

# 不同生态条件下棉花赤霉素合成代谢途径关键酶基因差异表达分析

石建斌 王宁 周红 许庆华 乔文青 严根土\*

(中国农业科学院棉花研究所/棉花生物学国家重点实验室,河南安阳 455000)

**摘要** 为揭示棉花植株体内赤霉素合成途径关键酶基因表达量与不同组织及环境条件的关系,以“中棉所49”(CCRI49)和“高脚棉”(396289)为材料,利用实时荧光定量PCR方法中的相对定量,以UBQ7为内参基因,对新疆维吾尔自治区阿拉尔和河南省安阳,2种不同生态环境下的CCRI49和396289不同组织内赤霉素合成途径相关基因的表达量进行检测。结果显示,在阿拉尔地区生长条件下,CCRI49果枝始生节位相比于安阳地区平均降低2.0,高脚棉平均降低2.6。在安阳地区,CCRI49和396289中赤霉素合成途径各关键酶基因在不同组织内的表达趋势基本一致,茎组织中各相关基因表达量高,为植株生长提供充足的活性赤霉素;在新疆阿拉尔地区,CCRI49和396289主要表现为赤霉素合成早期阶段CPS1、KS和KO等基因的表达量下调,GA2ox1表达量上调,以减少活性赤霉素的合成。结果表明,棉花植株赤霉素合成代谢途径关键酶基因的表达量发生改变,从而调控植株的生长发育来适应新疆干旱和盐渍化的生长环境。

**关键词** 棉花; 赤霉素; 环境条件; 基因表达量

中图分类号 Q786

文章编号 1007-4333(2019)01-0006-08

文献标志码 A

## Differential expression of the key enzyme of gibberellin biosynthesis pathway in cotton under different ecological conditions

SHI Jianbin, WANG Ning, ZHOU Hong, XU Qinghua, QIAO Wenqing, YAN Gentu\*

(Institute of Cotton Research/State Key Laboratory of Cotton Biology, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Anyang 455000, China)

**Abstract** To explore the relationship between the key enzyme gene expression of gibberellin synthesis pathway and different tissues or environmental condition, cotton CCRI49 and 396289 were selected as material, and UBQ7 was selected as reference gene. Relative quantification real-time PCR was developed to determine the gibberellin key gene expression of different cotton organizations under two kinds of ecological environment. The results showed that: compared with Anyang, the average node of first fruiting/sympodial branch of CCRI49 and 396289 were respectively decreased by 2.0 and 2.6 under the growth condition of Alar. In Anyang region, the expression trends of gibberellin related gene were basically identical in tissues, but the expression level in stem was higher, which was beneficial for the growth of plants. In Alar region, the CPS1, KS, and KO gene expressions were significantly down-regulated in CCRI49 and 396289, while GA2ox1 gene expression was up-regulated. The down-regulation of CPS1, KS and KO reduced the synthesis rate of gibberellin, and the up-regulation of GA2ox1 decomposed the active gibberellin. To adapt to the arid and salinized growth environment of Xinjiang, the cotton plant regulate its growth and development by changing the expression of the key enzyme gene of gibberellin in the plant.

**Keywords** cotton; gibberellin; environmental condition; gene expression

收稿日期: 2017-12-06

基金项目: 国家重点研发计划(2018YFD0100300);中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(161012018019);棉花生物学国家重点实验室自主课题(CB2017C14)

第一作者: 石建斌,助理研究员,主要从事棉花遗传育种研究,E-mail: shijianbin@163.com

通讯作者: 严根土,研究员,主要从事棉花遗传育种研究,E-mail: yangentu@163.com

赤霉素(Gibberellins 简称 GA)作为一种重要的植物激素,由日本学者于 1938 年从赤霉菌中分离到而得名的<sup>[1]</sup>,其在植物的整个生长发育周期中起调节作用,参与控制多种多样的植物发育过程,包括种子萌发、根的生长、茎的伸长、叶片伸展、表皮毛发育、花粉管生长及花和果实的发育等<sup>[2-3]</sup>。植物对环境的适应性也与 GA 生物合成的调控有着或多或少的关系,目前通过 GA 矮化突变体的研究已经基本阐明高等植物赤霉素代谢途径<sup>[4]</sup>。赤霉素合成过程较为复杂,整个合成途径可分为 3 个阶段,参与其合成的关键酶主要包括古巴焦磷酸合成酶(Copalyl pyrophosphate synthase, CPS)、内-贝壳杉烯合成酶(Ent-kaurene synthase, KS)、内-贝壳杉烯氧化酶(Ent-kaurene oxidase, KO)、GA-2 氧化酶(GA-2 oxidase)、GA-20 氧化酶(GA-20 oxidase)和 GA-3 氧化酶(GA-3 oxidase)等<sup>[5]</sup>。

