

植物激素信号通路参与调控黄花菜花蕾大小的作用机制

马晓云, 冯梦楠, 王强, 李钰, 曹冬梅*

山西农业大学 园艺学院, 山西 太原 030031

马晓云, 冯梦楠, 王强, 李钰, 曹冬梅. 植物激素信号通路参与调控黄花菜花蕾大小的作用机制[J]. 生物工程学报, 2024, 40(10): 3629-3648.

MA Xiaoyun, FENG Mengnan, WANG Qiang, LI Yu, CAO Dongmei. Plant hormone signaling is involved in regulating flower bud size of daylily[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2024, 40(10): 3629-3648.

摘要: 为了探讨植物激素在调控黄花菜花蕾大小发育过程中的作用及代谢差异, 采集了‘大同黄花’和‘东北黄花’幼蕾期、绿期、转黄期、黄期共 4 个时期的花蕾, 开展了转录组测序、差异表达基因分析和喷施激素验证分析。结果表明, 在‘大同黄花’和‘东北黄花’花蕾不同发育时期中, 共筛选出 199 个植物激素生物合成代谢相关的差异表达基因, 分别调控脱落酸、赤霉素、生长素、茉莉酸、细胞分裂素和乙烯这 6 种植物激素的合成代谢, 其中生长素差异表达基因数量最多, 表明生长素可能在调控花蕾发育中具有重要的作用。生长素响应因子(auxin response factor, *ARF*)在花蕾发育的 4 个时期均处于上调状态, 说明 *ARF* 在黄花菜花蕾发育的整个阶段都起到正向调控作用; 通过外源喷施 6 种激素, 进一步验证了吲哚-3-乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)显著促进‘大同黄花’花蕾的生长和营养成分的提高, 因此推测 IAA 对调控花蕾发育具有重要的作用。研究结果为进一步研究‘大同黄花’与‘东北黄花’花蕾发育的调控机制奠定了理论基础。

关键词: 花蕾; 转录组测序; 植物激素; 差异表达基因

资助项目: 山西省科技合作交流专项项目(202204041101050); 国家重点研发计划子课题资助项目(2021YFD1600301-9); 山西省农作物种质资源保护资助项目(sxzyk202308)

This work was supported by the Science and Technology Cooperation and Exchange Program of Shanxi Province (202204041101050), the Sub-project of National Key Research and Development Program of China (2021YFD1600301-9), and the Funding Project of Crop Germplasm Resources Protection in Shanxi Province (sxzyk202308).

*Corresponding author. E-mail: caodm787@163.com

Received: 2024-01-25; Accepted: 2024-04-24; Published online: 2024-04-28

Plant hormone signaling is involved in regulating flower bud size of daylily

MA Xiaoyun, FENG Mengnan, WANG Qiang, LI Yu, CAO Dongmei*

College of Horticulture, Shanxi Agricultural University, Taiyuan 030031, Shanxi, China

Abstract: To explore the role and metabolic differences of plant hormones in regulating the flower bud size of daylily, we collected the flower buds from two daylily varieties ‘Datong Huanghua’ and ‘Dongbei Huanghua’ at the young bud, green, yellowing, and yellow stages for transcriptome sequencing. The differentially expressed genes (DEGs) were screened, and the exogenous plant hormone spraying experiments were conducted. A total of 199 DEGs related to the biosynthesis and metabolism of plant hormones was screened out at different flower development stages of ‘Datong Huanghua’ and ‘Dongbei Huanghua’. These genes regulated the biosynthesis and metabolism of six plant hormones: abscisic acid, gibberellin, auxin, jasmonate, cytokinin, and ethylene. The DEGs associated with auxin were the most, which suggested that auxin played a role in regulating flower bud development. The auxin response factor (*ARF*) presented up-regulated expression at all the four stages of flower bud development, indicating that *ARF* played a positive regulatory role throughout the flower bud development of daylily. The experiments with exogenous spraying of six hormones further verified that indole-3-acetic acid (IAA) significantly promoted the growth and increased the nutrient content in the flower buds of ‘Datong Huanghua’, suggesting that IAA played a role in regulating flower bud development. Our results laid a theoretical foundation for probing into the regulatory mechanism of flower bud development of ‘Datong Huanghua’ and ‘Dongbei Huanghua’.

