



## 甘蔗节间伸长过程赤霉素生物合成关键基因的表达及相关植物激素动态变化

范业赓<sup>1†</sup>, 丘立杭<sup>1†</sup>, 黄杏<sup>1</sup>, 周慧文<sup>1</sup>, 甘崇琨<sup>2</sup>, 李杨瑞<sup>1</sup>, 杨荣仲<sup>1</sup>, 吴建明<sup>1\*</sup>, 陈荣发<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>广西壮族自治区农业科学院, 甘蔗研究所/农业部广西甘蔗生物技术与遗传改良重点实验室/广西甘蔗遗传改良重点实验室, 南宁 530007; <sup>2</sup>广西崇左市江州区土肥站, 崇左 532200

**摘要** 以甘蔗(*Saccharum officinarum*)优良品种桂糖42号(GT42)为研究材料, 分别于未伸长期(9–10叶龄以前) (Ls1)、伸长初期(12–13叶龄) (Ls2)和伸长盛期(15–16叶龄) (Ls3)取甘蔗第2片真叶(自顶部起)对应的节间组织, 测定其赤霉素(GA)、生长素(IAA)、油菜素甾醇(BR)、细胞分裂素(CTK)、乙烯(ETH)和脱落酸(ABA)的含量, 并通过实时荧光定量PCR(qRT-PCR)分析赤霉素合成途径关键基因GA<sub>20</sub>氧化酶基因(*GA20-Oxidase1*)、赤霉素受体基因(*GID1*)和DELLA蛋白编码基因(*GAI*)的差异表达。结果表明, 在甘蔗伸长期间, GA和IAA含量呈现上升趋势, CTK和ABA含量呈下降趋势, ETH含量先上升后下降, BR含量则变化不明显; *GA20-Oxidase1*和*GID1*的表达呈上升趋势, 而*GAI*的表达则呈下降趋势, 这与相关植物激素的变化基本一致。综上, 甘蔗节间伸长过程主要与GA和IAA相关, 其次为CTK和ABA, 而ETH受到IAA的调控影响节间伸长; 植物激素间通过相互作用调控*GA20-Oxidase1*、*GID1*和*GAI*的表达, 影响GA含量和GA的信号转导过程, 进而影响甘蔗节间的伸长。该研究揭示了甘蔗节间伸长过程中赤霉素生物合成途径和信号转导关键基因的差异表达及植物激素含量的动态变化规律。

**关键词** 植物激素, 赤霉素, 基因表达分析, 节间伸长, 甘蔗

范业赓, 丘立杭, 黄杏, 周慧文, 甘崇琨, 李杨瑞, 杨荣仲, 吴建明, 陈荣发 (2019). 甘蔗节间伸长过程赤霉素生物合成关键基因的表达及相关植物激素动态变化. 植物学报 54, 486–496.

甘蔗(*Saccharum officinarum*)高产的根本在于提高蔗茎产量, 节间是决定甘蔗株高进而影响其单茎重的重要农艺性状, 而甘蔗单产由单位面积的有效茎数和单茎重决定。由此可见, 节间伸长对蔗茎产量的形成具有重要影响, 因此适当促进甘蔗节间伸长是提高单产最有效的途径之一(吴建明, 2010a)。深入研究甘蔗节间伸长的内在机理, 对通过生物技术手段促进节间伸长以实现蔗茎产量增加具有重要的实践指导意义。

植物茎秆生长的直接体现是节数增多和节间组织伸长, 最终表现为植株高度增加。目前, 前人已从细胞学、生理学及分子生物学等方面对植物节间(茎)伸长机理进行探究。在细胞学方面, 通过解剖植物节

间组织, 总结出节间组织在不同生长阶段的伸长规律(甘小洪和丁雨龙, 2004; Hattori et al., 2009; Cui et al., 2012; 陈登举等, 2013; 李霞和郭振华, 2014; 郭光生等, 2018)。生理学研究表明, 植物节间(茎)伸长发育过程与植物体内蛋白质(杨奕等, 2015)和糖类物质含量(徐有明等, 2008; 甘小洪等, 2013)、相关酶活性(吴建明, 2010b; 许婷婷等, 2016; 张同祯等, 2016)以及植物激素(季兰和杨仁崔, 2002; 肖辉海, 2008; 肖辉海等, 2011; 卫晓轶等, 2011; 方楷等, 2011; 杨晓婉等, 2014; Wang et al., 2015; 江雪等, 2016; 姜勇等, 2017)的变化相关。在分子生物学方面, 主要针对赤霉素生物合成与信号转导重要组分相

收稿日期: 2018-06-19; 接受日期: 2018-12-10

基金项目: 国家自然科学基金(No.31360312, No.31701363)、广西自然科学基金(No.2016GXNSFBA380034, No.2017GXNSFBA198050, No.2018GXNSFAA138149)、广西科技计划(No.桂科攻1598006-1-2E, No.桂科AA17202042-13)和国家农业产业技术体系广西甘蔗创新团队专项(No.gjnytxgxcxd-03)

† 共同第一作者

\* 通讯作者。E-mail: wujianming2004@126.com; 389001826@qq.com

关基因与植物节间伸长的关系进行探究(Rieu et al., 2008; Mauriat and Moritz, 2009; Lawit et al., 2010; 李兴亮等, 2011; Eriksson et al., 2015; 魏强和丁雨龙, 2017), 通过对植物节间伸长动态发生过程中的差异表达基因进行分析, 获得了一些与节间伸长相关的差异基因或蛋白(Cui et al., 2012; He et al., 2013; Peng et al., 2013; Gao et al., 2014; 张珂, 2014; 张春玲, 2014; 张莹等, 2015)。但上述研究主要集中于拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)、水稻(*Oryza sativa*)、毛竹(*Phyllostachys heterocycla*)和玉米(*Zea mays*)等植物, 而在甘蔗中的研究深度和广度亟待拓宽。本研究以甘蔗优良品种桂糖42号(GT42)为材料, 分别于未伸长期(9–10叶龄) (Ls1)、伸长初期(12–13叶龄) (Ls2)和伸长盛期(15–16叶龄) (Ls3) 3个时期取甘蔗第2片真叶(自顶部起)对应的节间组织, 测定其赤霉素(GA)、生长素(IAA)、油菜素甾醇(BR)、细胞分裂素(CTK)、乙烯(ETH)和脱落酸(ABA)的含量, 并分析赤霉素生物合成和信号转导关键基因GA20-Oxidase1、GID1和GAI的差异表达, 旨在为解析赤霉素等植物激素对甘蔗节间伸长过程的调控作用奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

实验于2016年3–12月在广西壮族自治区农业科学院甘蔗研究所及广西甘蔗生物技术与遗传改良重点实验室完成。供试材料为甘蔗(*Saccharum officinarum* L.)优良品种桂糖42号(GT42)。选用第5节蔗芽(自蔗茎顶部起)进行30°C沙培育苗, 待蔗苗长至1叶龄时移栽到智能温室试验田。甘蔗的种植和管理参照王伦旺等(2015)报道的方法。在甘蔗长至9–10片真叶(即未伸长期, Ls1)、12–13片真叶(即伸长初期, Ls2)和15–16片真叶(即伸长盛期, Ls3)时, 采用混合取样法分别于这3个时期对甘蔗第2片真叶(自茎顶部起)包裹的节间组织进行取样, 将每5株长势相对一致的植株样品混合作为1次重复, 每个时期取3次重复。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 植物激素含量测定

