

# PagGA2oxs基因家族鉴定及盐胁迫响应模式分析

任莹莹<sup>1</sup> 毛建丰<sup>1,2</sup> 安新民<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>林木遗传育种国家重点实验室, 林木育种与生态修复国家工程中心, 林木分子设计育种高精尖创新中心, 林木花卉遗传育种教育部重点实验室, 树木花卉育种生物工程国家林业和草原局重点实验室, 生物科学与技术学院, 北京林业大学, 北京 100083; <sup>2</sup>Department of Plant Physiology, Umeå Plant Science Centre, Umeå University, Umeå 526040)

**摘要** GA2ox(Gibberellin 2-oxidases)家族酶类在植物的生长发育和非生物逆境胁迫响应中发挥重要作用。该研究旨在系统鉴定杨树GA2ox家族成员并分析其表达模式。基于团队先前发表的84K杨(*Populus alba*×*Populus glandulosa*)的基因组数据, 采用生物信息学方法从84K杨中鉴定获得33个GA2ox基因。进一步对该基因家族成员进行了包括染色体定位、基因结构、理化性质、顺式作用元件、共线性关系、表达模式以及蛋白质互作网络构建等在内的系统分析。研究结果表明PagGA2oxs基因成员可被划分为两个亚家族, 每个亚家族都具有相似的基因结构和保守的结构域。通过启动子区域的顺式作用元件分析, 发现这些基因富含与胁迫响应、激素信号转导以及植物生长发育相关的顺式作用元件。共线性分析揭示了PagGA2oxs与拟南芥之间存在19个共线性事件, 为理解GA2ox基因家族的进化提供了线索。在表达模式分析中, 观察到该基因家族在茎、节间中表达量较高, 还发现PagGA2ox6、PagGA2ox10、PagGA2ox14、PagGA2ox15、PagGA2ox25、PagGA2ox26、PagGA2ox32参与了盐胁迫响应, 暗示它们可能通过与DELLA蛋白的互作, 参与调控植物的生长发育和逆境响应, 这些结果为理解木本植物GA2oxs基因的功能和解析耐盐机制提供了理论基础, 也为培育耐盐性品种提供了潜在的候选基因。

**关键词** 84K杨(*Populus alba*×*Populus glandulosa*); GA2ox; 共线性分析; 表达模式; 盐胁迫

## PagGA2oxs Gene Family Identification and Salt Stress Response Analysis

REN Yingying<sup>1</sup>, MAO Jianfeng<sup>1,2</sup>, AN Xinmin<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>State Key Laboratory of Tree Genetics and Breeding, National Engineering Research Center of Tree Breeding and Ecological Restoration, Advanced Innovation Center for Tree Breeding by Molecular Design, Key Laboratory of Genetics and Breeding in Forest Trees and Ornamental Plants of Ministry of Education, Tree and Ornamental Plant Breeding and Biotechnology Laboratory of National Forestry and Grassland Administration, College of Biological Sciences and Technology, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China; <sup>2</sup>Department of Plant Physiology, Umeå Plant Science Centre, Umeå University, Umeå 526040, Sweden)

**Abstract** GA2ox family of enzymes plays pivotal roles in plant growth and development, as well as in the response to abiotic stress. This study aims to systematically identify the members of the GA2ox family in poplar and analyze their expression patterns. Based on the previously published 84K poplar genome data, 33 GA2ox genes were identified in 84K poplar using bioinformatics methods. A systematic analysis of the gene family members was further conducted, including chromosomal localization, gene structure, physicochemical properties, cis-acting elements, collinearity relationships, expression patterns and protein-protein interaction networks. The results indicate that PagGA2oxs gene members can be organized into two subfamilies with similar gene structures and conserved

收稿日期: 2025-02-06

接受日期: 2025-03-10

农业生物育种重大专项(批准号: 2022ZD0401503)资助的课题

\*通信作者。Tel: 13381379249, E-mail: anxinmin@bjfu.edu.cn

Received: February 6, 2025

Accepted: March 10, 2025

This work was supported by the Agricultural Biological Breeding Major Project (Grant No.2022ZD0401503)

\*Corresponding author. Tel: +86-13381379249, E-mail: anxinmin@bjfu.edu.cn

domains. Analysis of the *cis*-acting elements in the promoter regions revealed that these genes are enriched in *cis*-acting elements associated with stress and hormone responses, as well as plant growth and development. Collinearity analysis indicated 19 collinear events between 84K poplar and *Arabidopsis*, suggesting clues for understanding the evolution of the GA2ox gene family. Furtherly, expression pattern analysis highlighted higher expression levels of this gene family in roots, stems and internodes. Additionally, *PagGA2ox6*, *PagGA2ox10*, *PagGA2ox14*, *PagGA2ox15*, *PagGA2ox25*, *PagGA2ox26*, *PagGA2ox32* were found to be involved in responding to salt stress and interacting with DELLA proteins. These findings provide valuable insights into understanding the function of GA2ox genes in woody plants and deciphering salt tolerance mechanisms and also offer potential candidate genes for the development of salt-tolerant tree varieties.

**Keywords** 84K poplar (*Populus alba* × *Populus glandulosa*); GA2ox; collinearity analysis; expression patterns; salt stress

赤霉素(gibberellins, GAs)是一类重要的植物激素,它们在植物的生长发育中起着关键作用,包括促进细胞伸长、分裂、种子萌发、果实生长和花的发育等<sup>[1]</sup>。近年来的研究表明,赤霉素也参与植物对环境胁迫的响应,例如盐胁迫、干旱和寒冷等非生物胁迫<sup>[2]</sup>。GAs的生物合成和代谢受到精细的调控,其中GA2ox(gibberellin 2-oxidases)基因家族在GAs的代谢中起着至关重要的作用,通过催化活性GAs及其前体物质的不可逆2 $\beta$ -羟化反应,将活性形式的GAs转变为无活性或活性较低的形式,从而调节植物体内GAs的水平<sup>[3]</sup>。

GA2ox属于2-酮戊二酸-双加氧酶超家族,该家族成员根据其底物特异性可分为两类:C19-GA2oxs和C20-GA2oxs。C19-GA2oxs主要作用于活性GAs(如GA1和GA4),使有生物活性的GA1转变成无活性的GA8、GA34来调节植物的生长发育<sup>[4]</sup>。C20-GA2oxs则作用于C20赤霉素类物质,如GA12和GA53,通过羟基化反应将它们转化为非活性的GA110和GA97,通过降低具有生物活性的GAs水平<sup>[5]</sup>,C20-GA2oxs有助于调节植物的生长速率和适应环境变化,进而影响植物的生长和发育过程<sup>[6]</sup>。

以往的研究表明,GA2ox基因家族通过调节植物体内的赤霉素水平,对植物的生长发育产生影响。它们参与控制种子萌发,促进茎秆伸长、叶片展开以及花和果实的发育。水稻(*Oryza sativa* L.)中的*OsGA2ox9*基因通过调控种子中的GA代谢,影响 $\alpha$ -淀粉酶活性和可溶性糖含量,进而与ABA信号协同调控种子休眠和萌发<sup>[7]</sup>,拟南芥(*Arabidopsis thaliana* L.)含有6个GA2ox基因,过表达这些GA2ox基因抑制了高温诱导的下胚轴的伸长,这些植物具有伸长

的下胚轴表型,表明这些基因降低具有生物活性的GAs水平且负调控下胚轴的伸长<sup>[8]</sup>。在烟草中异源表达*AtGA2ox7*、*AtGA2ox8*,出现植株矮化,叶绿素的含量增加<sup>[9-11]</sup>。在高粱(*Panicum virgatum* L.)中,C20-GA2ox基因的过表达导致植物结构改变,增加分蘖、缩短节间长度、降低植物高度,这有助于改善植物的生物量产量<sup>[12]</sup>。C20-GA2ox基因还可能在植物对逆境的响应中起作用<sup>[13]</sup>。在水稻中C20-GA2ox基因,如*OsGA2ox5*参与植物生长、根的重力响应和盐胁迫,*OsGA2ox5*的表达受水分和盐分胁迫的影响,在高盐胁迫条件下,过表达*OsGA2ox5*的水稻植株表现出更好的耐盐性,这可能是通过降低赤霉素水平,从而减缓生长速率,使植物能够更好地适应高盐环境。在盐胁迫、干旱胁迫和低温胁迫条件下,玉米中赤霉素代谢调控基因参与了不同胁迫的应答响应过程,并呈现规律性变化,包括赤霉素失活基因GA2oxs的表达上调<sup>[14]</sup>。

林木育种面临多方面的挑战,包括传统育种周期长、遗传背景复杂等,在现有良种或优良种质的基础上,应用现代分子育种技术可望克服这些困难,在新品种选育方面取得突破<sup>[15]</sup>。本研究将基于本团队发表的84K杨的基因组数据,拟采用生物信息学方法,对84K杨全基因组GA2ox家族成员进行筛选鉴定<sup>[16]</sup>。通过染色体定位、基因结构、序列特征、顺式作用元件、蛋白的理化性质、基因间共线性、系统发育等系列的生物信息分析,进一步对*PagGA2ox*在不同组织器官中的表达模式及在盐胁迫条件下的响应模式进行分析,从而揭示该基因家族的表达特性,为进一步深入研究该基因家族成员的功能和杨树分子育种奠定工作基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 PagGA2oxs基因家族成员鉴定及染色体定位

