刘丽,武琦,高婷,等.太行菊GRAS基因家族鉴定及其在盐胁迫下的表达分析[J].山西农业大学学报(自然科学版),2025,45(6):1-11.
Liu L, Wu Q, Gao T, et al. Identification of GRAS gene family in *Opisthopappus taihangensis* and analysis of its expression under salt stress[J]. Journal of Shanxi Agricultural University(Natural Science Edition), 2025,45(6):1-11.
doi: 10.13842/j.cnki.issn1671-8151.202505036

太行菊GRAS基因家族鉴定及其在盐胁迫下的表达分析

刘丽,武琦,高婷,张翊萌,申岳鑫,王祎玲*

(山西师范大学 生命科学学院,山西 太原 030031)

摘　要:[目的]挖掘太行菊GRAS(OtGRAS)基因家族成员,并分析其在盐胁迫下的表达水平。[方法]基于太行菊基因组数据,利用生物信息学方法分析OtGRAS家族成员的结构特征、理化特性、复制事件和启动子中的顺式作用元件;基于盐胁迫下的转录组数据,对太行菊OtGRAS家族成员的表达水平进行分析,并利用qRT-PCR进行验证。[结果]共鉴定出39个OtGRAS基因,并将其归为8个亚家族(PAT1、DELLA、LISCL、SCR、HAM、LAS、SCL3和SCL28)。71.79%的OtGRAS基因不含内含子,其余含1~2个内含子。92.31% OtGRAS蛋白含有丰富的酸性氨基酸,所有的OtGRAS蛋白都是亲水性的。保守基序分析结果显示,PAT1、LISCL和部分DELLE亚家族的成员含有全部10个基序。基因组复制事件分析表明,9个OtGRAS基因形成了7对片段复制,这些片段复制分散在6条染色体上。顺式作用元件预测共鉴定出14种类型的819个顺式作用元件,这些元件可分为光响应、生长发育、激素响应和胁迫响应相关的4大类元件。基于太行菊转录组数据和qRT-PCR验证揭示了盐胁迫下OtGRAS的表达模式,*OtGRAS11*、*OtGRAS13*和*OtGRAS27*是太行菊盐胁迫响应的候选基因。[结论]本研究全面鉴定了太行菊OtGRAS基因家族成员,筛选出盐胁迫响应的候选基因,为进一步深入探索太行菊的抗性机制提供了理论基础,同时为太行菊资源利用提供信息。

关键词:太行菊;GRAS基因家族;盐胁迫;表达模式
中图分类号:S682　　**文献标识码**:A　　**文章编号**:1671-8151(2025)06-0001-11

Identification of the GRAS gene family in *Opisthopappus taihangensis* and its analysis expression under salt stress

Liu Li, Wu Qi, Gao Ting, Zhang Yimeng, Shen Yuexin, Wang Yiling*

(*School of Life Sciences, Shanxi Normal University, Taiyuan 030031, China*)

Abstract: [Objective] This study was aimed to identify the GRAS (OtGRAS) gene family members in *Opisthopappus taihangensis* and analyze their expression levels under salt stress. [Methods] Based on the genomic data of *O. taihangensis*, bioinformatics methods were used to analyze the structural characteristics, physicochemical properties, duplication events, and cis-acting elements in the promoter of the OtGRAS family members. The expression levels of OtGRAS family members under salt stress were analyzed using transcriptome data and validated by qRT-PCR. [Results] A total of 39 OtGRAS genes were identified and classified into eight subfamilies (PAT1, DELLA, LISCL, SCR, HAM, LAS, SCL3 and SCL28). Among them, 71.79% of the OtGRAS genes contained no introns, while the remaining genes contained 1~2 introns. Additionally, 92.31% of OtGRAS proteins were rich in acidic amino acids, and all OtGRAS proteins were hydrophilic. Conservative motif analysis revealed that members of the PAT1, LISCL and some DELLA subfamilies contained all 10 motifs. Genomic replication event analysis identified seven pairs of segmental replications involving nine OtGRAS genes, distributed across six chromosomes. Cis-acting element prediction identified 819 elements of 14 types, which could be categorized into four major groups: light re-

收稿日期:2025-05-18　　**修回日期**:2025-06-10
基金项目:山西省基础研究计划项目(202403021221166,202103021223260);国家自然科学基金面上项目(31970358)
作者简介:刘丽(ORCID:0000-0002-8540-0358),讲师,博士,研究方向:植物资源利用与功能基因组学;武琦,硕士,研究方向:植物功能基因组学;刘丽和武琦为同等贡献作者
*通信作者:王祎玲,教授,博士生导师,E-mail:ylwangbj@hotmail.com

sponse, growth and development, hormone response, and stress response. Transcriptome data and qRT-PCR validation revealed the expression pattern of OtGRAS genes under salt stress, with OtGRAS11, OtGRAS13 and OtGRAS27 identified as candidate genes for salt stress response in *O. taihangensis*. [Conclusion] This study comprehensively identified the OtGRAS gene family members in *O. taihangensis* and screened candidate genes involved in salt stress response. The findings provided a theoretical basis for further exploration of the resistance mechanism of *O. taihangensis* and offered valuable information for the utilization of its resources.

Keywords: *O. taihangensis*, GRAS gene family, salt stress, expression pattern

转录因子(Transcription factor,TF)作为植物信号通路的重要组成部分,在胁迫响应中起着至关重要的作用[1],它可以与顺式作用元件特异结合,通过抑制或激活转录过程来调节基因转录的表达水平[2]。近年来,随着高通量测序技术的快速发展,许多植物的全基因组测序已经完成,并从中鉴定出一系列调控干旱、高盐、低温和发育相关的转录因子,如NAC、MYB、DREB/ERF、WRKY[3]和GRAS[4]。

GRAS(GAI-RGA-and-SCR)是一种植物特异性转录因子,以最早发现的3个功能基因命名[5]。GRAS蛋白通常由360~850个氨基酸组成,包含1个高度可变的N端和1个高度保守的C端[6]。基于GRAS基因家族的保守基序和序列相似性,一般将其划分为10个亚家族:DELLA、LS、SCR、SHR、PAT1、HAM、SCL3、SCL4/7、SCL9(LISCL)和DLT[7]。随着测序技术和基因组学的发展,GRAS基因家族已在多种植物中完成全基因组鉴定和分析,包括拟南芥(*Arabidopsis thaliana* L.)[8]、水稻(*Oryza sativa* L.)[9]和大豆(*Glycine max*)[10]。GRAS家族成员在植物生长发育中具有重要调控作用[11]。PAT1主要作为光敏色素信号的正向调节因子,在几乎所有PAT1亚家族成员中都有一个保守基序,在光信号传导中起重要作用[12]。DELLA亚家族的基因已被证明是赤霉素(gibberellins acid,GA)信号通路的阻滞剂,其包含参与GA信号过程的GAI、RGA和RGL成员,GAI和RGA作为GA信号的负调控因子,间接调控植物发育过程,如种子萌发和花发育[13]。LISCL主要是由减数分裂相关基因调控的基因命名[14]。SCR和SHR亚家族的成员可以形成SCR/SHR复合物,参与调节根的径向生长[11]。LAS亚家族基因可以下调GA含量,在基因调控网络中处于关键位置。此外,许多研究表明,GRAS基因家族在植物胁迫响应中起着关键作用。在多年生草本植物紫花苜蓿(*Medicago sativa* L.)中,干旱胁迫和激素处理(ABA、GA和IAA)诱导*MsGRAS51*的表达,而在盐胁迫环境下表达下调[15],这表明它在激素和非生物胁迫的响应中起着重要作用。虽然GRAS基因家族已经被研究了30多年[16],在植物中发现的GRAS基因家族成员越来越多,它们的生物学功能也逐渐被阐明。但是,关于太行菊中GRAS基因家族的研究尚未见报道,GRAS基因在太行菊中的功能尚不清楚。

