

刘计涛,王梦诗,索海翠,等. 马铃薯 *GA2ox* 家族基因响应赤霉素(GA)和低温胁迫表达分析[J].江苏农业学报,2023,39(5):1110-1119.
doi:10.3969/j.issn.1000-4440.2023.05.003

马铃薯 *GA2ox* 家族基因响应赤霉素(GA)和低温胁迫表达分析

刘计涛, 王梦诗, 索海翠, 王丽, 单建伟, 李成晨, 安康, 李小波
(广东省农业科学院作物研究所/广东省农作物遗传改良重点实验室, 广东 广州 510640)

摘要: 本研究基于结构域筛选马铃薯(*Solanum tuberosum*)基因组,获得13个 *StGA2ox* 基因家族成员。生物信息学分析结果显示,*StGA2ox* 家族基因分为C19和C20 2个家族,其中C19又分为2个亚族,13个 *StGA2ox* 基因不均匀分布于8条染色体上,其中有5对共线性基因对,7号染色体上有3个基因形成1个串联重复基因簇。此外,*StGA2ox* 启动子区域存在响应低温胁迫、植物激素等多种顺式作用元件。利用实时荧光定量PCR方法分析外源 GA_3 和低温胁迫处理条件下 *StGA2ox* 表达模式,所有 *StGA2ox* 基因均能够被外源 GA_3 诱导表达,其中 *StGA2ox2*、*StGA2ox4*、*StGA2ox8*、*StGA2ox9* 和 *StGA2ox10* 受低温胁迫诱导表达显著上调,暗示着这5个基因在调节马铃薯低温胁迫耐性中发挥重要功能,可以作为进一步开展马铃薯耐低温研究的候选基因。

关键词: 马铃薯; *GA2ox* 基因; 生物信息学分析; 赤霉素(GA); 低温胁迫

中图分类号: S532 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2023)05-1110-10

Expression analysis of *GA2ox* family genes in response to gibberellin (GA) and cold stress in potato

LIU Ji-tao, WANG Meng-shi, SUO Hai-cui, WANG Li, SHAN Jian-wei, LI Cheng-chen, AN Kang, LI Xiao-bo

(Crops Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences/ Key Laboratory of Crops Genetics and Improvement of Guangdong Province, Guangzhou 510640, China)

Abstract: In this study, 13 *StGA2ox* family members were obtained by domain screening of the potato genome. Bioinformatics analysis showed that *StGA2ox* family genes were divided into two families, C19 and C20, and C19 was divided into two subfamilies. The 13 *StGA2ox* genes which were unevenly distributed on eight chromosomes, including five pairs of collinear gene pairs. And three genes on chromosome 7 formed a tandem repeat gene cluster. In addition, there were several *cis*-acting elements in the promoter region of *StGA2ox* in response to cold stress, phytohormones and so on. Real-time PCR was used to analyze the expression pattern of *StGA2ox* in potato under exogenous GA_3 and cold stress treatment. All *StGA2ox* genes could be induced by exogenous GA_3 . Among them, *StGA2ox2*, *StGA2ox4*, *StGA2ox8*, *StGA2ox9* and *StGA2ox10* were significantly up regulated by cold stress, suggesting that these five genes played an important role in regulating the cold stress tolerance of potato and could be used

as candidate genes for further research on cold stress tolerance of potato.

Key words: potato; *GA2ox* gene; bioinformatic analysis; gibberellin (GA); cold stress

收稿日期:2022-09-02

基金项目:广东省自然科学基金项目(2021A1515010778);广州市基础研究计划项目(202102020845);广东省农业科学院创新基金项目(202109);甘肃省农业科学院中青年基金项目(2020GAAS40)

作者简介:刘计涛(1989-),男,河北唐山人,博士,助理研究员,主要从事马铃薯抗寒遗传育种。(E-mail) liujipotato@126.com

通讯作者:李小波,(E-mail) Lixiaobo1981@163.com

马铃薯是中国重要的粮食作物,在保障国家粮食安全上起着重要的作用^[1]。但是,随着全球气候

的变化,低温胁迫已经成为制约马铃薯产业健康发展的重要因素之一。已经有研究结果表明,许多植物激素如油菜素内酯(BR)、赤霉素(GA)、脱落酸(ABA)、茉莉酸(JA)、细胞分裂素(CK)和乙烯(ET)等参与植物对低温等非生物胁迫的响应^[2-4],其中GA在调节植物生长发育与非生物胁迫响应的平衡中起着重要作用^[5]。高等植物中活性GA的主要成分是GA₁、GA₃、GA₄和GA₇^[6],其主要功能包括促进细胞分裂和伸长、种子萌发以及植物营养和生殖生长^[7-10]。此外,GA还参与植物低温胁迫耐性调节^[11-12],如在拟南芥、番茄、芥菜和棉花中过表达*CBF1*,促进DELLA蛋白的积累,抑制了GA信号的转导,提升了植物低温胁迫耐性^[11,13-15]。拟南芥和水稻GA不敏感突变体gai表现出较强低温胁迫耐性^[11-12]。这些结果表明,植物通过抑制GA信号传导提升低温胁迫耐性。

赤霉素2-氧化酶(*GA2ox*)是调节活性GA降解的主要功能酶,在调节植物低温胁迫耐性中发挥重要功能^[11,16-18]。*GA2ox*能够将活性GA₁和GA₃转变为失活的GA₈和GA₃₄,或促进GA合成前体的降解^[16,19],在拟南芥、水稻、梨和山茶中,过表达*GA2ox*能够抑制GA的合成,提升植物低温或干旱等非生物胁迫耐性^[20-23]。*GA2ox*家族从属于2OG-Fe(II) oxygenase超家族,含有2OG-Fe(II)(PF03171)结构域^[24],*GA2ox*家族普遍存在于植物中,如在拟南芥、水稻、棉花、二穗短柄草和苜蓿中均被报道^[25-29]。基于氨基酸序列的进化树分析将*GA2ox*基因家族分为3个亚族:C19-I,C19-II和C20^[25,30-31]。研究发现,*GA2ox*基因家族的扩大源于单子叶植物和双子叶植物基因组的加倍^[32],这导致不同成员存在功能冗余和表达差异的现象,这有利于植物提升低温等非生物胁迫耐性^[33-36]。

目前,在玉米、水稻、葡萄、拟南芥、棉花和桃等植物中,已经对*GA2ox*家族基因进行了系统分析^[29,37-41],但在马铃薯中关于*GA2ox*家族基因的分布、结构和功能尚未有详细报道。因此,本研究基于马铃薯基因组数据,全面解析*StGA2ox*基因家族的成员数量、基因特征、染色体上的位置、系统发育树以及编码的蛋白质理化特性、亚细胞定位等,同时对其响应低温胁迫和GA的表达模式进行分析,为进一步探究*StGA2ox*的功能奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试马铃薯品种为费乌瑞它(购于天津市天兴佳业科技有限公司),将种薯切分为25~30 g且包含至少1个芽眼的小块,然后在光照培养箱(达斯卡特DGZC-P1000B)进行盆栽,基质由草炭土和蛭石2:1(质量比)混合而成,光照模式为16 h光照,光照度为12 000 lx。

