浙 江 农 林 大 学 学 报，2023，**40**(5)：982–990
Journal of Zhejiang A&F University
doi: 10.11833/j.issn.2095-0756.20220761

毛竹 *PeCIGRs* 基因的克隆及表达分析

兰智鑫[1]，侯　丹[1]，吴蔼民[2]，林新春[1]

（1. 浙江农林大学 省部共建亚热带森林培育国家重点实验室，浙江 杭州 311300；2. 华南农业大学 林学与风景园林学院，广东 广州 510642）

摘要：【目的】探究 *PeCIGRs* 基因在毛竹 *Phyllostachys edulis* 茎秆发育和逆境胁迫中的作用，为毛竹高生长及抗逆机制研究提供参考。**【方法】**以 3 m 幼竹中部位置的节间为材料进行 *PeCIGRs* 基因的克隆，利用生物信息学分析探究 PeCIGRs 蛋白的理化性质和系统进化关系，基于转录组数据对 *PeCIGRs* 基因在不同组织和非生物胁迫 (盐、干旱)、植物生长调节剂 (脱落酸、水杨酸) 处理下的表达模式进行分析。**【结果】**在毛竹中共克隆得到 4 条 *CIGR* 基因，依次命名为 *PeCIGR*1-*a*、*PeCIGR*1-*b*、*PeCIGR*2-*a*、*PeCIGR*2-*b*。4 条 *CIGR* 基因核苷酸序列长度为 1 635~1 716 bp，氨基酸序列长度为 544~571 bp。多序列比对发现：4 条 *CIGR* 基因均具有保守的 GRAS 结构域，属于 GRAS 家族。组织特异性表达分析发现：*PeCIGRs* 基因主要在毛竹茎秆表达，且在 3 m 高幼竹顶部达到峰值。此外，不同非生物胁迫和植物生长调节剂处理表达分析发现：在干旱 (PEG)、盐 (NaCl) 胁迫和水杨酸 (SA) 处理下，*PeCIGRs* 基因相对表达量均呈现先升高后下降的趋势。在脱落酸处理下，*PeCIGR*1-*a*、*PeCIGR*1-*b* 基因相对表达量呈现先升高后下降的趋势，*PeCIGR*2-*a*、*PeCIGR*2-*b* 则在处理 24 h 后呈现下调趋势。**【结论】***PeCIGRs* 基因参与调控毛竹茎秆生长发育、非生物胁迫 (盐、干旱) 响应以及植物生长调节剂 (脱落酸、水杨酸) 应答。图 5 表 6 参 38

关键词：毛竹；*CIGR* 基因；基因克隆；表达分析

中图分类号：S722.3　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**2095-0756(2023)05-0982-09

Cloning and expression analysis of *PeCIGRs* gene from *Phyllostachys edulis*

LAN Zhixin[1]，HOU Dan[1]，WU Aimin[2]，LIN Xinchun[1]

（1. State Key Laboratory of Subtropical Silviculture, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, Zhejiang, China; 2. College of Forestry and Landscape Architecture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, Guangdong, China）

Abstract: [**Objective**] The aim is to explore the role of *PeCIGRs* in the development of *Phyllostachys edulis* stem and abiotic stresss, as to provide reference for the study of high growth and stress resistance mechanism. [**Method**] The *PeCIGRs* gene was cloned from the internodes located in the middle of a 3-m young *Ph. edulis*. The physical and chemical properties and phylogenetic relationship of PeCIGRs protein were explored by bioinformatics analysis. The expression pattern of *PeCIGRs* gene in different tissues and under abiotic stresses and hormone treatment were analyzed based on transcriptome data. [**Result**] Four *CIGR* genes were cloned from *Ph. edulis*, named *PeCIGR*1-*a*, *PeCIGR*1-*b*, *PeCIGR*2-*a* and *PeCIGR*2-*b*. The nucleotide sequence length of the four *CIGR* genes was 1 635−1 716 bp, and the amino acid sequence length was 544−571 bp. Multiple sequence alignment revealed that all four *CIGR* genes had conserved GRAS domains, which belonged to GRAS family. Tissue-specific expression analysis revealed that *PeCIGRs* was mainly expressed in *Ph. edulis* stem and

收稿日期：2022-12-06；修回日期：2023-04-16

基金项目：国家重点研发计划项目 (2021YFD2200503-3)

作者简介：兰智鑫 (ORCID: 0009-0008-8797-433X)，从事植物生物技术等研究。E-mail: lan1532815592@163.com。通信作者：侯丹 (ORCID: 0000-0001-5092-6950)，讲师，博士后，从事竹子发育生物学与生物信息学等研究。E-mail: hd20184007@zafu.edu.cn

reached its peak at the top of 3-m young *Ph. edulis*. In addition, the expression analysis under different stresses and hormone treatments found that *PeCIGRs* showed a trend of first increasing and then decreasing under drought, salt stress and salicylic acid treatment. Under abscisic acid treatment, *PeCIGR*1-*a* and *PeCIGR*1-*b* genes increased first and then decreased, while *PeCIGR*2-*a* and *PeCIGR*2-*b* showed a downward trend after 24 h of treatment. [**Conclusion**] *PeCIGRs* gene is involved in the regulation of the growth and development of *Ph. edulis* stem, and response to abiotic stress (drought and salt) and hormone (abscisic acid and salicylic acid) as well. [Ch, 5 fig. 6 tab. 38 ref.]

