

毛竹 *AUX1/LAX* 候选基因家族鉴定与表达分析

杨 乐,张 康,李 龙*

(西北农林科技大学 林学院,陕西 杨陵 712100)

摘 要: *AUX1/LAX* 家族是一类生长素输入载体,在植物生长发育和形态建成过程中起着重要的调控作用。利用同源比对的方法从毛竹基因组中鉴定出 8 个 *PheAUX1/LAX* 候选基因,进行系统进化树、基因结构、基序分析。结果表明, *PheAUX1/LAX* 候选基因分为 Class I 和 Class II 2 个亚组,其中 class I 的候选基因包含 6~7 个外显子,而 Class II 的候选基因包含 8~10 个外显子。不同组织器官转录组数据分析表明多数 Class I 候选成员在毛竹冬笋中高丰度表达,而 Class II 中的 *PH02Gene38722.t* 在跳鞭中高丰度表达。通过 qRT-PCR 对 *AUX1/LAX* 候选基因在不同生长发育时期笋中的表达量分析表明,有 6 个候选基因与对照相比呈现出不同程度的上调表达,表明 *PheAUX1/LAX* 候选基因广泛参与毛竹笋的生长发育。本研究将为进一步研究毛竹 *AUX1/LAX* 基因的功能和调控机制奠定理论基础。

关键词: *AUX1/LAX*; 毛竹; 基因表达; 生物信息学

中图分类号: S718.46

文献标志码: A

文章编号: 1001-7461(2022)01-0089-07

Identification and Expression Analysis of *AUX1/LAX* Gene Family in Moso Bamboo (*Phyllostachys edulis*)

YANG Le, ZHANG Kang, LI Long*

(College of Forestry, Northwest A&F University, Yangling 712100, Shaanxi, China)

Abstract: *AUX1/LAX* family members are the major auxin influx carriers, which are widely participated in plant growth and development. However, little information is available about the *AUX1/LAX* family in moso bamboo (*Phyllostachys edulis*). In this study, a total of 8 *AUX1/LAX* genes were identified in Moso bamboo genome. According to gene structure, conserved motif and phylogenetic relationships, the *PheAUX1/LAXs* were classified into two classes. The expression patterns of *AUX1/LAXs* based on transcriptome sequencing data indicated that four *AUX1/LAX* genes belonged to class I exhibited high expression levels in winter bamboo shoot. The *PH02Gene38722.t1-a* class II member showed high expression level in outward-rhizome. Expression analysis based on qRT-PCR indicated that six *AUX1/LAXs* showed high accumulation level during moso bamboo shoot growth, indicating the significant importance of *AUX1/LAXs* during moso bamboo shoot growth. Our study can provide a theoretical foundation and some experimental evidence for further functional verification of the *PheAUX1/LAX*.

Key words: *AUX1/LAX*; moso bamboo; gene expression; bioinformatics

生长素是植物中发现最早且最为重要的一类激素。生长素合成于幼嫩的组织中,通过 *AUX1/LUX*、*PIN* 等蛋白家族转移至各个不同的部位,在

植物的形态建成、细胞生长、根系发育调控以及抗逆胁迫中均发挥着重要的作用^[1-2]。其中,生长素输入载体在生长素浓度梯度的调控及维持中具有重要作

收稿日期:2021-01-20 修回日期:2021-04-28

基金项目:陕西省青年科学基金(2019JQ-402);中国博士后基金(2018M633594)。

第一作者:杨 乐。研究方向:林木遗传育种。E-mail: yanglenwafu@163.com

* 通信作者:李 龙,讲师。研究方向:林木遗传育种。E-mail: lilong1949@126.com

用^[2]。在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中发现共有4个生长素输入载体,包括AUX1(AUXIN)RESISTANT1)、LAX1(LIKE)AUXIN)RESISTANT1)、LAX2和LAX3^[3]。其中,AUX1是最早被发现的生长素输入载体,氨基酸序列分析表明,AUX1与通透酶具有较高的同源性,该蛋白可以高效、特异的介导生长素从质膜外进入细胞内^[4-5]。在拟南芥中,AUX1在根的表皮细胞、中柱细胞及初生韧皮部细胞的顶部中表达。*aux1*的突变会导致个体重力性丧失,外源施加NAA能恢复突变表型,而外施2,4-D并不能恢复突变表型^[6]。LAX1/2/3是高度保守的跨膜蛋白,广泛参与植物根的向地性、叶序发育、侧根形成等生物学过程。*aux1*和*lax1/2/3*的四突变体与野生型相比,叶序排列发生改变,并且胚根的发育极度混乱^[7]。

