



张芳,陆涵,何永明.水稻雄蕊发育晚期赤霉素生物合成特性分析[J].江西农业大学学报,2022,44(1):21-28.  
ZHANG F,LU H,HE Y M.Characteristics of gibberellin biosynthesis in late stamen development of rice[J].Acta agriculturae universitatis Jiangxiensis,2022,44(1):21-28.

# 水稻雄蕊发育晚期赤霉素生物合成特性分析

张 芳,陆 涵,何永明\*

(江西农业大学 作物生理生态与遗传育种教育部重点实验室/江西省作物生理生态与遗传育种重点实验室,江西 南昌 330045)

**摘要:**【目的】赤霉素(GA)广泛参与调控植物的种子萌发、节间伸长、纤维发育、叶片伸展、花器官发育等过程。通过分析水稻雄蕊发育晚期赤霉素的生物合成特性来探究赤霉素在水稻颖花开放过程的调控作用。【方法】以中花11为材料,利用Real-time PCR鉴定开花前2 d至颖花开放期间,雄蕊中赤霉素生物合成关键酶OsGA20ox和OsGA3ox家族基因的表达情况,并测定其GA<sub>1</sub>和GA<sub>4</sub>含量。【结果】(1)在水稻颖花开放前2 d到开花期间,随着开花的临近,雄蕊中OsGA20ox1、OsGA20ox2、OsGA20ox4和OsEUI的表达逐渐下降,在开花时降至最低,而OsGA20ox3和OsGA20ox6的表达大幅提高,增幅分别高达1.5和20.1倍。颖花开放时雄蕊中OsGA20ox2和OsGA3ox2的表达水平迅速上升,表达量较开花前2 d分别增加了2.1和2.8倍;而OsGA20ox1、OsGA20ox3、OsGA20ox4和OsGA3ox1的表达均随开花的临近逐渐下降,其中OsGA20ox3和OsGA3ox1的降幅最大,表达量分别仅为开花前2 d的16.7%和9.6%。(2)颖花开放时,雄蕊中GA<sub>4</sub>的含量大幅降低,仅为开花前1 d的16.1%,降幅高达84.9%;而GA<sub>1</sub>含量在此期间的表现却与GA<sub>4</sub>相反,雄蕊中GA<sub>1</sub>含量是开花前1 d的2.4倍。【结论】水稻颖花开放的花丝伸长可能由GA<sub>1</sub>负责调控。

**关键词:**水稻;雄蕊;赤霉素;OsGA20ox;OsGA3ox

**中图分类号:**S511 **文献标志码:**A **文章编号:**1000-2286(2022)01-0021-08

## Characteristics of Gibberellin Biosynthesis in Late Stamen Development of Rice

ZHANG Fang, LU Han, HE Yongming\*

(Jiangxi Agricultural University Key Laboratory of Crop Physiology, Ecology and Genetic Breeding, Ministry of Education/Jiangxi Provincial Key Laboratory of Crop Physiology, Ecology and Genetic Breeding, Nanchang 330045, China)

**Abstract:** [Objective] Gibberellin (GA) has participated widely in controlling the physiological processes of seed germination, internode elongation, fiber development, leaf expansion, and floral organ development. This research investigated the role of gibberellin during the process of floret opening by analyzing its biosynthesis characteristics in late stamen development of rice. [Methods] The characteristics of OsGA20ox and OsGA3ox

收稿日期:2021-05-16 修回日期:2021-07-18

基金项目:国家自然科学基金项目(31360295,31801272)和江西省青年科学基金项目(20151BAB214014,20202BAB L215001)

Project supported by the Youth Science Fund Program in National Natural Science Foundation of China(31360295, 31801272) and the Natural Science Foundation of Jiangxi Province(20151BAB214014,20202BAB L215001)

作者简介:张芳,orcid.org/0000-0001-5921-9347,zhangf0124@126.com;\*通信作者:何永明,副教授,博士,主要从事植物生理生态、植物激素研究,orcid.org/0000-0002-6475-0922,hymcom@126.com。

family genes were identified by real-time PCR in rice stamens of Zhonghua11 collected between 2 days before flowering and the floret opening period. The contents of  $GA_1$  and  $GA_4$  were also determined. [Result] (1) Compared with 2 days before flowering, the expression of *OsGA2ox1*, *OsGA2ox2*, *OsGA2ox4* and *OsEUI* in rice stamens were significantly decreased during the floret opening period, while the expression of *OsGA2ox3* and *OsGA2ox6* increased significantly by 1.5 and 20.1 times, respectively. The expression levels of *OsGA2ox2* and *OsGA3ox2* in rice stamens increased rapidly during floret opening, which increased by 2.1 and 2.8 times compared with those of the two days before flowering, respectively. However, the expression levels of *OsGA2ox1*, *OsGA2ox3*, *OsGA2ox4* and *OsGA3ox1* decreased gradually with the forthcoming flowering, especially *OsGA2ox3* and *OsGA3ox1*, which were only 16.7% and 9.6% of those 2 days before flowering, respectively. (2) Compared with 1 day before flowering, the  $GA_4$  contents in rice stamens significantly reduced (84.9%) at floret opening; while variation in  $GA_1$  contents showed an opposite trend during this period, i.e. the contents in stamens were 2.4 times higher than those of 1 day before flowering. [Conclusion] The results demonstrated that  $GA_1$  may be responsible for the regulation of filament elongation during rice floret opening.

