

引用格式:

杨晟, 甘锦鑫, 周涛, 刘宁芳, 卢蕊, 胡龙兴, 徐倩. 千穗谷GRF转录因子家族的全基因组鉴定及其对赤霉素的响应模式分析[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2025, 51(5): 10–18.

YANG S, GAN J X, ZHOU T, LIU N F, LU R, HU L X, XU Q. Genome-wide identification and analysis of the GRF transcription factor family in *Amaranthus hypochondriacus* and its response to gibberellin[J]. Journal of Hunan Agricultural University(Natural Sciences), 2025, 51(5): 10–18.

投稿网址: <http://xb.hunau.edu.cn>



## 千穗谷GRF转录因子家族的全基因组鉴定及其对赤霉素的响应模式分析

杨晟, 甘锦鑫, 周涛, 刘宁芳, 卢蕊, 胡龙兴, 徐倩\*

(湖南农业大学农学院, 湖南 长沙 410128)

**摘要:** 为明确千穗谷GRF基因在千穗谷生长发育过程中的作用, 基于最新的千穗谷基因组信息, 对AhGRF基因家族成员进行预测, 并对其序列及其对外源赤霉素的响应模式进行分析。结果表明: 千穗谷中共鉴定出AhGRF1~AhGRF9这9个基因, 其不均匀地分布在8条染色体上; AhGRFs分为5个亚家族, 不同的AhGRF基因的表达模式不同, 绝大多数AhGRF基因在花器官中高表达。AhGRF的启动子包含能响应水杨酸、脱落酸、茉莉酸甲酯、赤霉素、生长素等激素以及干旱、低温等胁迫的响应元件。AhGRF2、AhGRF5、AhGRF6、AhGRF8的启动子还含有与胚乳表达、分生组织、栅栏叶肉细胞分化相关的作用元件。赤霉素处理显著促进了千穗谷叶片和茎的生长, 除AhGRF8在叶与茎中不表达外, 叶中AhGRF7、AhGRF9的表达被抑制, AhGRF1~AhGRF6的表达量均在不同时间点上调; 茎中的AhGRFs的表达模式与叶中的不同, 所有基因的相对表达量均在赤霉素处理1 h时上调, 且多个基因表达呈现节律性。

**关键词:** 千穗谷; 生长调节因子(GRF); 基因家族; 表达分析; 赤霉素

中图分类号: Q943.2

文献标志码: A

文章编号: 1007-1032(2025)05-0010-09

## Genome-wide identification and analysis of the GRF transcription factor family in *Amaranthus hypochondriacus* and its response to gibberellin

YANG Sheng, GAN Jinxin, ZHOU Tao, LIU Ningfang, LU Rui, HU Longxing, XU Qian\*

(College of Agronomy, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China)

**Abstract:** To clarify the role of the AhGRF gene in the growth and development of *Amaranthus hypochondriacus*, we identified the members of its gene family utilizing the latest genomic data, followed by a comprehensive analysis of their sequences and response patterns to exogenous gibberellin. The results showed that nine genes including AhGRF1-AhGRF9 were identified and they were unevenly distributed on eight chromosomes and can be divided into five subfamilies, with different AhGRF genes exhibiting distinct expression patterns and the vast majority being highly expressed in floral organs. The promoter regions of AhGRFs contained response elements for hormones such as salicylic acid, abscisic acid, methyl jasmonate, gibberellin, and auxin, as well as stress-related elements like those induced by drought and low temperature; promoters of AhGRF2, AhGRF5, AhGRF6, AhGRF8 also carried functional elements associated with endosperm expression, meristem development and palisade mesophyll cell differentiation. Furthermore, gibberellin treatment significantly promoted leaf and stem growth. Except for AhGRF8, which was not expressed in leaves and stems, the expressions of AhGRF7 and AhGRF9 in leaves were suppressed, while the expressions of AhGRF1-AhGRF6 were

收稿日期: 2024-12-08

修回日期: 2025-02-13

基金项目: 国家自然科学基金项目(32001408); 湖南省自然科学基金项目(2024JJ5181)

作者简介: 杨晟(2000—), 男, 湖南湘潭人, 硕士研究生, 主要从事牧草种质资源评价研究, 383186833@qq.com; \*通信作者, 徐倩, 博士, 讲师, 主要从事牧草及草坪草种质资源利用及分子育种研究, xq20052005@126.com

upregulated at different time points. In stems, relative expressions of all genes were upregulated at 1 hour after gibberellin treatment, displaying a rhythmic expression pattern in multiple genes, which differed from their expression profile in leaves.

**Keywords:** *Amaranthus hypochondriacus*; growth regulating factor; gene family; expression analysis; gibberellins

千穗谷(*Amaranthus hypochondriacus* L.)属于苋科苋属, 为一年生草本植物, 具有再生能力强、产量高、营养物质丰富等优点<sup>[1-3]</sup>, 在我国四川、云南、黑龙江等地均有种植<sup>[4]</sup>。千穗谷是一种新型的粮食作物, 富含蛋白质、优质脂肪、必需氨基酸等多种人体所需的营养物质, 千穗谷籽粒中含有16%~18%的蛋白质, 比一般谷物的蛋白质含量高30%~50%<sup>[5]</sup>。千穗谷籽粒中氨基酸的种类和含量相比小麦(*Triticum aestivum* L.)、玉米(*Zea mays* L.)、水稻(*Oryza sativa* L.)等作物更丰富, 富含亮氨酸、苏氨酸等必需氨基酸, 尤其是赖氨酸含量很高<sup>[6]</sup>。千穗谷籽粒中的角鲨烯等活性物质, 具有降低胆固醇、降血脂和降血糖的作用<sup>[7]</sup>。千穗谷也是一种优良的饲料作物, 其适口性好, 易于消化吸收<sup>[8]</sup>。千穗谷生物量大, 牧草产量高, 在我国北方, 成熟期千穗谷鲜草产量高达130 t/hm<sup>2</sup>, 远高于玉米等饲料作物的鲜草产量, 且每年可进行多次收割<sup>[8]</sup>。千穗谷的籽实也是草食家畜的优良饲料<sup>[9]</sup>。千穗谷籽粒中富含的铁、钙等元素, 有益于家畜生长<sup>[10]</sup>。

