

香蕉 *GRF* 基因家族的全基因组鉴定及表达分析

田娜, 刘范, 伍俊为, 刘嘉鹏, 李丹, 付帅, 黄玉吉*, 程春振*

(福建农林大学园艺学院·园艺植物生物工程研究所, 福州 350002)

摘要:【目的】生长调控因子(Growth-regulating factors, GRF)是植物特有的一类转录因子,在植物生长发育和抗逆防御过程中发挥着重要作用。为揭示香蕉GRF基因等功能,对小果野蕉生长调控因子(*MaGRF*)基因家族进行全基因组鉴定和分析,并研究其在香蕉果实成熟和低温胁迫应答过程中的表达模式。【方法】使用生物信息学软件对*MaGRFs*家族成员进行全基因组鉴定和分析,基于转录组数据分析*MaGRFs*在自然成熟和乙烯催熟的香蕉果实成熟过程及4℃低温处理叶片中的表达情况。【结果】共鉴定获得可归为4个亚家族的20个*MaGRF*成员,其中15个成员被预测为miR-NA396的靶基因。*MaGRFs*启动子上存在大量的植物激素、胁迫响应以及生长发育相关的顺式作用元件和9种转录因子家族的结合位点。转录组结果显示,*MaGRF7*在自然成熟的果实中高水平表达;*MaGRF13*在自然成熟和乙烯催熟的果实中均高表达;属于第I和第II亚家族的多个*MaGRFs*在果实成熟过程中差异表达显著;低温处理显著诱导*MaGRF9*、14、15、18和19的表达,显著抑制*MaGRF2*、6和13的表达。【结论】香蕉*GRF*家族成员较多,它们的表达大多受miR396调控。第I和第II亚家族的*MaGRF*成员在香蕉果实成熟和低温应答过程中发挥着重要作用。

关键词:香蕉;生长调控因子;果实成熟;温度胁迫;表达模式

中图分类号:S668.1

文献标志码:A

文章编号:1009-9980(2020)12-1821-15

Genome-wide identification and expression analysis of *GRF* gene family in banana

TIAN Na, LIU Fan, WU Junwei, LIU Jiapeng, LI Dan, FU Shuai, HUANG Yuji*, CHENG Chunzhen*

(College of Horticulture, Fujian Agriculture and Forestry University/Institute of Horticultural Biotechnology, Fuzhou 350002, Fujian, China)

Abstract:【Objective】Accumulated evidences have revealed that the plant specific growth-regulating factor (GRF) plays very important roles in regulating plant growth and development, and stress responses. Banana widely grown in tropical and subtropical areas is one of the most important fruit trees worldwide. However, up to now, the roles of the banana *GRF* gene family has not been systematically studied. Our present study aimed to identify the banana *GRF* gene family and to investigate their sequence characteristics, and expression patterns in fruits at different ripening stages under normal condition and ethylene treatment and in leaves under 4℃ low temperature treatment, in order to facilitate the understanding of the roles of the banana *GRF* genes.【Methods】According to the Hidden Markov Model of the two GRF domains, QLQ (PF08880) and WRC (PF08879), HMMER software were used to identify the *GRF* gene family members from the genome of *Musa acuminata* var. DH-Pahang. Softwares such as ExPASy, SignalP 3.0 Server, TMHMM Server v.2.0, Wolf PSORT, MCScanX, Circos, GSDS, MEME, MEGA6.0, PlantCARE, PlantTFDB et al. were used for the bioinformatic analysis of *M. acuminata GRFs* (*MaGRFs*). By using the above mentioned softwares, characteristics of their nucleotide sequences (including chromosome location, gene structure, distributions of *cis*-acting elements and transcription factor binding sites in promoter, prediction of miRNAs targeting *MaGRF* and so on) and char-

收稿日期:2020-06-05 接受日期:2020-07-28

基金项目:国家重点研发计划课题(2019YFD1000901);国家自然科学基金(31701900;31601713);福建农林大学“校杰出青年科研人才”计划项目(xjq201721);国家现代农业产业技术体系建设专项资金项目(CARS-32-11);福建省高原学科建设经费(102/71201801101)

作者简介:田娜,女,在读硕士研究生,研究方向为果树生物技术。Tel:0591-83789281,E-mail:1378154539@qq.com

*通信作者 Author for correspondence. E-mail:yjhuang2004@163.com;E-mail:ld0532cheng@126.com

acteristics of their encoded proteins (including the protein physicochemical properties, the existence of signal peptides and the transmembrane structure, the protein subcellular location, the conserved domains and motifs and phylogenetic analysis) were studied. Besides, to investigate the expression patterns of the *MaGRFs*, their expression values were extracted from our previous transcriptome data and were used to show their expression pattern in the fruits at different ripening stages with and without ethylene treatment, and in the leaves under low temperature (4 °C) treatment. **【Results】**We totally identified twenty members of the *MaGRF* from the *M. acuminata* genome data (named as *MaGRF1-20*). Chromosome location analysis showed that these *MaGRFs* were unevenly distributed in all the *M. acuminata* chromosomes except for chromosome 9. Among them, 5 *MaGRFs* were found to have ≥ 2 transcripts, for example, *MaGRF5*, 6 and 18 had two variable transcripts, and *MaGRF12* and 14 had 3 variable transcripts. The exon number of the *MaGRFs* ranged from 2 to 6. The protein length of the *MaGRFs* ranged from 141 aa to 607 aa. Their isoelectric points were between 5.94-9.92, and their protein molecular weights were between 16 042.66-65 554.44 Da, their instability coefficient ranged from 52.04 to 73.30. The 20 *MaGRF* family members were all hydrophilic proteins without signal peptide. Subcellular localization prediction result showed that all the *MaGRFs* were nucleus-located. Collinear analysis identified 14 pairs of fragment duplication events in the *MaGRFs*, but no gene tandem phenomenon was found. According to the phylogenetic analysis results, the GRFs from *Arabidopsis*, rice and banana could be divided into 5 subfamilies (Subfamily I - V), among them, the *MaGRFs* existed in the 4 subfamilies (there were 8, 7, 2 and 3 members in Subfamily I, II, IV and V, respectively). Consistently, we found that the gene structure and the distribution of conserved motifs in their encoded proteins of the *MaGRF* members belonging to the same subfamily were similar. Promoter sequence analysis revealed that the *MaGRF* promoters contained a large number of growth and development, plant hormone and stress-responsiveness related *cis*-acting elements, as well as binding sites for nine types of transcription factors (*AP2*, *BBR-BPC*, *DOF*, *MIKC-MADS*, *TALE*, *C2H2*, *ERF*, *MYB* and *GATA*; the number of the *MaGRFs* family members contained these transcription factor binding sites (TFBSs) is 11, 12, 12, 13, 9, 11, 7, 4 and 3, respectively). The promoter of the *MaGRF6* was of the largest number of the TFBSs (103), however, no TFBS was found in the promoters of the *MaGRF3* and *MaGRF20*. The *MaGRF1*, 2, 4, 10, 18, and 19 were predicted to be targets of the same 7 miRNAs (*mac-miR396*, *mac-miR396b*, *mac-miR396a.4*, *mac-miR396a-5p*, *mac-miR396b-5p*, *mac-miR396f* and *mac-miR396g-5p.1*). The *MaGRF9*, 20 were predicted to be target gene of the *mac-miR396*, the *mac-miR396f* and the *mac-miR396g-5p.1*. The *MaGRF3*, 6, 7, 11, 13, 14 and 15 were predicted to be target genes of the *mac-miR396b*, the *mac-miR396a.4*, the *mac-miR396a-5p* and the *mac-miR396b-5p*. Interestingly, two cleavage targeting sites of the *mac-miR396b-5p* were found in the *MaGRF1*. Gene expression analysis showed that the *MaGRF6*, 7, 13 and 17 were highly expressed in banana fruits, and the *MaGRF6* were highly expressed in banana leaves. The *MaGRF7* and 13 were found to be highly expressed in banana fruits in natural ripening periods and the *MaGRF13* also showed high expression in the ethylene treated fruits. The expression levels of the *MaGRF6*, 7 and 17 fluctuated during the fruit ripening stages. Compared with the natural ripening fruits, the expression of the *MaGRF10* and 12 were found to be induced by the ethylene, while the expression of the *MaGRF6*, 7 and 17 were significantly inhibited by the ethylene. Moreover, the expression levels of the *MaGRF9*, 14, 15, 18, 19 were found to be significantly induced by the low temperature, while the expression of the *MaGRF2*, 6, and 13 was suppressed by the low temperature stress. **【Conclusion】**We totally identified 20 *GRF* members from the *M. acuminata* genome data, which is more than other plant species. The expansion of the *MaGRF* family might be caused by the fragment duplication events occurred during the evolution of banana. The expression pat-

tern of each member varied greatly with fruits at different ripening stages and the low temperature treated leaves. And several *MaGRF* members belonging to the subfamily I and II of the plant *GRFs* showed significant differential expression at different fruit ripening stages and the leaves under low temperature treatment. Moreover, more than a half of the *MaGRFs* were predicted to be targets of the *miR396* members, indicating that the expression of the *MaGRFs* might be regulated by the *miR396*.