CPS 是调节 GAs 生物合成途径一个重要的酶,其催化牻牛儿基牻牛儿焦磷酸(Geranylpyrophosphate, GGPP)生成中间产物古巴焦磷酸(Copalyl pyrophosphate, CPP),决定 GGPP 向 GA 方向合成,CPS 位于前质体,且具有引导序列,为催化环化双萜形成的第一步,产生的 CPP 在 KS 催化作用下形成阶段性产物内-贝壳杉烯,即为赤霉素的前身。CPS 与 KS 的催化反应均发生在原生质体内。KO 是一种位于内质网,与膜结合的依赖细胞色素 P450 和 NADPH 的单加氧化酶,经三步反应将内-贝壳杉烯氧化为内-贝壳杉烯酸。GA-2 氧化酶、GA-20 氧化酶和 GA-3 氧化酶是重要的 GA 生物合成和调控酶,为可溶性的双加氧酶,在 GAs 合成后期阶段起重要作用,由小的多基因家族编码,目前大约有 20~30 种的 GA-20 氧化酶基因被克隆<sup>[6]</sup>。GA-2 氧化酶主要作用于有生物活性的 GA<sub>1</sub> 和 GA<sub>4</sub>,使两者在 C-2 位羟基化转变成无活性的 GA<sub>8</sub> 和 GA<sub>34</sub>,并且维持着植物体内具有生物活性的 GAs 和 C19-GAs 中间体之间的平衡。GA-20 氧化酶和 GA-3 氧化酶是严格调控的酶,既受反馈调节,又受光周期调控。GA-20 氧化酶底物专一性不强,其对底物的亲和力与 C-13 位的羟基化有关,形成 GAs 代谢的 2 个或多个平行形成途径,这与植物中具有生物活性的 GAs 类型相一致<sup>[7]</sup>。赤霉素受体 GID1(Gibberellin insensitive dwarf1)是一种可溶性蛋白,与 GAs 结合形成二聚体,将 GAs 的信号传递给下游元件,在植物体上产生赤霉素效应<sup>[8]</sup>。自 20 世纪 60 年代

起,由于水稻 *sd1* 基因和小麦 *Rht1* 基因在育种中的应用,极大地提高世界主要粮食作物的产量,由于 GA 对农作物生长发育的调控作用,其直接或间接的影响着农作物的产量和质量,最近的研究表明主要农作物的“绿色革命”都与赤霉素密切相关<sup>[9-10]</sup>。目前,在分子水平上研究赤霉素的表达调控已成为植物激素研究领域中的前沿和热点<sup>[11-13]</sup>。实时荧光定量 PCR 为目前常用检测基因表达量的方法,操作简便,省时省力,高精度度和高灵敏度等特点,能够检测表达丰度较低的 mRNA,已经成为基因表达量分析的首选方法<sup>[14-15]</sup>。

从赤霉素水平分析不同环境条件对棉花株型发育的影响鲜有报道。本研究以表型性状存在差异的棉花品种为材料,利用实时荧光定量 PCR 方法,分析不同生态环境条件下棉花品种间及不同组织间的赤霉素合成途径关键酶基因的表达情况,旨在为进一步解棉花株型发育中赤霉素作用的分子机理提供参考资料。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

“中棉所 49”(CCRI49)为本课题培育的常规品种,“高脚棉”(396289)为本课题在培育过程中发现的新品系,生长健壮且具有明显株高优势。取 CCRI49 和 396239 棉花种子,在播种期(4 月 21—25 日)分别种植于中国农业科学院棉花研究所东场九区试验田(河南省安阳县)和新疆维吾尔自治区阿拉尔十团试验站。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 材料调查

于 6 月 12—14 日分别对同时期两地材料的果枝始生节位进行调查,测量主茎基部首先出现的第一果枝到子叶节的节数,每样调查 10 株,取平均值。

#### 1.2.2 棉花总 RNA 提取与质量检测

在 6 月 12—14 日进行田间调查的同时,分别取同时期两地材料的根茎叶组织,各组织取 3 次生物学重复,其中,根组织(主根部分),茎组织(茎秆中部节间),叶组织(顶部完全展开的幼嫩新叶),所取样品均低温保存,用于提取 RNA。室内称取棉花各组织样品材料 0.5 g 在液氮中迅速研磨成粉末,按 RNA prep Pure 植物总 RNA 提取试剂盒(天根生化科技北京有限公司)说明书操作进行,在 RNA 提取过程中用 DNase I 工作液(RNase-Free DNase I

说明书)消化污染的 DNA。提取的 RNA 用核酸测定仪测定浓度和纯度,并用 1.2% 的琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 的完整性,−80 °C 保存备用。

### 1.2.3 反转录合成 cDNA 链

以提取的 RNA 为模版,进行逆转录反应,体系为 20  $\mu$ L,包含 Total RNA 30 ng、5 $\times$  gDNA Buffer 2  $\mu$ L、RNase-Free ddH<sub>2</sub>O 补足 20  $\mu$ L,混匀并简短离心,在 PCR 仪中进行 42 °C 3 min,4 °C 2 min。之后在体系中加入 FQ-RT Primer Mix 2  $\mu$ L、10 $\times$  Fast RT Buffer 2  $\mu$ L、RT Enzyme Mix 1  $\mu$ L 和 RNase-Free ddH<sub>2</sub>O 5  $\mu$ L,混匀后置于 PCR 仪中进行 42 °C 15 min,95 °C 3 min,取出后 −20 °C 保存

