

桑树 GASA 基因家族全基因组鉴定及表达模式分析

皇晶晶¹, 王树昌^{2,3}, 林培群^{2,3}, 娄德钊^{2,3}, 耿涛^{2,3}, 武华周^{1,2,3*}, 余文刚^{1*}

1. 海南大学热带农林学院, 海南海口 570228; 2. 热带作物生物育种全国重点实验室, 海南三亚 572024; 3. 中国热带农业科学院环境与植物保护研究所/农业农村部热带作物有害生物综合治理重点实验室/海南省热带农业有害生物监测与控制重点实验室, 海南海口 571101

摘要: GASA (gibberellic acid-stimulated *Arabidopsis*) 是植物体内广泛存在的小分子多肽, 在植物生长发育等过程中起重要作用, 尤其在桑树芽休眠调控方面具有潜在价值, 但目前对桑树中 *MaGASA* 基因在芽休眠过程中的功能了解有限。本研究旨在鉴定桑树 GASA 基因家族成员, 解析其在芽休眠中的作用。采用生物信息学方法鉴定 GASA 成员, 并分析其理化性质等特征, 同时利用实时荧光定量 PCR 和转录组数据分析其表达模式。结果表明: 在桑树中存在 12 个 *MaGASA* 家族成员 (*MaGASA1*~*MaGASA12*), 分布在 8 条染色体上; 成员间酸碱存在差异、亲水性平均系数有正有负, 但均含 GASA 保守结构域; 进化树显示其与桃具有较近的亲缘关系; 共线性分析显示, 在 *MaGASA* 基因家族中存在 3 条共线性关系; *MaGASAs* 启动子区域含响应光照、低温及多种激素的顺式作用元件; *MaGASA* 家族成员具有组织和品种特异性, 其中 *MaGASA12* 在桑芽中的表达量显著高于其他部位; 转录组分析表明, 在解除休眠过程中, *MaGASA12* 表达量显著降低, 推测该基因是桑树芽解除休眠的负调控基因; 而 *MaGASA10* 表达量急剧上调, 推测该基因可能是桑芽解除休眠的关键基因。通过实时荧光定量 PCR 技术对 *MaGASA10* 和 *MaGASA12* 在不同休眠阶段的样本表达量进行检测, 结果进一步验证了转录组分析的结论, 表明 *MaGASA10* 和 *MaGASA12* 可能与桑属冬芽休眠过程相关。研究结果为桑树 *MaGASA* 生物功能的深入研究及遗传育种提供理论参考。

关键词: 桑树; GASA 基因家族; 休眠解除; 生物信息学; 转录组

中图分类号: S888.2 文献标志码: A

Genome-wide Identification and Expression Pattern Analysis of the GASA Gene Family in Mulberry

HUANG Jingjing¹, WANG Shuchang^{2,3}, LIN Peiqun^{2,3}, LOU Dezhao^{2,3}, GENG Tao^{2,3}, WU Huazhou^{1,2,3*}, YU Wengang^{1*}

1. School of Tropical Agriculture and Forestry, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China; 2. National Key Laboratory for Tropical Crop Bio-breeding, Sanya, Hainan 572024, China; 3. Environment and Plant Protection Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences / Key Laboratory of Integrated Pest Management of Tropical Crops, Ministry of Agriculture and Rural Affairs / Hainan Key Laboratory of Monitoring and Control of Tropical Agricultural Pests, Haikou, Hainan 571101, China

Abstract: GASA (gibberellic acid-stimulated *Arabidopsis*) is a small molecule polypeptide widely presented in plants, playing an important role in plant growth and development processes. It has potential value especially in the regulation of mulberry bud dormancy. However, currently, the understanding of the functions of *MaGASA* genes in mulberry during the bud dormancy process is limited. The study aimed to identify the members of the mulberry GASA gene family and analyze the roles in bud dormancy. Bioinformatics methods were used to identify the members and analyze the physicochemical properties and other characteristics. Meanwhile, real-time fluorescence quantitative PCR and transcriptome data were utilized to analyze the expression patterns. The results showed that there were 12 *MaGASA* family members

收稿日期 2025-02-06; 接受日期 2025-02-27

基金项目 热带作物生物育种全国重点实验室科研项目 (No. NKLTBCBXTD15); 国家蚕桑产业技术体系项目 (No. CARS-18); 海南省自然科学基金项目 (No. 321QN293)。

作者简介 皇晶晶 (1999—), 女, 硕士, 研究方向: 桑基础应用。*通信作者 (Corresponding author): 余文刚 (YU Wengang), E-mail: 185606978@qq.com; 武华周 (WU Huazhou), E-mail: wuhuazhouaa@catas.cn。

(*MaGASA1-MaGASA12*) in mulberry, which were distributed on eight chromosomes. There were differences in acidity and alkalinity among the members, and the average hydrophilicity coefficients were positive or negative, but all contained the GASA conserved domain. The phylogenetic tree showed that they had a close genetic relationship with peach. Collinearity analysis revealed that there were three collinear relationships in the *MaGASA* gene family. The promoter regions of *MaGASAs* contained cis-acting elements that respond to light, low temperature, and various hormones. The *MaGASA* family members showed tissue-variety specific expression. Among them, the expression level of *MaGASA12* in mulberry buds was significantly higher than that in other parts. Transcriptome analysis indicated that the expression level of *MaGASA12* decreased significantly during the dormancy breaking process, while the expression level of *MaGASA10* increased sharply during the dormancy breaking process. The expression levels of *MaGASA10* and *MaGASA12* at different dormancy stages were detected by real-time fluorescence quantitative PCR technology, and the results further verified the conclusions of the transcriptome analysis, indicating that they may be related to the winter bud dormancy process of *Morus*. The research results would provide a theoretical reference for the in-depth study of the biological functions of *MaGASA* in mulberry and genetic breeding.

Keywords: *Morus* sp.; GASA gene family; dormancy release; bioinformatics; transcriptome

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2025.06.007

GASA (gibberellic acid-stimulated *Arabidopsis*) 基因家族最初在拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 中被发现, 现已在多种植物中被鉴定, 包括番茄 (*Lycopersicon esculentum*)、马铃薯 (*Solanum tuberosum*)、葡萄 (*Vitis vinifera*) 和桃 (*Prunus persica*) 等^[1-4]。该家族编码的富含半胱氨酸的小分子蛋白质主要定位于细胞壁, 在植物的生长发育、激素信号转导以及生物和非生物胁迫响应等过程中发挥重要作用^[5]。

GASA 基因家族参与作物生长和发育过程的调节, 包括茎伸长^[6]、成花诱导^[5]、种子萌发^[7]、侧根形成^[8]和果实发育^[9]。还与多种植物激素关系极为密切, 尤其是与赤霉素 (GA)、脱落酸 (ABA) 共同构成了复杂的激素调控网络^[10]。例如, 拟南芥中的 *GASA4* 和 *GASA6* 通过调节活性氧 (ROS) 水平和氧化还原状态来促进种子萌发和茎伸长^[6]。在葡萄和桃树中, GASA 基因家族成员对激素的响应会因植物的发育阶段以及组织类型的不同而表现出差异^[4, 7]。

赤霉素是一类四环二萜类植物激素, 在种子萌发、细胞伸长和细胞分裂等多个植物生长发育过程及逆境胁迫响应中发挥重要功能^[11-12]。外源 GA4 处理能够加速青梅 (*Prunus mume*) 休眠的解除, 而在葡萄藤的芽休眠解除期间检测到 GA1 的增加^[13-14]。因此, GA 参与果树冬芽休眠解除, 具有正向作用^[13-14]。而 GASA 基因家族作为 DELLA 蛋白下游的重要靶基因, 与赤霉素信号传导路径紧密相连, 极有可能在植物的休眠起始、维持以及解除等过程中发挥着至关重要的功能^[11]。

