

doi:10.11937/bfyy.20170162

甘蓝型油菜 DOF 蛋白基因的克隆与 生物信息学分析

尹明智, 胡 燕

(遵义师范学院 生物与农业科技学院, 贵州 遵义 563006)

摘 要: Dof 转录因子是植物特有的一类转录因子, 含有一个独特的单锌指结构域, 在植物的生长发育中起重要的调控作用。以甘蓝型油菜为试材, 采用电子克隆和 RT-PCR 技术, 以期克隆一个具有 Zf-Dof 结构域的蛋白基因 cDNA 序列。结果表明: 该基因含有 1 284 bp 的开放阅读框, 编码 427 个氨基酸, 蛋白分子量为 46.9 kDa, 等电点为 8.86, 为亲水性蛋白。经序列比对分析表明其与拟南芥 CDF3 基因有较高同源性, 可能具有相似的功能。

关键词: 甘蓝型油菜; Dof 蛋白基因; 电子克隆; 生物信息学

中图分类号: S 635.903.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2017)14-0018-07

Dof(DNA binding with one finger)转录因子是植物所特有的一类转录因子, 它含有一个独特的单锌指结构域, 即 Dof 结构域^[1]。每一个 Dof

蛋白的 N 末端都是由 52 个氨基酸组成的高度保守的结构域, 其能与特异性基因的启动子相互作用, 从而调节基因的表达^[2]。研究发现在 Dof 转录因子的 DNA 结合序列中均含有 T/AAAAG 序列^[3]。

人们已经在许多植物中发现了 Dof 转录因子, 并表明该类转录因子对植物的生长发育过程起重要的调控作用^[4-5]。YANAGISAWA^[6]首次在玉米中发现 Dof 转录因子能够调节光合碳代谢中的多个基因的表达。拟南芥中 AtDof4.1 能够延迟植株开花, 抑制生殖器官的发育^[7]。

第一作者简介: 尹明智(1983-), 男, 博士, 副教授, 现主要从事油菜遗传育种等研究工作。E-mail: 277536002@qq.com

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31501337); 贵州省科学技术厅与遵义市科学技术局及遵义师范学院联合科技基金资助项目(黔科合 LH 字[2016]7014 号); 遵义师范学院博士基金资助项目(遵师 BS[2014]25 号)。

收稿日期: 2017-03-31

Abstract: In order to look for the safe and efficient protection on *Bradysia odoriphaga* Yang and Zhang, *B. odoriphaga* was used as test insect and by using root pouring treatment, the toxicity and control effects of lime nitrogen to *B. odoriphaga* in different stages and the safety on Chinese chives were measured. The results showed that the toxicity of lime nitrogen was high on larvae of *B. odoriphaga*, especially for the low instar larvae. The toxicity to eggs and pupae was weakened than larvae. The indoor experiment proved that lime nitrogen had obvious repellent of oviposition in adult stage. Pot and field experiments showed that the control effect was obvious to *B. odoriphaga* at adult period, the larvae period had similar effect. The security test results showed that lime nitrogen was safe for leek within 1.5—6.0 kg per 667 m², and could effectively increase the yield of leek.

Keywords: lime nitrogen; *Bradysia odoriphaga*; toxicity; control effect; safety evaluation

AtDof4.7 能抑制多聚半乳糖醛酸酶基因 *PGAZAT* 的表达,从而影响花器官的脱落,进一步研究表明,AtDof4.7 能够与转录因子 AtZFP2 相互作用,抑制花器官的脱落,这 2 个转录因子具有协同作用^[8]。大豆的 GmDof4 和 GmDof11 能调节种子含油量和脂肪酸代谢途径^[9];水稻 Dof 转录因子 OsDof12 能通过调控 Hd3a 和 OsMADS14 的表达来调节水稻的开花机制^[10]。虽然许多 Dof 转录因子已经被人们所认识,但关于 Dof 转录因子家族的研究还主要集中在拟南芥和水稻这些模式植物中,油菜作为主要的油料作物之一,其 Dof 转录因子方面的研究较少。为探索 Dof 转录因子在油菜生长发育过程中的作用,该研究运用电子克隆的方法,以甘蓝型油菜为试材,从 cDNA 中克隆了一个具有 Zf-Dof 结构域的蛋白基因的 cDNA 序列,并利用生物信息学方法对其进行分析和功能预测,以期对油菜 Dof 转录因子进一步的研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为甘蓝型油菜“中双 11 号”。