1.2 低温胁迫与外源GA处理

低温胁迫处理:选取24株4周大的马铃薯盆栽苗,平均分为6组,每组4个生物学重复,进行低温(-2℃)胁迫处理,分别将幼苗置于低温0 h、1 h、3 h、6 h、12 h、24 h后,取顶部向下第3~4片功能叶于液氮中备用。

外源GA处理:选取长势一致的盆栽苗28棵,用100 μmol/L赤霉素(GA₃)喷施叶面1次,每组4个生物学重复,处理后0 h、1 h、3 h、6 h、12 h、24 h、48 h分别取叶片于液氮中备用。

1.3 *StGA2ox* 基因家族成员鉴定

从马铃薯参考基因组数据库 Spud DB Potato Genomics Resources (<http://solanaceae.plantbiology.msu.edu/index.shtml>) 下载马铃薯基因组、CDS、*StGA2ox* 基因的染色体位置信息和氨基酸序列。并利用2OG-Fe(II)(PF03171)结构域筛选马铃薯基因组内*StGA2ox*基因家族成员,并利用SMART确认筛选出的成员编码的蛋白质是否含有2OG-Fe(II)结构域,参考拟南芥、番茄GA2oxs蛋白氨基酸序列进行blastp比对,最终确定马铃薯特异的*StGA2ox*基因家族成员。

1.4 *StGA2ox* 家族基因生物信息学分析

采用在线分析工具 WoLF PSORT (<https://wolfpsort.hgc.jp/>) 分析 *StGA2ox* 家族基因编码蛋白质亚细胞定位, ExPASy ProtParam (<https://web.expasy.org/>) 分析 *StGA2ox* 家族基因编码蛋白质理化性质。在马铃薯基因组数据库中查找 *StGA2ox* 基因的染色体位置信息及对应染色体信息,利用 TBtools 软件 (<https://github.com/CJ-Chen/TBtools/releases>) 进行 *StGA2ox* 基因染色体定位和基因共线性分析。利用 Gene Structure Display Server v2.0 (<http://gsds.gao-lab.org/>) 对基因结构进行分析。进化树采用 MEGA7.0 (<http://www.megasoftware.net/>), 以邻接法 (Neighbor-Joining method) 和 Poisson 模式 (Poisson Modle) 构建。结构域分析采用

MEME(<http://meme-suite.org/tools/meme/>)在线分析,然后利用 TBtools 软件作图。

1.5 基因表达分析

采用实时荧光定量 PCR (Real-time PCR) 方法检测 *StGA2ox* 的表达模式。将处理的样本采用 Trizol (TaKaRa) 法提取马铃薯叶片 RNA, 分别采用试剂盒 Goldenstar™ RT6 cDNA Synthesis Kit Ver. 2 (TSK302M, 擎科生物, 广州) 和 2×TSINGKE® Master SYBR Green I qPCR Mix-UDG (Without ROX) (TSE204, 擎科生物, 广州) 进行 cDNA 合成和 qPCR 扩增, 基因相对表达量计算采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法, 差异显著分析采用 t-test ($P < 0.05$) 进行。

2 结果与分析

2.1 *StGA2ox* 家族基因鉴定

通过 Pfam 对 2OG-FeII (PF03171) 结构域筛选

表 1 *StGA2ox* 家族基因及其编码的蛋白质特性

Table 1 Characteristics of *StGA2ox* family genes and their encoded proteins

基因登录号	基因	氨基酸数	相对分子质量	等电点	不稳定性系数 (II)	脂溶指数	亲水性指数	亚细胞定位
Soltu.DM.01G018680	<i>StGA2ox1</i>	326	3.653×10^4	6.46	50.65	84.63	-0.325	Nucl
Soltu.DM.01G025170	<i>StGA2ox2</i>	346	3.874×10^4	6.08	39.67	78.61	-0.304	Nucl
Soltu.DM.02G013470	<i>StGA2ox3</i>	340	3.807×10^4	5.94	42.85	89.97	-0.184	Cyto
Soltu.DM.02G019740	<i>StGA2ox4</i>	359	4.188×10^4	8.64	48.19	72.48	-0.519	Nucl
Soltu.DM.04G004570	<i>StGA2ox5</i>	333	3.819×10^4	6.33	43.19	82.55	-0.321	Cyto
Soltu.DM.05G023320	<i>StGA2ox6</i>	349	3.931×10^4	7.19	40.83	81.26	-0.313	Nucl
Soltu.DM.06G032330	<i>StGA2ox7</i>	355	4.077×10^4	5.95	55.95	83.21	-0.394	Nucl
Soltu.DM.07G022700	<i>StGA2ox8</i>	324	3.624×10^4	5.67	38.87	87.84	-0.209	Chlo
Soltu.DM.07G022710	<i>StGA2ox9</i>	330	3.712×10^4	8.23	35.2	88.88	-0.224	Cyto
Soltu.DM.07G022720	<i>StGA2ox10</i>	334	3.757×10^4	5.78	38.88	85.75	-0.225	Nucl
Soltu.DM.08G006960	<i>StGA2ox11</i>	357	4.003×10^4	7.6	36.89	88.12	-0.22	Chlo
Soltu.DM.10G000440	<i>StGA2ox12</i>	337	3.922×10^4	5.61	48.64	76.35	-0.395	Nucl
Soltu.DM.10G003240	<i>StGA2ox13</i>	334	3.781×10^4	8.17	34.43	88.65	-0.254	Nucl

Nucl: 细胞核; Cyto: 细胞质; Chlo: 叶绿体。

2.2 不同物种 *GA2ox* 家族基因进化分析

为了进一步解析拟南芥、水稻、玉米、番茄和马铃薯 *GA2ox* 家族基因的系统进化关系, 利用 MAGE 7.0 软件对各物种中 *GA2ox* 家族基因编码的氨基酸序列进行比对, 构建系统进化树 (图 1)。结果表明, *GA2ox* 基因家族可以分为 C19 和 C20 两类, 其中 C19 类 *GA2oxs* 基因又分为 I 和 II 两个亚家族, C19-I 亚族包含成员最多, 共计 23 个, 涉及拟南芥、水稻、玉米、番茄和马铃薯 5 个物种, C20 家族包含 15 个成员, 除番茄外其他 4 个物种均有分布, C19-II 亚

获得候选基因, 然后通过参考已报道的拟南芥、水稻、玉米和番茄 *GA2ox* 蛋白氨基酸序列 blastp 比对, 最后确定 13 个编码 *StGA2ox* 蛋白的基因。根据这些基因在染色体上的位置分布, 分别命名为 *StGA2ox1*~*StGA2ox13* (表 1)。通过蛋白质理化特性分析, 发现 *StGA2ox* 蛋白的氨基酸数为 324~359 aa, 相对分子质量和等电点分别为 3.624×10^4 ~ 4.188×10^4 和 5.61~8.64, 不稳定性系数为 33.43~55.95, 脂溶指数和亲水性指数为 72.48~89.97 和 -0.519~-0.184。通过预测, *StGA2oxs* 蛋白是一类稳定的亲水性蛋白质。亚细胞定位预测结果表明, *StGA2ox1*、*StGA2ox2*、*StGA2ox4*、*StGA2ox6*、*StGA2ox7*、*StGA2ox10*、*StGA2ox12* 和 *StGA2ox13* 定位于细胞核, *StGA2ox3*、*StGA2ox5* 和 *StGA2ox9* 定位于细胞质, *StGA2ox8* 和 *StGA2ox11* 定位于质体中。