桑树 (*Morus* sp.) 不仅是传统养蚕业的主要

饲料来源, 同时也是药食同源的重要植物资源, 具有极高的经济价值和生态价值。随着“北桑南移”“立桑为业, 多元发展”的产业结构调整, 果桑在乡村振兴和人们健康食品来源中发挥重要作用, 但随着全球温度升高和产业南移, 低温不足引起的冬芽萌芽率低和不整齐成为果桑产业发展的主要障碍之一。前期研究发现, 引种至热带地区的桑树无法正常萌发, 利用单氰胺涂抹休眠芽可以使其在同一时间萌芽并结果^[15]。已有研究表明, 桑树的 DAM 基因、ABA 合成与分解相关基因等具有调控桑树休眠的功能^[16-17]。然而, 可能参与休眠调控的 GASA 基因在桑树中仍未被鉴定和分析。这限制了我们在桑树品种改良中充分利用 GASA 基因的潜力——即通过调控其表达、挖掘功能等方式, 来提升桑树抗逆性、改善桑叶品质及优化休眠特性等重要农艺性状。因此, 本研究在全基因组范围内对桑树 *MaGASA* 家族成员进行鉴定, 对其基因和蛋白结构、蛋白特性、系统进化关系、启动子顺式作用元件等进行分析, 并探究 *MaGASA* 基因家族在不同组织、不同品种以及单氰胺处理桑芽解除休眠过程中的表达模式, 探讨桑树 *MaGASA* 基因家族可能的生物学功能, 旨在为后续深入研究桑树 *MaGASA* 基因家族在冬芽休眠中的功能提供参考, 同时为桑树分子育种提供候选基因及分子理论基础。

1 材料与方法

1.1 桑树 GASA 家族基因成员鉴定

基于 NCBI 官网 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 获取的桑树基因组数据, 使用 hmmer 软件

鉴定基因家族。在 InterPro 数据库 (<https://www.ebi.ac.uk/interpro/>) 直接搜索关键词, 得到相应的 pfam 号 (PF03106), 下载 hmm 文件。用 hmmsearch 工具鉴定基因家族, 提取结构域序列后截取结构域, 使用 muscle 工具对结构域进行比对后建立物种特异性 hmm 模型, 再次搜索。筛选 hmmsearch 结果中 $E\text{-value} < 0.001$ 的记录。获得初步基因家族的基因列表, 利用 seqkit 软件得到对应基因的蛋白序列, 通过在线数据库确认结构域是否存在, 同时确认结构域长度。最后共鉴定出 12 个桑树 GASA 基因。

1.2 桑树总 RNA 提取及基因全长的获得

取桑树品种四季果 72 的茎、叶、果、芽不同部位, 四季果 72、大十、拐桑等 12 个桑树品种的休眠芽, 以及单氰胺处理 0、72、120、168、216 h 的无籽大 10 的休眠芽, 每个样品设置 3 个重复, 液氮研磨后使用 CTAB 法分别提取 RNA, 利用 HiScript III RT SuperMix for qPCR (+gDNA wiper) 反转录得到 cDNA。

1.3 桑树 GASA 家族成员理化性质分析

利用 TBtools 软件对得到的蛋白序列文件进行理化性质分析, 得到 GASA 基因家族中 12 个基因的氨基酸、理论等电点及分子量等信息。

1.4 桑树 GASA 家族成员的染色体定位

从数据库中得到 GASA 家族成员的染色体位置信息, 利用 MapChart 软件 (<https://www.wur.nl/en/show/Mapchart.htm>) 绘制 GASA 在染色体中的位置。

1.5 桑树 GASA 蛋白进化树分析

采用邻接法 (neighbor-joining, NJ), 使用 MEGA 软件构建桑树、拟南芥、杨树、桃、葡萄 GASA 蛋白家族的系统进化树, 检验参数 bootstrap 重复为 1000 次, 其他参数均为默认值。

1.6 桑树 GASA 基因启动子顺式作用元件分析

利用 NCBI 网站获得 GASA 家族各成员起始密码子上游 2000 bp 的序列, 将获得的序列提交至 Plant Care 网站 (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>) 进行顺式作用元件预测。

1.7 桑树 GASA 家族结构域及保守 motif 分析

利用 MEME、GSDS 2.0 (<http://gsds.gao-lab.org/>) 在线工具分析桑树 GASA 家族结构域及保守 motif。

1.8 桑树 GASA 蛋白理化性质及结构分析

分别利用 SOPMA (https://npsa.lyon.inserm.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=/NPSA/npsa_sopma.html) 及 swiss-model 在线工具 (<https://swissmodel.expasy.org/>) 预测 GASA 蛋白的二级结构和三级结构。

1.9 转录组数据的获得

试验采样前 1 d, 对桑树田进行漫灌, 直至土壤充分湿润, 表面可见少量积水。选择桑树品种大十树龄一致的 12 株植株作为试材, 每株植株选取 6 根生长状况相近的枝条, 先取各枝条上的休眠芽作为 0 h (CK0h) 的样本, 采后迅速置于液氮中保存; 然后将每株植株的 6 根枝条平均分为 2 组, 其中 3 根枝条使用 2% 单氰胺溶液均匀涂抹休眠芽, 其余 3 根枝条使用等量的清水进行涂抹。涂抹处理后, 分别在 72、120、216 h, 从各处理组的枝条上采集休眠芽样本。用清水处理分别为 CK72h、CK120h、CK216h, 单氰胺溶液处理分别为 HC72h、HC120h、HC216h。样本采集后, 在液氮环境下迅速进行研磨, 样品送至武汉迈维代谢生物科技股份有限公司进行转录组检测。

1.10 桑树 GASA 基因的表达分析

根据 GASA 各基因序列, 设计特异定量引物 (表 1), 利用南京诺唯赞生物科技股份有限公司的定量试剂盒 (ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix), 每个样品设置 3 个重复, 参照说明书进行 GASA 的特异扩增, 以桑树的 Actin 基因作为内参, 使用荧光定量 PCR 仪 (Thermo Fisher Scientific) 扩增。反应程序: 95 °C 预变性 15 min; 95 °C 变性 10 s, 60 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 30 s, 40 个循环。采用 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 进行数据分析, 并使用 IBM SPSS Statistics 27 软件进行差异显著性分析, 利用 origin 2021 软件作图。

2 结果与分析

2.1 桑树 GASA 家族成员理化性质分析以及染色体定位

在 InterPro 网站下载 hmm 模型, 使用 hmmsearch 工具鉴定基因家族, 通过 2 次比对, 筛选到桑树 12 个 GASA 基因家族成员, 使用 TBtools 软件进行理化性质分析。根据 chr1~chr14 染色体从上到下的位置, 将其命名为 MaGASA1~MaGASA12。从表 2 中可以看出, GASA 基因家

表 1 RT-qPCR 引物
Tab. 1 Primers for RT-qPCR

引物 Primer	正向引物 (5'-3') Forward primer (5'-3')	反向引物 (5'-3') Reverse primer (5'-3')	扩增片段长度 Amplicon size/bp
MaGASA1	CTTCCCAAGAGTGCCCA	ATGTGCCTGAGGGAACGC	134
MaGASA2	AGGTGCTCGAACACGCAA	GTCCCTGGAGGCACACAC	86
MaGASA3	GTGCCTCGCTCTGCAAT	TTGGTTACCGGCTGTCCC	81
MaGASA4	CCTCCGAATCCACTGCGG	AGCTTTGGCCTCGACGAC	80
MaGASA5	TCAGTGCGTTCCTTCTGGG	GGCACTTGGATTGGCCCT	88
MaGASA6	CTGCCAGAAGTGTGCGC	TGGGGCCTCCTCTCTTGG	107
MaGASA7	CGAGCAATGCATGTGCGT	aaGGGCACTTGGGTTTGC	103
MaGASA8	TGCACAAGGAGATGCAGCA	AGGGGCACACAGCTTTGT	121
MaGASA9	CCAGCAGCTCCTGTGGTC	CCACAGGAGCTGTCGGTG	135
MaGASA10	CTCACGGGCATGGAGGTC	TGCAGCACTTCTGGCAGA	147
MaGASA11	CCGTGGTCGTGGAAAGCT	CGCAGAGACATTGGCGC	125
MaGASA12	ATGTGGGACGTGCTGCAA	GCACTTGGGTCTGTTGCC	115
Actin	GAGGGCCGTGTCCCCAGCATCGTC	TCTTTTGATTGAGCCTCATCCCT	106