本实验室发表的84K杨(*Populus alba*×*Populus glandulosa*)基因组数据已经在GenBank上传, 组装登录号: GWHBJXC00000000(Bio-Project ID: PRJ-CA010836)。以拟南芥GA2ox基因家族成员的蛋白质序列为模板, 通过BLASTP从NCBI数据库中检索水稻的GA2ox蛋白序列。为了从84K杨中鉴定GA2ox成员, 从Pfam数据库中下载有关GA2ox基因家族的HMM文件, 再导入TBtools软件中使用筛选出PF03171、PF14226的Pfam序列号。通过BLASTP、HMM SMART与NCBI中的序列进行比对和人工审核, 进一步确认PagGA2oxs基因家族成员, 利用TBtools软件可视化, 将PagGA2ox家族成员定位在染色体上。

### 1.2 PagGA2oxs基因家族的基因结构和进化分析

从84K杨基因组注释信息GFF文件中获取GA2ox基因结构信息, 利用MEGA7软件对84K杨GA2ox基因的氨基酸序列比对分析, 获得系统进化树nwk文件, 通过NCBI的Conserved Domains数据库进行蛋白质保守结构域分析(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>)。利用在线分析工具MEME(<https://meme-suite.org/>)预测保守motif基序, 设置寻找基序数量最大值为8。利用TBtools软件对以上84K杨GA2ox基因信息进行分析, 绘制系统进化树、motif结构域、保守结构域、基因结构组合图。

### 1.3 PagGA2oxs基因家族顺式作用元件预测

从84K杨基因组数据库中提取GA2ox家族基因起始密码子ATG上游2 Kb序列, 将其提交到PlantCARE(<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>)进行启动子分析, 检测该区域存在的顺式作用元件, 使用Excel进行统计。

### 1.4 PagGA2oxs基因家族共线性分析

使用TBtools提取出PagGA2oxs基因家族的染色体骨架和相对应的染色体长度, 在Linux环境下, 下载并安装gffread工具, 将84K杨GFF注释文件转化为GFF3文件, 绘制PagGA2oxs基因间的共线性关系可视化图<sup>[17]</sup>, 同时选择不同的RGB颜色突出显示共线性结果。

### 1.5 PagGA2oxs基因家族进化分析

将PagGA2oxs基因家族成员氨基酸序列使用

MEGA7软件进行聚类分析构建系统发育进化树, 形成的进化树使用ITOL([https://itol.embl.de/personal\\_page.cgi](https://itol.embl.de/personal_page.cgi))网站中添加进化树分支的颜色, 最后导入Adobe illustrator 2024中进行优化。

### 1.6 PagGA2oxs基因家族的表达模式分析

为了研究84K杨中PagGA2oxs的组织器官表达模式和盐胁迫条件下基因家族成员的表达响应模式, 收集了84K杨的RNA-seq数据, 这些数据的样本来自7个不同组织, 包括树皮、从顶端到第四节间的落叶茎、节间、叶、根、茎和木质部, 选择盐胁迫条件下的茎段<sup>[18-19]</sup>, 对不同组织以及不同盐胁迫条件下的表达模式进行分析, 其中每个组织的不同处理都包含3次重复, 分析结果使用TBtools软件HeatMap工具实现可视化。根据转录组数据及PagGA2oxs表达模式热图, 筛选出在受盐胁迫响应的基因, 设计盐胁迫处理实验, 对84K杨树苗外源施加150 mmol/L NaCl处理, 选取5个时间点(0 h、1 h、3 h、6 h、12 h)进行采样。样品使用液氮冻存, 置于-80 °C冰箱保存。使用天根生化科技(北京)有限公司RNA simple总RNA提取试剂盒(DP419)提取RNA, 利用FastKing一步法除基因组cDNA合成预混试剂盒[天根生化科技(北京)有限公司]进行cDNA合成, 反转录反应条件: 42 °C反转录反应15 min、95 °C反转录酶失活反应3 min, 4 °C冰箱保存。

将筛选出的盐胁迫响应基因提取出来, 设计荧光定量引物(表1), 进行荧光定量PCR, 从而获得盐胁迫响应基因的表达量, 通过Excel对数据进行汇总, GraphPad软件进行数据显著性分析。

使用TB Green® Premix Ex Taq™ II(Tli RNaseH Plus)[宝日医生物技术(北京)有限公司]试剂盒进行实时荧光定量PCR(real-time fluorescent quantitative PCR, RT-qPCR), 使用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法对基因表达进行定量, 在冰上配制RT-qPCR反应体系(表2)。

### 1.7 PagGA2oxs基因家族蛋白结构预测

以拟南芥蛋白AtGA2ox1、AtGA2ox2、AtGA2ox4、AtGA2ox6、AtGA2ox7、AtGA2ox8作诱饵, 从84K杨基因组中检索出相关的同源蛋白, 分别获得PagGA2ox6、PagGA2ox10、PagGA2ox15、PagGA2ox25、PagGA2ox26、PagGA2ox32, 使用网站String(<https://string-db.org/>)进行蛋白互作预测。

### 1.8 PagGA2ox25过表达载体构建与遗传转化

选取在盐胁迫响应中显著性表达的PagGA-

表1 RT-qPCR所用引物序列  
Table 1 Primer sequences for RT-qPCR

基因名 Gene ID	正向(5'→3') Forward (5'→3')	反向(3'→5') Reverse (3'→5')
<i>Actin</i>	CTC CAT CAT GAA ATG CGA TG	TTG GGG CTA GTG CTG AGA TT
<i>PagGA2ox6-RT</i>	GTT TTT GGC GAC AAC CCG G	TCG CTG AGA GAG ATT TGC AG
<i>PagGA2ox10-RT</i>	TCT GAG AAA GAA AAA GCA GGC C	CCA TCG GCC ATC ATT TCA AG
<i>PagGA2ox14-RT</i>	GGC AAC TGT TGT AGC AAA TTG	GCC TTA AGC AGT TGT CAT GGT
<i>PagGA2ox15-RT</i>	CCT CCT TAA CAC CAA CCC TC	CAC TCT TAT CAT CCC TCA ACA GC
<i>PagGA2ox25-RT</i>	AGC TAT TTG CCG TGA GCA GT	AGG CGG GTA TCG GTT CAT TC
<i>PagGA2ox26-RT</i>	GTT GGG TAG AAT ACC TTC TCC	GCC TAA AAA CAG AGT CAC TCT G
<i>PagGA2ox29-RT</i>	GGG GGT TCT TTC AAG TTG TG	TAA CAA GTG CTT GAC AGG CAG
<i>PagGA2ox32-RT</i>	TGA GGC AGA TAT CAT GGT CAG	CCA ATT TCT CAG CAG TTG CTG

表2 RT-qPCR反应体系  
Table 2 Reaction system of RT-qPCR verification

反应体系 Reaction system	体积 Volume
cDNA	1.0 μL
TB Green Premix Ex Taq™ II (Tli RNaseH Plus)	5.0 μL
ROX Reference Dye II	0.2 μL
Forward primer	0.4 μL
Reverse primer	0.4 μL
RNase-free ddH <sub>2</sub> O	3.0 μL

2ox25进行基因功能验证, 首先选择84K组培苗克隆出*PagGA2ox25*基因, 构建

CAMBIA2301-GUS(β-葡萄糖醛酸酶)基因的植物表达载体, 进行遗传转化并进行分子水平的检测。

## 2 结果与分析

### 2.1 PagGA2oxs基因家族成员鉴定及染色体定位

为了鉴定84K杨中的GA2ox家族成员, 使用Pfam数据库下载有关GA2ox基因家族的HMM文件, 导入TBtools软件中, 以编码拟南芥*GA2ox*的DIOX<sub>N</sub>域(PF14226)和2OG-FeII<sub>Oxy</sub>域(PF03171)的Pfam序列号为Query, 通过BLASTP、HMM SMART、NCBI中的序列比对和人工审核进一步确认GA2oxs家族成员。在84K杨基因组中共鉴定出33个GA2ox基因成员, 这些基因与拟南芥*GA2oxs*、水稻*GA2oxs*的序列作进一步研究, 并根据它们的染色体定位命名<sup>[20]</sup>。染色体定位分析(图1)表明, PagGA2oxs基因家族成员在84K杨染色体上呈现不均等分布。其中, 在Chr01A上分布的成员最多, 有7个成员分布在这条染色体上, 占总数的21.2%, 其中*PagGA2ox1*、

*PagGA2ox2*、*PagGA2ox3*、*PagGA2ox4*、*PagGA2ox5*属于串联重复; Chr01G、Chr11A、Chr11G上均有4个PagGA2ox基因家族成员; Chr04A、Chr04G、Chr08A、Chr08G、Chr10G上分别分布有2个基因家族成员; 而在Chr02A、Chr02G、Chr10A、Chr14A上均只有1个基因家族成员分布, 基因家族成员主要分布在Chr01A、Chr01G、Chr11A、Chr11G。

### 2.2 PagGA2oxs基因家族的基因结构和保守 motif

基因家族成员在序列上具有保守性和相关性, 外显子-内含子的基因结构能反映基因进化的特征<sup>[21]</sup>。使用TBtools软件将84K杨GA2oxs家族的基因结构和保守基序及其进化树整合在一起<sup>[22]</sup>, 分析84K杨33个基因家族成员, 基因家族成员的结构域是由两个亚家族组成的, 这两个家族属于2-酮戊二酸依赖性双加氧酶。其中, PLN02984超家族是氧化还原酶, 即2OG-Fe(II)加氧酶家族蛋白, 该超家族成员的基因结构主要是由3个外显子和2个内含子组成的, 且外显子数量范围为2~5个, 同时该超家族的基序(motif)个数基本为8, 其中*PagGA2ox8*和*PagGA2ox9*只有6

