

张泽锦, 梁颖, 唐丽, 等. 外源赤霉素对三青莴笋拔节影响及转录组初步分析[J]. 江苏农业学报, 2025, 41(9): 1822-1832.  
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2025.09.017

## 外源赤霉素对三青莴笋拔节影响及转录组初步分析

张泽锦<sup>1,2</sup>, 梁颖<sup>1,2</sup>, 唐丽<sup>1,2</sup>, 李家慧<sup>3</sup>

(1. 四川省农业科学院园艺研究所/果蔬园艺作物种质创新与利用四川省重点实验室, 四川 成都, 610066; 2. 四川省蔬菜工程技术研究中心, 四川 彭州, 611934; 3. 绵阳市农业科学研究院, 四川 绵阳, 621023)

**摘要:** 为探究外源赤霉素对三青(青皮、青肉、青叶)莴笋拔节的影响机制,本研究以2种不同拔节能力的三青莴笋品种天香青和高山青为试验材料,以喷施清水为对照(CK),分别进行喷施赤霉素处理,分析赤霉素对莴笋生长的影响。结果表明,喷施赤霉素处理天香青和高山青的株高分别比CK增加61.74%和32.51%,茎叶鲜重比分别增加56.33%和40.35%,但对单株地上部分鲜重无显著影响。差异表达基因GO分析结果显示,2个莴笋品种喷施赤霉素处理分别与CK在生物学过程的差异主要在细胞形成过程,而2个品种在生物学过程的差异主要在细胞核和DNA等方面。与拔节有关的差异表达基因主要集中在二萜生物合成(Diterpenoid biosynthesis)途径。实时荧光PCR验证结果显示,喷施赤霉素处理天香青和高山青茎尖GA3ox基因相对表达量分别比CK降低55.4%和69.6%;拔节能力较好的高山青莴笋GA20ox和KAO基因相对表达量高于拔节能力弱的天香青莴笋。综上,外源赤霉素能影响莴笋内源赤霉素合成途径中关键基因的表达,三青莴笋拔节能力与内源赤霉素合成关键基因LsGA20oxI表达和赤霉素代谢有关的转录因子基因表达有关。

**关键词:** 三青莴笋; 拔节; 转录组; 差异表达基因

**中图分类号:** S636.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2025)09-1822-11

## Preliminary analysis of the effects of exogenous gibberellin on stem elongation of 3-green asparagus lettuce and its transcriptome

ZHANG Zejin<sup>1,2</sup>, LIANG Ying<sup>1,2</sup>, TANG Li<sup>1,2</sup>, LI Jiahui<sup>3</sup>

(1. Horticultural Crops Germplasm Innovation and Utilization Key Laboratory of Sichuan Province/Horticulture Research Institute, Sichuan Academy of Agricultural Sciences, Chengdu 610066, China; 2. Sichuan Province Engineering Technology Research Center of Vegetables, Pengzhou 611934, China; 3. Mianyang Academy of Agricultural Sciences, Mianyang 621023, China)

**Abstract:** To explore the mechanism of exogenous gibberellin on stem elongation of 3-green (green peel, green flesh, green leaf) asparagus lettuce, two varieties of 3-green asparagus lettuce with different stem elongation ability, Tianxiangqing and Gaoshanqing, were used as experimental materials, and water was sprayed as control (CK). The effects of gibberellin on the growth of asparagus lettuce were analyzed. The results showed that compared with the CK, the plant height of Tianxiangqing and Gaoshanqing increased by 61.74% and 32.51%, respectively, and the stem-to-leaf fresh weight ratio increased by 56.33% and 40.35% respectively, but there was no significant effect on the fresh weight of aboveground parts per plant. GO analysis of differentially expressed genes showed that the differences between gibberellin treatment and CK in the two asparagus lettuce varieties were mainly enriched in the biological process of cellular forma-

收稿日期: 2024-12-09

基金项目: 四川省自然科学基金项目(2023NSFSC0159); 四川省“十四五”蔬菜育种攻关项目(2021YFYZ0022)

作者简介: 张泽锦(1984-), 男, 四川成都人, 博士, 副研究员, 主要研究方向为蔬菜栽培技术研究。(E-mail) zhangzj127@163.com

通讯作者: 唐丽, (E-mail) tangli-999@163.com

tion, while the differences between the two varieties were mainly associated with nuclear components and DNA-related biological processes. The differentially expressed genes related to stem elongation were found to be primarily enriched in the diterpene biosynthesis pathway. Real-time fluorescence PCR validation showed that the relative expression levels of *GA3ox* gene in the shoot tips of Tianxiangqing and Gaoshanqing treated with gibberellin were 55.4% and 69.6% lower than those in the CK, respectively. The relative expression levels of *GA20ox* and *KAO* genes in Gaoshanqing asparagus lettuce with good stem elongation ability were higher than those in Tianxiangqing asparagus lettuce with weak stem elongation ability. In summary, exogenous gibberellin can affect the expression of key genes in the endogenous gibberellin synthesis pathway of asparagus lettuce. The stem elongation ability of 3-green asparagus lettuce is associated with the expression of *LsGA20ox1* (a critical gene involved in endogenous gibberellin synthesis) and the transcription factor genes related to gibberellin metabolism.

**Key words:** 3-green asparagus lettuce; stem elongation; transcriptome; differentially expressed genes

莴笋 (*Lactuca sativa*) 是高山、高原地区夏季种植的主要反季节蔬菜,具有较高的经济效益。四川省莴笋常年种植面积约  $6.7 \times 10^4$  hm<sup>2</sup>。其中,青皮、青肉、青叶的三青莴笋是四川目前种植面积较大的莴笋品种,市场接受度高。但三青莴笋茎秆拔节能力弱,自然环境下其植株矮小,商品性较差。

赤霉素 (Gibberellin, GA) 在植物种子萌发、茎伸长、叶片面积增大和开花等生长过程中发挥重要作用<sup>[1]</sup>。GA 生物合成能力弱的植物或突变体常出现植株矮化和开花延迟等表型特征,利用外源 GA 处理这些植物或植株可促进其生长发育<sup>[2]</sup>。目前,在大豆<sup>[3]</sup>、番茄<sup>[4]</sup>、生菜和芝麻菜<sup>[5]</sup>等作物的种植过程中,外源 GA 得到广泛应用。同样,外源赤霉素是三青莴笋种植过程中常用的生长调节剂,可有效促进三青莴笋的拔节增高,提高其商品性<sup>[6]</sup>。

目前,虽然从植物、真菌和细菌中已经鉴定到 130 多种 GA,但其中大多数 GA 没有生物活性,在植物中主要充当生物活性形式的前体或是失活代谢物。植物中具有生物活性的 GA 主要包括 GA<sub>1</sub>、GA<sub>3</sub>、GA<sub>4</sub> 和 GA<sub>7</sub><sup>[7]</sup>。编码 GA20 氧化酶 (*GA20ox*) 和 GA3-氧化酶 (*GA3ox*) 的基因表达水平对 GA 生物合成有重要影响,这 2 个基因催化生物活性 GA 合成的最后步骤<sup>[8-9]</sup>。施用外源 GA<sub>3</sub> 可以改变多种植物的转录组特征和调节 GA 信号通路的关键部分<sup>[10-11]</sup>。鉴于目前施用外源赤霉素对三青莴笋赤霉素合成相关基因表达影响研究缺乏的现状,本研究以 2 种不同拔节能力的三青莴笋品种天香青和高山青为试验对象,喷施相同浓度的赤霉素,分析赤霉素对莴笋生长和转录组的影响,旨在明确赤霉素促进三青莴笋拔节机制和不同三青莴笋品种拔节能力差异的原因,为科学合理利用赤霉素、提高三青莴笋商品性供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