表 2 桑树 GASA 蛋白基本理化性质
Tab. 2 Properties of MaGASA proteins

基因名称 Gene name	基因编号 Gene ID	氨基酸数量 Number of amino acid	分子量 Molecular weight/kD	理论等电点 Theoretical pI	不稳定指数 Instability index	脂肪族指数 Aliphatic index	亲水性平均系数 Grand average of hydropathicity
MaGASA1	ZZB_Hap1.002816	126	14 163.20	5.02	60.15	83.65	-0.103
MaGASA2	ZZB_Hap1.003443	118	13 090.17	9.17	45.93	43.81	-0.447
MaGASA3	ZZB_Hap1.007998	87	9232.87	8.66	31.90	90.69	0.141
MaGASA4	ZZB_Hap1.007999	116	12 321.33	7.46	59.49	75.78	0.030
MaGASA5	ZZB_Hap1.008472	87	9518.28	8.82	35.55	64.94	-0.075
MaGASA6	ZZB_Hap1.009540	113	12 616.03	9.48	44.34	62.21	-0.254
MaGASA7	ZZB_Hap1.012313	91	10 165.04	9.01	45.01	41.87	-0.224
MaGASA8	ZZB_Hap1.013913	104	11 670.93	9.16	44.29	58.17	-0.199
MaGASA9	ZZB_Hap1.016708	272	28 043.82	10.10	65.11	75.81	-0.062
MaGASA10	ZZB_Hap1.016871	108	12 026.18	9.33	37.21	42.50	-0.301
MaGASA11	ZZB_Hap1.018078	97	10 806.96	9.52	32.20	63.40	-0.231
MaGASA12	ZZB_Hap1.023059	107	11 835.94	8.86	46.95	73.74	-0.218

族成员间氨基酸数量与分子量存在明显差异，氨基酸数从 87~272 不等，分子量相应地在 9232.87~28 043.82 kD 之间变化，暗示其功能多样性。理论等电点范围为 5.02~10.10，MaGASA1 等电点为 5.02，呈酸性，MaGASA9 等电点为 10.10，呈碱性，其余成员的等电点分布在二者之间，显示出成员酸碱性质的差异。不稳定指数高低有别，高指数成员 MaGASA1（60.15）可能更易降解，低指数成员则相对稳定，不稳定指数较高的成员可能在体内更容易降解，其半衰期较短，可能需要更频繁地合成来维持其功能；而不稳定指数低的成员相对更稳定，可能在细胞内长期存在并持续发挥作用。脂肪族指数的差异意味着热稳定

性和柔韧性不同。亲水性平均系数反映了成员的亲疏水特性，有正有负，MaGASA3 的亲水性平均系数为 0.141，相对疏水，MaGASA2 为-0.447，相对亲水。亲水性强的可能更多存在于细胞质等水环境，疏水性稍强的可能与细胞膜等疏水结构关联更紧密。

通过 NCBI 检索得到 GASA 基因家族成员在染色体中的起始位置和基因长度，并利用 Map Chart 软件绘制染色体分布图（图 1）。与苹果^[18]、大豆^[19]及葛苣^[20]类似，GASA 基因在桑树 14 条染色体上分布不均匀。发现 GASA 基因家族成员分别分布于 2 号、3 号、5 号、6 号、7 号、8 号、10 号、14 号等 8 条染色体上；MaGASA1、

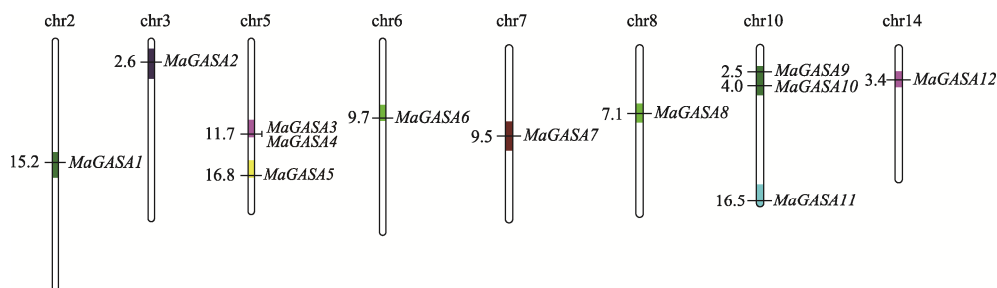


图 1 桑树 GASA 基因家族在染色体上的分布

Fig. 1 Distribution of GASA gene family on chromosomes in mulberry

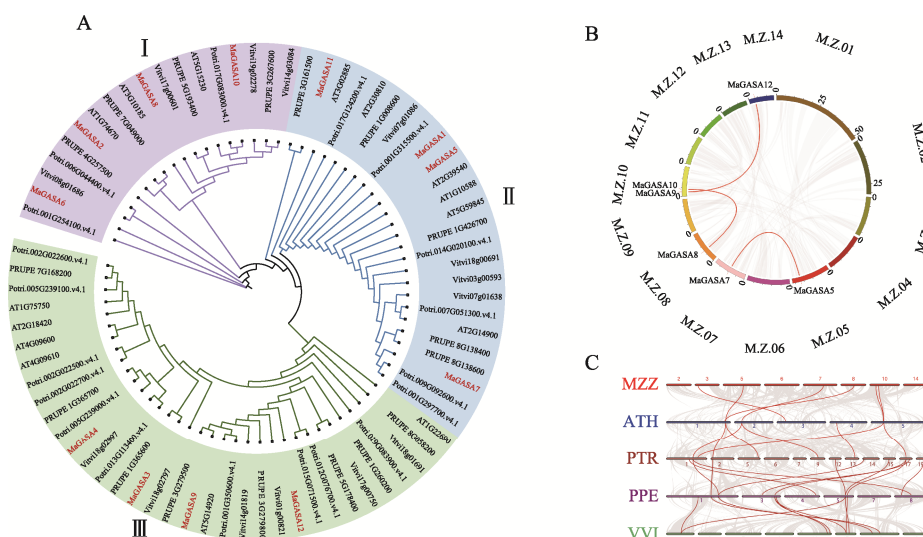
MaGASA7、*MaGASA3*、*MaGASA4* 位于染色体中位区, 其中 *MaGASA3*、*MaGASA4* 可能属于大片段复制基因对; *MaGASA2*、*MaGASA8*、*MaGASA6*、*MaGASA9*、*MaGASA10*、*MaGASA12* 位于染色体上端, 其中 *MaGASA9* 和 *MaGASA10* 基因不仅处于同一染色体上, 且二者距离很近, 这种紧密的毗邻关系强烈暗示它们构成了基因簇; *MaGASA5*、*MaGASA11* 位于染色体下端。

2.2 不同物种 GASA 基因家族进化树分析及基因复制

对拟南芥、桃、葡萄、毛果杨和桑树共计 77 个 GASA 蛋白进行进化树分析。根据序列相似性聚类, 系统发育关系可分为 3 类: I 类 (18 个基因)、II 类 (25 个基因)、III 类 (34 个基因)。系统进化树显示, 桑树与桃出现了相对频繁的基因共支特征。具体表现为: *MaGASA11* 和桃的 *PRUPE 3G161500* 处于同一分支, *MaGASA9* 与 *PRUPE*

3G279500 在另一分支上汇聚, *MaGASA3* 与 *PRUPE 1G365600* 也在另一分支上汇聚 (图 2A)。鉴于这些基因在进化树上的紧密聚类, 从进化角度推测, 这些处于同一分支的基因很可能具有相似的功能。与本研究所选的其他物种相比, 桑树与桃相关基因的共支情况表明, 这可能是由于二者都是蔷薇目植物, 也暗示了二者在这些基因所代表的遗传层面上拥有比本研究所选其他物种更近的亲缘关系以及更为相似的亲缘演变轨迹。这意味着在漫长的进化历程中, 这 2 个物种在这些基因相关的遗传信息传递与演化上, 可能经历了较为相似的选择压力和遗传漂变过程。