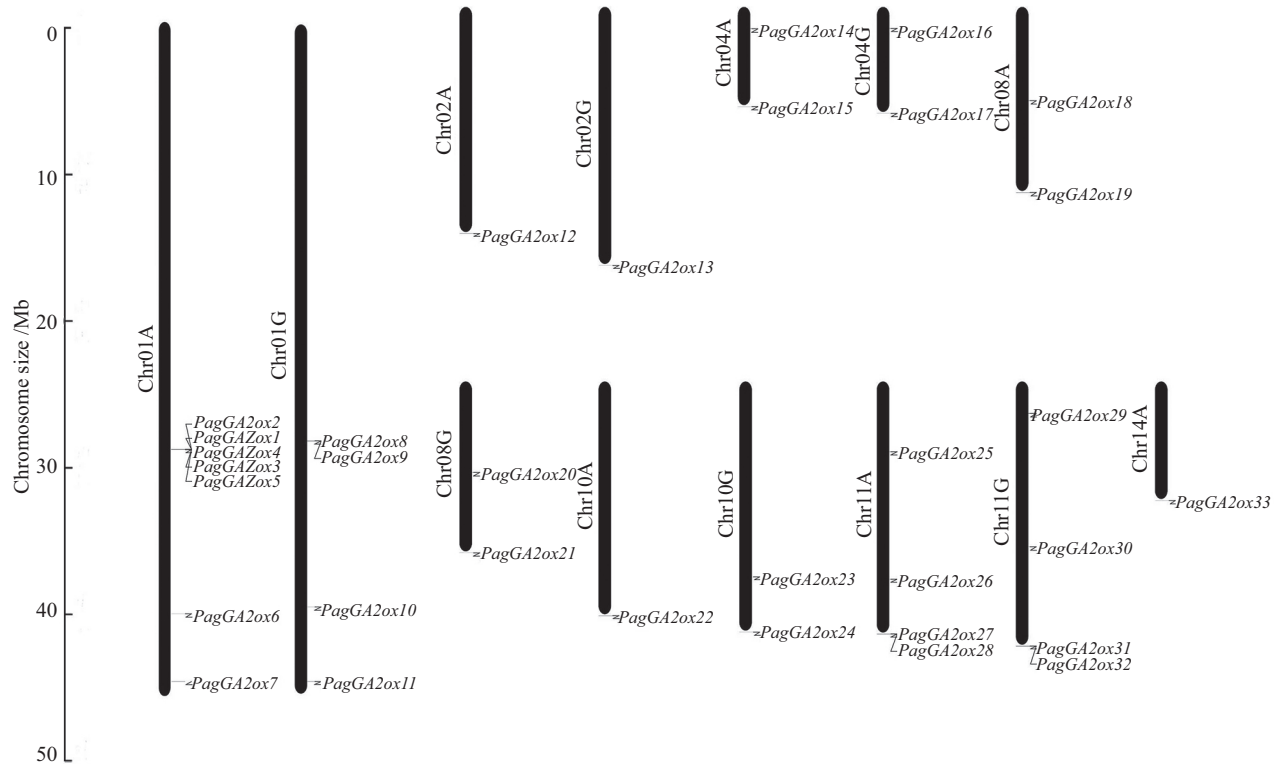


图1 *PagGA2oxs*基因在染色体上的定位

Fig.1 Localization of the *PagGA2oxs* gene on the chromosome

个motif。

另一个PLN02156超家族是赤霉素2-双加氧酶,该基因家族成员的基因结构主要是由2个外显子1个内含子组成的,外显子数量范围为2~3个,motif个数为5~7个,而motif 8基序只在PLN02984超家族中存在,因此,推测motif 8是PLN02984结构域中所特异性表达的。从图2中可以看出同一亚族内的基因表现出相似的基因结构和motif组成,特别是在基因结构的聚类分析中,同一个亚家族的成员在系统发育树中,常常出现在一个同一分支,如*PagGA2ox31*、*PagGA2ox27*、*PagGA2ox29*、*PagGA2ox25*,同一家族成员可能具有相似的生物学功能。这表明,同一亚族下的成员高度保守,这进一步证明了基因在系统发育进化关系中的相近性。

### 2.3 *PagGA2oxs*基因家族顺式作用元件预测

选择基因家族成员起始密码子上游2 000 bp作为基因家族的启动子序列,进行顺式作用元件分析,结果显示*PagGA2oxs*基因家族的启动子区域共鉴定出15种顺式作用元件,该家族启动子中含有赤霉素、生长素(auxin, AUX)、脱落酸(abscisic acid, ABA)、茉莉酸甲酯(methyl jasmonate, MeJA)等植物激素响

应元件,还含有诱导光反应、低温反应、昼夜节律、厌氧反应的响应元件与干旱胁迫响应相关的MYB结合位点(表3),这些顺式作用元件可以在植物激素诱导反应及抗逆反应的生长发育过程中起到重要的作用。*PagGA2oxs*基因家族成员中包含的光响应元件最多(表3)。这一分析,初步证明了*PagGA2oxs*可能在相应环境胁迫和生长调节中起重要作用,尤其是在光响应介导的调节过程中。ABA响应元件ABR达到19个、GA响应元件P-box和TATC-box数量分别达到16和14,进一步证明了该基因家族与植物激素的调节密切相关。

### 2.4 *PagGA2oxs*基因家族共线性分析

在对84K基因组进行深入的共线性分析时(图3C),研究观察到33个基因散布于13条染色体的多个位点,且在這些组内并未发现串联重复基因的存在。进一步的Circos图分析揭示了37对基因间存在共线性关系,在染色体Chr01A上观察到7例串联重复。此外,染色体Chr11A和Chr11G也显示出明显的基因串联重复现象,表明这些区域是基因复制事件的热点,但基因之间的Ka/Ks值均小于1,说明此时基因家族成员受纯化选择<sup>[23]</sup>,说明84K杨*PagGA2oxs*基因通过

