

珍珠黄杨矮化基因 *BsGAI2* 的克隆及功能分析

黄昊, 宫铭, 张金凤, 季孔庶

(南京林业大学南方现代林业协同创新中心/林木遗传与生物技术省部共建教育部重点实验室, 南京 210037)

摘要: GA 信号转导途径或生物合成受阻是导致植物矮化的重要因素, 而 DELLA 蛋白是 GA 信号传导通路中一类重要的负调节因子。本研究利用同源克隆和 RACE 技术, 从珍珠黄杨中克隆得到 *BsGAI2* 基因的 cDNA 序列, 全长为 2305 bp, 包括 1836 bp 完整的 ORF。实时荧光定量表达分析表明, *BsGAI2* 基因在珍珠黄杨茎中表达量最高, 在根中表达量最低; *BsGAI2* 转基因烟草呈明显矮化, 节间变短, 长势较慢, 延迟开花等特征。利用 GFP 荧光检测方法鉴定转化型烟草, 发现转化苗的叶、茎中均有荧光信号, 并且茎木质部有明亮富集的荧光信号。这些结果均表明 *BsGAI2* 基因可能在珍珠黄杨茎节间缩短导致矮化的过程中扮演重要角色。本研究分析了 *BsGAI2* 基因编码蛋白的理化性质和功能鉴定, 为今后进一步研究 *BsGAI2* 基因及 DELLA 蛋白家族的功能提供了理论依据。

关键词: 珍珠黄杨; *BsGAI2* 基因; DELLA 蛋白; 功能分析

Cloning and Function Analysis on *BsGAI2* Gene from *Buxus sinica* var. *parvifolia* M. Cheng

HUANG Hao, GONG Ming, ZHANG Jin-feng, JI Kong-shu

(Co-Innovation Center for Sustainable Forestry in Southern China, Nanjing Forestry University/Key Laboratory of Forest Genetics and Biotechnology, Ministry of Education, Nanjing 210037)

Abstract: GA signal transduction pathway or biological disruption is an important factor leading to plant dwarfing. DELLA protein is an important negative regulator in GA signaling transduction pathway. DELLA protein gene, named *BsGAI2*, was cloned from *Buxus sinica* var. *parvifolia* M. Cheng using PCR and RACE techniques. *BsGAI2* contained the complete coding region, having 2305 bp in full length, contained an opening frame of 1836 bp. Real-time quantitative PCR demonstrated that the amount of *BsGAI2* expression was the highest in stem and the lowest in flower from *Buxus sinica* var. *parvifolia* M. Cheng. The transgenic tobaccos contained *BsGAI2* gene appearing dwarf, shorter internodes, growing slowly, delay flowering. The transgenic tobaccos were detected by GFP fluorescent methods, whose leaf, stem were founded fluorescent signal, and the stem xylem had bright-enriched signal. These results all indicated that *BsGAI2* gene might play an important role in the process of shorting stem internode for *Buxus sinica* var. *parvifolia* M. Cheng dwarf. This study analyzed physical & chemical properties and function of *BsGAI2* encoding protein, which provided the theoretical basis for further study of *BsGAI2* gene and DELLA protein family.

Key words: *Buxus sinica* var. *parvifolia* M. Cheng; DELLA protein; *BsGAI2* gene; functional analysis

收稿日期: 2017-04-25 修回日期: 2017-06-04 网络出版日期: 2017-12-26

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20171226.1516.030.html>

基金项目: 江苏高校优势学科建设工程资助项目 (PAPD)

第一作者研究方向为园林植物遗传育种。E-mail: 1530626820@qq.com

通信作者: 季孔庶, 研究方向为林木遗传育种。E-mail: ksjj@njfu.edu.cn

矮化植株具有冠幅紧凑、抗倒伏、株型小、收获指数高等优点。通过基因工程的手段,利用矮化性状可以明显提高农作物的产量,因而矮化育种成为植物育种的发展趋势^[1-2]。引起植物矮化的因素有多种,GA 信号转导途径或生物合成受阻就是其中的一个重要因素。赤霉素信号转导途径主要是通过 DELLA 蛋白的抑制作用来实现的^[3]。目前,有 5 个 DELLA 蛋白家族的基因在拟南芥中被分离出来,即 *GAI*、*RGL1*、*RGL2*、*RGL3* 以及 *RGA* 基因^[4]。同时,葡萄的 *VvGAI*,大豆的 *GmGAI1a*,棉花的 *GAI4*,玉米的 *D8*,核桃的 *JrGAI* 均属于 DELLA 蛋白家族的基因,也已被相继克隆分离出来^[5-9]。在 DELLA 蛋白翻译的氨基酸中,N 端大体上相似性不高,但均存在 DELLA 和 TVHYNP 这两个高度保守的酸性结构域。中部有定位核信号的 NLS 结构域,保守结构域 VHI-ID 和亮氨酸重复序列 LZ 和 ploy S/T/V 是 DELLA 蛋白糖基化和磷酸化的目标蛋白,在 C 端有保守的 SH2 结构域、RVER 和 SAW 结构域,主要对 GA 信号起阻遏作用^[10-11]。这些保守结构域在 GA 信号转导途径中均发挥着重要作用。