基因复制驱动着基因组和遗传系统的进化, 并促成了基因家族中基因结构和功能的多样性。*MaGASA* 基因的 3 个全基因组重复 (WGD) 对 (*MaGASA5/7*、*MaGASA8/10* 和 *MaGASA9/12*) 分布在 5 条染色体上 (图 2B)。



A: 桑树 GASA 基因家族蛋白系统进化树, Potri 为杨树基因, Vitvi 为葡萄基因, PRUPE 为桃基因; B: 桑树基因加倍分析图;

C: 多物种共线性图, MZZ 为桑树, ATH 为拟南芥, PTR 为毛果杨, PPE 为桃, VVI 为葡萄。

A: Phylogenetic tree of GASA gene family proteins on chromosomes in mulberry, Potri indicates *Populus trichocarpa*, Vitvi indicates *Vitis vinifera*, PRUPE indicates *Prunus persica*; B: Diagram of gene duplication analysis in mulberry; C: Collinearity map of multiple species, MZZ indicates *Morus* sp., ATH indicates *A. thaliana*, PTR indicates *P. trichocarpa*, PPE indicates *P. persica*, and VVI indicates *V. vinifera*.

图 2 多个物种与桑树的系统进化树、基因加倍以及共线性图

Fig. 2 Phylogenetic tree, gene duplication and collinearity map of multiple species and mulberry

通过创建多个物种共线性图揭示 *MaGASA* 基因与拟南芥、毛果杨、桃和葡萄的进化关系 (图 2C)。共线性分析显示, *MaGASA* 基因的多个拷贝存在于其他物种中, 其中在桑树基因组中发现了 6 个拷贝, 在拟南芥基因组中发现了 7 个拷贝, 在毛果杨基因组中发现了 11 个拷贝, 桃基因组中发现了 7 个拷贝。这表明不同物种间 *MaGASA* 基因拷贝数的差异可能反映了它们在进化历程中经历了不同的选择压力和基因复制事件。桑树、拟南芥、毛果杨、桃以及葡萄中拷贝数的不同或许暗示着该基因在各物种中的功能分化和适应性变化。特别是桑树的 6 个拷贝中有 3 个在 5 个物种中均存在同源基因, 这可能代表着这些拷贝在物种进化过程中具有相对保守的功能和重要的生物学意义。

2.3 桑树 GASA 基因结构域及蛋白保守 motif 分析

保守 motif 的存在可以进一步用于对基因家族进行分类。在桑树 *MaGASA* 基因结构域及蛋白保守 motif 分析中, 由于 motif 1 普遍存在于所有 *MaGASA* 基因中, 推测 motif 1 所对应的氨基酸序列可能执行 GASA 基因家族最基础和保守的功能; motif 2 和 motif 4 在除 *MaGASA1* 之外的所有基因中发现; 而 motif 9 仅在 *MaGASA2* 和 *MaGASA7* 中存在 (图 3), 说明这 2 个基因在功能上可能存在紧密联系, 拥有一些区别于其他成员的特殊功能, 或许与特定的生理过程或细胞环境响应有关。含相同保守 motif 的蛋白, 或形成相似结构域, 具备相似功能, 参与类似生化反应或信号通路^[21]。例如, motif 6 和 motif 8 在 *MaGASA1* 和 *MaGASA2* 中被发现, 可能表明这 2 个基因在结构和功能上具有相似性。根据 motif 的分布和差异, 进一步推测基因家族内不同亚组的 motif 差异可能导致它们在生物学功能上的多样性。这与已有研究一致, 已有研究表明, 具有相同 motif 的基因在同一亚组内可能执行相似的功能, 而不同亚组之间的 motif 差异可能使其具有不同的功能^[22]。motif 3 仅存在于 *MaGASA9*, 这暗示 *MaGASA9* 可能在进化过程中获得了独特的功能, 与其他家族成员有所差异。值得注意的是, 4 个 *MaGASA* 家族蛋白成员同时含有 4 个 motif, 这些 motif 可能共同构成特定的蛋白结构域。结构域往往具有特定的空间结构和功能, 推测这些蛋白在结构上具有相似

性, 可能在细胞内参与类似的生化反应或信号通路^[23]。不同的 motif 组合可能决定了 *MaGASA* 蛋白与其他蛋白之间的相互作用特异性, 不同 motif 组合的蛋白与另一组蛋白相互作用, 从而构建起复杂的细胞内相互作用网络, 共同调控生物学过程。这类似于拟南芥中 fruitfull (*ful*) 亚家族的 MADS 结构域转录因子通过一个关键的氨基酸 motif 决定其与 *agamous* 和 *sepallata* 蛋白的相互作用特异性^[24]。

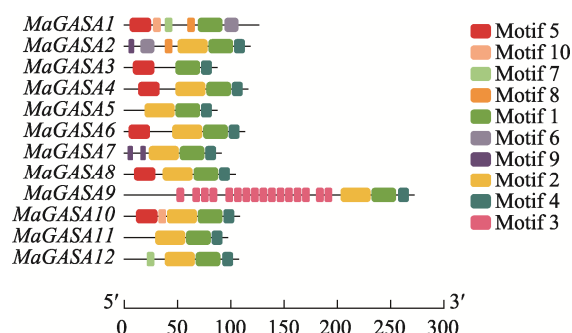


图 3 *MaGASA* 基因的保守 motif
Fig. 3 Conserved motifs of *MaGASA* genes

2.4 桑树 GASA 基因启动子顺式作用元件分析

基因的转录表达高度依赖于该基因的上游启动子区, 选取 *MaGASA* 上游 2000 bp 序列作为启动子, 分析其顺式作用元件。结果显示, 12 个 *MaGASA* 基因启动子区包含多种顺式作用元件 (表 3)。选取与桑树休眠现象相关的激素类顺式作用元件作为研究对象, 发现其中含有脱落酸响应元件 (ABRE、ABRE2、ABRE3a、ABRE4)、赤霉素响应元件 (GARE-motif、P-box)、乙烯响应元件 (ERE), 以及其他参与植物激素信号转导的一类顺式作用元件 (TGA-box、TGACG-motif)。此外, 还发现了与桑树休眠相关的低温响应元件 (LTR)、光响应元件 (TCT-motif), 这和其他物种中 GASA 基因启动子中顺式作用元件基本一致^[25]。GASA 基因启动子上的顺式作用元件分析表明, 桑树可能经过低温春化后, 通过调控激素相关作用元件, 特别是赤霉素响应元件, 使桑芽萌动伸长。通过进一步研究, 如使用 CRISPR/Cas 基因组编辑系统和过表达等手段, 可以阐明这些顺式调节元件的作用^[26]。

2.5 *MaGASA* 蛋白的二级和三级结构预测

蛋白质的三级结构有助于蛋白质功能的准确表征^[27]。基于对 *MaGASA* 基因家族的二级空间

表 3 MaGASA 基因家族顺式作用元件分析
Tab. 3 Cis-acting elements of MaGASA gene family

基因 Gene	顺式作用元件数量 Number of cis acting components										
	ABRE	ABRE2	ABRE3a	ABRE4	GARE-motif	ERE	LTR	P-box	TCT-motif	TGA-box	TGACG-motif
MaGASA1	3					7	1		1		1
MaGASA2					1				1		1
MaGASA3	2						1		2		
MaGASA4	3		1	1		2			1	1	3
MaGASA5	7		3	3							4
MaGASA6	2		1	1	1	3		1	1		
MaGASA6	2					5		1	1		
MaGASA7	1					1					2
MaGASA8	2	1			1				2		1
MaGASA9	2	1			1				2		1
MaGASA10	4		1	1		5			2		3
MaGASA11	5					1	1	1	1		3
MaGASA12	2		1	1		3			1		