Keywords: flower bud; transcriptome sequencing; plant hormone; differentially expressed genes

黄花菜(*emerocallis citrina*)属于阿福花科(Asphodelaceae)萱草属(*emerocallis* L.)^[1],又名忘忧草、柠檬萱草等。因其花蕾细长、形状如针,所以又叫金针菜。黄花菜兼具观赏、营养和药用价值,在我国作为食品和药品已有几千年的历史^[2]。我国黄花菜种质资源丰富、产地较多,野生种、农家种更是数不胜数,黄花菜的营养价值和药用价值很大程度上取决于花蕾^[3],而花蕾大小也是影响黄花菜产量的重要因素^[4],因此,研究黄花菜花蕾发育调控机理具有重要的现实意义。

细胞大小是植物形态的重要特征之一,

19世纪施莱登和施旺的“细胞学说”理论认为,细胞分裂和细胞伸长可以决定生物体组织的生长发育,在器官分化和形态建成中具有重要作用^[5]。在部分植物器官(如叶和花瓣器官)的形成过程中,细胞增殖和细胞生长发生在器官形成的早期阶段,随着细胞生长和细胞增殖的发生并伴随着分化,发育器官达到其最终的特征大小和形状。植物发育的调控过程受不同植物激素的调节^[6],且植物激素在植物生长发育的不同阶段发挥不同的作用^[7],前人研究发现花瓣生长过程中激素反应和细胞大小的改变,导致拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)形成大小和形状各异的

器官^[8]。有研究发现细胞器在功能上与其他信号通路相互作用,如钙信号、蛋白激酶信号、植物激素信号通路等^[9]。目前转录组测序已被广泛用于研究穿心莲 [*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees]^[10]、燕麦 (*Oats.*)^[11]、马铃薯 (*Solanum tuberosum* L.)^[12]等植物激素合成代谢的分子机制。

不同黄花菜品种的花蕾大小差异显著,为探究植物激素对黄花菜花蕾大小的调控机制,本文以花蕾大小差异明显的‘大同黄花’和‘东北黄花’为研究材料,通过对二者花蕾的表型分析、营养成分分析以及转录组分析,筛选与植物激素生物合成代谢相关的差异表达基因^[13],并分析这些基因在‘大同黄花’和‘东北黄花’花蕾不同发育阶段的差异表达^[14],结合外源喷施激素对大同黄花花蕾生长和营养成分的影响,以期验证激素代谢在黄花菜花蕾发育中的作用机制,为黄花菜发育的分子遗传机制研究提供参考,为创制高产优质黄花菜的栽培技术提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

‘大同黄花’(简称 DT)和‘东北黄花’(简称 DB)均种植于山西农业大学园艺研究所黄花菜资源圃内,对植株生长健壮、无病虫害、4 年生的黄花菜花蕾进行取材,花蕾分幼蕾期(DT 和 DB 现蕾 1–2 d)、绿期(DT 现蕾 7–8 d、DB 现蕾 5–6 d)、转黄期(DT 现蕾 14–15 d、DB 现蕾 9–10 d)、黄期(DT 现蕾 20–21 d、DB 现蕾 14–15 d)这 4 个具有显著特征的发育阶段(图 1),同一品种同一时期 3 个花蕾混合取样,重复 3 次。取样后迅速放入液氮中保存备用。