生长调节因子(GRF)是植物特有的一类转录因子, 在植物生长发育和应对环境胁迫中起重要的调控作用。2000年, VAN DER KNAAP等<sup>[11]</sup>在水稻中鉴定出第一个GRF基因家族成员, 将其命名为*OsGRF1*。除GRF转录因子特有的QLQ和WRC这2个保守结构域之外, 研究者们还在不同植物的GRF蛋白中发现了几种特殊的结构域。在拟南芥(*Arabidopsis thaliana* L.)和水稻GRF蛋白中还发现了特殊的TQL保守结构域<sup>[11-12]</sup>, 在白菜(*Brassica rapa* L.)GRF蛋白中发现了GGPL保守结构域<sup>[13]</sup>。

GRF蛋白参与叶片发育、花器官形成等植物生长发育过程<sup>[14]</sup>。在拟南芥中, *AtGRF5*和*AtGRF7*突变均导致植株叶片变小<sup>[15-16]</sup>; *AtGRF4*和*AtGRF5*基因的过量表达会促进叶细胞体积增大, 使植株叶片体积增大<sup>[16-18]</sup>。GRF基因在很多情况下存在功能冗余现象, 例如, 拟南芥中的*AtGRF1*、*AtGRF2*、*AtGRF3*基因单独突变时并不会引起转基因植株的

表型变化, 但同时突变3个基因则会导致拟南芥植株叶片变小<sup>[19]</sup>。

转录因子可以通过调控与逆境响应相关的功能基因的表达, 从而调控植物对逆境的适应能力<sup>[20]</sup>。有研究表明, GRF基因在植物应对光照<sup>[21]</sup>、高温<sup>[22]</sup>、高氮<sup>[23]</sup>等多种非生物胁迫的过程中发挥重要作用。例如, 胡杨(*Populus euphratica* Oliv.)中的*PeGRF6/8a*可以增强植物对高氮环境的耐受性, *PeGRF6/8a*基因在烟草(*Nicotiana tabacum* L.)中过表达能显著提高高氮条件下转基因烟草的耐受性。GRFs基因家族成员还可以响应多种外源激素的调控。例如, 二穗短柄草中(*Brachypodium distachyon* L.)的GRF基因几乎响应所有的外源激素, 如GA<sub>3</sub>(赤霉素)、ABA(脱落酸)、IAA(吲哚乙酸)等<sup>[24]</sup>。而在番茄(*Solanum lycopersicum* L.)的12个GRF基因家族成员中, *SlGRF2*、*SlGRF3*、*SlGRF4*、*SlGRF6*的表达在GA<sub>3</sub>的诱导下显著上升<sup>[25]</sup>。在小麦中, *TaGRF4*基因受外源赤霉素影响, 其表达量会发生显著变化<sup>[26]</sup>。

千穗谷是一种优良的粮饲兼用作物, GRF作为植物特有的一种转录因子, 在植株生长发育的各个阶段和植物抗逆反应中均有重要作用。本研究通过生物信息学手段, 对千穗谷GRF基因家族成员的基因结构、染色体定位、系统进化、保守结构域、启动子元件、组织特异性表达及其对赤霉素的响应模式等进行分析, 以期探究千穗谷GRF基因的功能和调控机制, 为千穗谷的分子育种工作提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 GRF基因家族的鉴定与GRF蛋白的理化性质分析

通过在线网站PlantTFDB(<http://planttfdb.gao-lab.org/>)、Phytozome(<https://phytozome-next.jgi.doe.gov>)查找千穗谷GRF基因家族成员信息, 获得千穗谷GRF基因家族的基因登录名、基因序列、蛋白序列及CDS序列, 并利用ExPasy数据库中的ProtParam网

站(<http://web.expasy.org/protparam/>)获得千穗谷GRF蛋白序列长度、阅读框序列长度、理论等电点、相对分子质量等数据。利用千穗谷GRF基因家族成员的氨基酸序列,通过在线网站MBC(<http://cello.life.nctu.edu.tw>)进行亚细胞定位分析。

## 1.2 系统进化树分析

利用序列分析软件MAGE7,采用邻接法(NJ法)构建千穗谷、拟南芥及水稻GRF基因家族成员的系统进化树。

## 1.3 染色体定位

利用BioEdit软件,通过本地BLAST获得目标基因在千穗谷染色体上的位置信息。通过本地软件Tbtools绘制AhGRF基因家族成员在染色体上的可视化位置图。

## 1.4 基因结构和蛋白保守基序分析

利用在线网站Phytozome查询并获取千穗谷GRF基因的全长序列,依据其中外显子与内含子的位置整理出BED文件。利用所获得的BED文件,通过在线网站GSDSv2.0(<https://gsds.gao-lab.org/index.php>)绘制基因结构可视化图。利用在线网站Phytozome查询获取千穗谷GRF基因家族氨基酸序列,通过在线网站MEME(<https://web.mit.edu/meme/current/share/doc/meme.html>)进行基序(motif)分析。

## 1.5 启动子顺式作用元件预测

通过在线网站Phytozome查询获得千穗谷GRF基因家族成员核苷酸序列上游2 000 bp的序列,再利用在线网站PlantCARE(<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>)对获得的序列进行启动子分析并下载分析结果,利用本地软件Tbtools对其进行整理并绘制可视化图。

## 1.6 组织特异性表达分析

利用在线网站Phytozome查询获取千穗谷各组织中GRF基因家族成员的FPKM值,利用Excel对获取的数据进行统计分析,将其绘制成表格,再通过本地软件Heml绘制热图。