结构的预测（表 4），发现 MaGASA 基因家族的蛋白质结构主要由无规卷曲和 α -螺旋组成，但也存在延伸链。在葡萄^[4]、苹果^[18]、白菜^[25]和谷子^[28]的 GASA 蛋白中也发现了类似的结构特征，并且由于 α -螺旋的存在，GASA 基因的所有蛋白质均具有柔性结构，MaGASA 的三级结构如图 4 所示。

表 4 MaGASA 蛋白的二级结构预测
Tab. 4 Prediction of secondary structure of MaGASA proteins

蛋白 Protein	α -螺旋 Alpha helix		延伸链 Extended strand		无规卷曲 Random coil	
	数目	占比	数目	占比	数目	占比
	Number	Proportion/%	Number	Proportion/%	Number	Proportion/%
MaGASA1	40	31.75	7	5.55	79	62.70
MaGASA2	37	31.36	0	0.00	81	68.64
MaGASA3	27	31.03	0	0.00	60	68.97
MaGASA4	43	37.07	0	0.00	73	62.93
MaGASA5	24	27.59	2	2.30	61	70.11
MaGASA6	38	33.63	0	0.00	75	66.37
MaGASA7	28	30.77	0	0.00	63	69.23
MaGASA8	36	34.62	0	0.00	68	65.38
MaGASA9	9	3.31	0	3.31	254	93.38
MaGASA10	40	37.04	0	0.00	68	62.96
MaGASA11	35	36.08	0	0.00	62	63.92
MaGASA12	32	30.19	0	0.00	74	69.81

2.6 GASA 基因家族在桑树不同部位的表达分析

从图 5 中可以看出，MaGASA 基因家族成员的组织表达模式存在差异。MaGASA1、MaGASA2、MaGASA4、MaGASA6 在叶片中表达量最高，其中 MaGASA1、MaGASA2、MaGASA6 在叶片的相对表达量显著高于其他部位，MaGASA4 显著高于除芽外的其他部位，值得注意的是，这几个基因均含有光响应顺式作用元件，这暗示它们可能在桑树叶片的发育和光合作用中发挥重要功能。

MaGASA3、MaGASA5、MaGASA7、MaGASA8、MaGASA10 在茎中的表达量最高，其中 MaGASA3、MaGASA7、MaGASA8、MaGASA10 的相对表达量显著高于其他部位，MaGASA5 显著高于除叶片外的其他部位。MaGASA11 与 MaGASA12 在芽中的相对表达量显著高于其他部位，结合转录组结果表明，MaGASA12 可能在调控芽活动状态中发挥重要作用。

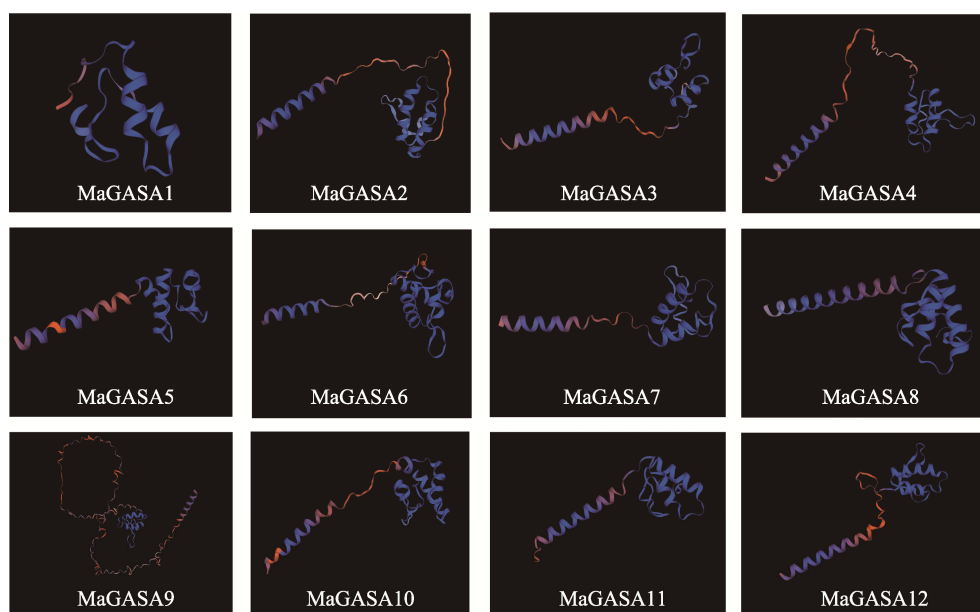
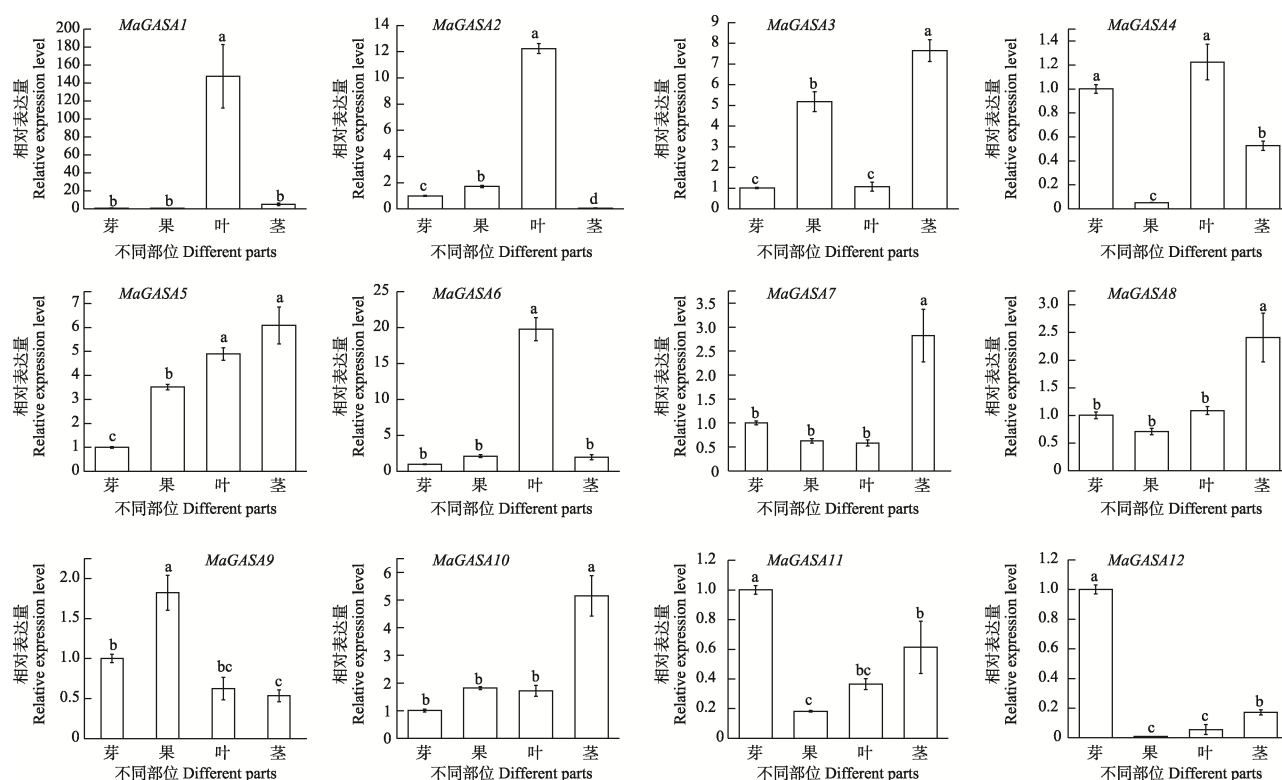


图 4 MaGASA 家族蛋白的三级结构预测

Fig. 4 Prediction of tertiary structure of MaGASA proteins



不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant difference ($P < 0.05$).