太行菊(*O. taihangensis* (Y. Ling) C. Shih)隶属于菊科,是我国特有的多年生草本植物,属于国家二级保护植物。其花泡水可清肝、润喉,有研究证明,太行菊总黄酮的抗氧化活性和稳定性均优于传统药用植物野菊(*Chrysanthemum indicum* L.),黄酮类化合物具有抗过敏、抗炎、抗病毒等药理活性,因此太行菊比野菊具有更好的保健和药用功效[17]。太行菊主要分布于山西、河南和河北的太行山脉,通常生长在陡峭的悬崖裂缝中[18],具有良好的耐旱、耐寒和耐盐性,是菊科优良的野生资源。在早期试验中,我们观察到太行菊在盐渍土壤中能正常存活,表现出良好的耐盐性。随着盐浓度的增加,太行菊通过激活氧化还原调节酶、抗氧化酶系统,包括过氧化物酶、超氧化物歧化酶和过氧化氢酶来抵御盐胁迫[19]。作为植物重要的转录因子之一,GRAS在盐胁迫下的太行菊中如何发挥作用尚不清楚。本研究基于基因组数据和转录组数据挖掘太行菊GRAS基因家族成员,并分析其在盐胁迫处理下的表达水平,研究结果可为太行菊GRAS基因家族的生物学功能研究提供参考,同时为太行菊资源利用提供信息。

1 材料和方法

1.1 试验材料

本研究所使用的太行菊样品采自山西师范大学试验田,经山西师范大学生命科学学院王祎玲教授鉴定为太行菊(*O. taihangensis* (Y. Ling) C. Shih)。

1.2 太行菊GRAS基因家族鉴定

利用本实验室未发表的太行菊基因组数据,采用多种策略尽可能地保证太行菊GRAS基因家

族的完整。首先,从TAIR网站下载拟南芥GRAS蛋白序列(https://www.arabidopsis.org/),利用TBtools将拟南芥GRAS的蛋白序列在太行菊的所有蛋白序列中进行比对(E值$<1\times10^{-5}$)。随后,根据隐马尔可夫模型(HMM),利用从Pfam数据库(http://pfam.xfam.org/)中下载的GRAS的蛋白结构域(PF03514)进行分析,确保每个候选序列中都包含保守结构域。最后,利用NCBI网站的Batch-CDD工具结合BLAST和HMM检索结果对所有GRAS蛋白进行进一步验证,保留包含完整GRAS结构域的蛋白。

采用ExPASy网站的ProtParam评估鉴定到的OtGRAS蛋白的理化特性,包括氨基酸数、分子量、理论等电点、不稳定系数、亲水性指数。

1.3　OtGRAS基因家族的系统发育分析

为了全面了解OtGRAS基因家族的系统发育关系,结合拟南芥和水稻的GRAS基因家族成员,利用MEGA中的Cluster W[20],对太行菊、拟南芥和水稻的GRAS蛋白序列进行多序列比对。使用trimAL在TBtools[21]中对得到的序列的保守区域进行修剪。然后,利用IQ-TREE 2软件[22],采用邻接法(Neighbor-Joining, NJ),自展值设为1000,构建无根系统发育树。

1.4　基因结构和保守基序分析

利用TBtools的Gene structure View获得OtGRAS基因序列的内含子和外显子结构。利用MEME SUITE网站上的MEME工具对OtGRAS蛋白序列的保守基序进行分析,最大基序数设置为10。

1.5　OtGRAS基因的染色体定位和共线性分析

利用TBtools软件中GTF/GFF的基因定位可视化(Gene Location Visualization),将鉴定的OtGRAS基因定位到染色体上。利用MCScan X[23]对OtGRAS基因家族进行共线性分析,并用TBtools的Advanced Circos功能进行可视化。

1.6　OtGRAS基因家族顺式作用元件预测

利用PlantCARE在线工具(https://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/)在鉴定的OtGRAS基因上游2 kb的基因组区域进行顺式作用元件预测,用GSDS在线网站对相关结果进行可视化处理。

1.7　盐胁迫下OtGRAS基因家族表达量分析

太行菊盐胁迫下的转录组数据来源于本实验室未发表的数据。将太行菊种子置于培养皿中,在室温下发芽并移至育苗盘中,3周后移至塑料花盆中继续培养,当幼苗生长6周后,选择健康且生长一致的幼苗进行盐胁迫处理。采用混合盐溶液(NaCl、Na_2SO_4和$NaHCO_3$的比例为5:4:1)处理太行菊叶片组织,在0(CK)、100、300和500 mmol/L下处理24小时,每个处理设3个重复。处理后,将每个个体相同部位的叶片样本冷冻在液氮中进行转录组测序。基于此转录组测序数据,利用TBtools绘制不同处理下OtGRAS基因的表达热图。

随机选取5个OtGRAS基因,通过qRT-PCR验证其在盐胁迫下的表达模式。利用PRIMER 5.0软件进行PCR引物设计,引物序列见表1。选择evm.TU.Chr8.13443作为内参基因。使用Trizol试剂进行太行菊叶片总RNA的提取,使用安捷伦2100生物分析仪(Agilent Technologies,美国)和安捷伦RNA 6000 Nano试剂盒(Agilent Technologies,美国)检测总RNA的质量和纯度。使用PrimeScript RT试剂盒(TaKaRa,日本)将RNA反转录成cDNA,将合成的cDNA作为模板使用ABI 7500 RT-PCR系统(Applied Biosystems,美国)进行实时荧光定量PCR检测。每个基因建立3个生物重复,用$2^{-\Delta\Delta CT}$法计算所选基因的相对表达量。

表1　qRT-PCR引物序列

Table 1　Primer sequences used in qRT-PCR

基因名称 Gene name	引物序列(5'-3') Primer sequences
OtGRAS4	F: TCCTCCGAATGTAGCACTTCCTCAA
	R: TCAGCCACAGCCGAGAACTCAA
OtGRAS11	F: CCTCATCCTCTTCCTTCATGTTCTTCT
	R: GTTGGACTTGGACTGGTGGTGAT
OtGRAS13	F: CAAGCAGTGGCAGGTTAGAATCTCA
	R: CACGGCAGTAATTCATCCAACAACAA
OtGRAS27	F: GCCACGAGATGACAGCCAGAGA
	R: AATGAGGAAGCAAGCAGAAGGAAGAC
OtGRAS37	F: CATGAAGCGAGATCGTGAGCGTAA
	R: TCTGTGATTCCTCCGTGGTGCTA