自主拔节能力较弱的三青莴笋品种天香青 (TQ) 来源于四川省绵阳科兴种业有限公司,自主拔节能力较好的三青莴笋品种高山青 (GQ) 来源于绵阳市农业科学研究院。分析纯 GA<sub>3</sub> 购自成都市科隆化学制品有限公司。

### 1.2 试验设计

2023 年 9 月 4 日于塑料大棚内进行莴笋育苗,9 月 28 日选择长势一致的幼苗定植于四川省农业科学院园艺研究所试验场中 (30°37'12"N, 104°06'36"E)。每个品种设 2 个小区,小区长 2.0 m,宽 1.5 m,定植前施足基肥。定植时,行距 30 cm,株距 30 cm,每个小区种植莴笋 30 株。当莴笋幼苗第 5 片叶展开时 (10 月 18 日),2 个小区分别进行喷施清水 (CK) 和喷施 40 mg/L 赤霉素溶液处理,喷施量以叶片滴水为度。其他管理措施按当地常规方案进行。

### 1.3 测定项目及方法

1.3.1 生长指标测定 2024 年 1 月 12 日莴笋进入上市期,每处理选取中等长势植株 6 株,测定不同处理莴笋株高、茎粗、茎鲜重、绿叶鲜重。株高采用刻度尺测量;茎粗采用游标卡尺测量,测定茎秆中上部位和中下部位粗度,取平均值得到;茎鲜重、绿叶鲜重利用电子天平称量,地上部分重量为茎鲜重和绿叶鲜重之和,茎叶鲜重比根据莴笋茎秆鲜重/绿叶鲜重得到。

1.3.2 转录组分析 2023 年 11 月 29 日取 2 个品种不同处理莴笋顶端 2 cm 组织,将样品放入液氮中速冻,保存于 -80 °C 冰箱备用,每个处理 3 个样品。利用 Trizol 试剂进行样本总 RNA 提取,利用 Nano-Drop2000 超微量分光光度计 (美国 Thermo Scienti-

ficw 公司产品)检测样本总 RNA 浓度及纯度,利用专用琼脂糖电泳或 Agilent 2100 生物分析仪(美国 Agilent Technologies Inc 公司产品)检测总 RNA 完整性。取检测合格的总 RNA,使用 NEBNext Ultra II RNA Library Prep Kit for Illumina 试剂盒(美国 New England Biolabs Inc 产品)构建文库。使用 Agilent 2100 生物分析仪、Agilent High Sensitivity DNA Kit 试剂盒(美国 Agilent Technologies Inc 公司产品)进行文库质量检测。利用 Quantifluor-ST 荧光计(美国 Promega 公司产品)和 Quant-iT PicoGreen dsDNA Assay Kit 试剂盒(美国 Invitrogen 公司产品)检测文库总浓度。利用 StepOnePlus Real-Time PCR Systems(美国 Thermo Scientific 公司产品)定量检测有效文库浓度。多样品 DNA 文库(Multiplexed DNA libraries)均一化后等体积混合。将混合好的文库逐步稀释定量后在 NovaSeq 6000 平台(美国 Illumina 公司产品)测序。以上工作由上海派森诺生物有限公司完成。测序完成后生成 FASTQ 格式的原始数据(RAW data),采用 Fastp 0.22.0 软件去除 3'端带接头的序列以及平均质量分数低于 Q20 的读数(Reads),获得高质量数据(Clean data),然后以 Lsat\_Salinas\_v7 ([https://www.ncbi.nlm.nih.gov/assembly/GCF\\_002870075.1/](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/assembly/GCF_002870075.1/))为参考基因组,使用 HISAT2 软件将高质量数据与参考基因组比对。使用 HTSeq v0.9.1 软件统计参考基因组中每个基因被测序片段覆盖的次数,作为基因的原始表达量,采用 FPKM(每千个碱基的转录每百万映射读取的片段数)对表达量进行标准化。采用 Deseq v1.38.3 软件进行比较组合之间的差异表达分析,筛选差异表达基因条件为: $|\log_2 FC| > 1$ ( $FC$ 为差异倍数),差异显著性  $P$  值  $< 0.05$ 。使用 R 语言的 DESeq 工具进行各样品表达量主成分分析(PCA)。使用 topGO v2.50.0 软件进行 GO 富集分析,通过超几何分布方法计算  $P$  值,以  $P$  值  $< 0.05$  为显著富集的标准,找出差异表达基因显著富集的 GO 条目。使用 ClusterProfiler v4.6.0 软件进行 KEGG 通路富集分析,以  $P$  值  $< 0.05$  为显著富集通路。将莴笋基因编码的转录因子与植物转录因子数据库(PlantTFDB, <https://plantfdb.gao-lab.org/>)比较,从而预测得到转录因子及其所属家族,然后对转录因子的差异表达基因进行统计。

为验证转录组测序的结果,对赤霉素代谢途径

中 3 个重要基因,即编码 GA20ox 的 *LsGA20ox1* 基因(LOC111904022)、编码 KAO 的 *LsKAO1* 基因(LOC111879980)、编码 GA3ox 的 *LsGA3ox1* 基因(LOC111910239)进行荧光定量 PCR 验证。以 *LsEF2* (LOC111904524)为内参基因,定量荧光 PCR 引物如表 1 所示。荧光定量 PCR 采用 20  $\mu$ L 反应体系,使用 AceQ qPCR SYBR Green Master Mix 试剂盒(南京诺唯赞生物科技股份有限公司产品)和 LightCycler 480II 实时荧光定量 PCR 仪(瑞典 Roche 公司产品)进行荧光定量 PCR。PCR 反应程序设置为两步法:95  $^{\circ}$ C 预变性 5 min;95  $^{\circ}$ C 变性 15 s,60  $^{\circ}$ C 退火/延伸 40 s,40 个循环。反应结束时采集 SYBR Green 荧光信号,扩增结束后进行熔解曲线分析,以 0.11  $^{\circ}$ C/s 升温速率将温度由 65  $^{\circ}$ C 增至 95  $^{\circ}$ C。以  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  方法计算各基因的相对表达量。

表 1 RT-qPCR 引物

Table 1 Primers for RT-qPCR

引物名称	引物序列(5'→3')
<i>LsGA20ox1</i> -Fw	ACAATACAGAAGTTGCTTACAT
<i>LsGA20ox1</i> -Rv	GCTCACCACCTTATCCTT
<i>LsKAO1</i> -Fw	AAGGCTTCGTAAGTTGAC
<i>LsKAO1</i> -Rv	CCAATGCTAAGACCACAT
<i>LsGA3ox1</i> -Fw	CCAACCGTTATAGTAGATTCTGT
<i>LsGA3ox1</i> -Rv	GCATCAACCACATCAGTCT
<i>LsEF2</i> -Fw	TGAAACAACCTGGACCCAACA
<i>LsEF2</i> -Rv	TAACTTGTCCACCACCACGA