Key words: Banana; GRF transcription factor; Fruit ripening; Temperature stress; Expression pattern

生长调控因子(Growth-regulating factors, GRF)是一种调节植物生长发育和胁迫反应的植物特有蛋白^[1]。其N末端包含两个高度保守的结构域(WRC和QLQ)。WRC含有1个核定位信号域和1个DNA结合基序,能通过结合下游靶基因的顺式作用区域调控下游基因的表达^[2]。QLQ可通过与GIF蛋白SNH保守结构互作,从而行使转录激活功能^[3]。水稻*O_sGRF1*是最早被鉴定出来的植物GRF基因,其在赤霉素诱导的水稻节间生长过程中发挥重要作用^[3]。近年来,GRF被陆续从拟南芥^[4]、水稻^[5]、梨^[6]、杨树^[6]、葡萄^[6]、玉米^[7]、烟草^[8]和苹果^[9]等植物中鉴定获得。GRF在调控植物叶片、根尖、茎尖、花器官发育以及种子的形成等方面发挥重要作用^[10-12]。前人研究表明,*AtGRF1*和*AtGRF2*过表达会导致拟南芥叶片和子叶变大,而*AtGRF8*与拟南芥的花发育有关^[4]。番茄GRF家族成员广泛参与了番茄生长发育过程,其中*SIGRF1*在果实成熟过程中表达量增加,*SIGRF10*在分生组织中高水平表达,*SIGRF4*和*SIGRF8*在花蕾中高水平表达,*SIGRF6*在根中表达量最高^[13]。时丕彪等^[14]报道了5个在藜麦种子中高水平表达的GRF基因,指出提高这些基因的表达水平可能有利于增加藜麦的产量^[14]。大白菜*BrGRF1*、4、6、8、10、15和17在幼叶中高水平表达,可能与叶头的产量息息相关^[15]。花生*AhGRF5a*在荚果快速膨大期表达水平较高,推测其可能在种子形成过程中起重要作用^[16]。甘蓝油菜*BnGRF2*可以通过调节细胞数量和植物光合作用来增加种子质量和含油量^[17]。

GRF在植物适应各种胁迫过程中也发挥着重要的作用。拟南芥*AtGRF7*作为多种渗透性应激反应基因的抑制因子,可通过与脱水反应元件结合蛋白DREB2A的一段短序列结合,抑制该基因在渗透胁迫下的表达,从而维持植株的正常生长^[18]。大豆*GmGRF5*在遮阴胁迫下表达量升高,可能有助于叶面积的增加,从而提高产量^[19]。黄瓜*CsGRF6*在盐胁迫与干旱胁迫处理6h和12h时表达量急剧增加,暗示其可能在黄瓜盐胁迫与干旱胁迫应答反应中发

挥正调控作用^[20]。

香蕉是重要的水果,也是重要的粮食作物^[21-22]。其果实富含营养和碳水化合物,深受人们的喜爱。香蕉喜热怕寒,对温度变化敏感,在低温条件下,香蕉植株生长减缓甚至死亡,果实品质与产量也会受到极大的影响^[23]。近些年来,转录因子在香蕉抗逆防御反应中的作用被大量揭示,如*MaLAA25*在香蕉响应低温、高温等胁迫过程中显著上调,*MaLAA15*在香蕉干旱、盐胁迫应答过程中显著上调^[24];*MaARF12*、27和31的表达受低温、盐以及渗透胁迫处理显著诱导^[25]。目前,GRF基因家族在许多植物中被鉴定并研究,但香蕉GRF基因家族尚无报道。笔者对香蕉GRF基因家族进行了成员鉴定和生物信息学分析,并研究了它们在香蕉果实成熟和低温胁迫下的表达情况,可为进一步研究*MaGRF*家族的功能奠定基础。

1 材料和方法

1.1 *MaGRFs* 基因家族成员鉴定及蛋白理化特性分析

从香蕉基因组数据库(<https://banana-genome-hub.southgreen.fr/blast>)下载获得小果野蕉(*Musa acuminata* var. DH-Pahang)基因组gDNA、cDNA和蛋白序列。从Pfam(<http://pfam.xfam.org/>)数据库下载GRF蛋白特征结构域QLQ(PF08880)和WRC(PF08879)的隐马尔可夫模型,利用HMMER软件在E-value < 1×10⁻⁵条件下进行香蕉GRF全基因组鉴定。进一步使用CCD(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/cdd>)进行蛋白结构域验证,去除没有QLQ或WRC结构域的蛋白序列。利用在线生物信息学软件ExPasy ProtParam(<https://web.expasy.org/prot-param/>)、SignalP 3.0 Server(<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP-3.0/>)、TMHMM Server v.2.0(<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/>)、Wolf PSORT(<https://wolfsort.hgc.jp/>)分别预测香蕉GRF蛋白长度、分子质量、等电点、不稳定系数、信号肽、跨膜结

构和蛋白亚细胞定位情况^[26-27]。

1.2 MaGRF 家族成员系统进化树分析

从 NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>) 下载获得拟南芥和水稻 GRF 蛋白序列^[28]。使用 MEGA 6.0 软件进行拟南芥、水稻和香蕉 GRF 蛋白多重序列比对,采用 NJ 法(neighbor-joining)构建系统进化树(Bootstrap 值为 1 000 次),并利用 EvolView (<https://www.evolgenius.info/evolview/>) 进行美化处理。

1.3 MaGRF 基因家族成员共线性及 Ka/Ks 值分析

使用 Blast 软件将所有香蕉蛋白进行自身比对。根据各成员在染色体上的位置信息,使用 MCscanX 软件进行共线性分析^[29],并用 Circos 软件进行展示。使用 TBtools 中的 KaKs_Calculator 计算香蕉 GRF 复制基因的异义替换(Ka)和同义替换(Ks)值,并计算 Ka/Ks 值。

1.4 MaGRFs 基因结构和编码蛋白保守基序分析

运用 GSDS (<http://gsds.cbi.pku.edu.cn/>) 在线分析 MaGRFs 基因结构。利用 MEME (<http://meme-suite.org/tools/meme>) 分析 MaGRFs 保守基序(基数参数为 10,其余为默认参数)^[30],并用 TBtools 进行展示。

1.5 MaGRFs 启动子顺式作用元件和转录因子结合位点预测

从香蕉基因组网站 (<http://banana-genome-hub.southgreen.fr/>) 下载获得 MaGRFs 起始密码子上游 2 000 bp 的序列用于启动子分析。使用 PlantCARE (<http://bionformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html>) 预测启动子区顺式作用元件,使用 PlantTFDB 软件 (<http://planttfdb.cbi.pku.edu.cn/>) 在线预测启动子转录因子结合位点分布情况($p\text{-value} \leq 1e-6$)。

1.6 靶定 MaGRF 的香蕉 miRNA 预测

基于本实验室前期获得的香蕉 miRNA 成熟体序列^[31],使用 psRNATarget (http://plantgrn.noble.org/v1_psRNATarget/) 预测靶定 MaGRFs 的 miRNA(期望值设置为 3,其他为默认参数)。

1.7 MaGRFs 基因表达分析

前期研究中测定了室温自然成熟和乙烯处理 0、1、3 和 5 d 的‘天宝蕉’果实、28 °C 对照和 4 °C 低温处理 24 h 的四叶一心的‘天宝蕉’叶片转录组。本研究从转录组数据中提取了 MaGRFs 的表达值,通过 TBtools 绘制 MaGRFs 表达量热图,比较了它们在自

然成熟和乙烯催熟的不同果实成熟阶段的果实及 28 °C 对照和 4 °C 低温处理的叶片中的表达情况。

2 结果与分析

2.1 香蕉 GRF 家族成员鉴定及编码蛋白基本理化性质分析

从香蕉基因组中共鉴定获得 20 个 MaGRF 家族成员(表 1),根据它们在染色体上的位置信息依次命名为 MaGRF1~MaGRF20。其中, MaGRF5、6 和 18 存在 2 个转录本,分别命名为 MaGRF5-1 和 MaGRF5-2, MaGRF6-1 和 MaGRF6-2, MaGRF18-1 和 MaGRF18-2。 MaGRF12 和 14 存在三个转录本,分别命名为 MaGRF12-1、MaGRF12-2 和 MaGRF12-3, MaGRF14-1、MaGRF14-2 和 MaGRF14-3。

蛋白基本理化性质分析结果显示, MaGRFs 长度介于 141~607 aa 之间,蛋白分子质量介于 16 042.66~65 554.44 Da 之间,等电点介于 5.94~9.92,不稳定系数介于 52.04~73.30。20 个 MaGRF 家族成员均为不稳定、无信号肽的亲水蛋白,有且仅有 MaGRF20 具有 1 个跨膜结构。亚细胞定位预测结果显示,所有 MaGRFs 均定位于细胞核。 MaGRF12、14 和 18 不同转录本编码蛋白的理化性质差异较大,而 MaGRF5 和 6 不同转录本编码蛋白的理化性质差异较小(表 1)。

2.2 香蕉 GRF 家族系统进化树分析

通过利用 MEGA 6.0 和 EvolView 对 20 个香蕉、9 个拟南芥和 12 个水稻 GRF 家族成员进行多重序列比对和构建系统进化树,发现这些 GRFs 可分为 5 个亚家族, MaGRFs 中分别有 8、7、2 和 3 个成员被归为 I、II、IV 和 V 亚家族。其中, III 亚家族为拟南芥所特有, IV 亚家族只包含拟南芥与香蕉 GRF 成员(图 1)。