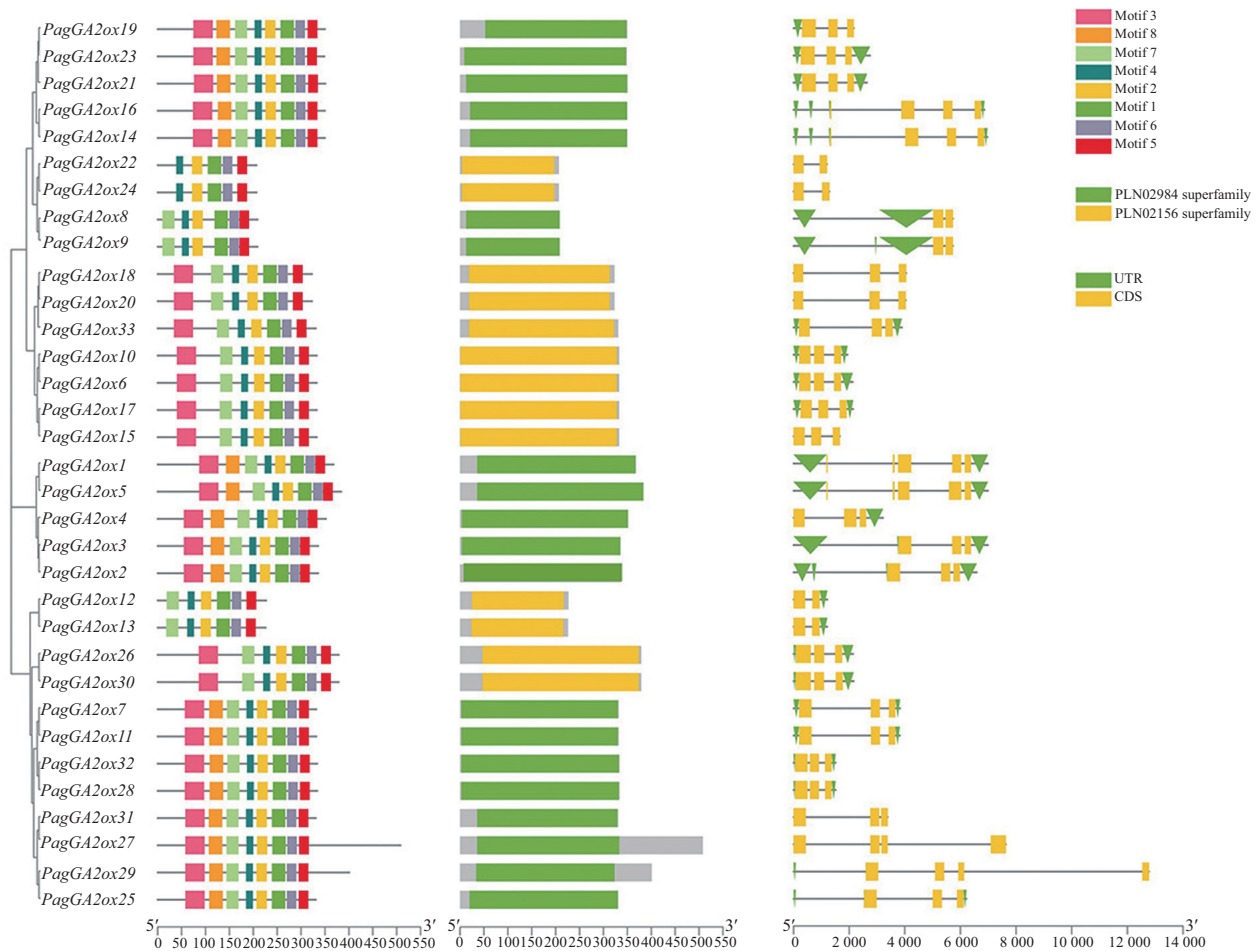


图2 PagGA2oxs基因家族结构、结构域、motif分析

Fig.2 PagGA2oxs gene family structure, domain structure and motif analysis

表3 84K杨GA2oxs基因启动子顺式元件预测

Table 3 *Cis*-acting elements analysis of *GA2oxs* gene promoter in 84K poplar

位点名称 Locus name	基因数 Number	序列 Sequence	元件功能 Function of elements	元件类型 Type of elements
ABR	19	ACG TG	<i>cis</i> -acting element involved in the abscisic acid responsiveness	Hormones responsive
P-box	16	CCT TTT G	Gibberellin-responsive element	
TATC-box	14	TAT CCC A	<i>cis</i> -acting element involved in gibberellin-responsiveness	
TGACG-motif	2	TGA CG	<i>cis</i> -acting regulatory element involved in the MeJA-responsiveness	
TGA-element	2	AAC GAC	Auxin-responsive element	
Box 4	28	ATT AAT	involved in light responsiveness	Light responsive
GT1-motif	28	GGT TAA T	Light responsive element	
ACE	3	GAC ACG TAT G	<i>cis</i> -acting element involved in light responsiveness	
G-Box	1	CAC GTT	<i>cis</i> -acting regulatory element involved in light responsiveness	
TC-rich repeats	21	ATT CTC TAA C	<i>cis</i> -acting element involved in defense and stress responsiveness	Growth regulation
LTR	16	CCG AAA	<i>cis</i> -acting element involved in low-temperature responsiveness	
ARE	27	AAA CCA	Essential for the anaerobic induction	
Circadian	7	CAA AGA TAT C	Involved in circadian control	
MBS	11	CAA CTG	MYB binding site involved in drought-inducibility	
DRE	1	TAC CGA CAT	<i>cis</i> -acting element involved in dehydration, low-temp, salt stresses	
TATA-box	33	TTT AAA AA	Core promoter element around -30 of transcription start	Core promoter

纯化选择, 在进化过程中消除了有害突变位点。本研究在全基因组水平上构建了84K杨、拟南芥、水稻之间的共线性分析网络(图3A和图3B)。84K杨和拟南芥之间的同源基因对数量为19个共线性事件, 但84K杨和水稻之间只有2个共线性事件, 说明该基因家族在双子叶植物进化过程中是高度保守的, 而在单子叶植物的进化过程中产生了新的基因。

## 2.5 PagGA2oxs基因家族进化分析

为了全面揭示84K杨PagGA2oxs基因家族的进化关系, 选取拟南芥、水稻、84K杨三个物种的GA2ox蛋白构建系统进化树。聚类分析结果(图4)显示, 同一物种的GA2ox家族基因处于不同的分支上, 表明直系同源基因的相似程度高于旁系同源基因

的相似程度, 按照进化关系可将GA2ox家族成员分为3组, 其中最大的分支是蓝紫色组, 24个红色区域分支中共有19个GA2ox基因家族成员, 此区域中分为两个部分, 一个部分是PagGA2ox成员与AtGA2ox成员组成的分支; 另一个部分是AtGA2ox成员和OsGA2ox成员组成的分支, 说明PagGA2ox成员与OsGA2ox成员之间亲缘关系较远。84K杨、拟南芥GA2ox家族成员在3个组中均有分布, 而OsGA2ox基因只存在两个分支中, 植物中的GA2ox家族的基因在进化树中出现在不同分支上, 这说明基因的分化要早于植物种属的分化, 跨越了种属间差异, 推测同一分支上的基因家族成员在不同作物中具相似的生物学功能, 从而产生了基因的特异性表达。

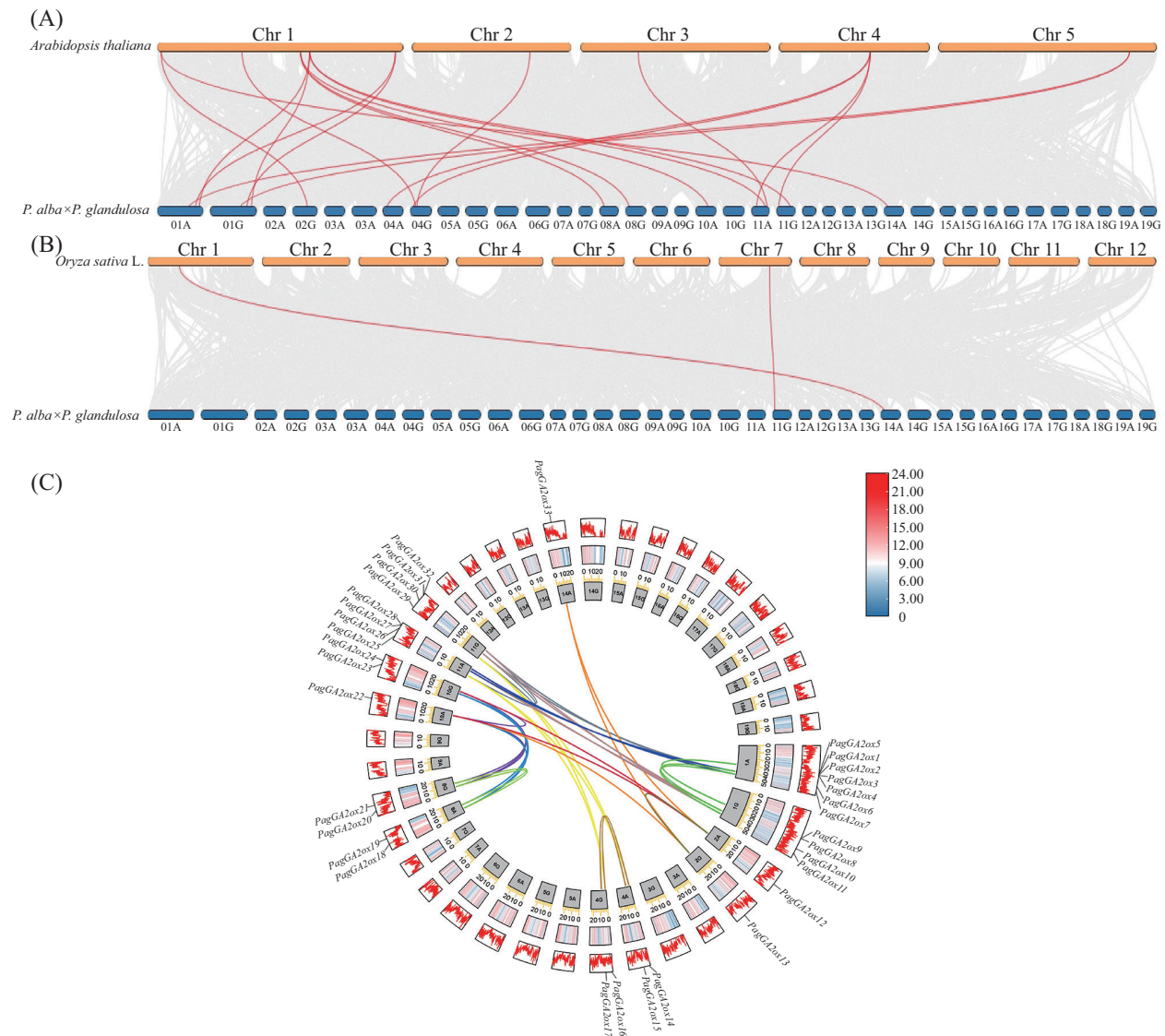


图3 84K杨全基因组与不同物种GA2ox的基因家族共线性分析

Fig.3 Analysis of gene family collinearity of *P. alba x P. glandulosa* with GA2oxs in different species

## 2.6 PagGA2oxs基因家族的表达模式分析

从转录组数据中得到84K杨GA2ox基因家族成员的TPM值,使用TBtools绘制叶片、茎段、根、节间、3周龄的叶茎、木质部、树皮,7个部位的基因表达量热图(图5)。结果表明,根、茎、叶茎、树皮中表达量较高(TPM值大于3)的基因分别占37.88%、37.88%、33.33%和33.33%;不表达的基因分别占40.9%、40.9%、48.48%和35.61%;在这4个组织部位中组成型表达的基因占36.36%。进一步分析表明,*PagGA2ox1*、*PagGA2ox2*、*PagGA2ox3*、*PagGA2ox4*、*PagGA2ox5*在84K杨的根、茎、叶茎、树皮4个部位中表达量都较高;*PagGA2ox10*在根、茎、节间中表达量较高,在树皮和木质部中不表达;*PagGA2ox25*在节间、树皮和木质部中有较高表达,*PagGA2ox8*、*PagGA2ox9*在根、茎、节间、树皮中表达量都较高,在叶茎中表达量较低,其中*PagGA2ox22*、*PagGA2ox27*在根中不表达,但在茎、节间、树皮、木质部中均高表达(图5A)。

对茎段进行盐胁迫处理(0 h、1 h、3 h、6 h、12 h)后的转录组数据进行分析,由(图5B)可知,在第一次100 mmol/L盐胁迫处理条件下,*PagGA2ox19*的表达量上调;第二次盐胁迫处理条件下,*PagGA2ox15*、*PagGA2ox17*在盐胁迫处理后的第一个小时(1 h)表达量上调,在随后的时间点3 h、6 h、12 h,该基因的表达量下调,后续并未进一步变化,这一现象可能反映了植物对盐胁迫的即时响应机制。这种表达模式暗示了该基因在盐胁迫信号感知和早期响应中的潜在作用,而在植物适应性响应的后期阶段,其作用可能减弱或由其他基因接管。随着胁迫的持续,在T1H12、T2H12中分别观察到*PagGA2ox1*、*PagGA2ox2*、*PagGA2ox3*、*PagGA2ox4*、*PagGA2ox5*、*PagGA2ox9*、*PagGA2ox18*、*PagGA2ox19*、*PagGA2ox21*,后期响应基因的表达水平明显增加,这些基因表达水平的变化与植物对盐胁迫的长期适应和生存策略密切相关。