## 1.4 数据处理

利用 Excel 2013 软件进行数据分析与统计,利用 SPSS 20.0 和 Duncan's 新复极差法进行处理间差异显著性分析,利用 Pearson 法分析相关性。

## 2 结果与分析

### 2.1 喷施赤霉素对莴笋生长的影响

喷施赤霉素能显著影响莴笋的生长指标(表 2,图 1)。喷施赤霉素后,天香青和高山青 2 种品种莴笋株高分别比喷施清水对照增加 61.74% 和 32.51%。相同处理下,高山青的株高高于天香青。喷施赤霉素处理天香青(TQ-GA4)株高与喷施清水高山青(GQ-CK)无显著差异。4 个处理单株地上部分鲜重为 0.73~0.80 kg,处理间无显著差异。喷施赤霉素处理天香青和高山青茎叶鲜重比均分别显著

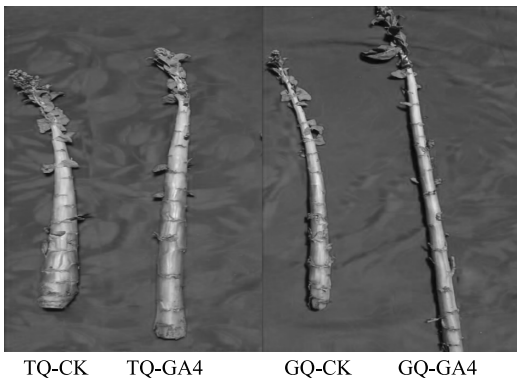
高于清水对照,而 GQ-CK 和 TQ-GA4 处理间茎叶鲜重比无显著差异。喷施赤霉素天香青和高山青平均茎粗分别比 CK 降低 19.30% 和 16.33%, 而 GQ-CK 和 TQ-GA4 处理平均茎粗无显著差异。从上面分析可知,施用赤霉素后,2 个三青莴笋品种虽然单株地上部分鲜重无显著变化,但茎粗均下降、株高和茎叶鲜重比增加,说明赤霉素的施用有利于光合物质向茎分配,进而提高莴笋的商品性。

表 2 喷施赤霉素对三青莴笋生长指标的影响

Table 2 Effects of gibberellin spraying on the growth indicators of 3-green lettuce

处理	株高 (cm)	单株地上部分鲜重 (kg)	茎叶鲜重比	平均茎粗 (mm)
TQ-GA4	84.01±4.90b	0.80±0.15a	4.69±0.73b	44.78±5.61b
TQ-CK	51.94±6.76c	0.76±0.21a	3.00±0.91c	55.49±6.48a
GQ-GA4	110.42±3.44a	0.74±0.14a	7.20±1.01a	36.80±6.72c
GQ-CK	83.33±4.32b	0.73±0.08a	5.13±1.21b	43.98±2.41b

TQ-GA4: 天香青喷施 40 mg/L 赤霉素处理; TQ-CK: 天香青喷施清水对照; GQ-GA4: 高山青喷施 40 mg/L 赤霉素处理; GQ-CK: 高山青喷施清水对照。同列数据后不同小写字母表示处理间差异显著 ( $P < 0.05$ )。



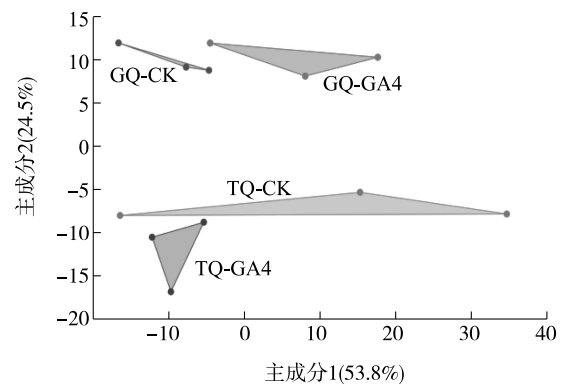
TQ-GA4、TQ-CK、GQ-GA4、GQ-CK 见表 2 注。

图 1 赤霉素对三青莴笋株高的影响

Fig.1 Effects of gibberellin on plant height of 3-green lettuce

## 2.2 基因表达差异分析

不同处理基因表达量的主成分分析如图 2 所示。从图中可以看出,基因表达量解释度最大的 2 个主成分 PC1 和 PC2 的贡献率分别为 53.8% 和 24.5%, 累计贡献率达 78.3%, 因此这 2 个主成分可解释喷施赤霉素对天香青和高山青莴笋基因表达量的影响。同一品种不同处理样本的主成分得分相对较近, 而品种间样本的主成分得分相对较远。

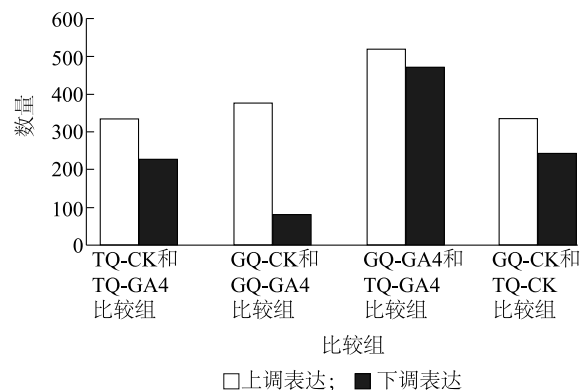


TQ-GA4、TQ-CK、GQ-GA4、GQ-CK 见表 1 注。

图 2 不同处理基因表达量的主成分分析

Fig.2 Principal component analysis of gene expression levels under different treatments

不同处理间差异表达基因的变化情况如图 3 所示。从图中可以看出,与喷施清水对照 (TQ-CK、GQ-CK) 相比,喷施赤霉素处理天香青 (TQ-GA4) 中上调的差异表达基因 (DEG) 为 335 个, 下调的差异表达基因为 228 个, 而喷施赤霉素处理高山青 (GQ-GA4) 莴笋中上调的差异表达基因和下调的差异表达基因分别为 377 个和 83 个。与喷施赤霉素高山青 (GQ-GA4) 相比,喷施赤霉素天香青莴笋 (TQ-GA4) 中上调的差异表达基因和下调的差异表达基因分别为 520 个和 472 个。与喷施清水高山青 (GQ-CK) 相比,喷施清水天香青莴笋 (TQ-CK) 中上调的差异表达基因和下调的差异表达基因分别为 336 个和 243 个。由此可见,喷施赤霉素对不同三青莴笋品种的基因表达水平有显著影响。