1.2 试验方法

1.2.1 油菜 Dof 蛋白序列的电子克隆

以 Dof 转录因子为信息探针,从 NCBI Unigene(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/unigene>)中搜索甘蓝型油菜(*Brassica napus*)Dof 转录因子序列信息下载到本地的主机,利用 CAP3 程序(CAP3 Sequence Assembly Program, <http://pbil.u-nivlyon1.fr/cap3.php>)^[11]对检索到的序列进行拼接和分析,得到新的基因序列。

1.2.2 甘蓝型油菜 Dof 蛋白基因 cDNA 序列的克隆

根据电子克隆的基因序列,设计引物序列 BN-F 为 5'-GAGGATGGATTAGTGAGAG-3'; BN-R 为 5'-ATGATGATGGAAAGTAGAG-3',由南京金斯瑞(Genscript)生物科技公司合成。取生长健壮甘蓝型油菜“中双 11 号”幼嫩叶片组织,按照植物 RNA 提取 kit(TIANGEN)提取其总 RNA。采用 RevertAid First Strand Synthesis Kit(Fermentas)合成 cDNA 第一链。PCR 反应

用 *pfu* DNA polymerase(TIANGEN)进行扩增。将 PCR 产物进行切胶回收,转化到大肠杆菌 DH5 α 感受态细胞,经筛选后,选取阳性的菌落送上海英骏生物技术公司测序。

1.2.3 油菜 Dof 基因的生物信息学分析

ORF(Open Reading Frame, ORF)查找在 NCBI 的 ORF Finder 上完成;核苷酸序列的翻译在 EXPASY BCM search launcher 中完成;蛋白质氨基酸序列的 motif 和 Prosite 分析在 EXPASY ScanProsite 上进行;核苷酸和蛋白序列的 Blast 在 NCBI 中完成;基因序列和氨基酸序列同源比对用 DNAMAN 软件分析;利用 MEGA5.0 软件构建不同物种间蛋白同源比较聚类图;蛋白质结构特征分析在 EXPASY 的 Proternics tools 中完成。

2 结果与分析

2.1 油菜 Dof 蛋白基因序列的电子克隆

以 Dof 转录因子为信息探针,从 NCBI 中油菜 *B. napus* 的 UniGene 数据库中搜索得到 21 个与 Dof 转录因子相关的 UniGene,利用 CAP3 程序进行序列拼接和分析,得到 3 个 cDNA 序列,通过在 NCBI 上进行序列比对分析,其中一个序列具有 1 757 bp 大小的序列,其包含一个完整的 1 296 bp 的 ORF 序列,编码 432 个氨基酸(图 1)。

2.2 甘蓝型油菜 Dof 蛋白基因 cDNA 序列的克隆

先提取甘蓝型油菜的总 RNA,并进行琼脂糖凝胶电泳分析,图 2 表明,28S rRNA 和 18S rRNA 2 条主带明显,且 28S rRNA 条带亮度约为 18S rRNA 条带亮度的 2 倍,其质量达到了反转录的要求。反转录合成 cDNA,以幼嫩叶片 cDNA 为模板,BN-F 和 BN-R 为引物 PCR 扩增得到约 1 400 bp 大小的条带(图 3),将目的条带回收纯化,转化大肠杆菌,筛选鉴定为阳性克隆后,送生物公司测序。