毛竹(*Phyllostachys edulis*)是植物界生长最快的植物,在分类学上属于禾本科、竹亚科、刚竹属,是东亚地区重要的林业资源之一。竹材可用于造纸、家具制作、建筑等领域,竹笋可用于食用,每年可产生1 840亿美元的林业产值^[8]。此外,毛竹根系发达,具有很强的固水能力,且具有很强的根鞭繁殖能力,因此毛竹在解决生态环境恶化、资源匮乏等方面具有不可替代的作用^[8]。在气候适宜的春季,毛竹单日最高生长高度可达1.5 m,在短短45~60 d便可完成高达15~20 m的秆型生长^[9-11],因此毛竹奇特的笋-竹生长模式一直是研究热点。

目前,在拟南芥、水稻(*Oryza sativa*)等模式植物中虽已有AUX1/LAX的相关报道,但在毛竹中关于AUX1/LAX的研究仍是一个空白,毛竹中共有多少个AUX1/LAX候选基因,他们是否参与毛竹笋的生长发育尚不明确。本研究利用毛竹基因组信息,结合AUX1/LAX候选基因特征,在全基因组水平对毛竹AUX1/LAX候选基因进行了鉴定,并对AUX1/LAX候选基因的数量、进化关系、基因结构和不同组织,特别是不同生长发育时期竹笋中的表达模式进行了分析,为将来进一步开展PheAUX1/LAX的功能和调控机制研究奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 毛竹AUX1/LAX候选基因鉴定

拟南芥以及水稻的AUX1/LAX蛋白序列分别下载于The Arabidopsis Information Resource (TAIR)数据库和Rice Genome Annotation Project数据库。毛竹的基因组数据下载于Gigadb Database^[12]。以拟南芥和水稻AUX1/LAX蛋白序列为

种子序列,阈值设置为e-7,在构建的毛竹本地数据库中进行BLASTP同源比对,所得序列为毛竹潜在AUX1/LAX基因家族成员,之后再通过Pfam数据库验证这些序列所包含的结构域,只有包含AUX1/LAX蛋白典型结构域的序列才被认为是毛竹AUX1/LAX候选基因家族成员^[13-14]。

1.2 系统进化树构建

利用ClustalW对AUX1/LAX氨基酸序列进行多序列比对分析,比对结果通过IQ-Tree构建系统进化树。执行参数为最大似然法,Bootstrap重复设置为1 000次,采用最适合建树模式(best fit tree model),经筛选发现JTT+R3为最适合建树模式^[15-16]。

1.3 基因结构和基序分析

利用在线软件MEME对毛竹Aux1/LAX蛋白保守基序进行分析,检索的最大motif数设置为6,其他参数选择默认参数^[17]。在毛竹基因组数据库下载GFF文件,将GFF文件输入TBTools分析候选Aux1/LAX的基因结构^[18]。

1.4 毛竹Aux1/LAX候选基因染色体定位和共线性分析

根据毛竹基因组GFF注释文件获取AUX/LAX候选基因家族成员的染色体位置信息;利用MCScanX软件计算并获取共线性区块及基因的串联重复信息^[19];利用Circos软件对毛竹AUX1/LAX候选基因的染色体位置信息、共线性关系进行可视化^[20]。

1.5 Aux1/LAX候选基因转录组表达数据分析

在NCBI下载毛竹不同生长茎秆的RNA-seq数据(GSE90517,PRJNA604634),包括1.5 cm和8 cm高的毛竹幼苗茎秆、冬笋(15 cm高)、春笋(1.5 m高)、竹鞭、跳鞭。从中提取PheAux1/LAX家族候选基因的FPKM值(Fragments Per Kilobase of transcript per Million fragments mapped)^[21],利用Morpheus进行热图绘制。

1.6 实时定量PCR

根据毛竹不同的发育阶段,选取7个不同高度的竹笋笋尖代表不同的竹笋生长发育时期,分别为冬笋,50、100、300、600、900、1 200 cm高的春笋,命名为S1,S2,S3,S4,S5,S6和S7。采集时间从2020年1月15日(冬笋)开始直至笋快速生长基本停止。取得的笋尖部分在剖去箨壳,液氮速冻后,置于-80℃冰箱中保存。利用TRizol法提取不同笋组织的mRNA,采用Prime Script™ RT Reagent Kit (TaKaRa,Japan)反转录试剂盒,将mRNA样品反转录成cDNA。参照SYBR® Green Realtime

PCR Master Mix (Roche, Mannheim, Germany) 试剂盒的说明书对基因在不同组织中的表达展开分析^[22]。具体反应体系为: Water, PCR-grade, 7. 2 μL ; Primer F, 0. 4 μL ; Primer R, 0. 4 μL ; SYBR Master Mix, 10 μL ; cDNA ($20\text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$), 2 μL 。PCR 程序设置为: 预热温度设置成 $95\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 min。扩增一共设置 45 个循环, 具体步骤为 $95\text{ }^{\circ}\text{C}$, 10 s; $55\text{ }^{\circ}\text{C}$, 10 s; $72\text{ }^{\circ}\text{C}$, 20 s。qRT-PCR 引物见表 1。