TQ-GA4、TQ-CK、GQ-GA4、GQ-CK 见表 1 注。上调、下调表达指比较组中,与前者相比,后者上调表达或下调表达。

图 3 不同比较组的差异表达基因数量

Fig.3 Number of differentially expressed genes in different comparison groups

### 2.3 差异表达基因功能富集分析

2.3.1 差异表达基因 GO 富集分析 不同比较组差异表达基因 GO 富集分析结果如图 4 所示。喷施赤霉素处理天香青 (TQ-GA4) 与喷施清水对照 (TQ-CK) 比较组差异表达基因在细胞组分 (Cellular component, CC) 方面主要富集在细胞外区域 (Extracellular region)、膜固有成分 (Intrinsic component of membrane) 及高尔基体亚区室 (Golgi subcompartment) 等, 在分子功能 (Molecular function, MF) 方面主要富集在水解 O-糖基化合物的水解酶活性 (Hydrolase activity, hydrolyzing O-glycosyl compounds)、水解酶活性 (Hydrolase activity) 及 3-氧代-酰基-辅酶 A 合成酶活性 (3-oxo-arachidoyl-CoA synthase activity) 等, 在生物学过程 (Biological process, BP) 方面主要富集在碳水化合物代谢过程 (Carbohydrate metabolic process)、细胞壁组织或生物形成 (Cell wall organization or biogenesis) 及多糖代谢过程 (Polysaccharide metabolic process) 等。

喷施赤霉素处理高山青 (GQ-GA4) 与喷施清水对照 (GQ-CK) 比较组差异表达基因在细胞组分 (CC) 方面主要富集在染色体 (Chromosome)、染色体部分 (Chromosomal part) 及非膜束缚细胞器 (Non-membrane-bounded organelle) 等, 在分子功能 (MF) 方面主要富集在蛋白质异二聚化活性 (Protein heterodimerization activity)、DNA 结合 (DNA binding) 及蛋白质二聚化活性 (Protein dimerization activity) 等, 在生物学过程 (BP) 方面主要富集在染色体组织、细胞周期 (Cell cycle)、细胞周期过程 (Cell cycle process) 及细胞器组织 (Organelle organization) 等。

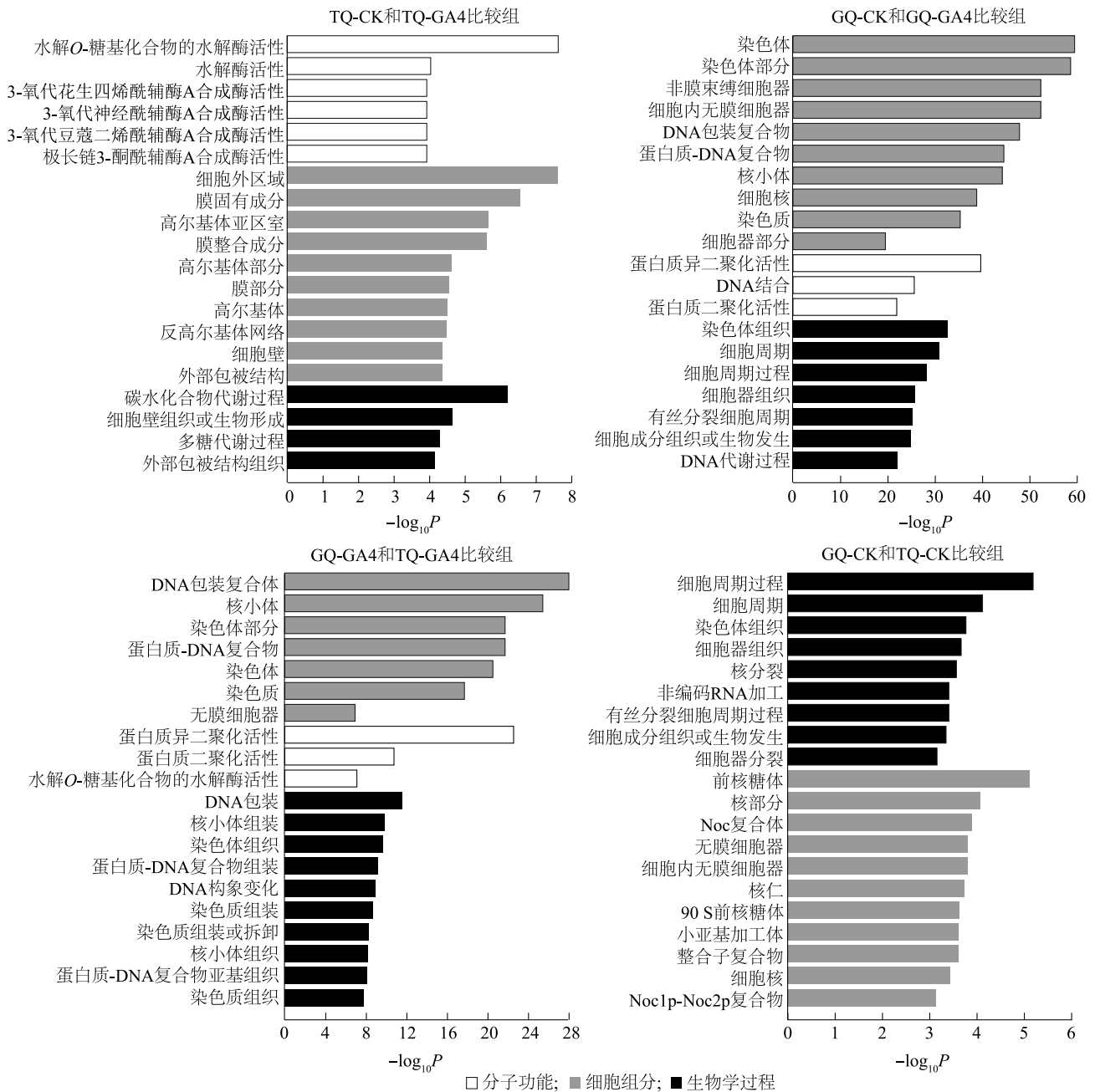
喷施赤霉素处理天香青 (TQ-GA4) 与喷施赤霉素处理高山青 (GQ-GA4) 比较组差异表达基因在细胞组分方面主要富集在 DNA 包装复合体 (DNA packaging complex)、核小体 (Nucleosome) 及染色体部分 (Chromosomal part) 等, 在分子功能 (MF) 方面主要富集在蛋白质异二聚化活性 (Protein heterodimerization activity)、蛋白质二聚化活性 (Protein dimerization activity) 及水解 O-糖基化合物的水解酶活性 (Hydrolase activity, hydrolyzing O-glycosyl compounds) 等, 在生物学过程 (BP) 方面主要富集在 DNA 包装 (DNA packaging)、核小体组装 (Nucleosome assembly) 及染色体组织 (Chromosome organiza-

tion) 等。

喷施清水对照高山青 (GQ-CK) 与喷施清水对照天香青 (TQ-CK) 比较组差异表达基因在细胞组分方面主要富集在细胞周期过程 (Cell cycle process)、细胞周期 (Cell cycle) 及染色体组织 (Chromosome organization) 等, 在生物学过程 (BP) 方面主要富集在前核糖体 (Preribosome)、核部分 (Nuclear part) 及 Noc 复合体 (Noc complex) 等。

