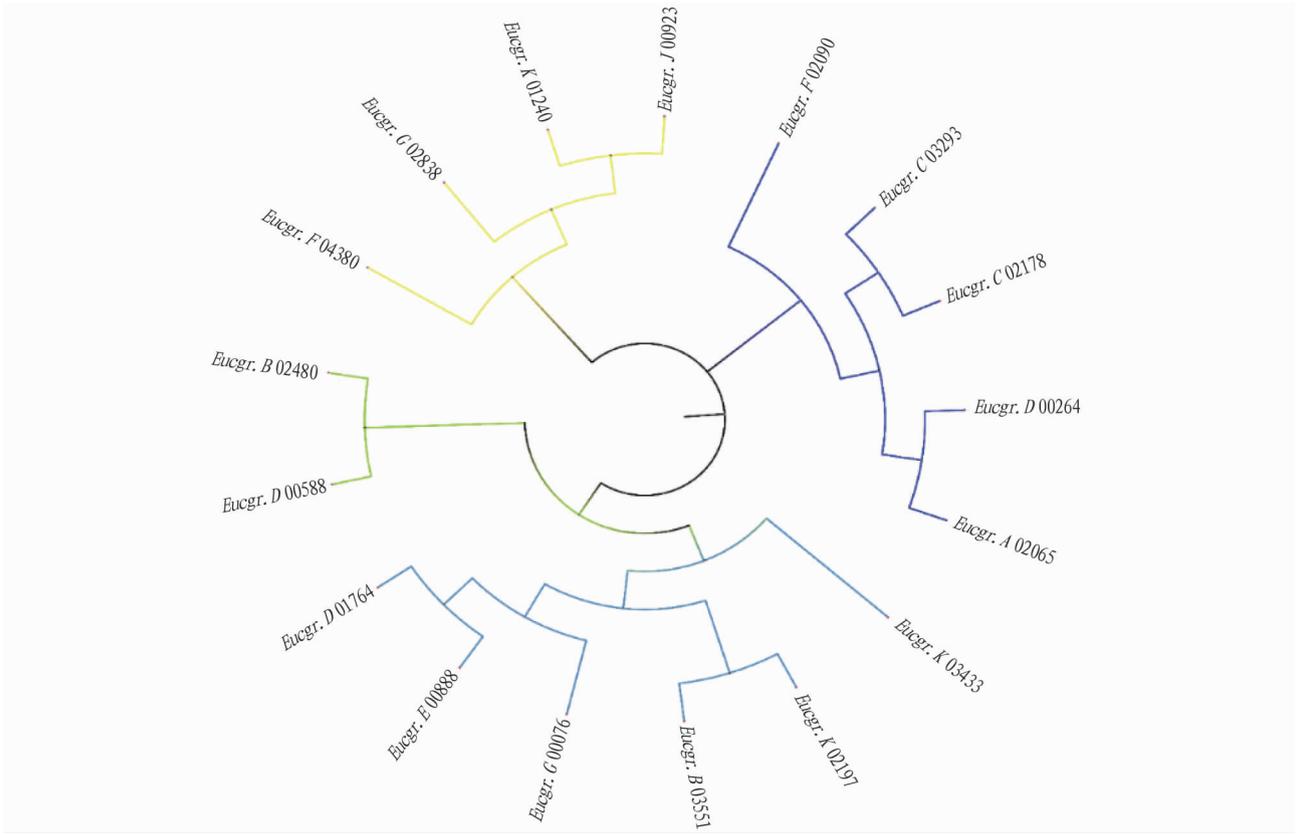


图 2 巨桉 *ARF* 基因家族的系统进化树

Fig. 2 Phylogenetic tree of *ARF* gene family of *Eucalyptus grandis*

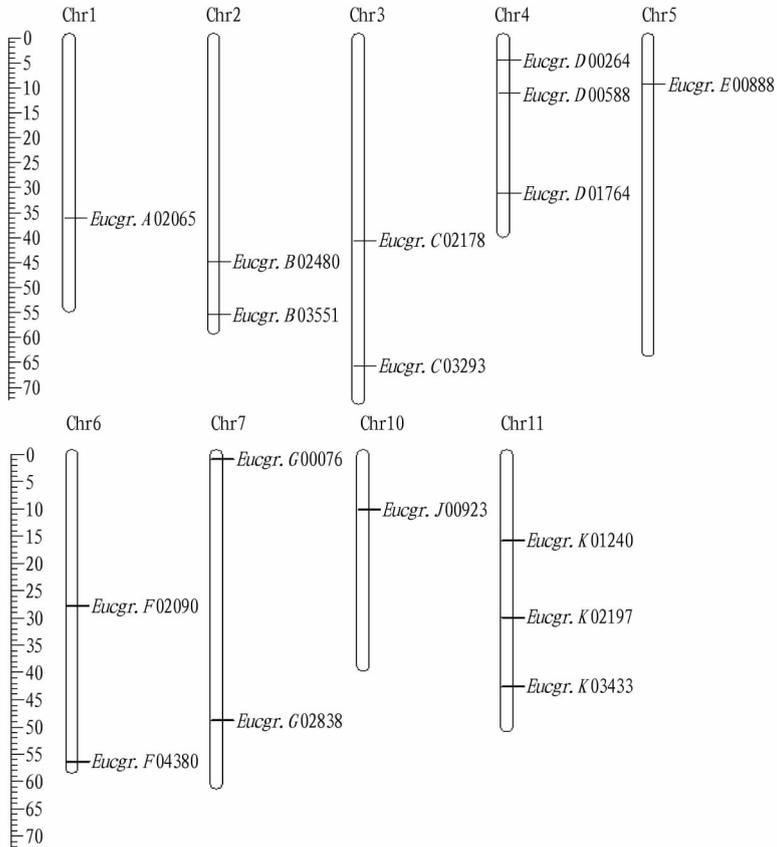


图 3 巨桉 *ARF* 基因在染色体上的分布

Fig. 3 Chromosome distribution of *ARF* gene in *Eucalyptus grandis*

**2.5 巨桉 ARF 基因家族的特征分析** 根据保守结构域分析结果,发现 *Eucgr. F04380*、*Eucgr. K03433*、*Eucgr. D00588*、*Eucgr. G02838*、*Eucgr. J00923* 和 *Eucgr. K01240* 不含 AUX\_IAA 结构域(图 4)。且这 6 个 ARF 蛋白氨基酸残基总数偏低(表 1)。巨桉的 ARF 基因 Motif 分析表明,17 个基因中都存在 Motif 1, *Eucgr. A02065*、*Eucgr. B02480*、*Eucgr. B03551*、*Eucgr. C02178*、*Eucgr. C03293*、*Eucgr. D00264*、*Eucgr. G00076* 含有的 Motif 最多共 10 个保守基序, *Eucgr. F04380* 含有的 Motif 最少只有 Motif1、2、3、7 共 4 个保守基序。基因结构分析表明,巨桉 ARF 均含有外显子和内含子结构,但不同基因所含有的外显子数目存在很大差异,其中 *Eucgr. F04380* 最少为 2 个(图 4)。这些结果暗示不同基因结构会对基因的功能产生不同的影响。