族包含成员最少, 包含 12 个成员 (表 2)。

马铃薯 *GA2ox* 家族基因在 3 个亚族分类中均有分布, 其中 *StGA2ox4*、*StGA2ox5*、*StGA2ox7* 和 *StGA2ox12* 属于 C20 家族, *StGA2ox1*、*StGA2ox2* 和 *StGA2ox6* 属于 C19-II 亚族, 其余 *StGA2ox* 基因属于 C19-I 亚族。此外, 在 C19-I 亚族中 *StGA2ox3*、*StGA2ox8*~*StGA2ox13* 与 *SIG2ox2*、*SlGA2ox4*、*SIG2ox5* 亲缘关系较近且处在同一分支, 在 C19-II 亚族中 *StGA2ox1*、*StGA2ox2*、*StGA2ox6* 和 *SIG2ox1*、*SlGA2ox3* 亲缘关系最近, 在同一分支, 在 C20 家族中 *StGA2ox4*、*StGA2ox5*、*StGA2ox12* 与 *AtGA2ox8* 亲缘关系最

近,StGA2ox7 与 AtGA2ox10 紧邻。这些结果表明马铃薯 GA2ox 家族基因与同属茄科的番茄亲缘关系最近。

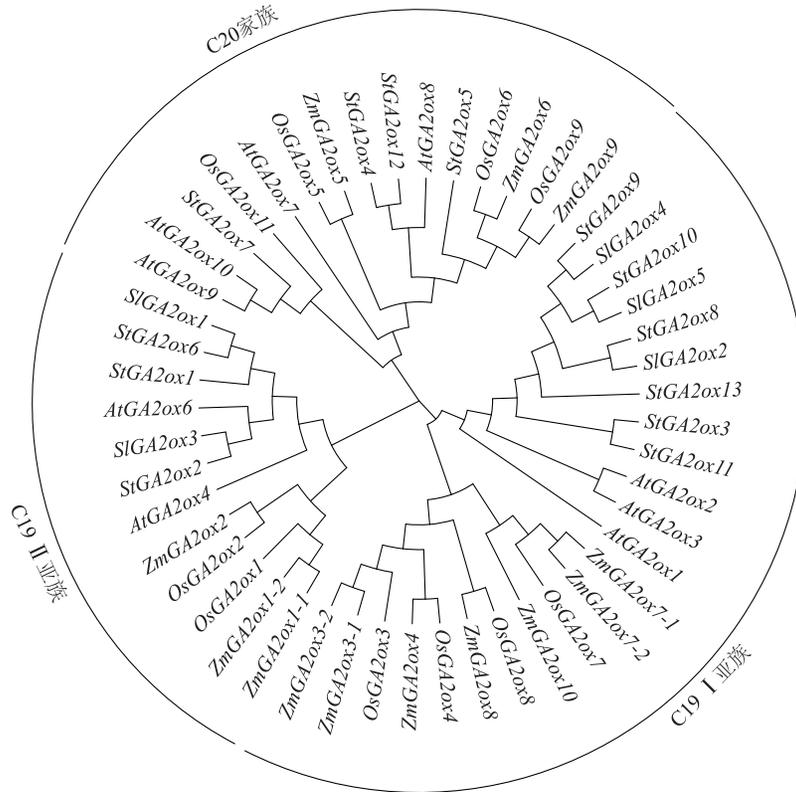


图1 马铃薯、拟南芥、水稻、玉米和番茄 GA2ox 家族基因进化树分析

Fig.1 Phylogenetic tree analysis of GA2ox family genes in potato (*Solanum tuberosum*), thale cress (*Arabidopsis thaliana*), rice (*Oryza sativa*), maize (*Zea mays*) and tomato (*Solanum lycopersicum*)

表2 马铃薯、拟南芥、水稻、玉米和番茄 GA2ox 家族基因分布

Table 2 Distribution of GA2ox family genes in potato (*Solanum tuberosum*), thale cress (*Arabidopsis thaliana*), rice (*Oryza sativa*), maize (*Zea mays*) and tomato (*Solanum lycopersicum*)

物种	C19- I 亚族	C19- II 亚族	C20 家族
拟南芥	3	2	4
水稻	2	2	4
玉米	7	3	3
番茄	3	2	0
马铃薯	6	3	4

2.3 StGA2ox 基因染色体定位与共线性分析

根据 StGA2ox 基因家族基因组信息,通过 TBtools 软件进行染色体可视化定位和共线性分析(图2)。13 个 StGA2ox 基因分布在 8 条染色体上,其中 1 号、2 号和 10 号染色体上分别含有 2 个成员,4 号、5 号、6 号和 8 号染色体上只含有 1 个成

员,7 号染色体上包含 StGA2ox8、StGA2ox9 和 StGA2ox10 3 个基因,由于其在染色体上的物理距离小于 100 kb,且进化树分析其同源性较高,推断其为一个串联的基因簇。进一步分析马铃薯 StGA2ox 基因家族的扩张模式和基因复制事件,结果发现,13 个 StGA2ox 基因之间存在 5 对共线性基因对,表明马铃薯 StGA2ox 基因家族在进化过程中存在基因复制现象,导致基因家族的多样性。

2.4 StGA2ox 家族基因结构和 Motif 分析

对马铃薯 13 个 StGA2ox 基因家族成员进行系统基因结构和 Motif 分析(图3),结果表明,除去 StGA2ox4 包含 3 个内含子 4 个外显子外,其余所有 StGA2ox 均包含 2 个内含子 3 个外显子,其中 StGA2ox1 不包含非编码区。进一步分析 StGA2ox 蛋白氨基酸序列,发现所有基因均包含 motif 1 和 motif 3,C20 家族基因不包含 motif 4,motif 10 主要存在于 C19-II亚族基因中,而 motif 5 主要存在于 C19-I亚族基因中。