备用。

### 1.2.4 引物的设计

植物中参与赤霉素合成途径的关键酶主要包括古巴焦磷酸合成酶(CPS1)、内-贝壳杉烯合成酶(KS)、内-贝壳杉烯氧化酶(KO)、GA-2 氧化酶(GA2ox)、GA-20 氧化酶(GA20ox)和 GA-3 氧化酶(GA3ox),以及赤霉素受体基因 *GID1*,经在 NCBI 查找 EST 序列并参考水稻、葡萄和番茄等植物赤霉素代谢关键酶基因序列<sup>[16-18]</sup>,利用 Primer Premier 5 在各基因保守序列内设计特异性引物,以棉花内源持家基因 *UBQ7*(GenBank:DQ116441)作为内参基因<sup>[19]</sup>,所有引物由上海生物工程公司合成(表 1)。

表 1 引物序列表

Table 1 Primers used in SYBR Green I real-time PCR assays

| 基因名称<br>Gene name           | 检测<br>Assay | 方向<br>Orientation | 序列(5'-3')<br>Sequence   |
|-----------------------------|-------------|-------------------|-------------------------|
| 古巴焦磷酸合成酶<br><i>CPS1</i>     | qRT-PCR     | Sense             | CGGAAATGGGTCTGGCTGAT    |
|                             |             | Anti-sense        | CCGCTCTTGCGACCTTTCAA    |
| 内-贝壳杉烯合成酶<br><i>KS</i>      | qRT-PCR     | Sense             | GCAATCCATGTTTCCCTGCC    |
|                             |             | Anti-sense        | AGGACACATGCCAATGTGGA    |
| 内-贝壳杉烯氧化酶<br><i>KO</i>      | qRT-PCR     | Sense             | ACGATACGTGCACGAAGACA    |
|                             |             | Anti-sense        | GGGTTCCATTCTTCGGGGTT    |
| GA-2 氧化酶<br><i>GA2ox1</i>   | qRT-PCR     | Sense             | GTGTTGGAATCCGAAGCTACCA  |
|                             |             | Anti-sense        | AACCCAACCAACATCACCTTGT  |
| GA-20 氧化酶<br><i>GA20ox1</i> | qRT-PCR     | Sense             | GCCGAATCCGTGCCGATAAT    |
|                             |             | Anti-sense        | GGTTCGGCTGGTGGATTCAA    |
| GA-3 氧化酶<br><i>GA3ox1</i>   | qRT-PCR     | Sense             | TGAGCATCGGCCTTTAGCTT    |
|                             |             | Anti-sense        | TGGAATTACAAGTGCCGGGG    |
| 赤霉素受体基因<br><i>GID1B</i>     | qRT-PCR     | Sense             | GCCTTTGTAAGGCCGTTGTG    |
|                             |             | Anti-sense        | TAACCCACTTAAGAGCCGCC    |
| 棉花内源持家基因<br><i>UBQ7</i>     | qRT-PCR     | Sense             | AAGAAGAAGACCTACACCAAGCC |
|                             |             | Anti-sense        | GCCCACACTTACCGCAATA     |

### 1.2.5 qRT-PCR 分析

反转合成 cDNA 后,将各样本的 3 次生物学重复分别混合,并以此 cDNA 为模版,用各目的基因的特异性引物进行 qRT-PCR 扩增。反应中,分别扩增各样本根、茎和叶组织内的各目的基因和内参基因,每个反应设 3 次技术性重复。反应体系为 20  $\mu$ L,包含 10  $\mu$ L 2 $\times$ SYBR Green I,引物各 1  $\mu$ L,cDNA 1  $\mu$ L,ddH<sub>2</sub>O 7  $\mu$ L。反应程序为 95 °C 15 min,95 °C 10 s,60 °C 30 s,40 次,熔解曲线的测定均是从 65~95 °C,每 0.5 °C/5 S 测定吸光值 1 次。数据由 IQ5 荧光定量 PCR 仪全程采集和分析,

用  $2^{-(\Delta\Delta CT)}$  法计算目的基因表达量。

## 2 结果与分析

### 2.1 棉花果枝始生节位分析

棉花材料 CCRI49 和 396289 分别在中棉所东场及新疆阿拉尔地区的果枝始生节位调查结果如表 2 所示,每个材料调查 10 株,取平均值。CCRI49 在安阳试验地的平均果枝节位高度为 7.3,在阿拉尔试验地的平均果枝节位高度为 5.3,降低 2.0,且差异达极显著水平( $P < 0.01$ );396289 在安阳试验地的平均果枝节位高度为 8.4,而在阿

拉尔试验地则为 5.8,降低 2.6,差异达极显著水平( $P<0.01$ )。两材料在阿拉尔地区生长条件下,果枝始生节位相比于安阳地区均有所降低,其中 CCRI49 果枝始生节位跨度由安阳地区的

6~8 节降低为阿拉尔地区的 4~6 节,396289 果枝始生节位跨度由安阳地区的 8~9 节降低为阿拉尔地区的 5~7 节,这与新疆地区的气候条件有关。

表 2 果枝始生节位与高度调查

Table 2 Investigate of node of first fruiting branch

| 材料<br>Material | 安阳 Anyang   |      | 阿拉尔 Alar    |      |
|----------------|-------------|------|-------------|------|
|                | 节位          | 跨度   | 节位          | 跨度   |
|                | NFFB        | Span | NFFB        | Span |
| CCRI49         | 7.3 ± 0.3 A | 6~8  | 5.3 ± 0.1 B | 4~6  |
| 396289         | 8.4 ± 0.2 A | 8~9  | 5.8 ± 0.3 B | 5~7  |

注:NFFB 表示第一果枝节位。不同大写字母表示在 0.01 水平上差异极显著( $P<0.01$ )。

Note:NFFB, node of first fruiting branch. Different capital letter means the difference is significant at the level of 0.01.