表 1 qRT-PCR 引物

Table 1 The primers used for qRT-PCR analysis

| 基因 ID | 正向引物 | 反向引物 |
|-------------------------|----------------------|----------------------|
| <i>PH02Gene05025.t1</i> | TTCGTCTGGGAGAAGCTCAT | TGTAGACGGTGAAGCTGACG |
| <i>PH02Gene14146.t1</i> | AAGACGGTGACTCCAACACC | TTTCTGGTCCGGTACTCCAC |
| <i>PH02Gene11253.t1</i> | GTCATCCAGTGGTTCGAGGT | GGACCAGATGCGGTAGTTGT |
| <i>PH02Gene17079.t1</i> | GTCATCCAGTGGTTCGAGGT | GGACCAGATGCGGTAGTTGT |
| <i>PH02Gene46624.t1</i> | CGTCAGCTTCACCGTCTACA | GCACTGGTAGCACTTGGTGA |
| <i>PH02Gene07716.t1</i> | CGTCAGCTTCACCGTCTACA | TGTCGATCTGCCTGATGAAG |
| <i>PH02Gene37523.t1</i> | GCATGAAGAGCTTCCTCTGG | CCATGAAGCCGTAGAAGAGC |
| <i>PH02Gene38772.t1</i> | CGTCAGCTTCACCGTCTACA | GAACGTGTCGATCTGCTTGA |
| <i>PH02Gene39512.t1</i> | TACATCTCGGCCTTCTTGCT | CAGACAAGTCGCCGTAGTGA |

2 结果与分析

2.1 毛竹 *AUX1/LAX* 候选基因的鉴定及理化特征

根据拟南芥和水稻 *AUX1/LAX* 的氨基酸序列在毛竹基因组数据库中进行 BLAST 搜索、筛选和验证,共鉴定到 8 个毛竹 *AUX1/LAX* 候选基因(表 2)。

在 *PheAUX1/LAX* 候选基因编码的蛋白质中,氨基酸的数目 476 ~ 534 个。分子量为 53 155. 22 ~ 59 132. 68 u,理论等电点变化范围为 8. 27~9. 08。亚细胞定位预测除 *PH02Gene05025.t1* 定位在细胞膜、液泡;*PH02Gene07716.t1* 定位在细胞膜、细胞核、内质网以外,其余 6 个 *PheAUX1/LAX* 候选成员均定位在细胞膜、液泡和内质网上。

表 2 *PheAUX1/LAX* 候选基因的理化性质

Table 2 Physicochemical properties of putative *PheAUX1/LAX* gene family

| 基因名 | 氨基酸数量/aa | 分子量/u | 等电点 | 亚细胞定位 |
|-------------------------|----------|------------|-------|-------------|
| <i>PH02Gene05025.t1</i> | 530 | 58 732. 24 | 8. 85 | 细胞膜、液泡 |
| <i>PH02Gene14146.t1</i> | 524 | 58 205. 49 | 8. 9 | 细胞膜、液泡、内质网 |
| <i>PH02Gene11253.t1</i> | 534 | 59 132. 68 | 8. 81 | 细胞膜、液泡、内质网 |
| <i>PH02Gene17079.t1</i> | 530 | 58 704. 23 | 8. 99 | 细胞膜、液泡、内质网 |
| <i>PH02Gene46624.t1</i> | 476 | 53 315. 35 | 8. 93 | 细胞膜、液泡、内质网 |
| <i>PH02Gene07716.t1</i> | 477 | 53 155. 22 | 8. 27 | 细胞膜、细胞核、内质网 |
| <i>PH02Gene37523.t1</i> | 514 | 57 360. 31 | 9. 08 | 细胞膜、液泡、内质网 |
| <i>PH02Gene38772.t1</i> | 498 | 55 206. 49 | 8. 71 | 细胞膜、液泡、内质网 |