采用气相色谱方法测定乙烯释放速率: 利用手术刀将甘蔗第2片真叶(自茎顶部起)包裹的节间完整茎段取

下并迅速放入25 mL锥形瓶中, 立刻旋紧硅胶盖并计时, 整个过程避免对茎段的二次伤害。室温静置1小时后, 从锥形瓶中用进样针吸取1 mL气体(含样品释放的乙烯)手动进样。色谱仪: Aglient 6890N GC System; 色谱柱: rtx-1 (毛细管柱), 30.0 m×0.25 mm×0.25  $\mu$ m (Restek, 美国); 色谱条件: 进样口(SPL) 100.0°C, 柱温60°C; 氢离子火焰检测(FID)温度130°C; 载气He流速30 mL·min<sup>-1</sup>; 燃气H<sub>2</sub>流速30 mL·min<sup>-1</sup>; 空气流速400 mL·min<sup>-1</sup>, 分流比35; 压力控制流量, 压力113.5 kPa, 不分流进样; 乙烯标样用He稀释1 000倍配制成混合气体。每个样品重复测定3次。

GA、IAA、BR、CTK和ABA的含量测定采用酶联免疫吸附分析法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) (吴建明等, 2009), 参照陈明辉等(2013)的方法进行提取和测定。每个样品重复测定3次。相应激素测定试剂盒购自中国农业大学作物化学控制实验室。

#### 1.2.2 基因的实时定量PCR分析

甘蔗样品总RNA采用RNA prep Pure多糖多酚植物总RNA提取试剂盒(天根, Cat No.DP441)提取, 并利用LabChip® GX Touch 24分析仪器(PerkinElmer)测定总RNA质量和浓度。采用FastQuant RT Kit (with gDNase)试剂盒(天根, Cat No.KR106)合成cDNA第1链, 反应在ABI Veriti™ Thermal Cyclers PCR扩增仪上完成。

本课题组前期利用同源克隆和RACE技术已获得甘蔗GA20-Oxidase1、GID1和GAI基因的全长cDNA序列(数据未发表)。以甘蔗25S rRNA基因(BQ-536525)为内参(阙友雄等, 2009), 利用Primer 5.0软件设计实时荧光定量PCR引物(表1), qRT-PCR反应步骤参照吴建明等(2009)的方法, 每个PCR反应设3次重复。反应条件为: 95°C预变性90秒; 95°C变性5秒, 60°C退火15秒, 读取荧光值, 72°C延伸20秒, 40次循环。循环后设置65.0–95.0°C每隔1.0°C读取荧光值生成熔解曲线。采用2<sup>- $\Delta\Delta$ Ct</sup>法计算样品基因相对表达量。

#### 1.2.3 数据统计分析

采用Microsoft Excel 2010软件处理数据, 采用DPS7.05软件进行数据方差分析和LSD法显著性检验, 采用GraphPad Prism 6.0软件作图, 图表中的数值为平均值±标准差。

表1 实时荧光定量PCR引物序列

Table 1 Primers for real-time quantitative PCR

Genes	Sequences of primers (5'-3')	Tm (°C)	Product length (bp)
25S rRNA	F: CGAATACGAACCGTGAAAGC	58.4	164
	R: ACAATGATAGGAAGAGCCGACA	59.0	
GA20-Oxidase1	F: CCGTCGTGGACTACTTCG	54.0	205
	R: CACGGCGGGTAGTAGTTGAG	58.3	
GID1	F: GGTCATCCTCTTCTTCCACGG	60.8	119
	R: AGTTGACGGACACCACGACG	61.3	
GAI	F: GCGACGACAAGGATGAGGA	58.8	186
	R: TGAAGCGGTCAAGGAATGTG	59.2	

2 结果与讨论

2.1 不同伸长时期甘蔗节间生长差异

甘蔗伸长生长过程中，其节间数不断增加，且同一节位的节间也随生育时期的推进而不断伸长(表2；图1)，而株高的增加是甘蔗节间伸长的最终体现。3个不同时期甘蔗株高差异达极显著水平(表2)，Ls1时期甘蔗节间被叶鞘完全包裹(图1A)，未发现明显的节间，表明甘蔗节间处于形成阶段，即未伸长期；待至Ls2和Ls3时甘蔗已经拔节，茎节间已明显伸长可见(图1B, C)，且茎节数也明显增多，同时伸长速率增长较快，达极显著水平(表2)。以株高每日增长幅度来表征甘蔗节间伸长速率，Ls1时期最为缓慢，每日增加约0.4 cm；随后甘蔗节间伸长加快，在Ls2时期，节间每日增加约1 cm，且Ls3时期的长速约是Ls2的3倍，平均节间长度的增幅也呈相似的结果(表2)。上述研究结果表明，甘蔗Ls1、Ls2和Ls3三个时期的伸长在表型和生长速度方面都存在显著差异。

2.2 甘蔗节间伸长过程中主要植物激素含量的动态变化

植物激素在作物生长发育的几乎所有生理过程中均发挥重要调控作用。节间伸长是甘蔗株高形成的关键，

对单茎重的贡献重大。本研究表明，不同植物激素在甘蔗节间组织中的总含量差异很大，且呈现不同的动态趋势(图2，图3)。

随着节间的不断伸长，甘蔗茎节中BR含量的变化不明显，但维持在一个较高的水平；同时，GA和IAA含量呈单峰上升趋势，伸长盛期达到最高值，分别为122.5 ng·g<sup>-1</sup> FW和21.3 ng·g<sup>-1</sup> FW，且在伸长与未伸长时期节间组织中的差异均达极显著水平(图2A, B)；而ABA和CTK的结果则相反，在不同伸长时期甘蔗茎节中ABA和CTK含量随节间伸长呈不断下降的趋势，在伸长盛期达到最低值，分别为18.1 ng·g<sup>-1</sup> FW和33.4 ng·g<sup>-1</sup> FW，且不同伸长阶段的含量差异均达极显著水平，ABA的降幅最大(图2C, D)。

在不同伸长时期，茎节组织中的ETH含量总体呈上升的动态变化，表现为未伸长期含量最低；伸长初期剧增，此时节间伸长开始启动；待伸长盛期有所下降，但伸长盛期和伸长初期之间的差异不显著(图2E)。

上述研究结果表明，在未伸长期(Ls1)-伸长初期(Ls2)-伸长盛期(Ls3)转变过程中，甘蔗茎节中主要植物激素GA、IAA、BR、CTK和ABA含量波动较大，不同时期之间差异达极显著水平；ETH平均总含量表现为在伸长初期(Ls2)显著升高后趋于平稳；而BR含量在不同时期差异不显著。这表明甘蔗节间伸长动态与

表2 不同时期甘蔗的伸长情况(平均值±标准差)

Table 2 The elongation of sugarcane at different stages (means±SD)

Period	Plant height (cm)	Elongation rate (cm·d <sup>-1</sup> )	Internode number	Average internode length (cm)
Ls1	39.38±1.10	0.44±0.01	4±1	6.09±0.28
Ls2	68.37±1.25**	0.97±0.07**	7±1**	8.05±0.18**
Ls3	147.13±0.85**	2.63±0.06**	12±1**	11.43±0.07**

\*\* 表示极显著性差异(P<0.01)。Ls1、Ls2和Ls3分别表示甘蔗未伸长期、伸长初期和伸长盛期。

\*\* indicate extremely significant differences (P<0.01). Ls1, Ls2 and Ls3 represents the non-elongation period, early elongation period and elongation period of sugarcane, respectively.