**Keywords:** rice; stamens; gibberellins; *OsGA2ox*; *OsGA3ox*

【研究意义】水稻是我国重要的粮食作物,其产量通常由株高、分蘖数、穗粒数及千粒质量等农艺性状决定,而穗粒数和千粒质量又受控于花器官的发育。阐明水稻雄蕊发育的调控机制,为培育高产水稻品种提供理论支持,对保证粮食安全具有重要意义。【前人研究进展】赤霉素(gibberellins, GAs)是一类广泛存在于植物等生物中的四环二萜类化合物,由4个异戊二烯单位组成,其基本结构是赤霉素烷。GAs作为经典5大类植物激素之一,是一种高效能的广谱植物生长调节剂,参与调控植物的种子萌发、节间伸长、纤维发育、叶片生长、花器官发育、打破种子休眠等众多生理过程<sup>[1-2]</sup>。目前已鉴定获得的天然GAs多达136种,但除 $GA_1$ 、 $GA_3$ 、 $GA_4$ 、 $GA_7$ 外的绝大多数GAs并无生物活性,而是作为活性GAs的前体或无活性的代谢物<sup>[3-4]</sup>。遗传学证据表明,尽管植物中已分离鉴定出 $GA_3$ ,但是在许多植物中 $GA_1$ 和 $GA_4$ 是主要的活性GAs<sup>[5-7]</sup>。经过60多年的研究,植物体内GAs的生物合成途径已经比较清楚,主要分为3个阶段:第一阶段在质体中完成,底物牻牛儿基牻牛儿基焦磷酸(geranylgeranyl diphosphate, GGPP)在内根-古巴焦磷酸合成酶(ent-copalyl diphosphate synthase, CPS)和内根-贝壳杉烯合成酶(ent-kaurene synthase, KS)催化下环化为赤霉素的前身内根-贝壳杉烯(ent-kaurene)。CPS是正式进入赤霉素生物合成的早期关键基因,如果CPS完全突变,植物将无法产生任何赤霉素,种子不能萌发<sup>[8]</sup>。拟南芥中的CPS是由单基因*AtCPS/GAI*编码,*AtCPS*只在顶端、根尖、发育中的花药和种子等快速生长的组织中特异性表达<sup>[9]</sup>;第二阶段主要在内质网膜上完成,内根-贝壳杉烯经内根-贝壳杉烯氧化酶(ent-kaurene oxidase, KO)和内根-贝壳杉烯酸氧化酶(ent-kaurene acid oxidase, KAO)氧化生成 $GA_{12}$ ,它是GAs的最初产物;最后一阶段在细胞质基质中完成, $GA_{12}$ 的C13经羟基化和非羟基化后生成 $GA_{53}$ 和 $GA_{12}$ ,随后, $GA_{53}$ 和 $GA_{12}$ 在GA20氧化酶(GA 20-oxidase, GA20ox)和 $GA_3$ 氧化酶(GA 3-oxidase, GA3ox)的作用下经过一系列的氧化步骤分别形成具有生物活性的 $GA_4$ 和 $GA_1$ <sup>[10-11]</sup>。GA20ox和GA3ox催化活性GAs生物合成的后期步骤,对活性GAs的调节起关键作用。在拟南芥基因组中GA20ox和GA3ox分别存在5个(*At20ox1-At20ox5*)和4个(*At3ox1-At3ox4*)拷贝,在水稻基因组中分别含有4个(*OsGA20ox1-OsGA20ox4*)和2个(*OsGA3ox1*、*OsGA3ox2*)拷贝<sup>[12-14]</sup>;这些基因的突变均导致活性GAs合成的缺陷,引起植株矮小、开花延迟以及短雄蕊和短花瓣等现象<sup>[15-17]</sup>。水稻“绿色革命”基因*sd1*(semi-dwarf1)编码GA20ox2,*d1*编码玉米中的GA3ox2,基因缺失后,突变体呈现出植株矮小、雌雄同花等表型<sup>[18-19]</sup>。研究<sup>[20-21]</sup>表明,GAs失活对活性GAs浓度的有效调节及其在植物体内的平衡是非常重要的。GAs的代谢失活主要有两种途径,其一是通过EUI(elongated uppermost internode)蛋白使 $GA_4$ 的16,17-双键环被氧化从而失去活性,水稻中由*OsEUI*单基因编码EUI,该基因缺失导致突变体节间伸长, $GA_4$ 和 $GA_1$ 含量增加<sup>[22-23]</sup>;另外一种借助 $GA_2$ 氧化酶(GA 2-oxidase, GA2ox)将 $GA_4$ 和 $GA_1$ 分别氧化为无活性的GAs,水稻基因组中含有6个拷贝的*OsGA2ox*(*OsGA2ox1-OsGA2ox6*)<sup>[24-25]</sup>。植物体内活性GAs水平通过前馈和反馈作用维持GA稳态,当活性GAs含量低时,GAs作为信号分子促