2.2 *PheAUX1/LAX* 候选基因的系统进化及基因序列分析

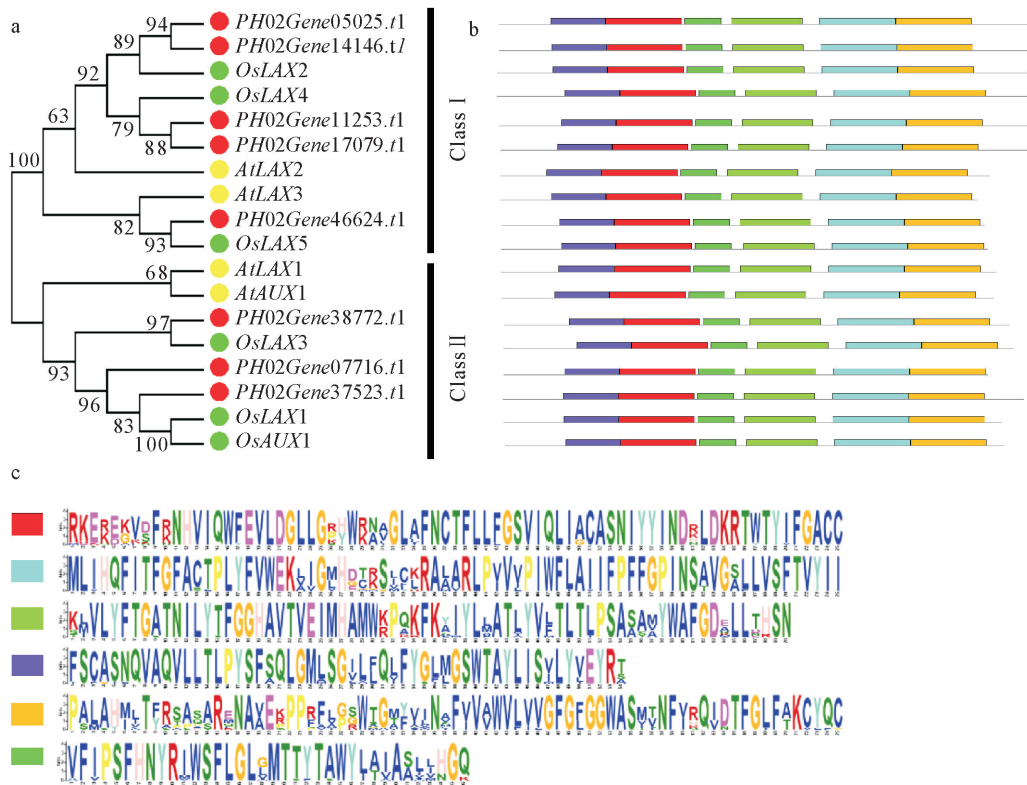
使用 IQ-Tree 软件对拟南芥、水稻和毛竹 *AUX1/LAX* 氨基酸序列构建系统进化树(图 1a)。根据系统发育树,*AUX1/LAX* 候选基因分为 2 个亚组:Class I 和 Class II。其中 Class I 包括 2 个拟南芥、3 个水稻、5 个候选毛竹成员;Class II 包括 2 个拟南芥、3 个水稻、3 个候选毛竹成员。

基序分析表明,候选 *AUX1/LAX* 的氨基酸序列在物种内和物种间均非常保守,通过 MEME 软件分析发现所有水稻、拟南芥、毛竹候选 *AUX1/LAX* 的成员均包含 6 个保守基序。基因结构分析表明,class I 的基因包含 6~7 个外显子,而 Class II

的基因包含 8~10 个外显子(图 2)。

2.3 毛竹 *AUX1/LAX* 候选基因的染色体定位和共线性分析

染色体定位发现,5、7、14、15、16、21 号染色体上分别有 1 个 *AUX1/LAX* 基因,13 号染色体上有 2 个 *AUX1/LAX* 候选基因。共线性分析发现,有 3 对 *AUX1/LAX* 候选基因位于共线性区段,对这 3 对基因所在的染色体进行共线性分析发现,3 对染色体均存在大量的共线性区域,表明毛竹进化史上的染色体复制事件(7 ~ 12 百万年前)在候选 *PheAUX1/LAX* 基因家族成员扩增中发挥着重要的作用(图 3)。



注:a. AUX1/LAX 候选基因家族成员的系统发育树;b. AUX1/LAX 候选基因家族成员的基序分析;c. 基序保守序列组成。

图1 毛竹 AUX1/LAX 候选基因的系统进化树和蛋白基序分析

Fig. 1 The phylogenetic tree and motif analysis of putative AUX1/LAX gene family in moso bamboo