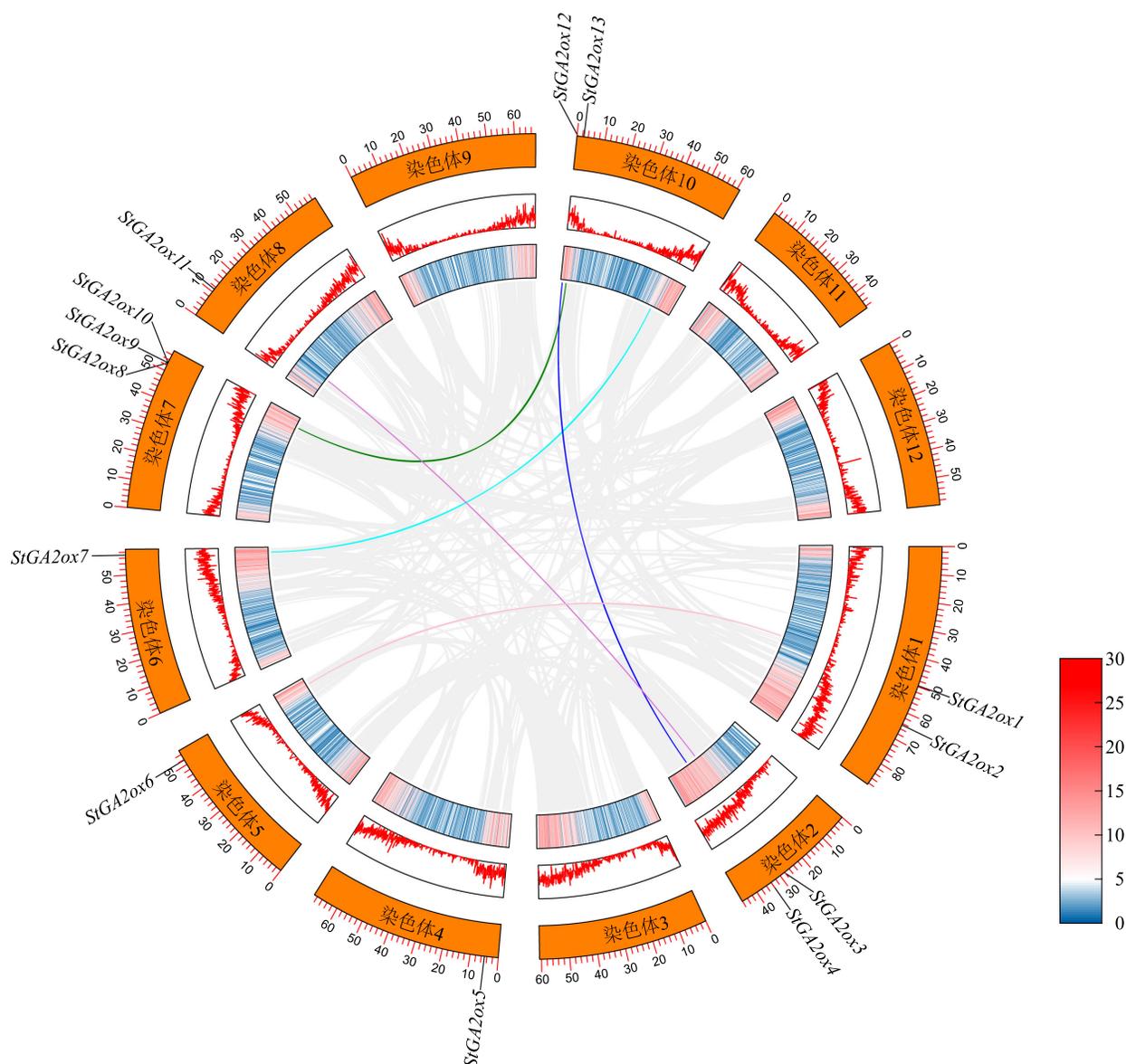


图2 马铃薯 *StGA2ox* 基因染色体定位与共线性分析

Fig.2 Chromosomal localization and collinearity analysis of *StGA2ox* genes in potato

2.5 马铃薯 *StGA2ox* 基因启动子 cis-element 分析

为进一步解析 *StGA2ox* 家族基因在转录水平上的调节机制,根据马铃薯基因组获得 1.5 kb 启动子序列,并通过 PLACE 网站进行分析。结果(图 4)表明,*StGA2ox* 基因启动子区域富含响应植物激素的顺式作用元件,包括脱落酸(ABA)响应元件 ABRE、赤霉素(GA)响应元件 GARE、茉莉酸(JA)响应元件 JARE、乙烯(ET)响应元件 ERE、小杨酸(SA)响应元件 SARE 和生长素(Auxin)响应元件 ARE;还包含生长发育相关顺式作用元件 I-box、LAMP 和 G-box 等,以及 MYC、LTR 和 W-box 等逆境胁迫相关顺式作用元件。其中,除 *StGA2ox6* 和 *StGA2ox8* 外,所

有 *StGA2ox* 启动子上都含有 GA 响应顺式作用元件 GARE,*StGA2ox1*~*StGA2ox4* 和 *StGA2ox9*~*StGA2ox12* 都含有低温胁迫响应顺式作用元件 LTR,这一结果暗示着 *StGA2ox* 家族基因在响应 GA 和低温胁迫上可能发挥重要功能,但是家族成员之间的功能存在差异。

2.6 *StGA2ox* 响应 GA 处理和低温胁迫的表达模式分析

为了进一步解析 *StGA2ox* 家族基因响应 GA 和低温胁迫的表达模式,通过 RT-PCR 方法分析低温胁迫 24 h 和外源 GA_3 处理后 48 h 马铃薯叶片中 13 个 *StGA2ox* 基因的表达。在外源 GA_3 处理条件下,