图 5 GASA 基因家族在桑树不同部位的表达分析

Fig. 5 Expression analysis of GASA gene family in different parts of mulberry

用,也暗示 *MaGASA11* 与 *MaGASA12* 在芽发育或生理活动中具有重要意义。*MaGASA* 基因家族成员在桑树不同组织部位呈现显著的差异表达模式,这种组织特异性表达为深入了解 *MaGASA* 基因家

族在桑树不同器官生长发育中的功能提供线索。

2.7 GASA 基因家族在桑树不同品种芽中的表达分析

通过对四季果 72、大十、拐桑等 12 个具有

代表性的桑树品种展开 GASA 基因家族成员的表达量分析, 结果显示, MaGASA 基因家族成员在各品种中呈现出丰富多样的表达模式 (图 6)。*MaGASA1* 在强桑 5 号中的表达量显著高于其他品种; *MaGASA2* 在强桑 5 号和四季果 72 中的表达量显著高于其他品种; *MaGASA3* 在冀桑和红玛瑙中的表达量显著高于其他品种; *MaGASA4* 在黄金桑中的表达量最高, 显著高于其他品种; *MaGASA5* 在川桑和红玛瑙中的表达量最高, 显著高于其他

品种; *MaGASA6* 在黑珍珠中的基因表达量显著高于其他品种; *MaGASA7* 在川桑中的表达量显著高于除大十外的其他品种; *MaGASA8* 在大十和拐桑中的表达量最高; *MaGASA9* 在红玛瑙中的表达量最高; *MaGASA10* 在黑珍珠和拐桑中的表达量显著高于其他品种, 其他品种间则无显著差异; *MaGASA11* 在冀桑中的表达量显著高于其他品种, 除冀桑外, 其他品种之间无显著差异; *MaGASA12* 在川桑中的表达量显著高于其他品种。

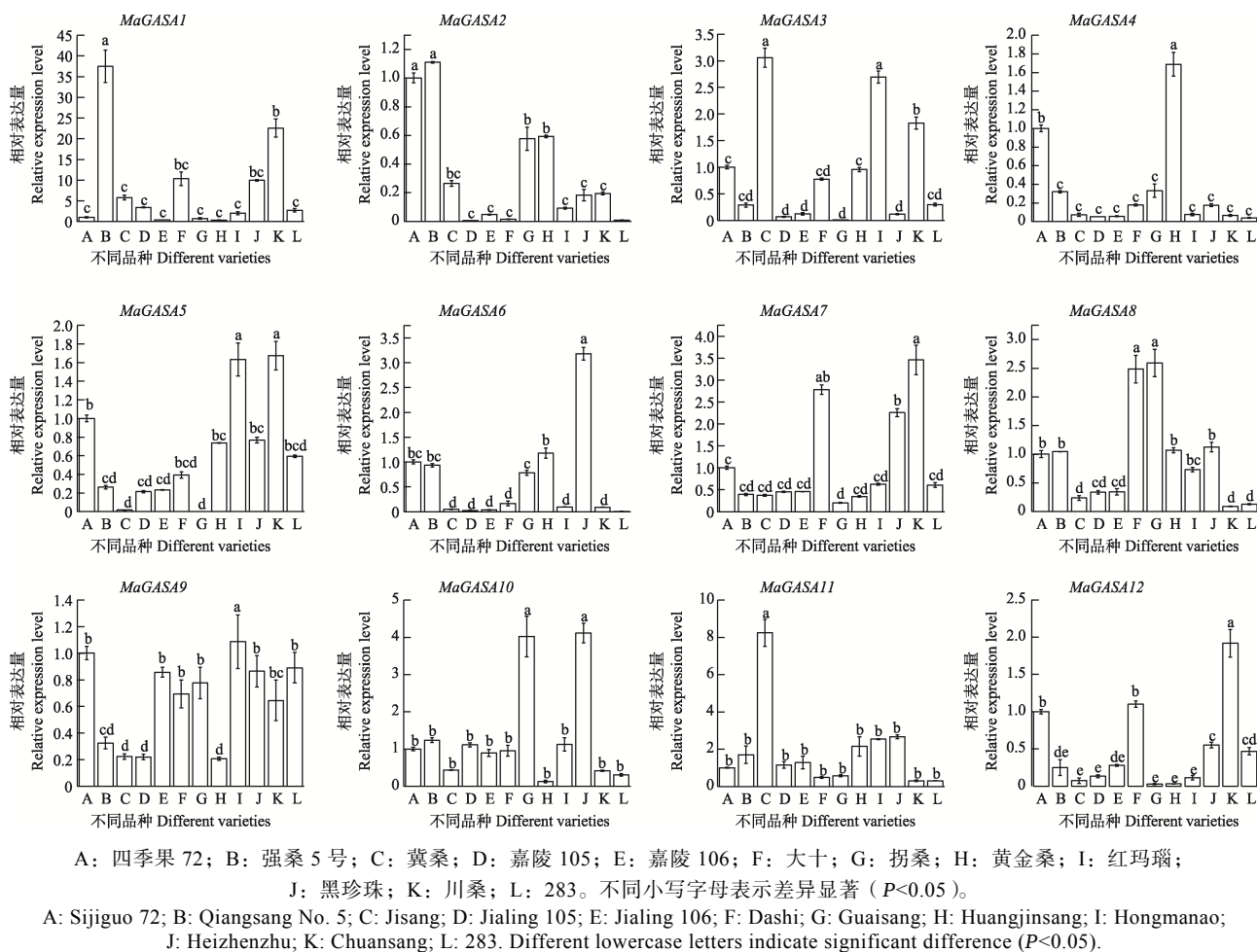


图 6 GASA 基因家族在桑树不同品种芽中的表达分析

Fig. 6 Expression analysis of GASA gene family in buds of different mulberry varieties

2.8 GASA 基因家族在桑树休眠解除中的表达分析

GASA 基因家族各成员转录组热图表明, 在休眠芽经单氰胺处理不同时间后, 其表达量发生了明显变化 (图 7)。与对照 (CK) 相比, 经单氰胺处理 (HC) 不同时间后其整体表达量呈现下调趋势, *MaGASA12* 和 *MaGASA10* 明显响应休眠信号的解除。通过 RT-qPCR 分析 (图 8), 单氰胺处

理后 *MaGASA12* 的表达量明显下调, 这种变化模式与番茄成熟过程中 *SiGASA1* 表达量的下调相似^[29], 表明该基因可能使桑芽维持休眠状态。但 *MaGASA10* 的表达量在经过单氰胺处理后急剧上调, 对休眠解除信号的响应最为强烈, 这与梅花的 *PmGASA16* 在花芽休眠解除后的高表达情况一致^[30], 这充分表明 *MaGASA10* 极有可能是桑树休眠解除过程的重要基因。

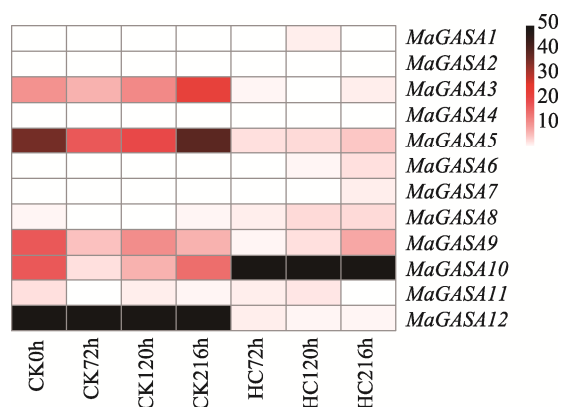


图 7 单氰胺处理后 GASA 基因家族在不同时间的表达趋势

Fig. 7 Expression trends of GASA gene family at different time after sodium cyanamide treatment

