



大豆干旱响应 GRAS 基因筛选及 *GmGRAS27* 的生物信息学和逆境表达分析

刘 薇,张彦威,王玉斌,李 伟,徐 冉,王彩洁,张礼凤

(山东省农业科学院 作物研究所/山东省特色作物工程实验室,山东 济南 250100)

摘 要:GRAS 转录因子在植物抵抗非生物胁迫过程中发挥了重要作用,为了研究大豆 GRAS 基因在干旱胁迫中的响应,以挖掘大豆 GRAS 转录因子在干旱等非生物胁迫响应中的功能和分子机制提供分子基础,本研究利用基因表达综合数据库(Gene Expression Omnibus, GEO)筛选响应干旱胁迫的大豆 GRAS 基因,利用 PlantCARE 分析其启动子中的顺式作用元件。进一步对在营养生长期(V6)和盛花期(R2)均受到干旱胁迫强烈诱导的 GRAS 基因 *GmGRAS27* 进行克隆和生物信息学分析,并采用实时荧光定量 PCR 方法分析干旱、盐和 ABA 胁迫下 *GmGRAS27* 基因的表达情况。结果显示:从大豆 117 个 GRAS 基因中筛选出 10 个响应干旱胁迫的 GRAS 基因,其启动子序列中均至少含有 1 个激素或逆境胁迫应答相关元件,*GmGRAS27* (Glyma. 06G265500) 基因的启动子同时含有 ABRE 应答元件和 MYB/MYC 结合元件。*GmGRAS27* 在 V6 和 R2 期均受到干旱胁迫的强烈诱导,其编码的蛋白质 GmGRAS27 含有典型的 GRAS 基因家族结构域,高级结构以 α -螺旋和无规则卷曲为主。实时荧光定量 PCR 分析显示 *GmGRAS27* 不仅受到干旱胁迫的强烈诱导,还受到盐胁迫和 ABA 的正向调控。推测 *GmGRAS27* 不仅是大豆干旱胁迫的重要候选基因也可能响应其他非生物胁迫。

关键词:大豆;干旱;GRAS;*GmGRAS27*;生物信息学;逆境胁迫;表达分析

Screening of Soybean Drought Responsive GRAS Genes and Bioinformatics and Adversity Stress Expression Analysis on *GmGRAS27*

LIU Wei, ZHANG Yan-wei, WANG Yu-bin, LI Wei, XU Ran, WANG Cai-jie, ZHANG Li-feng

(Crop Research Institute, Shandong Academy of Agricultural Sciences/Shandong Engineering Laboratory of Featured Crops, Ji'nan 250100, China)

Abstract: GRAS transcription factors play important roles in resisting abiotic stresses in plants. In order to study the response of GRAS genes to drought stress in soybean, and to provide a molecular basis for mining the function and molecular mechanism of soybean GRAS transcription factors in response to drought stress, we analyzed the microarray data of soybean in Gene Expression Omnibus (GEO) database to identify drought responsive GRAS genes. The *cis*-acting elements in the promoters of the drought responsive GRAS genes were analyzed by PlantCARE. Then we cloned and performed bioinformatics analysis of a GRAS gene, *GmGRAS27*, which was up-regulated by drought stress in both the vegetative stage (V6) and the full flowering stage (R2). The promoter of *GmGRAS27* (Glyma. 06g265500) gene contains both ABRE responsive element and MYB/MYC binding element. Furthermore, the expression of *GmGRAS27* under drought, salt and ABA stress was analyzed by using the qRT-PCR method. The results displayed that, in the 117 soybean GRAS genes, 10 genes responded to the drought stress. All of the ten GRAS genes were found to possess at least one stress or hormone responsive element. *GmGRAS27* was up-regulated by drought stress in both the vegetative stage (V6) and the full flowering stage (R2), and it encoded the product *GmGRAS27* containing a conserved GRAS domain. The structure of GmGRAS27 was found to be mainly composed of α -helixes and random coils. *GmGRAS27* was not only positively regulated by drought stress, but also induced by salt and ABA stress. These results suggested that *GmGRAS27* might be an important candidate gene responding to abiotic stresses in soybean.