## 2.2 不同组织内 GA 合成途径关键酶基因差异表达分析

提取的 RNA 经琼脂糖凝胶电泳检测其完整性后,进行反转录,并以 cDNA 为模版,利用特异性引物对 CCRI49 和 396289 材料的根、茎和叶组织内赤霉素合成途径各关键酶基因进行实时荧光检测。根据  $2^{-\Delta\Delta CT}$  法分别计算荧光定量 PCR 中棉花材料 CCRI49 和 396289 的 *CPS1*、*KS*、*KO*、*GA2ox1*、*GA3ox1*、*GA20ox1* 和 *GID1B* 基因的表达量,在相对表达量的计算过程中,以棉花内源基因 *UBQ7* 为参考基因,以 CCRI49 根组织为对照样品,进行赤霉素合成途径各关键酶基因的相对表达量计算。

由图 1 可以看出,以 CCRI49 根组织内各目的基因的表达为对照,赤霉素合成途径各关键酶基因在 CCRI49 茎、叶组织内和 396289 根、茎和叶组织内的表达量均有不同。在 CCRI49 茎中,*CPS1*、*KS*、*KO*、*GA3ox1* 和 *GA20ox1* 表达水平较高,表达量分别为 19.92、4.64、3.37、14.52 和 10.63, *GA2ox1* 表达水平较低,表达量为 0.36;在 CCRI49 叶中,*GA3ox1* 表现为高表达,为 12.82,其他基因表达量均低于对照。在 396289 茎中,*CPS1*、*KS*、*KO*、*GA3ox1* 和 *GA20ox1* 同样表现为高表达,表达量分别为 42.11、6.11、15.71、21.94 和 42.43。在 396289 叶中,除 *GA3ox1* 基因高表达(12.68 倍)外,其他基因表达量均低于对照水平。*GID1B* 作为赤霉素受体基因,在 CCRI49 叶中表达量低于对照,在 396289 茎中表达量要高于根和叶中。综合来看, *CPS1*、

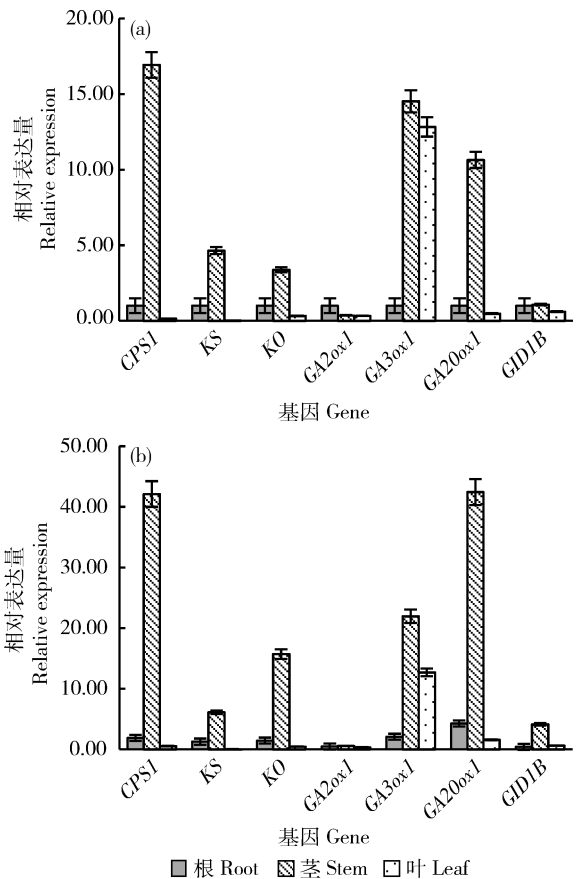


图 1 安阳栽培的棉花植株中棉所 49 (CCRI49) (a) 和高脚棉 (396289) (b) 中 GA 合成途径关键酶基因在各组织内的表达

Fig. 1 The expression of GA metabolism key enzyme genes in tissues of the cotton Zhongmiansuo 49 (CCRI49) (a) and Gaojiaomian (396289) (b) in Anyang

*KS*、*KO*、*GA3ox1* 和 *GA20ox1* 在 2 个材料茎中表达量较高,在叶组织中表达量较低,两材料中赤霉素合成途径各关键酶基因在不同组织内的表达趋势基本一致。

### 2.3 环境条件对棉花各组织内 GA 合成途径关键酶基因表达的影响

植物在生长发育过程中,环境条件对其体内激素水平的合成与代谢有一定的影响。通过将 CCRI49 和 396289 材料种植于新疆阿拉尔地区,以安阳地区 CCRI49 根组织中各目的基因表达为对照,检测并计算两材料根茎叶组织内的赤霉素合成途径关键酶基因表达量,由图 2 可以看出,在 CCRI49 中,*CPS1*、*GA20ox1* 和 *GID1B* 在茎中的表达量均高于根和叶中,分别为 8.34、14.70 和 14.30,*GA2ox1* 在根中的表达量高于茎和叶中(为 7.65),*GA3ox1* 在叶中的表达量要高于根和茎中(为 15.04)。在 396289 中,*CPS1* 在茎中的表达量要高于在根和叶中(为 28.46),*GA20ox1* 在根中的表达量要明显高于在茎