2　结果与分析

2.1　太行菊GRAS基因家族鉴定

太行菊中共鉴定出39个具有保守结构域的GRAS基因,根据其在染色体上的位置将其命名为*OtGRAS1*~*OtGRAS39*(表2)。39个OtGRAS蛋白的氨基酸数、分子量、等电点等存在差异。序列分析显示,39个OtGRAS蛋白的氨基酸长度从405个(OtGRAS21)到728个(OtGRAS10)不等,平均长度为559个氨基酸。分子

量范围为46 184.40～82 453.58 Da。等电点最低(4.94)和最高(9.20)的分别是OtGRAS39和OtGRAS9,有36个(92.31%)OtGRAS蛋白的等电点值小于7,说明它们含有丰富的酸性氨基酸。34个(87.18%)OtGRAS蛋白不稳定,不稳定指数均大于40。此外,所有的OtGRAS蛋白都是亲水性的,亲水性值均为负。

表2 OtGRAS基因家族的理化特性

Table 2 Physical and chemical property, subcellular location of the OtGRAS gene family

基因名称 Gene name	基因ID Gene ID	氨基酸数量 Number of amino acids	分子量/Da Molecular weight	理论等电点 Theoretical pI	不稳定系数 Instability index	亲水性指数 Hydrophilic index
OtGRAS1	Chr1.1540	429	49 091.18	7.83	51.45	−0.307
OtGRAS2	Chr1.2523	480	53 751.77	5.94	44.05	−0.304
OtGRAS3	Chr1.3022	543	61 253.11	6.64	44.44	−0.254
OtGRAS4	Chr1.7145	698	76 716.19	5.88	46.14	−0.371
OtGRAS5	Chr1.11655	525	57 896.70	5.07	39.40	−0.225
OtGRAS6	Chr2.552	486	54 582.22	5.69	42.29	−0.221
OtGRAS7	Chr2.4825	548	60 227.24	5.51	44.05	−0.200
OtGRAS8	Chr2.11979	492	55 197.50	5.98	40.82	−0.270
OtGRAS9	Chr2.12579	440	50 288.98	9.20	36.76	−0.271
OtGRAS10	Chr2.13783	728	81 652.55	5.13	51.49	−0.445
OtGRAS11	Chr3.4517	591	66 284.29	5.91	51.05	−0.168
OtGRAS12	Chr3.7403	615	69 814.30	8.95	51.33	−0.526
OtGRAS13	Chr3.9063	724	82 453.58	5.23	44.57	−0.498
OtGRAS14	Chr3.9065	723	82 235.98	5.38	48.22	−0.573
OtGRAS15	Chr3.14052	516	58 025.43	5.52	43.17	−0.336
OtGRAS16	Chr3.14056	513	57 369.65	5.19	42.13	−0.311
OtGRAS17	Chr3.14769	521	59 191.61	4.95	38.87	−0.417
OtGRAS18	Chr3.15161	526	59 291.40	6.33	53.97	−0.414
OtGRAS19	Chr3.15811	657	72 305.47	5.61	47.32	−0.322
OtGRAS20	Chr3.16622	451	50 968.25	6.30	52.37	−0.264
OtGRAS21	Chr4.161	405	46 184.40	6.00	45.38	−0.292
OtGRAS22	Chr4.1351	659	74 837.76	5.75	48.01	−0.475
OtGRAS23	Chr4.5245	665	75 278.78	6.09	47.80	−0.361
OtGRAS24	Chr4.7006	597	65 932.32	6.36	45.29	−0.408
OtGRAS25	Chr4.10712	620	69 493.97	5.79	55.57	−0.477
OtGRAS26	Chr5.1384	528	59 679.26	5.06	45.81	−0.454
OtGRAS27	Chr5.1767	548	61 413.11	5.67	52.17	−0.419
OtGRAS28	Chr5.10717	449	49 685.67	5.23	54.05	−0.062
OtGRAS29	Chr5.12456	449	49 709.74	5.17	54.67	−0.053
OtGRAS30	Chr5.12897	598	65 052.47	4.99	33.68	−0.263
OtGRAS31	Chr6.2302	552	62 490.50	6.56	47.78	−0.243
OtGRAS32	Chr6.9637	687	75 985.48	5.34	64.17	−0.385
OtGRAS33	Chr6.10904	489	54 331.17	5.56	44.34	−0.265
OtGRAS34	Chr7.6139	623	69 344.56	5.38	38.33	−0.206
OtGRAS35	Chr7.8553	462	51 949.89	5.79	62.07	−0.144
OtGRAS36	Chr8.2683	706	78 709.57	5.99	43.90	−0.303
OtGRAS37	Chr8.8817	551	60 257.31	5.04	42.71	−0.204
OtGRAS38	Chr8.12112	456	51 281.12	6.34	47.13	−0.146
OtGRAS39	Chr9.11122	561	62 494.51	4.94	52.68	−0.303

2.2　OtGRAS基因家族的系统发育关系

利用140个完整的蛋白序列,包括32个拟南芥AtGRAS、69个水稻OsGRAS和39个太行菊OtGRAS进行系统发育分析(图1)。基于系统发育树,140个GRAS被划分为9个亚家族,其中太行菊PAT1亚家族成员最多,有9个成员,其余依次为DELLA(8个)、LISCL(7个)、SCR(6个)、LAS(3个)、HAM(3个)、SCL3(2个)、SCL28(1个)和SHR(0个)。

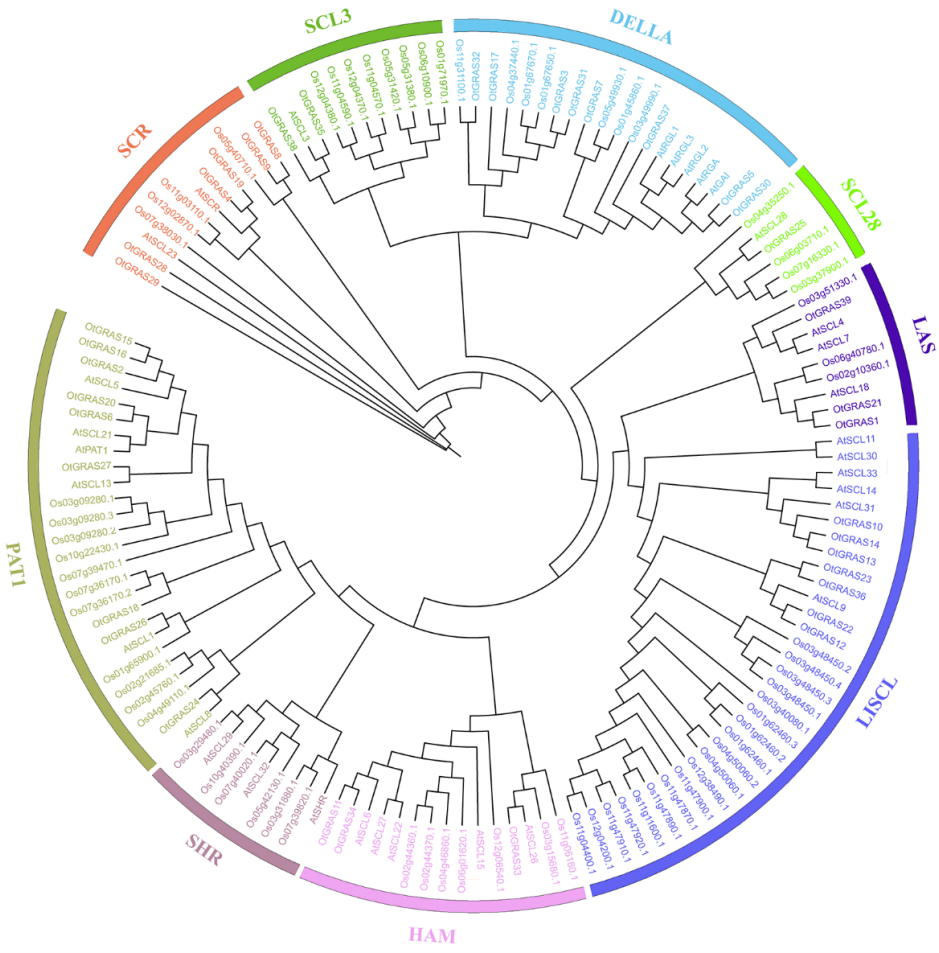


图1　太行菊、拟南芥和水稻的GRAS家族成员的系统发育树

Fig.1　Phylogenetic trees of GRAS family members of *O. taihangensis*, *A. thaliana*, and *O. sativa*