进合成基因 *GA20ox* 和 *GA3ox* 的表达,抑制失活基因 *GA20ox* 的表达;当植物体内活性 GAs 含量较高时, GAs 对 GA 合成关键基因的调控则相反。如在 *gal-3* 突变体中, *GA20ox1* 和 *GA3ox1* 表达明显增加,而 *GA20ox1* 的转录水平则下降;相反,当外加活性 GA 处理时, *GA20ox1* 和 *GA3ox1* 的表达受抑制,但却促进 *GA20ox1* 的表达<sup>[26]</sup>。【本研究切入点】水稻是开花受精植物,其颖花开放包括稃片张开、花丝伸长、花药开裂以及稃片闭合。花诱导后,活性 GAs 对花器官的生长发育起着非常关键的作用,尤其是对雄蕊、花瓣与子房。【拟解决的关键问题】本研究拟以梗稻中花 11 为试验材料,利用 Real-time PCR 鉴定开花前 2 d 至颖花开放期间,雄蕊中 GAs 生物合成关键酶基因的表达模式,并测定活性  $GA_1$  和  $GA_4$  含量,从而解析水稻雄蕊发育晚期赤霉素的生物合成特性和探究 GAs 在水稻颖花开放过程的调控作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料及雄蕊样品的采集

试验品种为梗稻中花 11,常规管理种植于江西农业大学科技园试验田,抽穗期为 7 月上旬。通过定株定时调查,本试验条件下抽出 1 d 后的稻穗才会开花,颖花开花的高峰时间约为 11:30。选择顶部已有少量开过颖花(颖花成熟度主要根据其在穗上的着生位置和花药长度<sup>[27]</sup>)的主穗,分别于开花前 2 d、1 d、4 h(07:00—07:30)、0 h(11:00—11:30)挑取颖花,选取的颖花样品立即放入液氮中速冻,带回室内后在液氮中进一步剥取雄蕊,将样品保存于 -80 °C 冰箱中备用。

### 1.2 试验方法

1.2.1 基因芯片数据分析 利用水稻基因表达谱芯片数据库 RiceXPro 分析赤霉素合成和代谢过程中相关基因在水稻不同组织部位及不同生育时期的表达模式(RiceXPro<http://ricexpro.dna.affrc.go.jp/index.html>)。

1.2.2 Real-time PCR 植物样品总 RNA 的提取采用 Trizol 试剂(北京全式金公司),DNase I(Invitrogen)去除基因组 DNA 的污染后,用 M-MLV 逆转录酶(Invitrogen)反转录合成 cDNA。Real-time PCR 采用 SYBR Premix Ex Taq II 试剂盒(Takara)。Real-time PCR 反应体系 20  $\mu$ L:SYBR Premix Ex Taq 10  $\mu$ L,正反向引物各 0.4  $\mu$ L,cDNA 模板 2  $\mu$ L,ROX Reference Dye(50 $\times$ )0.4  $\mu$ L,ddH<sub>2</sub>O 6.8  $\mu$ L。反应条件为:95 °C 30 s,95 °C 5 s,60 °C 38 s,循环数为 40。以 *OsGAPDH* 为内参基因,目标基因和 *OsGAPDH* 引物序列详见表 1,结果根据  $2^{-\Delta C_t}$  方法计算分析。每份样品 2 次生物学重复,3 次技术重复。

1.2.3 赤霉素的提取与测定 雄蕊样品于液氮中研磨至粉末,准确称量 1 g,加入 10 mL 提取液 V(乙腈):V(水):V(乙酸)=90:9:1,4 °C 避光提取过夜,12 000 g 4 °C 下离心 5 min,吸取上清,加入 5 mL 提取液再提取 1 次,合并 2 次所得上清液;用氮吹仪以 N<sub>2</sub> 气经吹干,以 400  $\mu$ L 甲醇溶解过夜,过 0.22  $\mu$ m 尼龙滤膜,保存于 -20 °C 待测。采用高效液相色谱(Agilent1290)-质谱(SCIEX-6500Qtrap)系统检测  $GA_1$  和  $GA_4$ ,色谱柱为 poroshell 120 SB-C18 反相色谱柱;流动相:A:B=(甲醇/0.1%甲酸):(水/0.1%甲酸);外标法定量,每份样品 3 次重复<sup>[28]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 水稻赤霉素合成与代谢相关基因在不同组织器官中的表达模式

利用水稻(日本晴 Nipponbare)表达谱基因芯片数据库 RiceXPro 中的数据分析赤霉素合成和代谢过程中相关基因在水稻不同时期、不同组织的表达情况。结果显示,赤霉素合成早期基因 *OsKSI* 和 *OsCPS1*、*OsKAO2* 分别在雌蕊和花药里强烈表达;赤霉素合成后期基因 *OsGA20ox3* 和 *OsGA3ox1* 主要集中在花药中表达,其它组织部位中表达微弱;*OsGA20ox2* 和 *OsGA3ox2* 在茎秆和花器官中都有较强的表达;*OsGA20ox1* 和诱导活性 GAs 失活的 *OsGA2ox* 在营养器官和花器官各组织都有较丰富的表达;而诱导  $GA_4$  失活的 *OsEUI* 主要集中在水稻花药中表达。

### 2.2 赤霉素合成早期基因在水稻雄蕊发育中的表达特性

为进一步鉴定赤霉素合成早期基因 *OsCPS1*、*OsKSI*、*OsKO* 和 *OsKAO2* 在水稻雄蕊发育过程中的表达情况,于颖花开放前不同时间点(开花前 2 d、1 d、4 h 和 0 h)分别取样检测。结果(图 2)显示,随着开花的临近,水稻雄蕊中 *OsCPS1* 的表达显著性增强,并在开花前 4 h 达到最高值,同时 *OsKSI* 和 *OsKO* 也表现出类似的变化趋势,而 *OsKAO2* 的表达持续下降;另外,相较开花前 2 d,在颖花开放时,雄蕊中这 4 个基因的