Keywords: soybean; drought; GRAS; *GmGRAS27*; bioinformatics; adversity stress; expression analysis

作物遭受干旱胁迫时,其生长发育会受到严重的影响,造成产量的大幅度降低甚至绝收^[1-3]。因此,在地球环境不断变化的大背景下,提高作物对干旱胁迫的抵抗能力迫在眉睫。研究发现,在干旱条件下,植物体多种功能基因(如转录因子、蛋白激酶和蛋白磷酸酶等编码基因)转录水平的变化有利于提高植物的抗旱能力。在这些基因中,转录因子

能够与下游基因的启动子结合,调控靶基因的转录进而提高植物的抗旱性^[4]。在众多转录因子中,GRAS 基因家族是植物所特有的,其命名来源于该家族最先发现的 3 个成员基因:GAI (Gibberellic Acid Insensitive)、RGA (Repressor of GAI-3 mutant) 和 SCR (Scarecrow)^[5]。典型的 GRAS 蛋白在其羧基端非常保守,包括富含亮氨酸的区域 I (LHRI)、

收稿日期:2021-07-30

基金项目:山东省农业科学院农业科技创新工程(CXGC2021A30);山东省自然科学基金青年基金(ZR2020QC119);山东省农业科学院农业科技创新工程(CXGC2018E01);山东省农业良种工程(2019LZGC004)。

第一作者:刘薇(1987—),女,博士,助理研究员,主要从事大豆耐逆基因功能研究。E-mail:hnaiuw@126.com。

通讯作者:张礼凤(1972—),女,研究员,主要从事大豆耐逆基因挖掘研究。E-mail:zhanglifeng9639@sina.com。

VHIIID、富含亮氨酸的区域 II (LHRII)、PFYRE 和 SAW 5 个基序^[6]。相比于羧基端,GRAS 蛋白的氨基端保守性较低,进而赋予 GRAS 基因各种不同的功能^[7]。GRAS 基因参与植物的多种生长发育过程,例如光信号传导^[8-9]、籽粒大小^[10]、根部发育^[11]、腋芽分生组织形成^[12]及淀粉生物合成^[13]等。近年来,许多 GRAS 基因被证明参与植物的干旱胁迫响应。在拟南芥中过量表达白杨的 GRAS 基因 *PeSCL7*,植株表现出对干旱和盐胁迫更强的耐受性^[14];油菜中的 *BnLAS* 基因在拟南芥中过量表达后导致开花延迟,且植株耐旱性显著提高^[15];水稻中的 *OsGRAS23* 基因可通过降低细胞中 H_2O_2 的积累而增强植株的耐旱性^[16];番茄中的 *SlGRAS4* 基因通过直接调控 ABA 信号通路中的重要基因 *SlSnRK2.4* 来增强番茄的耐旱性^[17]。

大豆中有 117 个 GRAS 基因,生物信息分析发现这些基因被分为 11 个亚家族,且一些基因能够响应非生物胁迫^[18]。但是目前仅有 1 个 GRAS 基因 *GmGRAS37* 被克隆,其过量表达能够提高大豆的耐旱性和耐盐性^[18]。因此,相比于其他作物,已经克隆且进行功能分析的大豆 GRAS 基因很少。为了挖掘在大豆开花前后均响应干旱胁迫的 GRAS 基因,本研究通过分析 GEO (Gene Expression Omnibus) 数据库中营养生长期 (V6) 和盛花期 (R2) 受到干旱胁迫的大豆芯片数据,鉴定响应干旱胁迫的大豆 GRAS 基因,并对其中表达量变化最为明显且同时在两个时期均显著上调的基因 *GmGRAS27* 进行克隆、生物信息学分析及逆境表达分析,旨在为挖掘该家族基因在干旱等非生物胁迫响应中的功能及机制提供分子基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 植物材料 供试材料为广适大豆品种齐黄 34。