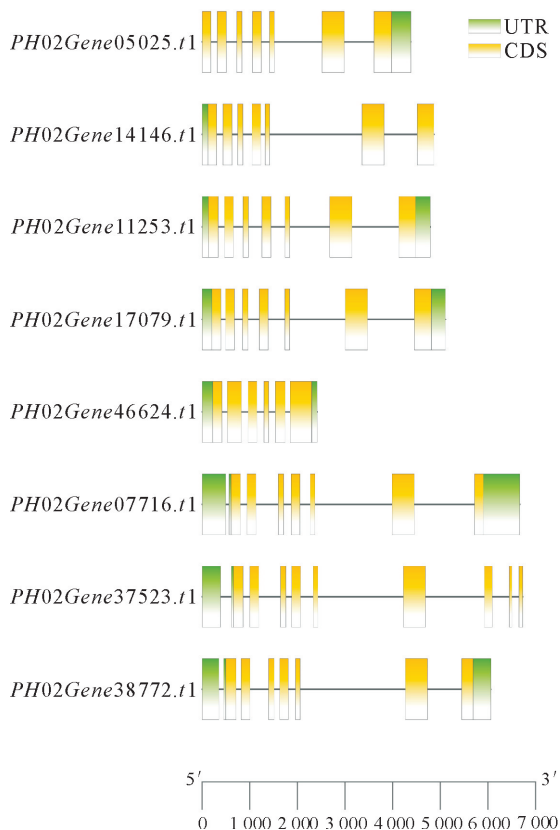


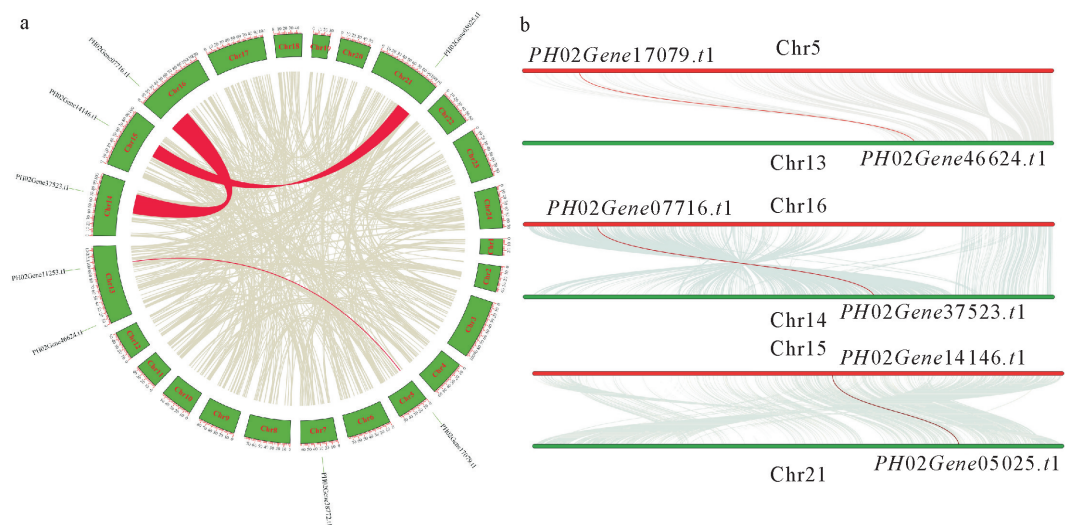
图2 PheAUX1/LAX 候选基因的基因结构

Fig. 2 The gene structure analysis of putative PheAUX1/LAX

2.4 PheAUX1/LAX 候选基因在不同组织中的表达模式

为了探讨 PheAUX1/LAX 候选基因在不同组织中的表达模式,基于先前发表的转录组数据对 8 个基因在 1.5 cm 高幼茎、8 cm 高幼茎、冬笋、春笋、跳鞭、竹鞭、鞭芽中的表达量进行了分析,发现毛竹 PheAUX1/LAX 候选基因在不同的组织或器官中的表达模式有明显的差异(图 4)。其中,4 个 PheAUX1/LAX 候选基因在冬笋中表达丰度最高,且这 4 个基因均属于 class I。PH02Gene46624. t1 在 1.5 cm 高幼茎中表达丰度最高,PH02Gene38772. t1 在跳鞭中表达丰度较高,而 PH02Gene37523. t1 和 PH02Gene07716. t1 在 7 个样品组织中均呈现出较低的表达丰度。

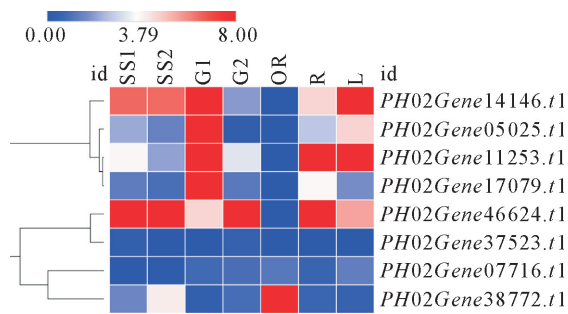
8 个 PheAUX1/LAX 候选基因中有 4 个在冬笋中表达丰度最高,表明 PheAUX1/LAX 在笋生长发育过程中发挥着重要作用,因此,通过 qRT-PCR 技术对 8 个 PheAUX1/LAX 候选基因在不同生长发育时期笋中的表达量进行分析(图 5),发现除了 PH02Gene07716. t1 和 PH02Gene37523. t1 以外的其余 6 个基因与成熟茎秆(CK)相比,在不同笋生长时期均呈现出不同程度的上调表达,而 PH02Gene07716. t1 和 PH02Gene37523. t1 均属



注:红色连线代表包含候选 *AUX1/LAX* 基因对的共线性区段;灰色代表所有鉴定到的共线性区段。a. 全基因组水平的共线性分析;b. 2 条染色体间的共线性分析。

图 3 毛竹 *AUX1/LAX* 候选基因染色体定位和共线性分析

Fig. 3 Gene location and co-linearity analysis of the putative *AUX1/LAX* gene family



注:SS1、SS2、G1、G2、OR、R、L 分别代表 1.5 cm 高幼茎、8 cm 高幼茎、冬笋、春笋、跳鞭、竹鞭、鞭芽。

图 4 *PheAUX1/LAX* 候选基因组织表达热图

Fig. 4 Putative *PheAUX1/LAX* gene expression profiles in different moso bamboo tissues