1.2 方 法

1.2.1 DT 与 DB 花蕾生长速度及营养成分的测定
于 2023 年 6 月 29 日始,每日上午 10:00 前

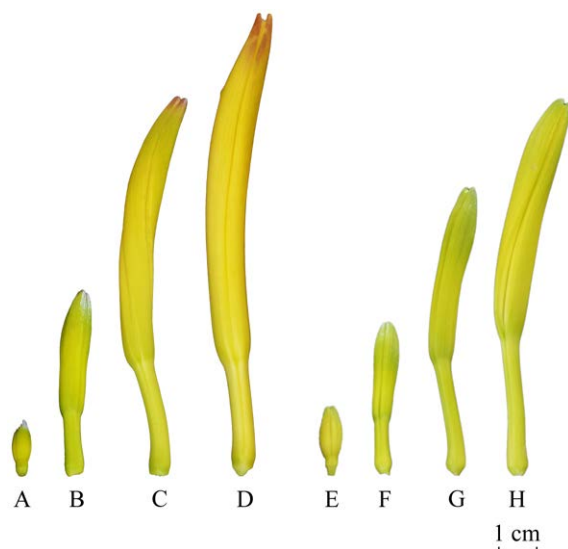


图 1 DT 和 DB 4 个发育阶段的花蕾 A、B、C、D 为 DT 花蕾的幼蕾期、绿期、转黄期、黄期; E、F、G、H 为 DB 花蕾的幼蕾期、绿期、转黄期、黄期
Figure 1 Flower buds from four developmental stages of Datong and Dongbei Huanghua. A, B, C and D are the young bud phase, green phase, yellowing phase and yellow phase of Datong Huanghua bud, respectively. E, F, G, and H are the young bud phase, green phase, yellowing phase, and yellow stage of Dongbei Huanghua bud, respectively.

选取现蕾初期长势一致的 DT 和 DB 的幼蕾,用直尺直接测量蕾长,一直测到开花为止,每次取 10 个花蕾进行测定并拍照记录;蛋白质含量测定采用考马斯亮蓝法^[15],将蛋白质提取液与考马斯亮蓝 G-250 试剂充分混匀后于分光光度计波长 595 nm 下检测吸光度,利用公式 ($y=0.0049x+2.372$) ($R^2=0.9986$) 计算蛋白质含量;还原糖含量测定采用 3,5-二硝基水杨酸比色法^[16];可溶性糖含量测定采用蒽酮比色法^[17]。

1.2.2 转录组测序

利用信使 RNA 3'端 polyA 结构及相关分子生物学技术,对本研究 24 份黄花菜花蕾样本完整 total RNA 进行 mRNA 分离、片段化、双链 cDNA 合成、cDNA 片段化修饰、磁珠纯化及片段化分

选、文库扩增等处理^[18]。经过检测和质控后，最终获得能够适用于 Illumina 平台的测序文库。

测序的原始数据通过 FastQC 0.11.2 进行质量评估。通过 Trimmomatic 0.36 进行质量拼接，得到相对准确的有效数据。使用 Trinity 2.4.0 将样本有效数据进行混合拼接，统计拼接所得转录本的各项信息后，使用 NCBI Blast⁺将拼接后的转录本与 CDD、KOG、COG、NR、NT、PFAM 等多个数据库进行比对，得到其功能注释信息。利用 KAAS 2.1 得到转录本 KEGG 注释信息。使用 Salmon 0.8.2 计算基因的表达量，并使用 DESeq2 1.12.4 进行基因表达差异分析，以 $Q\text{-value} \leq 0.05$ 且差异倍数 $|\text{fold change}| \geq 2$ 为标准进行差异基因的筛选，对表达差异分析结果进行可视化分析，基于差异分析结果，绘制韦恩图、热图，并进行聚类分析。使用 topGO 2.24.0 进行 GO 富集分析，使用 clusterProfiler 3.0.5 进行 KEGG 通路和 KOG 分类富集分析。

1.2.3 ‘大同黄花’和‘东北黄花’不同时期实时荧光定量 PCR 分析

根据 DT 和 DB 转录组测序结果，选取 8 个生长素相关差异表达基因片段进行实时荧光定量 PCR (real time quantitative PCR, RT-qPCR)，以 *ACT* (*Actin*) 为内参基因，对这 8 个基因的表