Key words: *Phyllostachys edulis*; *PeCIGRs*; gene clone; expression analysis

毛竹 *Phyllostachys edulis* 属禾本科 Poaceae 竹亚科 Bambusoideae 刚竹属 *Phyllostachys*，具有快速生长的特性，最高日生长量超过 1 m[1−2]，是中国生长最快的植物之一。同时，毛竹也是中国竹类植物中分布最广的竹种，约占中国竹资源总面积的 3/4[3]。此外，毛竹的茎秆木质化程度高，柔韧性好，在木材加工等方面被广泛应用，因而还具有重要的经济价值[4]。近年来，随着竹类植物，特别是毛竹的速生特性、高经济价值等优势逐渐凸显，以毛竹为主的竹资源研究备受关注，对毛竹快速生长机制的研究较为深入。一方面是激素、miRNA 和基因等内在机制对竹子高生长的调控[1, 5−6]，如 CHEN 等[7] 研究表明：赤霉素 (GA) 是调控毛竹节间伸长的主要激素；另一方面是包括干旱、高盐等逆境胁迫对竹子高生长的影响，如毛美红等[8] 的研究指出：干旱胁迫会显著影响毛竹新竹的胸径和株高。尽管对毛竹高生长机制的研究已涵盖了多个方面，但相比其他物种 (如模式植物拟南芥 *Arabidopsis thaliana*)，对毛竹高生长分子机制的研究仍处在起步阶段，因而探究基因对毛竹茎秆发育的作用研究十分必要，对毛竹以及其它竹资源的可持续发展有重要意义。

CIGR 基因属于 GRAS 转录因子家族。GRAS 家族是植物特有的一类转录因子且高度保守，已在拟南芥、水稻 *Oryza sativa*、玉米 *Zea mays*、高粱 *Sorghum bicolor*、毛竹等多个物种中被鉴定[9−12]，并依据序列、结构以及进化关系上的差异将该家族进一步划分为包含 DELLA、HAM、PAT1 等在内的共 17 个亚家族[13]。此外，功能研究表明：GRAS 家族参与植物生长发育、非生物胁迫响应等多种生物过程和分子功能的调控[14−16]，如杨树 *Populus euphratica* 的 *PeSCL*7 过表达拟南芥后明显提高了抗盐和抗旱性[17]、拟南芥 *SCR* 突变后影响了根径向组织的分裂[18]。*CIGR* 基因作为该家族成员之一，最早在水稻中被发现，并以参与调控病原体诱导的防御反应被熟知[19−20]。随后在多花黄精 *Polygonatum cyrtonema* 等物种中陆续被鉴定[21−22]，并对其功能展开了进一步的探究。研究发现：该基因还参与调控茎秆伸长，如水稻中通过混合分组分析法 (BSA) 筛选到在染色体分布上同绿色革命基因 *sd*1 紧密相连的候选基因 *CIGR*，并发现该基因在高秆水稻的组织中高表达[23]。从植物分类学角度来看，毛竹与水稻同属于禾本科植物，参考水稻已有研究成果来探究毛竹相关机制具有重要的意义。为明确 *CIGR* 基因是否同样参与毛竹茎秆发育以及是否还参与逆境等非生物胁迫的响应，本研究利用文献中已鉴定的水稻 *CIGR* 基因[24] 的序列在毛竹数据库中进行比对，得到 4 条同源基因，结合克隆和组织特异性表达、逆境胁迫及植物生长调节剂响应分析初步对毛竹 *CIGR* 基因进行探究，以期为研究毛竹 *CIGR* 基因的功能与作用机制提供基础。

1　材料与方法

1.1　材料

本研究使用的克隆材料毛竹茎秆采自浙江省杭州市临安区毛竹林示范园区，取 3 m 幼竹中部位置的节间样品速冻于液氮，保存于−80 ℃ 用于后续分析。

1.2　目的基因的克隆

根据毛竹数据库 (http://www.bamboogdb.org/) 获取 4 个 *CIGR* 基因的编码序列 (CDS)，使用 Oligo 7 设计 CDS 全长引物、引物序列 (表 1)。提取毛竹茎秆的 RNA，并反转录为 cDNA 作为模板，反应体系为 10 μL，2×E-*taq* PCR Master Mix 酶 5 μL、cDNA 1 μL、上下游引物各 1 μL、ddH_2O 补至 10 μL。PCR 扩增程序为：95 ℃ 预变性 3 min、95 ℃ 变性 30 s、60 ℃ 退火 30 s、72 ℃ 延伸 120 s、34 个循环及

表 1 基因克隆引物

Table 1 Primers used in gene clone

引物名称	序列(5′→3′)	引物名称	序列(5′→3′)
PeCIGR1-a-F	ATGGACTTGCACCAGTTATTA	PeCIGR2-a-F	ATGGCTGATACTCCAACTTCCC
PeCIGR1-a-R	TCAGTGCCATGCAGAAGCAG	PeCIGR2-a-R	CTAATGCCATGCGGACGAAACCA
PeCIGR1-b-F	ATGGACTTGCACCAGTTA	PeCIGR2-b-F	ATGGCTGATACTCCAACT
PeCIGR1-b-R	TCAGTGCCAAGCAGAAGCAGAT	PeCIGR2-b-R	CTAATGCCATGCAGACGA

72 ℃ 延伸 5 min。琼脂糖凝胶获取扩增片段并回收，经载体连接及大肠埃希菌 *Escherichia coli* 转化测序后获得阳性单菌落并保存于−80 ℃。

1.3 生物信息学分析

利用 DNAMAN 对克隆得到的 *CIGR* 基因进行序列比对。利用 Expasy 在线软件 (https://web.expasy.org/protparam/) 及 Plant-mPLoc 在线软件 (http://www.csbio.sjtu.edu.cn/bioinf/plant-multi/) 对 CIGR 蛋白理化性质和亚细胞定位进行分析和预测。利用 Clustal X 进行同源氨基酸序列比对，ESPript 3.0 在线软件 (https://espript.ibcp.fr/ESPript/ESPript/) 用于多序列比对可视化。利用 MEGA 7 的 Neighbor-Joining 算法对多个物种的 CIGR 蛋白序列进行系统进化树的构建。

1.4 组织表达特异性分析

从美国国家生物技术信息中心 (NCBI) 获取毛竹 26 个组织转录组数据[25]，利用 Rstudio 软件对毛竹 *PeCIGR*1-*a*、*PeCIGR*1-*b*、*PeCIGR*2-*a*、*PeCIGR*2-*b* 基因在不同组织中的表达进行可视化分析。