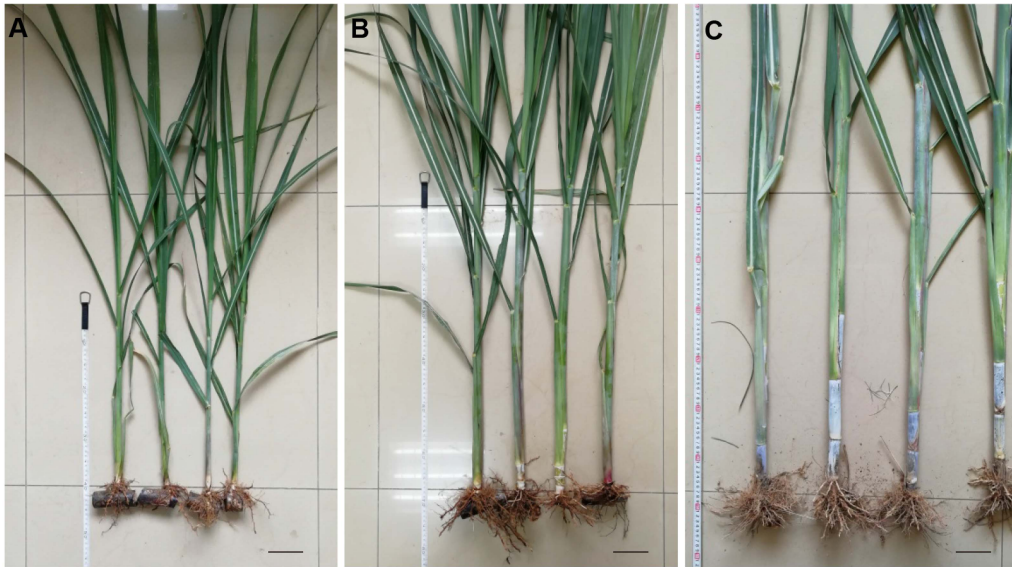


图1 不同时期甘蔗节间生长的差异

(A) 未伸长期(Ls1)甘蔗株高; (B) 伸长初期(Ls2)甘蔗株高; (C) 伸长盛期(Ls3)甘蔗株高。Bars=10 cm

Figure 1 Changes of sugarcane elongation at different stages

(A) The sugarcane plant height of non-elongation stage (Ls1); (B) The sugarcane plant height of early elongation stage (Ls2); (C) The sugarcane plant height of elongation stage (Ls3). Bars=10 cm

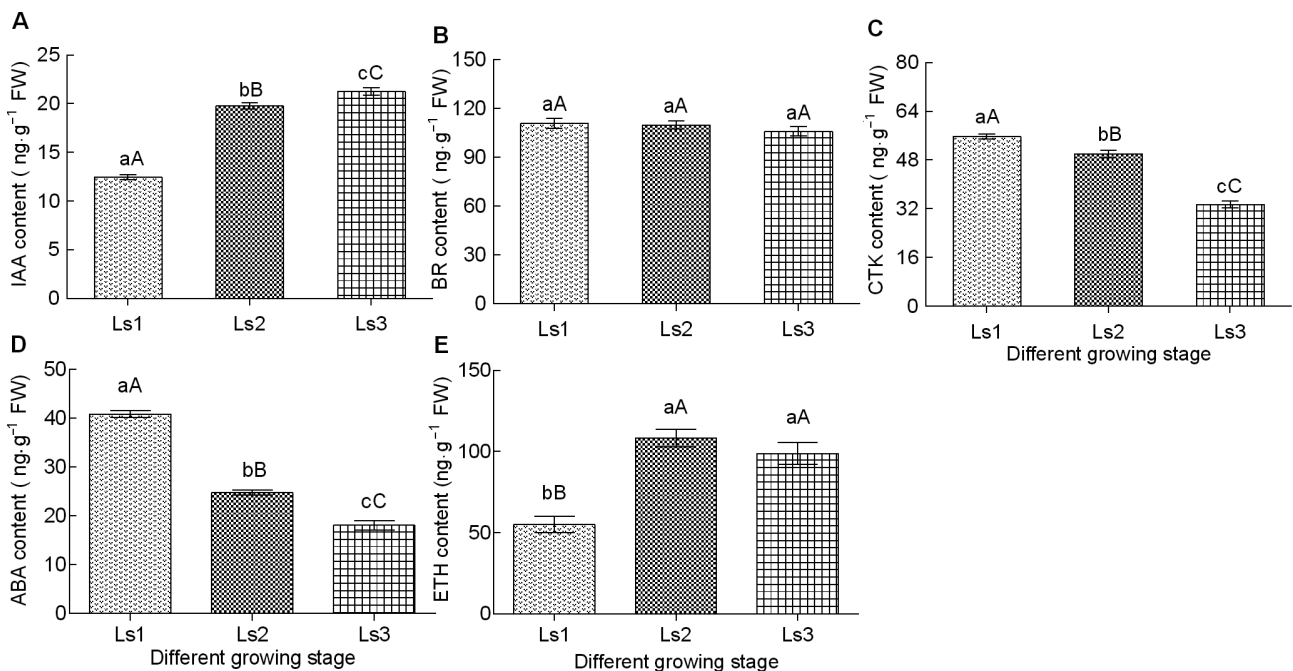


图2 不同伸长时期甘蔗节间植物激素含量变化

(A) 生长素(IAA); (B) 油菜素甾醇(BR); (C) 细胞分裂素(CTK); (D) 脱落酸(ABA); (E) 乙烯(ETH)。不同小写字母表示差异显著 ( $P<0.05$ ), 不同大写字母表示差异极显著 ( $P<0.01$ )。Ls1–Ls3同表2。

Figure 2 Changes of endogenous hormone contents in sugarcane internode during different elongation stages

(A) Indole acetic acid (IAA); (B) Brassinosteroids (BR); (C) Cytokinin (CTK); (D) Absciscic acid (ABA); (E) Ethylene (ETH). The different lowercase letters indicate significant differences ( $P<0.05$ ), and the different capital letters indicate extremely significant differences ( $P<0.01$ ). Ls1–Ls3 see Table 2.