表 1 Real-time PCR 表达分析的基因引物序列  
Tab.1 Primers used to amplify for real-time PCR

| 基因 Gene          | RAP 登录号 RAP Locus | 引物序列(5'-3') Primer sequence(5'-3')                             |
|------------------|-------------------|----------------------------------------------------------------|
| <i>OsCPS1</i>    | Os02g0278700      | FP:GCGTGCATTTTCGAACCAA<br>RP:TTGGCCAGCACTGACACTCT              |
| <i>OsKS1</i>     | Os04g0611800      | FP:GGGCGTCTCCTGAATGACA<br>RP:CAGTGAGACACTGTTTCAGCTTTCC         |
| <i>OsK02</i>     | Os06g0570100      | FP:TGCTACCAGCGACTATTGTGATTT<br>RP:GTGCAGAAGTACCCAACATGCTT      |
| <i>OsKAO</i>     | Os06g0110000      | FP:CAGCAACGCAGAACGGATTAA<br>RP:ACGTTGACGCAGCGAAGTG             |
| <i>OsGA20ox1</i> | Os03g0856700      | FP:GCCACTACAGGGCCGACAT<br>RP:TGGTTGCAGGTGACGATGAT              |
| <i>OsGA20ox2</i> | Os01g0883800      | FP:CCAATTTTGGACCTACCGC<br>RP:GAGAGAAGCCCAACCCAACC              |
| <i>OsGA20ox3</i> | Os07g0169700      | FP:CTTCACGTGGCGCGAGTT<br>RP:TTCATAGCCATTCTTTGCTTGA             |
| <i>OsGA20ox4</i> | Os05g0421900      | FP:CATTTATGTTGGCCTAATTAATCGAA<br>RP:CCTGCCTTCCCACAATAAAAAATTAC |
| <i>OsGA3ox1</i>  | Os05g0178100      | FP:GAGAGCAAGGCCGTGTATCAG<br>RP:AATCATGCTCAACGCCGATATAT         |
| <i>OsGA3ox2</i>  | Os01g0177400      | FP:TCCTCCTTCTTCTCCAAGCTCAT<br>RP:GAAACTCCTCCATCACGTCACA        |
| <i>OsGA2ox1</i>  | Os05g0158600      | FP:TGACGATGATGACAGCGACAA<br>RP:CCATAGGCATCGTCTGCAATT           |
| <i>OsGA2ox2</i>  | Os01g0332300      | FP:GCAGCTTGCTTGCCATGTC<br>RP:TCGTTGTCAGTGGCTGTGATG             |
| <i>OsGA2ox3</i>  | Os01g0757200      | FP:TGGTGGCCAAACAGCCTAAAG<br>RP:TGGTGCAATCCTCTGTGCTAAC          |
| <i>OsGA2ox4</i>  | Os05g0514600      | FP:GATCGACACTGCATTGAGAATGA<br>RP:CGAATCGATGGACGATCAATC         |
| <i>OsGA2ox6</i>  | Os04g0522500      | FP:GTCAGGACAACCGGGAAAAAG<br>TTGCTGTCATTGATGCGATCA              |
| <i>OsEUI</i>     | Os05g0482400      | FP:GGCTTGCTTTGGGAGTGATTAC<br>RP:GCGAAGGGATGCTGAAGATG           |
| <i>OsGAPDH</i>   | Os04g0486600      | FP:AAGCCAGCATCCTATGATCAGATT                                    |

表达量均下降到最低值;说明水稻颖花开放事件中所需的 GAs 在开花前已经完成合成的前期步骤。

### 2.3 赤霉素合成后期基因在水稻雄蕊发育中的表达特性分析

利用 Real-time PCR 鉴定 *OsGA20ox*、*OsGA2ox* 和 *OsGA3ox* 等基因在水稻雄蕊中的表达情况(图 3)。结果显示,颖花开放时雄蕊中 *OsGA20ox2* 和 *OsGA3ox2* 的表达水平迅速上升,表达量相较开花前 2 d 分别增加了 2.1 和 2.8 倍(图 3A)。而 *OsGA20ox1*、*OsGA20ox3*、*OsGA20ox4* 和 *OsGA3ox1* 的表达均随开花的临近逐渐下降,其中 *OsGA20ox3* 和 *OsGA3ox1* 的降幅最大,表达量分别仅为开花前 2 d 的 16.7% 和 9.6%(图 3A)。雄蕊中 *OsGA2ox1*、*OsGA2ox2*、*OsGA20ox4* 和 *OsEUI* 的表达随着开花的临近逐渐下降,且表达量在开花时达到最低值,而 *OsGA2ox3* 和 *OsGA2ox6* 的表达大幅度提高,增幅分别高达 1.5 和 20.1 倍(图 3B)。水稻颖花开放时花丝迅速伸长,并同步发生花药的开裂,而此时雄蕊中 *OsGA20ox2* 和 *OsGA3ox2* 的表达量大幅度增