## 1.7 外源赤霉素影响下GRF基因表达量分析

在温度为23 °C、光周期为14 h/10 h、相对湿度为70%的气候室内培养基因型为1220的千穗谷。当其长出第3片真叶时,将植株转入含5 L 1/2霍格兰营养液的水培装置中。待植株生长至7~8叶期后,对其叶片喷施80 μmol/L的赤霉素(GA<sub>3</sub>)溶液处理。分别于处理后1、6、24 h采集幼嫩叶片和茎,并立即用液氮冷冻,于-80 °C保存。处理后每2天记录一次株高,并于处理后第9天拍摄整株植株照片,之后剪取植株所有叶片,按叶位从上到下的顺序摆放并拍照记录。每个处理设置4个生物学重复。叶面积利用ImageJ软件进行测量<sup>[27]</sup>,每株植株挑选3片最大叶片进行拍照测量。分别于赤霉素处理当天及处理后第5天测量植株株高,计算植株茎的平均生长速率(cm/d)。

采用TRIZOL法<sup>[28]</sup>分别提取对照组和处理组植物组织的总RNA。利用HiScript® II Q RT SuperMix for qPCR(+gDNA wiper)试剂盒(南京诺唯赞生物科技股份有限公司)进行反转录。采用Primer3 Plus设计qRT-PCR所用的引物。qRT-PCR体系为: 10 μL 2× Ace Q UniversalSYBR qPCR Master Mix, 上下游引物各0.4 μL, 2.0 μL cDNA, 7.2 μL ddH<sub>2</sub>O。扩增条件为: 95 °C预变性5 min, 95 °C变性10 s, 60 °C延伸30 s, 共设置39个循环。PCR扩增结束后,进行熔解曲线分析:从65 °C升温至95 °C,每5 s升温0.5 °C,以验证扩增产物的特异性。每个处理共3个重复,基因相对表达量采用2<sup>-△△Ct</sup>法计算。

## 2 结果与分析

### 2.1 千穗谷GRF家族基因的鉴定和序列分析结果

利用植物转录因子数据库PlantTFDB中的千穗谷基因组数据和在线网站Phytozome,共鉴定出9个千穗谷GRF基因家族成员(表1)。由表1可知, AhGRF8蛋白序列最短,为250 aa,其相对分子质量为28 774.18;蛋白序列最长的为AhGRF5,长度为582 aa,其蛋白相对分子质量为63 003.95。理论等电点为6.37~8.94,仅有AhGRF4蛋白和AhGRF5蛋白的理论等电点小于7,呈酸性; AhGRF1~AhGRF3、AhGRF6~AhGRF9蛋白皆呈碱性。亚细胞定位分析结果表明,9个AhGRF蛋白均分布在细胞核中。

表1 千穗谷GRF家族成员基本信息

Table 1 Basic information of GRF family members in *A. hypochondriacus*

基因名称	登录号	基因序列长度/bp	蛋白序列长度/aa	蛋白相对分子质量	理论等电点	亚细胞定位
<i>AhGRF1</i>	AH019900-RA	1 041	346	38 592.81	8.30	细胞核
<i>AhGRF2</i>	AH014569-RA	1 086	361	40 795.52	8.40	细胞核
<i>AhGRF3</i>	AH008361-RA	1 572	523	56 504.00	8.02	细胞核
<i>AhGRF4</i>	AH011914-RA	1 494	497	54 449.25	6.43	细胞核
<i>AhGRF5</i>	AH003851-RA	1 749	582	63 003.95	6.37	细胞核
<i>AhGRF6</i>	AH005728-RA	1 599	532	57 984.71	8.94	细胞核
<i>AhGRF7</i>	AH012650-RA	1 236	411	44 865.47	8.32	细胞核
<i>AhGRF8</i>	AH013371-RA	753	250	28 774.18	8.35	细胞核
<i>AhGRF9</i>	AH018185-RA	1 044	347	38 437.71	7.15	细胞核

## 2.2 千穗谷GRF基因家族系统进化分析结果

利用拟南芥、千穗谷及水稻GRF基因家族成员的基因序列构建系统进化树,将其分为Class I~Class V这5个亚家族(图1)。由图1可见:Class I和Class II亚家族均含有3个千穗谷GRF基因家族的成员;Class III

亚家族中包含2个千穗谷GRF基因家族成员;Class IV亚家族中有1个千穗谷GRF基因家族成员。从系统进化树可以发现,千穗谷*AhGRF4*和拟南芥*AtGRF7*以及*AhGRF2*和*AtGRF6*有较高的同源性;千穗谷*AhGRF1*和水稻*OsGRF5*也有较高同源性。