上述植物激素代谢水平密切相关, 但不同植物激素的影响程度存在差异。

## 2.3 甘蔗节间伸长过程中赤霉素合成关键基因的表达与赤霉素含量变化

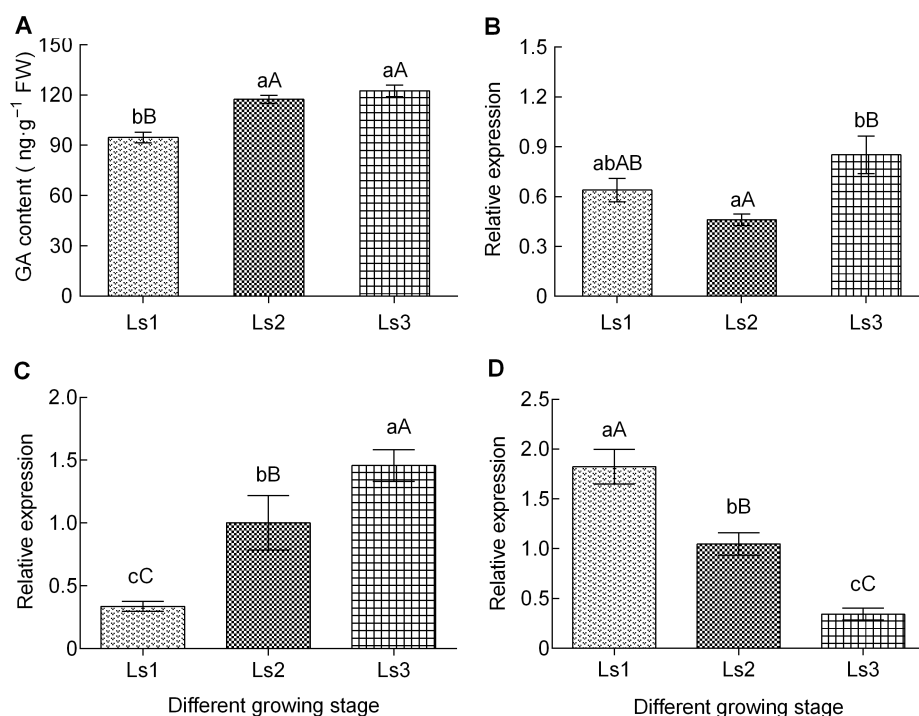
### 2.3.1 甘蔗 *GA20-Oxidase1* 的表达对节间赤霉素含量的影响

植物体内GA浓度和分布调控植物的长势。*GA20-Oxidase*属于可溶性的双加氧酶, 是赤霉素生物合成过程的关键限速酶和决定性因子(Coles et al., 1999; Lee et al., 2002)。在甘蔗节间伸长的过程中, 虽然在伸长和未伸长的节间组织中*GA20-Oxidase1*的表达

差异不显著, 但在伸长初期至盛期其表达量差异达极显著水平; 且节间组织中*GA20-Oxidase1*的表达量呈总体上升趋势(图3B)。这与GA和IAA含量的总体变化动态相一致(图2A, 图3A), 可见, *GA20-Oxidase1*的表达影响GA和IAA的变化。

### 2.3.2 甘蔗赤霉素信号转导基因 *GID1* 和 *GAI* 的表达与节间赤霉素含量的变化

*GID1*蛋白已被证实是一种可溶性的赤霉素受体蛋白, 正调控赤霉素信号转导, 由*GID1*基因编码(Ueguchi-Tanaka et al., 2005)。在甘蔗节间伸长过程中, 不同伸长时期*GID1*基因的表达量呈单边上升的趋势, 在



**图3** 甘蔗节间伸长过程中赤霉素含量变化及其合成途径关键基因的差异表达

(A) 赤霉素(GA)含量; (B) *GA20-Oxidase1*的表达量; (C) *GID1*的表达量; (D) *GAI*的表达量。不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ ), 不同大写字母表示差异极显著( $P<0.01$ )。Ls1–Ls3同表2。

**Figure 3** The changes of gibberellin content and genes differential expression of synthetic pathways during sugarcane inter-node elongation

(A) The content of gibberellic acid (GA); (B) The expression level of *GA20-Oxidase1*; (C) The expression level of *GID1*; (D) The expression level of *GAI*. The different lowercase letters indicate significant differences ( $P<0.05$ ), and the different capital letters indicate extremely significant differences ( $P<0.01$ ). Ls1–Ls3 see Table 2.

伸长盛期(Ls3)表达量最高, 且各时期之间的差异均达极显著水平( $P<0.01$ ); 同时, *GID1*基因的表达动态也与GA和IAA含量的变化趋势相一致(图3A, C)。以上结果表明, *GID1*基因对GA和IAA的积累以及将GA信

号作用于节间组织起到促进作用, 从而刺激节间组织快速伸长。

DELLA蛋白是在GA信号转导过程中起负调节作用的转录调控因子, 通过阻遏赤霉素信号转导而抑制

植物生长发育, 在植物中主要由GAI、RGA和SCR基因家族编码(Thomas and Hedden, 2018)。在甘蔗节间伸长过程中, 不同伸长时期GAI基因在茎节中的表达呈显著下降趋势(图3D), 这一动态与GA和IAA含量变化趋势相反, 暗示GAI的表达与节间伸长呈负相关, 其表达量快速下降可能是甘蔗节间组织伸长启动和快速生长发育的关键。

## 2.4 讨论

### 2.4.1 植物激素与蔗茎节间伸长的关系

植物激素参与调控植物生长发育的各个方面, 在植物各生长阶段和环境胁迫响应过程中均发挥重要作用(段娜等, 2015; 杜维等, 2018)。前人研究表明, 在禾本科作物中, 赤霉素和生长素促进节间伸长和细胞分裂, 进而显著影响其茎秆伸长, 且赤霉素与茎秆伸长生长的关系最密切(Kende et al., 1998; Ross et al., 2000; 季兰和杨仁崔, 2002; Hattori et al., 2009; Magome et al., 2013; Takatsuka and Umeda, 2014; Ayano et al., 2014)。Wang等(2015)对毛竹节间不同发育时期植物激素变化进行探究, 发现IAA和GA含量呈显著正相关( $r=0.712$ ,  $P<0.05$ ), IAA和GA都与ABA含量呈负相关。张春玲(2014)研究表明毛竹笋发育成茎过程中IAA和GA呈总体上升的动态变化。上述研究结果表明, 节间伸长与生长素和赤霉素含量关系密切。本研究也显示, 在甘蔗茎节伸长过程中, Ls1(未伸长期)伸长最为缓慢, Ls2(伸长初期)甘蔗节间伸长加快, Ls3(伸长盛期)的长速进入加速期; 在这一过程中, GA和IAA含量也不断增加, 但GA含量明显高于IAA, 这可能是由于IAA的协同作用或者促进GA转运与积累所致(Ross et al., 2000; Takatsuka and Umeda, 2014); 也可能是顶端优势抑制IAA的含量在茎节间的分布差异引起(吴建明等, 2009)。这表明在正常生理条件下, GA和IAA在甘蔗茎节中的积累有利于节间伸长, GA起主要作用, 而高浓度IAA可能发挥相反的作用。