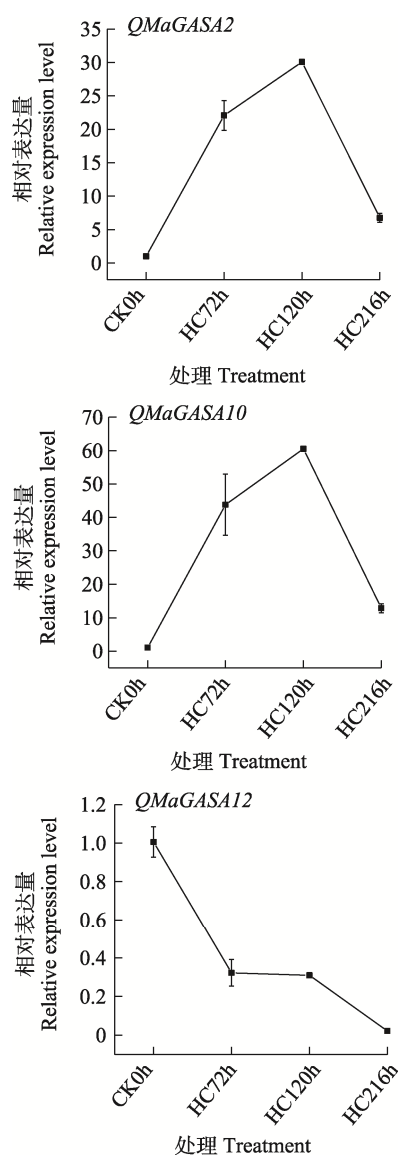


图 8 挑选基因的 RT-qPCR 表达验证

Fig. 8 Expression validation of RT-qPCR for selected genes

3 讨论

赤霉素主要通过降解 DELLA 蛋白,释放 PIFs 转录因子与 GASA 基因家族成员的启动子位点相结合,从而推进细胞伸长进程^[11-12]。GASA 蛋白在植物生长发育、逆境胁迫、激素信号转导等方面起着非常重要的作用^[12, 25, 28]。

本研究在桑树基因组中鉴定了 12 个 GASA 基因,并对这些基因的生物信息学和表达模式进行了分析。与其他物种相比,可能由于桑树与桃均为蔷薇目植物,具有更近的亲缘关系,出现了相对频繁的基因共支特征。部分学者认为果树休眠受低温调控,需要满足一定的冷量才可解除其休眠状态,在解除休眠过程中激素发挥着重要作用^[31]。同时钙网蛋白被认为是 GA 信号通路中的关键蛋白,因为其在激素信号通路中具有重要意义,而激素信号通路又可能参与山毛榉种子休眠的解除及其萌发^[32]。基于对激素信号基因表达模式的研究,其被认为是休眠调控的关键因素^[33]。在桑树的 MaGASA 启动子区域筛选出与激素相关以及低温和光响应顺式作用元件,其中赤霉素相关顺式作用元件同样在其启动子区域中被发现,这和其他物种 GASA 基因启动子的顺式作用元件基本一致^[25]。通过研究 GASA 基因启动子的顺式作用元件表明,桑树可能经过低温春化后,通过调控激素相关作用元件,特别是赤霉素响应元件,使芽萌动伸长。

单氰胺在解除果树休眠中被广泛应用,在打破桑树休眠上同样具有良好效果。其中 MaGASA10 表达变化剧烈,暗示其在单氰胺诱导的桑芽休眠解除中起关键作用, PmGASA16 在梅花花芽休眠解除后具有较强的诱导作用,表明 PmGASA16 在梅花花芽休眠解除中可能具有促进作用^[30]。这或许表明单氰胺激活了这些基因,推动休眠解除相关生理进程。MaGASA12 在单氰胺处理后显著下调,伴随休眠芽的萌动其表达量持续下降,这表明它极有可能是单氰胺打破桑树休眠的关键调控基因;在 ZHANG 等^[34]的研究中, AtGASA4 促进拟南芥开花,而 AtGASA5 延迟或抑制拟南芥开花的情况相符。表明 GASA 基因家族成员在休眠解除过程中的引导通路较为复杂,而非单一途径,可能引发多种信号通路互作,从而调整基因表达网络,启动休眠解除关键生理过程。

4 结论

本研究系统鉴定了桑树 *MaGASA* 基因家族成员, 分析了其理化性质、系统发育、基因复制和共线性, 并对不同组织、品种和解除休眠过程的表达模式等进行了分析。结果显示, 12 个 *MaGASA* 基因成员均包含保守的 GASA 结构域, 大多数基因表现出相似的理化特性, 且在系统发育分析中分为 3 个类群, 表明该基因家族在桑树中具有较高的多样性。基因复制和共线性分析揭示了 *MaGASA* 基因在基因组中的扩增, 可能通过基因重复事件推动了基因家族的多样性。此外, 组织特异性表达模式的分析表明, *MaGASA12* 在芽中表达量显著高于其他部位, 提示其在芽发育过程中可能具有重要作用。同时, 结合转录组数据, 显示该基因的表达可能与桑芽休眠有关。因此, 今后将考虑通过敲除或沉默该基因以探究其作用。此外, *MaGASA10* 在单氰胺处理后的表达量急剧上调, 该基因可能是促进桑树萌芽的关键基因之一。未来的研究可以通过过表达 *MaGASA10* 来验证其功能, 以进一步阐明该基因在休眠解除中的作用。

综上所述, 本研究为桑树 *MaGASA* 基因家族的功能研究提供了系统的生物信息学分析, 揭示了基因家族成员在基因组中的扩增、进化以及组织特异性表达的特点, 并重点关注了 *MaGASA10* 和 *MaGASA12* 基因表达量的变化, 为今后的研究提供研究思路。

参考文献

- [1] ZHANG S C, WANG X J. One new kind of phytohormonal signaling integrator: up-and-coming GASA family genes[J]. *Plant Signaling & Behavior*, 2017, 12(2): e1226453.
- [2] SHI L, GAST R T, GOPALRAJ M, OLSZEWSKI N E. Characterization of a shoot-specific, GA₃ and ABA-regulated gene from tomato[J]. *The Plant Journal*, 1992, 2(2): 153-159.
- [3] NAHIRÑAK V, RIVAROLA M, GONZALEZ DE URRETA M, PANIEGO N, HOPP H E, ALMASIA N I, VAZQUEZ-ROVERE C. Genome-wide analysis of the Snakin/GASA gene family in *Solanum tuberosum* cv. Kennebec[J]. *American Journal of Potato Research*, 2016, 93: 172-188.
- [4] AHMAD B, YAO J, ZHANG S, LI X, ZHANG X, YADAV V, WANG X. Genome-wide characterization and expression profiling of GASA genes during different stages of seed development in grapevine (*Vitis vinifera* L.) predict their involvement in seed development[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(3): 1088.
- [5] QU J, KANG S G, HAH C, JANG J C. Molecular and cellular characterization of GA-stimulated transcripts GASA4 and GASA6 in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Plant Science*, 2016, 246: 1-10.
- [6] BEN-NISSAN G, LEE J Y, BOROHOF A, WEISS D. GIP, a *Petunia hybrida* GA-induced cysteine-rich protein: a possible role in shoot elongation and transition to flowering[J]. *The Plant Journal*, 2004, 37(2): 229-238.
- [7] ROXRUD I, LID S E, FLETCHER J C, SCHMIDT E D, OPSAHL-SORTEBERG H G. GASA4, one of the 14-member *Arabidopsis* GASA family of small polypeptides, regulates flowering and seed development[J]. *Plant and Cell Physiology*, 2007, 48(3): 471-483.
- [8] ZIMMERMANN R, SAKAI H, HOCHHOLDINGER F. The gibberellic acid stimulated-like gene family in maize and its role in lateral root development[J]. *Plant Physiology*, 2010, 152(1): 356-365.
- [9] MOYANO-CANETE E, BELLIDO M L, GARCÍA-CAPARRÓS N, MEDINA-PUCHE L, AMIL-RUIZ F, GONZÁLEZ-REYES J A, CABALLERO J L, MUNOZ-BLANCO J, BLANCO-PORTALES R. *FaGAST2*, a strawberry ripening-related gene, acts together with *FaGAST1* to determine cell size of the fruit receptacle[J]. *Plant and Cell Physiology*, 2013, 54(2): 218-236.
- [10] MUHAMMAD I, LI W Q, JING X Q, ZHOU M R, SHALMANI A, ALI M, WEI X Y, SHARIF R, LIU W T, CHEN K M. A systematic in silico prediction of gibberellic acid stimulated GASA family members: a novel small peptide contributes to floral architecture and transcriptomic changes induced by external stimuli in rice[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2019, 234: 117-132.
- [11] 令狐前前, 徐刚, 李雪, 陈雨倩. 麻疯树 *JcGASA6* 基因克隆及其原核表达分析[J]. *植物生理学报*, 2021, 57(12): 2346-2356.
LINGHU Q Q, XU G, LI X, CHEN Y Q. Cloning and prokaryotic expression analysis of *JcGASA6* gene in *Jatropha curcas*[J]. *Plant Physiology Journal*, 2021, 57(12): 2346-2356. (in Chinese)
- [12] HAN S, JIAO Z, NIU M X, YU X, HUANG M, LIU C, WANG H L, ZHOU Y, MAO W, WANG X, YIN W, XIA X. Genome-wide comprehensive analysis of the GASA gene family in *Populus*[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(22): 12336.