1.5 非生物胁迫和植物生长调节剂处理分析

从 NCBI 获取课非生物胁迫及植物生长调节剂处理转录组数据 (GSE169067)，包含了干旱 (PEG)、盐 (NaCl)、脱落酸 (abscisic acid，ABA)、水杨酸 (salicylic acid，SA) 处理。所有处理均为 3 个生物学重复，取样的时间为 0、3、24 h，利用 Rstudio 软件完成毛竹 *PeCIGR*1-*a*、*PeCIGR*1-*b*、*PeCIGR*2-*a*、*PeCIGR*2-*b* 基因在非生物胁迫和植物生长调节剂处理下表达模式的可视化分析。

2 结果与分析

2.1 毛竹 4 个 *CIGR* 基因的克隆

PCR 扩增、凝胶电泳 (图 1)、PCR 产物回收及连接转化测序研究表明：毛竹 *PH*02*Gene*08687、*PH*02*Gene*44779、*PH*02*Gene*17912、*PH*02*Gene*13317 完整的编码区序列长度分别为 1 707、1 716、1 635、1 638 bp，分别编码 568、571、544、545 个氨基酸，与毛竹数据库序列比对一致。为便于后续研究分析，对上述基因进行重命名，依次为 *PeCIGR*1-*a*、*PeCIGR*1-*b*、*PeCIGR*2-*a*、*PeCIGR*2-*b*。

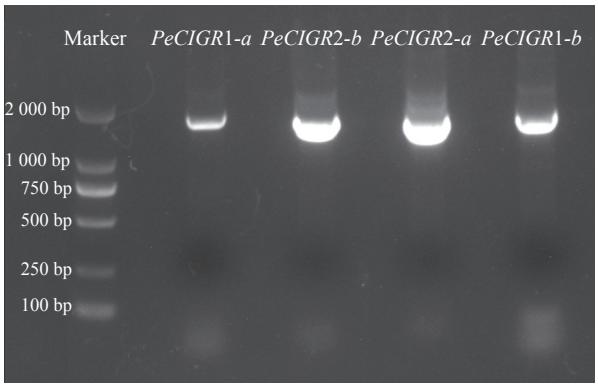
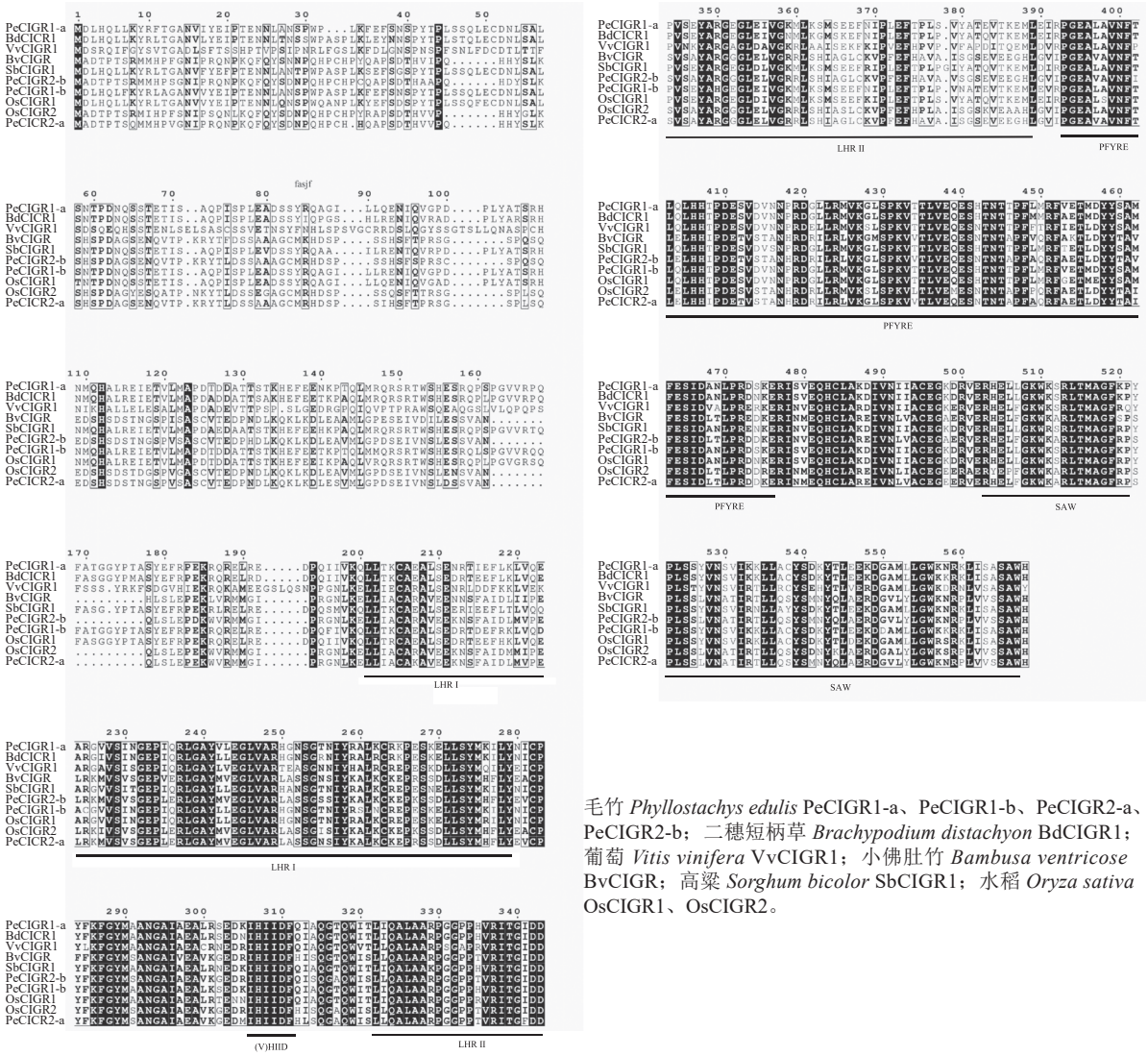