乙烯以其催熟作用被大家所熟悉, 曾一度被认为抑制植物生长(Abeles et al., 1992)。后来发现乙烯的积累是深水水稻节间伸长所必需(Hattori et al., 2009)。将外源乙烯作用于深水水稻的茎段, 不仅会诱导茎伸长, 而且诱导GA代谢酶基因的表达(Choi et al., 1995), 而低浓度外源乙烯还能够促进番茄

(*Lycopersicon esculentum*)茎的伸长(Pierik et al., 2003)。此外, 乙烯对茎伸长还有间接效应, 即增加幼嫩节间对GA的敏感性(Kende et al., 1998)。上述研究表明, 乙烯在不同条件下对茎伸长的效应差异较大。本研究表明, 随着甘蔗节间不断伸长, 乙烯在节间组织中不断积累。从不同时期看, Ls1时含量较低, 到Ls2时剧增, Ls3时有所下降, 这暗示未伸长期(Ls1)细胞横向生长和伸长生长同时进行, 导致乙烯含量较低, 在伸长初期(Ls2), 生长素的浓度可能超过最适浓度, 进而促进乙烯含量增加。Ls2至Ls3时期乙烯的下降可能是由于节间的快速生长需要大量的GA, 而ETH信号的积累可促进活性GA的合成(Pierik et al., 2004)。

ABA是植物生长发育过程中的重要信号分子, 与GA协同调控组织细胞的伸长(Li et al., 2015)。本研究表明, 在不同伸长时期, 节间组织中ABA的含量随着节间伸长而不断减少, 可能是与GA拮抗作用的结果(Li et al., 2015), 也可能是在非胁迫条件下ABA通过激活其分解代谢途径进而限制自身的累积, 以响应自身生长发育的需要(Cutler and Krochko, 1999; Qin and Zeevaart, 2002)。本研究结果与在毛竹和小麦(*Triticum aestivum*)的不同发育期, 节间发育过程中不同器官GA和ABA含量的动态变化相一致(丁兴萃, 1997; 刁家连和何钟佩, 1998; 吴良如和萧江华, 1998)。由此表明, ABA参与正常生理条件下甘蔗节间伸长调控, 其在茎节中的过量积累可能对茎秆伸长不利。

GA和CTK在植物不同生长阶段具有相反的作用, 包括茎和根伸长、细胞分裂、生长点的再生和分裂等(吴建明等, 2009); 高GA水平与低CTK含量的配合(即GA/CTK比值大)有利于节间伸长(刁家连和何钟佩, 1998)。本研究与前人研究结果基本一致, 在甘蔗节间伸长过程中, GA含量呈上升趋势, 而CTK则与之相反呈下降趋势(图2C, 图3A), 这暗示GA与CTK相互作用, 共同调控甘蔗节间的伸长。

除上述植物激素外, 其它植物激素如茉莉酸(JA)(冯孟杰等, 2015)、水杨酸(SA)(王利军等, 2002)和独脚金内酯(SL)(冯丹和陈贵林, 2011)也参与调控植物生长发育。茉莉酸具有抑制根伸长和促进植物衰老的生物学功能。李欢庆等(2008)发现高浓度JAs导致H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>积累, 破坏细胞正常代谢, 抑制细胞伸长, 进而

抑制根的伸长。水杨酸与植物抗逆性密切相关。李惠民等(2010)发现外源SA可以抑制黄瓜(*Cucumis sativus*)种子内源乙烯的合成和释放,进而抑制后期胚根的伸长。独脚金内酯抑制植物的分枝和侧芽生长,其在水稻根部合成,由根向上运输到茎,从而抑制水稻分蘖(黎舒佳等, 2015),但还没有相关研究表明这3种激素与植物节间细胞伸长相关。此外,这3种植物激素是否与其它激素协同调控甘蔗节间伸长,还有待进一步研究。

综上,甘蔗节间伸长受多种植物激素的调控,它们之间的关系复杂。从节间植物激素总体含量来看,GA可能在节间伸长过程中发挥主要作用,其次是IAA,且GA与ETH、CTK和ABA等互作,共同调控甘蔗节间的生长发育。

#### 2.4.2 甘蔗节间伸长受赤霉素生物合成及信号转导关键基因的影响

赤霉素合成和代谢受到许多内外因素的影响(De Lucas et al., 2008),适当浓度的GAs能够促进植物的伸长生长。GA20-Oxidase是植物体GAs生物合成的关键限速酶,它的表达量决定着活性GAs的含量;内源GAs及外界环境因子对植物生长发育的调节与GA20-Oxidase1转录水平有关(刘芳等, 2013)。已有大量研究证明,过表达GA20-Oxidase1会引起植株体内赤霉素含量增加,进而促进植物节间的伸长(Coles et al., 1999; Rieu et al., 2008; Eriksson et al., 2015; Voorend et al., 2016)。本研究表明,在甘蔗节间伸长过程中,GA20-Oxidase1的表达量总体呈上升趋势,虽然伸长初期(Ls2)其表达下降,但与未伸长期(Ls1)的差异不显著,而伸长盛期(Ls3)其表达量大幅增加(图3B);此时的GA含量呈逐渐上升趋势(图3A)。这表明GA20-Oxidase1的总体表达与GA含量变化一致,暗示GA20-Oxidase1的表达量与GA含量呈正相关,也表明GA20-Oxidase1的表达对节间伸长有利。这与前人的研究结果基本相符。而伸长初期(Ls2)GA20-Oxidase1表达量下降可能是GA反馈调节引起(Hedden and Phillips, 2000)。

DELLA蛋白负向调节GA信号转导,抑制赤霉素的合成,从而阻遏植物生长发育。敲除GAI后,植株表现出PAC (paclobutrazol, GAs生物合成抑制剂)抗性,但不能恢复其矮化表型(Peng et al., 1997)。进一步分析显示,GAs促进植物生长发育是通过GID1介导活性

GAs降解DELLA蛋白来完成(Feng et al., 2008; Gao et al., 2008; Wang and Deng, 2014)。因此,GID1基因过量表达能够使植物矮化突变体株高得到较大程度的恢复(Xiao et al., 2006; 董静等, 2009; 李兴亮等, 2011);相反,GAI基因的表达促使DELLA蛋白积累进而抑制生长(陈宇杰等, 2017)。在甘蔗节间伸长不同时期,GID1基因的表达量呈单边显著上升趋势,在伸长盛期(Ls3)表达最活跃,与此同时GA含量积累最大,节间也以 $2.63 \text{ cm} \cdot \text{d}^{-1}$ 的速度快速生长;相反,GAI基因的表达量呈单边明显下降趋势。结合前人的研究结果,本研究表明甘蔗节间GID1和GAI的差异表达与GA含量动态密切相关,且GID1的高表达和GAI的低表达是赤霉素响应甘蔗节间伸长的遗传基础。

综上所述,本研究中GA20-Oxidase1和GID1相对表达量的变化趋势与GA含量的变化趋势一致,而GAI则相反,表明甘蔗体内GAs含量变化受GA20-Oxidase1、GID1和GAI的差异表达调控,且GA20-Oxidase1基因表达促进甘蔗节间GA的生物合成;而GID1的表达利于活性GA与GID1受体结合,进而介导DELLA蛋白在节间组织中的降解,同时高浓度GA抑制GAI的表达,加快了赤霉素促进茎节伸长的生理效应,从而实现甘蔗株高的增长。