珍珠黄杨(*Buxus sinica* var. *parvifolia* M. Cheng) 是隶属黄杨科(Buxaceae)黄杨属(*Buxus*)的常绿小灌木,因树姿苍劲,株型矮小,鳞片状小叶茂密而深绿,经冬不落,深秋霜降后呈鲜红或绛红色,在园林应用方面具有极高的观赏价值^[12-13]。珍珠黄杨既可以作山石点缀或室内绿化装饰,也可用于庭园作绿篱及花坛边缘种植,在草坪及路边列植等作园林观赏应用。同时在治疗心肌缺血、心绞痛、心律失常、冠心病等方面也具有很高的药用价值^[14]。

本试验利用 RACE 技术克隆获得珍珠黄杨 *BsGAI2* 基因的全长 cDNA 序列,并通过 NCBI、MEGA 6.0 软件构建系统发育树,利用 DNAMAN 软件分析 *BsGAI2* 基因编码的氨基酸序列,利用荧光定量 PCR 检测 *BsGAI2* 基因在不同组织中的表达差异,另外,通过农杆菌侵染法将 *BsGAI2* 基因导入模式植物烟草中,在烟草中验证 *BsGAI2* 的生物学功能,为探究珍珠黄杨矮化机制提供依据。

1 材料与方 法

1.1 试验材料与主要试剂

试验所选用的材料珍珠黄杨种植于南京林业大学白马教学科研基地,采取其当年生嫩叶、茎和根,采集后用液氮冷冻,并于 -80 °C 超低温冰箱中保存。Gelstain 染色剂、大肠杆菌 Trans1-T1 感受态细

胞、pEASY-T1 克隆载体均购自北京全式金生物技术有限公司。LA Taq 酶、GXL 酶以及 SYBR Advantage qPCR Premix 试剂盒购自宝生物工程(大连)有限公司,其他均为国内或者进口的试剂耗材。

1.2 试验方法

1.2.1 RNA 提取及反转录 利用 RNAPrep Pure 多糖多酚植物总 RNA 提取试剂盒提取珍珠黄杨总 RNA,去除基因组 DNA 的干扰。使用 Nanodrop 2000 超微量分光光度计检验总 RNA 的浓度以及 OD₂₆₀/OD₂₈₀、OD₂₆₀/OD₂₃₀ 数值。cDNA 第 1 链的合成按照北京全式金生物技术有限公司的反转录说明书操作。

1.2.2 珍珠黄杨 *BsGAI2* 基因 cDNA 序列的克隆

根据对 *NnGAI1* (XM_010276427.1)、*VvGAI* (XM_002263004.1) 和 *PmGAI* (XM_008230973.1) 基因 DELLA 蛋白结构域的分析,设计 F1、R1 引物进行 PCR 扩增。引物序列见表 1。检测并切胶回收目的片段,并将目的片段与载体 pEASY-T1 连接,转化 Trans-T1 感受态,挑选阳性克隆菌液,送测序公司测序后,利用 NCBI 在线软件 BLAST、DNAMAN 软件分析 *BsGAI2* 基因序列。

1.2.3 *BsGAI2* 基因的实时荧光定量表达分析

采取珍珠黄杨 2016 年 6 月份不同组织样本以及当年 1 月、7 月和 9 月不同时期样本提取 RNA,并反转录成 cDNA 作为模板,进行实时荧光定量 PCR 分析。以 *NnActin* (XM_010267617.2) 作为内参基因,设计组织特异性引物 *BsActinF1* 和 *BsActinR1*。采用 ABI StepOnePlus 荧光定量 PCR 仪进行荧光定量 PCR 反应。所有样品生物重复 3 次,PCR 反应重复 3 次,每次 PCR 反应添加 3 个空白对照,Excel 数据分析并绘图。

1.2.4 植物表达载体构建和转化苗检测

根据植物表达载体 pCAMBIA-1302 多克隆位点及目的基因 *BsGAI2* 序列设计酶切引物 pCAMBIA-1302-*BsGAI2F1* 和 pCAMBIA-1302-*BsGAI2R1* (表 1)。构建植物表达载体 pCAMBIA-1302-*BsGAI2* 质粒转化农杆菌 EHA105 感受态,并用侵染叶盘法转入到模式植物烟草中,以野生型烟草作对照,进行分化和筛选培养,并将筛选培养基上生根的烟草植株移栽到花盆中栽植,观察野生型和转化型烟草的表型,分别提取两者的 DNA,利用 *BsGAI2* 的 ORF 引物进行目的基因的检测验证(表 1)。利用 Leica 体视荧光显微镜对带有 *GFP* 报告基因的转化苗叶、茎和野生烟草叶、茎进行 *GFP* 基因的表达检测。