和叶中,表达量达到 40.81,*GA3ox1* 在叶中的表达量高于根和茎中,表达量为 51.24。在该环境条件下,两份材料赤霉素合成基因的表达量有所差异。

经比较发现,2 个试验材料在安阳和新疆阿拉尔地区种植条件下,棉花植株组织内赤霉素相关基因的表达量均有不同程度的变化。本研究通过将 CCRI49 和 396289 分别在新疆阿拉尔地区的基因表达量减去安阳地区的基因表达量,获得在新疆阿拉尔条件下,各基因表达量较安阳地区表达量的下调幅度(图 3),相较于安阳地区,阿拉尔地区的 CCRI49 材料根组织内 *CPS1* 和 *KS* 表现为下调,下调幅度分别为 0.13 和 0.53, *KO*、*GA2ox1*、*GA3ox1*、*GA20ox1* 和 *GID1B* 表现为上调,其中 *GA3ox1*、*GA20ox1* 和 *GID1B* 上调幅度较大,分别为 6.65、5.71 和 5.01;茎组织内 *CPS1*、*KS*、*KO* 和 *GA3ox1* 表现为下调,其中 *CPS1* 下调最大,为 8.58,*GA2ox1*、*GA20ox1* 和 *GID1B* 表现为上调,*GA20ox1* 上调 4.07,*GID1B* 上调 13.23;叶组织内

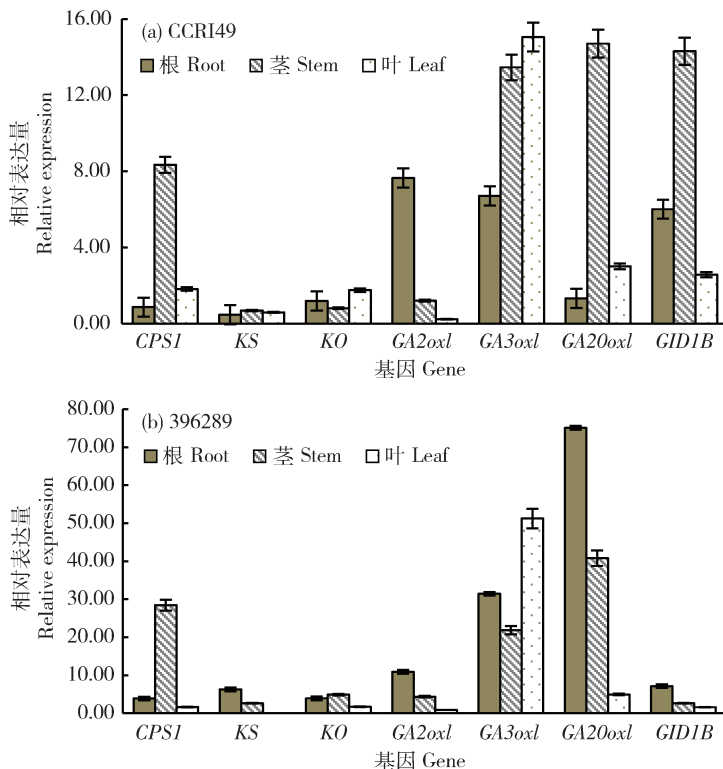
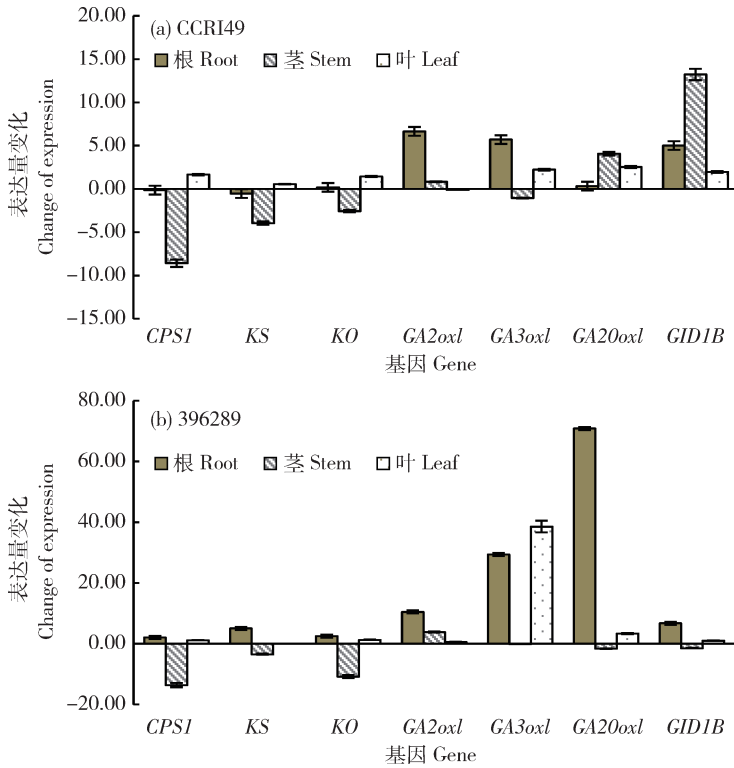