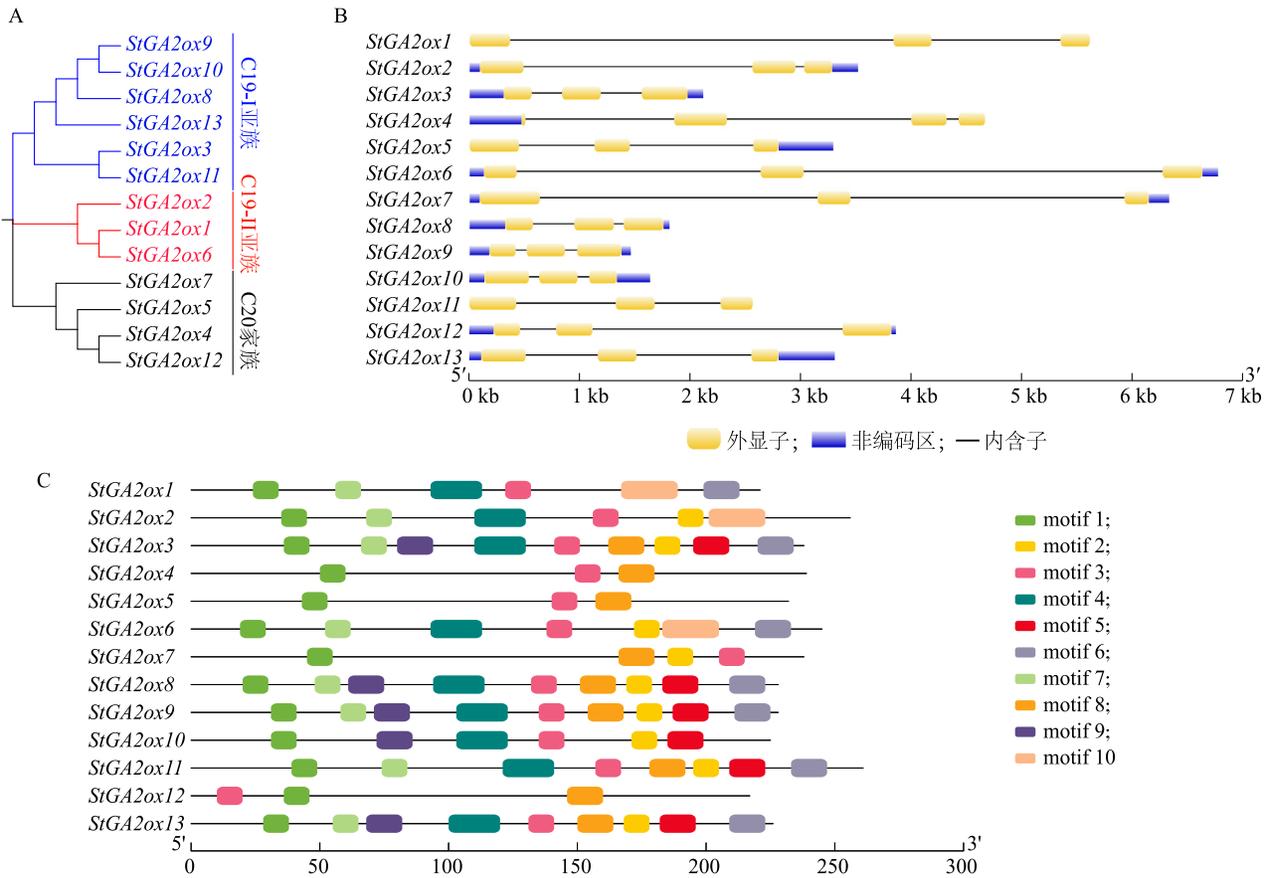


图3 *StGA2ox* 家族基因进化树 (A)、基因结构 (B) 和 Motif 分析 (C)

Fig.3 Phylogenetic relationships (A), gene structure (B), and motif analysis (C) of *StGA2ox* family genes in potato

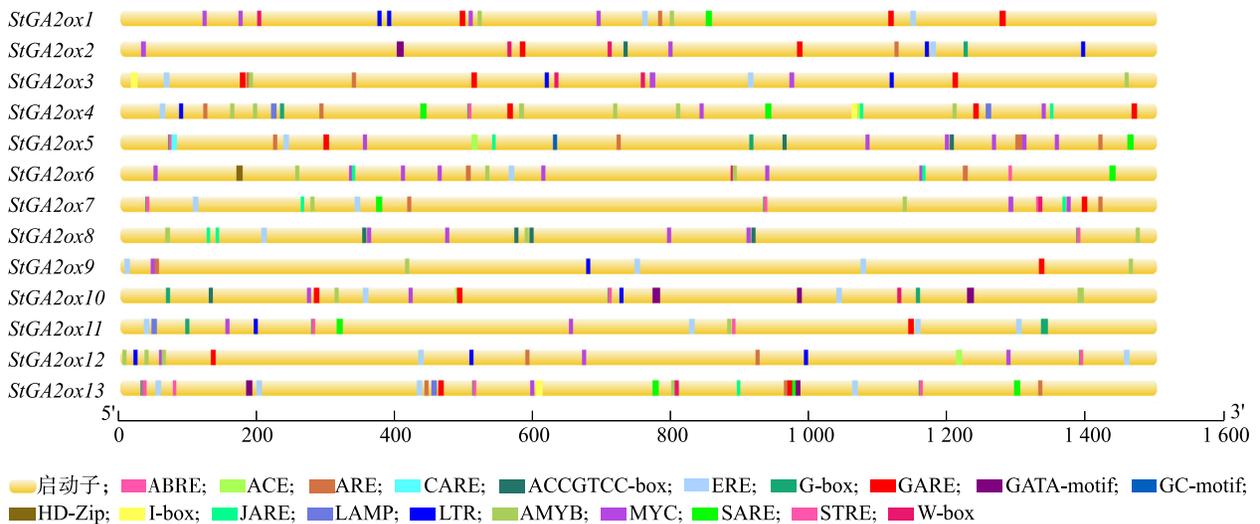


图4 *StGA2ox* 基因启动子顺式作用元件分析

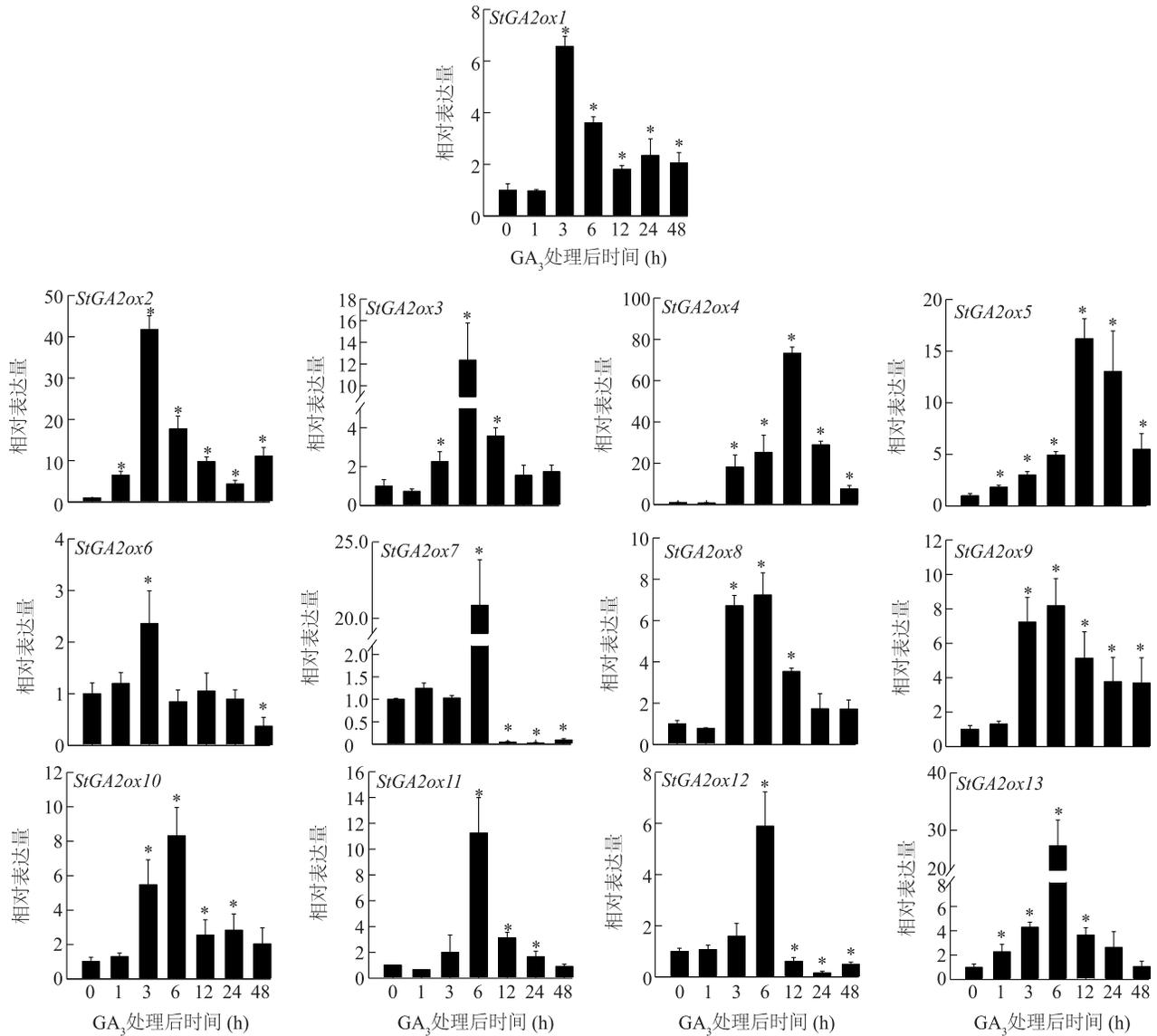
Fig.4 Analysis of *cis*-acting elements on *StGA2ox* gene promoters in potato