图 1 *PeCIGRs* 基因克隆

Figure 1 Cloning of *PeCIGRs* gene

2.2 PeCIGRs 蛋白多重序列比对及系统进化树分析

多序列比对发现：毛竹 PeCIGRs 蛋白与小佛肚竹 *Bambusa ventricosa*、二穗短柄草 *Brachypodium distachyon*、水稻等 6 个物种 CIGR 蛋白序列的 C 端相似度较高，具有 GRAS 蛋白典型的 5 个保守区域：LRI 区域、VHIID 区域、LRII 区域、PFYRE 域及末端 SAW 区域，因而属于 GRAS 蛋白家族成员 (图 2)[26]。为进一步明确毛竹 *PeCIGRs* 基因的功能，本研究利用毛竹、葡萄 *Vitis vinifera*、小佛肚竹、水稻、二穗短柄草、高粱的 CIGR 蛋白序列构建进化树，结果如图 3 所示。整个进化树分成两大分支，其中 PeCIGR1-a、PeCIGR1-b 和 PeCIGR2-a、PeCIGR2-b 分别聚在 2 条分支上。同其他物种聚类结果表明：毛竹 PeCIGRs 蛋白与小佛肚竹、二穗短柄草、水稻 CIGR 蛋白进化关系更近。综上推测，毛竹 PeCIGRs 蛋白与小佛肚竹、二穗短柄草、水稻 CIGR 蛋白在功能上可能具有相似性。



毛竹 *Phyllostachys edulis* PeCIGR1-a、PeCIGR1-b、PeCIGR2-a、PeCIGR2-b；二穗短柄草 *Brachypodium distachyon* BdCIGR1；葡萄 *Vitis vinifera* VvCIGR1；小佛肚竹 *Bambusa ventricose* BvCIGR；高粱 *Sorghum bicolor* SbCIGR1；水稻 *Oryza sativa* OsCIGR1、OsCIGR2。

图 2　不同物种 CIGR 蛋白序列比对分析

Figure 2　Protein sequence alignment and analysis of CIGR protein from different species

2.3　PeCIGRs 蛋白的理化性质及亚细胞定位分析

表 2 为 PeCIGRs 蛋白的理化性质分析结果。PeCIGR1-a、PeCIGR1-b、PeCIGR2-a、PeCIGR2-b 蛋白的等电点为 5.63~6.03，不稳定指数为 44.1~49.91，疏水性为−0.437~−0.310。4 个 CIGR 蛋白均为酸性亲水蛋白，且 PeCIGR1-a、PeCIGR1-b 蛋白相较 PeCIGR2-a、PeCIGR2-b 蛋白更稳定。亚细胞定位预测表明：毛竹 4 个 CIGR 蛋白都定位于细胞核，与水稻 CIGR 蛋白定位一致[19]。

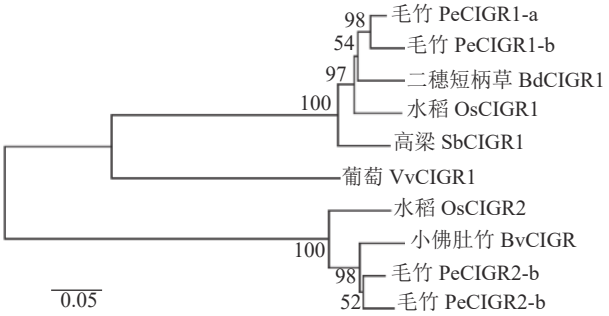


图 3　不同物种 CIGR 蛋白序列系统进化树分析

Figure 3　Phylogenetic tree analysis of CIGR protein sequences of different species

2.4　*PeCIGRs* 基因启动子顺式作用元件分析

PeCIGR1-a、*PeCIGR1-b*、*PeCIGR2-a*、*PeCIGR2-b* 启动子上游 2 000 bp 顺式作用元件预测结果 (表 3~6) 表明：4 条基因启动子序列除包含 TATA-box 和 CAAT-box 等核心启动元件外，还包含与光响应相关的元件，如 3-AF1 binding site、ACE、Box 4；与激素相关的元件，如脱落酸响应元件 ABRE、赤霉素响应元件 (GARE-motif)；与胁迫相关的元件，如低温响应元件 (LTR)、干旱响应元件 (MBS) 以及分裂相关的元件 (CAT-box)。上述结果表明：*PeCIGRs* 基因可能参与调控毛竹分裂生长、光信号响应、植物生长调节剂和胁迫诱导等多种生物途径。

表 2 PeCIGRs 蛋白理化性质及亚细胞定位分析

Table 2 Analysis of physicochemical properties and subcellular localization of PeCIGRs protein

蛋白名称	氨基酸数量	分子量/kD	等电点	不稳定指数	脂肪指数	疏水值	亚细胞定位
PeCIGR1-a	568	64 157.03	6.03	44.28	83.82	−0.437	细胞核
PeCIGR1-b	571	64 407.13	5.63	44.10	82.01	−0.443	细胞核
PeCIGR2-a	544	60 047.06	5.97	49.91	83.18	−0.310	细胞核
PeCIGR2-b	545	59 924.85	6.03	49.64	82.33	−0.316	细胞核

表 3 *PeCIGR*1-*a* 基因启动子顺式作用元件分析

Table 3 Cis-element analysis of *PeCIGR*1-*a* gene promoter

顺式元件	序列	数量	功能	顺式元件	序列	数量	功能
ABRE	ACGTG	2	脱落酸响应元件	LAMP-element	CTTTATCA	1	光响应元件
AuxRR-core	GGTCCAT	1	生长素响应元件	LTR	CCGAAA	1	低温响应元件
Box 4	ATTAAT	2	光响应元件	MBS	CAACTG	1	干旱响应元件
CAAT-box	CAAAT	31	启动子和增强子区域调控元件	MRE	AACCTAA	1	光响应元件
CGTCA-motif	CGTCA	1	茉莉酸甲酯响应元件	P-box	CCTTTTG	1	赤霉素响应元件
GARE-motif	TCTGTTG	1	赤霉素响应元件	TATA-box	TATA	9	核心启动子元件
G-box	CACGTC	2	光响应元件	TGACG-motif	TGACG	1	茉莉酸甲酯响应元件