1.1.2 主要试剂 基因克隆时所用到的 PCR 酶 KOD-FX 购自东洋纺 (上海) 生物科技有限公司;植物总 RNA 提取试剂盒、胶回收试剂盒、pLB 零背景快速连接试剂盒和大肠杆菌感受态细胞购自天根生化科技 (北京) 有限公司;反转录试剂盒 (PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser) 及实时荧光定量 PCR 试剂盒 (TB Green Premix Ex Taq) 购自宝生物工程 (大连) 有限公司。

1.2 方法

1.2.1 大豆干旱胁迫响应 GRAS 基因的筛选 利用 GEO (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>) 数据

库^[19]中的芯片数据 (登录号: GSE40604) 鉴定大豆干旱胁迫响应 GRAS 基因。该芯片数据样品为在营养生长期 (V6) 和盛花期 (R2) 分别进行干旱处理后的大豆叶片。根据 GEO 数据库中的在线分析程序 GEO2R^[19] 对该芯片数据进行分析,并筛选出 P-adjust 值小于 0.01,且差异基因表达倍数值绝对值 ($|\log_2 \text{FoldChange} (\log_2 \text{FC})|$) 大于 1.5 的基因,作为差异表达基因。进一步根据上述所有差异表达基因序列对大豆基因组中的 117 个 GRAS 基因^[18]进行检索,筛选出干旱胁迫响应的 GRAS 基因。

1.2.2 干旱响应 GRAS 基因启动子顺式作用元件分析 在 Phytozome (<https://phytozome.jgi.doe.gov/pz/portal.html>) 数据库^[20]中分别提取干旱胁迫差异表达 GRAS 基因起始密码子上游 1 500 bp 序列,利用 PlantCARE (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>) 在线分析软件^[21]预测和分析基因上游序列中的顺式作用元件。利用 GSDS 2.0 (<http://gsds.cbi.pku.edu.cn>) 在线工具^[22]对关键顺式作用元件进行可视化分析。

1.2.3 *GmGRAS27* 基因克隆 利用植物总 RNA 提取试剂盒提取齐黄 34 大豆正常生长植株根部组织的 RNA,并利用反转录试剂盒反转录获得 cDNA。根据 *GmGRAS27* 基因 CDS 序列,利用 NCBI 数据库 primer-blast 工具 (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/index.cgi?LINK_LOC=BlastHome) 设计引物 *GmGRAS27*-F (5'-ATGGACTTGA-ATCAGTTTTCAAG-3') 和 *GmGRAS27*-R (5'-TCAATGCCAAGCTGAAGCTGAA-3'),以 cDNA 为模板克隆 *GmGRAS27*。PCR 程序为:94 ℃ 2 min;98 ℃ 30 s, 52 ℃ 30 s,68 ℃ 95 s,30 个循环;68 ℃ 5 min。经琼脂糖凝胶电泳检测后回收大小为 1 707 bp 的条带,利用 pLB 零背景快速克隆试剂盒将回收产物与克隆载体 pLB 连接,连接产物转化大肠杆菌感受态 DH5 α ,筛选阳性克隆,交由擎科生物科技有限公司测序。

1.2.4 *GmGRAS27* 基因基本信息分析 利用 GSDS 2.0 (<http://gsds.cbi.pku.edu.cn>) 在线工具^[22]进行 *GmGRAS27* 基因结构的可视化分析;利用 NCBI 数据库中的 CDD (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>) 工具^[23]分析 *GmGRAS27* 的保守结构域;使用 NCBI 数据库的 BLAST 工具和 DNAMAN 软件对密花豆、木豆、赤豆、菜豆、绿豆和缸豆等豆科作物 GRAS 氨基酸序列进行比对。