上述结果说明, 2 个不同拔节能力的三青莴笋喷施赤霉素后生物学过程方面的差异对细胞形成有较大影响, 功能差异主要富集在细胞核和 DNA 形成等过程。

2.3.2 差异表达基因 KEGG 富集分析 不同比较组差异表达基因 KEGG 富集分析结果如图 5 所示。喷施赤霉素处理天香青 (TQ-GA4) 和喷施清水对照 (TQ-CK) 比较组差异表达基因富集排名前 3 的代谢通路为脂肪酸伸长 (Fatty acid elongation)、角质层、木栓层和蜡质生物合成 (Cutin, suberine and wax biosynthesis) 及淀粉和蔗糖代谢 (Starch and sucrose metabolism)。与赤霉素代谢途径二萜生物合成 (Diterpenoid biosynthesis) 相关的差异表达基因有 1 个。喷施赤霉素处理高山青 (GQ-GA4) 和喷施清水对照 (GQ-CK) 比较组差异表达基因富集排名前 3 代谢通路为 DNA 复制 (DNA replication)、错配修复 (Mismatch repair) 及同源重组 (Homologous recombination)。与天香青品种一样, 有 1 个差异表达基因富集到赤霉素代谢途径二萜生物合成 (Diterpenoid biosynthesis)。喷施赤霉素处理天香青 (TQ-GA4) 和喷施赤霉素处理高山青 (GQ-GA4) 比较组差异表达基因富集排名前 3 代谢通路为 DNA 复制 (DNA replication)、N-聚糖生物合成 (N-Glycan biosynthesis) 及同源重组 (Homologous recombination), 与 GQ-GA4 和 GQ-CK 比较组类似。同样有 1 个差异表达基因富集到二萜生物合成 (Diterpenoid biosynthesis)。GQ-CK 和 TQ-CK 比较组差异表达基因富集排名前 3 的代谢通路为 DNA 复制 (DNA replication)、托烷、哌啶和吡啶生物碱生物合成 (Tropane, piperidine and pyridine alkaloid biosynthesis) 及 ABC 转运蛋白 (ABC transporters), 同样二萜生物合成 (Diterpenoid biosynthesis) 亦为显著富集代谢通路。由此可见, 与株高相关的赤霉素合成途径在 4 个比较组中均存在差异表达基因。



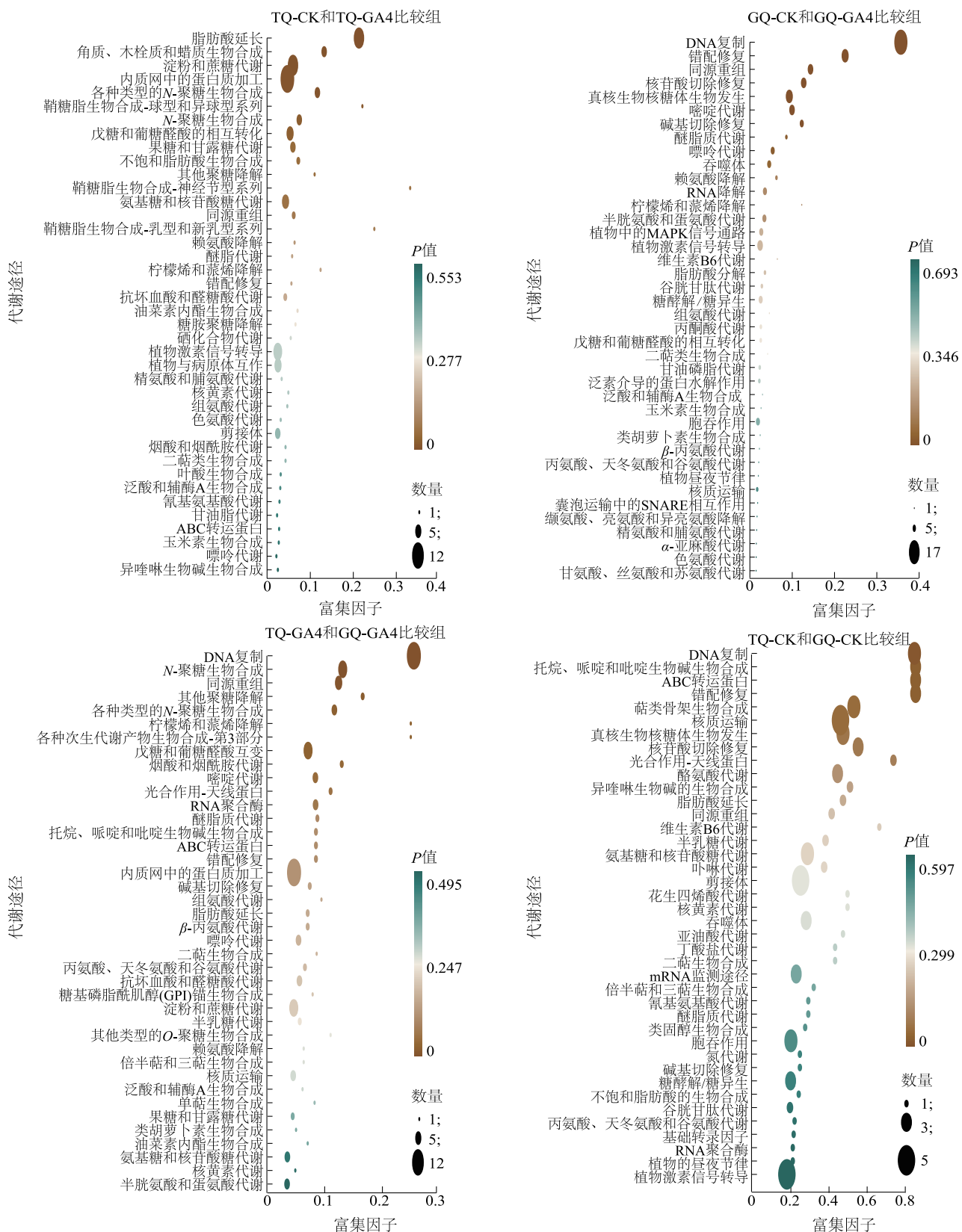
TQ-GA4、TQ-CK、GQ-GA4、GQ-CK 见表 1 注。 $P$ : 差异基因在特定条目中随机聚集的概率。

图 4 不同比较组差异表达基因 GO 功能分析

Fig.4 GO functional analysis of differentially expressed genes in different comparison groups

不同比较组赤霉素代谢途径二萜生物合成 (Diterpenoid biosynthesis) 关键基因表达水平不同 (图 6)。与 TQ-CK 和 GQ-CK 相比, TQ-GA4 处理和 GQ-GA4 处理二萜生物合成代谢通路中编码 GA3ox (Gibberellin 3 $\beta$ -dioxygenase) 的基因 *LsGA3ox1* 表达均出现下调; 与 TQ-GA4 处理相比, GQ-GA4 处理二萜生物合成代谢通路中编码 KAO (Ent-kaurenoic