表 4 *PeCIGR*1-*b* 基因启动子顺式作用元件分析

Table 4 Cis-element analysis of *PeCIGR*1-*b* gene promoter

顺式元件	序列	数量	功能	顺式元件	序列	数量	功能
ABRE	ACGTG	2	脱落酸响应元件	MRE	AACCTAA	1	光响应元件
Box 4	ATTAAT	2	光响应元件	Sp1	GGGCGG	1	光响应元件
CAAT-box	CAAAT	41	启动子和增强子区域调控元件	TATA-box	TATA	12	核心启动子元件
CGTCA-motif	CGTCA	2	茉莉酸甲酯响应元件	TATC-box	TATCCCA	1	赤霉素响应元件
GATA-motif	GATAGGA	1	光响应元件	TCA-element	TCAGAAGAGG	1	水杨酸响应元件
G-box	CACGTC	4	光响应元件	TCCC-motif	TCTCCCT	1	光响应元件
LAMP-element	CTTTATCA	1	光响应元件	TGACG-motif	TGACG	2	茉莉酸甲酯响应元件

表 5 *PeCIGR*2-*a* 基因启动子顺式作用元件分析

Table 5 Cis-element analysis of *PeCIGR*2-*a* gene promoter

顺式元件	序列	数量	功能	顺式元件	序列	数量	功能
AF1 binding site	TAAGAGAGGAA	1	光响应元件	G-Box	CACGTT	7	光响应元件
ABRE	ACGTG	6	脱落酸响应元件	MBS	CAACTG	2	干旱响应元件
ACE	GACACGTATG	1	光响应元件	TATA-box	TATA	5	核心启动子元件
CAAT-box	CAAAT	18	启动子和增强子区域调控元件	TCT-motif	TCTTAC	1	光响应元件
CAT-box	GCCACT	2	分裂表达相关元件	TGACG-motif	TGACG	3	茉莉酸甲酯响应元件
CGTCA-motif	CGTCA	3	茉莉酸甲酯响应元件				

表 6 *PeCIGR*2-*b* 基因启动子顺式作用元件分析

Table 6 Cis-element analysis of *PeCIGR*2-*b* gene promoter

顺式元件	序列	数量	功能	顺式元件	序列	数量	功能
AF1 binding site	TAAGAGAGGAA	2	光响应元件	G-Box	CACGTT	13	光响应元件
ABRE	ACGTG	12	脱落酸响应元件	GT1-motif	GGTTAA	1	光响应元件
ACE	GACACGTATG	2	光响应元件	LTR	CCGAAA	1	低温响应元件
CAAT-box	CAAAT	38	启动子和增强子区域调控元件	MBS	CAACTG	4	干旱响应元件
CAT-box	GCCACT	2	分裂表达相关元件	TATA-box	TATA	19	核心启动子元件
CGTCA-motif	CGTCA	4	茉莉酸甲酯响应元件	TCT-motif	TCTTAC	3	光响应元件
GARE-motif	TCTGTTG	2	赤霉素响应元件	TGACG-motif	TGACG	4	茉莉酸甲酯响应元件

2.5　*PeCIGRs* 基因在不同组织中的表达模式

通过分析 *PeCIGRs* 基因在毛竹不同部位以及不同组织的表达模式发现 (图 4)：*PeCIGR*1-*a*、*PeCIGR*1-*b*、*PeCIGR*2-*a*、*PeCIGR*2-*b* 在不同发育阶段毛竹茎秆中的表达高于其他组织，如叶片、叶鞘、箨片、鞭、根以及不同部位的芽，且 4 个基因的表达峰值都集中在 3 m 高的幼竹顶部。此外，在茎秆的其他发育阶段中，*PeCIGR*1-*a*、*PeCIGR*1-*b* 基因主要在 1.5 m 幼竹底部、顶部高表达；*PeCIGR*2-*a*、*PeCIGR*2-*b* 则主要在 6.7 m 幼竹的底部、中部高表达。综上表明，*PeCIGRs* 基因可能在毛竹茎秆发育中发挥着重要的作用。

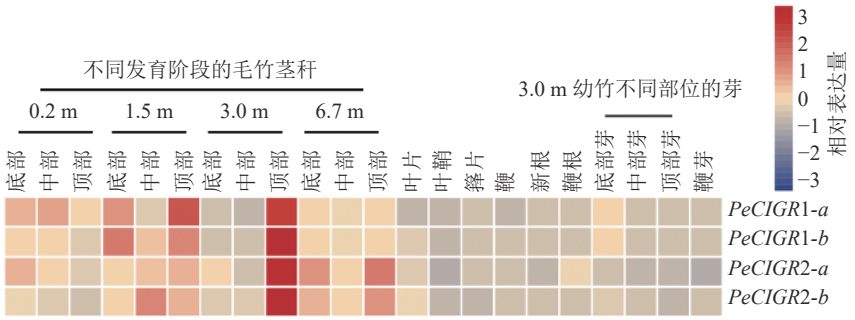


图 4　毛竹 *PeCIGRs* 在不同组织中的表达模式

Figure 4　Expression patterns of *PeCIGRs* in different tissues

2.6　*PeCIGRs* 基因在非生物胁迫和植物生长调节剂处理下的表达模式

通过分析 *PeCIGRs* 基因在非生物胁迫 (盐、干旱) 和植物生长调节剂处理 (脱落酸、水杨酸) 下的表达模式发现 (图 5)：*PeCIGR*1-*a*、*PeCIGR*1-*b*、*PeCIGR*2-*a*、*PeCIGR*2-*b* 在盐、干旱、水杨酸处理中表达模式一致，均呈现先升高后下降的变化趋势。在脱落酸处理中，4 个 *CIGR* 基因呈现 2 种不同的表达模式，其中 *PeCIGR*1-*a*、*PeCIGR*1-*b* 是在处理 3 h 后明显上调，在 24 h 后表达下调，而 *PeCIGR*2-*a*、*PeCIGR*2-*b* 基因在处理后3 h 没有明显变化趋势，在处理 24 h 后表现出下调的趋势。综上所述，*PeCIGR*1-*a*、*PeCIGR*1-*b*、*PeCIGR*2-*a*、*PeCIGR*2-*b* 对盐、干旱胁迫具有强烈的响应，对水杨酸、脱落酸具有一定的应答作用。