1.2.5 *GmGRAS27* 蛋白二级结构和三级结构预测 使用 SOPMA (<https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/>)

npsa_automat. pl? page = npsa_sopma. html) 预测 GmGRAS27 蛋白二级结构;使用 SWISSMODEL (<https://swissmodel.expasy.org/>) 进行 GmGRAS27 蛋白三级结构同源建模,并利用 SPDBV 4.10 绘制可视化结构图。

1.2.6 GmGRAS27 基因逆境表达分析 将齐黄 34 种植于人工气候箱中,待真叶完全展开后,选取整齐一致的幼苗转移至 Hogland 营养液中培养 2 d。第 3 天换新的营养液,并分别进行 PEG、ABA 和 NaCl 处理,分别加入 20% (W/V) PEG6000、100 μmol·L⁻¹ ABA 和 200 mmol·L⁻¹ NaCl,以不处理样品为对照。分别于处理 3,6,12 和 24 h 取根部组织样本,进行 3 次生物学重复。使用试剂盒分别提取各处理和对照样品的 RNA 并反转录为 cDNA,进一步进行实时荧光定量 PCR。利用 NCBI 数据库 primer-blast 工具 (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/index.cgi?LINK_LOC=BlastHome) 设计 GmGRAS27 和内参基因 GmActin 引物: qGmGRAS27-F (5'-TCCAGGGCCATGTGTTAGTT-3');

qGmGRAS27-R (5'-TGTAGCAAACCTGTCAGCAATCTT-3'); qGmActin-F (5'-CGGTG GTTCTATCTTGGCATC-3'); qGmActin-R (5'-GTCTTTTCGCTTCAATAACCCTA-3')。反应程序为 95 ℃ 30 s,95 ℃ 10 s,60 ℃ 30 s,40 个循环。

1.3 数据分析

采用 2^{-ΔΔCt} 方法^[24] 分析荧光定量 PCR 数据,并利用 SPSS 22.0 软件中的 Student's T 进行显著性分析。

2 结果与分析

2.1 大豆干旱响应 GRAS 基因筛选

如表 1 所示,大豆 117 个 GRAS 基因中有 10 个能够响应干旱胁迫。GmGRAS11、GmGRAS18、GmGRAS27、GmGRAS51、GmGRAS59、GmGRAS64、GmGRAS69、GmGRAS86 和 GmGRAS116 在 V6 期响应干旱胁迫,GmGRAS16 和 GmGRAS27 在 R2 期响应干旱胁迫。其中,GmGRAS27 的响应程度最大,且在 V6 和 R2 期均响应干旱胁迫。

表 1 响应干旱胁迫的大豆 GRAS 基因
Table 1 The soybean GRAS genes response to drought stress

基因号 Gene ID	基因名称 Gene name	时期 Period	差异表达倍数对数值 Log ₂ FoldChange	P
Glyma.03G031800	GmGRAS11	V6	-1.55	7.60E-03
Glyma.04G251900	GmGRAS18	V6	-1.99	1.31E-04
Glyma.06G265500	GmGRAS27	V6	3.47	9.60E-07
Glyma.11G096000	GmGRAS51	V6	2.29	3.57E-05
Glyma.11G138600	GmGRAS59	V6	-2.47	1.78E-05
Glyma.12G018100	GmGRAS64	V6	-2.96	2.47E-06
Glyma.12G062100	GmGRAS69	V6	-2.06	1.39E-04
Glyma.14G016000	GmGRAS86	V6	1.95	2.04E-04
Glyma.20G200500	GmGRAS116	V6	2.65	2.28E-04
Glyma.04G150500	GmGRAS16	R2	-1.54	2.86E-04
Glyma.06G265500	GmGRAS27	R2	3.68	6.84E-06

2.2 干旱响应 GRAS 基因的启动子分析

10 个大豆干旱响应 GRAS 基因的启动子区含有脱落酸应答元件(ABRE)、干旱应答元件(DRE)、参与干旱诱导的 MYB 结合位点(MBS)、MYB 结合元件(MYB)和 MYC 结合元件(MYC)等非生物胁迫应答元件。其中,9 个基因中含有 MYB 结合元件,8 个基因中含有 ABRE;1 个基因含有 DRE;2 个基因含有 MBS;8 个基因含有 MYC 结合元件。GmGRAS27 基因的启动子同时含有 ABRE 应答元件