2.3 甘蓝型油菜 Dof 蛋白基因 cDNA 序列测定和分析

测序结果表明,从甘蓝型油菜 cDNA 中扩增到了 1 388 bp 大小的序列,通过 NCBI 的 ORF Finder 和 ExPASy 的 BCM search launcher 分析,该基因的 ORF 为 1 284 bp,编码 427 个氨基酸的蛋白质(图 4)。用 DNAMAN 软件分析,该

```

1 atgatgatggaagtagagatccagctattaaagctcttcggatg
M M M E S R D P A I K L F G M
46 aaaatcccttllccggcgtllllgaaccagcagcggtggct
K I P F P A V F E P T T A V A
91 ctagaagaggattacacggcgagatgatacatcaccagagaag
L E E D Y S G G D D T S P E K
136 gtaactacagagcaagccactccagagaagaataactgtaac
V T T E Q A T P E K L N N C N
181 aacaagagtctaaacaattcgatgattccaaaccagagacagg
N K S L N N S N D S K P E T G
226 gacaagaaggagcgacatcaactgacatagagagcagatgag
D K E E A T S T D Q I E S D E
271 accaatcagcagacaacagcagcggcaaacctgaagaacca
T N Q Q T T A D G K T L K K P
316 accaagatttcccttccggatgcaaaagcagacacaaag
T K I L P C P R C K S M D T K
361 ttctgtattacaacaactacaacataaccagcctcgcatttc
F C Y Y N N Y N I N Q P R H F
406 tcaagccctgtcagagatactggacagcgggagccaccatgag
C K A C Q R Y W T A G G T M R
451 aatgtcccgctcggtcaggacggcgcaagcacaagaagcttcc
N V P V G A G R R K H K S S S
496 tcccaataccggcaccatccatccaggcctcaccagccgca
S Q Y R H I T I S E A L Q A A
541 aggclegatccgggtllacaatcgaacacagagttactgagctc
R L D P G L Q A N T R V L S F
586 gglltacaagctcctcctcagcagcagcttgcctccatgac
G L Q A P P H Q Q H V A P M T
631 cccgtgatgaaacacaaaggagaccagaagggtlcaaacggagct
P V M K L Q G D Q K V S N G A
676 agaaacgggtllagcagctcgggtllgagaatggagatgactcgc
R N G L A A R V E N G D D C S
721 agtgggttccctctgtgactacctcagtgatgaacaagagcaca
S G S S V T T S V D E T R A Q
766 agctgcagagttgttgaaccacaagtgaaacaacaacatgaat
S C R V V E P Q V N N N N M N
811 ggittatgcttgcacccgggtgttccatggccatacagtggaat
G Y A C I P G V P W P Y T W N
856 ccaggatgcctcggcagggtlltaccctcctccagggtatcca
P A M P P P G F Y P P P G Y P
901 atgccccttcttcttctgagcaccatcccaatggcaccggcaat
M P F Y P Y W T I P M A P N
946 caatcctcatcaccatlgagtcanaagggtlcaagtlcaaacctc
Q S S S P M S S Q K G S S N S
991 cccactctcgggaagcactcagagacagagattcttcaacagag
P T L G K H S R D E T S T E
1036 cggaaacagaggaaagggtgctgtatagctccgaaacagttgaga
R K Q R N G C V I V P K T L R
1079 atagacgactcctaacgaagcagaagaagctctatatggacaaca
I D D P N E A A K S S I W T T
1124 tlggaatcagaacgaagggtlcaacatlgggagcagaaggcgcc
L G I K N E G S T L G S K G G
1169 gglatgltcaaaagggtlgtatcagaagacgaacgaagatlaaca
G M F K G F D Q K T N K S N K
1214 galcaaacagataaactcctcgtlcttcttctgtaaacctcgtc
D Q T D N S P V L S A N V P A A
1259 ctatcgcatcactcaatttccaaagcgggtttaa
L S R S L N F Q E R V *

```

图1 电子克隆基因的 ORF 和氨基酸序列

Fig. 1 ORF sequence and amino acid sequence of the silico cloning gene

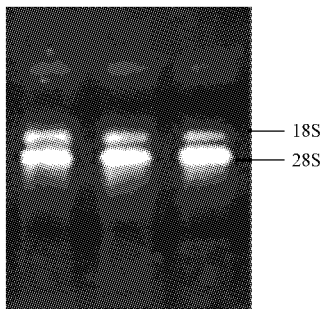
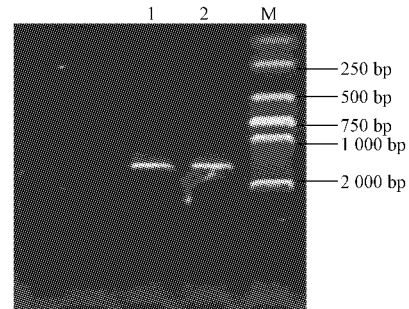