- [13] ZHENG C, ACHEAMPONG A K, SHI Z, MUGZECH A, HALALY-BASHA T, SHAYA F, SUN Y, COLOVA V, MOSQUINA A, OPHIR R. Absciscic acid catabolism enhances dormancy release of grapevine buds[J]. *Plant, Cell & Environment*, 2018, 41(10): 2490-2503.
- [14] ZHUANG W B, GAO Z H, WANG L J, ZHONG W J, NI Z J, ZHANG Z. Comparative proteomic and transcriptomic approaches to address the active role of GA4 in Japanese apricot flower bud dormancy release[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2013, 64(16): 4953-4966.
- [15] 武华周, 王树昌, 耿涛, 卢芙蓉, 姜德钊, 韦显红. 一种解除热带地区果桑冬芽休眠的高效栽培方法及其破眠剂: CN202111264326.1[P]. 2021-10-28.
WU H Z, WANG S C, GENG T, LU F P, LOU D Z, WEI X H. An efficient cultivation method for breaking winter bud dormancy of fruit mulberry in tropical regions and its dormancy-breaking agent: CN202111264326.1[P]. 2021-10-28. (in Chinese)
- [16] ZHU H, CHEN P Y, ZHONG S L, DARDICK C, CALLAHAN A, AN Y Q, KNOCKER S V, YANG Y Z, ZHONG G Y, ABBOTT A, LIU Z R. Thermal-responsive genetic and epigenetic regulation of DAM cluster controlling dormancy and chilling requirement in peach floral buds[J]. *Horticulture Research*, 2023(1): 1444-1457.
- [17] ZHENG C L, HALALY T, ACHEAMPONG A K, TAKEBAYASHI Y, JIKUMARU Y, KAMIYA Y, OR E. Absciscic acid (ABA) regulates grape bud dormancy, and dormancy release stimuli may act through modification of ABA metabolism[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2015, 66(5): 1527-1542.
- [18] FAN S, ZHANG D, ZHANG L, GAO C, XIN M, TAHIR M M, LI Y, MA J, HAN M. Comprehensive analysis of GASA family members in the *Malus domestica* genome: identification, characterization, and their expressions in response to apple flower induction[J]. *BMC Genomics*, 2017, 18: 1-19.
- [19] AHMAD M Z, SANA A, JAMIL A, NASIR J A, AHMED S, HAMEED M U, ABDULLAH. A genome-wide approach to the comprehensive analysis of GASA gene family in *Glycine max*[J]. *Plant Molecular Biology*, 2019, 100: 607-620.
- [20] SUN H L, JIN S Y, JUNG W J, KIM D Y, SEO Y W. Genome-wide identification and characterization of the lettuce GASA family in response to abiotic stresses[J]. *BMC Plant Biology*, 2023, 23(1): 106.
- [21] HONG Z Z, WANG X R, YANG A Y, YAN G C, HE Y, ZHU Z J, XU Y M. Tendril morphogenesis is regulated by a CsaTEN- CsaUFO module in cucumber[J]. *New Phytologist*, 2023, 239: 364-373.
- [22] HU M Q, LI Z Q, LIN X J, TANG B Q, XING M, ZHU H B. Comparative analysis of the LEA gene family in seven *Ipomoea* species, focuses on sweet potato (*Ipomoea batatas* L.)[J]. *BMC Plant Biology*, 2024, 24(1): 1256.
- [23] 雷彪, 曲瑞芳, 任超, 卢成达, 李红英, 韩彦卿, 马芳芳, 韩渊怀, 邢国芳. 谷子 LBD 基因家族的鉴定及其对逆境胁迫的响应[J]. *植物生理学报*, 2023, 59(3): 527-542.
LEI B, QU R F, REN C, LU C D, LI H Y, HAN Y Q, MA F F, HAN Y H, XING G F. Identification of the LBD gene family in foxtail millet and its response to abiotic stresses[J]. *Plant Physiology Journal*, 2023, 59(3): 527-542. (in Chinese)
- [24] KAI T, MIGUEL C M, MARTIJN F, LAI X, IRISE Z, JIANG X, MARK M, STEFAN B, STUART J, MAX N. Uncoupling FRUITFULL's functions through modification of a protein motif identified by co-ortholog analysis[J]. *Nucleic Acids Research*, 2024, 52(21): 13290-13304.
- [25] SUN B, ZHAO X, GAO J, LI J, XIN Y, ZHAO Y, LIU Z, FENG H, TAN C. 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.
- [26] ABDULLAH, FARAJI S, MEHMOOD F, MALIK H M T, AHMED I, HEIDARI P, POCZAI P. The GASA gene family in cacao (*Theobroma cacao*, Malvaceae): genome wide identification and expression analysis[J]. *Agronomy*, 2021, 11(7): 1425.
- [27] HAN S, JIAO Z Y, NIU M X, YU X, HUANG M B, LIU C, WANG H L, ZHOU Y Y, MAO W, WANG X F, YIN W L, XIA X L. Genome-wide comprehensive analysis of the GASA gene family in *Populus*[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(22): 12336.
- [28] 王东胜, 张小朵, 尚炫辰, 王振华, 刘维仲. 谷子 GASA 基因家族鉴定及其对非生物胁迫的响应[J]. *植物生理学报*, 2024, 60(5): 859-869.
WANG D S, ZHANG X D, SHANG X C, WANG Z H, LIU W Z. Identification of the GASA gene family in foxtail millet and its response to abiotic stresses[J]. *Plant Physiology Journal*, 2024, 60(5): 859-869. (in Chinese)
- [29] SU D, LIU K D, YU Z S, LI Y, ZHANG Y X, ZHU Y Q, WU Y, HE H Y, ZENG X D, CHEN H L, GRIERSON D, DENG H, LIU M C. Genome-wide characterization of the tomato GASA family identifies *SIGASA1* as a repressor of fruit ripening[J]. *Horticulture Research*, 2023(1): 135-145. .
- [30] ZHANG M, CHENG W, WANG J, CHENG T, ZHANG Q. Genome-wide identification, evolution, and expression analysis of GASA gene family in *Prunus mume*[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(18): 10923.

- [31] HEIDE O M, PRESTRUD A K. Low temperature, but not photoperiod, controls growth cessation and dormancy induction and release in apple and pear[J]. *Tree Physiology*, 2005, 25(1): 109-114.
- [32] PAWŁOWSKI T A. Proteomics of European beech (*Fagus sylvatica* L.) seed dormancy breaking: influence of abscisic and gibberellic acids[J]. *Proteomics*, 2007, 7(13): 2246-2257.
- [33] RINNE P L, WELLING A, VAHALA J, RIPEL L, RUONALA R, KANGASJÄRVI J, VAN DER SCHOOT C. Chilling of dormant buds hyperinduces FLOWERING LOCUS T and recruits GA-inducible 1,3- β -glucanases to reopen signal conduits and release dormancy in *Populus*[J]. *The Plant Cell*, 2011, 23(1): 130-146.
- [34] ZHANG S C, WANG X J. Overexpression of GASA5 increases the sensitivity of *Arabidopsis* to heat stress[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2011, 168(17): 2093-2101.