于 Class II 成员。*PH02Gene05025.t1*、*PH02Gene14146.t1*、*PH02Gene11253.t1* 和 *PH02Gene17079.t1* 随着笋高度增加呈现出逐渐降低的表达趋势。

3 结论与讨论

3.1 结论

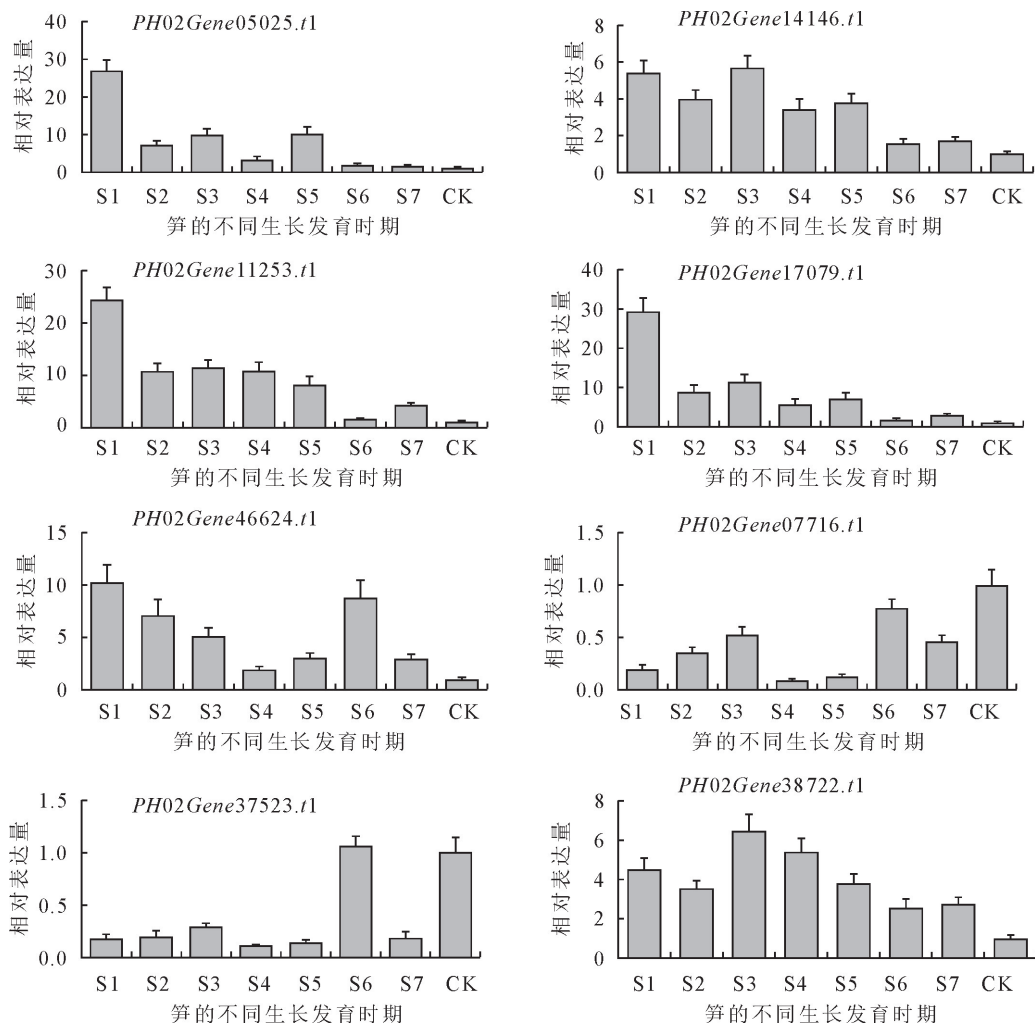
AUX1/LAX 基因作为生长素输入载体广泛参与植物生长的生长发育,而目前尚未有关于 *AUX1/LAX* 在毛竹中的研究报道。分析表明毛竹 *PheAUX1/LAX* 候选基因分为 Class I 和 Class II 2 个亚组,其中 class I 的候选基因包含 6~7 个外显子,而 Class II 的候选基因包含 8~10 个外显子。表达量分析表明多数 Class I 成员在毛竹冬笋中高丰度表达,而 Class II 中的 *PH02Gene38722.t* 在跳鞭中高丰度表达。通过 qRT-PCR 对 *AUX1/LAX* 候选基因在不同生长发育时期笋中的表达量分析表