表 1 PCR 所用引物

Table 1 Primer sequences used in PCR

引物名称 Primer name	序列(5'-3') Sequence(5'-3')
F1	ATGAAGGGAGAGCATCAAGAGAG
R1	GGTTTCATTGGTGGCAAGTTTC
NnActinF1	TGATAGGAATGGAAGCTGCTGGCA
NnActinR1	TGGTTGAGCCACCACTGAGGACGA
BsActinF1	TCTGTAATGTGGTGGCCTGT
BsActinR1	CATCCCCACCTGCAAACAAG
ORF1	ATGAAGGGAGAGCATCAAGAGAG
ORF2	GGTTTCATTGGTGGCAAGTTTC
Pcambia-1302-BsGAI2F1	<u>CATGCCATGGACATGAAGGGAGAGCATCAAGAGAG</u>
Pcambia-1302-BsGAI2R1	<u>GGACTAGTTAGTCGGTTCATTGGTGGCAAGTTTC</u>

下划线:酶切位点 Underline:Enzyme cleavage site

2 结果与分析

2.1 珍珠黄杨 *BsGAI2* 基因 cDNA 全长克隆

从珍珠黄杨克隆获得 *BsGAI2* 基因全长 cDNA, 长度为 2305 bp, 包含 1 个 1836 bp 的 ORF(图 1), pI 为 5.25, 分子量为 66.15 kD。信号肽预测结果显示, *BsGAI2* 包含一段“HRGNKRMKPS”的核定位信号。*BsGAI2* 基因编码的氨基酸序列 N 端具有 2 个高度保守的 DELLA、TVHYNP 酸性结构域, 中部有 NLS、VHIID 保守氨基酸结构域, C 端有保守的 SH2、RVER 和 SAW 结构域。