上述盐胁迫表达量分析(图5B)表明,*PagGA2ox6*、*PagGA2ox10*、*PagGA2ox26*、*PagGA2ox29*、*PagGA2ox30*只在茎中特异性表达,*PagGA2ox25*在茎段中表达量较高。在选择茎段作为实验材料进行盐胁迫处理1~12 h时,*PagGA2ox15*、*PagGA2ox32*、*PagGA2ox6*、*PagGA2ox10*、*PagGA2ox26*在不同时间点出现高表达量;*PagGA2ox25*、*PagGA2ox29*显

示没有受到盐胁迫的响应,根据转录组预测的响应基因和未响应基因进行盐胁迫处理,进行RT-qPCR分析。结果如图6所示,根据结合*PagGA2ox*基因表达量的变化分析,*PagGA2ox15*、*PagGA2ox32*、*PagGA2ox6*、*PagGA2ox26*、*PagGA2ox29*在3 h或6 h时,表现出高表达量,但在12 h时,表达量回落,低于未处理时期基因的表达量,与转录组分析结果大致趋势一致;*PagGA2ox10*、*PagGA2ox32*在盐胁迫处理的12 h内,表现出较高于未处理组的表达量,但未出现显著性差异;*PagGA2ox25*在盐胁迫处理后的1 h、3 h、6 h、12 h时均出现显著性差异,这与盐胁迫处理的转录组预测结果不符,但该基因在盐胁迫处理后,表现出显著性差异,后续可进一步研究该基因的耐盐性。

## 2.7 PagGA2ox基因的蛋白互作网络结构

为进一步了解84K杨中PagGA2ox蛋白如何发挥其生物学功能,利用String在线网站对其同源拟南芥蛋白进行了互作蛋白的预测<sup>[24]</sup>,结果显示对盐胁迫响应的蛋白PagGA2ox6、PagGA2ox10、PagGA2ox15、PagGA2ox14、PagGA2ox25、PagGA2ox32、PagGA2ox1与GID、GAI、RGL、RGA蛋白互作(图7),GID蛋白是GAs信号代谢通路中的受体蛋白,调节GAs反应。GAI、RGL、RGA是GRAS家族的DELLA亚家族成员之一,这些负调控因子抑制植物生长,增强植物对盐胁迫的抗性<sup>[25]</sup>。PagGA2oxs分别与这些蛋白之间具有直接或间接的作用,参与84K杨对赤霉素响应、生长发育调节等生物过程。

## 2.8 PagGA2ox25基因DNA水平和GUS化学活性染色分析

为了验证卡那霉素抗性基因*Kan*在转基因植株中的整合情况,我们对16棵转基因株系进行了PCR检测。结果(图8B)显示,所有检测的转基因株系均扩增出了预期大小的目标条带,表明*Kan*基因已成功整合到转基因植株的基因组中。阴性对照(H<sub>2</sub>O)未出现任何条带,而阳性对照(质粒)则显示出清晰的条带,验证了PCR反应的特异性和可靠性。

为进一步确认*GUS*基因在转基因植株中的整合,我们对16棵转基因株系进行了*GUS*基因的PCR检测。结果(图8C)显示,与*Kan*基因的检测结果一致,所有转基因株系均扩增出了*GUS*基因的特异性条带,进一步证实了*GUS*基因在转基因植株中的整合。阴性对照(H<sub>2</sub>O)和野生型对照('84K')均未出现目标



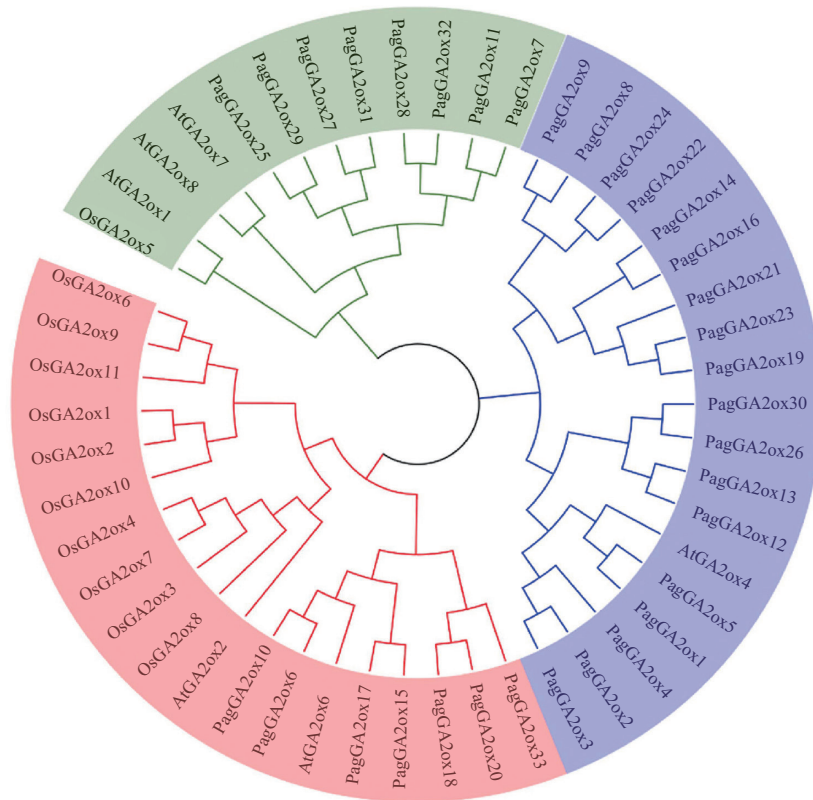
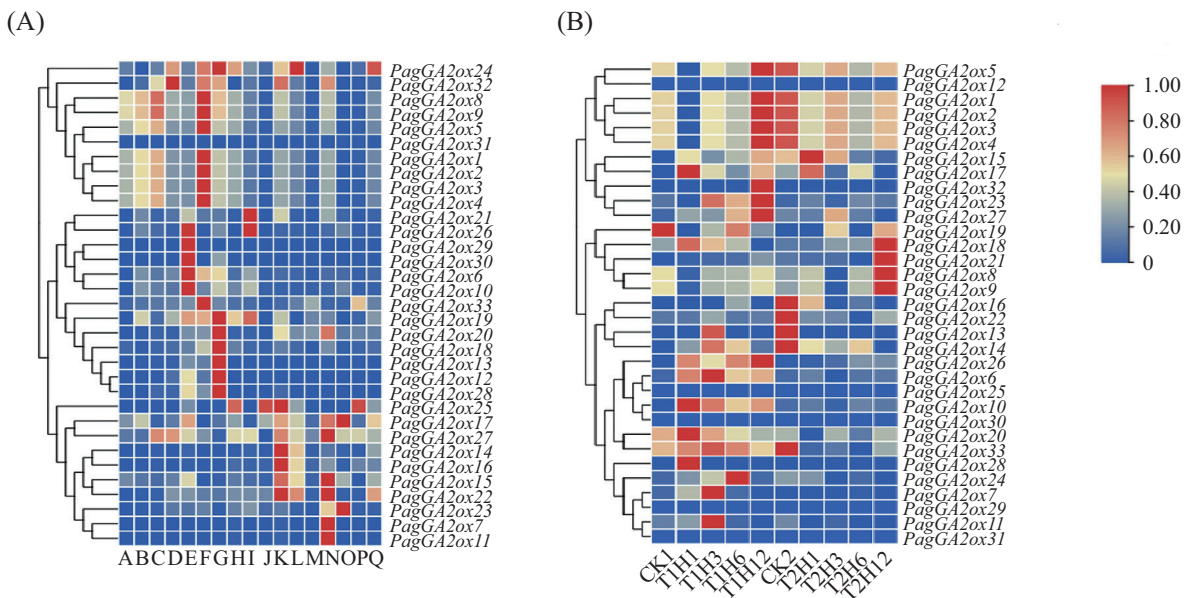
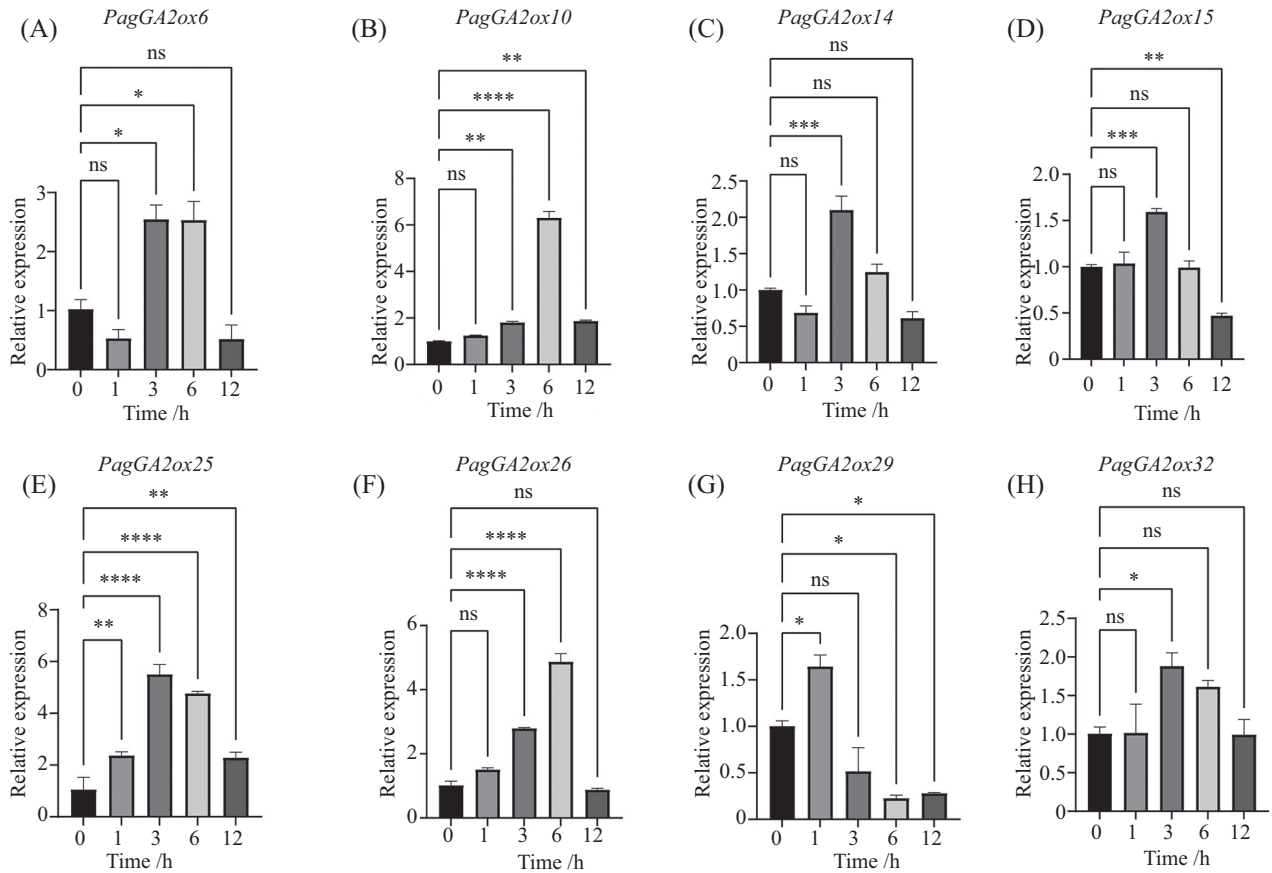