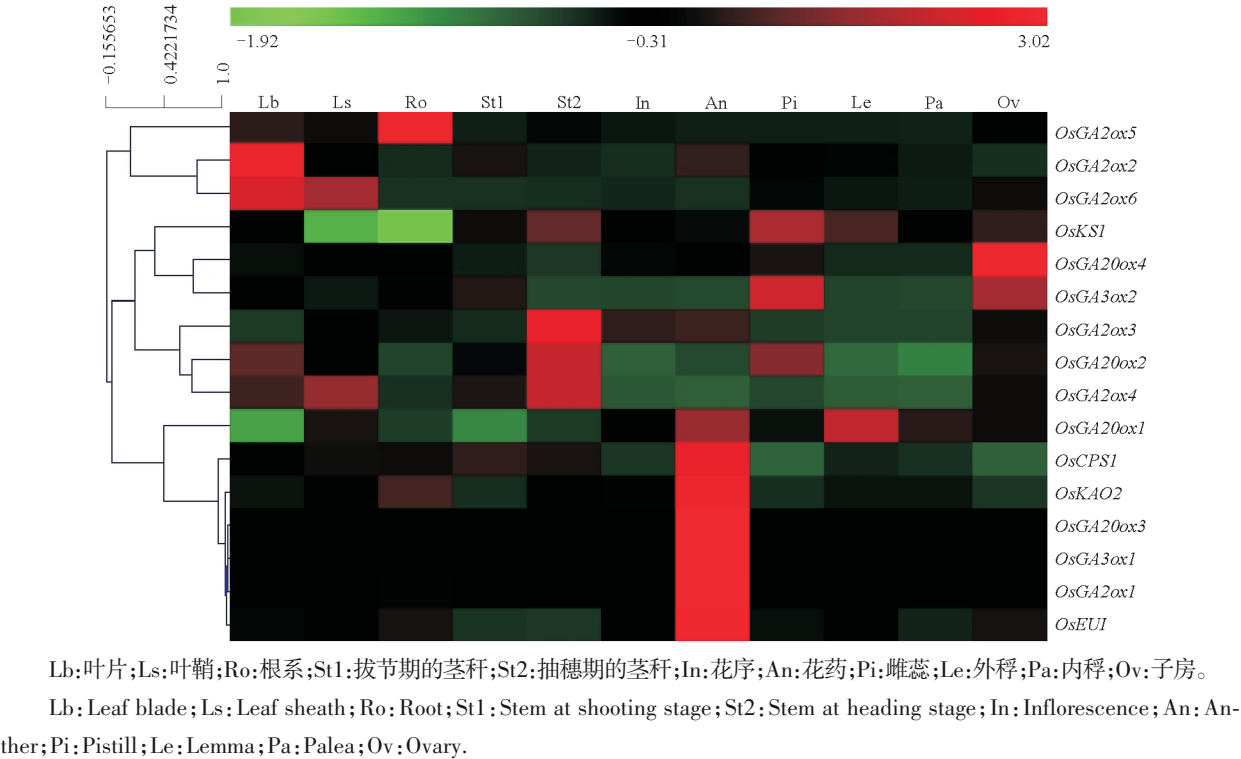
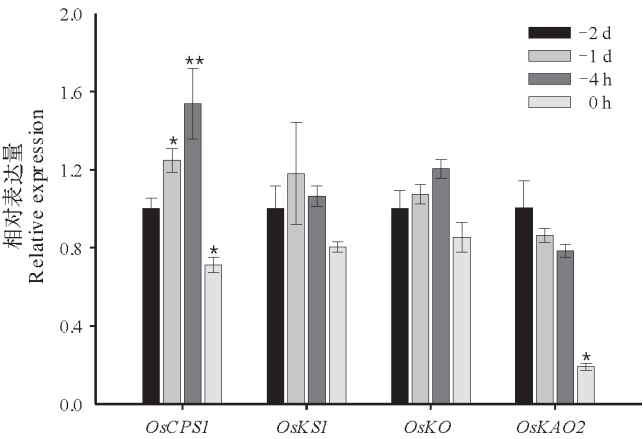


图 1 水稻中赤霉素合成与代谢相关基因的表达谱分析(RiceXPro)

Fig.1 Representative gene expression analyses of gibberellin synthesis and deactivation of rice(RiceXPro)



“\*”和“\*\*”分别表示差异达到0.05和0.01显著水平;-2 d:开花前1 d;-1 d:开花前1 d;-4 h:开花前4 h;0 h:开花时。  
“\*” and “\*\*” indicate that the difference reaches the significant level of 0.05 and 0.01, respectively; -2 d: two days before flowering; -1 d: one day before flowering; -4 h: four hours before flowering; 0 h: flowering time.

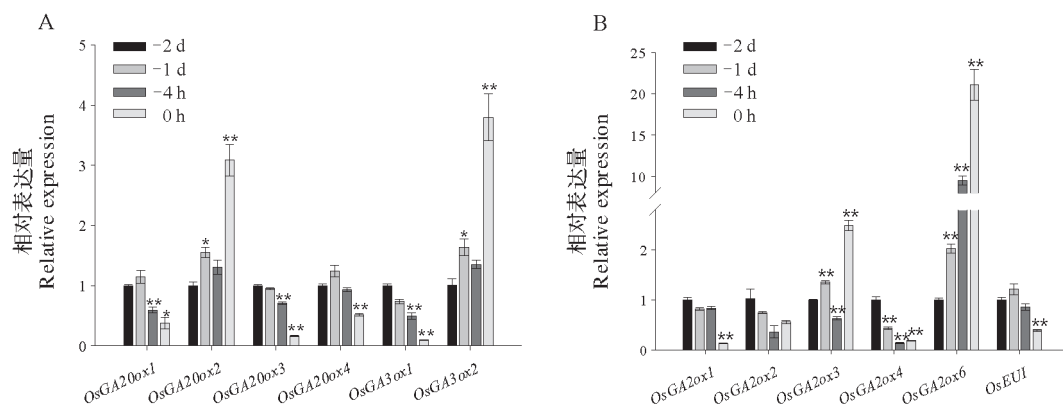
图 2 水稻雄蕊中 *OsCPS1*、*OsKSI*、*OsKO*、*OsKAO2* 的表达分析