总之,甘蔗的节间伸长是一个复杂的生理生化过程,植物激素合成与代谢及其相关调控基因在其中发挥重要作用,它们直接的内在联系和调控网络还需深入研究。

### 3 结论

甘蔗茎节中的植物激素动态影响其节间伸长,而赤霉素最突出的生理功能就是促进植物茎秆伸长。甘蔗节间伸长过程主要与GA和IAA相关,其次为CTK和ABA,而ETH受到IAA的调控影响节间伸长。GAs是调控甘蔗茎节伸长的主效因素,GA20-Oxidase1、GID1和GAI基因的差异表达调控茎节中GA的含量变化,进而影响甘蔗节间伸长。

#### 参考文献

陈登举, 高培军, 吴兴波, 高岩, 温国胜, 王玉魁, 高荣孚, 张汝民 (2013). 毛竹茎秆叶肉超微结构及其发射荧光光谱



- 特征. 植物学报 **48**, 635–642.
- 陈明辉, 黄杏, 谢晓娜, 杨丽涛, 李杨瑞, 陈保善 (2013). 宿根矮化病菌对甘蔗生长和内源激素的影响. 华中农业学报 **32**(3), 57–61.
- 陈宇杰, 刘飞, 梁菲菲, 石君, 赵焕梦 (2017). 蓖麻DELLA蛋白家族GA1基因克隆、表达及生物信息学分析. 内蒙古民族大学学报(自然科学版) **32**, 320–327.
- 刁家连, 何钟佩 (1998). 冬小麦茎秆生长过程中内源激素动态的系统研究. 中国农业大学学报 **3**(增刊), 16–20.
- 丁兴萃 (1997). 毛竹笋体生长发育过程中内源激素的动态分析. 竹子研究汇刊 **16**(2), 53–62.
- 董静, 尹梦回, 杨帆, 赵娟, 覃珊, 侯磊, 罗明, 裴炎, 肖月华 (2009). 棉花赤霉素不敏感矮化GID1同源基因的克隆和表达分析. 作物学报 **35**, 1822–1830.
- 杜维, 丁健, 阮成江 (2018). 沙棘果实发育过程中内源激素水平的动态变化. 植物学报 **53**, 219–226.
- 段娜, 贾玉奎, 徐军, 陈海玲, 孙鹏 (2015). 植物内源激素研究进展. 中国农学通报 **31**(2), 159–165.
- 方楷, 杨光耀, 杨清培, 黄俊宝, 施建敏, 于芬 (2011). 毛竹成竹过程中内源激素动态变化. 江西农业大学学报 **33**, 1107–1111.
- 冯丹, 陈贵林 (2011). 独脚金内酯调控侧枝发育的研究进展. 生态学杂志 **30**, 349–356.
- 冯孟杰, 徐恒, 张华, 朱英 (2015). 茉莉素调控植物生长发育的研究进展. 植物生理学报 **51**, 407–412.
- 甘小洪, 丁雨龙 (2004). 毛竹茎秆纤维发育过程的超微结构观察. 植物学通报 **21**, 180–188.
- 甘小洪, 唐翠彬, 温中斌, 丁雨龙 (2013). 寿竹笋的营养成分研究. 天然产物研究与开发 **25**, 494–499.
- 郭光生, 曾炳山, 范春节, 裘珍飞 (2018). 外施GA<sub>3</sub>对巨桉木质部发育的影响. 分子植物育种 **16**, 602–606.
- 季兰, 杨仁崔 (2002). 水稻茎伸长生长与植物激素. 植物学通报 **19**, 109–115.
- 江雪, 楼崇, 袁娜, 岳晋军, 顾小平 (2016). 外源GA<sub>3</sub>对毛竹实生苗新分蘖竹株秆形与竹材纤维质量的影响. 南京林业大学学报(自然科学版) **40**(2), 121–126.
- 姜勇, 胡尚连, 曹颖, 卢学琴, 黄艳, 徐刚 (2017). 外源GA<sub>3</sub>对毛竹实生苗茎秆生长及CesA基因表达的影响. 植物研究 **37**, 744–750.
- 李欢庆, 李桂玲, 崔香环, 安国勇, 宋纯鹏 (2008). 茉莉酸甲酯抑制拟南芥根伸长生长电生理学机制. 广西植物 **28**, 414–419.
- 李惠民, 李宏亮, 高吉仁 (2010). 水杨酸对黄瓜种子萌发和胚根伸长的影响及其与乙烯的关系. 西安工程大学学报 **24**, 773–775.
- 黎舒佳, 高谨, 李家洋, 王永红 (2015). 独脚金内酯调控水稻分蘖的研究进展. 植物学报 **50**, 539–548.
- 李霞, 郭振华 (2014). 麻竹节间伸长过程的初步研究. 植物分类与资源学报 **36**, 22–28.
- 李兴亮, 郭献平, 沈元月, 曹庆芹, 冯永庆, 秦岭 (2011). 板栗赤霉素缺陷型短雄花序芽变的初步鉴定及CmGID1基因的表达分析. 园艺学报 **38**, 1251–1258.
- 刘芳, 袁华招, 沈欣杰, 廖雄, 李天红 (2013). 外源GA<sub>3</sub>和PP<sub>333</sub>对甜樱桃新梢生长及赤霉素代谢关键基因表达的影响. 核农学报 **27**, 272–278.
- 阙友雄, 许莉萍, 徐景升, 张积森, 张木清, 陈如凯 (2009). 甘蔗基因表达定量PCR分析中内参基因的选择. 热带作物学报 **30**, 274–278.
- 王利军, 战吉成, 黄卫东 (2002). 水杨酸与植物抗逆性. 植物生理学通讯 **38**, 619–624.
- 王伦旺, 廖江雄, 谭芳, 唐仕云, 黄家雍, 李翔, 杨荣仲, 李杨瑞, 黄海荣, 经艳, 邓宇驰 (2015). 高产高糖抗倒伏甘蔗新品种桂糖42号的选育及高产栽培技术. 南方农业学报 **46**, 1361–1366.
- 魏强, 丁雨龙 (2017). 矢竹地下茎转录组测序及节间生长相关基因表达分析. 南京林业大学学报(自然科学版) **41**(5), 42–48.
- 卫晓轶, 张明才, 张燕, 李召虎, 段留生 (2011). 乙烯利对不同基因型玉米节间伸长和内源激素的影响. 农药学报 **13**, 475–479.
- 吴建明, 李杨瑞, 王爱勤, 杨柳, 杨丽涛 (2010a). 赤霉素处理对甘蔗节间伸长及产质量的影响. 中国糖料 **(4)**, 24–26.
- 吴建明, 李杨瑞, 王爱勤, 杨柳, 杨丽涛 (2010b). 赤霉素诱导甘蔗节间伸长的效应与相关酶活性的关系. 西北植物学报 **30**, 962–967.
- 吴建明, 李杨瑞, 杨柳, 王爱勤, 杨丽涛 (2009). 赤霉素诱导甘蔗节间伸长与内源激素变化的关系. 热带作物学报 **30**, 1452–1457.
- 吴良如, 萧江华 (1998). 大小年毛竹林中内源激素节律变化特征的研究. 竹子研究汇刊 **17**, 24–30.
- 肖辉海 (2008). 长穗颈温敏核不育水稻穗颈节间伸长与内源激素的关系. 植物生理学通讯 **44**, 656–660.
- 肖辉海, 郝小花, 王文龙 (2011). 温度对温敏核不育水稻eui突变体最上节间伸长的影响. 植物学报 **46**, 138–146.