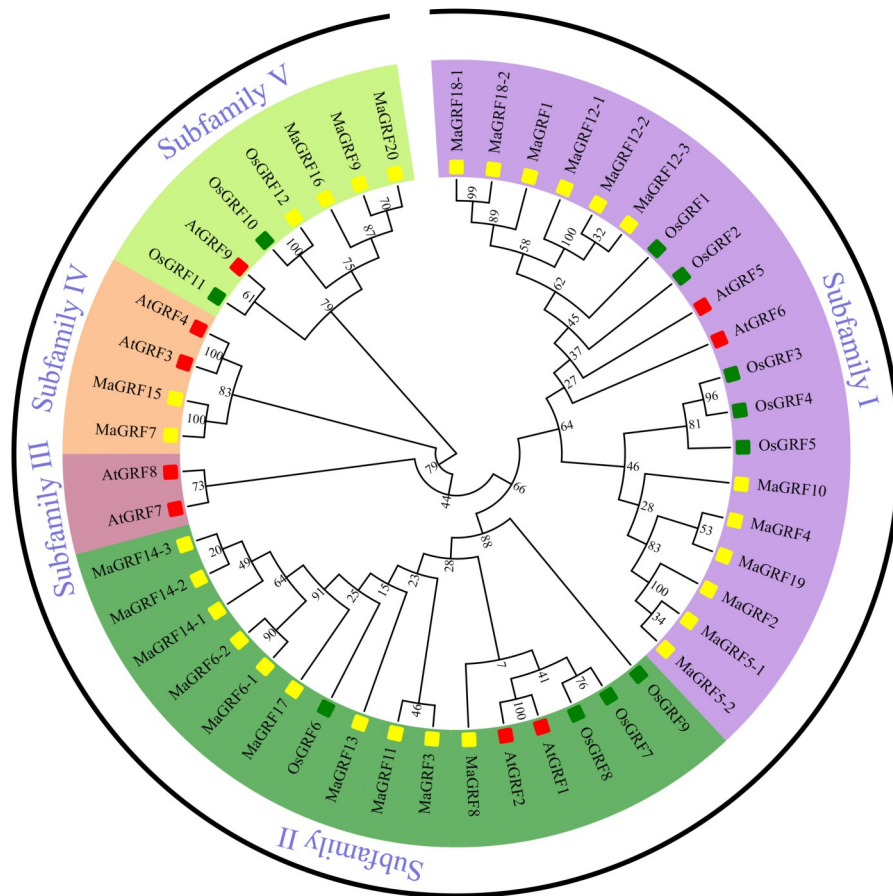
2.3 染色体定位和共线性分析

染色体定位结果显示, 20 条 MaGRF 基因不均匀分布在除 9 号染色体外的 10 条香蕉染色体上(图 2)。其中 8 号染色体上分布最多,有 5 个 MaGRF 成员; 1 号和 3 号染色体上均有 3 个 MaGRF 成员; 6 号、7 号染色体上均有 2 个 MaGRF 成员; 2 号、4 号、5 号、10 号、11 号均只有 1 个 MaGRF 成员。

MaGRF 基因家族并没有发生串联复制现象,但有 14 对片段重复基因(图 2),分别为 MaGRF1/MaGRF18、MaGRF2/MaGRF5、MaGRF3/MaGRF11、MaGRF6/MaGRF11、MaGRF6/MaGRF14、MaGRF6/

表1 MaGRF家族成员基本信息和编码蛋白理化性质分析

基因ID号 Gene ID	所在染色体具体位置 Chromosome location	基因名称 Gene name	长度 Length/aa	分子量 Molecular weight/Da	等电点 pI	不稳定指数 Instability index	亲水性 GRAVY	信号肽 Signal peptide	跨膜结构 Transmembrane domain	亚细胞定位 Protein subcellular localization prediction
Ma01_g15340.1	chr01:11 089 049..11 089 556(+)	MaGRF1	141	16 042.66	9.65	62.09	-0.479	NO	0	细胞核 Nucleus
Ma01_g18580.1	chr01:13 873 157..13 877 948(-)	MaGRF2	351	38 298.48	9.04	67.12	-0.638	NO	0	细胞核 Nucleus
Ma01_g20750.1	chr01:19 441 278..19 445 292(-)	MaGRF3	544	58 779.27	6.10	57.60	-0.487	NO	0	细胞核 Nucleus
Ma02_g06600.1	chr02:17 561 405..17 565 167(+)	MaGRF4	361	39 641.75	7.70	73.30	-0.776	NO	0	细胞核 Nucleus
Ma03_g13640.1	chr03:10 743 252..10 747 567(+)	MaGRF5-1	344	37 891.98	8.82	58.61	-0.654	NO	0	细胞核 Nucleus
Ma03_g13640.2	chr03:10 743 252..10 747 567(+)	MaGRF5-2	347	38 047.18	9.12	59.93	-0.640	NO	0	细胞核 Nucleus
Ma03_g16030.1	chr03:17 579 532..17 583 630(-)	MaGRF6-1	602	65 304.74	7.12	53.07	-0.496	NO	0	细胞核 Nucleus
Ma03_g16030.2	chr03:17 579 532..17 583 630(-)	MaGRF6-2	603	65 375.82	7.12	53.00	-0.493	NO	0	细胞核 Nucleus
Ma03_g223910.1	chr03:28 310 574..28 318 462(-)	MaGRF7	380	42 211.06	8.38	59.11	-0.751	NO	0	细胞核 Nucleus
Ma04_g38790.1	chr04:36 187 497..36 189 003(+)	MaGRF8	399	43 431.56	7.61	56.21	-0.535	NO	0	细胞核 Nucleus
Ma05_g22580.1	chr05:34 356 623..34 357 457(+)	MaGRF9	219	23 812.38	9.22	71.32	-0.479	NO	0	细胞核 Nucleus
Ma06_g03010.1	chr06:2 238 546..2 241 923(+)	MaGRF10	334	36 796.97	6.38	70.00	-0.653	NO	0	细胞核 Nucleus
Ma06_g26200.1	chr06:27 857 305..27 862 570(-)	MaGRF11	558	61 037.70	5.94	57.26	-0.553	NO	0	细胞核 Nucleus
Ma07_g02290.1	chr07:1 813 679..1 815 574(+)	MaGRF12-1	337	37 924.78	9.28	53.50	-0.747	NO	0	细胞核 Nucleus
Ma07_g02290.2	chr07:1 813 679..1 815 574(+)	MaGRF12-2	353	39 919.97	9.35	48.10	-0.741	NO	0	细胞核 Nucleus
Ma07_g02290.3	chr07:34 608 972..34 612 564(+)	MaGRF12-3	357	40 179.32	9.29	51.10	-0.705	NO	0	细胞核 Nucleus
Ma07_g28610.1	chr07:34 608 972..34 612 564(+)	MaGRF13	607	65 554.44	8.20	57.09	-0.472	NO	0	细胞核 Nucleus
Ma08_g04830.1	chr08:3 344 336..3 348 579(-)	MaGRF14-1	565	60 706.44	6.97	58.01	-0.549	NO	0	细胞核 Nucleus
Ma08_g04830.2	chr08:3 344 336..3 348 579(-)	MaGRF14-2	532	57 153.56	6.95	60.19	-0.546	NO	0	细胞核 Nucleus
Ma08_g04830.3	chr08:5 141 690..5 144 315(+)	MaGRF14-3	568	61 050.81	6.97	58.28	-0.561	NO	0	细胞核 Nucleus
Ma08_g07510.1	chr08:5 141 690..5 144 315(+)	MaGRF15	366	40 394.93	8.54	52.04	-0.674	NO	0	细胞核 Nucleus
Ma08_g11800.1	chr08:8 801 878..8 802 835(+)	MaGRF16	232	25 062.75	9.92	56.19	-0.377	NO	0	细胞核 Nucleus
Ma08_g27250.1	chr08:39 556 268..39 561 589(+)	MaGRF17	600	64 420.63	6.81	52.57	-0.438	NO	0	细胞核 Nucleus
Ma08_g31100.1	chr08:42 121 336..42 122 993(+)	MaGRF18-1	372	41 272.15	8.45	59.86	-0.478	NO	0	细胞核 Nucleus
Ma08_g31100.2	chr08:42 121 336..42 122 993(+)	MaGRF18-2	348	38 747.06	7.99	63.08	-0.597	NO	0	细胞核 Nucleus
Ma10_g07490.1	chr10:21 869 269..21 873 539(+)	MaGRF19	348	37 910.98	8.92	67.83	-0.721	NO	0	细胞核 Nucleus
Ma11_g19960.1	chr11:24 610 883..24 612 247(-)	MaGRF20	256	27 403.15	8.82	62.87	-0.420	NO	1	细胞核 Nucleus



Subfamily I ~ V 分别表示不同 GRF 亚家族。

Subfamily I - V respectively represents different GRF subfamily.

图 1 拟南芥(*At*)、水稻(*Os*)和香蕉(*Ma*)GRF 家族系统进化树

Fig. 1 An unrooted phylogenetic tree representing relationships of GRFs in *Arabidopsis thaliana* (*At*), *Oryza sativa* (*Os*) and *Musa acuminata* (*Ma*)

MaGRF15、*MaGRF6/MaGRF17*、*MaGRF7/*
MaGRF15、*MaGRF9/MaGRF20*、*MaGRF9/*
MaGRF16、*MaGRF13/MaGRF14*、*MaGRF13/*
MaGRF17、*MaGRF14/MaGRF17* 和 *MaGRF16/*
MaGRF20。通过计算它们的 Ka/Ks 值,发现 *MaGRF*
基因家族同源基因的 Ka/Ks 均小于 1(表 2),说明香
蕉 *GRF* 基因家族的进化受到了纯化选择压力的影
响。

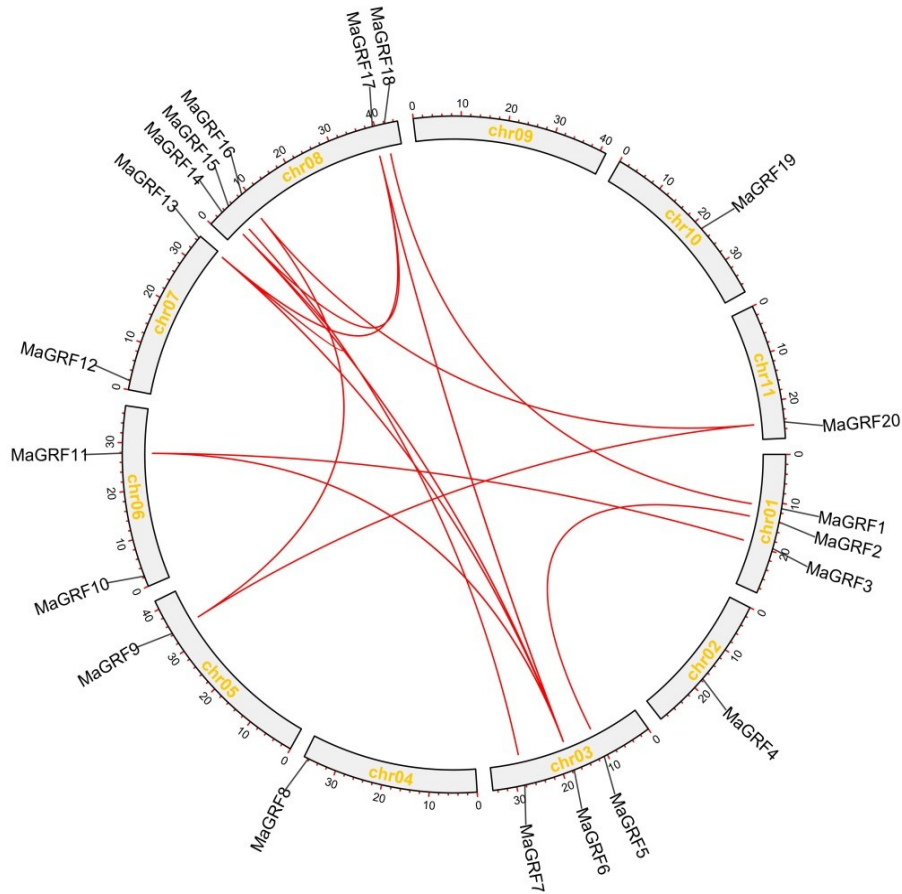
2.4 *MaGRF* 基因结构分析

基因结构分析结果(图 3)显示,*MaGRF* 家族成
员中基因组序列最长的为 7 889 bp(*MaGRF7*),最短
的为 508 bp(*MaGRF1*)。*MaGRFs* 外显子数在 2~6
之间,以 3 个居多。进化上相近的 *MaGRF* 成员的外
显子数量、分布情况以及基因长度差异较小,外显子
长度与分布情况也大致相同。如具有 2 个外显子的