图2 油菜总 RNA

Fig. 2 Total RNA from *B. napus* L.图3 油菜 *Dof* 蛋白基因 cDNA 序列扩增Fig. 3 Amplification of *Dof* gene sequence of cDNA in *B. napus* L.

```

1 atgatgatggaagtagagatccagctattaaagctcttcggatg
M M M E S R D P A I K L F G M
46 aaaatcccttllccggcgtllllgaaccagcagcggtggct
K I P F P A V F E P T T A V A
91 ctagaagaggattacacggcgagatgatacatcaccagagaag
L E E D Y S G G D D T S P E K
136 gtaactacagagcaagccactccagagaagaataactgtaac
V T T E Q A T P E K L N N C N
181 aacaagagtctaaacaattcgatgattccaaaccagagacagg
N K S L N N S N D S K P E T G
226 gacaagaaggagcgacatcaactgacatagagagcagatgag
D K E E A T S T D Q I E S D E
271 accaatcagcagacaacagcagcggcaaacctgaagaacca
T N Q Q T T A D G K T L K K P
316 accaagatttcccttccggatgcaaaagcagacacaaag
T K I L P C P R C K S M D T K
361 ttctgtattacaacaactacaacataaccagcctcgcatttc
F C Y Y N N Y N I N Q P R H F
406 tcaagccctgtcagagatactggacagcgggagccaccatgag
C K A C Q R Y W T A G G T M R
451 aatgtcccgctcggtcaggacggcgcaagcacaagaagcttcc
N V P V G A G R R K H K S S S
496 tcccaataccggcaccatccatccaggcctcaccagccgca
S Q Y R H I T I S E A L Q A A
541 aggclegatccgggtllacaatcgaacacagagttactgagctc
R L D P G L Q A N T R V L S F
631 gglltacaagctcctcctcagcagcagcttgcctccatgacccc
G L Q A P H Q Q H A A P M T P
676 aacgctcgggttgagaatggagatgactgctcagtggttccctc
N A R V E N G D D C S S G S S
721 gtgactacctcagtgatgaacaagacagaagctcagagatt
V T T T S V D E T R A Q S C R V
766 gtllgaaccacaagtgacaacaacaacatgaaatggtatgcttgc
V E P Q V N V N V N M N G Y A C
811 atcccggtggtlccatlgggcatalacacgtlgaatccagcgatgc
I P G V P W P Y T W N P A M P
856 ccaccagggtlltaccctcctccagggtatccatgcccccttllat
P P G F Y P P P G Y P M P F Y
901 ccttactggaccatcccaatggcaccgcggcaatcaatccctcatc
P Y W T I P M A P P N C Q S S
946 cctatgagtcanaagggttcaagtcnaaactctccactctcggg
P M S Q K G S S P S P T L G
991 aagcactacagagacagagattcttcaacagagcggaaacagag
K H Y R D E D S S T E R K Q R
1036 aecgggtgcttlatagltccgnaaacgtltagaataagacatccc
N G C V I V P K T L R I D D P
1081 aecgaagcagcaaaaggtcctatlggacaacatlgggaaatcaag
N E A A K S S I W T T L G I K
1126 aecgaaggtlcaacatlgggaagcaaaaggcggtltagltcaaa
N E G S T L G S K G G G M F K
1171 gggtttgatcagaagcagaacagaagtaacaaggatcaaaccaat
G F D Q K T N K S N K D Q T N
1216 aactctcatgtttcttctgtaaacctctgctctatcgcgatac
N S H V L S A N P A A L S R S
1261 ctcaatttccaagaacgggttttaaatgattatatacgtatatg
L N F Q E R V *
1306 tatgatgtlltllatatacattatlggagaatgaggggtlltg
tgacattactcctlltagtctctcacaatcctcctc
1351

```

图4 油菜 *Dof* 基因 cDNA 序列和氨基酸序列Fig. 4 cDNA sequence and amino acid sequence of *Dof* gene in *B. napus* L.

cDNA 序列与电子克隆的 cDNA 序列同源相似性为 97.5%, 氨基酸序列相似性为 98%。用 EXPASY 的 ScanProsite 分析表明该序列在 109~163 氨基酸位置具有典型的 ZF-Dof 结构域(图 5)。