- 许婷婷, 杨光耀, 杨清培, 于芬 (2016). 厚壁毛竹快速高生长期秆ATP酶超微细胞化学定位. 西北植物学报 36, 1566–1574.
- 徐有明, 郝培应, 费本华 (2008). 竹笋形态发育构建过程中解剖结构及化学成分的动态变化. 东北林业大学学报 36(4), 8–11, 16.
- 杨晓婉, 郑国琦, 杨涓, 许兴, 卢迪, 杨乐 (2014). 宁夏枸杞果实内源激素的变化及其与细胞壁成分和相关酶的关系. 植物学报 49, 30–40.
- 杨奕, 董文渊, 邱月群, 李雯, 杨佳俊, 韩妍 (2015). 笋竹笋生长过程中营养成分的变化. 东北林业大学学报 43, 80–82, 87.
- 张春玲 (2014). 毛竹笋-竹生长发育过程系统分析与生长素相关基因研究. 博士论文. 北京: 中国林业科学研究院. pp. 42–68.
- 张珂 (2014). 玉米节间伸长过程中相关基因甲基化及表达分析. 硕士论文. 武汉: 华中农业大学. pp. 37–38.
- 张同祯, 李永生, 李玥, 姚海梅, 赵娟, 王婵, 赵阳, 王汉宁, 方永丰, 胡晋 (2016). 多胺氧化酶(PAO)调控光诱导玉米中胚轴伸长的生理机制. 作物学报 42, 734–742.
- 张莹, 田埂, 路慧萍, 冉洪, 胡陶, 郭起荣 (2015). 厚壁毛竹六个节气笋芽发育的转录组分析. 江西农业大学学报 37, 466–474.
- Abeles FB, Morgan PW, Saltveit ME (1992). Ethylene in Plant Biology. San Diego: Academic Press. pp. 123–135.
- Ayano M, Kani T, Kojima M, Sakakibara H, Kitaoka T, Kuroha T, Angeles-Shim RB, Kitano H, Nagai K, Ashikari M (2014). Gibberellin biosynthesis and signal transduction is essential for internode elongation in deepwater rice. *Plant Cell Environ* 37, 2313–2324.
- Choi YH, Yoshizawa K, Kobayashi M, Sakurai A (1995). Distribution of endogenous gibberellins in vegetative shoots of rice. *Plant Cell Physiol* 36, 997–1001.
- Coles JP, Phillips AL, Croker SJ, García-Lepe R, Lewis MJ, Hedden P (1999). Modification of gibberellin production and plant development in *Arabidopsis* by sense and antisense expression of gibberellin 20-oxidase genes. *Plant J* 17, 547–556.
- Cui K, He CY, Zhang JG, Duan AG, Zeng YF (2012). Temporal and spatial profiling of internode elongation-associated protein expression in rapidly growing culms of bamboo. *J Proteome Res* 11, 2492–2507.
- Cutler AJ, Krochko JE (1999). Formation and breakdown of ABA. *Trends Plant Sci* 4, 472–478.
- De Lucas M, Davière JM, Rodríguez-Falcón M, Pontin M, Iglesias-Pedraz JM, Lorrain S, Fankhauser C, Blázquez MA, Titarenko E, Prat S (2008). A molecular framework for light and gibberellin control of cell elongation. *Nature* 451, 480–484.
- Eriksson ME, Hoffman D, Kaduk M, Mauriat M, Moritz T (2015). Transgenic hybrid aspen trees with increased gibberellin (GA) concentrations suggest that GA acts in parallel with FLOWERING LOCUS T2 to control shoot elongation. *New Phytol* 205, 1288–1295.
- Feng SH, Martinez C, Gusmaroli G, Wang Y, Zhou JL, Wang F, Chen LY, Yu L, Iglesias-Pedraz JM, Kircher S, Schäfer E, Fu XD, Fan LM, Deng XW (2008). Coordinated regulation of *Arabidopsis thaliana* development by light and gibberellins. *Nature* 451, 475–479.
- Gao J, Zhang Y, Zhang CL, Qi FY, Li XP, Mu SH, Peng ZH (2014). Characterization of the floral transcriptome of Moso bamboo (*Phyllostachys edulis*) at different flowering developmental stages by transcriptome sequencing and RNA-seq analysis. *PLoS One* 9, e98910.
- Gao XH, Huang XZ, Xiao SL, Fu XD (2008). Evolutionarily conserved DELLA-mediated gibberellin signaling in plants. *J Integr Plant Biol* 50, 825–834.
- Hattori Y, Nagai K, Furukawa S, Song XJ, Kawano R, Sakakibara H, Wu JZ, Matsumoto T, Yoshimura A, Kitano H, Matsuoka M, Mori H, Ashikari M (2009). The ethylene response factors SNORKEL1 and SNORKEL2 allow rice to adapt to deep water. *Nature* 460, 1026–1030.
- He CY, Cui K, Zhang JG, Duan AG, Zeng YF (2013). Next-generation sequencing-based mRNA and microRNA expression profiling analysis revealed pathways involved in the rapid growth of developing culms in Moso bamboo. *BMC Plant Biol* 13, 119.
- Hedden P, Phillips AL (2000). Gibberellin metabolism: new insights revealed by the genes. *Trends Plant Sci* 5, 523–530.
- Kende H, van der Knaap E, Cho HT (1998). Deepwater rice: a model plant to study stem elongation. *Plant Physiol* 118, 1105–1110.
- Lawit SJ, Wych HM, Xu DP, Kundu S, Tomes DT (2010). Maize DELLA proteins dwarf plant8 and dwarf plant9 as modulators of plant development. *Plant Cell Physiol* 51, 1854–1868.
- Lee S, Cheng H, King KE, Wang W, He YW, Hussain A, Lo J, Harberd NP, Peng JR (2002). Gibberellin regulates *Arabidopsis* seed germination via RGL2, a GAI/RGA-like gene whose expression is up-regulated following imbibition. *Genes Dev* 16, 646–658.