和 MYB/MYC 结合元件(图 1)。

2.3 GmGRAS27 克隆和序列分析

从齐黄 34 中克隆出 GmGRAS27 基因,测序及序列分析显示,齐黄 34 与 Phytozome 数据库中 Willimas 82 的该基因序列完全相同。

分析结果显示,GmGRAS27 基因位于 6 号染色体,全长 3 569 bp,仅在 5' UTR 区域含有 1 个内含子(图 2A)。结构域分析显示,该基因编码蛋白的 198~567 氨基酸为 GRAS 结构域(图 2B)。



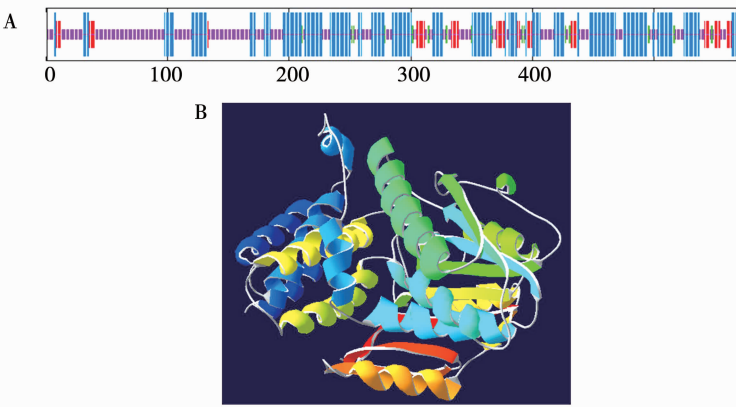
注:红色条形框代表 GRAS 结构域。
Note:The red bar represents the GRAS domain.

图 3 GmGRAS27 与其它豆科作物中 GRAS 蛋白的多序列比对
Fig. 3 The sequence alignment between GmGRAS27 and other legume GRAS proteins

2.4 GmGRAS27 蛋白质高级结构预测

GmGRAS27 蛋白的二级结构以 α -螺旋和无规则卷曲为主,占比分别为 42. 61% 和 43. 84%,同时存在延伸链和 β 转角,占比分别为 9. 51% 和 4. 05% (图 4A)。利用 Swiss Model 对 GmGRAS27 三维结

构预测结果显示,GmGRAS27 与 6kpb. 1. A 的相似性最高,为 36. 04%,以此作为模板进行同源建模的结果显示,GmGRAS27 的蛋白质三维结构以 α -螺旋和无规则卷曲为主(图 4B)。



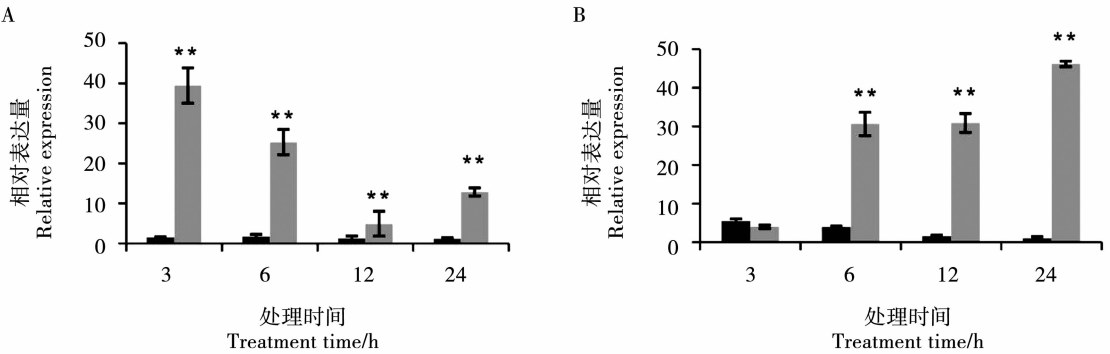
注:蓝色表示 α -螺旋;紫色表示无规则卷曲;红色表示延伸链;绿色表示 β -转角。
Note:The blue lines indicate the alpha helix; The purple lines indicate random coil; The red lines indicate the extended strand; The green lines indicate the beta turn.