**2.6 巨桉 ARF 基因的组织特异性表达分析** 利用巨桉 ARF 基因家族成员的未成熟木质部、成熟叶片、韧皮部、树根、茎尖、3 个花期和幼叶中的转录组数据进行分析。结果表

明(图 5),巨桉 ARF 基因存在组织表达特异性。其中, *Eucgr. D01764* 和 *Eucgr. E00888* 在幼叶中表现出组织特异性,能够调控幼叶的成熟和发育。*Eucgr. G00076* 和 *Eucgr. C02178* 在未成熟木质部高量表达。*Eucgr. C02178*、*Eucgr. F02090*、*Eucgr. K02197*、*Eucgr. F04380*、*Eucgr. D00264*、*Eucgr. D00588*、*Eucgr. J00923*、*Eucgr. K01240*、*Eucgr. G02838*、*Eucgr. C03293*、*Eucgr. A02065* 和 *Eucgr. B02480* 在开花的 3 个花期表达量高,其中 *Eucgr. F04380*、*Eucgr. D00264* 和 *Eucgr. D00588* 在花部为特异性表达,暗示其可能调控花的生长发育。*Eucgr. F02090*、*Eucgr. B03551*、*Eucgr. J00923*、*Eucgr. K01240* 和 *Eucgr. G02838* 在根部高量表达,可能参与根部生长的调控。*Eucgr. K03433* 在幼叶和茎尖特异性表达,暗示其可能影响分生组织的发育。*Eucgr. G00076*、*Eucgr. C02178*、*Eucgr. J00923* 和 *Eucgr. A02065* 在未成熟的木质部大量表达,可能影响植物对无机盐和水分的吸收。

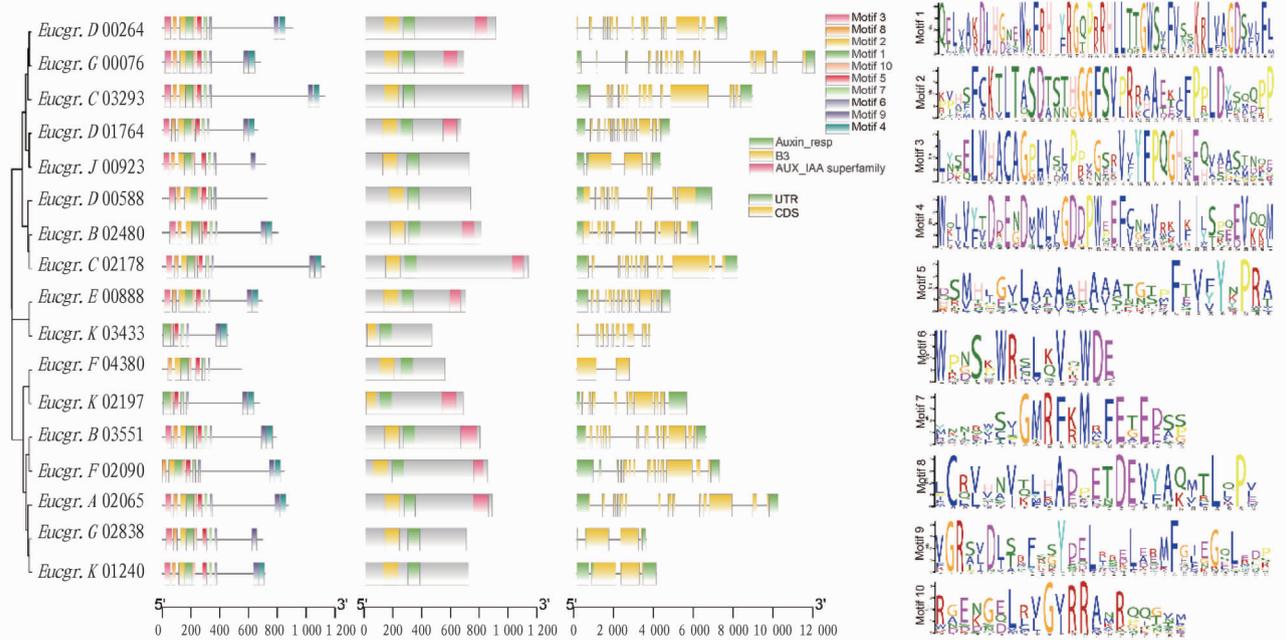


图 4 巨桉 ARF 基因的特征分析

Fig. 4 Characterization of ARF gene in *Eucalyptus grandis*

### 3 讨论

测序技术的发展促进了生物学在基因组层面解析基因家族特征和功能解析中的应用。研究表明,ARF 基因具有重要的生物学功能,参与调控植物生长发育各个阶段<sup>[20-21]</sup>。该研究对巨桉 ARF 基因进行鉴定分析,共筛选出 17 个 ARF 基因,大多数含有 3 个保守结构域,且每个巨桉 ARF 基因都含有 B3 结构域。根据理化性质分析 ARF 属于不稳定的亲水性蛋白,均定位于细胞核。巨桉 ARF 基因在染色体上分布并不均匀,其中 Chr8 和 Chr9 染色体上不含 ARF 基因。根据构建 NJ 树所得的结果,将 17 个巨桉 ARF 基因划分成 4 个亚族,与对葡萄<sup>[11]</sup> 和梨<sup>[22]</sup> 等的研究结果一致。该研究表明,ARF 基因在巨桉不同组织中均有表达,且存在组织特异性。例如 *Eucgr. K02197* 在花发育的 3 个时期特异高量表达,预示