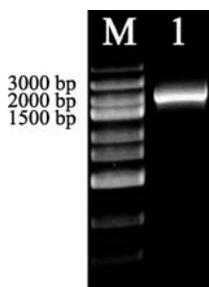


图 1 *BsGAI2* 基因 ORF 扩增产物

Fig. 1 ORF amplification product of *BsGAI2* gene

2.2 *BsGAI2* 基因编码氨基酸序列分析

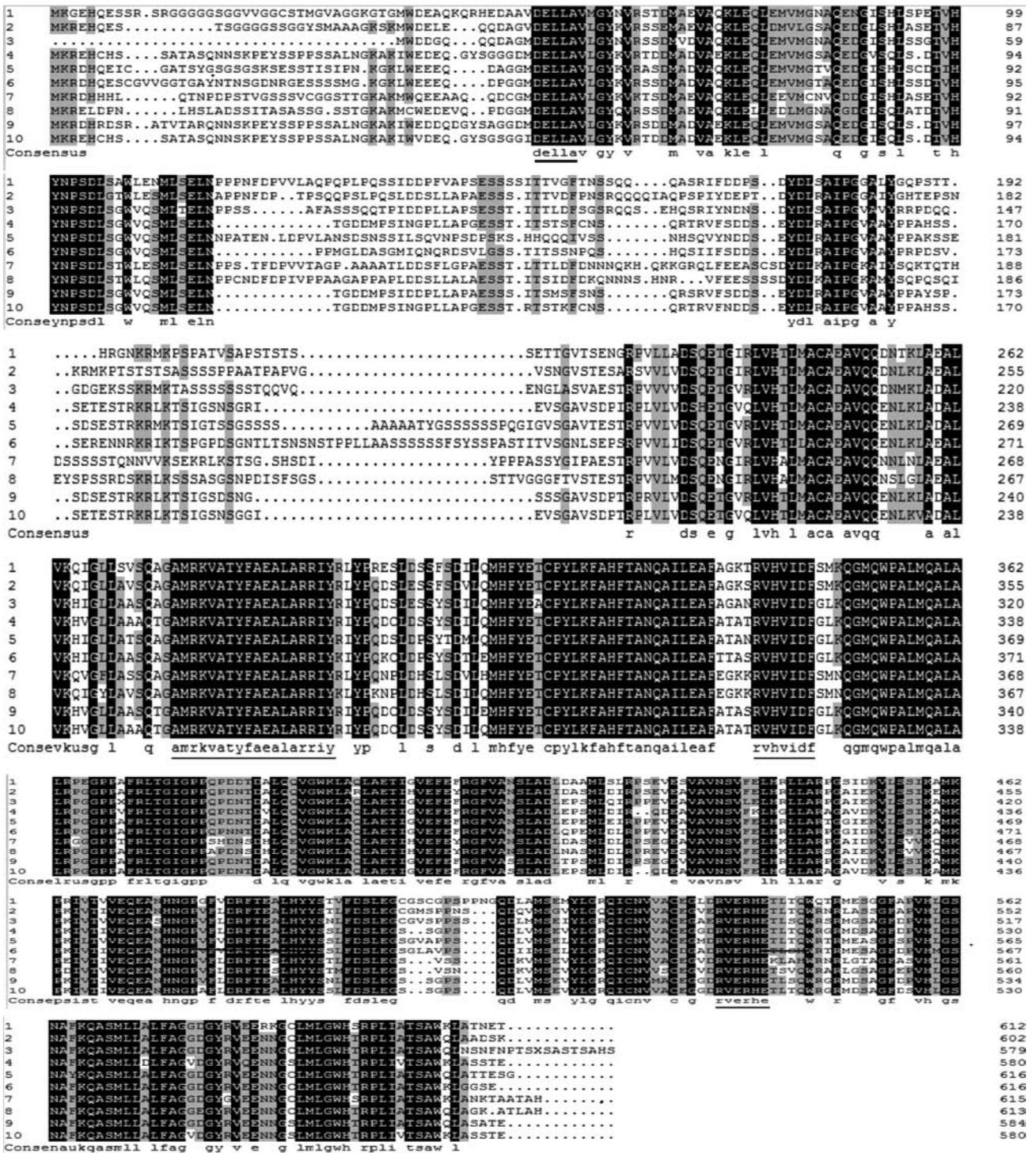
2.2.1 *BsGAI2* 基因编码氨基酸序列比对 利用 NCBI 的 Blastp 软件对 *BsGAI2* 基因的氨基酸同源序列进行比对。比对结果表明:珍珠黄杨 *BsGAI2* 与荷花 (*Nelumbo nucifera* Gaertner) 氨基酸序列相似性为 75%, 与葡萄 (*Vitis vinifera* Linn.) 序列相似性达 74%, 同时与沙梨 (*Pyrus pyrifolia* (Burm. F.) Nakai)、可可树 (*Theobroma cacao* Linn.) 的相似性均达到 70% 以上。结果显示, *BsGAI2* 基因编码的

氨基酸序列和其他物种一样, N 端序列保守性不强, 但是存在 2 个非常保守的 DELLA、TVHYNP 酸性结构域, 中部有 (NLS) RKVATYFGLARR 的核定位信号结构域, C 端结构非常保守, 存在 RVER、SAW 结构域(图 2)。

2.2.2 *BsGAI2* 基因系统发育树构建 依据氨基酸多序列比对结果, 选取相似性高的氨基酸序列用 MEGA 6.0 软件构建系统发育树(图 3), 结果表明珍珠黄杨和荷花处于同一分支上, 说明目前珍珠黄杨 *BsGAI2* 与荷花 *GAI* 在亲缘关系上最为接近。珍珠黄杨与处于另一分支的蔷薇科的沙梨、苹果、湖北海棠等也有较高的相似性, 说明珍珠黄杨 *BsGAI2* 与蔷薇科 *GAI* 的亲缘关系较为接近。而珍珠黄杨 *BsGAI2* 与可可树和核桃树的 *GAI* 亲缘关系较远。此外 DELLA 蛋白除了存在于蔷薇科、胡桃科等木本植物外, 也存在于睡莲科等草本植物中, 说明 DELLA 蛋白在物种进化上的高度保守性。

2.3 *BsGAI2* 基因的实时荧光定量表达分析

BsGAI2 基因的实时荧光定量结果表明:2016 年 6 月份不同组织中, 珍珠黄杨 *BsGAI2* 基因表达量在茎中最高, 表达量大约为叶中的 1.78 倍, 表达量在叶中次之, 根表达量约为叶的 0.66 倍, 在花中表达量最低, 约为叶表达量的 0.41 倍(图 4)。2016 年不同月份中, *BsGAI2* 在 7 月份的叶、茎、根中的表达量比其他月份相同组织的表达量都高, 说明珍珠黄杨在夏季生长旺盛时候, *BsGAI2* 的表达量也会有所增加, 在 1 月、7 月、9 月的表达量有所差异, 说明 *BsGAI2* 基因在不同生长时期植物组织中存在差异表达(图 5)。



黑色区域表示完全一致的氨基酸序列;灰色区域表示相似度较高的氨基酸序列;白色区域表示差异显著的氨基酸序列;下划线:保守结构域;