2.3　OtGRAS基因家族保守基序和基因结构

太行菊OtGRAS蛋白序列中共确定了10个保守基序,并将其命名为Motif 1~Motif 10(图2)。PAT1、LISCL和部分DELLE亚家族的成员含有10个基序。在大多数OtGRAS蛋白中,基序排列顺序为Motif 9、Motif 8、Motif 4、Motif 1、Motif 7、Motif 6、Motif 2、Motif 3、Motif 10和Motif 5。其中,Motif 5存在于所有OtGRAS蛋白的C端末端。

对鉴定到的OtGRAS进行基因结构分析,结果显示28个成员(71.79%)不含内含子,其余11个(28.21%)含内含子,其中8个含1个内含子,3个含2个内含子(图2)。

2.4　OtGRAS基因的染色体定位及复制事件

鉴定到的39个OtGRAS基因广泛分布于太行菊的9条染色体上(图3),其中3号染色体上的OtGRAS基因最多(10个,占25.64%);其次是1号染色体、2号染色体、4号染色体和5号染色体(各5个);9号染色体上OtGRAS基因最少(1个)。

对OtGRAS基因的复制事件进行分析,鉴定到9个OtGRAS基因形成了7对片段复制(图4),这些片段复制分散在6条染色体上,这些结果表明片段复制事件可能在OtGRAS基因家族中起关键作用,一些OtGRAS基因的形成可能是由复制事件触发的。