图 2 阿拉尔地区栽培的棉花植株中棉所 49(CCRI49)(a)和高脚棉(396289)(b) GA 合成途径关键酶基因在各组织的表达

Fig. 2 The expression of GA metabolism key enzyme genes in tissues of the cotton Zhongmiansuo 49 (CCRI49)(a) and Gaojiaomian (396289)(b) in Alar

*GA2ox1* 表现为下调,其他基因均表现为上调,上调

幅度在 0.56~2.53。另外,阿拉尔地区的 396289



表达量变化=阿拉尔栽培棉花基因相对表达量-安阳栽培棉花基因相对表达量

Change of expression=Relative expression in Alar-relative expression in Anyang

图 3 不同栽培环境条件下棉花植株中 GA 合成途径关键酶基因相对表达量的变化

Fig. 3 The changes of relative expression of key enzyme genes in GA synthesis pathway in cotton plants under different environmental conditions

材料根组织内各基因的表达均表现为上调,其中上调幅度最大为 *GA20ox1* 的 70.84;茎中除 *GA2ox1* 上调外,其他均下调,其中下调幅度最大为 *CPS1* 的 13.65,其次为 *KO* 的 10.84;叶中则均表现为上调。

## 3 讨论

### 3.1 赤霉素合成途径相关基因表达对棉株表型差异的影响

本研究中,棉花材料 CCRI49 和 396289 的果枝节位在两地区均发生相同变化,在阿拉尔地区生长条件下,果枝始生节位相比于安阳地区均有所降低,这与新疆地区的气候条件有关,新疆地区较黄河流域降水减少,盐渍化严重,对棉花植株的生长发育有一定影响,这是植株应对逆境的一种反应,也与植株体内赤霉素表达水平有关,范术丽等<sup>[20]</sup>研究认为棉花的果枝始生节位(NFFB)受环境条件的很大影响,与本研究相一致。*CPS* 作为赤霉素合成途径的起始关键基因,直接影响植物赤霉素的产生,从而严重影响植物的发育,若 *CPS* 完全突变,植物将不能产生赤霉

素<sup>[21]</sup>,无论是 CCRI49 还是 396289 材料,在新疆阿拉尔环境条件下,*CPS1* 在茎组织中的表达量与安阳相比下调幅度明显,影响茎内活性赤霉素的合成,表现为果枝始生节位降低。相反地,*GA2ox* 在赤霉素合成途径中起到将有生物活性的  $GA_1$  和  $GA_4$  变成无生物活性的  $GA_8$  和  $GA_{34}$  的分解作用,而活性赤霉素的减少必然影响植物的生长发育<sup>[22-23]</sup>,相比于安阳地区,CCRI49 和 396289 在阿拉尔环境条件下,两个材料根组织内 *GA2ox1* 的表达量均有一定程度的上调,也是造成果枝始生节位性状差异的因素之一。

### 3.2 环境条件对赤霉素合成途径相关基因表达的影响

本研究相对定量检测结果表明,在 2 种生态环境下,赤霉素合成途径相关基因的表达量发生一定的变化,在安阳地区,CCRI49 和 396289 两材料中赤霉素合成途径各关键酶基因在不同组织内的表达趋势基本一致,除 *GA2ox1* 外,其他各基因均在茎组织中具有较高表达量,因为苗期中的棉花植株正处于茎秆的旺盛伸长阶段,需要大量活性 GAs 来调控

其生长发育。在新疆阿拉尔地区, CCRI49 和 396289 植株体内各赤霉素相关基因的表达量变化则有所不同, CCRI49 除茎中相关基因表达量维持在较高水平外, 其根组织内 *GA2ox1* 和 *GA3ox1* 表达量也显著增加, 396289 根组织内 *GA2ox1*、*GA3ox1* 和 *GA20ox1* 表达量也显著增加。与安阳地区相比, 种植于阿拉尔地区的供试材料茎组织内的 *CPS1*、*KS* 和 *KO* 基因表达量显著下调, 根组织内的 *GA2ox1* 和 *GA3ox1* 表达量则大幅度上调, 因为在降水量减少、盐渍化加重的环境条件下, 植物主要通过调控 *CPS1*、*KS* 和 *KO* 等早期阶段的表达量、上调 *GA2ox1* 表达量来降低活性 GAs 的合成, 以应对逆境胁迫, 该结果与前人研究一致<sup>[24]</sup>。*GIDB* 作为 GAs 的受体基因, 与 *GA20ox* 基因的表达呈正相关, 其与赤霉素结合形成二聚体, 将赤霉素的信号传递给下游元件, 在植物体上产生赤霉素效应。396289 材料在农艺性状上较 CCRI49 高, 且茎秆粗壮, 根系发达。本结果中, 396289 根组织内的 *GA20ox1* 表达量上调幅度较大, 这与该材料根系发达, 需要较多内源活性赤霉素以促进其生长有关。