StGA2ox1、*StGA2ox2* 和 *StGA2ox6* 基因的表达在处理
后 3 h 显著上调,随后又降低,在 GA_3 处理 3 h 后分
别为对照的 6.56 倍、41.68 倍和 2.36 倍;*StGA2ox3*

和 *StGA2ox8*~*StGA2ox13* 基因在 GA_3 处理后 0~6 h
表达上调,12~48 h 又逐渐降低,最终在 48 h 恢复
至 0 h 的水平,在处理 6 h 表达量是对照的 5.89~

27.29倍,其中 *StGA2ox12* 表达量变化最小, *StGA2ox13* 表达量变化最大; *StGA2ox4* 和 *StGA2ox5* 基因在 GA_3 处理后0~12 h表达量上调,12~48 h表达量逐渐降低,在处理后12 h表达量分别为对照的

73.19倍和16.2倍;另外, *StGA2ox7* 的表达量仅在 GA_3 处理后6 h迅速上调至对照的20.85倍,随后迅速降至对照的90%(图5)。



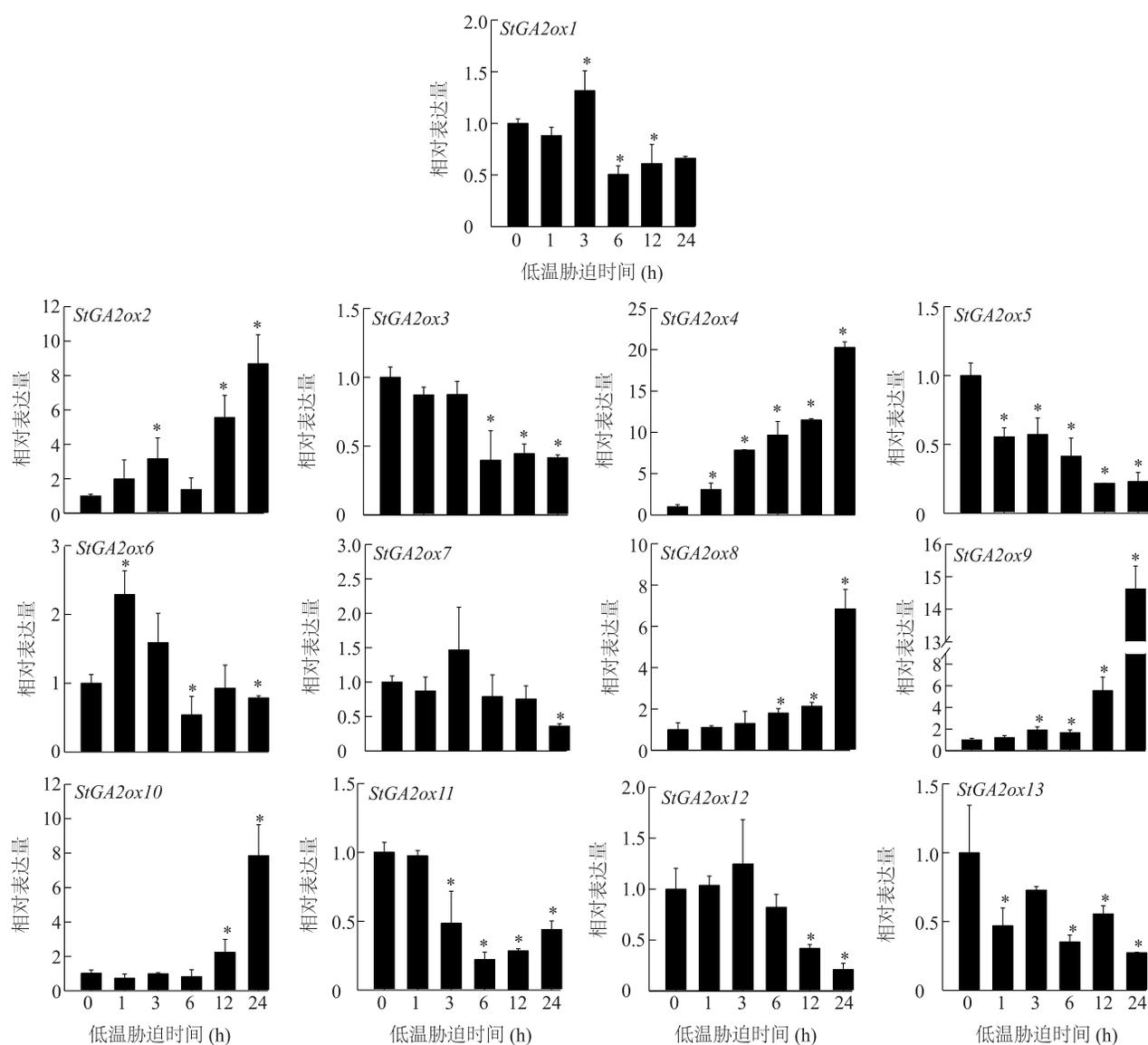
* 表示与对照在 0.05 水平差异显著。

图5 *StGA2ox* 响应 GA_3 的表达

Fig.5 Expression of *StGA2ox* in response to GA_3 in potato

在低温胁迫条件下, *StGA2ox1*、*StGA2ox3*、*StGA2ox11* 和 *StGA2ox12* 基因的表达被抑制,低温胁迫6 h, *StGA2ox1*、*StGA2ox3*、*StGA2ox11* 表达量最低,下调50%、61%、78%;而 *StGA2ox2*、*StGA2ox4* 和 *StGA2ox8*~*StGA2ox10* 基因的表达量受低温胁迫诱导上调,并且在低温胁迫24 h后,分别上调了8.68倍、20.28倍、6.84倍、

14.62倍和6.44倍; *StGA2ox6* 的表达量在低温胁迫1 h后达到对照的2.29倍,随后又降低至0 h的水平; *StGA2ox7* 的表达量在0~12 h差异不显著,仅在24 h下调63%(图6)。综上所述, *StGA2ox* 家族基因在响应 GA_3 和低温胁迫中呈现不同的表达模式,为充分理解马铃薯 *StGA2ox* 家族基因的功能提供了依据。



* 表示与对照在 0.05 水平差异显著。

图 6 *StGA2ox* 响应低温胁迫的表达

Fig.6 Expression of *StGA2ox* in response to cold stress in potato

3 讨论

马铃薯是重要的粮菜兼用型经济作物,具有产量高、效益好和营养丰富等特点^[42-45]。低温寒害是影响马铃薯产量的关键因素之一,中国几乎所有马铃薯生态种植区都会受其影响。GA 是调节植物生长发育重要的植物激素,广泛参与植物对低温胁迫等非生物胁迫的响应^[17]。GA2-oxidases 是调节植物活性 GA 钝化的关键酶之一,能够降低植物活性 GA 含量,负调控植物的生长发育,参与低温、干旱等非生物胁迫响应^[41]。GA2ox 家族基因编码的蛋白质