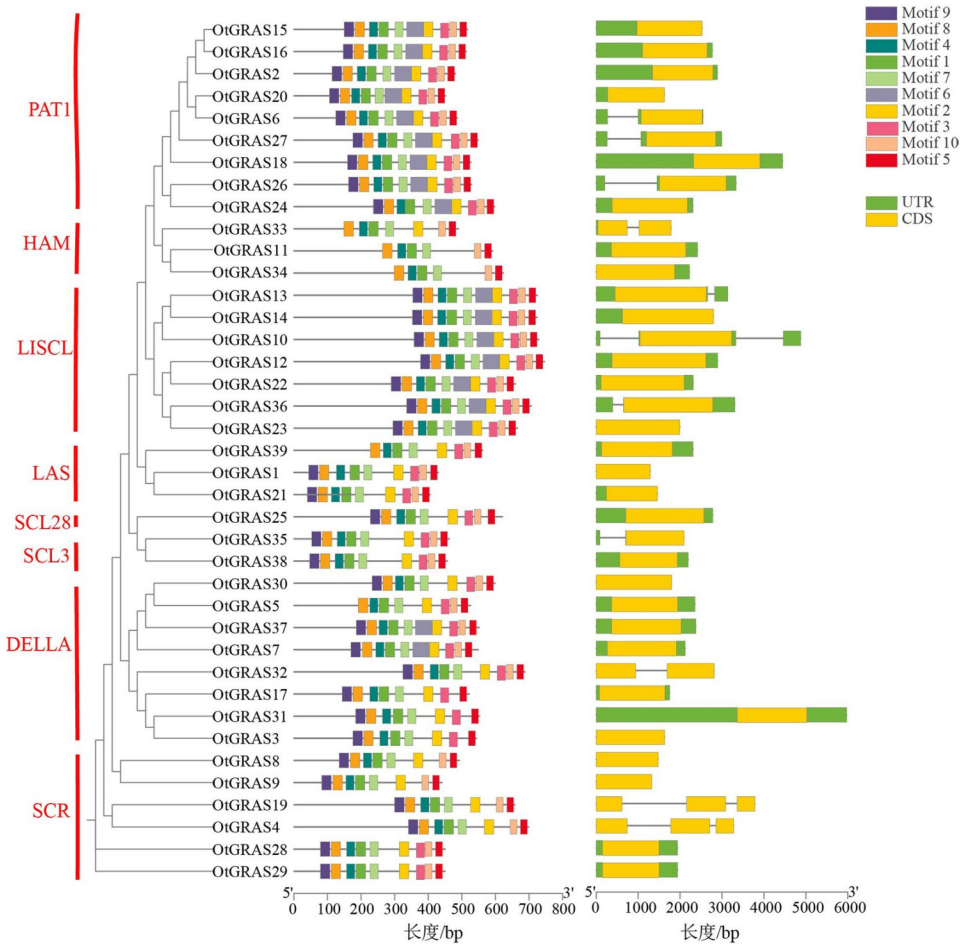


图2 OtGRAS家族成员的保守结构域与基因结构

Fig.2 Conserved domains and gene structure of OtGRAS members

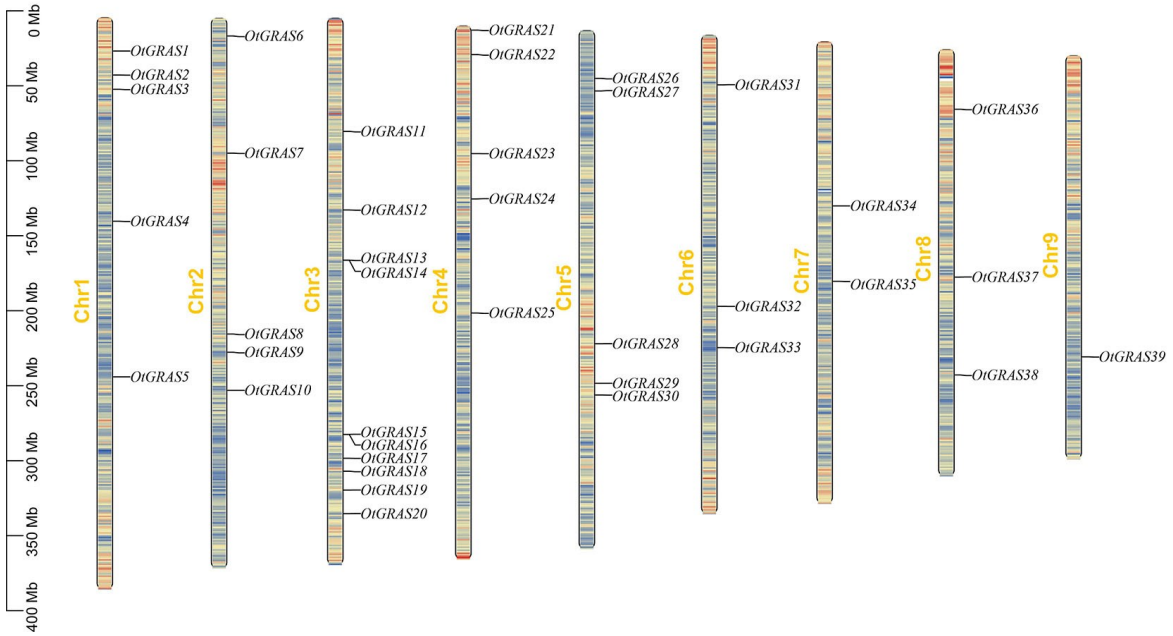
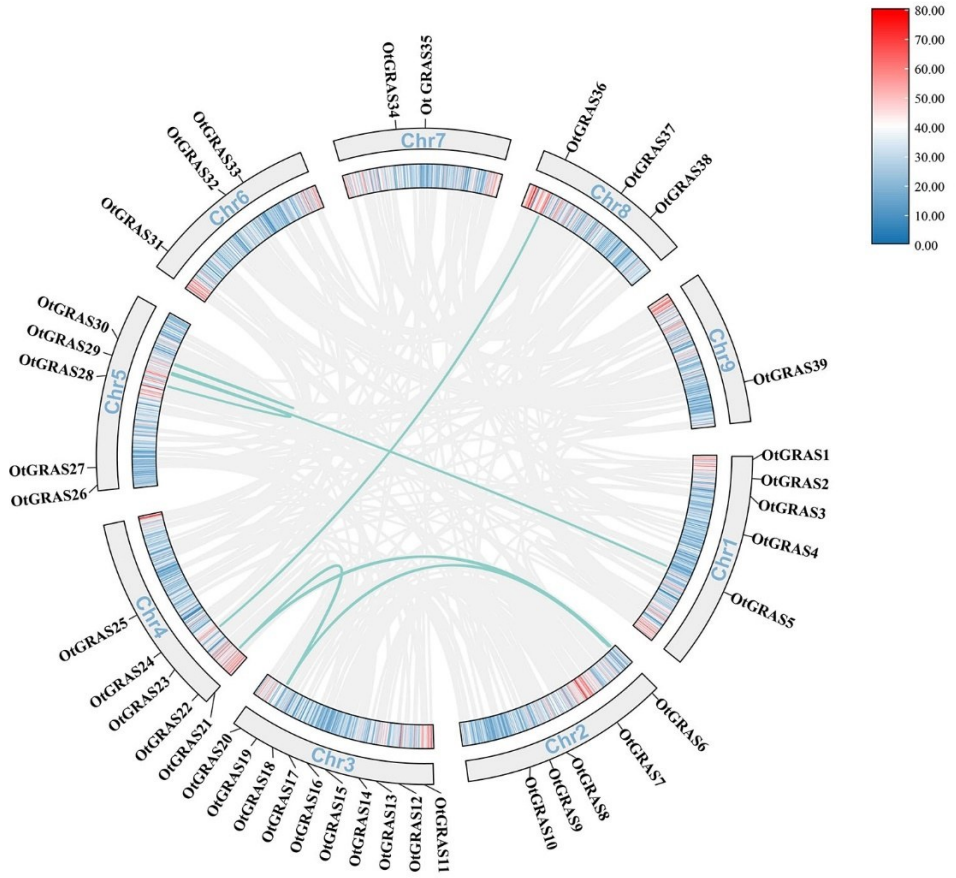


图3 太行菊OtGRAS的染色体定位

Fig.3 Chromosome distribution of OtGRAS genes in *O. taihangensis*



灰色线条表示所有共线性片段;绿色线条表示片段复制

Gray lines represent all collinear segments, while the green lines represent the segmental duplicate

图4　OtGRAS基因的复制事件

Fig.4　Replication events of OtGRAS genes

2.5　OtGRAS基因启动子中的顺式作用元件

对OtGRAS基因的顺式作用元件进行预测(图5),共鉴定出14种类型的819个顺式作用元件,包括4大类:胁迫响应相关的元件、激素响应类元件、生长发育类元件和光响应元件。所有OtGRAS基因均含有光响应元件(GATA-motif、GT1-motif和AAAC-motif),但是基因之间的类型和数量存在差异,这表明光信号可能对转录调控产生影响。22个OtGRAS基因中含有与生长发育相关的顺式作用元件,包括参与玉米醇溶蛋白代谢调节的元件(O_2-site)和最大激发子介导的激活元件(AT-rich element)。激素响应类元件包括GA响应元件(GARE-motif)、茉莉酸甲酯响应元件(CGTCA-motif和TGACG-motif)、水杨酸响应元件(TCA-element)、脱落酸响应元件(ABRE)和生长素响应元件(TGA-element)。在34个(87.18%)OtGRAS基因中鉴定到ABRE,31个(79.49%)OtGRAS基因中鉴定到茉莉酸甲酯响应元件CGTCA-motif和TGACG-motif。胁迫响应相关元件有3种,其中除了*OtGRAS5*、*OtGRAS7*和*OtGRAS23*,其余36个OtGRAS基因中均含有抗氧化应答元件(ARE),22个OtGRAS基因中含有防御和胁迫反应的元件(TC-rich repeats),18个OtGRAS基因含有低温响应元件(LTR)。综上,OtGRAS基因的启动子区均存在光响应元件和胁迫响应相关的元件,大部分OtGRAS基因的启动子区含有ARE和ABRE,表明这些元件在OtGRAS基因家族中高度保守,在太行菊的胁迫响应和激素响应中发挥重要作用。

2.6　OtGRAS基因在盐胁迫下的表达模式

为了阐明OtGRAS基因在太行菊中的潜在作用,进一步探讨其在盐胁迫下的作用,本研究基于转录组数据比较不同盐浓度处理下的表达变化模式。大多数OtGRAS基因在盐胁迫处理时的表达水平偏高。*OtGRAS10*、*OtGRAS11*、*OtGRAS13*、*OtGRAS23*、*OtGRAS26*、*OtGRAS27*、*OtGRAS34*