- Li LF, Zhang WB, Zhang LL, Li N, Peng JZ, Wang YQ, Zhong CM, Yang YP, Sun SL, Liang S, Wang XJ (2015). Transcriptomic insights into antagonistic effects of gibberellin and abscisic acid on petal growth in *Gerbera hybrida*. *Front Plant Sci* **6**, 168.
- Magome H, Nomura T, Hanada A, Takeda-Kamiya N, Ohnishi T, Shinma Y, Katsumata T, Kawaide H, Kamiya Y, Yamaguchi S (2013). *CYP714B1* and *CYP714B2* encode gibberellin 13-oxidases that reduce gibberellin activity in rice. *Proc Natl Acad Sci USA* **110**, 1947–1952.
- Mauriat M, Moritz T (2009). Analyses of *GA20ox*- and *GID1*-over-expressing aspen suggest that gibberellins play two distinct roles in wood formation. *Plant J* **58**, 989–1003.
- Peng JR, Carol PO, Richards DE, King KE, Cowling RJ, Murphy GP, Harberd NP (1997). The *Arabidopsis* *GAI* gene defines a signaling pathway that negatively regulates gibberellin responses. *Genes Dev* **11**, 3194–3205.
- Peng ZH, Zhang CL, Zhang Y, Hu T, Mu SH, Li XP, Gao J (2013). Transcriptome sequencing and analysis of the fast growing shoots of Moso bamboo (*Phyllostachys edulis*). *PLoS One* **8**, e78944.
- Pierik R, Cuppens MLC, Voesenek LACJ, Visser EJW (2004). Interactions between ethylene and gibberellins in phytochrome-mediated shade avoidance responses in tobacco. *Plant Physiol* **136**, 2928–2936.
- Pierik R, Visser EJW, De Kroon H, Voesenek LACJ (2003). Ethylene is required in tobacco to successfully compete with proximate neighbours. *Plant Cell Environ* **26**, 1229–1234.
- Qin XQ, Zeevaart JAD (2002). Overexpression of a 9-*cis*-epoxycarotenoid dioxygenase gene in *Nicotiana glauca* increases abscisic acid and phaseic acid levels and enhances drought tolerance. *Plant Physiol* **128**, 544–551.
- Rieu I, Ruiz-Rivero O, Fernandez-Garcia N, Griffiths J, Powers SJ, Gong F, Linhartova T, Eriksson S, Nilsson O, Thomas SG, Phillips AL, Hedden P (2008). The gibberellin biosynthetic genes *AtGA20ox1* and *AtGA20ox2* act, partially redundantly, to promote growth and development throughout the *Arabidopsis* life cycle. *Plant J* **53**, 488–504.
- Ross JJ, O'Neill DP, Smith JJ, Kerckhoffs LHJ, Elliot RC (2000). Evidence that auxin promotes gibberellin A<sub>1</sub> biosynthesis in pea. *Plant J* **21**, 547–552.
- Takatsuka H, Umeda M (2014). Hormonal control of cell division and elongation along differentiation trajectories in roots. *J Exp Bot* **65**, 2633–2643.
- Thomas GS, Hedden P (2018). Gibberellin metabolism and signal transduction. In: Hedden P, Thomas SG, eds. *Annual Plant Reviews*. Washington: John Wiley & Sons. pp. 147–184.
- Ueguchi-Tanaka M, Ashikari M, Nakajima M, Itoh H, Katoh E, Kobayashi M, Chow TY, Hsing YI, Kitano H, Yamaguchi I, Matsuoka M (2005). *Gibberellin insensitive Dwarf 1* encodes a soluble receptor for gibberellin. *Nature* **437**, 693–698.
- Voorend W, Nelissen H, Vanholme R, De Vliegher A, Van Breusegem F, Boerjan W, Roldán-Ruiz I, Muylle H, Inzé D (2016). Overexpression of *GA20-OXIDASE1* impacts plant height, biomass allocation and saccharification efficiency in maize. *Plant Biotechnol J* **14**, 997–1007.
- Wang HY, Cui K, He CY, Zeng YF, Liao SX, Zhang JG (2015). Endogenous hormonal equilibrium linked to bamboo culm development. *Genet Mol Res* **14**, 11312–11323.
- Wang YJ, Deng DX (2014). Molecular basis and evolutionary pattern of GA-GID1-DELLA regulatory module. *Mol Genet Genomics* **289**, 1–9.
- Xiao YH, Ye YF, Feng Y, Li XB, Luo M, Hou L, Luo XY, Li DM, Pei Y (2006). Functional expression of the cotton gibberellin acid oxidase homologous gene *GhGA20ox1* in tobacco. *J Plant Physiol Mol Biol* **32**, 563–569.

## Expression Analysis of Key Genes in Gibberellin Biosynthesis and Related Phytohormonal Dynamics During Sugarcane Internode Elongation

Yegeng Fan<sup>1†</sup>, Lihang Qiu<sup>1†</sup>, Xing Huang<sup>1</sup>, Huiwen Zhou<sup>1</sup>, Chongkun Gan<sup>2</sup>, Yangrui Li<sup>1</sup>,  
Rongzhong Yang<sup>1</sup>, Jianming Wu<sup>1\*</sup>, Rongfa Chen<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Key Laboratory of Sugarcane Biotechnology and Genetic Improvement, Ministry of Agriculture/Guangxi Key Laboratory of Sugarcane Genetic Improvement, Sugarcane Research Institute, Guangxi Zhuang Autonomous Region Academy of Agricultural Sciences, Nanning 530007, China; <sup>2</sup>Chongzuo Jiangzhou Soil Fertility Station, Chongzuo 532200, China

**Abstract** In this study, *Saccharum officinarum* GT42 was used as the research material. Second internode tissue of sugarcane at the non-elongation stage (Ls1), early elongation stage (Ls2) and elongation stage (Ls3) was collected to measure plant hormones such as gibberellic acid (GA), indole acetic acid (IAA), brassinosteroids (BR), cytokinin (CTK), ethylene (ETH) and abscisic acid (ABA). The differential expression of the key genes *GA20-Oxidase1*, *GID1* and *GAI* was analyzed by qRT-PCR. During the elongation stage, the contents of GA and IAA showed an upward trend, but CTK and ABA contents showed a downward trend. ETH content was increased at first and then decreased, whereas BR content did not change. The expression of *GA20-Oxidase 1* and *GID1* increased, and that of *GAI* decreased, which was closely related to the changes in GA content. Therefore, we considered that the internode elongation of sugarcane is mainly related to GA and IAA, then are CTK and ABA, and ETH is regulated by IAA to affect internode elongation. The interaction between these phytohormones regulates the expression of *GA20-Oxidase 1*, *GID1* and *GAI*, which affects the content and signal transduction of GA, thereby affecting the internode elongation of sugarcane. The study clarifies the differential expression of key genes in the gibberellin biosynthesis pathway and signal transduction process, along with the dynamic changes of plant hormone content during internode elongation of sugarcane.

**Key words** phytohormone, gibberellin, gene expression analysis, internode elongation, sugarcane

**Fan YG, Qiu LH, Huang X, Zhou HW, Gan CK, Li YR, Yang RZ, Wu JM, Chen RF** (2019). Expression analysis of key genes in gibberellin biosynthesis and related phytohormonal dynamics during sugarcane internode elongation. *Chin Bull Bot* **54**, 486–496.

† These authors contributed equally to this paper

\* Authors for correspondence. E-mail: wujianming2004@126.com; 389001826@qq.com

(责任编辑: 朱亚娜)