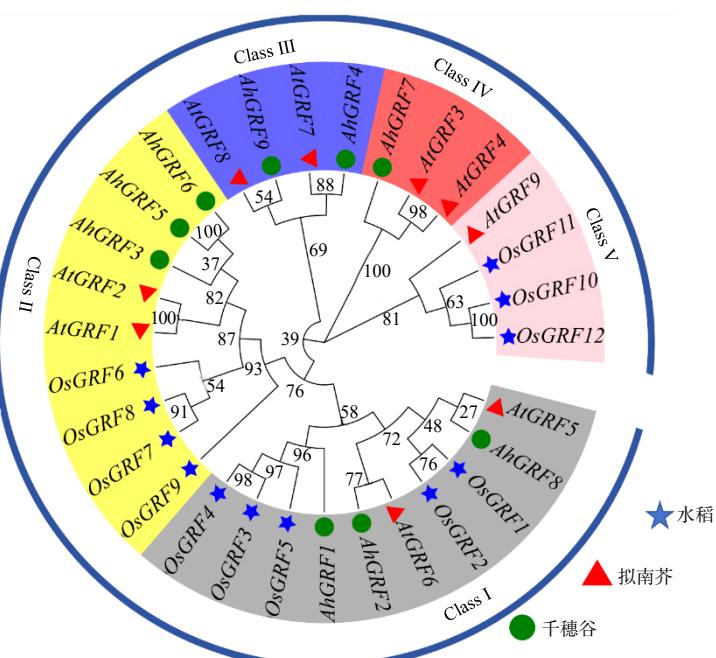


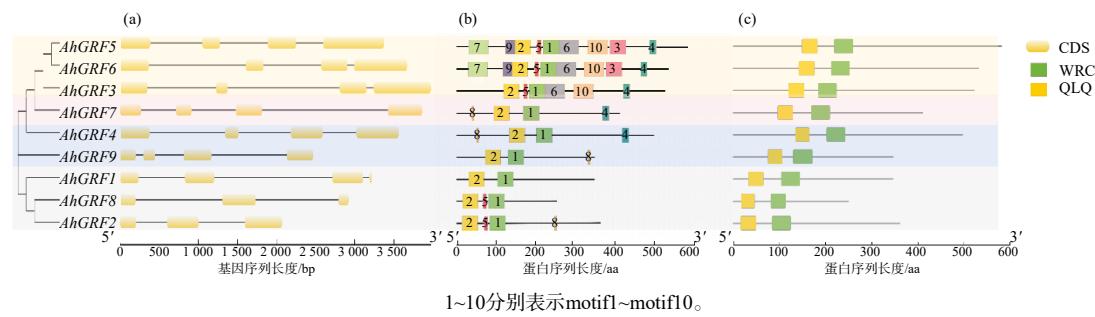
图1 拟南芥、水稻、千穗谷GRF基因系统进化树

Fig. 1 Phylogenetic tree of GRF genes of *A. thaliana*, *O. sativa* and *A. hypochondriacus*

## 2.3 千穗谷GRF基因结构及蛋白基序分析结果

由图2可见: *AhGRF*基因家族成员的外显子数量为3~4个,其中有7个*AhGRF*含有4个外显子,占整体数量的78%。所有*AhGRF*蛋白均含有motif1和motif2,且均以motif2在前、motif1在后的顺序排列,该结构高度保守。同属于一个基因亚家族的*AhGRF*蛋白所含基序在数量、种类及位置上均无明显差异。例如,Class II亚家族中的*AhGRF3*、*AhGRF5*以

及*AhGRF6*蛋白均含有motif1、motif2、motif4~motif6和motif10这6个基序。Class II亚家族的蛋白具有基序种类和数量最多。Class I亚家族的蛋白所含基序的数量和类型最少。在Class III亚家族中, *AhGRF4*和*AhGRF9*蛋白均包含motif1、motif2和motif8。保守结构域分析结果表明,所有*AhGRF*蛋白均含有WRC和QLQ结构域,此结构具有很高的保守性。



(a) 千穗谷GRF基因结构; (b) 千穗谷GRF亚家族蛋白保守基序预测结果; (c) 千穗谷GRF亚家族蛋白保守结构域预测结果

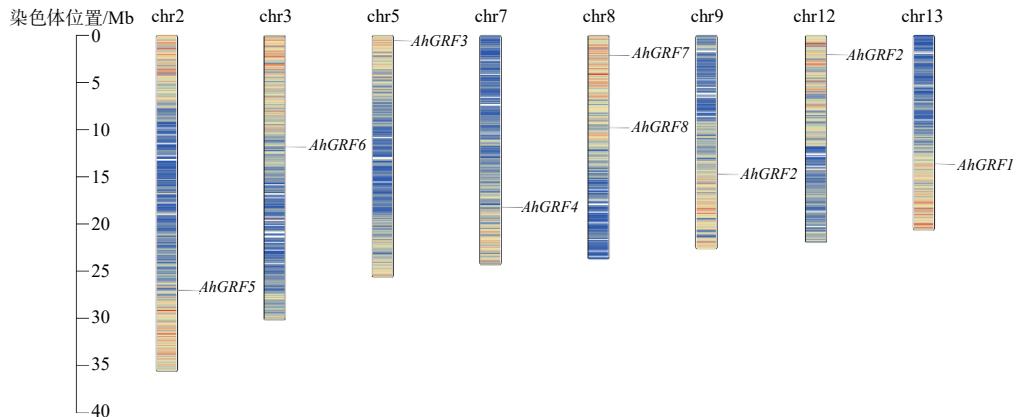
图2 千穗谷GRF基因家族基因结构及蛋白保守基序和结构域预测结果

Fig. 2 Gene structure and prediction results of protein conserved motifs and domains of the *GRF* gene family of *A. hypochondriacus*