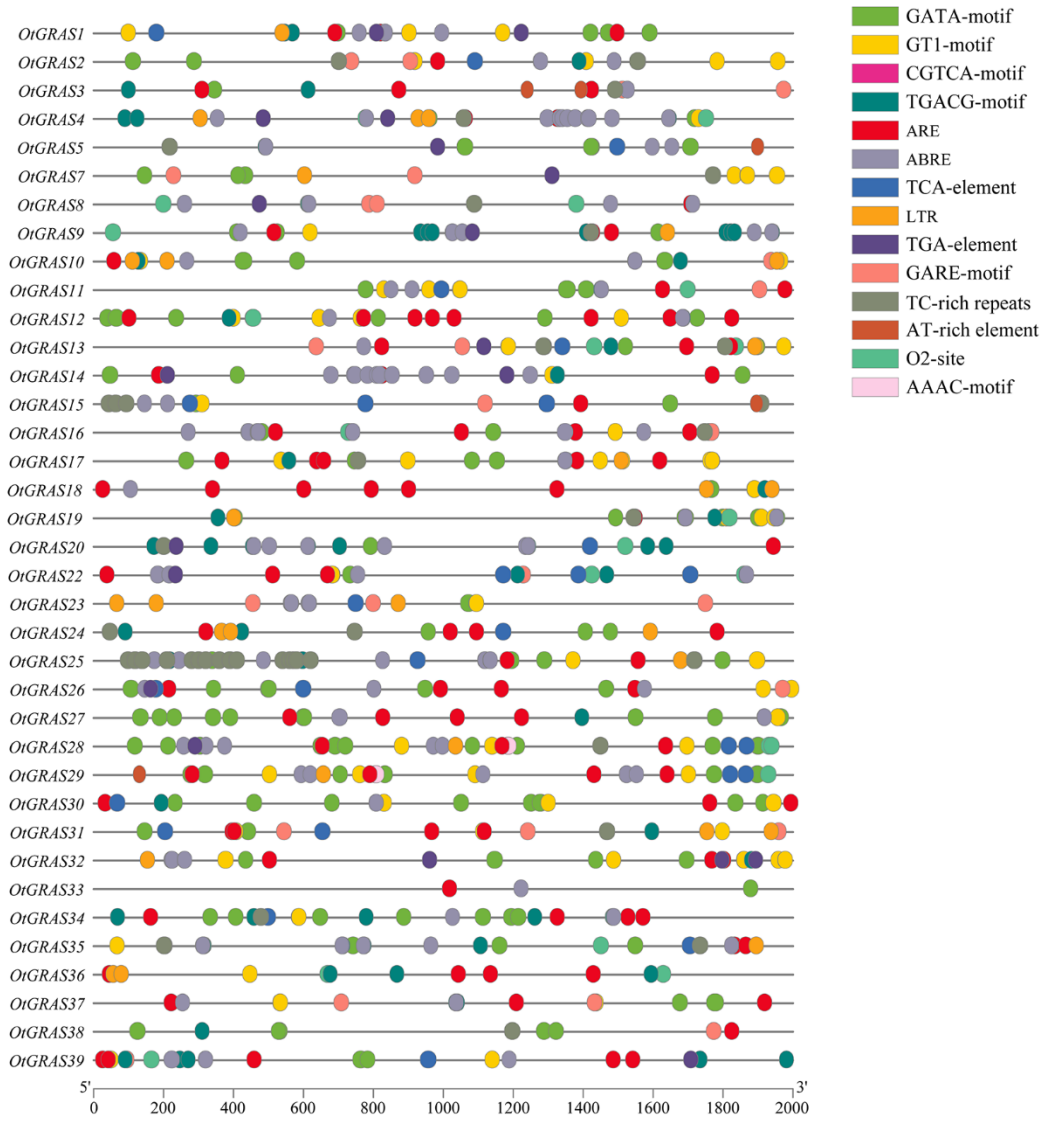


图5 OtGRAS的顺式作用元件预测

Fig.5 Identification of cis-acting elements of OtGRAS

和*OtGRAS36*基因表达水平随着盐浓度的增加而呈现上升趋势(图6),这些基因属于LISCL、HAM和PAT1亚家族。*OtGRAS2*、*OtGRAS4*、*OtGRAS15*、*OtGRAS16*、*OtGRAS17*、*OtGRAS32*和*OtGRAS37*基因表达水平随盐浓度的增加呈现先增加后降低的趋势。

随机选择5个OtGRAS基因,应用qRT-PCR检测其在不同盐浓度(0、100、300和500 mmol/L)胁迫下的表达水平(图7)。结果表明,以0 mmol/L(CK)为对照,盐胁迫处理下,5个OtGRAS基因表达上调,*OtGRAS11*、*OtGRAS13*和*OtGRAS27*的表达随着盐浓度升高呈现上升趋势,*OtGRAS4*和*OtGRAS37*的表达随着盐浓度的升高呈现先升高后降低的趋势,与转录组数据结果一致。

3 讨论

GRAS是一种植物特异性转录因子,在胁迫响应、物质代谢和生长发育中起着重要作用。目前,GRAS家族成员已在拟南芥、水稻、掌叶大黄和亚麻等[24-27]中被鉴定。本研究在太行菊基因组中共鉴定出39个GRAS基因(*OtGRAS1*~*OtGRAS39*),其数量与亚麻和拟南芥相近。染色体定位分析发现,OtGRAS基因不均匀分布于太行菊9条染色体上,不均匀分布与广泛的基因丢失密切相关,这种基因丢失在被子植物中普遍存在[28]。基因结构和保守基序为预测基因及其相应蛋白的

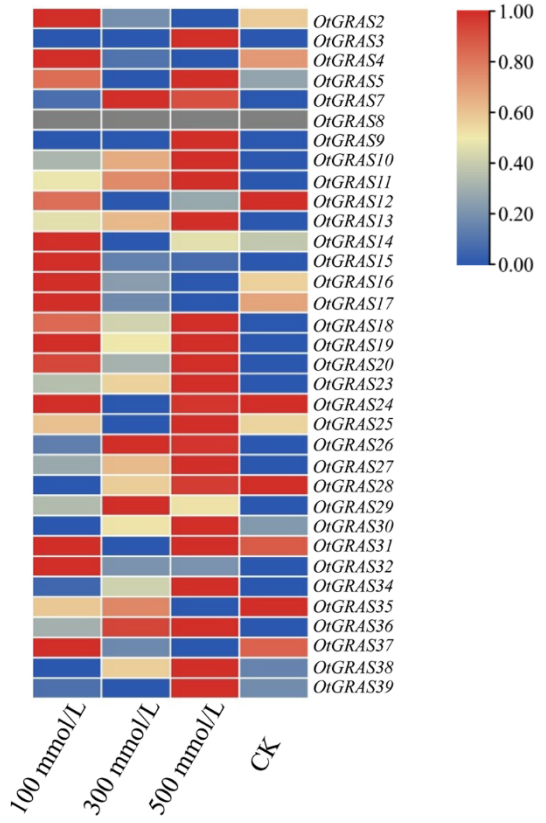
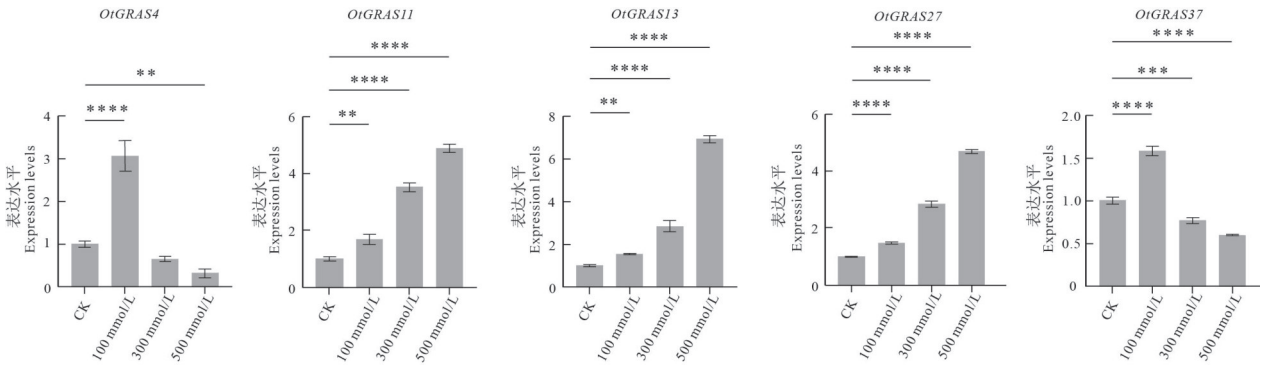