包含 2OG-Fe II (PF03171) 结构域,从属于 2OG-Fe (II) oxygenase 基因超家族^[24]。目前,许多物种中已经进行了全基因组家族分析,如拟南芥中鉴定出 10 个 *AtGA2ox* 基因,荔枝中鉴定出 9 个 *LcGA2ox* 基因^[28,46],水稻中包含 10 个成员^[25],玉米中鉴定到分布于 7 个染色体上的 13 个 *ZmGA2ox* 基因^[40]。

在本研究中,基于马铃薯基因组数据共获得 13 个 *StGA2ox* 基因,进化树分析结果表明,*StGA2ox* 基因家族分为 2 个家族,其中 C19 家族又分为 C19-I 亚族和 C19-II 亚族,这与其他作物中的研究结果一致^[39]。分析基因家族成员的结构和保守 motif 序

列,能够为更全面解释基因家族进化和功能分化提供重要依据^[47],研究发现,*StGA2ox* 不同亚家族之间基因结构和保守 motif 序列存在显著差异,在玉米、水稻和荔枝等作物中也有相同的结果^[25,28,40]。为了进一步明确马铃薯 *StGA2ox* 基因家族的基因组信息,通过染色体定位发现这 13 个 *StGA2ox* 基因主要分布于 8 条染色体上,并在 7 号染色体上存在一个串联基因簇。此外,共线性分析结果表明,*StGA2ox* 存在 5 对共线性基因对,表明其在进化中存在基因复制现象,这些结果可为深入理解 *StGA2ox* 基因家族的进化过程提供参考。

植物通过合成或钝化维持内源 GA 相对平衡,保障植物正常的生长发育进程^[16],*GA2ox* 基因能够负反馈调节活性 GA 的动态平衡,促进植物的正常生长^[17]。研究结果表明,所有的 *StGA2ox* 基因都能够被外源 GA 诱导表达,且表现为先升高后降低的趋势,但是不同家族基因存在显著差异,如 C19- II 亚族基因 *StGA2ox1*、*StGA2ox2*、*StGA2ox6* 的表达对外源 GA 处理响应最早,其次为 C19- I 亚族基因 *StGA2ox3*、*StGA2ox11* 和 *StGA2ox13*,最晚响应的是 C20 家族基因 *StGA2ox4* 和 *StGA2ox5*。此外,*GA2ox* 作为调节植物活性 GA 的重要基因,广泛参与了激素信号传导和非生物胁迫响应^[41]。例如,低温胁迫能够促进 *OsGA2ox6* 和 *OsGA2ox7* 基因表达,使活性 GA 钝化^[48],*ZmGA2ox6* 和 *ZmGA2ox10* 能够被低温胁迫和盐胁迫诱导表达^[41]。研究发现 *StGA2ox2*、*StGA2ox4*、*StGA2ox8*、*StGA2ox9* 和 *StGA2ox10* 受低温胁迫诱导显著上调表达,暗示这 5 个基因在调节马铃薯低温胁迫响应中发挥重要作用。基因的表达受上游转录因子调控,顺式作用元件是影响基因表达的重要因素^[49]。通过启动子分析发现响应 GA 的 GARE 顺式作用元件存在于所有 *StGA2ox* 启动子上,并且在 *StGA2ox1* ~ *StGA2ox4* 和 *StGA2ox9* ~ *StGA2ox12* 的启动子上存在响应低温胁迫的 LTR 顺式作用元件,这与玉米、水稻和高粱等作物中的研究结果一致^[41]。综上所述,本研究结果能够为解析马铃薯 *StGA2ox* 基因通过负反馈调节活性 GA 动态平衡,参与调节低温胁迫响应的作用机理提供依据,有助于马铃薯寒害预防理论的完善。

参考文献:

- [1] 谢从华,柳俊.中国马铃薯从济荒作物到主粮之变迁[J].华中农业大学学报,2021,40(4):8-15.
- [2] EREMINA M, ROZHON W, POPPENBERGER B. Hormonal control of cold stress responses in plants[J]. Cellular and Molecular Life Sciences, 2015, 73(4), 1-14.
- [3] ZHU J. Abiotic stress signaling and responses in plants[J]. Cell, 2016, 167(2):313-324.
- [4] ZAHRA S, NASER K, MUHAMMAD A F, et al. Plant Life Under Changing Environment [M]. Pittsburgh: Academic Press, 2020:397-466.
- [5] BAND L R, NELISSEN H, PRESTON S P, et al. Modeling reveals posttranscriptional regulation of GA metabolism enzymes in response to drought and cold [J]. PNAS, 2022, 119(31): e2121288119.
- [6] DEGEFU M Y, TESEMA M. Review of gibberellin signaling[J]. International Journal of Engineering Applied Sciences and Technology, 2020, 4(9):377-390.
- [7] GRIFFITHS J, MURASE K, RIEU I, et al. Genetic characterization and functional analysis of the GID1 gibberellin receptors in Arabidopsis[J]. Plant Cell, 2006, 18(12):3399-3414.
- [8] MARTINEZ-BELLO L, MORITZ T, LOPEZ-DIAZ I. Silencing C19-GA 2-oxidases induces parthenocarpic development and inhibits lateral branching in tomato plants[J]. Journal of Experimental Botany, 2015, 66(19):5897-5910.
- [9] HEDDEN P. The Current status of research on gibberellin biosynthesis[J]. Plant Cell Physiology, 2020, 61(11):1832-1849.
- [10] PIMENTA-LANGE M J, SZPERLINSKI M, KALIX L, et al. Cucumber gibberellin 1-oxidase/desaturase initiates novel gibberellin catabolic pathways [J]. Journal of Biological Chemistry, 2020, 295:8442-8448.
- [11] ACHARD P, GONG F, CHEMINANT S, et al. The cold-inducible CBF1 factor-dependent signaling pathway modulates the accumulation of the growth-repressing DELLA proteins via its effect on gibberellin metabolism[J]. Plant Cell, 2008, 20(8):2117-2129.
- [12] RICHTER R, BASTAKIS E, SCHWECHHEIMER C. Cross-repressive interactions between SOC1 and the GATAs GNC and GNL/CGA1 in the control of greening, cold tolerance, and flowering time in Arabidopsis [J]. Plant Physiology, 2013, 162(4): 1992-2004.
- [13] HSIEH T H, LEE J T, YANG P T, et al. Heterology expression of the Arabidopsis C-repeat/dehydration response element binding factor 1 gene confers elevated tolerance to chilling and oxidative stresses in transgenic tomato [J]. Plant Physiology, 2002, 129(3): 1086-1094.
- [14] SHAN D, HUANG J, YANG Y, et al. Cotton GhDREB1 increases plant tolerance to low temperature and is negatively regulated by gibberellic acid[J]. New Phytologist, 2007, 176(1):70-81.
- [15] ZHOU M Q, XU M, WU L H, et al. CbCBF from Capsella bursa-pastoris enhances cold tolerance and restrains growth in Nicotiana tabacum by antagonizing with gibberellin and affecting cell cycle signaling[J]. Plant Molecular Biology, 2014, 85:259-275.
- [16] YAMAGUCHI S. Gibberellin metabolism and its regulation [J]. Annual Review of Plant Biology, 2008, 59:225-251.
- [17] COLEBROOK E H, THOMAS S G, PHILLIPS A L, et al. The role of gibberellin signalling in plant responses to abiotic stress[J].