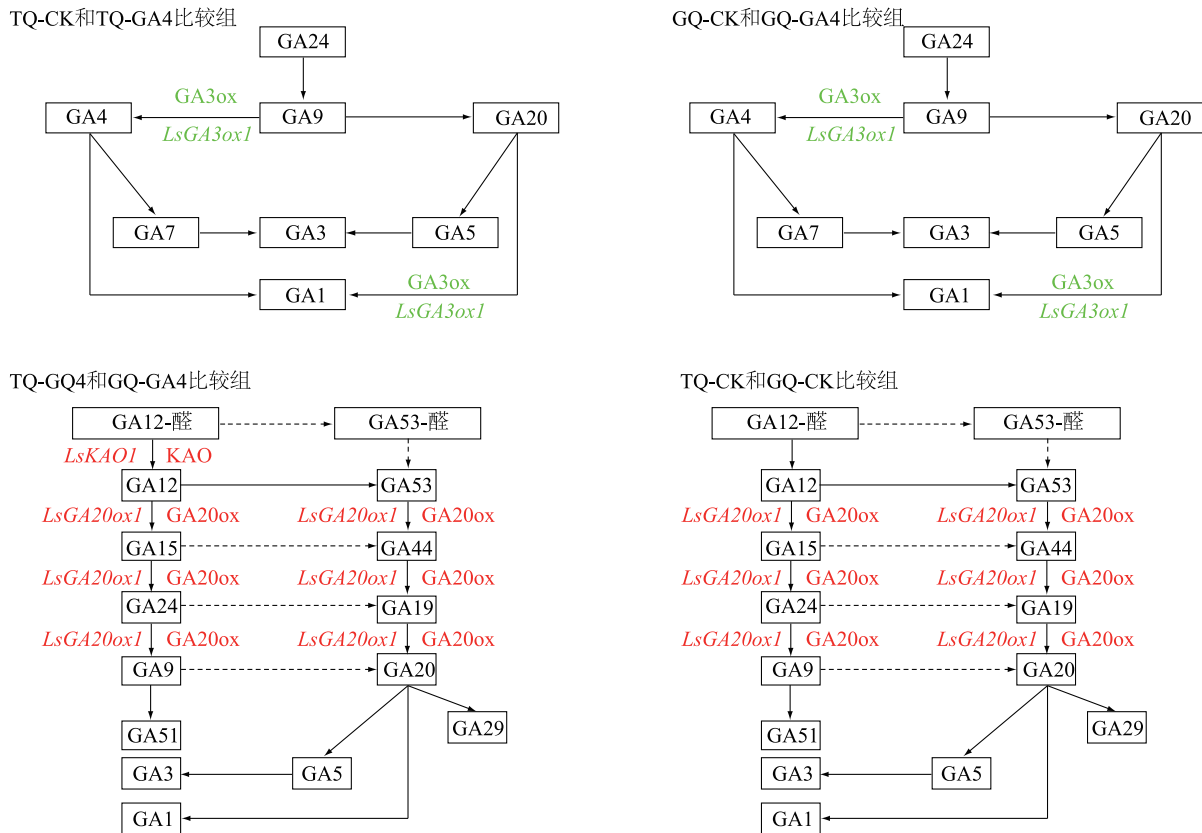
acid monoxygenase) 和 GA20ox (Gibberellin-44 dioxygenase) 的基因 *LsKAO1* 和 *LsGA20ox1* 表达上调; 同样, 与 TQ-CK 相比, GQ-CK 二萜生物合成代谢通路中编码 GA20ox 的基因 *LsGA20ox1* 表达上调。因此, 喷施外源赤霉素能降低赤霉素合成关键基因的表达, 拔节能力较好的 GQ 品种赤霉素合成关键基因的表达量高于拔节能力较差的 TQ 品种。



TQ-GA4、TQ-CK、GQ-GA4、GQ-CK 见表 1 注。

图 5 不同比较组差异表达基因 KEGG 富集分析

Fig.5 KEGG enrichment analysis of differentially expressed genes in different comparison groups



TQ-GA4、TQ-CK、GQ-GA4、GQ-CK 见表 1 注。GA+数字表示不同类型的赤霉素,红色表示基因表达上调,绿色表示基因表达下调(上调、下调指比较组中,与前者相比,后者上调或下调)。

图 6 不同比较组赤霉素合成路径中关键基因表达情况

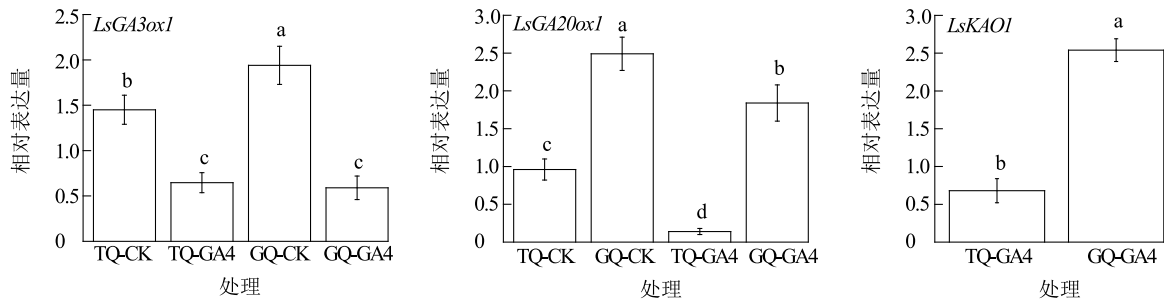
Fig.6 Expression of key genes in gibberellin biosynthesis pathway across different comparison groups

2.3.3 赤霉素合成关键基因的 RT-qPCR 验证 不同处理赤霉素代谢途径中 3 个差异表达基因相对表达量如图 7 所示。喷施赤霉素处理(TQ-GA4 和 GQ-GA4)天香青和高山青茭笋顶端生长点中编码 GA3ox 的基因 *LsGA3ox1* 相对表达量分别比相应对照降低 55.4% 和 69.6%;GQ-CK 和 GQ-GA4 处理茭笋顶端生长点中编码 GA20ox 的基因 *LsGA20ox1* 相对表达量分别是 TQ-CK 和 TQ-GA4 处理的 2.6 倍和 4.7 倍。GQ-GA4 处理茭笋顶端生长点中编码 KAO 的基因 *LsKAO1* 相对表达量是 TQ-GA4 的 1.4 倍。上述结果与转录组数据基本一致,说明转录组数据可以表征不同处理茭笋中赤霉素代谢中基因转录水平。

4 个处理共有的差异基因 *LsGA3ox1* 和 *LsGA20ox1* 与茭笋生长指标相关性分析结果如表 3 所示。从表中可以看出,*LsGA20ox1* 基因相对表达量与株高和茎叶鲜重比均呈正相关,而与地上部分鲜重和平均茎粗呈负相关;*LsGA3ox1* 基因相对表达量与株高、地上部分鲜重、茎叶鲜重比 3 个指标都呈负相关。由于 *LsGA3ox1* 基因表达量