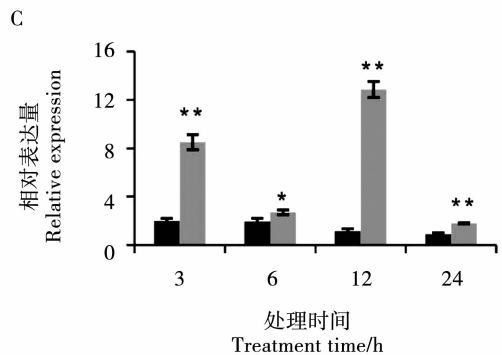
图 4 GmGRAS27 二级结构(A)和三级结构(B)预测
Fig. 4 The secondary(A) and tertiary structure(B) prediction of GmGRAS27

2.5 GmGRAS27 表达模式分析

qRT-PCR 结果显示,在 PEG 处理下,GmGRAS27 在 3,6,12 和 24 h 的表达量均显著高于对照。ABA 处理下,GmGRAS27 在 6,12 和 24 h 的表达量显著上

调。NaCl 处理下,GmGRAS27 在 3,6,12 和 24 h 的表达量均显著高于对照,且在 3 和 12 h 的表达量最高。由此可见,GmGRAS27 不仅响应干旱胁迫,还能强烈响应 ABA 信号和盐胁迫。





注: ** 表示 $P < 0.01$ 水平存在显著性差异。A. PEG; B. ABA; C. NaCl。
Note: ** indicate significant difference at $P < 0.01$ level. A. PEG; B. ABA; C. NaCl.

图 5 非生物胁迫下 *GmGRAS27* 的表达分析
Fig. 5 The expression pattern of *GmGRAS27* under abiotic stresses

3 讨论

大豆产量受到包括干旱胁迫在内的多种非生物胁迫的威胁。GRAS 转录因子在植物中广泛存在,在植物生长发育和非生物胁迫调控中发挥了重要作用。大豆中虽然鉴定了 117 个 GRAS 家族基因,但是该家族基因对非生物胁迫的响应和功能研究十分缺乏。本研究利用 GEO 公共数据库,筛选出 10 个响应干旱胁迫的大豆 GRAS 基因。启动子分析发现,这些基因几乎都至少含有 1 种激素或逆境响应元件。一些基因启动子中含有 MYB 或 MYC 转录因子结合位点,说明这些基因有可能是 MYB 或 MYC 转录因子的下游调控基因。MYB 和 MYC 转录因子在干旱胁迫的响应和抵抗过程中发挥着重要作用^[25-26],因此这些 GRAS 基因可能受到某些重要 MYB 或 MYC 转录因子的调控进而响应干旱胁迫。

本研究克隆了在营养生长期和盛花期同时响应干旱胁迫的 GRAS 基因 *GmGRAS27*。*GmGRAS27* 基因属于 PAT1 亚家族^[18],该亚家族基因曾被发现在光信号转导中发挥重要作用^[27]。近年有研究发现,陆地棉中的两个 PAT1 亚家族基因 *Gh_D01G0564* 和 *Gh_A04G0196* 能够响应冷、热、盐、PEG 多种非生物胁迫^[28];葡萄中的 PAT1 亚家族成员 *VaPAT1* 基因过表达后能够显著提高植株对冷、干旱和盐的抵抗能力^[29],该基因通过调控茉莉酸的生物合成来提高葡萄的耐冷性^[30]。因此,PAT1 亚家族基因在非生物胁迫中同样发挥了重要的作用。本研究中,PAT1 亚家族成员 *GmGRAS27* 受到 PEG 和 NaCl 的正向调控,说明 *GmGRAS27* 可同时响应干旱胁迫和盐胁迫,是研究大豆非生物胁迫响应的重要候选基因。