## 2.4 千穗谷GRF基因的染色体定位结果

千穗谷GRF基因家族成员分别分布于2、3、5、

7、8、9、12和13号染色体上(图3)。其中,仅8号染色体上分布有AhGRF7、AhGRF8这两个基因,其他染色体均只包含1个GRF基因家族成员。



不同颜色代表染色体上不同基因的密度,颜色越深代表密度越高。

图3 千穗谷GRF基因的染色体定位

Fig. 3 Chromosome localization of *GRF* gene in *A. hypochondriacus*

## 2.5 千穗谷GRF基因组织特异性表达分析结果

9个AhGRF基因在花、未成熟种子、根、茎、叶

中均有表达,但在不同组织中基因相对表达量(以FPKM值表征)有所不同(图4)。9个AhGRF基因在花

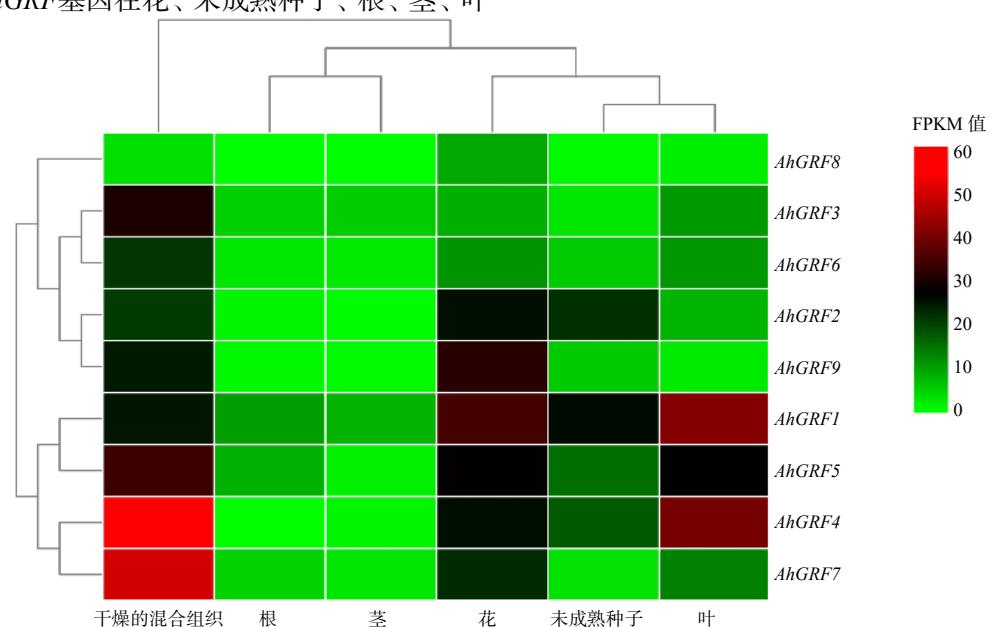


图4 千穗谷不同组织中GRF基因表达分析

Fig. 4 Expression analysis of *GRF* gene in different tissues of *A. hypochondriacus*

中的相对表达量均较高，其中 *AhGRF1* 的相对表达量最高。在根和茎中，*AhGRF* 基因的相对表达量则普遍较低，其中，*AhGRF8* 基因在千穗谷叶和茎中不表达。在未成熟种子中 *AhGRF1*、*AhGRF2* 这 2 个基因的相对表达量较高。在叶中，*AhGRF1*、*AhGRF4* 和 *AhGRF5* 的相对表达量较高。

## 2.6 千穗谷 *GRF* 家族成员启动子顺式作用元件预测结果

对 9 个 *AhGRF* 成员上游 2 000 bp 的基因序列进行分析发现，*AhGRF* 启动子区上包含多个响应光、植物激素和逆境胁迫以及与植物生长相关的顺式作用元件。由图 5 可见，除 *AhGRF7* 和 *AhGRF8* 外，其余 7 个 *AhGRF* 成员的启动子区中均含有脱落酸响应元件；水杨酸响应元件仅在 *AhGRF1*、*AhGRF2*、*AhGRF4* 的启动子区中存在；除此之外，还有 3 个 *AhGRF* 启动子区中含有茉莉酸甲酯响应元件，6 个 *AhGRF* 启动子区含有赤霉素响应元件，3 个 *AhGRF* 启动子区含有生长素响应元件。另外，分别有 2 个、1 个、3 个、6 个、4 个成员的启动子区含有响应创伤、干旱、低温、厌氧等胁迫以及参与防御和应激反应的元件。个别 *AhGRF* 启动子区还含有与胚乳表达相关的顺式作用元件、与分生组织表达相关的元件、参与栅栏叶肉细胞分化相关的元件。例如，*AhGRF2*、*AhGRF5*、*AhGRF6* 的启动子区含有与胚乳表达相关的元件，*AhGRF5*、*AhGRF8* 的启动子区含

有与分生组织表达相关的元件等。

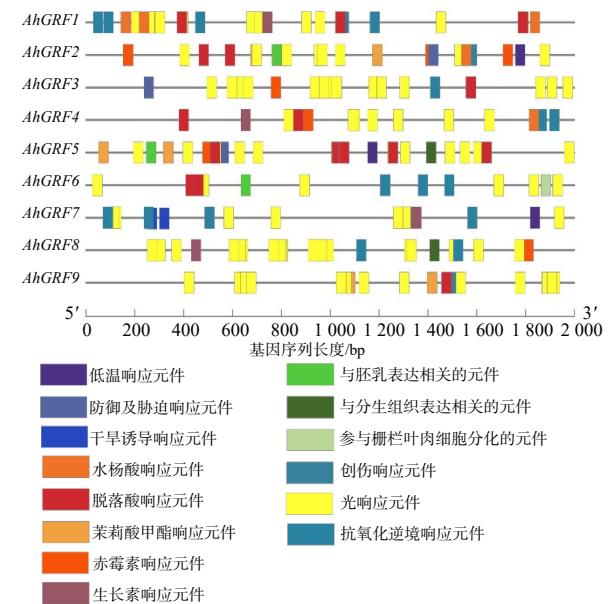
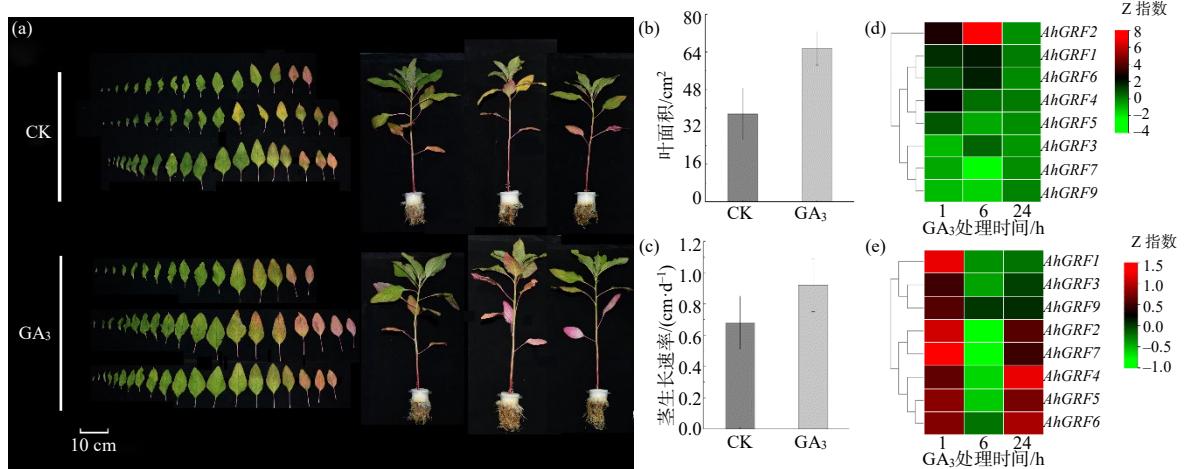