MaGRF1 和 12-3 属于第 I 亚家族;具有 3 个外显子
的 *MaGRF2*、5-1、5-2、10、12-1、12-2、18-1、18-2、19
属于第 I 亚家族,*MaGRF9*、16、20 属于第 V 亚家族;具
有 4 个外显子的 *MaGRF3*、4、6-1、6-2、7、8、11、13、
14-1 属于第 II 亚家族,*MaGRF15*、17 属于第 IV 亚家
族;具有 5 个外显子的 *MaGRF11*、14-2 属于第 II 亚
家族;具有 6 个外显子 *MaGRF14-3* 属于第 II 亚家
族。

2.5 香蕉 GRF 蛋白保守基序分析

保守基序分析结果显示,*MaGRF* 家族所有成员
均含有典型的保守基序 motif 1(WRC)和 motif 2
(QLQ)(图 4)。系统进化树同一分支上的成员所含
基序种类、数量和位置差异较小,不同分支成员之间
所含基序种类、数量和位置差异较大:第 V 亚家族基
序的数量与种类最少(除 *MaGRF20* 含有 motif 1、2、



红色线表示 *MaGRFs* 的共线性关系。

The red line indicates the collinearity of the *MaGRFs*.

图 2 *MaGRF* 家族基因染色体定位和共线性分析

Fig. 2 Chromosome localization and collinear distribution of *MaGRFs*

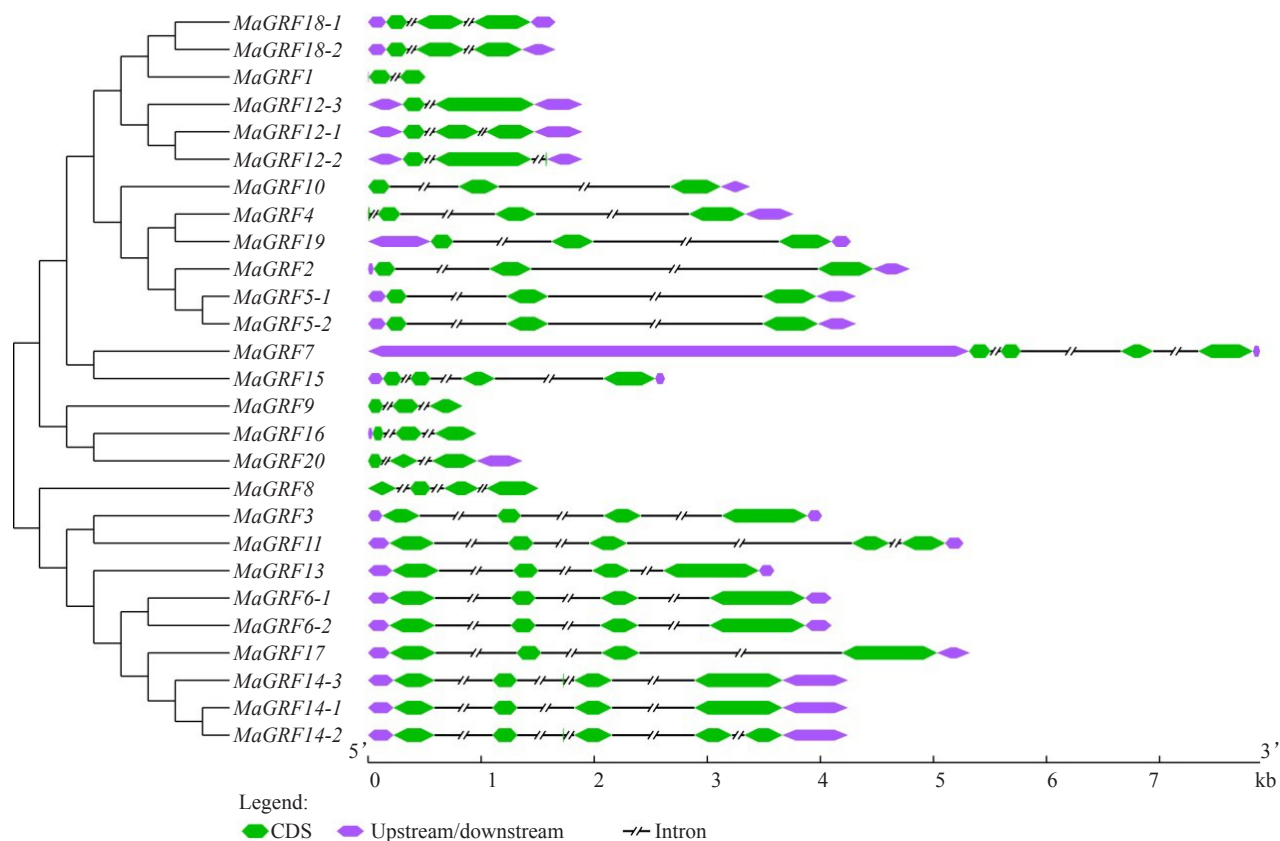
表 2 *MaGRFs* 的同源基因的 Ka/Ks 分析

Table 2 Ka/Ks analysis of *MaGRF* homologous genes

基因对名称 Gene pair name	基因对 ID Gene pair ID	Ka	Ks	Ka/Ks
MaGRF1/ MaGRF18	Ma01_g15340.1/ Ma08_g31100.1	0.062 4	0.365 7	0.170 7
MaGRF2/ MaGRF5	Ma01_g18580.1/ Ma03_g13640.1	0.067 7	0.387 9	0.174 5
MaGRF3/ MaGRF11	Ma01_g20750.1/ Ma06_g26200.1	0.201 8	0.387 6	0.520 6
MaGRF6/ MaGRF11	Ma03_g16030.1/ Ma06_g26200.1	0.295 2	0.788 2	0.374 6
MaGRF6/ MaGRF13	Ma03_g16030.1/ Ma07_g28610.1	0.247 3	0.891 3	0.277 4
MaGRF6/ MaGRF14	Ma03_g16030.1/ Ma08_g04830.1	0.158 2	0.552 4	0.286 4
MaGRF6/ MaGRF17	Ma03_g16030.1/ Ma08_g27250.1	0.129 2	0.439 1	0.294 2
MaGRF7/ MaGRF15	Ma03_g23910.1/ Ma08_g07510.1	0.138 3	0.485 8	0.284 7
MaGRF9/ MaGRF20	Ma05_g22580.1/ Ma11_g19960.1	0.138 7	0.428 4	0.323 8
MaGRF9/ MaGRF16	Ma05_g22580.1/ Ma08_g11800.1	0.186 2	0.514 7	0.361 7
MaGRF13/ MaGRF14	Ma07_g28610.1/ Ma08_g04830.1	0.220 3	0.905 8	0.243 2
MaGRF13/ MaGRF17	Ma07_g28610.1/ Ma08_g27250.1	0.236 6	0.860 8	0.274 9
MaGRF14/ MaGRF17	Ma08_g04830.1/ Ma08_g27250.1	0.163 2	0.481 7	0.338 9
MaGRF16/ MaGRF20	Ma08_g11800.1/ Ma11_g19960.1	0.173 6	0.637 0	0.272 5

注:分析的复制类型为片段复制。

Note: The duplication type analyzed here is segmental duplication.

图3 *MaGRF* 家族成员基因结构Fig. 3 The exon-intron structure of *MaGRF* family members

4 三个基序外,其余两个成员只含有 motif 1 和 2 两个基序);第 II 亚家族 motif 的数量与种类最多[共含有 10 个基序(motif 1~10),其中 *MaGRF3* 无 motif 6, *MaGRF8*、14-2 无 motif 4, *MaGRF8* 无 motif 3、5、6];第 I 亚家族的 8 个 *MaGRFs* 共含有 6 个 motif(motif 1~4、7、10),其中 *MaGRF10* 无 motif 10, *MaGRF12* 和 18 无 motif 7 和 10,而 *MaGRF1* 仅含有 motif 1 和 2。第 IV 亚家族的 2 个 *MaGRFs* 共包含 5 个基序(motif 1~3、8、9),其中 *MaGRF7* 无 motif 8。

2.6 *MaGRF* 基因启动子顺式元件分析

启动子顺式元件分析结果(图 5)显示, *MaGRF* 基因成员启动子区均含有大量的核心元件 TATA-box 和 CAAT-box 及光响应元件。分别有 80.0%、70.0%、40.0%、50.0%、35.0%的 *MaGRF* 启动子中含有脱落酸、茉莉酸甲酯、赤霉素、生长素、水杨酸响应元件。分别有 75.0%、50.0%、55.0%和 35.0%的成员启动子含有参与厌氧胁迫、低温胁迫、干旱胁迫以及防御与抵御响应的顺式作用元件。个别 *MaGRFs* 启动子还含有分生组织表达、玉米蛋白代谢调节、胚乳表达、生理节律、细胞周期调节、种子特异性、栅栏叶