脱落酸在植物生长发育中至关重要,在整合各

种胁迫信号和控制下游胁迫反应方面发挥着重要作用,各种胁迫均诱导植物 ABA 的合成^[31]。*GmGRAS27* 的启动子中含有脱落酸应答元件,且实时荧光定量 PCR 显示 ABA 处理后 *GmGRAS27* 的表达量显著上升。说明 *GmGRAS27* 受到 ABA 的正向调控,可能参与 ABA 的信号转导途径。后续需要进行以下两方面的研究:构建 *GmGRAS27* 的过量表达载体进行大豆的遗传转化,进一步验证其功能;重点探讨 *GmGRAS27* 与 ABA 合成途径的关系,探讨其参与非生物胁迫的信号通路。

4 结论

本研究通过分析干旱处理下大豆的芯片数据,鉴定了 10 个响应干旱胁迫的大豆 GRAS 基因,*GmGRAS27* (Glyma. 06G265500) 在 V6 和 R2 期均能响应干旱胁迫,其启动子中含有 ABRE 应答元件和 MYB/MYC 结合元件。本研究对该基因进行克隆和结构分析,该基因含有典型的 GRAS 结构域,其高级结构主要由以 α -螺旋和无规则卷曲为主。实时荧光定量 PCR 分析显示 *GmGRAS27* 不仅受到干旱胁迫的强烈诱导,还受到盐胁迫和 ABA 的正向调控,推测 *GmGRAS27* 可能是大豆非生物胁迫响应的重要候选基因。

参考文献

[1] 崔维佳,常志云,李宁. 干旱胁迫对大豆生理生态及产量的影响[J]. 水资源与水工程学报, 2013, 24(4): 20-24. (CUI W J, CHANG Z Y, LI N. Effect of drought stress on physiology ecology and yield of soybean[J]. Journal of Water Resources and Water Engineering, 2013, 24(4): 20-24.)

[2] LE D T, NISHIYAMA R, WATANABE Y, et al. Differential gene expression in soybean leaf tissues at late developmental stages under drought stress revealed by genome-wide transcriptome analysis[J]. PLoS One, 2012, 7(11): e49522.