NCBI BLAST 分析发现该 Dof 基因与拟南芥 *CDF3* (AT3G47500) Dof 类蛋白基因序列有较高同源性, 达到 82%, 其氨基酸序列与 *CDF3* 氨基酸序列同源相似性为 77.2%, 且在 Dof 结构域只有一个氨基酸的差异, 即第 118 位氨基酸中 *CDF3* 为谷氨酸, 而 *BnDof1* 为天冬氨酸(图 6)。将其推导的氨基酸序列与不同物种 Dof 类蛋白序列用 DNAMAN 进行同源序列比对, 发现 Dof 结构域区域氨基酸是高度保守的(图 6); 用 MEGA5.0 构建不同物种间 Dof 蛋白的系统进化树, 也表明它与拟南芥的 *CDF* 类蛋白基因在同

一支上, 同源性最高(图 7)。

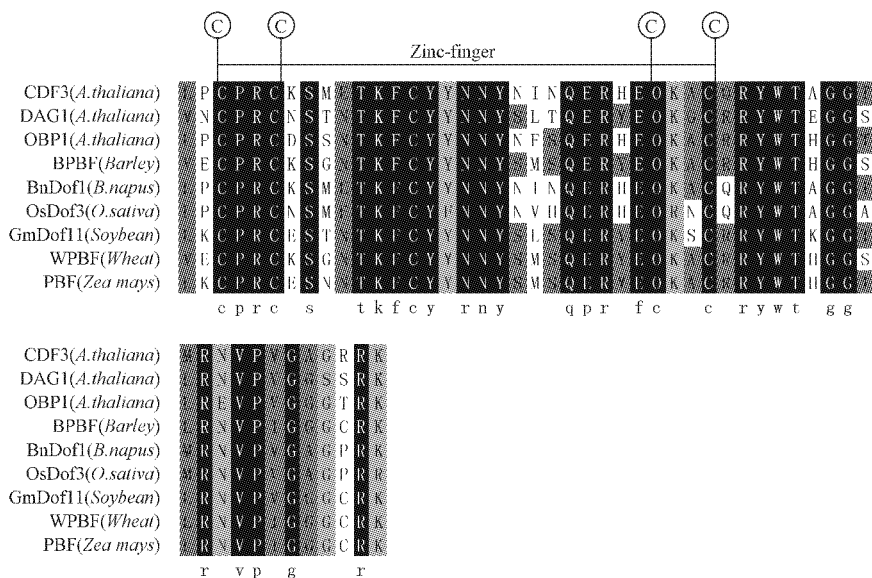
2.4 甘蓝型油菜 *Dof* 基因编码的蛋白结构特征分析

通过 EXPASY 的 ProtParam 在线软件分析表明该 Dof 蛋白基因编码的蛋白分子量为 46.9 kDa, 等电点 (pI) 为 8.86; 利用 EXPASY ProtScale Tool 程序分析表明其第 351 位缬氨酸疏水性最强, 第 397 位天冬酰胺、第 398 位赖氨酸和第 399 位丝氨酸亲水性最强。从图 8 可以看出, 大部分氨基酸都是亲水性氨基酸, 因此该 Dof 蛋白是亲水性蛋白。用 EXPASY SOPMA 程序预测蛋白二级结构, 表明其由 13.35% 的 α -螺旋(alpha helix)、2.58% 的 β -转角(Beta turn)、10.07% 的 β -折叠(extended strand)和 74% 的随机卷曲(random coil)组成(图 9)。



图 5 油菜 *Dof* 基因的结构域分析

Fig. 5 Structural domain analysis of *Dof* gene in *B. napus* L.



注: 黑色部分表示高度保守的氨基酸残基; *BnDof1* 为克隆的油菜 *Dof* 基因。

Note: The black part is a highly conserved amino acid residue; *BnDof1* is the cloned *Dof* gene.