肉细胞分化、缺氧特异性诱导相关的组织生长发育以及特异性响应元件,如 *MaGRF17* 启动子含有参与胚乳表达响应的元件, *MaGRF8*、13 和 20 启动子含有栅栏叶肉细胞分化响应元件。

2.7 *MaGRF* 基因启动子区域转录因子结合位点分析

转录因子结合位点(transcription factor binding site, TFBS)预测结果显示, *MaGRF* 家族启动子共存在 9 种转录因子家族的结合位点(包括 AP2、BBR-BPC、DOF、MIKC-MADS、TALE、C2H2、ERF、MYB 和 GATA)(图 6)。含有这些 TFBS 的 *MaGRFs* 家族成员分别有 11(55.0%)、12(60.0%)、12(55.0%)、13(65.0%)、9(45.0%)、11(55.0%)、7(35.0%)、4(20.0%)和 3 个(15.0%)。其中, BBR-BPC 结合位点数最多(202 个),其次为 MIKC-MADS(86 个)。各成员启动子上鉴定获得的 TFBS 数目差异较大,如 *MaGRF6* 启动子存在有 103 个 TFBS, *MaGRF17* 启动子存在 102 个 TFBS, *MaGRF12* 和 14 启动子仅存在 1 个 TFBS,而 *MaGRF3* 和 20 启动子未预测到 TFBS。

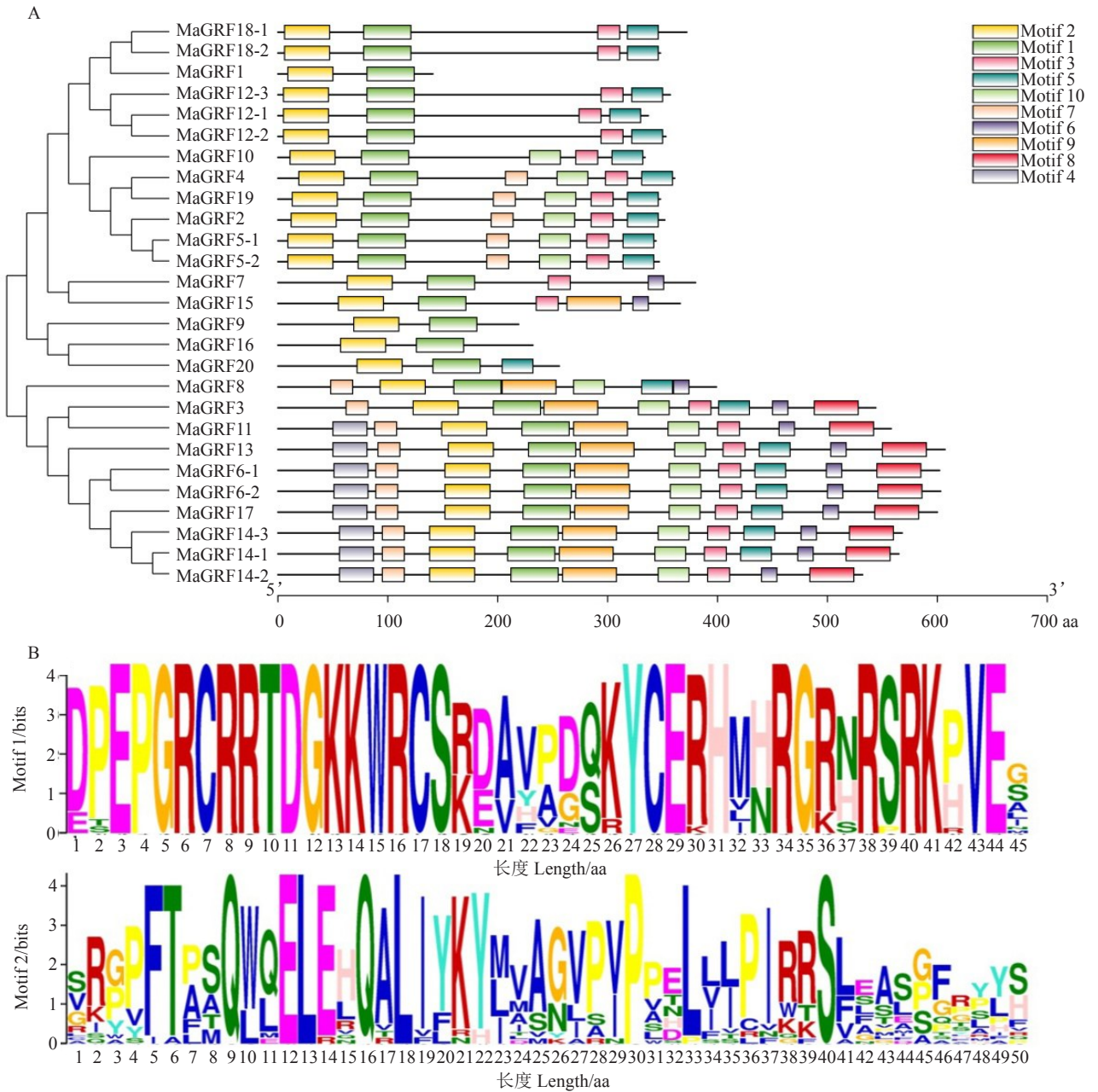


图 4 MaGRF 家族成员保守基序分布 (A) 及典型保守基序 (B) 序列图
 Fig. 4 Conserved motifs (A) and typical conserved motif (B) sequences of MaGRFs

2.8 *MaGRF* 家族成员被 miRNA 靶标情况预测结果

预测结果显示,多个 mac-miR396 家族成员可以通过裂解方式靶标 *MaGRF* 基因。其中, *MaGRF1*、2、4、10、18 和 19 被预测是 7 个 mac-miR396 成员 (mac-miR396、mac-miR396b、mac-miR396a.4、mac-miR396a-5p、mac-miR396b-5p、mac-miR396f、mac-miR396g-5p.1) 的靶基因; *MaGRF9*、20 被预测为 mac-miR396、mac-miR396f 和 mac-miR396g-5p.1 的靶基因, *MaGRF3*、6、7、11、13、14 和 15 同时被预测

为 mac-miR396b、mac-miR396a.4、mac-miR396a-5p、mac-miR396b-5p 的靶基因 (表 3)。其中, mac-miR396b-5p 在 *MaGRF1* 上具有两个靶标位点。

2.9 *MaGRF* 基因表达分析

果实转录组数据 (图 7) 显示, *MaGRF7* 和 13 在果实中表达量最高, *MaGRF6*、7、10、12、13、14 和 17 在不同自然成熟和乙烯催熟阶段果实中的表达量均较高。 *MaGRF1*、3、4、8、9、11、16、20 在果实中未检测到表达或仅在某个成熟阶段有极低水平的表达。

自然成熟条件下, *MaGRF14* 的表达逐步增加;

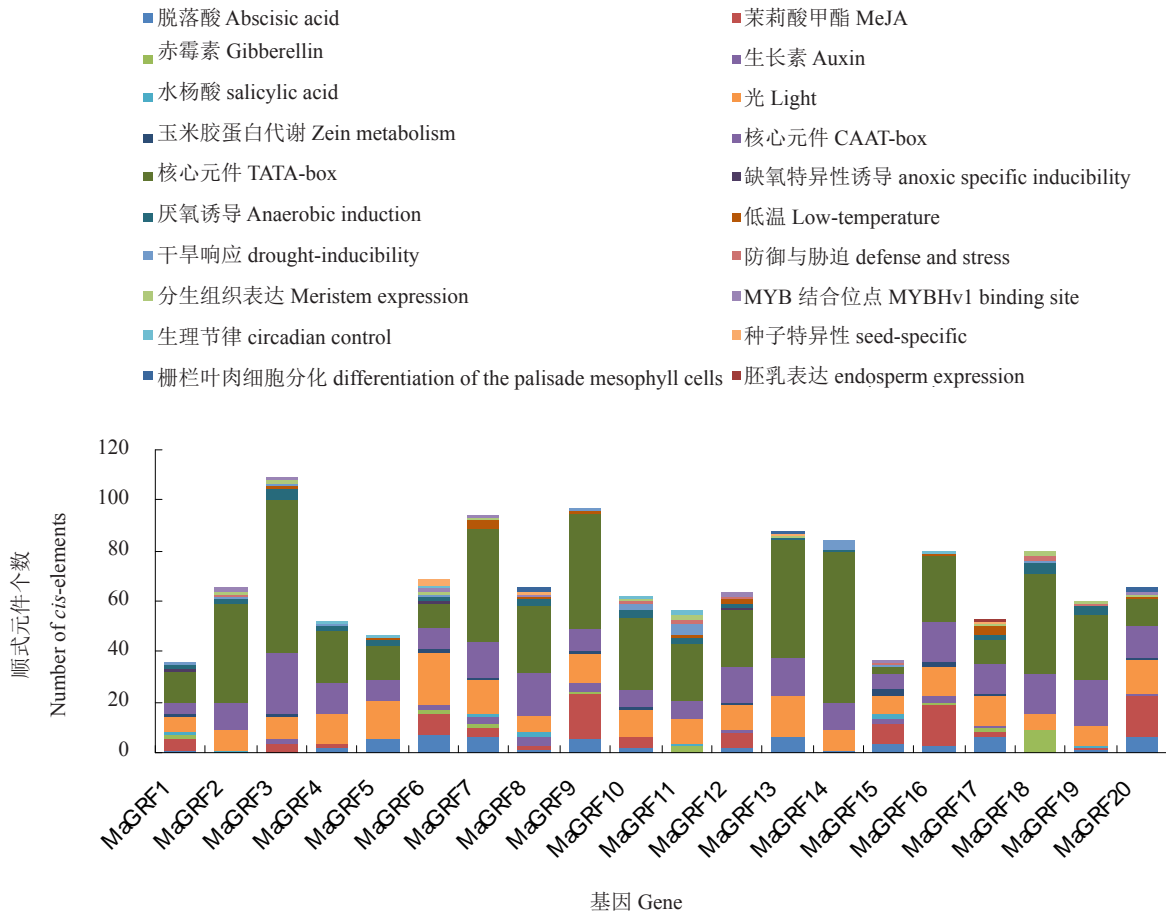


图 5 香蕉 GRF 基因家族各成员启动子区顺式作用元件种类和数量
 Fig. 5 Types and numbers of *cis*-acting elements in promoters of banana GRF genes