着其可能影响巨桉的花期。*Eucgr. E00888* 和 *Eucgr. D01764* 在幼叶特异性表达。*Eucgr. K03433* 在幼叶和茎尖特异性表达,暗示其能够调控植物的分生组织发育。

### 4 结论

该研究利用生物信息学分析在巨桉中鉴定出 17 个 ARF,并进一步综合分析其理化性质、蛋白质结构、染色体定位、基因的结构特征、系统进化和组织表达,发现巨桉 ARF 相对保守且表达模式存在组织特异性,为深入探究巨桉 ARF 各个成员之间的结构功能关系奠定了坚实基础。*Eucgr. G00076* 和 *Eucgr. C02178* 在未成熟木质部呈现高表达,推测其可能在巨桉木材形成过程中发挥重要作用,这是后续研究的重点。

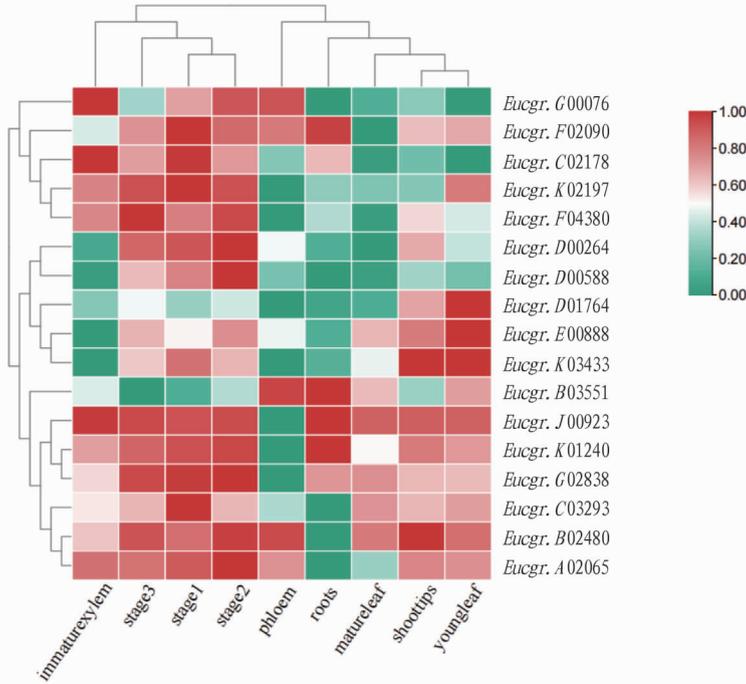


图5 巨桉ARF基因组织特异性表达分析

Fig. 5 Analysis of tissue-specific expression of ARF gene in *Eucalyptus grandis*