图4 84K杨PagGA2ox基因家族进化树图谱  
Fig.4 Phylogenetic trees of GA2ox in *P. alba*×*P. glandulosa*



A: 在不同组织中PagGA2oxs成员的表达量。A~C: 叶片; D、E: 茎; F、G: 根; H: 节间; I: 叶茎; J~M: 木质部; N~Q: 树皮。B: 在盐胁迫条件下PagGA2oxs成员的表达量。用100 mmol/L NaCl处理植物1天, 然后恢复培养3天, 然后再次重复100 mmol/L NaCl处理。在每种盐处理的0 h(对照样品: 分别指定为CK1和CK2)、1 h、3 h、6 h和12 h收集的样本, 分别指定为T1H1、T1H3、T1H6、T1H12、T2H1、T2H3、T2H6和T2H12。  
A: expression levels of PagGA2oxs members in different tissues. A-C: leaves; D,E: stems; F,G: roots; H: internode; I: petiole; J-M: Xylem; N-Q: bark. B: expression levels of PagGA2oxs members under salt stress conditions. Plants were treated with 100 mmol/L NaCl for 1 day, followed by a 3-day recovery culture, and then subjected to a second 100 mmol/L NaCl treatment. Samples were collected at 0 h (control samples: designated as CK1 and CK2 for the first and second treatments, respectively), 1 h, 3 h, 6 h, and 12 h during each salt treatment. The time points were labeled as T1H1, T1H3, T1H6, T1H12, T2H1, T2H3, T2H6 and T2H12.

图5 PagGA2oxs基因家族成员在不同组织与盐胁迫下的表达模式分析  
Fig.5 Analysis of expression patterns of PagGA2oxs in different tissues and under salt stress



ns $P>0.05$ , \* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$ , \*\*\* $P<0.001$ , \*\*\*\* $P<0.0001$ .

图6 150 mmol/L盐胁迫在不同时间处理条件下PagGA2oxs响应基因的相对表达量

Fig.6 Relative expression levels of PagGA2oxs response genes under different salt stress conditions at 150 mmol/L

条带,而阳性对照(质粒)则显示出清晰的条带,确保了实验结果的准确性。本研究的GUS基因构建体是基于真核表达载体设计的,包含了真核启动子CaMV 35S和真核转录终止信号。这些元件确保了GUS基因只能在真核细胞中被转录和翻译。此外,GUS基因的mRNA在真核细胞中经过剪接,去除了内含子序列,形成了成熟的mRNA,进而翻译成了功能性的GUS蛋白。

图8A为阳性植株的GUS染色结果,表明GUS基因在根、茎、叶中均有表达,其中在叶片中的表达量最高。这一组织特异性表达模式可能与目标基因的功能及其调控机制密切相关。GUS染色结果的直观性不仅验证了转基因植株的成功转化,还为研究目标基因在不同组织中的表达特性提供了重要依据。

目前,转基因植株已被大量扩繁,待植株长至8 cm高后,将移出组培瓶,用于后续的盐胁迫处理实验。盐胁迫是影响植物生长发育的重要非生物胁迫

之一,通过对比转基因植株与野生型植株在盐胁迫下的生长表型、生理生化指标及分子响应,可以进一步揭示目标基因在植物抗逆性中的作用机制。

### 3 讨论与结论

赤霉素氧化酶是内源赤霉素生物合成的关键酶<sup>[26]</sup>。在盐胁迫条件下,ROS的过量积累会引发一系列氧化损伤,包括蛋白质氧化、脂质过氧化以及DNA损伤,最终可能导致细胞死亡<sup>[27]</sup>。尽管在拟南芥、水稻等多种植物中,GA2ox基因家族的功能和调控机制已受到广泛关注和研究,但是对84K这一特定品种中的氧化酶基因家族系统的分析尚未见报道。本研究在基因组范围内共鉴定得到33个84K杨PagGA2ox家族成员,多于以往发表的毛果杨15个PtGA2ox基因家族成员<sup>[28]</sup>,本研究中84K杨是杂种,基因组由两套亚基因组组成,有等位基因存在。拟南芥中有7个AtGA2ox、水稻中有11个Os-GA2ox,不同物种中GA2ox之间存在数量差异,推测