图 6 不同来源 Dof 结构域氨基酸序列比较

Fig. 6 Comparison of amino acid sequences of Dof domains from different sources

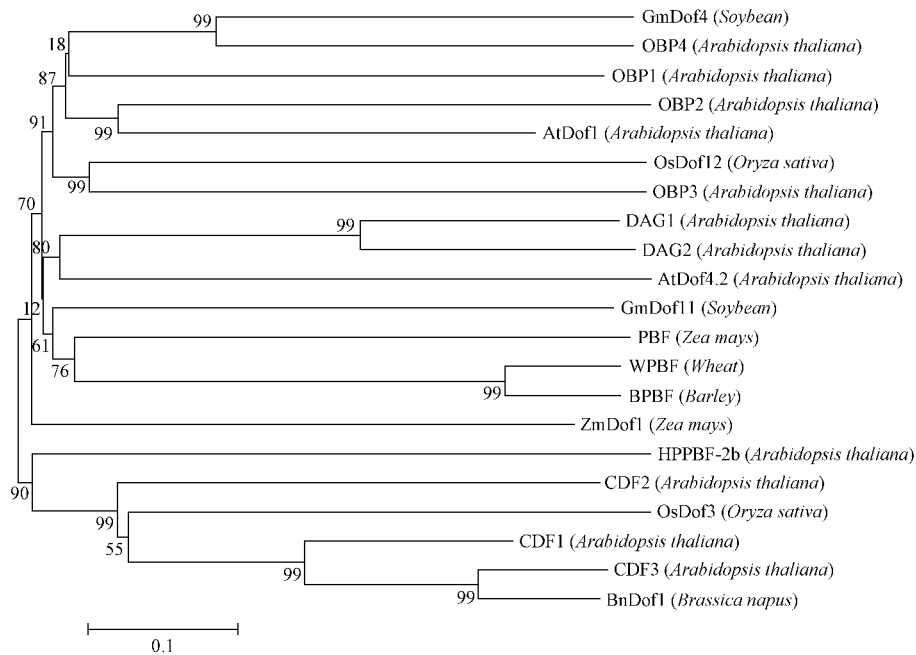


图7 Dof 蛋白序列系统进化树

Fig. 7 Phylogenetic tree of BnDof1 and other Dof proteins

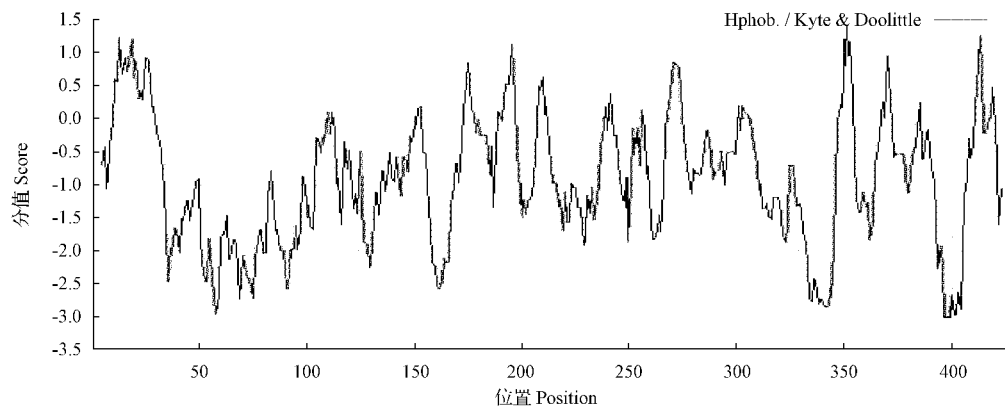
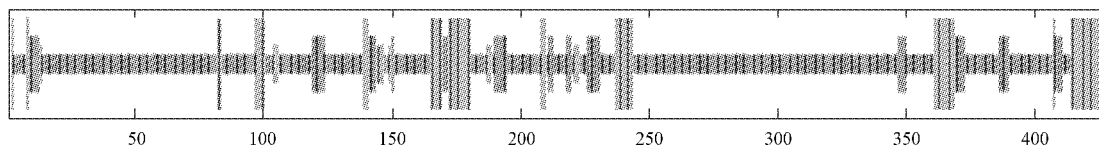


图8 BnDof1 氨基酸序列的疏水性/亲水性

Fig. 8 Hydrophobicity/hydrophilicity of BnDof1 amino acid sequence



注: 蓝色: α -螺旋; 红色: β -折叠; 绿色: β -转角; 粉红色: 随机卷曲。

Note: Blue: α -helix; red: β -fold; green: β -turn; pink: random crimp.