图 5 千穗谷 *GRF* 基因启动子顺式作用元件预测结果

Fig. 5 Prediction result of cis-acting elements in promoters of *GRF* genes in *A. hypochondriacus*

## 2.7 赤霉素处理对千穗谷生长和 *AhGRF* 基因表达的影响

赤霉素处理后，植株相同叶位的叶片面积较大(图 6(a))。通过比较处理组与对照组植株中部叶片的叶面积发现，赤霉素处理组的叶面积显著大于未处理组植株的叶面积(图 6(b))。此外，赤霉素处理显著提高了千穗谷植株茎部的生长速率，处理组的生长速度明显高于对照组的(图 6(c))。



(a) 赤霉素处理第 9 天的植株(每一排叶片代表不同处理条件下同一植株从上到下不同叶位的叶片大小及数量)；(b) 不同处理下植株最大叶片的叶面积；(c) 不同处理下植株茎生长速率；(d) 叶中 *AhGRF* 基因的表达；(e) 茎中 *AhGRF* 基因的表达

图 6 赤霉素对千穗谷生长及 *GRF* 基因表达的影响

Fig. 6 The effects of GA<sub>3</sub> on growth and *GRF* gene expression in *A. hypochondriacus*

通过qPCR试验对千穗谷幼茎与幼叶中 *AhGRF* 基因的表达水平进行检测,结果表明,赤霉素对千穗谷不同营养器官中 *AhGRF* 基因的表达具有不同的作用(图6(d)和图6(e))。在叶片中, *AhGRF1*~*AhGRF6*的相对表达量因受到赤霉素的诱导而上调,而 *AhGRF7*、*AhGRF9*的表达则受到赤霉素的抑制。茎中大部分 *AhGRF* 基因表达量具有节律性,在赤霉素处理后1 h和24 h时,茎中 *AhGRF2*、*AhGRF4*、*AhGRF5*、*AhGRF6*、*AhGRF7*基因表达量均显著上调,但在处理6 h时,以上5个基因的表达被抑制。*AhGRF1*、*AhGRF3*、*AhGRF9*基因的表达不具有典型的节律性,仅仅在赤霉素处理1 h时出现上调,处理6 h和24 h时均表现为下调。

### 3 讨论

GRF转录因子是植物特有的一类转录因子,在植物生长发育和应对环境胁迫中起重要的调控作用。目前,已有不少植物的GRF基因家族成员被鉴定,陆生植物GRF基因家族成员数差异较大。例如,水稻含有12个GRF基因家族成员<sup>[11]</sup>,玉米含有14个<sup>[13]</sup>、拟南芥含有9个<sup>[14]</sup>、油菜(*Brassica napus* L.)中含有34个<sup>[29]</sup>、藜麦(*Chenopodium quinoa* Willd.)中有18个<sup>[30]</sup>GRF基因家族成员。在千穗谷中,一共鉴定到9个GRF基因家族成员。

GRF作为植物特有的转录因子,一般聚集于幼嫩组织,在成熟部分的表达量相对较低<sup>[31~32]</sup>。拟南芥中, *AtGRF1*~*AtGRF6*这6个GRF基因在植物体的根、茎上部和芽尖的表达量高,而在成熟茎和成熟叶片中其表达量较低甚至不表达<sup>[19]</sup>。杨树(*Populus alba* × *P. glandulosa*)中, *PtGRF7a*、*PtGRF78*、*PtGRF711b*在幼叶中呈高表达, *PtGRF5a*在幼茎中的表达量高<sup>[33]</sup>。陆地棉中的GRF基因在其柱头、子房中表达量较高<sup>[31]</sup>。千穗谷GRF基因在花和叶中相对表达量较高,其中,花中 *AhGRF1* 基因的相对表达量最高,叶中 *AhGRF1* 和 *AhGRF4* 这2个基因的相对表达量较高,表明 *AhGRF1* 在千穗谷生长发育过程中具有重要作用。

多项研究表明,直系同源基因通常在植株中发挥相同的功能<sup>[34]</sup>。KIM等<sup>[14]</sup>发现拟南芥 *AtGRF1* 和 *AtGRF2* 基因具有促进植株叶片和子叶生长的功能。本文研究结果显示,千穗谷中的 *AhGRF3*、*AhGRF5* 和

*AhGRF6* 基因与 *AtGRF1* 和 *AtGRF2* 被划分为系统进化树的同一分支,且 *AhGRF3*、*AhGRF5*、*AhGRF6* 均在叶片中表达,推测 *AhGRF3*、*AhGRF5* 和 *AhGRF6* 基因在千穗谷叶片生长中可能发挥着重要作用。DEBERNARDI 等<sup>[35]</sup>研究发现拟南芥 *AtGRF3* 和 *AtGRF5* 在早期叶片发育中的表达会促进细胞增殖并影响最终叶片大小。千穗谷的 *AhGRF1* 与 *AtGRF5* 属于同一分支,且 *AhGRF1* 在叶中表达量较高,推测其可能参与了千穗谷叶片的生长发育过程。在水稻中,抑制 *OsGRF3*、*OsGRF4*、*OsGRF5* 的表达也会导致植株矮化<sup>[36~37]</sup>。千穗谷的 *AhGRF1* 与 *OsGRF5* 同源性较高,且 *AhGRF1* 在茎中表达,推测 *AhGRF1* 的功能可能与 *OsGRF5* 的相似,参与调控千穗谷植株茎的伸长。