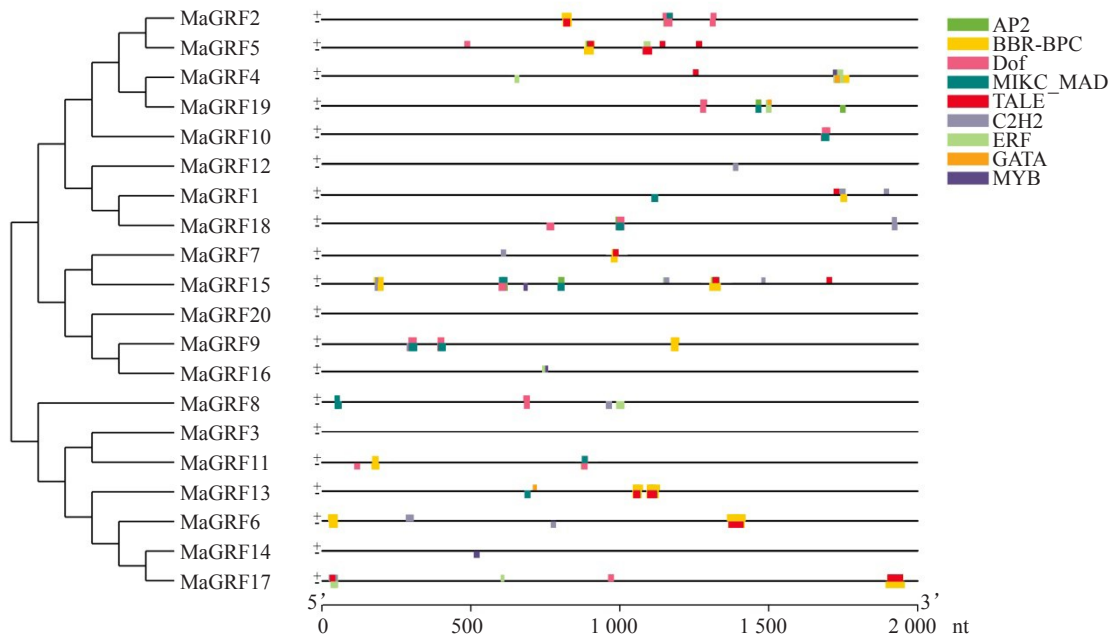


图 6 *MaGRF* 基因家族启动子的转录因子结合位点预测
 Fig. 6 Prediction of transcription factor binding sites in the *MaGRF* promoters

表3 靶定 *MaGRF* 基因家族成员的 miRNA 预测
Table 3 The predicted miRNAs targeting *MaGRF* gene family members in banana

miRNA	同源miRNA	基因 Gene	靶位点 Target site	抑制 Inhibition	miRNA	同源miRNA	基因 Gene	靶位点 Target site	抑制 Inhibition
mac-miR396	smo-miR396	<i>MaGRF1</i>	343~363	Cleavage	mac-miR396g-5p.1 mac-miR396f	ptc-miR396g-5p ptc-miR396f	<i>MaGRF1</i>	342~363	Cleavage
		<i>MaGRF2</i>	361~381	Cleavage			<i>MaGRF2</i>	360~381	Cleavage
		<i>MaGRF4</i>	487~507	Cleavage			<i>MaGRF4</i>	486~507	Cleavage
		<i>MaGRF9</i>	379~399	Cleavage			<i>MaGRF9</i>	378~399	Cleavage
		<i>MaGRF10</i>	343~363	Cleavage			<i>MaGRF10</i>	342~363	Cleavage
		<i>MaGRF18</i>	343~363	Cleavage			<i>MaGRF18</i>	342~363	Cleavage
		<i>MaGRF19</i>	310~330	Cleavage			<i>MaGRF19</i>	309~330	Cleavage
		<i>MaGRF20</i>	379~399	Cleavage			<i>MaGRF20</i>	378~399	Cleavage
mac-miR396a-5p mac-miR396a.4	ath-miR396a-5p vvi-miR396a	<i>MaGRF1</i>	342~363	Cleavage	mac-miR396b	vvi-miR396b	<i>MaGRF1</i>	343~363	Cleavage
		<i>MaGRF2</i>	360~381	Cleavage			<i>MaGRF2</i>	361~381	Cleavage
		<i>MaGRF3</i>	336~357	Cleavage			<i>MaGRF3</i>	337~357	Cleavage
		<i>MaGRF4</i>	486~507	Cleavage			<i>MaGRF4</i>	487~507	Cleavage
		<i>MaGRF6</i>	765~786	Cleavage			<i>MaGRF6</i>	766~786	Cleavage
		<i>MaGRF7</i>	510~531	Cleavage			<i>MaGRF7</i>	511~531	Cleavage
		<i>MaGRF10</i>	342~363	Cleavage			<i>MaGRF10</i>	343~363	Cleavage
		<i>MaGRF11</i>	759~780	Cleavage			<i>MaGRF11</i>	760~780	Cleavage
		<i>MaGRF13</i>	792~813	Cleavage			<i>MaGRF13</i>	793~813	Cleavage
		<i>MaGRF14</i>	783~804	Cleavage			<i>MaGRF14</i>	784~804	Cleavage
mac-miR396b-5p	ath-miR396b-5p	<i>MaGRF1</i>	342~363	Cleavage	mac-miR396b-5p	ath-miR396b-5p	<i>MaGRF10</i>	342~363	Cleavage
		<i>MaGRF1</i>	869~889	Cleavage			<i>MaGRF11</i>	759~780	Cleavage
		<i>MaGRF2</i>	360~381	Cleavage			<i>MaGRF13</i>	792~813	Cleavage
		<i>MaGRF3</i>	336~357	Cleavage			<i>MaGRF14</i>	783~804	Cleavage
		<i>MaGRF4</i>	486~507	Cleavage			<i>MaGRF15</i>	261~282	Cleavage
		<i>MaGRF6</i>	765~786	Cleavage			<i>MaGRF18</i>	342~363	Cleavage
		<i>MaGRF7</i>	510~531	Cleavage			<i>MaGRF19</i>	309~330	Cleavage

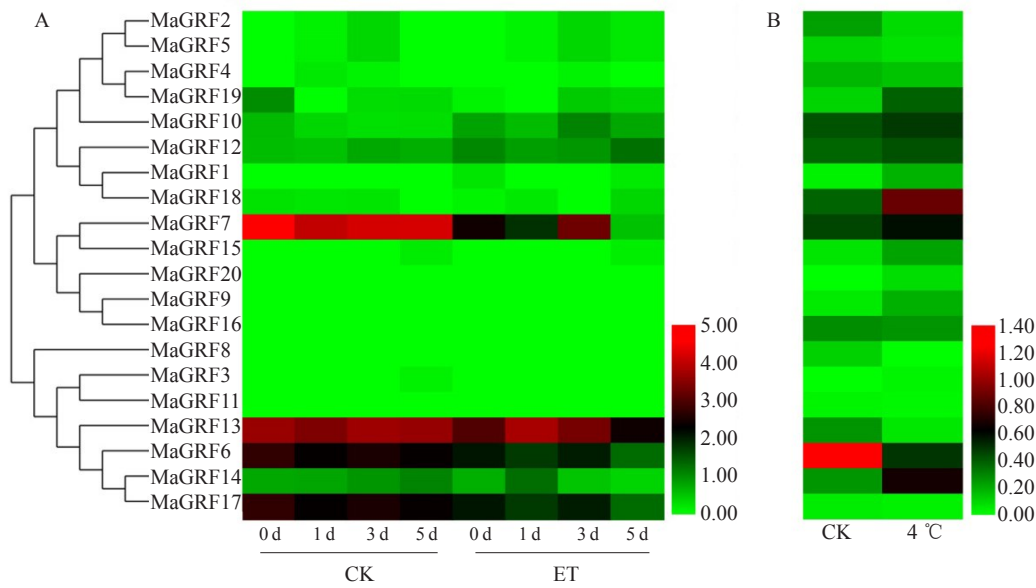
MaGRF10 和 *18* 的表达量逐步降低;其余成员大多呈波动变化。其中,*MaGRF6*、*7*、*13*、*17* 和 *19* 在 0 d 时表达量最高,*MaGRF4* 在 2 d 时表达量最高,*MaGRF2*、*5* 和 *12* 在 3 d 时表达量最高。

在乙烯催熟条件下,大多数 *MaGRF* 成员的表达量呈波动变化。其中 *MaGRF6* 和 *17* 在 0 d 时表达量最高;*MaGRF13* 和 *14* 在 1 d 时表达量最高;*MaGRF2*、*5*、*10* 和 *19* 在 3 d 时表达量最高,*MaGRF12* 和 *18* 在 5 d 时表达量最高。

与自然成熟相比,*MaGRF10* 和 *12* 的表达受乙烯处理显著诱导,而 *MaGRF6*、*7* 和 *17* 受乙烯抑制。0 d 时,乙烯处理果实中 *MaGRF12* 的表达量约为自然成熟果实的 2.2 倍,*MaGRF7* 则仅为 19.3%;乙烯处理 1 d 时,*MaGRF10*、*12*、*13*、*14* 的表达量分别约为自然成熟的果实的 1.8 倍、1.8 倍、1.3 倍和 2.0 倍,

而 *MaGRF6*、*7* 和 *17* 分别仅约为其 60.4%、16.8% 和 60.4%;乙烯处理 3 d 时,*MaGRF10* 的表达量约为自然成熟果实的 5.5 倍,*MaGRF14* 则仅约为其 47.0%;乙烯处理 5 d 时,*MaGRF10*、*12* 分别为自然成熟 5 d 果实的 3.2 倍和 2.2 倍,而 *MaGRF6*、*7*、*13*、*14* 和 *17* 分别为其 36.7%、2.6%、38%、25.6% 和 36.7%。

叶片转录组数据显示,*MaGRFs* 在叶片中的表达量均较低。*MaGRF6* 在 28 °C 对照叶片中的表达量最高,*MaGRF18* 在 4 °C 低温处理的叶片中的表达量最高。低温处理后,*MaGRF1*、*7*、*9*、*10*、*12*、*14*、*15*、*18* 和 *19* 上调表达,其中 *MaGRF9*、*14*、*15*、*18* 和 *19* 显著上调,分别上调了 4.3 倍、3.1 倍、3.9 倍、2.8 倍、4.1 倍;*MaGRF2*、*5*、*6*、*8*、*11*、*13* 下调,其中 *MaGRF2*、*6* 和 *13* 的表达量分别仅为对照的 35.3%、29.7% 和 20.0%。



A 中 CK 和 ET 分别代表自然成熟和乙烯处理的香蕉果实;B 中 CK 表示低温处理对照叶片。

CK and ET respectively represents the natural ripening and ethylene treated fruits in Fig. A; CK means control in Fig. B.