Fig.2 Expression analyses of *OsCPS1*, *OsKSI*, *OsKO*, *OsKAO2* in stamens of rice plant

加,因此,*OsGA20ox2* 和 *OsGA3ox2* 可能在促进雄蕊伸长过程中起着重要的作用。

2.4 水稻雄蕊中的 GA<sub>4</sub>和 GA<sub>1</sub>的含量分析

进一步测定水稻雄蕊中赤霉素含量显示,颖花开放时雄蕊中 GA<sub>4</sub>的含量大幅度降低,仅为开花前 1 d 的 16.1%,降幅高达 84.88%(图 4A);而 GA<sub>1</sub>的含量在此期间却表现出与 GA<sub>4</sub>相反的变化,水稻开花时,雄蕊中 GA<sub>1</sub>的含量是开花前 1 d 的 2.4 倍(图 4B)。这与前期基因表达结果一致,水稻颖花开放时,GA<sub>4</sub>合成的关键基因 *OsGA20ox3*、*OsGA3ox1* 和其负反馈调控基因 *OsGA2ox1*、*OsGA2ox2*、*OsGA20ox4*、*OsEUI* 的表达均较开花前大幅度下降(图 3),进而大幅度降低了 GA<sub>4</sub>的含量;相反 GA<sub>1</sub>合成的关键基因 *OsGA20ox2*、*OsGA3ox2* 表达量显著高于开花前(图 3A),从而促进 GA<sub>1</sub>的大量合成。说明在水稻雄蕊发育晚期 GA<sub>1</sub>可



“\*”和“\*\*”分别表示差异达到0.05和0.01显著水平;-2 d:开花前1 d;-1 d:开花前1 d;-4 h:开花前4 h;0 h:开花时。

“\*” and “\*\*” indicate that the difference reaches the significant level of 0.05 and 0.01, respectively; -2 d: two days before flowering; -1 d: one day before flowering; -4 h: four hours before flowering; 0 h: flowering time.

图3 水稻雄蕊中 *OsGA20ox*、*OsGA3ox*、*OsGA2ox*、*OsEUI* 的表达分析

Fig.3 Expression analyses of *OsGA20ox*, *OsGA3ox*, *OsGA2ox*, *OsEUI* in stamens of rice plant

能调控颖花开放的花丝伸长。

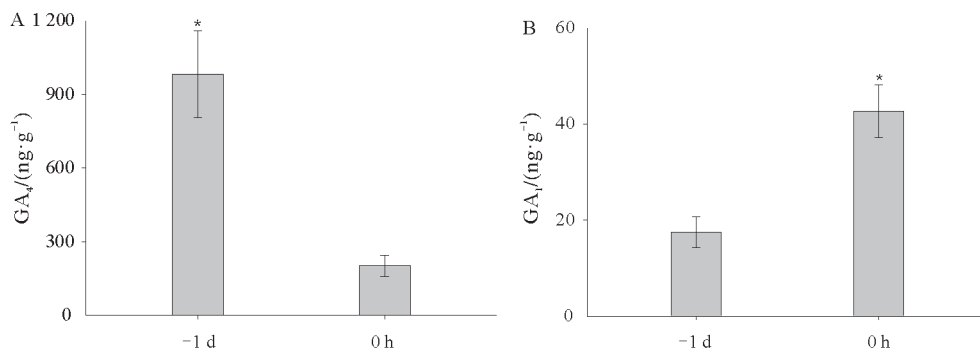


图4 水稻雄蕊中  $GA_4$  和  $GA_1$  的含量

Fig.4 Concentrations of  $GA_4$  and  $GA_1$  in the stamens of rice plant

### 3 讨论

GAs是调节植物生长发育不可缺少的植物激素之一,调控植物生长发育多个过程,包括种子萌发、茎和叶柄的伸长、花的诱导以及花器官发育等<sup>[29-30]</sup>。大量研究表明尽管 $GA_3$ 是农业生产最为常用的赤霉素,但在多数植物体内 $GA_1$ 和 $GA_4$ 具有更为广泛的生理活性<sup>[1-2,31]</sup>,且在拟南芥和水稻中, $GA_4$ 生物活性约为 $GA_1$ 的1 000倍<sup>[5,31]</sup>。*OsGA13ox*异常表达导致活性更高的 $GA_4$ 在水稻中的富集减少,形成水稻半矮化突变体<sup>[32]</sup>。水稻突变体*shb*由于赤霉素合成减少,表现出根尖分生区皮层细胞更短、更少的表型<sup>[33]</sup>。拟南芥雄蕊的正常发育要较高含量的GAs。*GA*-合成缺陷突变体(*gal-3*, *gal-6*)或*GA*-受体缺陷突变体(*gai*)的拟南芥花芽都具有典型的短花瓣与短雄蕊,花丝的细胞伸长受到抑制<sup>[14,26]</sup>。长期研究认为在水稻中 $GA_1$ 是营养器官中的主要活性GAs,调控茎秆伸长等过程,水稻拔节时期 $GA_1$ 的含量较高; $GA_4$ 集中富集于花和穗子等繁育器官,调控雄蕊发育等<sup>[17,34]</sup>。本研究发现,随着开花的临近水稻雄蕊中*OsGA20ox2*和*OsGA3ox2*表达增强,且 $GA_1$ 含量显著增加,而 $GA_4$ 含量则大幅下降,这暗示着 $GA_1$ 可能调控水稻颖花开放过程的花丝伸长。