与生长指标相关系数的绝对值相对较低,因此,*LsGA20ox1* 基因相对表达量对三青茭笋的生长影响更大。

2.3.4 差异表达转录因子基因 不同比较组差异表达转录因子基因数量如图 8 所示。从图中可以看出,TQ-GA4 处理和 TQ-CK 比较组差异表达转录因子基因在 *bHLH*、*AP2*、*WRKY* 家族分别有 2 个,其余家族差异表达转录因子基因均为 1 个。与 TQ-CK 相比,TQ-GA4 处理 2 个 *bHLH* 家族差异表达转录因子基因均下调,*AP2*、*WRKY* 家族差异表达转录因子基因上调和下调各 1 个。GQ-GA4 处理与 GQ-CK 比较组差异表达转录因子基因在 *MYB*、*bZIP*、*YABBY*、*C2H2*、*bHLH* 及 *B3* 家族分别有 2 个,其他家族均为 1 个。与 GQ-CK 相比,GQ-GA4 处理 *YABBY*、*C2H2*、*bHLH* 及 *B3* 等家族差异表达转录因子基因均下调,*bZIP* 家族差异表达转录因子基因上调和下调各 1 个,*MYB* 家族差异表达转录因子基因均上调。TQ-GA4 处理和 GQ-GA4 处理比较组差异表达转录因子基因主要分布在 *B3* 和 *GATA* 家族,数量均为 3 个,*AP2*、*C2H2*、*ERF*、*TALE*、*YABBY*、*C3H*、*MYB*、*Dof* 及 *bHLH*



TQ-GA4、TQ-CK、GQ-GA4、GQ-CK 见表 1 注。

图 7 赤霉素代谢途径中关键基因相对表达量

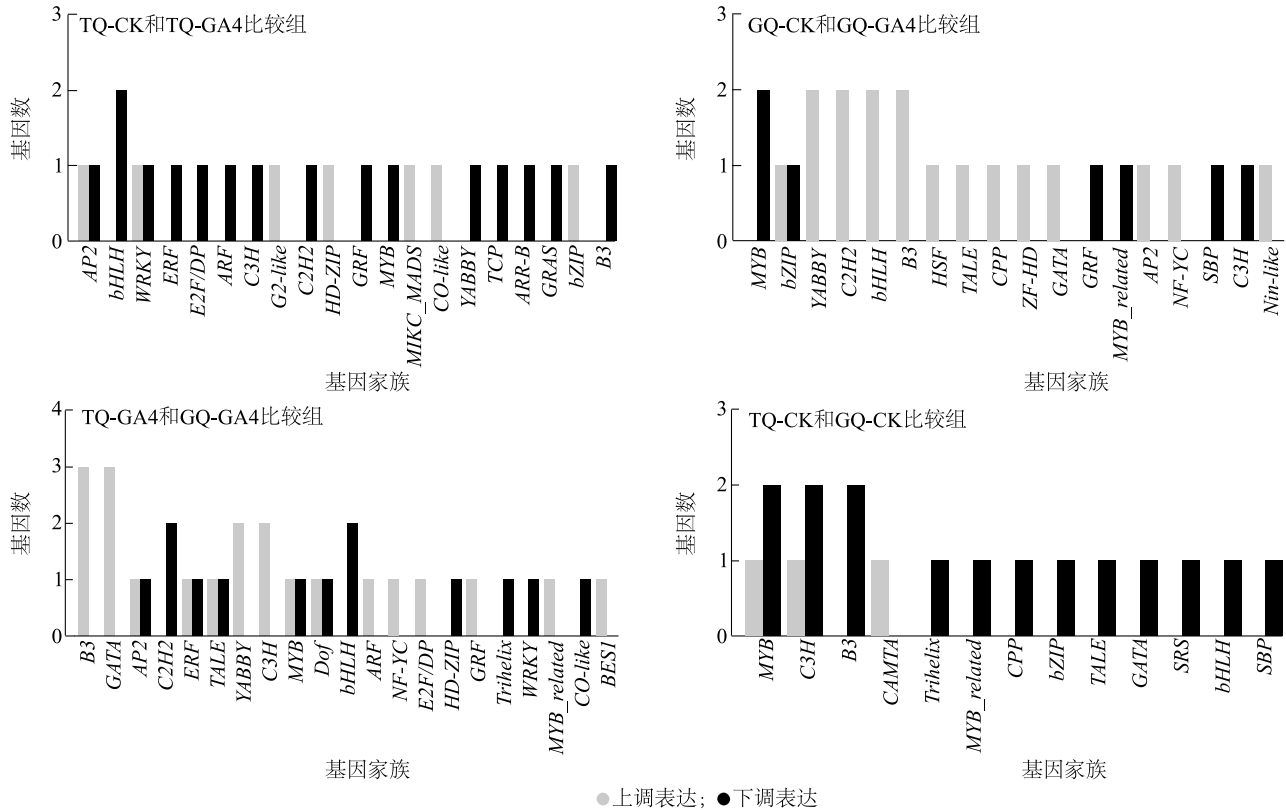
Fig.7 Relative expression levels of key genes in gibberellin metabolic pathway

等家族差异表达转录因子基因均为 2 个;GQ-CK 和 TQ-CK 比较组差异表达转录因子基因主要在 MYB 和 C3H 家族,均为 3 个,B3 家族 2 个,其他家族差异表达转录因子基因均为 1 个。转录因子 C3H、B3、bHLH 在植物激素合成、信号转导、生物胁迫和非生物胁迫响应等过程中发挥重要作用,因此,喷施赤霉素处理能影响到莴笋的生长、发育等过程。

表 3 基因相对表达量与三青莴笋生长指标的相关性

Table 3 Correlation between gene relative expression levels and growth indicators of 3-green lettuce

基因相对表达量	株高	地上部分鲜重	茎叶鲜重比	平均茎粗
<i>LsGA3ox1</i> 相对表达量	-0.53	-0.54	-0.46	0.47
<i>LsGA20ox1</i> 相对表达量	0.64	-0.89	0.73	-0.67



上调、下调表达指比较组中,与前者相比,后者上调表达或下调表达。

图 8 不同比较组差异表达转录因子基因数

Fig.8 Number of differentially expressed transcription factor genes in different comparison groups

### 3 讨论与结论

外源赤霉素能促进作物生长。施用赤霉素能提高油茶同化物在花芽和果实中的分配比例<sup>[12]</sup>。施用外源赤霉素可以增加去顶云南松合成干物质在地上部和萌发枝条的分配比例<sup>[13]</sup>,也可以调节虎杖干物质在茎叶的分配比例<sup>[14]</sup>。本研究结果表明,喷施外源赤霉素,能增加三青莴笋株高,提高茎叶鲜重比,但对单株地上部分鲜重无显著影响。茎叶鲜重比的提高有利于更多的生物量分配到茎中,能提高莴笋茎产量及其商品性。

bHLH 转录因子家族在植物的生长发育和次生代谢中起重要作用,参与调控植物萜类化合物合成<sup>[15-17]</sup>。水稻 bHLH 家族转录因子 DPF 可以激活 *CPS2*、*CYP99A2* 基因的转录,促进二萜类抗毒素合成<sup>[18]</sup>。本研究发现,不同品种和处理比较组在细胞形成、DNA 表达及赤霉素合成代谢的二萜生物合成 (Diterpenoid biosynthesis) 途径均有差异,差异转录因子主要分布在 C3H、B3、bHLH 等转录因子家族。这可能是本研究不同处理及品种莴笋生长指标出现差异的重要因素。