图 7 *MaGRF* 家族成员表达情况

Fig. 7 The expression pattern of *MaGRF* gene family members

3 讨 论

3.1 香蕉 *GRF* 成员数较多

本研究从香蕉基因组共鉴定获得 20 个 *MaGRF* 基因家族成员。这些成员的外显子数量在 2~6 之间,以 3 个居多,与龙眼 *GRF* 基因家族相似^[32]。相较于拟南芥^[4]、水稻^[5]、柑橘^[33]、二穗短柄草^[34]和毛竹^[35]等植物(分别有 9、12、9、12 和 18 个 *GRF* 成员),香蕉 *GRF* 家族成员数更多。此外,*MaGRF* 基因家族存在 14 对片段重复基因,其中 8 对存在于香蕉 *GRF* 第 II 亚家族成员之间,推测香蕉为适应外界环境变化在进化过程中发生了 *GRF* 基因家族尤其是第 II 亚家族成员的扩增^[2],暗示该亚家族成员可能在香蕉响应逆境胁迫过程中发挥重要作用。

3.2 不同 *MaGRF* 亚家族成员功能差异较大

MaGRFs 可进一步分为 4 个亚家族。属于同一亚家族的 *MaGRF* 成员基因结构及其编码蛋白的理化性质和保守结构域/基序分布情况较为相似,暗示属于同一亚家族的 *MaGRF* 成员可能具有相似的功能。

通过研究 *MaGRFs* 在自然成熟和乙烯催熟的果实中的表达情况,发现 7 个成员 (*MaGRF6*、*7*、*10*、*12*、*13*、*14* 和 *17*) 在果实中表达量较高。其中,*MaGRF10* 和 *12* 的表达受乙烯诱导,*MaGRF6*、*7* 和 *17* 受乙烯抑

制,*MaGRF13* 在乙烯处理 1 d 时表达量最高,*MaGRF14* 在乙烯处理 1 d 时上调 1.98 倍。值得注意的是,*MaGRF10* 和 *12* 属于第 I 亚家族,*MaGRF6*、*13*、*14* 和 *17* 属于第 II 亚家族。而属于第 V 亚家族的 3 个 *MaGRF* 成员 (*MaGRF9*、*16* 和 *20*) 在果实中均不表达或表达量极低。

王鹏杰等^[36]发现 10 个茶树 *CsGRFs* 的表达受低温诱导。Khatun 等^[13]在番茄中鉴定获得 10 个受低温显著诱导的 *SIGRFs*。本研究也发现多数 *MaGRF* 成员参与香蕉低温度胁迫响应。其中,*MaGRF1*、*7*、*9*、*10*、*12*、*14*、*15*、*18* 和 *19* 受低温诱导,*MaGRF2*、*5*、*6*、*8*、*11* 和 *13* 受低温抑制,这些基因中有 7 个第 I 亚家族成员 (*MaGRF1*、*2*、*5*、*10*、*12*、*18*、*19*) 和 5 个第 II 亚家族成员 (*MaGRF6*、*8*、*11*、*13*、*14*)。以上结果表明,属于同一亚家族的香蕉 *GRF* 基因功能更为相似。*MaGRF7*、*15* 与 *AtGRF3*、*4* 同属于第 IV 亚家族。拟南芥 *AtGRF3* 和 *AtGRF4* 分别参与调节细胞体积和雌蕊的发育和叶片细胞增殖及子叶和茎尖分生组织的发育^[4,37],推测 *MaGRF7* 和 *15* 也可能具有类似的功能。

3.3 *MaGRFs* 的表达受到多种因素的调控

启动子是植物中的一种调控元件,对转录水平的调控有着至关重要的作用^[38]。本研究发现香蕉 *GRF* 家族成员启动子含有大量的植物激素和逆境

胁迫响应相关元件。说明GRF在香蕉响应激素和逆境应答反应中发挥作用。MaGRFs启动子上同时还存在有9个转录因子家族的结合位点,其中MaGRF6和MaGRF17启动子上分别有103个和102个TFBS,说明它们的表达受到多种转录因子的调控。

植物miR396可以通过调节靶基因GRF的表达进而参与植物生长发育^[39]和胁迫应答^[40-41]、激素分泌^[42]、信号转导^[43]等多种生理代谢过程的调控。水稻中,抗OsmiR396型*mOsGRF1*的过表达会导致细胞增殖增加导致叶片膨大,而*OsGRF1*基因敲除则出现叶片萎缩现象,说明miR396可调节叶片的生长发育^[44]。本研究发现超过一半的MaGRF成员被预测为miR396的靶基因,说明MaGRFs的表达受到miR396的显著调控。

4 结 论

本研究从香蕉基因组中鉴定获得可进一步分为4个亚家族的20个MaGRFs。其中,属于第I和第II亚家族的多个MaGRF成员在香蕉果实成熟和低温应答过程中发挥着重要作用。miR396可能在调控MaGRF表达调控中发挥着重要作用。

参考文献 References:

- [1] 马超,原佳乐,张苏,贾琦石,冯雅岚. GRF转录因子对植物生长发育及胁迫响应调控的分子机制[J]. 核农学报, 2017, 31(11): 2145-2153.
MA Chao, YUAN Jiale, ZHANG Su, JIA Qishi, FENG Yalan. The molecular mechanisms of growth-regulating factors (GRFs) in plant growth, development and stress response[J]. Journal of Nuclear Agriculture, 2017, 31(11): 2145-2153.
- [2] MOHAMMA A O, SEBASTIAN P, USHIO F, BERND M R. Growth-regulating factors (GRFs): A small transcription factor family with important functions in plant biology[J]. Molecular Plant, 2015, 8(7): 998-1010.
- [3] 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.
- [4] 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.
- [5] 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.
- [6] CAO Y P, HAN Y H, JIN Q, LIN Y. Comparative genomic analysis of the GRF genes in chinese pear (*Pyrus bretschneideri* Rehd.), poplar (*Populus*), grape (*Vitis vinifera*), *Arabidopsis* and rice (*Oryza sativa*) [J]. Frontiers in Plant Science, 2016, 7: 1750-1763.
- [7] ZHANG D F, LI B, JIA Q G, ZHANG T F, DAI J R, LI J S, WANG S C. Isolation and characterization of genes encoding GRF transcription factors and G1F transcriptional coactivators in maize (*Zea mays* L.) [J]. Plant Science, 2008, 175(6): 809-817.
- [8] ZHANG J F, LI Z F, JIN J J, XIE X D, ZHANG H, CHEN Q S, LUO Z P, YANG J. Genome-wide identification and analysis of the growth-regulating factor family in tobacco (*Nicotiana tabacum*) [J]. Gene, 2018, 639: 117-127.
- [9] ZHANG L W, MA J J, SONG C H, ZHANG L Z, CAO C, ZHANG D, AN N, MAO J P. Genome-wide identification and expression analysis of GRF genes regulating apple tree architecture [J]. Tree Genetics & Genomes, 2018, 14(4): 54-70.
- [10] HEWEZI T, MAIER T R, NETTLETON D, BAUM T J. The *Arabidopsis* MicroRNA396-GRF1/GRF3 regulatory module acts as a developmental regulator in the reprogramming of root cells during cyst nematode infection [J]. Plant Physiology, 2012, 159(1): 321-335.
- [11] LIU D M, SONG Y, CHEN Z X, YU D Q. Ectopic expression of miR396 suppresses GRF target gene expression and alters leaf growth in *Arabidopsis* [J]. Physiologia Plantarum, 2009, 136(2): 223-236.
- [12] LI S C, GAO F Y, XIE K L, ZENG X H, CAO Y, ZENG J, HE Z S, REN Y, LI W B, DENG Q M, WANG S Q, ZHENG A P, ZHU J, LIU H N, WANG L X, LI P. The OsmiR396c-OsGRF4-OsG1F1 regulatory module determines grain size and yield in rice [J]. Plant Biotechnology Journal, 2016, 14(11): 2134-2146.
- [13] KHATUN K, ROBIN A H, PARK J, NATH U K, KIM C K, LIM K Y. 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): 1056-1075.
- [14] 时丕彪,何冰,费月跃,王军,王伟义,魏福友,吕远大,顾闽峰. 藜麦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.
SHI Pibiao, HE Bing, FEI Yueyue, WANG Jun, WANG Weiyi, WEI Fuyou, LÜ Yuanda, GU Minfeng. Identification and expression analysis of GRF transcription factor family of *Chenopodium quinoa* [J]. Acta Crops, 2019, 45(12): 1841-1850.
- [15] WANG F D, QIU N W, DING Q, LI J J, ZHANG Y H, LI H Y, CAO J W. 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): 807-818.
- [16] ZHAO K K, LI K, NING L L, HE J L, MA X L, LI Z F, ZHANG X G, YIN D M. Genome-wide analysis of the growth-