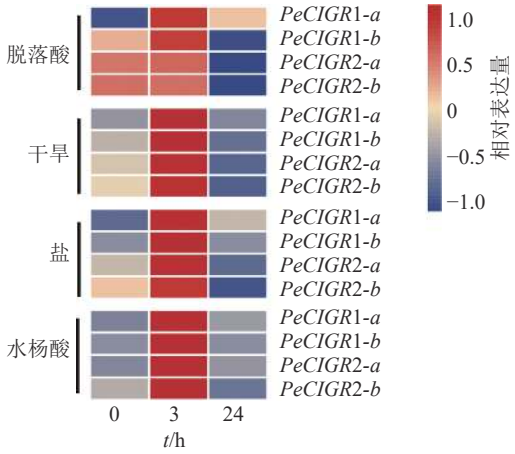


图 5　毛竹 *PeCIGRs* 在非生物胁迫和植物生长调节剂处理下的表达模式

Figure 5　Expression patterns of *PeCIGRs* in abiotic stresses and hormonal treatment

3　讨论

基因调控在竹子快速生长中扮演着重要的角色，如参与细胞壁合成的 *CesAs* 基因、参与响应激素的 *PheSAUR*29 基因等[27−28]。现有竹子基因层面的研究多参考水稻等模式植物展开，如毛竹 *PeGA*20*ox*1 基因，是与水稻、二穗短柄草等物种进行比对后得到的同源性较高的基因，该基因通过异源转入拟南芥后显著增加了株高和节间长度[29]。本研究同样是在水稻茎秆发育研究中发现了 1 个与茎秆伸长密切相关的基因 *CIGR*，该基因是赤霉素应答基因，在光信号转导[21]、赤霉素 (GA) 信号转导[20] 以及茎秆发育[23] 等途径都参与调控。为探究该基因在毛竹生长发育等途径中是否参与调控，本研究通过克隆及表达分析等方法对毛竹 *CIGR* 基因展开初步探究。

除在水稻中被报道外，*CIGR* 基因也在其他物种中被发现参与调控节间伸长和茎秆发育。如小佛肚竹的 *BvCIGR* 基因异源转入水稻后引起了株高和节间的伸长[30]；白花虎眼万年青 *Ornithogalum thyrsoides QtCIGR*1 异源转入烟草 *Nicotiana tabacum* 中后显著提升节间长度[22]。与此结果相似，在分析 *CIGR* 基因

在毛竹不同部位的表达情况时发现，该基因主要表达在茎秆中；在分析毛竹茎秆不同发育阶段时发现，该基因在 3 m 茎秆顶部的表达量最高，该时期处于竹子的速生期[31]。此外，在多物种 CIGR 蛋白进化系统分析及序列比对分析中还发现：毛竹 CIGR 蛋白与小佛肚竹、水稻的 CIGR 蛋白序列具有较高的相似度。这进一步为参考水稻、小佛肚竹的 CIGR 蛋白对毛竹相关功能进行研究提供了可靠性。综上，本研究参考与毛竹 CIGR 蛋白具有高相似性的物种已有研究成果，初步分析了 *CIGRs* 基因在毛竹组织中的表达特征。结果表明：毛竹 *PeCIGRs* 基因参与毛竹茎秆发育，特别是在毛竹茎秆速生期中扮演着重要的角色。

毛竹生长喜温喜湿[32]，因而干旱等其他环境因子或非生物胁迫对其生长有重要影响[33]。GRAS 家族在盐胁迫、干旱胁迫等非生物胁迫以及激素信号转导中也参与应答[34−36]，如水稻 *OsGRAS*23 过表达后提升了植物的抗旱性[37]，山葡萄 *Vitis amurensis VaPAT*1 过表达拟南芥后显著提升了植物对寒冷、干旱以及盐等非生物胁迫的抗性[38]。为明确毛竹 *CIGR* 基因是否也参与非生物胁迫应答，本研究对毛竹 *CIGR* 基因启动子顺式作用元件进行了预测，发现与非生物胁迫 (干旱、低温) 和植物生长调节剂响应 (脱落酸、水杨酸) 相关元件的存在。在此基础上，本研究进一步对毛竹非生物胁迫和植物生长调节剂处理的表达模式进行分析，结果表明：*PeCIGRs* 基因的确受到了盐、干旱、水杨酸的强烈诱导，且 *PeCIGR*1-*a*、*PeCIGR*1-*b* 和 *PeCIGR*2-*a*、*PeCIGR*2-*b* 分别在脱落酸处理的不同时间点也参与应答。这表明 *PeCIGRs* 基因在非生物胁迫响应和植物生长调节剂应答中发挥着重要作用。

4 结论

本研究从毛竹克隆得到 4 条 *CIGR* 基因，依次命名为 *PeCIGR*1-*a*、*PeCIGR*1-*b*、*PeCIGR*2-*a*、*PeCIGR*2-*b*。4 条基因序列都具有典型的 GRAS 结构域，属 GRAS 家族。组织特异性分析表明：4 条基因主要在速生期的茎秆顶部中表达，表明 4 条基因在幼竹速生生长中参与调控。非生物胁迫和植物生长调节剂处理下 *PeCIGRs* 基因的表达模式表明：4 条基因在盐、干旱、水杨酸处理早期受到强烈的诱导，在脱落酸处理中，*PeCIGR*1-*a*、*PeCIGR*1-*b* 和 *PeCIGR*2-*a*、*PeCIGR*2-*b* 分别在不同处理时间点参与应答，表明这 4 条基因也参与毛竹对非生物胁迫的响应和植物生长调节剂的应答。

5 参考文献

[1] GAMUYAO R, NAGAI K, AYANO M, *et al*. Hormone distribution and transcriptome profiles in bamboo shoots provide insights on bamboo stem emergence and growth [J]. *Plant and Cell Physiology*, 2017, **58**(4): 702 − 716.