图9 BnDof1 蛋白的二级结构

Fig. 9 Secondary structure of BnDof1 protein

3 讨论

电子克隆技术是近几年随着测序技术和生物信息学的发展而开发的新方法,并在植物基因研究中有所应用^[12-13]。它利用公共数据库中的序列信息克隆新基因,具有快速、低成本的特点,一定程度上可替代 RACE 法或 cDNA 文库筛选。但该方法也有局限性,其依赖于数据库中数据的数量和质量。此外,属于同一个转录本序列可来源于具有不同遗传背景的若干个的 DNA 序列,可能会导致在特定位置的碱基改变。该研究从甘蓝型油菜“中双 11 号”中克隆到序列长度为 1 388 bp,其中包含一个 1 284 bp 的 ORF,然而电子克隆中是包含一个 1 296 bp 的 ORF 序列,这可能是由 EST 序列的质量和数量或基因序列多态性造成的。因此,为确保基因序列,电子克隆应该结合试验进行验证。

Dof 转录因子是植物所特有的一类转录因子,能参与植物多种生命活动调控。研究表明 CDF 类 Dof 转录因子能参与植物的光周期开花信号途径的调控。拟南芥的光周期开花最关键机制是 CONSTANS (CO) 蛋白的活性和表达,IMAIZUMI 等^[14]研究显示 CDF1 可以与 FKF1 (FL-AVIN-BINDING, KELCH REPEAT, F-BOX 1) 蛋白相互作用,并和 CO 基因的启动子相结合,调节 CO 基因的转录,从而调节拟南芥的开花时期;FORNARA 等^[15]的研究发现 CO 基因转录受到 GIGANTEA (GI) 和 FKF1 的调节,CDF2 与 GI 的拮抗作用能调节 CO 基因转录水平基本的昼夜节律,从而影响拟南芥的光周期开花;CDF3 能与 LKP2 (LOV KELCH PROTEIN 2) 和 FKF1 发生相互作用,但其过表达在短日照或长日照处理下并没有改变拟南芥的开花周期^[16]。研究表明,在拟南芥中过表达番茄 Dof 转录因子 SiCDF3,它能通过调节成花基因如 CO 和 FT,而推迟开花^[17]。该研究克隆的 Dof 蛋白基因与拟南芥的 CDF3 同源相似性最高,且二者的 Dof 结构域中只有一个氨基酸的差异,与 CDF1 和 CDF2 的 Dof 结构域也是高度相似的,而 Dof 结构域是 Dof 类转录因子与目的基因启动子相互作用的功能区域,说明它们存在相似的 DNA 结合特性和作用特性,可能具有相似的功能。

参考文献

- [1] TSUJIMOTO-INUI Y, BAITO Y, SAKURAL N, et al. Functional genomics of the DOF transcription factor family genes in suspension-cultured cells of *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant Biotechnology, 2009, 26: 15-28.
- [2] 郭晓芳, 严海燕. 植物中的 Dof 蛋白和 Dof 转录因子家族 [J]. 植物生理学通讯, 2005, 41(4): 419-423.
- [3] YANAGISAWA S. Dof domain proteins: plant-specific transcription factors associated with diverse phenomena unique to plants [J]. Plant Cell Physiol, 2004, 45: 386-391.
- [4] YANG X, TUSKAN G A, CHEN Z M. Divergence of the Dof gene family in poplar, *Arabidopsis* and rice suggests multiple modes of gene evolution after duplication [J]. Plant Physiol, 2006, 142: 820-830.
- [5] SHIGYO M, Tabei N, YONEYAMA T, et al. Evolutionary processes during the formation of the plant-specific Dof transcription factor family [J]. Plant Cell Physiol, 2007, 48: 179-185.
- [6] YANAGISAWA S. Dof1 and Dof2 transcription factors are associated with expression of multiple genes involved in carbon metabolism in maize [J]. Plant J, 2000(21): 281-288.
- [7] AHMAD M, RIM Y, CHEN H, et al. Functional characterization of *Arabidopsis* Dof transcription factor AtDof4. 1 [J]. Russian Journal Plant Physiology, 2013, 60(1): 116-123.
- [8] 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.
- [9] WANG H W, ZHANG B, HAO Y J, et al. The soybean Dof-type transcription factor genes, *GmDof4* and *GmDof11*, enhance lipid content in the seeds of transgenic *Arabidopsis* [J]. Plant J, 2007, 52: 716-729.
- [10] LI D J, YANG C H, LI X B, et al. Functional characterization of rice sDof12 [J]. Planta, 2009, 22(9): 1159-1169.
- [11] HUANG X, MADAN A. CAP3: A DNA sequence assembly program [J]. Genome Res, 1999(9): 868-877.
- [12] 马光, 梁菲菲, 郭继平, 等. 白菜黄烷酮-3-羟化酶基因的电子克隆与序列分析 [J]. 北方园艺, 2012(17): 116-118.
- [13] 郭继平. 油菜 HY5 基因的电子克隆及生物信息学分析 [J]. 北方园艺, 2013(23): 116-118.
- [14] IMAIZUMI T, SCHULTZ T F, HARMON F G, et al. FKF1 F-Box protein mediates cyclic degradation of a repressor of CONSTANS in *Arabidopsis* [J]. Science, 2005, 309: 293-297.
- [15] FORNARA F, PANIGRAHI K C, GISSOT L. *Arabidopsis* DOF transcription factors act redundantly to reduce CONSTANS expression and are essential for a photoperiodic flowering response [J]. Developmental Cell, 2009(17): 75-86.
- [16] FUJIWARA S. Novel blue light receptors with an F-box: their direct control of the circadian clock and the flowering timing