明,有 6 个基因与对照相比呈现出不同程度的上调表达,表明 *PheAUX1/LAX* 候选基因广泛参与毛竹笋的生长发育。

3.2 讨论

对不同物种 *AUX1/LAX* 的数量统计发现,在拟南芥中共有 4 个 *AUX1/LAX* 成员^[23],在水稻中共有 6 个 *AUX1/LAX* 成员^[24],而在毛竹中共鉴定出 8 个 *AUX1/LAX* 候选成员,多于水稻和拟南芥中的数量。共线性分析发现,有 3 对 *AUX1/LAX* 候选基因位于共线性区段,对这 3 对基因所在的染色体进行共线性分析,发现每对染色体之间都有大量的共线性区域存在,表明毛竹进化史上的染色体复制事件(7~12 mya)在 *PheAUX1/LAX* 候选基因家族成员扩增中发挥着重要的作用。

在毛竹笋生长发育过程中,有 6 个 *AUX/LAX* 候选基因在所有的 7 个生长发育时期呈现出不同程度的上调表达。有研究表明,*AtAUX1* 主要在拟南芥根尖和侧根根冠原生木质部中表达并在生长素运输中发挥着重要功能^[23]; *AtLAX3* 能增强细胞壁重塑酶活性,从而增强根原基细胞的分裂和分化能力^[25];杨树 *PtAUX1* 基因的超表达会改变植株再生芽分生组织中 IAA 的流向并影响植株对光照的敏感性^[26-27];将樱桃 *PaLAX1* 转入拟南芥和水稻发现过表达株系中内源 IAA 的含量增加^[28]。而在本研究中,Class I 基因中的 *PH02Gene14146.t1*、*PH02Gene05025.t1*、*PH02Gene11253.t1*、*PH02Gene17079.t1* 在毛竹冬笋中的表达量是最高。qRT-PCR 分析发现,8 个 *AUX1/LAX* 候选基因中的 6 个在毛竹快速生长过程中呈现不同程度的上调



注:横坐标代表笋的不同生长发育时期。S1~S7 分别代表冬笋、50、100、300、600、900、1 200 cm 高的笋。成熟的茎秆作为 CK。冬笋纵坐标表与 CK 相比的相对表达量。

图 5 *PheAUX1/LAX* 候选基因在不同笋生长发育时期中的表达模式分析

Fig. 5 Expression analysis of putative *PheAUX1/LAX* in different growth stages of moso bamboo shoot

表达,并多数随着笋的生长发育呈现出逐渐降低的表达趋势。之前的研究表明,笋组织的细胞分裂和细胞伸长生长共同促进了笋的快速生长,其中在快速生长前期以细胞分裂为主,后期以细胞伸长生长为主^[29]。而 *AUX1/LAX* 候选基因在冬笋期和快速生长前期的高丰度表达,表明这些基因在竹笋分生组织中通过增强细胞壁重塑酶活性,从而增强笋分生组织细胞的分化和分裂能力。本研究将为毛竹 *AUX1/LAX* 基因家族各基因的具体功能研究提供一定的理论依据和数据支撑。

参考文献:

- [1] 倪为民,陈晓亚,许智宏,等.生长素极性运输研究进展[J].植物学报,2000,42(3):221-228.
NI W M, CHEN X Y, XU Z H, *et al.* Advances in study of polar auxin transport[J]. Acta Botanica Sinica, 2000, 42(3): 221-228. (in Chinese)
- [2] KEPINSKI S, LEYSER O. Plant development: auxin in loops [J]. Current Biology, 2005, 15(3): 208-210.
- [3] UGARTECHEA Y, SWARUP R, SWARUP P K, *et al.* The *AUX1/LAX* family of auxin influx carriers is required for the establishment of embryonic root cell organization in *Arabidopsis thaliana* [J]. Annals of Botany, 2010, 105: 277-289.
- [4] DING Y H, LIU N Y, TANG Z S, *et al.* *Arabidopsis* GLUTAMINE-RICH PROTEIN 23 is essential for early embryogenesis and encodes a novel nuclear PP motif protein that interacts with RNA polymerase II subunit III [J]. Plant Cell, 2006, 18: 815-830.
- [5] BENNETT M J, MARCHANT A, GREEN H G, *et al.* *Arabidopsis* *AUX1* gene: a permease-like regulator of root gravitropism [J]. Science, 1996, 273: 948-950.
- [6] CASIMIRO I, MARCHANT A, BHALERAO R P, *et al.* Auxin transport promotes *Arabidopsis* lateral root initiation [J]. Plant Cell, 2001, 13: 843-852.
- [7] UGARTECHEA-CHIRINOC Y, SWARUP R, SWARUP K, *et al.* The *AUX1/LAX* family of auxin influx carriers is required for the establishment of embryonic root cell organization in *Arabidopsis thaliana* [J]. Ann. Bot., 2010, 105: 277-289.