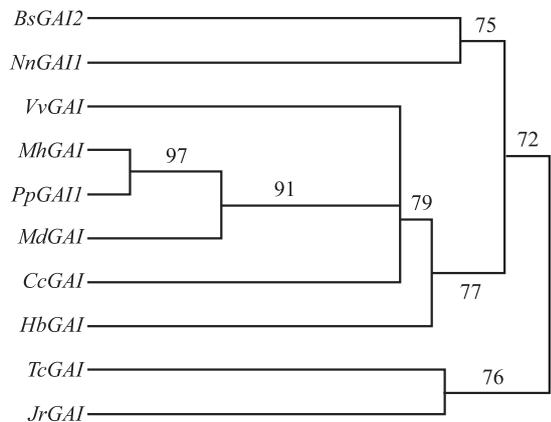
- 1:珍珠黄杨;2:荷花;3:葡萄;4:湖北海棠;5:黄麻;6:橡胶树;7:可可树;8:核桃树;9:苹果树;10:沙梨

The black region indicates a completely consistent sequence of amino acids, the grey area indicates the amino acid sequence with high similarity, and the white region indicates the significant amino acid sequence, underlined: conservative domain structure,

- 1: *Buxaceae sinica* var. *parvifolia* M. Cheng, 2: *Nelumbo nucifera* Gaertner, 3: *Vitis vinifera* Linn. , 4: *Malus hupehensis* (Pamp.) Rehd. , 5: *Corchorus capsularis* Linn. , 6: *Hevea brasiliensis* (Willd. ex A. Juss.) Muell. Arg. , 7: *Theobroma cacao* Linn. , 8: *Juglans regia* Linn. , 9: *Malus pumila* Mill. , 10: *Pyrus pyrifolia* (Burm. F.) Nakai

图2 *BsGAI2* 基因与其他物种 *GAI* 基因编码氨基酸序列比对

Fig. 2 Amino acid sequence alignment of *GAI* gene from *Buxaceae sinica* var. *parvifolia* M. Cheng and other plants



BsGAI2; 珍珠黄杨; *NnGAI1*; 荷花 (XM_010276427. 2);
VvGAI; 葡萄 (XM_002266231. 4); *MhGAI*; 湖北海棠 (EF495201. 1);
PpGAI1; 沙梨 (ANJ78486. 1); *MdGAI*; 苹果树 (NM_001328987. 1);
CcGAI; 黄麻 (OMO55490. 1); *HbGAI*; 橡胶树 (AKA95154. 1);
TcGAI; 可可树 (XP_017975440. 1); *JrGAI*; 核桃树 (XP_018816848. 1)

BsGAI2; *Buxaceae sinica* var. *parvifolia* M. Cheng,
NnGAI1; *Nelumbo nucifera* Gaertner (XM_010276427. 2),
VvGAI; *Vitis vinifera* Linn. (XM_002266231. 4),
MhGAI; *Malus hupehensis* (Pamp.) Rehd. (EF495201. 1),
PpGAI1; *Pyrus pyrifolia* (Burm. F.) Nakai (ANJ78486. 1),
MdGAI; *Malus domestica* Mill. (NM_001328987. 1),
CcGAI; *Corchorus capsularis* Linn. (OMO55490. 1),
HbGAI; *Hevea brasiliensis* (Willd. ex A. Juss.) Muell. Arg. (AKA95154. 1),
TcGAI; *Theobroma cacao* Linn. (XP_017975440. 1),
JrGAI; *Juglans regia* Linn. (XP_018816848. 1)

图3 珍珠黄杨 *BsGAI2* 基因与其他物种 *GAI* 基因系统发育树的分析

Fig. 3 The analysis of phylogenetic tree based on amino acid sequences of *GAI* gene from *Buxaceae sinica* var. *parvifolia* M. Cheng and other plants

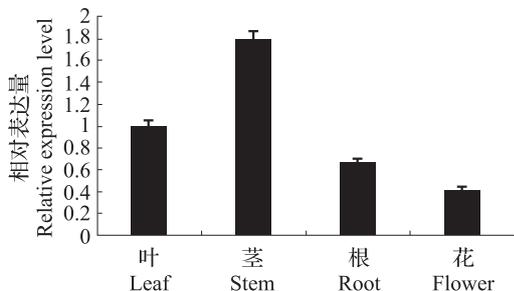


图4 *BsGAI2* 基因不同组织特异性表达

Fig. 4 The expression quantity of *BsGAI2* gene in different organs of *Buxaceae sinica* var. *parvifolia* M. Cheng

2.4 pCAMBIA-1302-BsGAI2 植物表达载体构建及转基因烟草的检测

2.4.1 pCAMBIA-1302-BsGAI2 植物表达载体的构建 通过 SnapGene 软件对 *BsGAI2* 基因 ORF 区域与表达载体 pCAMBIA-1302 酶切位点的比对,利