in *Arabidopsis*[J]. Plant Biotechnology, 2008, 25: 123-129.

[17] CORRALES A R, SERGIO G N, LAURA C, et al. Characterization of tomato cycling Dof factors reveals conserved and new

functions in the control of flowering time and abiotic stress responses[J]. Journal of Experimental Botany, 2014, 65(4): 995-1012.

Cloning and Bioinformatics Analysis of DOF Protein Gene in *Brassica napus* L.

YIN Mingzhi, HU Yan

(College of Biology and Agricultural Science & Technology, Zunyi Normal University, Zunyi, Guizhou 563006)

Abstract: Dof transcription factor is a kind of plant specific transcription factor, which contains an unique single zinc finger domain, and plays an important role in the growth and development of plants. In this study, a cDNA gene sequence with Zf-Dof domain was cloned by silico cloning and RT-PCR in *Brassica napus*. The results showed that the gene was a hydrophilic protein, containing an open reading frame of 1 284 bp, encoding a total of 427 amino acids with a molecular weight of 46.9 kDa and an isoelectric point of 8.86. Sequence alignment analysis showed that it had high homology with *Arabidopsis* CDF3 gene, which might have similar functions.

Keywords: *Brassica napus* L.; Dof protein gene; silico cloning; bioinformatics

油菜主要病害

信息广角

春茬露地油菜易发生的病害主要有菌核病、霜霉病等。防治病害应及时摘除老叶病叶,凡病叶率达到10%以上时可用农药进行防治。

油菜菌核病。此病主要为害茎秆,亦为害叶片、花和荚果。茎上的病斑初为淡褐色,略凹陷,后变灰白,湿度大时,病部变软腐烂,表面长出白色絮状物(病菌的菌丝体)。病茎皮层腐烂,髓部多消失而成空腔,内生有大型黑色的菌核,状如鼠粪,有时茎表也长有菌核。此病在油菜开花期开始发生,并一直为害至成熟期。导致植株早枯,种子皱缩,减产减收。

油菜霜霉病。此病在油菜的整个生育期都可发生,引致叶片枯死,花序肥肿畸形,此病可为害叶片、茎、花和荚果。其症状是在被害叶片正面初生淡黄色不明显的病斑,呈多角形,叶背病部上长出白色的霜状霉。不能结实或结实不良,菜籽产量和质量下降。

油菜花叶病。油菜花叶病的症状特点是感病后,在嫩叶上产生明脉症状,全部或部分叶脉呈淡黄色(对光观看略透明),随后产生花叶症状(即黄绿与浓绿相间)。少数叶片变畸形,植株矮化,结实少,不实粒增多。发病较重时,全株矮缩畸形。茎上往往产生水渍状、褐色至黑褐色的枯死条斑。病荚弯曲,重病株往往早期枯死。

油菜缺硼萎缩不实。油菜萎缩不实是甘蓝型油菜因缺硼而导致的非侵染性病害,严重缺硼时,油菜从苗期至抽薹期均可发病,病株萎缩死亡。中轻度缺硼时,植株在花期出现症状,荚果不实。其症状特点是植株根系发育不良,表皮变褐,有的根部肿大;叶片变暗绿色,叶形变小,叶质增厚,甚至凹凸皱缩,后变紫色和蓝紫色,叶脉褪绿变黄;生长点和花序顶端过早褪绿发白,萎缩干枯;荚果停止发育,结实少或不结实,荚果和茎部表皮也变紫色、蓝紫色,或紫蓝色的条斑。

(来源:百度百科)