[2] WEI Qiang, JIAO Chen, DING Yulong, *et al*. Cellular and molecular characterizations of a slow-growth variant provide insights into the fast growth of bamboo [J]. *Tree Physiology*, 2018, **38**(4): 641 − 654.

[3] 李玉敏, 冯鹏飞. 基于第9次全国森林资源清查的中国竹资源分析[J]. 世界竹藤通讯, 2019, **17**(6): 45 − 48.
LI Yumi, FENG Pengfei. Bamboo resources in China based on the Ninth National Forest Inventory Data [J]. *World Bamboo and Rattan*, 2019, **17**(6): 45 − 48.

[4] PENG Zhenghua, LU Ying, LI Lubin, *et al*. The draft genome of the fast-growing non-timber forest species moso bamboo (*Phyllostachys heterocycla*) [J]. *Nature Genetics*, 2013, **45**(4): 456 − 461.

[5] WANG Kaili, ZHANG Yuanyuan, ZHANG Hengmu, *et al*. MicroRNAs play important roles in regulating the rapid growth of the *Phyllostachys edulis* culm internode [J]. *New Phytologist*, 2021, **231**(6): 2215 − 2230.

[6] PENG Zhenghua, ZHANG Chunling, ZHANG Ying, *et al*. Transcriptome sequencing and analysis of the fast growing shoots of moso bamboo (*Phyllostachys edulis*) [J/OL]. *PLoS One*, 2013, **8**(11): e78944[2022-11-05]. doi: 10.1371/journal.pone.0078944.

[7] CHEN Ming, GUO Lin, RAMAKRISHNAN M, *et al*. Rapid growth of moso bamboo (*Phyllostachys edulis*): cellular roadmaps, transcriptome dynamics, and environmental factors [J]. *The Plant Cell*, 2022, **34**(10): 3577 − 3610.

[8] 毛美红, 丁笑章, 傅柳方, 等. 干旱对毛竹林新竹成竹影响的调查分析[J]. 世界竹藤通讯, 2012, **10**(1): 12 − 15.
MAO Meihong, DING Xiaozhang, FU Liufang, *et al*. Investigation of the effect of drought on new moso forest cultivation [J]. *World Bamboo and Rattan*, 2012, **10**(1): 12 − 15.

[9] TIAN Chaoguang, WAN Ping, SUN Shouhong, *et al*. Genome-wide analysis of the GRAS gene family in rice and *Arabidopsis* [J]. *Plant Molecular Biology*, 2004, **54**(4): 519 − 532.

[10] ZHAO Hansheng, DONG Lili, SUN Huayu, *et al*. Comprehensive analysis of multi-tissue transcriptome data and the genome-wide investigation of GRAS family in *Phyllostachys edulis* [J/OL]. *Scientific Reports*, 2016, **6**(1): 27640[2022-11-05]. doi: 10.1038/srep27640.

[11] FAN Yu, YAN Jun, LAI Deli, *et al*. Genome-wide identification, expression analysis, and functional study of the GRAS transcription factor family and its response to abiotic stress in sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] [J/OL]. *BMC Genomics*, 2021, **22**(1): 509[2022-11-05]. doi: 10.1186/s12864-021-07848-z.

[12] GUO Yuyu, WU Hongyu, LI Xiang, *et al*. Identification and expression of GRAS family genes in maize (*Zea mays* L.) [J/OL]. *PLoS One*, 2017, **12**(9): e0185418[2022-11-05]. doi: 10.1371/journal.pone.0185418.

[13] JAISWAL V, KAKKAR M, KUMARI P, *et al*. Multifaceted roles of GRAS transcription factors in growth and stress responses in plants [J/OL]. *iScience*, 2022, **25**(9): 105026[2022-11-05]. doi: 10.1016/j.isci.2022.105026.

[14] BOLLE C, KONCZ C, CHUA N H. PAT1, a new member of the GRAS family, is involved in phytochrome A signal transduction [J]. *Genes and Development*, 2000, **14**(10): 1269 − 1278.

[15] IKEDA A, UEGUCHI-TANAKA M, SONODA Y, *et al*. Slender rice, a constitutive gibberellin response mutant, is caused by a null mutation of the *SLR*1 gene, an ortholog of the height-regulating gene *GAI*/*RGA*/*RHT*/*D*8 [J]. *The Plant Cell*, 2001, **13**(5): 999 − 1010.

[16] KAMIYA N, ITOH J, MORIKAMI A, *et al*. The *SCARECROW* gene's role in asymmetric cell divisions in rice plants [J]. *The Plant Journal*, 2003, **36**(1): 45 − 54.

[17] MA Hongshuang, LIANG Dan, SHUAI Peng, *et al*. The salt- and drought-inducible poplar GRAS protein SCL7 confers salt and drought tolerance in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2010, **61**(14): 4011 − 4019.

[18] LAURENZIO L D, WYSOCKA-DILLER J, MALAMY J E, *et al*. The *SCARECROW* gene regulates an asymmetric cell division that is essential for generating the radial organization of the *Arabidopsis* root [J]. *Cell*, 1996, **86**(3): 423 − 433.

[19] DAY R B, SHIBUYA N, MINAMI E. Identification and characterization of two new members of the GRAS gene family in rice responsive to N-acetylchitooligosaccharide elicitor [J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2003, **1625**(3): 261 − 268.

[20] DAY R B, TANABE S, KOSHIOKA M, *et al*. Two rice GRAS family genes responsive to N-acetylchitooligosaccharide elicitor are induced by phytoactive gibberellins: evidence for cross-talk between elicitor and gibberellin signaling in rice cells [J]. *Plant Molecular Biology*, 2004, **54**(2): 261 − 272.