用 Primer 5.0 软件设计 *BsGAI2* 基因 ORF 包含酶切位点的引物,PCR 检测并回收目的基因和表达载体 pCAMBIA-1302 的双酶切产物(图 6、图 7)。

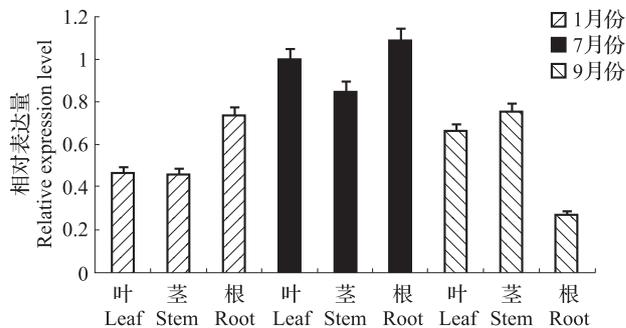
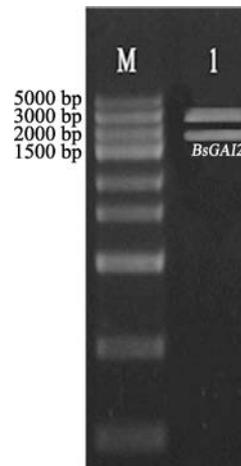


图5 *BsGAI2* 基因不同时期特异性表达

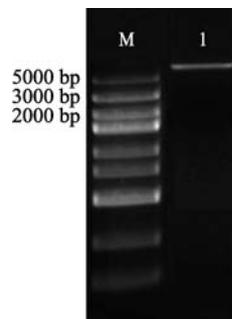
Fig. 5 The expression quantity of *BsGAI2* gene in different times of *Buxaceae sinica* var. *parvifolia* M. Cheng



M: Normal Run™ 250 bp-II DNA ladder marker; 1: *BsGAI2* 目的片段

图6 目的基因 *BsGAI2* 双酶切回收

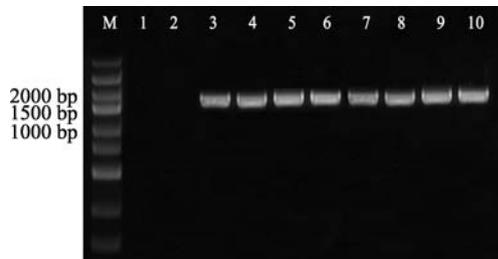
Fig. 6 Purification of *BsGAI2* through double digestion



M: Normal Run™ 250 bp-II DNA ladder marker;
 1: 植物表达载体 pCAMBIA-1302
 Normal Run™ 250 bp-II DNA ladder marker,
 1: Vector of pCAMBIA-1302

图7 植物表达载体 pCAMBIA-1302 双酶切回收
 Fig. 7 Purification of pCAMBIA-1302 through double digestion

2.4.2 基因组检测 将转化苗移栽至穴盘中,提取转化苗的 DNA 作为模板,用 *BsGAI2* 基因 ORF 特异性引物进行 PCR 检测(图 8),其扩增片段长度与之前预测的 ORF 一致,而野生型对照组则没有扩增出目的条带。



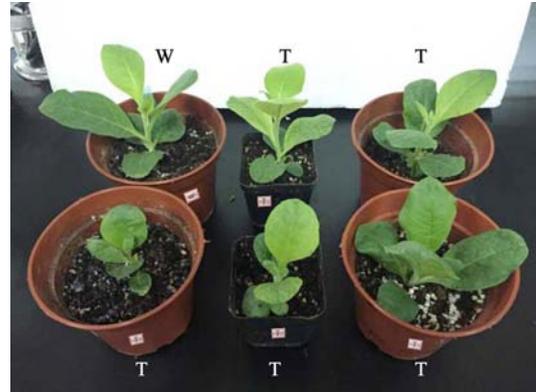
1~2:野生型;3~10:转化型;
M:Normal Run™ 250 bp-II DNA ladder marker
1-2:Wild type,3-10:Transgenic lines,
M:Normal Run™ 250 bp-II DNA ladder marker

图 8 转化型和野生型烟草基因组 PCR 检测

Fig. 8 Genome PCR identification of transgenic and wild tobacco

2.4.3 转基因烟草表型检测 移栽种植的转基因烟草在定植 30 d 后,与野生型烟草相比,生长没有太大的变化,但是在定植 60 d 后,相比较于野生型烟草,转基因烟草呈生长减缓,出现矮化的趋势,节间与对照野生烟草相比变短,长势较慢(图 9、图 10)。