## 4 结 论

本研究通过将棉花供试材料 CCRI49 和 39289 种植于不同地区, 比较其果枝始生节位的变化, 结果显示, 在阿拉尔地区生长条件下, 两材料果枝始生节位相比于安阳地区均有所降低, 推测与植株体内赤霉素表达水平有关。利用 Real-time PCR 方法对赤霉素代谢途径中关键酶基因的相对表达量分析表明, 在安阳地区, CCRI49 和 39289 两材料中赤霉素合成途径各关键酶基因在不同组织内的表达趋势基本一致, 茎组织中各相关基因表达量高, 为植株生长提供充足的活性 GAs; 在新疆阿拉尔地区, 由于干旱和盐渍化等环境条件的影响, CCRI49 和 39289 植株体内各赤霉素相关基因的表达量变化有所不同, 主要表现为 *CPS1*、*KS* 和 *KO* 等早期阶段基因表达量下调, *GA2ox1* 表达量上调, 以降低活性 GAs 合成, 应对逆境胁迫。

## 参考文献 References

[1] 李四游. 赤霉素对莲株型影响及其相关基因克隆与时空表达分析[D]. 武汉: 华中农业大学, 2015  
Li S Y. Gibberellin impact on lotus plant height and cloning

and expression analysis of its related genes[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2015 (in Chinese)

[2] Carrera E, Bou J, Garcia-Martinez J L, Prat S. Changes in GA 20-oxidase gene expression strongly affect stem length, tuber induction and tuber yield of potato plants[J]. *Plant Journal*, 2000, 22(3): 247-256

[3] Sakamoto T, Miura K, Itoh H, Tatsumi T, Ueguchi-Tanaka M, Ishiyama K, Kobayashi M, Agrawal G K, Takeda S, Abe K, Miyao A, Hirochika H, Kitano H, Ashikari M, Matsuoka M. An overview of gibberellin metabolism enzyme genes and their related mutants in rice[J]. *Plant Physiology*, 2004, 134 (4): 1642-1653

[4] Hedden P, Stephen GT. Gibberellin biosynthesis and its regulation[J]. *Biochemical Journal*, 2012, 444(1): 11-25

[5] 虞慧芳, 曹家树, 王永勤. 植物矮化突变体的激素调控[J]. 生命科学, 2002, 14(2): 85-88, 76  
Yu H F, Cao J S, Wang Y Q. Hormones regulation in plant dwarfing mutants [J]. *Chinese Bulletin of Life Sciences*, 2002, 14(2): 85-88, 76 (in Chinese)

[6] 刘洁, 李润植. 作物矮化基因与 GA 信号转导途径[J]. 中国农学通报, 2005, 21(1): 37-40  
Liu J, Li R Z. Dwarfing genes and GA signal transduction pathway in crops[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2005, 21(1): 37-40 (in Chinese)

[7] Toyomasu T, Kawaide H, Sekimoto H, Numers C, Phillips A L, Hedden P, Kamiya Y. Cloning and characterization of a cDNA encoding gibberellin 20-oxidase from rice (*Oryza sativa*) seedlings [J]. *Physiologia Plantarum*, 1997, 99(1): 111-118

[8] 岳川, 曾建明, 曹红利, 郝心愿, 章志芳, 王新超, 杨亚军. 茶树赤霉素受体基因 *CsGID1a* 的克隆与表达分析[J]. 作物学报, 2013, 39(4): 599-608  
Yue C, Zeng J M, Cao H L, Hao X Y, Zhang Z F, Wang X C, Yang Y J. Cloning and expression analysis of gibberellin receptor gene *CsGID1a* in tea plant (*Camellia sinensis*) [J]. *ACTA Agronomica Sinica*, 2013, 39 (4): 599-608 (in Chinese)

[9] 王秀莉, 姚颖娟, 彭惠茹, 张一, 逯腊虎, 倪中福, 孙其信. 赤霉素代谢及其调控相关基因的差异表达与小麦株高杂种优势的关系研究[J]. 科学通报, 2009, 54(16): 2320-2324  
Wang X L, Yao Y Y, Peng H R, Zhang Y, Lu L H, Ni Z F, Sun Q X. The relationship of differential expression of genes in GA biosynthesis and response pathways with heterosis of plant height in a wheat diallel cross [J]. *Chinese Science Bulletin*, 54(16): 2320-2324 (in Chinese)

[10] 刘斌. 黄瓜赤霉素受体基因 *CsGID1a* 的功能验证与表达谱分析[D]. 北京: 中国农业大学, 2017  
Liu B. Functional verification and expression spectrum analysis of *CsGID1a* of cucumber gibberellin receptor gene [D]. Beijing: China Agricultural University, 2017 (in Chinese)