基因的表达与其启动子区域的顺式作用元件密切相关,顺式作用元件可以通过响应外界或植株自身产生的信号因子,进而对相关基因的表达进行调节<sup>[38]</sup>。千穗谷GRF基因的启动子区存在多个与组织特异性表达相关以及诱导型顺式作用元件。例如, *AhGRF5*、*AhGRF9* 基因的启动子区中存在与分生组织分化相关的元件,暗示 *AhGRF5* 和 *AhGRF9* 可能与分生组织分化有关; *AhGRF6* 基因启动子区中存在与栅栏叶肉细胞分化有关的作用元件,说明 *AhGRF6* 基因可能参与千穗谷植株叶细胞分化过程。此外,千穗谷 *AhGRF2*、*AhGRF3*、*AhGRF5*、*AhGRF7*、*AhGRF9* 基因的启动子区中具有响应干旱诱导以及防御与应激反应的元件,暗示 *AhGRF* 基因可能参与千穗谷对多种不同胁迫的响应。

赤霉素在调控植物主茎伸长方面有着重要的作用<sup>[39]</sup>。前人研究发现,GRF基因参与了植物对多种内源激素的响应,尤其是赤霉素。比如,苹果树(*Malus pumila* Mill.)中多个 *MdGRF* 基因受到赤霉素的诱导<sup>[21]</sup>。本研究中,千穗谷 *AhGRF1*、*AhGRF2*、*AhGRF3*、*AhGRF4*、*AhGRF5*、*AhGRF8* 这6个基因的启动子区含有参与赤霉素响应的元件,说明 *AhGRF* 基因的表达很可能受赤霉素调控。李宜轩<sup>[40]</sup>的研究表明,赤霉素可以促进苋菜(*Amaranthus tricolor* L.)植株茎的生长。本研究发现赤霉素能够显著促进千穗谷茎和叶片的生长。qPCR分析结果显示,在赤霉素处理后,千穗谷幼叶和茎中大部分 *AhGRF* 基因的相对表达量发生了显著变化,表明外源赤霉素可能通过调控这些GRF基因的表达来促进植株的生长。

## 4 结论

本研究共鉴定到9个千穗谷 $GRF$ 基因家族成员( $AhGRF1$ ~ $AhGRF9$ ), 将其与拟南芥和水稻的 $GRF$ 基因家族成员共同构建系统进化树后, 可将这些基因家族成员分为Class I~Class V这5个亚家族; 在千穗谷 $AhGRF$ 蛋白中均包含motif1和motif2基序。千穗谷 $GRF$ 基因在花中的相对表达量较高。千穗谷植株中的 $GRF$ 基因可以响应外源GA<sub>3</sub>, 除 $AhGRF8$ 在叶与茎中不表达外, 在幼叶中, 赤霉素处理后 $AhGRF7$ 、 $AhGRF9$ 的表达被抑制,  $AhGRF1$ ~ $AhGRF6$ 的相对表达量上调; 除 $AhGRF1$ 、 $AhGRF3$ 、 $AhGRF9$ 外, 茎中的 $AhGRFs$ 表达均表现出典型的节律性。