植物需要产生和积累合适水平的活性GAs以确保正常的生长发育。GAs可以从合成位点转运至生长发育过程中需要GAs的组织或器官中。活性GAs自身可作为信号,通过正、负反馈作用调控活性GAs生物合成相关基因的表达,维持植物体内赤霉素稳态。大多数试验结果表明,*GA*生物合成受到活性GAs的负反馈调节,小麦*Rht2*、玉米*Dwarf8*和拟南芥*gai*矮化突变体体内都含有异常高水平的活性GAs,这种高水平的活性GAs可能中断*GA*信号传导途径,抑制*GA*的生物合成<sup>[26,35]</sup>。 $GA_4$ 处理拟南芥后*AtGA2ox*表达水平降低,说明*AtGA2ox*表达受到赤霉素的反馈调节,同样的*OsGA2ox*在两个赤霉素缺失型突变体

的表达量高于正常植株,外源赤霉素处理则减少基因表达量<sup>[11,24,35]</sup>。本研究结果显示水稻雄蕊发育晚期 GA<sub>4</sub>含量显著降低,而此期间 GA<sub>4</sub>合成的关键基因 *OsGA20ox3*、*OsGA3ox1* 以及编码调控活性 GAs 失活的相关氧化酶基因 *OsGA2ox1*、*OsGA2ox2*、*OsGA2ox4*、*OsEUI* 的表达量均大幅度下降;这与前人研究结果相一致,再次证明了 GA<sub>4</sub>调控植物体内活性 GAs 平衡的重要作用。

## 参考文献 References:

- [1] CHEN Y, TAN B C. New insight in the gibberellin biosynthesis and signal transduction [J]. *Plant signaling & behavior*, 2015, 10: e1000140.
- [2] ITO S, YAMAGAMI D, ASAMI T. Effects of gibberellin and strigolactone on rice tiller bud growth [J]. *Journal of pesticide science*, 2018, 43(3): 220-223.
- [3] YAMAGUCHI S. Gibberellin metabolism and its regulation [J]. *Annual review of plant biology*, 2008; 59(1): 225-51.
- [4] SALAZAR S, MARTINEZ N, GARCIA J, et al. Gibberellin biosynthesis and metabolism: A convergent route for plants, fungi and bacteria [J]. *Microbiological research*, 2018, 208: 85-98.
- [5] MAGOME H, NOMURA T, HANDA A, et al. CYP714B1 and CYP714B2 encode gibberellin 13-oxidases that reduce gibberellin activity in rice [J]. *Proceedings of the national academy of sciences*, 2013, 110: 1947-1952.
- [6] NOMURA T, MAGOME H, HANADA A, et al. Functional analysis of *Arabidopsis* CYP714A1 and CYP714A2 reveals that they are distinct gibberellin modification enzymes [J]. *Plant cell physiology*, 2013, 54: 1837-1851.
- [7] COWLING RJ, KAMIYA Y, SETO H, et al. Gibberellin dose-response regulation of GA4 gene transcript levels in *Arabidopsis* [J]. *Plant physiology*, 1998, 117: 1195-1203.
- [8] PRISIC S, PETERS RJ. Synergistic substrate inhibition of entcopal diphosphate synthase: a potential feed-forward inhibition mechanism limiting gibberellins metabolism [J]. *Plant physiology*, 2007, 144: 445-454.
- [9] SUN T P, GOODMAN H M, AUSUBE F M. Cloning the *Arabidopsis* GA1 locus by genomic subtraction. *The plant cell*, 1992, 4: 119-128.
- [10] 高秀华, 傅向东. 赤霉素信号转导及其调控植物生长发育的研究进展 [J]. *生物技术通报*, 2018, 34(7): 1-13.  
GAO X H, FU X D. Research progress for the gibberellin signaling and action on plant growth and development [J]. *Biotechnology bulletin*, 2018, 34(7): 1-13.
- [11] 黎家, 李传友. 新中国成立 70 年来植物激素研究进展 [J]. *中国科学(生命科学)*, 2019, 49(10): 1227-1281.  
LI J, LI C Y. Seventy-year major research progress in plant hormones by Chinese scholars [J]. *Scientia Sinica vitae*, 2019, 49: 1227-1281.
- [12] HEDDEN P, THOMAS S G. Gibberellin biosynthesis and its regulation [J]. *Biochemical journal*, 2012, 444: 11-25.
- [13] RIEU I, RUEZ O, FERNANADZ N. The gibberellin biosynthetic genes *AtGA20ox1* and *AtGA20ox2* act, partially redundantly, to promote growth and development throughout the *Arabidopsis* life cycle [J]. *The plant journal*, 2008, 53(3): 488-504.
- [14] 李巧峡, 张丽, 王玉, 等. 赤霉素调控植物开花及花器官发育的研究进展 [J]. *中国细胞生物学学报*, 2019, 41(4): 746-758.  
LI Q X, ZHANG L, WANG Y, et al. The research progress of gibberellin on the regulation of flowering and floral organ development in plant [J]. *Chinese journal of cell biology*, 2019, 41(4): 746-758.
- [15] 张迎迎, 何祖华. 高等植物赤霉素的代谢与信号转导 [J]. *植物生理学通讯*, 2010, 46(7): 623-630.  
ZHANG Y Y, HE Z H. Gibberellin metabolism and signal transduction in higher plants [J]. *Plant physiology communications*, 2010, 46(7): 623-630.
- [16] 黄桃鹏, 李媚娟, 王睿, 等. 赤霉素生物合成及信号转导途径研究进展 [J]. *植物生理学报*, 2015, 51(8): 1241-1247.  
HUANG T P, LI M J, WANG R, et al. Progress in study of gibberellins biosynthesis and signaling transduction pathway [J]. *Plant physiology journal*, 2015, 51(8): 1241-1247.
- [17] HIRANO K, AYA K, HOBOT T, et al. Comprehensive transcriptome analysis of phytohormone biosynthesis and signaling genes in microspore/pollen and tapetum of rice [J]. *Plant and cell physiology*, 2008, 49: 1429-1450.
- [18] UEGUCHI M, ASHIKARI M, NAKAJIMA M, et al. Gibberellin insensitive Dwarf1 encodes a soluble receptor for gibberellins [J]. *Nature*, 2005, 437: 693-698.
- [19] CHEN Y, HOU M, LIU L, et al. The maize Dwarf1 encodes a gibberellin 3-oxidase and is dual localized to the nucleus and