2.4.4 烟草转化苗的 GFP 荧光鉴定 利用荧光显微镜的 GFP 荧光蛋白的信号观察 T₁ 转基因烟草和野生烟草的叶、茎、节间和根(图 11)。在嫩茎中观



W:野生型;T:转化型

W: Wild type, T: Transgenic lines

图 9 转化型和野生型烟草 30 d 的生长势

Fig. 9 30 days growth of transgenic and wild tobacco

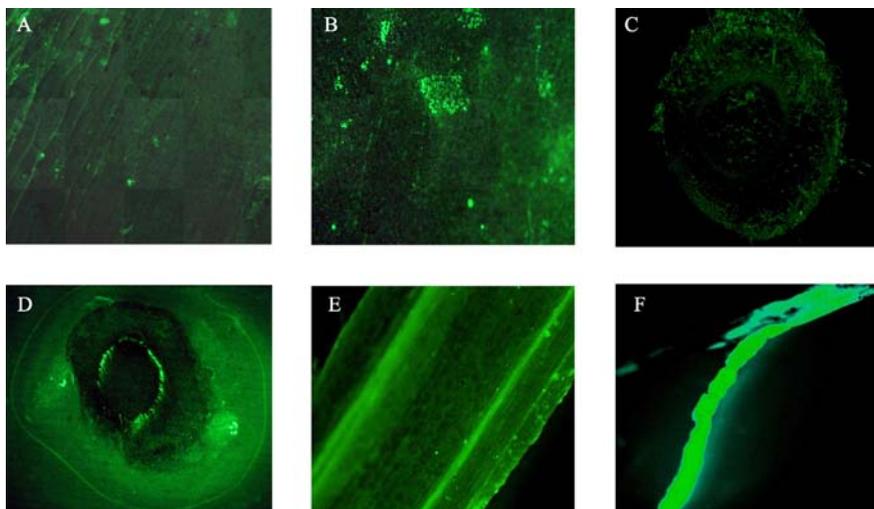


W:野生型;T:转化型

W: Wild type, T: Transgenic lines

图 10 转化型和野生型烟草 60 d 的生长势

Fig. 10 60 days growth of transgenic and wild tobacco



A:野生型烟草嫩叶;B:转化型烟草苗嫩叶;C:野生型烟草嫩茎横切面;D:转化型烟草苗嫩茎横切面;E:转化型烟草苗节间;F:转化型烟草根部

A: Leaf of wild tobacco, B: Leaf of transgenic tobacco, C: Tender stem slice of wild tobacco,

D: Tender stem slice of transgenic tobacco, E: Internode of transgenic tobacco, F: Root of transgenic tobacco

图 11 转化型与野生型烟草的 GFP 荧光观察

Fig. 11 GFP fluorescence detection of transgenic and wild tobacco

察发现转化苗木质部有明亮的荧光信号,叶中能见到明显的荧光聚集的信号,在野生型烟草中仅见非常微弱的自发荧光,未见到有荧光聚集的信号。

3 讨论

矮化植物在现代林学和园艺学上具有重要的地位。在经济植物运用上,矮化的果树可以增加种植密度,降低管理成本,具有早结实、高丰产、品种更新快等优点。在农作物应用上,茎秆短、半矮化的农作物抗倒伏、耐肥能力强,同时由于作物茎秆的同化作用降低,穗部能获得更多的光合产物,作物的产量也会有明显的增加。在园林产业应用中,微型化盆景、密集型栽培、紧凑型庭院栽植越来越深受人们的喜爱^[15]。随着分子生物学的发展,许多不同植物中的矮化基因被相继克隆出来,植物株型高低既受内源激素和内部基因的调控,还受外部环境和各种外源激素的影响^[16]。

GA能够影响植物生长发育的过程,调节植物的整个生命周期,对于植物生长发挥着重要作用,GA信号转导途径主要是通过 DELLA 蛋白的抑制作用来实现的,GAI 基因编码的氨基酸序列中具有 DELLA 蛋白家族所具有的功能活性位点和特征保守单元^[17]。X. Fu 等^[18]通过农杆菌侵染的方法,将拟南芥 GAI 基因转入到水稻植物中进行功能分析,发现在水稻中 GAI 基因的过表达,使得水稻呈现矮化状态,增加了水稻的抗倒伏能力,有利于高产水稻品种的发掘。陈英杰等^[19]从棉花中克隆 DELLA 蛋白 GhGAI2b 基因,并转入到模式植物拟南芥中。结果表明,转基因拟南芥呈矮化表型,莲座叶半径变短,花器官发育迟缓等生长发育受抑制表型。本试验中 BsGAI2 转基因烟草呈生长减缓,出现矮化的趋势,节间较短、粗壮,长势较慢,根系生长慢,须根较少,与 X. Fu 等^[18]、陈英杰等^[19]的研究结果相一致,说明 DELLA 蛋白的 GAI 基因在生长发育过程中起抑制作用,使植株矮化。目前珍珠黄杨的研究主要涉及珍珠黄杨扦插繁殖、分子标记、遗传多样性、种质资源的保护等领域的研究,对珍珠黄杨的常规育种、资源保护有很好的借鉴作用。但关于矮化分子方面的研究很少有报道,加上珍珠黄杨自身生长慢,即使是百年生的古木,其株高不过 1m。因此从珍珠黄杨的致矮分子方面开展探索,研究珍珠黄杨矮化相关的基因有一定创新意义,可为揭示珍珠黄杨的