- Journal of Experimental Botany, 2014, 217(1):67-75.
- [18] LANGE M J P, LANGE T. Touch-induced changes in Arabidopsis morphology dependent on gibberellin breakdown [J]. Nature Plants, 2015, 1(3):14025.
- [19] HEDDEN P, THOMAS S G. Gibberellin biosynthesis and its regulation[J]. Biochemical Journal, 2012, 444(1):11-25.
- [20] LI K Q, XU X Y, HUANG X S. Identification of differentially expressed genes related to dehydration resistance in a highly drought-tolerant pear, *Pyrus betulaeifolia*, as through RNASeq[J]. PLoS One, 2016, 11(2):e0149352.
- [21] LI Q, LEI S, DU K, et al. RNA-seq based transcriptomic analysis uncovers α -linolenic acid and jasmonic acid biosynthesis pathways respond to cold acclimation in *Camellia japonica* [J]. Scientific Reports, 2016, 6:36463.
- [22] LO S F, HO T D, LIU Y L, et al. Ectopic expression of specific GA2 oxidase mutants promotes yield and stress tolerance in rice [J]. Plant Biotechnology Journal, 2017, 15(7):850-864.
- [23] SHAN C, MEI Z, DUAN J, et al. OsGA2ox5, a gibberellin metabolism enzyme, is involved in plant growth, the root gravity response and salt stress[J]. PLoS One, 2014, 9(1):e87110.
- [24] HSIEH K T, CHEN Y T, HU T J, et al. Comparisons within the rice GA2-oxidase gene family revealed three dominant paralogs and a functional attenuated gene that led to the identification of four amino acid variants associated with GA deactivation capability [J]. Rice, 2021, 14(1):70.
- [25] LO S F, YANG S Y, CHEN K T, et al. A novel class of gibberellin 2-oxidases control semidwarfism, tillering, and root development in rice[J]. Plant Cell, 2008, 20(10):2603-2618.
- [26] PEARCE S, HUTTLY A K, PROSSER I M, et al. Heterologous expression and transcript analysis of gibberellin biosynthetic genes of grasses reveals novel functionality in the GA3ox family [J]. BMC Plant Biology, 2015, 15(1):130.
- [27] KIM G B, SON S U, YU H J, et al. MtGA2ox10 encoding C20-GA2-oxidase regulates rhizobial infection and nodule development in *Medicago truncatula* [J]. Scientific Reports, 2019, 9(1):5952.
- [28] THEO L, PIMENTA L. The multifunctional dioxygenases of gibberellin synthesis[J]. Plant Cell Physiol, 2020, 61(11):1869-1879.
- [29] 赵亮,狄佳春,陈旭升. 棉花基因组中赤霉素氧化酶基因的鉴定与分析[J]. 江苏农业学报, 2020, 36(3):553-560.
- [30] SCHOMBURG F M, BIZZELL C M, LEE D J, et al. Overexpression of a novel class of gibberellin 2-oxidases decreases gibberellin levels and creates dwarf plants [J]. Plant Cell, 2003, 15(1):151-163.
- [31] LEE D J, ZEEVAART J A. Molecular cloning of GA 2-oxidase3 from spinach and its ectopic expression in *Nicotiana sylvestris* [J]. Plant Physiology, 2005, 138(1):243-254.
- [32] HUANG Y, WANG X, GE S, et al. Divergence and adaptive evolution of the gibberellin oxidase genes in plants [J]. BMC Ecology and Evolution, 2015, 15(1):207.
- [33] DUARTE J M, CUI L, WALL P K, et al. Expression pattern shifts following duplication indicative of subfunctionalization and neofunctionalization in regulatory genes of Arabidopsis [J]. Molecular biology and evolution, 2006, 23(2):469-478.
- [34] QIAN W, LIAO B Y, CHANG A Y, et al. Maintenance of duplicate genes and their functional redundancy by reduced expression [J]. Trends in Genetics, 2010, 26(10):425-430.
- [35] ZHANG J. Genetic redundancies and their evolutionary maintenance [J]. Advances In Experimental Medicine And Biology, 2012, 751:279-300.
- [36] ILLOUZ-ELIAZ N, RAMON U, SHOHAT H, et al. Multiple gibberellin receptors contribute to phenotypic stability under changing environments [J]. Plant Cell, 2019, 31(7):1506-1519.
- [37] HE H, LIANG G, LU S, et al. Genome-wide identification and expression analysis of GA2ox, GA3ox, and GA20ox are related to gibberellin oxidase genes in grape (*Vitis vinifera* L.) [J]. Genes, 2019, 10(9):680.
- [38] LI C, ZHENG L, WANG X, et al. Comprehensive expression analysis of Arabidopsis GA2-oxidase genes and their functional insights [J]. Plant Science, 2019, 285:1-13.
- [39] CHENG J, MA J, ZHENG X, et al. Functional analysis of the gibberellin 2-oxidase gene family in peach [J]. Frontiers in Plant Science, 2021, 12:619158.
- [40] LI Y, SHAN X, JIANG Z, et al. Genome-wide identification and expression analysis of the GA2ox gene family in maize (*Zea mays* L.) under various abiotic stress conditions [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2021, 166:621-633.
- [41] ZHANG C H, NIE X, KONG W L, et al. Genome-wide identification and evolution analysis of the gibberellin oxidase gene family in six gramineae crops [J]. Genes, 2022, 13(5):863.
- [42] 安珍,张茹艳,周春涛,等. 铁肥对马铃薯生理特性、产量及品质的影响 [J]. 江苏农业学报, 2022, 38(4):931-938.
- [43] 张中宁,张晨霞,吴莘玲,等. 种植密度对马铃薯产量和淀粉品质的影响 [J]. 江苏农业科学, 2022, 50(7):59-66.
- [44] 肖熙鸥,林文秋,陈卓,等. 马铃薯抗青枯病育种研究进展 [J]. 江苏农业学报, 2021, 37(5):1344-1351.
- [45] 翟鑫娜,张云帅,刘毅强,等. 马铃薯耐低氮材料的筛选 [J]. 江苏农业科学, 2022, 50(6):82-87.
- [46] 陈哲,王祥和,周文静,等. 荔枝 GA2ox 基因家族的鉴定及表达分析 [J]. 分子植物育种, 2021, 19(14):4626-4636.
- [47] 马李广,张贺龙,庞小可,等. 白菜 bZIP 转录因子基因家族应答春化反应关键基因表达分析 [J]. 江苏农业学报, 2022, 38(3):765-774.
- [48] WANG Y, CUI Y, HU G, et al. Reduced bioactive gibberellin content in rice seeds under low temperature leads to decreased sugar consumption and low seed germination rates [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2018, 133:1-10.
- [49] CHENG Z, LUAN Y, MENG J, et al. WRKY transcription factor response to high-temperature stress [J]. Plants, 2021, 10(10):2211.

(责任编辑:成纾寒)