图6　基于转录组数据的盐胁迫下太行菊OtGRAS基因的表达模式

Fig.6　Expression patterns of OtGRAS genes under salt stress based on transcriptome data of *O. taihangensis*

进化提供了线索。39个OtGRAS的基因结构分析结果显示,71.79%的OtGRAS不含内含子,这与草本植物亚麻(68.42%)、烟草(80%)的结果类似。GRAS基因家族中无内含子基因所占比例较高,真核生物的祖先都有富含内含子的基因,然而由于选择压力,大多数基因的内含子可能丢失,内含子越少,基因就能迅速产生更多的蛋白质,并迅速对非生物胁迫做出反应[29]。对于太行菊OtGRAS基因家族来说,内含子的缺失可能是一种应对非生物胁迫的策略。

太行菊OtGRAS基因家族的序列同源分析将39个OtGRAS基因分为8个亚家族(图1),同一亚家族的基因基序相似,具有相似的保守结构域,因此可能具有相似的功能。一般来说,保守基序在OtGRAS蛋白中是共同的,然而,它们的理化性质却有明显的不同,非保守区氨基酸的差异导致了这种差异,这表明OtGRAS蛋白可能在各自不同的微环境中发挥不同的作用[30]。9个OtGRAS基因被归为PAT1亚家族,PAT1亚家族广泛参与植物的胁迫响应,如棉花中的部分PAT1亚家族基因参与高低温胁迫、干旱胁迫和盐胁迫[31],葡萄中的*PAT1*基因在拟南芥中过表达能提高其抗逆性[32],过表达大豆*PAT1*基因能够显著提升转基因植株对盐和干旱的抗性[33]。同时,启动子顺式作用元件分析表明,被归为PAT1亚家族的OtGRAS基因除了*OtGRAS24*中不含ABA响应元件(ABRE)外,其它基因均含有不同数量的ABRE,因此推测太行菊PAT1亚家族基因可能参与ABA途径调控太行菊的胁迫响应。8个OtGRAS基因被归为DELLA亚家族,已有研究证明保守的DELLA结构域是GA信号响应所必须的,拟南芥中大部分DELLA亚家族的基因是GA信号通路的转录抑制因子[32]。因此,太行菊DELLA亚家族基因可能在GA信号通路中发挥作用。此外,Patrick等[34]发现,环境变化调节DELLA活性,进而导致DELLA通过调节活性氧水平抑制植物生长,提高植物的抗逆性。*OtGRAS4*、*OtGRAS8*、*OtGRAS9*、*OtGRAS19*、*OtGRAS28*和*OtGRAS29*被归为SCR



**** $P<0.0001$, *** $P<0.001$, ** $P<0.01$

图7　基于qRT-PCR验证盐胁迫下OtGRAS基因的表达模式

Fig.7　Expression patterns of OtGRAS genes under salt stress based on qRT-PCR

亚家族,SCR是拟南芥根辐射形态和根尖分生的重要转录因子[35],在掌叶大黄根中高表达[26],因此,推测太行菊中的这些SCR亚家族基因在其根部发育中发挥重要作用。LISCL通过激活胁迫诱导启动子正向调节水稻抗旱性[36]。杨树中的LAS亚家族*PeSCL7*基因在拟南芥中过表达能提高植株的耐旱性和耐盐性[37]。

顺式作用元件作为关键的分子开关,参与基因的转录调控,控制着多种生物过程。本研究发现,OtGRAS富含与光响应、生长发育、激素响应和胁迫响应相关的顺式作用元件。所有OtGRAS基因均具有光响应元件,表明OtGRAS基因通过对光响应来调控太行菊的生长发育。39个OtGRAS基因中有34个含有与ABA响应性相关的ABRE调控元件。ABRE结合蛋白/ABRE结合因子(AREB/ABF)可以正向调节植物对ABA的反应,增强植物的耐受性,而ABA信号通路在植物响应非生物胁迫中起着至关重要的作用[38-39]。植物受到干旱、盐、寒冷胁迫时会诱导ABA的积累,ABA通过ABRE顺式作用元件进行基因表达以抵御这些胁迫[40]。此外,太行菊OtGRAS基因家族启动子序列还存在抗氧化、低温等非生物胁迫响应相关的元件,表明OtGRAS基因家族可能在植物非生物胁迫响应、光响应和植物激素调控的相关生物学过程中具有潜在功能。

4 结论

本研究在太行菊中共鉴定出39个OtGRAS基因,并将其归为8个亚家族(PAT1、DELLA、LISCL、SCR、HAM、LAS、SCL3和SCL28)。71.79%的OtGRAS基因不含内含子,其余含1~2个内含子,OtGRAS基因内含子的缺失可能是太行菊应对非生物胁迫的策略。基因组复制事件分析表明,9个OtGRAS基因形成了7对片段复制,一些OtGRAS基因的形成可能是由复制事件触发的。顺式作用元件预测共鉴定出14种类型的819个顺式作用元件,这些元件可分为光响应、生长发育、激素响应和胁迫响应相关的4大类元件。预测*OtGRAS11*、*OtGRAS13*和*OtGRAS27*是太行菊盐胁迫响应的候选基因。

参考文献

[1]Zhu J K. Salt and drought stress signal transduction in plants[J]. Annual Review of Plant Biology, 2002, 53: 247-273.

[2]Wang B X, Sun Z G, Liu Y, et al. A pervasive phosphorylation cascade modulation of plant transcription factors in response to abiotic stress[J]. Planta, 2023, 258(4): 7.

[3]Yang H J, Chen M W, Kou C, et al. Comparative transcriptomic analysis of different potato cultivars to elucidate the molecular mechanisms underlying differences in cold resistance[J]. Potato Research,2024,67(2):545-564.

[4]Zhu L, Yin T, Zhang M J, et al. Genome-wide identification and expression pattern analysis of the kiwifruit GRAS transcription factor family in response to salt stress[J]. BMC Genomics,2024,25(1):12.

[5]Pysh L D, Wysocka-Diller J W, Camilleri C, et al. The GRAS gene family in *Arabidopsis*: sequence characterization and basic expression analysis of the SCARECROW-LIKE genes[J]. The Plant Journal,1999,18(1):111-119.

[6]Cenci A, Rouard M. Evolutionary analyses of GRAS transcription factors in angiosperms[J]. Frontiers in Plant Science,2017,8:273.

[7]Hou S J, Zhang Q Q, Chen J, et al. Genome-wide identification and analysis of the GRAS transcription factor gene family in *Theobroma cacao*[J]. Genes, 2023, 14(1): 57.

[8]徐红云,张明意. GRAS转录因子AtSCL4负调控拟南芥应答渗透胁迫[J]. 生物技术通报,2022,38(6):129-135.
Xu H Y, Zhang M Y. AtSCL4, an *Arabidopsis thaliana* GRAS transcription factor, negatively modulates plants in response to osmotic stress[J]. Biotechnology Bulletin, 2022, 38(6):129-135.

[9]Chen W L, Hu X L, Hu L, et al. Wide Grain, a GRAS protein, interacts with DLT to regulate grain size and brassinosteroid signaling in rice[J]. Rice, 2022, 15(1): 55.