致矮机理以及相关物种矮化育种提供帮助。

总之,本研究所克隆的 BsGAI2 是珍珠黄杨 DELLA 蛋白家族的一个重要的基因,初步分析了 BsGAI2 基因编码蛋白的理化性质和功能鉴定,为今后进一步研究 BsGAI2 基因及 DELLA 蛋白家族致矮功能提供了理论依据和基础。

参考文献

- [1] Sasaki A, Ashikari M, Ueguchi-Tanaka M, et al. Green revolution: a mutant gibberellin-synthesis gene in rice[J]. Nature, 2002, 416 (6882): 701-702
- [2] Sui J M, Guo B T, Wang J S, et al. A new GA-insensitive semidwarf mutant of rice (*Oryza sativa* L.) with a missense mutation in the SDG gene[J]. Plant Mol Biol Rep, 2012, 30(1): 187-194
- [3] Bolle C. The role of GRAS proteins in plant signal transduction and development[J]. Planta, 2004, 218(5): 683-692
- [4] Tyler L, Thomas S G, Hu J, et al. DELLA proteins and gibberellin-regulated seed germination and floral development in *Arabidopsis* [J]. Plant Physiol, 2004, 135(2): 1008-1019
- [5] 杨光, 曹雪, 房经贵, 等. ‘藤稔’葡萄 *VvGAI* 基因的克隆、亚细胞定位及时空表达分析[J]. 园艺学报, 2011, 38(10): 1883-1892
- [6] 宋仙萍. 大豆 DELLA 基因 *GmGAIa* 参与赤霉素信号传导途径的功能分析[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2013
- [7] 吕西洋. 棉花 DELLA 蛋白 *GAI4* 功能鉴定[D]. 石河子: 石河子大学, 2013
- [8] Peng J, Richards D E, Hartley N M, et al. ‘Green revolution’ genes encode mutant gibberellin response modulators[J]. Nature, 1999, 400(6741): 256-260
- [9] 徐丽, 陈新, 张力思, 等. 核桃 GAI 基因的克隆和序列分析[J]. 山东农业科学, 2013, 45(7): 1-5
- [10] Gao X H, Huang X Z, Xiao S L, et al. Evolutionarily conserved DELLA-mediated gibberellin signaling in plants [J]. J Integr Plant Biol, 2008, 50(7): 825-834
- [11] Jiang C F, Fu X D. GA action: turning on de-DELLA repressing signaling[J]. Curr Opin Plant Biol, 2007, 10(5): 461-465
- [12] 何家海. 珍珠黄杨繁殖栽培技术[J]. 林业科技通讯, 2000(11): 43
- [13] 黄焱, 翟锦如, 季孔庶, 等. 珍珠黄杨优良无性系形态特征分析[J]. 林业科技开发, 2005, 19(3): 43-45
- [14] 梁涛, 方泰惠, 姚秀娟, 等. 环维黄杨星 D 的药理研究进展[J]. 解放军药学学报, 2001, 17(1): 35-38
- [15] 魏灵珠, 程建徽, 李琳, 等. 赤霉素生物合成与信号传递对植物株高的调控[J]. 生物工程学报, 2012, 28(2): 144-153
- [16] Luo A, Qian Q, Yin H, et al. Eui1, encoding a putative cytochrome P450 monooxygenase, regulates internode elongation by modulating gibberellin responses in rice[J]. Plant Cell Physiol, 2006, 47(2): 181-191
- [17] Foster T, Kirk C, Jones W T, et al. Characterisation of the DELLA subfamily in apple (*Malus × domestica* Borkh.) [J]. Tree Genetics Genomes, 2007, 3(3): 187-197
- [18] Fu X, Harberd N P. Expression of *Arabidopsis* GAI in transgenic rice represses multiple gibberellin responses [J]. Plant Cell, 2001, 13(8): 1791-1802
- [19] 陈英杰, 詹杰鹏, 王志江, 等. 棉花 DELLA 蛋白 GhGAI2b 基因的克隆和功能初步分析[J]. 石河子大学学报: 自然科学版, 2014(5): 635-640