GA 生物合成由 GA 反馈机制调节。GA 缺乏能诱导拟南芥 *AtGA20ox1* 基因的表达,但施用外源 GA 会下调 *AtGA20ox1* 基因的表达量<sup>[19]</sup>。施用 GA<sub>3</sub> 或烯效唑能调节水稻 *OsGA20x3* 基因的表达水平,但对 *OsGA20x1* 和 *OsGA20x2* 的表达水平无影响<sup>[20-21]</sup>。*GA20ox* 和 *GA3ox* 是调节生物活性赤霉素合成的关键基因,其表达水平对植物生长至关重要。*TfGA20ox2* 或 *TfGA3ox1* 的过表达能诱导转基因植物 GA 的过度合成<sup>[22]</sup>。GA<sub>3</sub> 处理后苹果植株内源活性 GA 含量增加<sup>[23]</sup>。本研究结果表明,喷施赤霉素后,2 个莴笋品种内源赤霉素合成的关键基因 *LsGA3ox1* 表达量下调,即外源赤霉素能抑制内源赤霉素的合成,但外源赤霉素的补充植株的生长仍得到促进。在不喷施赤霉素的情况下,拔节能力较好的莴笋品种赤霉素代谢途径中赤霉素合成关键基因 *LsGA20ox1* 相对表达量显著高于拔节能力较差的莴笋品种;喷施赤霉素后,拔节能力较好高山青品种 *LsGA20ox* 相对表达量虽比 CK 有所下调,但仍高于喷施赤霉素的“天香青”。此外,拔节能力较好的莴笋品种高山青喷施赤霉素后,另外 1 个赤霉素合成关键基因 *LsKAO1* 的相对表达量也显著高于拔节能力较

差品种“天香青”,这说明内源赤霉素合成能力对莴笋的拔节能力有重要影响。由于转录组分析中存在基因注释不完全准确等问题,未来的研究中还需要进一步拓展研究对象,并结合代谢组学、蛋白组学开展多组学的联合研究,进一步明确赤霉素对莴笋拔节的作用机制。

#### 参考文献:

- [1] ACHARD P, GENSCHIK P. Releasing the brakes of plant growth: how GAs shutdown DELLA proteins[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2009, 60(4): 1085-1092.
- [2] MAGOME H, YAMAGUCHI S, HANADA A, et al. Dwarf and delayed-flowering 1, a novel *Arabidopsis* mutant deficient in gibberellin biosynthesis because of overexpression of a putative AP2 transcription factor[J]. *The Plant Journal*, 2004, 37(5): 720-729.
- [3] KUCHLAN P, KUCHLAN M K, HUSAIN S M. Effect of foliar application of growth activator, promoter and antioxidant on seed quality of soybean[J]. *Legume Research*, 2016, 40(2): 313-318.
- [4] KAZEMI M. Effect of gibberellic acid and potassium nitrate spray on vegetative growth and reproductive characteristics of tomato[J]. *Journal of Biological and Environmental Sciences*, 2014, 8(22): 1-9.
- [5] MICELI A, MONCADA A, SABATINO L, et al. Effect of gibberellic acid on growth, yield, and quality of leaf lettuce and rocket grown in a floating system[J]. *Agronomy*, 2019, 9(7): 382.
- [6] 王力明, 张泽锦, 雷晓葵, 等. 不同生长调节剂组合对“三青”莴笋生长和光合作用的影响[J]. *北方园艺*, 2021(4): 46-50.
- [7] HEDDEN P. Gibberellin metabolism and its regulation[J]. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2001, 20(4): 317-318.
- [8] CHIANG H H, HWANG I, GOODMAN H M. Isolation of the *Arabidopsis* GA4 locus[J]. *The Plant Cell*, 1995, 7(2): 195-201.
- [9] PHILLIPS A L, WARD D A, UKNES S, et al. Isolation and expression of three gibberellin 20-oxidase cDNA clones from *Arabidopsis*[J]. *Plant Physiology*, 1995, 108(3): 1049-1057.
- [10] QUE F, KHADR A, WANG G L, et al. Exogenous brassinosteroids altered cell length, gibberellin content, and cellulose deposition in promoting carrot petiole elongation[J]. *Plant Science*, 2018, 277: 110-120.
- [11] SONG Q L, CHENG S Y, CHEN Z X, et al. Comparative transcriptome analysis revealing the potential mechanism of seed germination stimulated by exogenous gibberellin in *Fraxinus hupehensis* [J]. *BMC Plant Biology*, 2019, 19(1): 199.
- [12] 温 玥. 外施赤霉素和多效唑对油茶花芽形成和果实品质的影响[D]. 北京: 北京林业大学, 2019.
- [13] 颜廷雨, 成思丽, 胡兆柳, 等. 外源赤霉素对去顶后云南松生物量分配的影响及异速生长分析[J]. *林业科技通讯*, 2023(2): 19-24.
- [14] SUGIURA D, SAWAKAMI K, KOJIMA M, et al. Roles of gibber-

- ellins and cytokinins in regulation of morphological and physiological traits in *Polygonum cuspidatum* responding to light and nitrogen availabilities[J]. *Functional Plant Biology*, 2015, 42:397-409.
- [15] NIEUWENHUIZEN N J, CHEN X Y, WANG M Y, et al. Natural variation in monoterpene synthesis in kiwifruit; transcriptional regulation of terpene synthases by NAC and ETHYLENE-INSENSITIVE3-like transcription factors[J]. *Plant Physiology*, 2015, 167(4):1243-1258.
- [16] 李欣, 李影, 曲子越, 等. bHLH 转录因子在茉莉酸信号诱导植物次生产物合成中的作用及分子机制[J]. *植物生理学报*, 2017, 53(1):1-8.
- [17] 张凯伦, 罗祖良, 郭玉华, 等. bHLH 转录因子调控药用植物萜类化合物生物合成的研究进展[J]. *中国现代中药*, 2017, 19(1):142-147.
- [18] YAMAMURA C, MIZUTANI E, OKADA K, et al. Diterpenoid phytoalexin factor, a bHLH transcription factor, plays a central role in the biosynthesis of diterpenoid phytoalexins in rice[J]. *The Plant Journal*, 2015, 84(6):1100-1113.
- [19] DESGAGNÉ-PENIX I, SPONSEL V M. Expression of gibberellin 20-oxidase1 (*AtGA20ox1*) in *Arabidopsis* seedlings with altered auxin status is regulated at multiple levels[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2008, 59(8):2057-2070.
- [20] SAKAMOTO T, KOBAYASHI M, ITOH H, et al. Expression of a gibberellin 2-oxidase gene around the shoot apex is related to phase transition in rice[J]. *Plant Physiology*, 2001, 125(3):1508-1516.
- [21] SASAKI A, ITOH H, GOMI K, et al. Accumulation of phosphorylated repressor for gibberellin signaling in an F-box mutant[J]. *Science*, 2003, 299(5614):1896-1898.
- [22] INTHIMA P, NAKANO M, OTANI M, et al. Overexpression of the gibberellin 20-oxidase gene from *Torenia fournieri* resulted in modified trichome formation and terpenoid metabolites of *Artemisia annua* L. [J]. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 2017, 129(2):223-236.
- [23] ZHANG S W, ZHANG D, FAN S, et al. Effect of exogenous GA3 and its inhibitor paclobutrazol on floral formation, endogenous hormones, and flowering-associated genes in 'Fuji' apple (*Malus domestica* Borkh.) [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2016, 107:178-186.

(责任编辑:石春林)