[11] 李强, 吴建明, 梁和, 黄杏, 丘立杭. 高等植物赤霉素生物合

- 成及其信号转导途径[J]. 生物技术通报, 2014(10): 16-22
- Li Q, Wu J M, Liang H, Huang X, Qiu L H. Gibberellins biosynthesis and signaling transduction pathway in higher plant[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2014, (10): 16-22 (in Chinese)
- [12] 鲁井云, 卢龙, 邢佳毅, 舒晓娟, 唐丁, 胡建芳. 外施赤霉素对‘峰后’葡萄坐果及 *VvAG* 基因表达的影响[J]. 中国农业大学学报, 2015, 20(1): 53-59
- Lu J Y, Lu L, Xing J Y, Shu X J, Tang D, Hu J F. Improvement of fruit set and expression of *VvAG* in ‘Fenghou’ grapevine with exogenous gibberellin[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2015, 20(1): 53-59 (in Chinese)
- [13] 谈心, 马欣荣. 赤霉素生物合成途径及其相关研究进展[J]. 应用与环境生物学报, 2008, 14(4): 571-577
- Tan X, Ma X R. Advance in research of gibberellin biosynthesis pathway[J]. *Chinese Journal of Applied & Environmental Biology*, 2008, 14(4): 571-577 (in Chinese)
- [14] 张驰宇, 徐顺高, 黄新祥. 一种新颖简便的荧光实时 RT-PCR 相对定量方法的建立[J]. 生物化学与生物物理进展, 2005, 32(9): 883-888
- Zhang C Y, Xu S G, Huang X X. A Novel and convenient relative quantitative method of fluorescence real time RT-PCR Assay based on slope of standard curve[J]. *Progress in Biochemistry and Biophysics*, 2005, 32(9): 883-888 (in Chinese)
- [15] 倪中福, 孙其信, 吴利民, 解超杰, 孟凡荣. 小麦种间与品种间杂交种及其亲本之间基因差异表达比较研究[J]. 农业生物技术学报, 2001, 9(4): 366-370
- Ni Z F, Sun Q X, Wu L M, Xie C J, Meng F R. Alteration of gene expression in wheat hybrid  $F_1$  and their parental seedling leaves[J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2001, 9(4): 366-370 (in Chinese)
- [16] 王西成, 任国慧, 房经贵, 李阿英, 刘洪, 吴伟民, 赵密珍. 葡萄赤霉素合成相关基因克隆、亚细胞定位和表达分析[J]. 中国农业科学, 2012, 45(11): 2224-2231
- Wang X C, Ren G H, Fang J G, Li A Y, Liu H, Wu W M, Zhao M Z. Cloning, subcellular localization and expression analysis of genes related to the synthesis of gibberellin from grapevine[J]. *Scientia Agricultural Sinica*, 2012, 45(11): 2224-2231 (in Chinese)
- [17] 王西成, 吴伟民, 房经贵, 钱亚明, 王晨, 宋长年, 赵密珍. 葡萄赤霉素受体基因 *VvGID1A* 的分离、亚细胞定位及表达分析[J]. 园艺学报, 2013, 40(5): 839-848
- Wang X C, Wu W M, Fang J G, Qian Y M, Wang C, Song C N, Zhao M Z. Isolation, subcellular localization and expression analysis of gibberellin receptor gene *VvGID1A* from grapevine[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2013, 40(5): 839-848 (in Chinese)
- [18] 钟希琼, 王惠珍. 高等植物赤霉素生物合成及其调节研究进展[J]. 植物学通报, 2001, 18(3): 303-307
- Zhong X Q, Wang H Z. Progress on GA biosynthesis and regulation in higher plants[J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2001, 18(3): 303-307 (in Chinese)
- [19] 王丽. 赤霉素合成抑制剂 DPC 调控棉花营养生长的分子机制研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2014
- Wang L. Molecular mechanism of vegetative growth control by a gibberellin biosynthesis inhibitor DPC in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) [D]. Beijing: China Agricultural University, 2014 (in Chinese)
- [20] 范术丽, 喻树迅, 张朝军, 原日红, 宋美珍. 短季棉常用亲本早熟性状的遗传及配合力研究[J]. 棉花学报, 2004, 16(4): 211-215
- Fan S L, Yu S X, Zhang C J, Yuan R H, Song M Z. Study on heredity and combining ability of earliness of short season cotton[J]. *Cotton Science*, 2004, 16(4): 211-215 (in Chinese)
- [21] 李晨晨, 侯雷, 尹亮, 赵金凤, 袁守江, 张文会, 李学勇. 水稻极矮突变体 *s2-47* 对赤霉素的响应及基因定位研究[J]. 作物学报, 2013, 39(10): 1766-1774
- Li C C, Hou L, Yin L, Zhao J F, Yuan S J, Zhang W H, Li X Y. Gibberellin responsiveness and gene mapping of rice extreme dwarf mutant *s2-47*[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2013, 39(10): 1766-1774 (in Chinese)
- [22] 郭献平, 李兴亮, 段经纬, 邓舒, 曹庆芹, 秦岭. 板栗野生和芽变雄花序赤霉素合成关键酶基因比较分析[J]. 中国农业大学学报, 2012, 17(4): 91-95
- Guo X P, Li X L, Duan X W, Deng S, Cao Q Q, Qin L. Comparison of key enzymes of gibberellin biosynthesis between normal catkin and short catkin in *Castanea mollissima* BI [J]. *Journal of China Agricultural University*, 2012, 17(4): 91-95 (in Chinese)
- [23] 王成祥, 李长生, 侯蕾, 刘学英, 安静, 万书波, 毕玉平, 王兴军. 花生赤霉素 2-氧化酶基因的克隆和表达研究[J]. 山东农业科学, 2013, 45(1): 14-18, 24
- Wang C X, Li C S, Hou L, Liu X Y, An J, Wan S B, Bi Y P, Wang X J. Cloning and expression analysis of Gibberellin 2-Oxidase gene from peanut (*Arachis hypogaea* L.) [J]. *Shandong Agricultural Sciences*, 2013, 45(1): 14-18, 24 (in Chinese)
- [24] Lee D J, Zeevaart J A. Differential regulation of RNA levels of gibberellin dioxygenases by photoperiod in spinach[J]. *Plant Physiology*, 2002, 130(4): 2085-2094