- [8] PENG Z, ZHANG C L, ZHANG Y, *et al.* Transcriptome sequencing and analysis of the fast growing shoots of moso bamboo (*Phyllostachys edulis*) [J]. PLoS One, 2013, 8: 78944.
- [9] LIN J X, HE X Q, HU Y X, *et al.* Lignification and lignin heterogeneity for various age classes of bamboo (*Phyllostachys pubescens*) stems [J]. Physiologia Plantarum, 2002, 114: 296-302.
- [10] LIN X C, CHOW T Y, CHEN H H, *et al.* Understanding bamboo flowering based on large-scale analysis of expressed sequence tags [J]. Genetics and Molecular Research, 2010, 9: 1085-1093.
- [11] 俞欣妍, 刘健, 余坤勇, 等. 叶片—冠层尺度的毛竹林分光谱特征 [J]. 西北林学院学报, 2017, 32(3): 7-13.
YU X Y, LIU J, YU K Y, *et al.* Pectral scale differences between leaf and canopy of spectral characteristics of *Phyllostachys edulis* forest [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2017, 32(3): 7-13. (in Chinese)
- [12] ZHAO H S, GAO Z H, WANG L, *et al.* Chromosome-level reference genome and alternative splicing atlas of moso bamboo (*Phyllostachys edulis*) [J]. Giga Science, 2018, 7: 1-12.
- [13] EDDY S R. Profile hidden Markov models [J]. Bioinformatics, 1998, 14(9): 755-763.
- [14] THOMPSON J D, GIBSON T J, PLEWNIK F, *et al.* The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools [J]. Nucleic Acids Research, 1997, 25: 4876-4882.
- [15] PRICE M N, DEHAL P S, ARKIN A P. FastTree: computing large minimum evolution trees with profiles instead of a distance matrix [J]. Molecular Biology and Evolution, 2009, 26(7): 1641-1650.
- [16] NGUYEN L T, SCHMIDT H A, HAESELER A, *et al.* IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies [J]. Molecular Biology and Evolution, 2014, 32(1): 268-274.
- [17] BAILEY T L, WILLIAMS N, MISLEH C, *et al.* MEME: discovering and analyzing DNA and protein sequence motifs [J]. Nucleic Acids Research, 2006, 34: 369-373.
- [18] 郭安源, 朱其慧, 陈新, 等. GSDS: 基因结构显示系统 [J]. 遗传, 2007, 29(8): 1023-1026.
GUO A Y, ZHU Q H, CHEN X, *et al.* GSDS: a gene structure display server [J]. Hereditas: Beijing, 2007, 29(8): 1023-1026. (in Chinese)
- [19] WANG Y P, TANG H D, DEBARRY J D, *et al.* MCSanX: a toolkit for detection and evolutionary analysis of gene synteny and collinearity [J]. Nucleic Acids Research, 2012, 40: 49.
- [20] KRZYWINSKI M, SCHEIN J, BIROL I, *et al.* Circos: an information aesthetic for comparative genomics [J]. Genome Research, 2009, 19: 1639-1645.
- [21] TRAPNELL C, WILLIAMS B A, PERTEA G, *et al.* Transcript assembly and quantification by RNA-Seq reveals unannotated transcripts and isoform switching during cell differentiation [J]. Nature Biotechnology, 2001, 28(5): 511-515.
- [22] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2⁻(Delta Delta C(T)) Method [J]. Methods, 2001, 25(4): 402-408.
- [23] GIEHL R F H, JONI E L, NICOLAUS V W. Localized iron supply triggers lateral root elongation in *Arabidopsis* by altering the AUX1-mediated auxin distribution [J]. Plant Cell, 2012, 24(1): 33-49.
- [24] YU C L, SUN C D, SHEN C, *et al.* The auxin transporter, OsAUX1, is involved in primary root and root hair elongation and in Cd stress responses in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. The Plant Journal, 2015, 83(5): 818-830.
- [25] SWARUP K, BENKOVÁ E, SWARUP R, *et al.* The auxin influx carrier LAX3 promotes lateral root emergence [J]. Nature Cell Biology, 2008, 10: 946-954.
- [26] 于淑惠, 左曼曼, 闫辉. 毛白杨 PtAUX1 超表达对光照反应的影响 [J]. 北方园艺, 2012(13): 122-124.
- [27] 李素, 陈芳, 殷缘, 等. 山新杨 PdPapGH12 基因克隆及其响应胁迫的组织表达 [J]. 森林工程, 2021, 37(4): 11-21.
LI S, CHEN F, YIN Y, *et al.* Cloning of PdPapGH12 gene of Shanxin poplar (*Populus davidiana* × *P. alba* var. *pyramidalis*) and its tissue expression in response to stress [J]. Forest Engineering, 2021, 37(4): 11-21. (in Chinese)
- [28] KLARA H, LUCIE P, PAUL H. Functional characterization of PaLAX1, a putative auxin permease, in heterologous plant systems [J]. Plant Physiology, 2008, 146(3): 1128-1141.
- [29] LI L, CHENG Z C, MA Y J, *et al.* The association of hormone signaling, transcription and anatomy during shoot growth in moso bamboo [J]. Plant Biotechnology Journal, 2018, 16(1): 72-85.