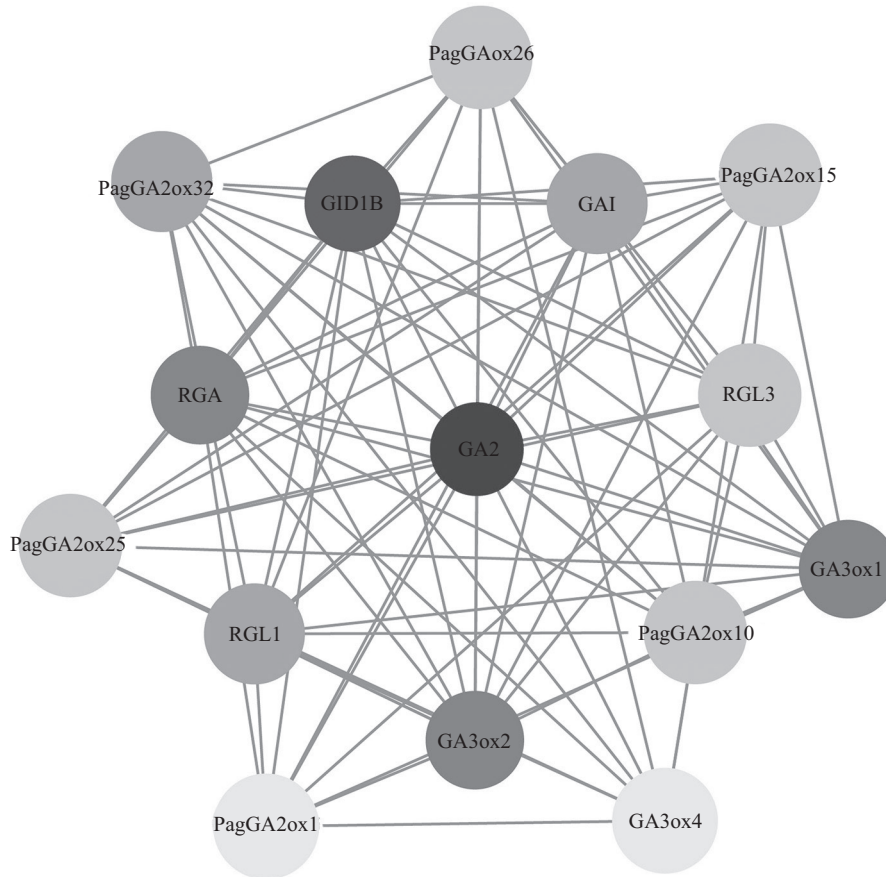


图7 PagGA2ox交互蛋白结构预测

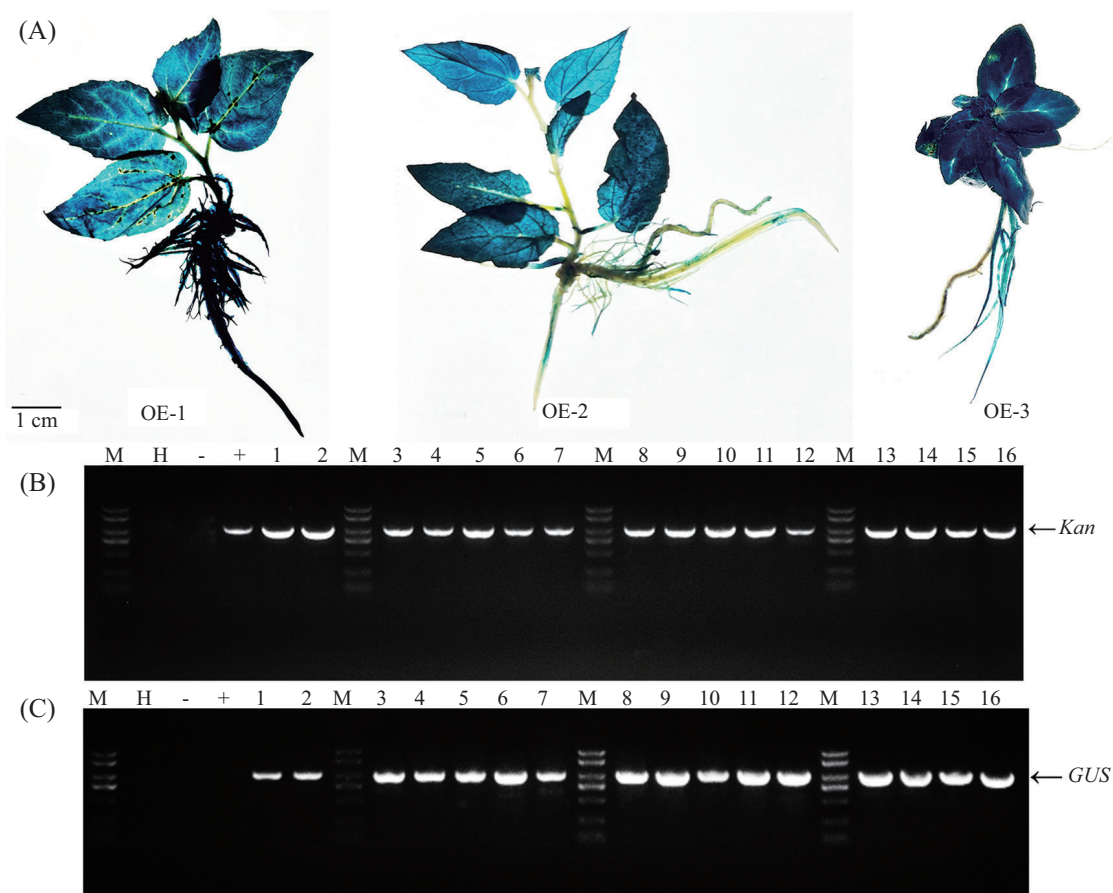
Fig.7 PagGA2ox prediction of interacting protein structure

基因家族成员的个数可能与物种基因组大小有关,这可能是因为较大的基因组提供了更多的空间来容纳基因复制和家族扩张<sup>[29]</sup>。因此,本研究采用生物信息学工具,对PagGA2oxs基因家族进行了深入的探究,分析涵盖了染色体定位、理化特性、基因结构、系统发育分析、基因间的共线性关系,蛋白质互作分析以及顺式作用元件的预测等多个方面。

基因顺式作用元件分析显示PagGA2ox家族含有光响应作用元件、激素调控作用元件和生长调控响应作用元件,PagGA2ox基因家族的启动子分析揭示了含有多种作用元件,包括光响应作用元件、激素调控作用元件以及生长调控响应作用元件。其中光响应元件占比最大,这些光响应元件的存在表明PagGA2ox基因可能参与了植物对光信号的调控<sup>[30]</sup>;植物激素如水杨酸、茉莉酸、乙烯、生长素、赤霉素等的调控,以及植物生长过程的调控,通过这些元件调控GA2ox基因的表达,进而影响植物的生长并参与防御反应<sup>[31]</sup>。基因结构分析显示,具有相同功能的结构域所关联的外显子数量和基序模式显示

出一定程度的保守性,这可能指示了它们在进化过程中的稳定性<sup>[32]</sup>。系统发育分析将拟南芥、水稻、84K杨的GA2ox全部成员分为3个亚组,其中3个亚组都含有84K杨和拟南芥成员,说明了2个物种间的GA2ox家族成员之间具有一定的同源性。共线性分析结果显示84K杨PagGA2oxs基因家族与拟南芥有19条共线性关系,与水稻有2条共线性关系,进一步证明了PagGA2oxs和双子叶植物之间的亲缘关系更近,但仍有些PagGA2oxs与AtGA2oxs之间不存在共线性关系,产生该结果的原因是PagGA2oxs在后来的基因家族进化过程中产生了新的功能<sup>[33]</sup>。

参与植物的耐盐响应的GAs合成代谢的关键酶GA20ox、GA3ox和GA2ox,编码这些酶的基因表达情况会影响植物对盐胁迫的耐受程度<sup>[34]</sup>。在盐胁迫条件下,ROS的过量积累会引发一系列氧化损伤,包括蛋白质氧化、脂质过氧化以及DNA损伤,最终可能导致细胞死亡<sup>[27]</sup>。在水稻中的研究发现,Os-GA2ox5过表达会增强水稻的耐盐性,而当外施GA3后,其耐盐性消失,这一结果证明了植物可通过降低



A: 转基因植株OE-1、OE-2、OE-3, GUS化学活性染色结果; B: 转基因植株16棵株系(1~16)对Kan的PCR检测结果; C: 转基因植株16棵株系对GUS基因的PCR检测结果; H: 水(阴性对照); -: 野生型‘84K’; +: 质粒(阳性对照)。

A: GUS histochemical staining results of transgenic lines OE-1, OE-2, and OE-3; B: PCR detection of the Kan gene in 16 transgenic lines (1-16); C: PCR detection of the GUS gene in 16 transgenic lines (1-16); H: water (negative control); -: wild-type ‘84K’; +: plasmid DNA (positive control).

图8 PCAMBIA2301-GUS-PagGA2ox25转基因植株检测结果图

Fig.8 Detection results of transgenic plants expressing PCAMBIA2301-GUS-PagGA2ox25

活性GAs水平的方法来提高耐盐性<sup>[35]</sup>。拟南芥中异源转化葡萄VvGA2ox7基因提高了抗氧化酶活性和脯氨酸、叶绿素和ABA含量,降低了相对电导率、丙二醛和GA3含量。同时,过表达VvGA2ox7正向调节了盐胁迫反应基因KAT1、APX1、LEA、P5CS1、AVP1、CBF1的表达<sup>[36]</sup>。苹果(Malus domestica Borkh.)中盐胁迫触发了MdGA2ox7基因的启动子活性,并且在花、果实和种子等生殖器官和根、茎、叶等营养器官中均有表达<sup>[37]</sup>。过表达GhGA2ox1基因的棉花(Gossypium hirsutum L.)植株与野生型植株相比,转基因植株中游离脯氨酸、叶绿素和相对含水量更高,比非转基因棉花植株表现出更高的耐盐性<sup>[38]</sup>。马铃薯(Solanum tuberosum L.)中分离出的StGA2ox1构建过表达载体,发现转基因植株在盐胁迫处理条件下,可以更好地控制叶绿素、类胡萝卜素和水分流失<sup>[39]</sup>。在

拟南芥中过表达桉树(Eucalyptus grandis×urophylla)EguGA20ox1、EguGA20ox2和EguGA2ox1基因,盐胁迫处理研究EguGA20ox1、EguGA20ox2和EguGA2ox1转基因株系的非生物胁迫耐受性,结果表明,EguGA20ox1-OE和EguGA20ox2-OE品系均对盐胁迫过敏,叶片脱色和萎凋表型更严重,而EguGA2ox1-OE品系在处理1周表现出更高的胁迫耐受性<sup>[40]</sup>。氨基酸序列结果发现本文筛选出的候选基因PagGA2ox25与水稻中盐胁迫响应基因OsGA2ox5、拟南芥中盐胁迫响应基因AtGA2ox7高度同源,构建过表达载体进行遗传转化,经过分子水平检测及GUS活性检测证明过表达载体已转入成功。

转录组分析显示,PagGA2ox6、PagGA2ox10、PagGA2ox14、PagGA2ox15、PagGA2ox25、PagGA2ox32在盐胁迫处理之后的表达量升高。蛋白互

作分析结果显示响应盐胁迫的基因与 DELLA 蛋白互作, 这些基因往往涉及渗透调节、细胞修复、生长抑制和代谢过程<sup>[34]</sup>。

综上所述, 本研究利用生物信息学方法从全基因组水平上对 84K 杨基因家族成员进行鉴定及分析, 共鉴定到 33 个 PagGA2ox 基因, 并结合 PagGA2oxs 基因表达量的变化分析, 筛选出盐胁迫响应基因 PagGA2ox25, 该基因在盐胁迫处理后, 表现出显著性差异, 为研究 84K 杨基因家族在非生物胁迫发生过程中的作用提供了候选基因, 具体的基因功能可进一步通过转基因等实验进行验证。这些基因的表达变化与植物对盐胁迫的长期适应和生存策略密切相关, 为进一步研究植物耐盐机制和培育耐盐林木新品种提供了重要的参考依据。作为速生树种, 84K 杨在生物能源、造纸及生态修复等领域展现了显著的应用潜力, 适合用于短周期轮伐和木材生产, 其在盐胁迫环境中的遗传适应性研究, 不仅能够深入解析其自身的抗逆机制, 还能为其他经济作物的遗传改良提供重要参考, 从而推动林木改良与适应性管理策略的优化。