- cytosol[J].Plant Physiology,2014,166:2028-2039.
- [20] LEE D J,ZEEVART J A.Molecular cloning of GA2-oxidase3 from spinach and its ectopic expression in *Nicotiana sylvestris* [J].Plant physiology,2005,138(1):243-254.
- [21] 宋松泉,刘军,黄芸,等.赤霉素代谢与信号转导及其调控种子萌发与休眠的分子机制[J].中国科学(生命科学),2020,50(6):599-615.
- SONG S Q,LIU J,HUANG H,et al.Gibberellin metabolism and signaling and its molecular mechanism in regulating seed germination and dormancy[J].Scientia Sinica vitae,2020,50:599-615.
- [22] ITO T,OKADA K,FUKAZAWA J,et al.DELLA-dependent and -independent gibberellin signaling[J].Plant signaling & behavior,2018,13:e1445933.
- [23] ZHU Y,NMURA T,XU Y,et al.ELONGATED UPPERMOST INTERNODE encodes a cytochrome P450 monooxygenase that epoxidizes gibberellins in a novel deactivation reaction in rice[J].The plant cell,2006,18(2):442-456.
- [24] THOMAS S G,PHILLIPS A L,HEDDEN P.Molecular cloning and functional expression of gibberellin 2-oxidases, multi-functional enzymes involved in gibberellin deactivation[J].Proceedings of the national academy of sciences,1999,96(8):4698-4703.
- [25] LIU C,ZHENG S,GUI J,et al.Shortened basal internodes encodes a gibberellin 2-oxidase and contributes to lodging resistance in rice[J].Molecular plant,2018,11:288-299.
- [26] LI Q F,WANG C,JIANG L,et al.An interaction between BZR1 and DELLAs mediates direct signaling crosstalk between brassinosteroids and gibberellins in Arabidopsis[J].Science signaling,2012,5(224):ra72.
- [27] 黄俊宝,何永明,曾晓春,等.水稻颖花开放前花器官茉莉酸水平变化及浆片茉莉酸信号基因表达分析[J].中国农业科学,2015,48(6):1219-1227.
- HUANG J B,HE Y M,ZENG X C,et al.Changes of JA levels in floral organs and expression analysis of JA signaling genes in lodicules before floret opening in rice[J].Scientia agricultura Sinica,2015,48(6):1219-1227.
- [28] MACIAS J M,POURNAVAB R F,RYES M H,et al.Development of a rapid and efficient liquid chromatography method for determination of gibberellin A4 in plant tissue, with solid phase extraction for purification and quantification[J].American journal of plant sciences,2014,5(5):573-583.
- [29] GOTO N,PHARIS R P.Role of gibberellin in the development of floral organs of the gibberellin-deficient mutant, *gal-1*, of *Arabidopsis thaliana* [J].Canadian journal of botany-revue canadienne de botanique,2011,77(7):944-954.
- [30] KANEKO M,ITOH H,INUKAI Y,et al.Where do gibberellin biosynthesis and gibberellin signaling occur in rice plants? [J].The plant journal,2003,35:104-115.
- [31] ERIKSSON S,BHLENIUS H,MORITZ T,et al.GA4 is the active gibberellin in the regulation of leafy transcription and Arabidopsis floral initiation[J].The plant cell,2006,18:2172-2181.
- [32] 黄升财,王冰,谢国强,等.赤霉素 GA4 是水稻矮化特征的重要调节因子[J].中国农业科学,2019,52(5):786-800.
- HUANG S C,WANG B,XIE G Q.Enrichment Profile of GA4 is an important regulatory factor triggering rice dwarf[J].Scientia agricultura Sinica,2019,52(5):786-800.
- [33] LI J,JIANG J,QIAN Q,et al.Mutation of rice BC12/GDD1, which encodes a kinesin-like protein that binds to a GA biosynthesis gene promoter, leads to dwarfism with impaired cell elongation[J].The plant cell,2011,23:628-640.
- [34] GAO S P,FANG J,XU F,et al.Rice HOX12 regulates panicle exertion by directly modulating the expression of elongated uppermost internode[J].The plant cell,2016,28:660-695.
- [35] BINENBAUM J,WEINSTAIN R,SHAI E.Gibberellin localization and transport in plants[J].Trends in plant science,2018,23:410-421.