[21] 吕煜梦, 张舒婷, 王雪晶, 等. 多花黄精几丁质诱导赤霉素应答基因(*CIGR*)克隆及其功能[J]. 应用与环境生物学报, 2020, **26**(2): 255 − 263.
LÜ Yumeng, ZHANG Shuting, WANG Xuejing, *et al*. Cloning and preliminary functional study of the chitin-inducible gibberellin-responsive (*CIGR*) gene in *Polygonatum cyrtonema* Hua [J]. *Chinese Journal of Applied & Environmental Biology*, 2020, **26**(2): 255 − 263.

[22] 姜福星, 黄远祥, 周鹏, 等. 白花虎眼万年青*QtCIGR*1基因的克隆及功能分析[J]. 分子植物育种, 2018, **16**(17): 5584 − 5590.
JIANG Fuxing, HUANG Yuanxiang, ZHOU Peng, *et al*. Cloning and functional analysis of *QtCIGR*1 gene from *Ornithogalum thyrsoides* [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2018, **16**(17): 5584 − 5590.

[23] KOVI M R, ZHANG Yushan, YU Sibin, *et al*. Candidacy of a chitin-inducible gibberellin-responsive gene fora major locus affecting plant height in rice that is closely linked to Green Revolution gene *sd*1 [J]. *Theoretical and Applied Genetic*, 2011, **123**(5): 705 − 714.

[24] SUN Xiaolin, XUE Bin, JONES W T, *et al*. A functionally required unfoldome from the plant kingdom: intrinsically disordered N-terminal domains of GRAS proteins are involved in molecular recognition during plant development [J]. *Plant Molecular Biology*, 2011, **77**(3): 205 − 223.

[25] ZHAO Hansheng, GAO Zhimin, WANG Le, *et al*. Chromosome-level reference genome and alternative splicing atlas of moso bamboo (*Phyllostachys edulis*) [J/OL]. *Gigascience*, 2018, **7**(10): giy115[2022-11-05]. doi: 10.1093/gigascience/giy115.

[26] PYSH L D, WYSOCKA-DILLER J W, CAMILLERI C, *et al*. The GRAS gene family in *Arabidopsis*: sequence characterization and basic expression analysis of the *SCARECROW-LIKE* genes [J]. *The Plant Journal*, 1999, **18**(1): 111 − 119.

[27] CHEN C Y, HSIEH M H, YANG C C, *et al*. Analysis of the cellulose synthase genes associated with primary cell wall synthesis in *Bambusa oldhamii* [J]. *Phytochemistry*, 2010, **71**(11/12): 1270 − 1279.

[28] 白青松. 毛竹*SAUR*、*DELLA*基因的鉴定、克隆及功能分析[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2017.
BAI Qingsong. *Identification, Clone and Function Analysis of SAUR and DELLA Genes in Moso Bamboo* [D]. Beijing: Chinese Academy of Forestry, 2017.

[29] 魏涵天. 毛竹高生长相关*PeGA*20*ox*1基因的克隆及功能分析[D]. 杭州: 浙江农林大学, 2021.
WEI Hantian. *Cloning and Functional Analysis of PeGA*20*ox*1 *Gene Related to Height Growth in Phyllostachys edulis*[D]. Hangzhou: Zhejiang A&F University, 2021.

[30] 林源. 小佛肚竹*BvCIGR*基因的生物学功能分析及在水稻种质创新的应用[D]. 杭州: 浙江农林大学, 2014.
LIN Yuan. *Biological Function Analysis and Application in Rice Germplasm Innovation of BvCIGR Gene* [D]. Hangzhou: Zhejiang A&F University, 2014.

[31] 崔凯. 毛竹茎秆快速生长的机理研究[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2011.
CUI Kai. *The Mechanism Research of Fast-growing Culms of Phyllostachys edulis* [D]. Beijing: Chinese Academy of Forestry, 2011.

[32] 胡智勇. 毛竹的生物学特性及栽植技术[J]. 安徽农学通报, 2014, **20**(12): 117 − 118.
HU Zhiyong. Biological characteristics and planting techniques of moso bamboo (*Phyllostachys edulis*) [J]. *Anhui Agricultural Science Bulletin*, 2014, **20**(12): 117 − 118.

[33] HOU Dan, ZHAO Zhongyu, HU Qiutao, *et al*. PeSNAC-1 a NAC transcription factor from moso bamboo (*Phyllostachys edulis*) confers tolerance to salinity and drought stress in transgenic rice [J]. *Tree Physiology*, 2020, **40**(12): 1792 − 1806.

[34] GUO Pengcheng, WEN Jing, YANG Jin, *et al*. Genome-wide survey and expression analyses of the GRAS gene family in *Brassica napus* reveals their roles in root development and stress response [J]. *Planta*, 2019, **250**(4): 1051 − 1072.

[35] WANG Shengsheng, DUAN Zhen, YAN Qi, *et al*. Genome-wide identification of the GRAS family genes in *Melilotus albus* and expression analysis under various tissues and abiotic stresses [J/OL]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, **23**(13): 7403[2022-11-05]. doi: 10.3390/ijms23137403.

[36] HE Zihang, TIAN Zengzi, ZHANG Qun, *et al*. Genome-wide identification, expression and salt stress tolerance analysis of the GRAS transcription factor family in *Betula platyphylla* [J/OL]. *Frontiers in Plant Science*, 2022, **13**: 1022076[2022-11-05]. doi: 10.3389/fpls.2022.1022076.

[37] XU Kai, CHEN Shoujun, LI Tianfei, *et al*. *OsGRAS*23, a rice GRAS transcription factor gene, is involved in drought stress response through regulating expression of stress-responsive genes [J/OL]. *BMC Plant Biology*, 2015, **15**: 141[2022-11-05]. doi: 10.1186/s12870-015-0532-3.

[38] YUAN Yangyang, FANG Linchun, KARUNGO S K, *et al*. Overexpression of *VaPAT*1, a GRAS transcription factor from *Vitis amurensis*, confers abiotic stress tolerance in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell Report*, 2016, **35**(3): 655 − 666.