[10]Wang L, Ding X L, Gao Y Q, et al. Genome-wide identification and characterization of GRAS genes in soybean (*Glycine* max)[J]. BMC Plant Biology,2020,20(1):415.

[11]Khan Y, Xiong Z, Zhang H, et al. Expression and roles of GRAS gene family in plant growth, signal transduction, biotic and abiotic stress resistance and symbiosis formation-a review[J]. Plant Biology, 2022, 24(3): 404-416.

[12]Shor E, Ravid J, Sharon E, et al. SCARECROW-like GRAS protein PES positively regulates petunia floral scent production[J]. Plant Physiology, 2023, 192(1): 409-425.

[13]Zhou Y Y, Li Y T, Huang J M, et al. DoDELLA1, a DELLA protein from *Dioscorea opposite*, regulates the growth and development in transgenic tobacco by controlling gibberellin level[J]. Plant Growth Regulation, 2022, 97(3): 571-583.

[14]Morohashi K, Minami M, Takase H, et al. Isolation and characterization of a novel GRAS gene that regulates meiosis-associated gene expression[J]. Journal of Biological Chemistry,2003,278(23):20865-20873.

[15]Zhang H, Liu X Q, Wang X M, et al. Genome-wide identification of GRAS gene family and their responses to abiotic stress in *Medicago sativa*[J]. International Journal of

Molecular Sciences,2021,22(14):7729.

[16]Di Laurenzio L, Wysocka-Diller J, Malamy J E, et al. The SCARECROW gene regulates an asymmetric cell division that is essential for generating the radial organization of the *Arabidopsis* root[J]. Cell,1996,86(3):423-433.

[17]葛水莲,陈建中,刘娜,等. 太行菊总黄酮抗氧化活性及稳定性研究[J]. 食品科技,2019,44(10):241-245.
Ge S L, Chen J Z, Liu N, et al. Antioxidant activity and stability of total flavonoids from *Opisthopappus taihangensis* [J]. Food Science and Technology,2019,44(10):241-245.

[18]Zhou X J, Gao T, Zhang Y M, et al. Genome-wide identification, characterization and expression of C_2H_2 zinc finger gene family in *Opisthopappus* species under salt stress [J]. BMC Genomics,2024,25(1):385.

[19]Zhang Y M, Shen Y X, Han M, et al. Potential response patterns of endogenous hormones in cliff species *Opisthopappus taihangensis* and *Opisthopappus longilobus* under salt stress [J]. Plants,2024,13(4):557.

[20]Kumar S, Stecher G, Li M, et al. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms[J]. Molecular Biology and Evolution,2018,35(6):1547-1549.

[21]Chen C J, Chen H, Zhang Y, et al. TBtools: an integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data [J]. Molecular Plant,2020,13(8):1194-1202.

[22]Nguyen L T, Schmidt H A, von Haeseler A, et al. IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies[J]. Molecular Biology and Evolution,2015,32(1):268-274.

[23]Wang Y, Tang H, DeBarry J D, et al. MCScanX: a toolkit for detection and evolutionary analysis of gene synteny and collinearity[J]. Nucleic Acids Research, 2012, 40(7): e49.

[24]Lee M H, Kim B, Song S K, et al. Large-scale analysis of the GRAS gene family in *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant Molecular Biology,2008,67(6):659-670.

[25]李静,华鑫涛,杨芸,等. 亚麻GRAS基因家族的全基因组分析及其对外源赤霉素的响应研究[J]. 中国麻业科学,2025,47(1):1-13.
Li J, Hua X T, Yang Y, et al. Whole genome analysis of the GRAS gene family in flax and its response to exogenous gibberellin[J]. Plant Fiber Sciences in China, 2025, 47(1): 1-13.

[26]杜桥,唐璟,李依民,等. 基于全长转录组测序的掌叶大黄GRAS基因家族鉴定[J]. 中草药,2025,56(2):617-625.
Du Q, Tang J, Li Y M, et al. Identification of GRAS gene family in *Rheum palmatum* based on full-length transcriptome sequencing[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2025, 56(2):617-625.

[27]Tian C G, Wan P, Sun S H, et al. Genome-wide analysis of the GRAS gene family in rice and *Arabidopsis* [J]. Plant Molecular Biology,2004,54(4):519-532.

[28]Sun B X, Zhao X L, Gao J H, et al. Genome-wide identification and expression analysis of the GASA gene family in Chinese cabbage (*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis*) [J]. BMC Genomics, 2023, 24(1): 668.

[29]Zou M, Guo B C, He S P. The roles and evolutionary patterns of intronless genes in deuterostomes[J]. International Journal of Genomics,2011,2011(1):680673.

[30]Huang W, Xian Z Q, Kang X, et al. Genome-wide identification, phylogeny and expression analysis of GRAS gene family in tomato[J]. BMC Plant Biology,2015,15:209.

[31]Zhang B, Liu J, Yang Z E, et al. Genome-wide analysis of GRAS transcription factor gene family in *Gossypium hirsutum* L [J]. BMC Genomics,2018,19(1):348.

[32]Yuan Y Y, Fang L C, Karungo S K, et al. Overexpression of VaPAT1, a GRAS transcription factor from *Vitis amurensis*, confers abiotic stress tolerance in *Arabidopsis*[J]. Plant Cell Reports,2016,35(3):655-666.

[33]Wang T T, Yu T F, Fu J D, et al. Genome-wide analysis of the GRAS gene family and functional identification of *GmGRAS37* in drought and salt tolerance[J]. Frontiers in Plant Science,2020,11:604690.

[34]Achard P, Renou J P, Berthomé R, et al. Plant DELLAs restrain growth and promote survival of adversity by reducing the levels of reactive oxygen species[J]. Current Biology, 2008,18(9):656-660.

[35]Cui H C, Levesque M P, Vernoux T, et al. An evolutionarily conserved mechanism delimiting SHR movement defines a single layer of endodermis in plants[J]. Science, 2007, 316 (5823):421-425.

[36]Tong H N, Jin Y, Liu W B, et al. DWARF AND LOW-TILLERING, a new member of the GRAS family, plays positive roles in brassinosteroid signaling in rice[J]. The Plant Journal,2009,58(5):803-816.

[37]Ma H S, Liang D, Shuai P, et al. The salt- and drought-inducible poplar GRAS protein SCL7 confers salt and drought tolerance in *Arabidopsis thaliana*[J]. Journal of Experimental Botany,2010,61(14):4011-4019.

[38]Fujita Y, Yoshida T, Yamaguchi-Shinozaki K. Pivotal role of the AREB/ABF-SnRK2 pathway in ABRE-mediated transcription in response to osmotic stress in plants [J]. Physiologia Plantarum, 2013, 147(1): 15-27.

[39]Yang F H, Sun X L, Wu G, et al. Genome-wide identification and expression profiling of the ABF transcription factor family in wheat (*Triticum aestivum* L.)[J]. International Journal of Molecular Sciences,2024,25(7):3783.

[40]Segarra-Medina C, Alseekh S, Fernie A R, et al. Abscisic acid promotes plant acclimation to the combination of salinity and high light stress[J]. Plant Physiology and Biochemistry,2023, 203:108008.

(编辑:吕俊俐)