## 参考文献:

- [1] 聂婷婷, 李芳, 祝振洲, 等. 籽粒苋的应用研究进展[J]. 安徽农业科学, 2016, 44(4): 8~10.
- [2] 邱昊日, 范雪, 马健, 等. 籽粒苋在动物饲料中应用的研究进展[J]. 饲料工业, 2019(3): 26~30.
- [3] 陈东, 李顺, 曾宁波, 等. 不同添加剂对籽粒苋与油菜秸秆混合青贮品质的影响[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2020, 46(01): 113~118.
- [4] 王中林. 籽粒苋的利用价值及高效种植技术[J]. 科学种养, 2018(11): 22~24.
- [5] 董文彦, 荣蓉, 哈佳, 等. 籽粒苋保健面包的研制(II): 籽粒苋对赖氨酸和膳食纤维的营养强化作用[J]. 中国粮油学报, 2001, 16(3): 48~51.
- [6] 刘英. 籽粒苋的营养特点及籽粒苋食品[J]. 武汉工业学院学报, 1999(3): 35~37.
- [7] 程金芝. 粮、饲、菜兼用作物—籽粒苋在吉林省的发展与展望[J]. 白城师范学院学报, 2008, 22(3): 32~35.
- [8] 程皇座, 陈国福. 籽粒苋的饲用价值及其在猪生产中的应用[J]. 养殖与饲料, 2019, 18(6): 60~62.
- [9] 毛东宇. 籽粒苋在动物饲料中的开发应用[J]. 中国畜禽业, 2020, 16(5): 61.
- [10] 王艳荣, 王鸿升, 张海棠, 等. 优质饲用植物: 籽粒苋的研究进展[J]. 北方牧业, 2011(3): 27.
- [11] VAN DER KNAAP E, KIM J H, KENDE H. A novel gibberellin-induced gene from rice and its potential regulatory role in stem growth[J]. Plant Physiology, 2000, 122(3): 695~704.
- [12] CHOI D, KIM J H, KENDE H. Whole genome analysis of the *OsGRF* gene family encoding plant-specific putative transcription activators in rice(*Oryza sativa* L. )[J]. Plant & Cell Physiology, 2004, 45(7): 897~904.
- [13] WANG F D, QIU N W, DING Q, et al. Genome-wide identification and analysis of the growth-regulating factor family in Chinese cabbage(*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis*)[J]. BMC Genomics, 2014, 15(1): 807.
- [14] KIM J H, CHOI D, KENDE H. The AtGRF family of putative transcription factors is involved in leaf and cotyledon growth in *Arabidopsis*[J]. The Plant Journal, 2003, 36(1): 94~104.
- [15] KIM J S, MIZOJ I, KIDOKORO S, et al. *Arabidopsis* GROWTH-REGULATING FACTOR7 functions as a transcriptional repressor of abscisic acid- and osmotic stress-responsive genes, including DREB2A[J]. The Plant Cell, 2012, 24(8): 3393~3405.
- [16] HORIGUCHI G, KIM G T, TSUKAYA H. The transcription factor AtGRF5 and the transcription coactivator AN3 regulate cell proliferation in leaf primordia of *Arabidopsis thaliana*[J]. The Plant Journal, 2005, 43(1): 68~78.
- [17] KIM J H, LEE B H. GROWTH-REGULATING FACTOR4 of *Arabidopsis thaliana* is required for development of leaves, cotyledons, and shoot apical meristem[J]. Journal of Plant Biology, 2006, 49(6): 463~468.
- [18] LIESBETH VERCUYSEN V B T. GROWTH REGULATING FACTOR5 stimulates *Arabidopsis* chloroplast division, photosynthesis, and leaf longevity[J]. Plant Physiology, 2015, 167(3): 817~832.
- [19] OMIDBAKHSHFARD M A, PROOST S, FUJIKURA U, et al. Growth-regulating factors(GRFs): a small transcription factor family with important functions in plant biology[J]. Molecular Plant, 2015, 8(7): 998~1010.
- [20] 罗赛男, 杨国顺, 石雪晖, 等. 转录因子在植物抗逆性上的应用研究[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2005, 31(2): 219~223.
- [21] ZHENG L W, MAJ J, SONG C H, et al. Genome-wide identification and expression analysis of GRF genes regulating apple tree architecture[J]. Tree Genetics & Genomes, 2018, 14(4): 54.
- [22] 叶超楠, 沈栎阳, 方春, 等. 热胁迫下水稻miR396家族及靶基因 $OsGRFs$ 的表达研究[J]. 农业生物技术学报, 2018, 26(3): 393~400.
- [23] 冯倩, 陈永富, 姚银安, 等. 烟草异源过表达胡杨 $PeGRF6/8a$ 对不同逆境的响应[J]. 应用与环境生物学报, 2019, 25(3): 665~671.
- [24] 马超, 宋鹏, 尚申申, 等. 二穗短柄草 $GRFs$ 基因家族的鉴定及表达模式分析[J]. 核农学报, 2020, 34(6): 1152~1162.
- [25] KHATUN K, ROBIN A H K, PARK J I, et al. Molecular

- characterization and expression profiling of tomato GRF transcription factor family genes in response to abiotic stresses and phytohormones[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2017, 18(5): 1056.
- [26] 郭泾磊, 张程煥, 李红霞, 等. 小麦 *TaGRF4* 基因分析与功能鉴定[J]. 西北农业学报, 2020, 29(9): 1317–1324.
- [27] 杨文源, 俞玉, 张世媛, 等. 一种基于Image J软件的植物叶片表型参数测量方法[J]. 北方农业学报, 2022, 50(6): 128–134.
- [28] 孙雅婕, 董磊. 两种从多种组织提取总RNA的方法比较[J]. 山东畜牧兽医, 2024, 45(7): 17–19.
- [29] 阮先乐, 王俊生, 刘红占, 等. 油菜 *GRF* 基因家族的鉴定和基本特征分析[J]. 分子植物育种, 2018, 16(8): 2420–2428.
- [30] 时丕彪, 何冰, 费月跃, 等. 蕎麦 *GRF* 转录因子家族的鉴定及表达分析[J]. 作物学报, 2019, 45(12): 1841–1850.
- [31] 张书芹, 乐愉, 武斐. 陆地棉 *GRF* 基因家族的鉴定和生物信息学分析[J]. 分子植物育种, 2019, 17(12): 3817–3824.
- [32] 薛正刚, 王树杰, 杨永乾, 等. 大麦 *GRF* 家族的基因组鉴定及生物信息学分析[J]. 分子植物育种, 2021, 19(6): 1750–1757.
- [33] 周厚君. 杨树 *GRF* 基因家族分析及 *PtGRFI/2d* 功能研究[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2016: 91.
- [34] 王伟伟, 马锦绣, 曹志琛, 等. 小麦 *TaMYB35* 基因的克隆与表达分析[J]. 植物遗传资源学报, 2021, 22(3): 771–781.
- [35] DEBERNARDI J M, MECCHIA M A, VERCROYSEN L, et al. Post-transcriptional control of GRF transcription factors by microRNA miR396 and GIF co-activator affects leaf size and longevity[J]. The Plant Journal, 2014, 79(3): 413–426.
- [36] SUN P Y, ZHANG W H, WANG Y H, et al. *OsGRF4* controls grain shape, panicle length and seed shattering in rice[J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2016, 58(10): 836–847.
- [37] LI S C, GAO F Y, XIE K L, et al. The OsmiR396c-*OsGRF4*-*OsGIF1* regulatory module determines grain size and yield in rice[J]. Plant Biotechnology Journal, 2016, 14(11): 2134–2146.
- [38] YIN X H, YUAN Y, HAN X W, et al. Genome-wide identification, characterization, and expression profiling of *TaDUF68* gene family in *Triticum aestivum*[J]. Agronomy, 2023, 13(8): 2178.
- [39] 张宇航, 潘冉冉, 李飞, 等. 巴西橡胶树 *HbGRF* 基因的克隆、物理定位及表达分析[J]. 热带作物学报, 2020, 41(9): 1723–1732.
- [40] 李宜轩. 光质与赤霉素协同调控苋菜营养生长及次生代谢产物合成的影响[D]. 福州: 福建农林大学, 2024.

责任编辑: 伍锦花  
英文编辑: 张承平