## 参考文献

- [1] 刘振华,于延冲,向凤宁. 生长素响应因子与植物的生长发育[J]. 遗传,2011,33(12):1335-1346.
- [2] GUILFOYLE T J,HAGEN G. Auxin response factors[J]. Current opinion in plant biology,2007,10(5):453-460.
- [3] ULMASOV T,HAGEN G,GUILFOYLE T J. ARF1, a transcription factor that binds to auxin response elements[J]. Science,1997,276(5320):1865-1868.
- [4] 唐桂英,彭振英,徐平丽,等. 花生 *AhARF* 基因家族鉴定与表达分析[J]. 中国油料作物学报,2020,42(6):1100-1110.
- [5] OKUSHIMA Y,OVERVOORDE P J,ARIMA K,et al. Functional genomic analysis of the *AUXIN RESPONSE FACTOR* gene family members in *Arabidopsis thaliana*: Unique and overlapping functions of *ARF7* and *ARF19* [J]. The plant cell,2005,17(2):444-463.
- [6] WANG D K,PEI K M,FU Y P,et al. Genome-wide analysis of the auxin response factors (*ARF*) gene family in rice (*Oryza sativa*) [J]. Gene,2007,394(1/2):13-24.
- [7] KALLURI U C,DIFAZIO S P,BRUNNER A M,et al. Genome-wide analysis of *Aux/IAA* and *ARF* gene families in *Populus trichocarpa* [J]. BMC plant biology,2007,7:1-14.
- [8] WU J,WANG F Y,CHENG L,et al. Identification, isolation and expression analysis of *auxin response factor (ARF)* genes in *Solanum lycopersicum* [J]. Plant cell reports,2011,30(11):2059-2073.
- [9] XING H Y,PUDAKE R N,GUO G G,et al. Genome-wide identification and expression profiling of *auxin response factor (ARF)* gene family in maize [J]. BMC genomics,2011,12:1-13.
- [10] HA C V,LE D T,NISHIYAMA R,et al. The auxin response factor transcription factor family in soybean: Genome-wide identification and expression analyses during development and water stress [J]. DNA research,2013,20(5):511-524.
- [11] WAN S B,LI W L,ZHU Y Y,et al. Genome-wide identification, characterization and expression analysis of the auxin response factor gene family in *Vitis vinifera* [J]. Plant cell reports,2014,33(8):1365-1375.
- [12] 李慧峰,冉昆,何平,等. 苹果生长素响应因子 (*ARF*) 基因家族全基因组鉴定及表达分析[J]. 植物生理学报,2015,51(7):1045-1054.
- [13] HU W,ZUO J,HOU X W,et al. The auxin response factor gene family in banana: Genome-wide identification and expression analyses during development, ripening, and abiotic stress [J]. Frontiers in plant science,2015,6:1-16.
- [14] 高俊峰,张严妍,吴瑜玮,等. 柳属 *ARF* 家族的鉴定及生物信息学分析 [J/OL]. 分子植物育种,2021-01-22[2021-07-25]. <https://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20210122.0947.002.html>.
- [15] JONES B,FRASSE P,OLMOS E,et al. Down-regulation of DR12, an auxin-response-factor homolog, in the tomato results in a pleiotropic phenotype including dark green and blotchy ripening fruit [J]. The plant journal,2002,32(4):603-613.
- [16] MARIN E,JOUANNET V,HERZ A,et al. miR390, *Arabidopsis TAS3* tasiRNAs, and their *AUXIN RESPONSE FACTOR* targets define an autoregulatory network quantitatively regulating lateral root growth [J]. The plant cell,2010,22(4):1104-1117.
- [17] WILLIAMS L,CARLES C C,OSMONT K S,et al. A database analysis method identifies an endogenous trans-acting short-interfering RNA that targets the *Arabidopsis ARF2, ARF3, and ARF4* genes [J]. Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America,2005,102(27):9703-9708.
- [18] MYBURG A A,GRATTAPAGLIA D,TUSKAN G A,et al. The genome of *Eucalyptus grandis* [J]. Nature,2014,510(7505):356-362.
- [19] BARTHOLOMÈ J,MANDROU E,MABIALA A,et al. High-resolution genetic maps of *Eucalyptus* improve *Eucalyptus grandis* genome assembly [J]. New phytologist,2015,206(4):1283-1296.
- [20] 李艳林,高志红,宋娟,等. 植物生长素响应因子 *ARF* 与生长发育[J]. 植物生理学报,2017,53(10):1842-1858.
- [21] 郝彦蓉,杜伟,侯思宇,等. 苦荞 *ARF* 基因家族的鉴定及生长素诱导下的表达模式[J]. 中国农业科学,2020,53(23):4738-4749.
- [22] 欧春青,姜淑琴,王斐,等. 梨全基因组生长素反应因子 (*ARF*) 基因家族鉴定及表达分析[J]. 中国农业科学,2018,51(2):327-340.