### 参考文献 (References)

- [1] CASTRO R, SÁNCHEZ C, VIDAL N, et al. Plant development and crop yield: the role of gibberellins [J]. *Plants*, 2022, 11(6): 2650.
- [2] ALI A Y A, IBRAHIM M E H, ZHOU G, et al. Gibberellic acid and nitrogen efficiently protect early seedlings growth stage from salt stress damage in *Sorghum* [J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 6672.
- [3] LI C, ZHENG L, WANG X, et al. Comprehensive expression analysis of *Arabidopsis* GA2-oxidase genes and their functional insights [J]. *Plant Sci*, 2019, 285: 1-13.
- [4] 李艳冰, 朱美玉, 杨晓茹, 等. 植物中 Gibberellin 2-oxidases 基因研究进展[J]. *园艺学报*(LI Y B, ZHU M Y, YANG X R, et al. Progress in the study of Gibberellin 2-oxidases gene in plants [J]. *Journal of Horticulture*), 2018, 45(9): 1844-56.
- [5] LI Y, ZHENG L, WANG X, et al. Comprehensive expression analysis of *Arabidopsis* GA2-oxidase genes and their functional insights [J]. *Plant Sci*, 2019, 285: 1-13.
- [6] 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): 2603-18.
- [7] XING M Q, CHEN S H, ZHANG X F, et al. Rice *OsGA2ox9* regulates seed GA metabolism and dormancy [J]. *Plant Biotechnol J*, 2023, 21(12): 2411-3.
- [8] SCHOMBERG F M, BIZELL 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): 151-63.
- [9] 朱登峰. 甘蓝型油菜中表达 AtGA2ox8 的表型分析及其对木质素生物合成的影响[D]. 海口: 海南大学, 2010.
- [10] XIAO Z, FU R, LI J, FAN Z, et al. Overexpression of the Gibberellin 2-oxidase gene from *Camellia lipoensis* induces dwarfism and smaller flowers in *Nicotiana tabacum* [J]. *Plant Mol Biol Reporter*, 2016, 34(1): 182-91.
- [11] GARGUL J M, MIBUS H, SEREK M, et al. Constitutive overexpression of *Nicotiana GA2ox* leads to compact phenotypes and delayed flowering in *Kalanchoë blossfeldiana* and *Petunia hybrida* [J]. *Plant Cell Tissue Organ Cult*, 2013, 115(3): 407-18.
- [12] WUDDINEH W A, MAZAREI M, ZHANG J, et al. Identification and overexpression of gibberellin 2-oxidase (*GA2ox*) in switchgrass (*Panicum virgatum* L.) for improved plant architecture and reduced biomass recalcitrance [J]. *Plant Biotechnol J*, 2015, 13: 636-47.
- [13] SON S U, YU H J, MUN J H, et al. *MtGA2ox10* encoding C20-GA2-oxidase regulates rhizobial infection and nodule development in *Medicago truncatula* [J]. *Sci Rep*, 2019, 9: 5952.
- [14] 蒋超. 玉米非生物胁迫下赤霉素代谢相关基因的转录变化分析[D]. 长春: 吉林农业大学, 2017.
- [15] FENG J, DAN X, CUI Y, et al. Integrating evolutionary genomics of forest trees to inform future tree breeding amid rapid climate change [J]. *Plant Commun*, 2024, 5(10): 2590-3462.
- [16] SHI T L, JIA K H, BAO Y T, et al. High-quality genome assembly enables prediction of allele-specific gene expression in hybrid poplar [J]. *Plant Physiol*, 2024, 195(1): 652-70.
- [17] 金雪颖, 王晗慧, 于耸, 等. 白桦赤霉素氧化酶基因家族的生物信息学分析[J]. *分子植物育种*(JIN X Y, WANG H H, YU S, et al. Bioinformatics analysis of the birch gibberellin oxidase gene family [J]. *Molecular Plant Breeding*), 2023, 21: 1-10.
- [18] LIU J G, HAN X, YANG T, et al. Genome-wide transcriptional adaptation to salt stress in *Populus* [J]. *BMC Plant Biol*, 2019, 19(1): 367.
- [19] DU J, GERTTULA S, LI Z, et al. Brassinosteroid regulation of wood formation in poplar [J]. *New Phytol*, 2020, 225(4): 1516-30.
- [20] 江小羊, 曹喜兵, 赵振利, 等. 泡桐 E2 基因家族分析及对丛枝植原体的响应[J]. *森林与环境学报*(JIANG X Y, CAO X B, ZHAO Z L, et al. Analysis of the E2 gene family in *Paulownia* and its response to *Clonorchys* [J]. *Journal of Forest and Environmental Science*), 2022, 42(2): 174-83.
- [21] 刘鸣茹, 朱永平, 陈莎. 二倍体紫苏 CYP71 基因家族的鉴定和生物信息学分析[J]. *中国实验方剂学杂志*(LIU M R, ZHU Y P, CHEN S. Identification and bioinformatics analysis of the *CYP71* gene family in diploid *Perilla* [J]. *Chinese Journal of Experimental Formula*), 2023, 13(9): 9.
- [22] CHEN C J, CHEN H, ZHANG Y, et al. TBtools: an integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data [J]. *Mol Plant*, 2020, 13(8): 1194-202.
- [23] 郭飞翔, 李春霞, 周爽, 等. 绿豆 R2R3-MYB 转录因子家族鉴定及其类黄酮合成调控基因的筛选[J]. *作物学报*(GUO F X, LI C X, ZHOU S, et al. Identification of the R2R3-MYB transcription factor family and screening of flavonoid synthesis regulatory genes in mung beans [J]. *Acta Agronomica Sinica*), 2024, 105: 1-26.
- [24] 杨冲, 程莎莎, 艾长丰, 等. 枣 ABF/AREB 基因家族鉴定及其在果实发育中的表达分析[J]. *生物技术通报*(YANG C, CHENG S S, AI C F, et al. Identification of Jujube ABF/AREB gene family and its expression analysis in fruit development [J]. *Bulletin*

- of Biotechnology), 2024, 40(11): 1-8.
- [25] HERNÁNDEZ J, SUN R, SERRANO A, et al. Coordination between growth and stress responses by DELLA in the liverwort *Marchantia polymorpha* [J]. *Curr Biol*, 2021, 31(16): 3678-86.
- [26] FUKAZAWA J, MORI M, WATANABE S, et al. DELLA-GAF1 complex is a main component in gibberellin feedback regulation of GA20 oxidase 21 [J]. *Plant Physiol*, 2017, 175(3): 1395-406.
- [27] JI X, SUI C, YU Y, et al. Grape *VvMAPK9* positively regulates salt tolerance in *Arabidopsis* and grape callus through regulating the antioxidative system [J]. *Plant Cell Tissue Organ Cult*, 2022, 148(3): 609-22.
- [28] 修志静, 诸葛祥林, 王一鸣, 等. 毛果杨赤霉素氧化酶基因家族鉴定与功能分析[J]. 中南林业科技大学学报(XIU Z J, ZHUGE X L, XIANG L, WANG Y M, et al. Identification and functional analysis of the gene family of gibberellin oxidase in *Populus trichocarpa Torr* [J]. *Journal of Central South University of Forestry and Technology*), 2020, 40(9):137-46.
- [29] LINDE A M, EKLUND D M, CRONBERG N, et al. Rates and patterns of molecular evolution in bryophyte genomes, with focus on complex thalloid liverworts, *Marchantiopsida* [J]. *Mol-Phylogenet Evol*, 2021, 165: 107295.
- [30] CACKETT L, LUGINBUEHL L H, SCHREIER T B, et al. Chloroplast development in green plant tissues: the interplay between light, hormone, and transcriptional regulation [J]. *New Phytol*, 2022, 233(5): 2000-16.
- [31] 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 Physiol Biochem*, 2021, 166: 621-33.
- [32] CAMACHO-HÜBNER A, RICHARD C, BEERMANN F. Genomic structure and evolutionary conservation of the tyrosinase gene family from Fugu [J]. *Gene*, 2002, 285(1/2): 59-68.
- [33] STATON M, ZHEBENTYAYEVA T, OLUKOLU B, et al. Substantial genome synteny preservation among woody angiosperm species: comparative genomics of Chinese chestnut (*Castanea mollissima*) and plant reference genomes [J]. *BMC Genomics*, 2015, 16: 744.
- [34] 何红红. 葡萄赤霉素氧化酶基因 $GA2ox$ 、 $GA3ox$ 和 $GA20ox$ 家族的鉴定与 $GA2ox7$ 的耐盐性功能分析[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2021.
- [35] BLANCO-TOURINÁN N, SERRANO-MISLATAA, ALABADÍ D. Regulation of DELLA proteins by post-translational modifications [J]. *Plant Cell Physiol*, 2020, 61(11): 1891-901.
- [36] WANG J, ZHU R, MENG Q, et al. A natural variation in *OsD-SK2a* modulates plant growth and salt tolerance through phosphorylation by SnRK1A in rice [J]. *Plant Biotechnol J*, 2024, 22(7): 1881-96.
- [37] GOU H, LU S, NAI G, et al. The role of gibberellin synthase gene *VvGA2ox7* acts as a positive regulator to salt stress in *Arabidopsis thaliana* [J]. *BMC Plant Biol*, 2024, 24(1): 1051.
- [38] YAN R, ZHANG T, WANG Y, et al. The apple *MdGA2ox7* modulates the balance between growth and stress tolerance in an anthocyanin-dependent manner [J]. *Plant Physiol and Biochem*, 2024, 212: 108707.
- [39] SHI J B, WANG N, ZHOU H, et al. The role of gibberellin synthase gene *GhGA2ox1* in upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.) responses to drought and salt stress [J]. *Biotechnol Appl Biochem*, 2019, 66(3): 298-308.
- [40] SHI J, WANG J, WANG N, et al. Overexpression of *StGA2ox1* gene increases the tolerance to abiotic stress in transgenic potato (*Solanum tuberosum* L.) plants [J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 2019, 187(4): 1204-19.
- [41] WU W, ZHU L, WANG P, et al. Transcriptome-based construction of the gibberellin metabolism and signaling pathways in *Eucalyptus grandis×*E. urophylla*, and functional characterization of *GA20ox* and *GA2ox* in regulating plant development and abiotic stress adaptations [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(8): 7051.*