- regulating factor family in peanut (*Arachis hypogaea* L.)[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2019, 20(17): 4120-4130.
- [17] MA J Q, JIAN H G, YANG B, ZHANG A X, LIU P, LI J N. Genome-wide analysis and expression profiling of the *GRF* gene family in oilseed rape (*Brassica napus* L.)[J]. Gene, 2017, 620(620): 36-45.
- [18] KIM J, MIZOI J, KIDOKORO S, MARUYAJIMA J, NAKASHIMA K. *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.
- [19] CHENG F, YANG Y Z, LUO X F, ZHOU W G, DAI Y J, ZHENG C, LIU W G, YANG W Y, SHU K. Genome-wide identification of GRF transcription factors in soybean and expression analysis of *GmGRF* family under shade stress[J]. BMC Plant Biology, 2019, 19(1): 269-281.
- [20] ZHONG Y, GE L L, LI G H, JIANG L W, YANG Y G. Characterization and expression analysis of growth regulating factor (GRF) family genes in cucumber[J]. Archives of Biological Sciences, 2018, 70(4): 629-637.
- [21] AURORE G, PARFAIT B, FAHRASMANE L. Bananas, raw materials for making processed food products[J]. Trends Food Science Technology, 2009, 20(2): 78-91.
- [22] D'HONT A, DENOEUDE F, AURY J M, BAURENS F C, CARREEL F,, WINCKER P. The banana (*Musa acuminata*) genome and the evolution of monocotyledonous plants[J]. Nature, 2012, 488(7410): 213-217.
- [23] 李丹, 黄玉吉, 朱宁, 刘范, 田娜, 徐涵, 程春振, 赖钟雄. 三明野生蕉抗寒特性的形态学与生理生化研究[J]. 果树学报, 2019, 36(1): 76-85.
- LI Dan, HUANG Yuji, ZHU Ning, LIU Fan, TIAN Na, XU Han, CHENG Chunzhen, LAI Zhongxiong. A study on the phenotypical, physiological and biochemical characteristics of the cold resistant Sanming wild banana (*Musa itinerans*) [J]. Journal of Fruit Science, 2019, 36(1): 76-85.
- [24] 孙雪丽, 刘范, 田娜, 项蕾蕾, 郝向阳, 王云, 彭丽云, 王天池, 程春振, 赖钟雄. 香蕉 *Aux/IAA* 基因家族的全基因组鉴定及表达分析[J]. 园艺学报, 2019, 46(10): 1919-1935.
- SUN Xueli, LIU Fan, TIAN Na, XIANG Leilei, HAO Xiangyang, WANG Yun, PENG Liyun, WANG Tianchi, CHENG Chunzhen, LAI Zhongxiong. Genome-wide identification and expression analysis of *Aux/IAA* gene family in banana[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2019, 46(10): 1919-1935.
- [25] HU W, ZUO J, HOU X, YAN Y, WEI Y X, LIU J H, LI M Y, XU B Y, JIN Z Q. 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: 742-758.
- [26] 刘嘉鹏, 屈蒙蒙, 孙雪丽, 伍俊为, 刘范, 田娜, 程春振. 香蕉 *WATI* 基因的鉴定及表达分析[J]. 果树学报, 2020, 37(5): 645-658.
- LIU Jiapeng, QU Mengmeng, SUN Xueli, WU Junwei, LIU Fan, TIAN Na, CHENG Chunzhen. Identification and expression analysis of *WATI* genes in banana[J]. Journal of Fruit Science, 2020, 37(5): 645-658.
- [27] ZHUO X K, ZHENG T C, ZHANG Z Y, ZHANG Y C, JIANG L B, AHMAD S, SUN L D, WANG J, CHENG T R, ZHANG Q X. Genome-wide analysis of the NAC transcription factor gene family reveals differential expression patterns and cold-stress responses in the woody plant *Prunus mume*[J]. Genes, 2018, 9(10): 494-515.
- [28] 曹珂, 薛灵姿, 王蛟, 方伟超, 朱更瑞, 陈昌文, 王新卫, 王力荣. 桃 *GRF* 基因家族的序列及其组织特异性表达分析[J]. 植物遗传资源学报, 2018, 19(3): 578-586.
- CAO Ke, XUE Lingzi, WANG Jiao, FANG Weichao, ZHU Gengrui, CHEN Changwen, WANG Xinwei, WANG Lirong. The sequence character of *GRF* gene and its tissue-specific expression pattern in peach (*Prunus persica*) [J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2018, 19(3): 578-586.
- [29] WANG Y P, TANG H B, DEBARRY J D, TAN X F, LI J P, WANG X Y, LEE T, JIN H Z, MARLER B S, GUO H, KISSINGER J C, PATERSON A H. *MCSanX*: a toolkit for detection and evolutionary analysis of gene synteny and collinearity[J]. Nucleic Acids Research, 2012, 40(7): e49.
- [30] BAILEY T L, BODEN M, BUSKE F A, FRITH M C, GRANT C E, CLEMENTI L, REN J Y, LI W W, NOBLE W S. MEME Suite: tools for motif discovery and searching[J]. Nucleic Acids Research, 2009, 37(Suppl. 2): 202-208.
- [31] CHENG C Z, LIU F, SUN X, TIAN N, MENSAH R N, LI D, LAI Z X. Identification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* tropical race 4 (*Foc TR4*) responsive miRNAs in banana root[J]. Scientific Reports, 2019, 9(1): 13682.
- [32] 刘蒲东, 张舒婷, 陈晓慧, 苏立遥, 姚德恒, 李汉生, 张梓浩, 陈裕坤, 林玉玲, 赖钟雄. 龙眼 *GRF* 家族全基因组鉴定及表达模式[J]. 应用与环境生物学报, 2020, 26(2): 236-245.
- LIU Pudong, ZHANG Shuting, CHEN Xiaohui, SU Liyao, YAO Deheng, LI Hansheng, ZHANG Zihao, CHEN Yukun, LIN Yuling, LAI Zhongxiong. Genomic identification and expression patterns of longan *GRF* family[J]. Journal of Applied and Environmental Biology, 2020, 26(2): 236-245.
- [33] LIU X, GUO L X, JIN L F, LIU Y Z, LIU T, FAN Y H, PENG S. Identification and transcript profiles of citrus growth-regulating factor genes involved in the regulation of leaf and fruit development[J]. Molecular Biology Reports, 2016, 43(10): 1059-1067.
- [34] 马超, 宋鹏, 尚申申, 杨夏夏, 杨金华, 韩群威, 李记民, 冯雅岚. 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.
- MA Chao, SONG Peng, SHANG Shenshen, YANG Xiaxia,

- YANG Jinhua, HAN Qunwei, LI Jimin, FENG Yalan. Whole genome identification and analysis of *GRFs* gene family in *Brachypodium distachyon*[J]. Journal of Nuclear Agriculture, 2020, 34(6): 1152-1162.
- [35] 何龙燕,刘武阳,娄永峰,肖复明.毛竹 *GRF* 转录因子家族的全基因组鉴定与分析[J].植物科学学报,2018,36(5): 713-720.
- HE Longyan, LIU Wuyang, LOU Yongfeng, XIAO Fuming. Genome-wide identification and analysis of the *GRF* transcription factor family in moso bamboo (*Phyllostachys edulis*)[J]. Journal of Plant Science, 2018, 36(5): 713-720.
- [36] 王鹏杰,郑玉成,林滢,周珍,杨江帆,叶乃兴.茶树 *GRF* 基因家族的全基因组鉴定及表达分析[J].西北植物学报,2019,39(3): 413-421.
- WANG Pengjie, ZHENG Yucheng, LIN Yi, ZHOU Zhen, YANG Jiangfan, YE Naixing. Genome-wide identification and expression analysis of *GRF* gene family in *Camellia sinensis*[J]. Journal of Northwest Botany, 2019, 39(3): 413-421.
- [37] 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.
- [38] 李田,孙景宽,刘京涛.植物启动子研究进展[J].生物技术通报,2015,31(2): 18-25.
- LI Tian, SUN Jingkuan, LIU Jingtiao. Research advances on plant promoter[J]. Biotechnology Bulletin, 2015, 31(2): 18-25.
- [39] 翟俊淼,栾雨时,崔娟娟. miR396 基因家族的进化及功能分析[J].植物研究,2013,33(4):421-428.
- ZHAI Junmiao, LUAN Yushi, CUI Juanjuan. Evolution and function analysis of miR396 gene family[J]. Plant Research, 2013, 33(4): 421-428.
- [40] KANTAR M, LUCAS S J, BUDAK H. miRNA expression patterns of triticum dicoccoides in response to shock drought stress [J]. Planta, 2011, 233(3): 471-484.
- [41] CHANDRAN V, WANG H, GAO F, CAO X L, CHEN Y P, LI G B, ZHU Y, YANG X M, ZHANG L L, ZHAO Z X, ZZHAO J H, WANG Y G, LI S C, FAN J, LI Y, ZHAO J Z, LI S Q, WANG W M. miR396- *OsGRFs* module balances growth and rice blast disease-resistance[J]. Frontiers in Plant Science, 2019, 9: 1999-2015.
- [42] KRIZNIK M, PETEK M, DOBNIK D, RAMSAK Z, BAEBLER S, POLLMANN S, KREUZE J, ZEL J, CRUDEN K. Salicylic acid perturbs sRNA-gibberellin regulatory network in immune response of potato to *Potato virus Y* infection[J]. Frontiers in Plant Science, 2017, 8: 2192-2205.
- [43] PASHKOVSKIY P P, KARTASHOV A V, ZLOBIN I E, POGOSYAN S I, KUZNETSOV V V. Blue light alters miR167 expression and microRNA-targeted auxin response factor genes in *Arabidopsis thaliana* plants[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2016, 104: 146-154.
- [44] YU Z L, YUNL M, JIA Z, YING L, ZHEN F, LI Y B, SU Y G. Coordination between *Growth-regulating factor 1* and *GRF-interacting factor 1* plays a key role in regulating leaf growth in rice[J]. BMC Plant Biology, 2020, 20(1): 200-211.