[3] FAROOQ M, WAHID A, KOBAYASHI N, et al. Plant drought

- stress: Effects, mechanisms and management [J]. Sustainable Agriculture, 2009, 29(1): 153-188.
- [4] CHINNUSAMY V, SCHUMAKER K, ZHU J K. Molecular genetic perspectives on cross-talk and specificity in abiotic stress signalling in plants[J]. Journal of Experimental Botany, 2004, 55(395): 225-236.
 - [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] BOLLE C. The role of GRAS proteins in plant signal transduction and development[J]. Planta, 2004, 218(5): 683-692.
 - [7] SUN X, XUE B, JONES W T, et al. A functionally required unfoldome from the plant kingdom: Intrinsically disordered N-terminal domains of GRAS proteins are involved in molecular recognition during plant development [J]. Plant Molecular Biology, 2011, 77(3): 205-223.
 - [8] TORRES-GALEA P, HUANG L F, CHUA N H, et al. The GRAS protein SCL13 is a positive regulator of phytochrome-dependent red light signaling, but can also modulate phytochrome A responses [J]. Molecular Genetics and Genomics, 2006, 276(1): 13-30.
 - [9] TORRES-GALEA P, HIRTREITER B, BOLLE C. Two GRAS proteins, SCARECROW-LIKE21 and PHYTOCHROME A SIGNAL TRANSDUCTION1, function cooperatively in phytochrome A signal transduction[J]. Plant Physiology, 2013, 161(1): 291-304.
 - [10] SUN L, LI X, FU Y, et al. GS6, a member of the GRAS gene family, negatively regulates grain size in rice [J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2013, 55(10): 938-949.
 - [11] HEO J O, CHANG K S, KIM I A, et al. Funneling of gibberellin signaling by the GRAS transcription regulator scarecrow-like 3 in the *Arabidopsis* root[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2011, 108(5): 2166-2171.
 - [12] WANG L, MAI Y X, ZHANG Y C, et al. MicroRNA171c-targeted *SCL6-II*, *SCL6-III*, and *SCL6-IV* genes regulate shoot branching in *Arabidopsis*[J]. Molecular Plant, 2010, 3(5): 794-806.
 - [13] CAI H, CHEN Y, ZHANG M, et al. A novel GRAS transcription factor, ZmGRAS20, regulates starch biosynthesis in rice endosperm[J]. Physiology and Molecular Biology of Plants, 2017, 23(1): 143-154.
 - [14] 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.
 - [15] YANG M, YANG Q, FU T, et al. Overexpression of the *Brassica napus* *BnLAS* gene in *Arabidopsis* affects plant development and increases drought tolerance [J]. Plant Cell Reports, 2011, 30(3): 373-388.
 - [16] XU K, CHEN S, LI T, et al. *OsGRAS23*, a rice GRAS transcription factor gene, is involved in drought stress response through regulating expression of stress-responsive genes[J]. BMC Plant Biology, 2015, 15(1): 1-13.
 - [17] LIU Y, WEN L, SHI Y, et al. Stress-responsive tomato gene *SIGRAS4* function in drought stress and abscisic acid signaling[J]. Plant Science, 2021, 304: 110804.
 - [18] 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.
 - [19] BARRETT T, WILHITE S E, LEDOUX P, et al. NCBI GEO: Archive for functional genomics data sets-update [J]. Nucleic Acids Research, 2012, 41(D1): D991-D995.
 - [20] GOODSTEIN D M, SHU S, HOWSON R, et al. Phytozome: A comparative platform for green plant genomics[J]. Nucleic Acids Research, 2012, 40(D1): D1178-D1186.
 - [21] LESCOT M, DÉHAIS P, THIJS G, et al. PlantCARE, a database of plant *cis*-acting regulatory elements and a portal to tools for in silico analysis of promoter sequences [J]. Nucleic Acids Research, 2002, 30(1): 325-327.
 - [22] HU B, JIN J, GUO A Y, et al. GSDB 2.0: An upgraded gene feature visualization server[J]. Bioinformatics, 2015, 31(8): 1296-1297.
 - [23] MARCHLER-BAUER A, LU S, ANDERSON J B, et al. CDD: A conserved domain database for the functional annotation of proteins [J]. Nucleic Acids Research, 2010, 39(S1): D225-D229.
 - [24] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method[J]. Methods, 2001, 25(4): 402-408.
 - [25] ABE H, YAMAGUCHI-SHINOZAKI K, URAO T, et al. Role of *Arabidopsis* MYC and MYB homologs in drought- and abscisic acid-regulated gene expression [J]. The Plant Cell, 1997, 9(10): 1859-1868.
 - [26] BALDONI E, GENGA A, COMINELLI E. Plant MYB transcription factors: Their role in drought response mechanisms[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2015, 16(7): 15811-15851.
 - [27] BOLLE C, KONCZ C, CHUA N H. PAT1, a new member of the GRAS family, is involved in phytochrome A signal transduction [J]. Genes & Development, 2000, 14(10): 1269-1278.
 - [28] 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): 1-12.
 - [29] YUAN Y, FANG L, 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.
 - [30] WANG Z, WONG D C J, WANG Y, et al. GRAS-domain transcription factor PAT1 regulates jasmonic acid biosynthesis in grape cold stress response[J]. Plant Physiology, 2021, 186(3): 1660-1678.
 - [31] TUTEJA N. Abscisic acid and abiotic stress signaling[J]. Plant Signaling & Behavior, 2007, 2(3): 135-138.