达量进行定量分析。RT-qPCR 由生工生物工程(上海)股份有限公司操作完成。引物序列见表 1。

1.2.4 喷施不同激素后花蕾生长及营养成分的测定

以 DT 为实验材料，研究喷施激素后花蕾生长情况及蛋白质、还原糖、可溶性糖、淀粉含量的变化。在花葶抽生前(2023 年 6 月 13 日)，参考前人经验，选用脱落酸(abscisic acid, ABA)^[19]、生长素(auxin, IAA)、赤霉素(gibberellin, GA₃)、细胞分裂素(cytokinins, CTK)^[20]、茉莉酸(jasmonic acid, JA)和乙烯(ethylene, ET)这 6 种激素，以预试验时每株喷施 400 mL 溶液时叶片湿润并且叶尖刚有液体下滴为参考，不同激素以及纯净水的喷施量均为 400 mL。分别称取一定的质量的脱落酸(ABA)、3-吲哚乙酸(3-Indoleacetic acid, IAA)、赤霉素(GA₃)、6-苄氨基嘌呤[N-(phenylmethyl)-9H-purin-6-amine, 6-BA]、茉莉酸甲酯(methyl jasmonate, MeJA)、乙烯利(ethrel, ETH)，配制为适宜浓度(表 2)，对 DT 植株进行喷施处理，以纯净水为对照(CK)，处理当日早上 10:00 前喷施，每隔 3 d 处理 1 次，共处理 5 次。于现蕾期起记录其生长速度，花蕾成熟后用于蛋白质、还原糖、可溶性糖及淀粉含量的分析，每个处理设 3 个重复。

表 1 用于 RT-qPCR 的引物序列

Table 1 Primers used for RT-qPCR

Gene ID	Forward primer (5'→3')	Reverse primer (5'→3')
ACT	GAGCAAGGAAATCACGGCACT	GGAACCTCCAATCCAAACACTGTAC
TRINITY_DN44645_c0_g1	GGGAATAGAAAAGAAGAAAAGCA	TGACTGCAAGCAAATCAAGC
TRINITY_DN38959_c0_g1	AATGAGAGGATCAGAGCGA	TTCAACAGAAATGGCAAACA
TRINITY_DN56407_c0_g2	GAGTTGAGGCTTGGCATCTC	AGGAGGAGCAAACCACCTTT
TRINITY_DN45987_c0_g1	TCTCAATTCTGAACCCTCAACA	CTGATTATGGCAGAGGGCAT
TRINITY_DN53396_c0_g3	GTGTCGGTTTGGGTGAGTTT	TTGTCCTAATCTCCCTCTCCC
TRINITY_DN60535_c1_g3	AGCTGGAGCGTCTGTTTGTAT	AACATTGCAAAACTCCCTGC
TRINITY_DN61713_c3_g2	CCATTTCTTGTATTTCATTTCGTC	TAGAGTTTGTGGGAAACGGG
TRINITY_DN50168_c1_g1	CTTTTTGTTCCCCCTTCTCC	GCTCTCCCTCTCCCTCTCTC

2 结果与分析

2.1 DT 与 DB 花蕾的表型性状及营养成分分析

从花蕾外形上看(图 1), 成熟期 DT 花蕾与 DB 相比色泽较黄, 且 DT 单花蕾明显大于 DB, 单蕾长是 DB 的 1.2 倍左右(图 2)。从发育过程来看, 发育前期(7 月 5 日前)花蕾生长速度基本一致, 之后 DB 单花蕾的生长速度要快于 DT (图 2A), 但由于 DB 单花蕾生长周期较短, 只

表 2 激素喷施浓度梯度表

Table 2 Table of hormone spraying concentration gradients

Hormone concentration	T1	T2	T3
ABA (mg/L)	50	100	150
GA ₃ (mg/L)	100	200	300
IAA (mg/L)	50	100	150
MeJA (μmol/L)	100	300	500
6-BA (mg/L)	100	150	200
ETH (mg/L)	200	400	800

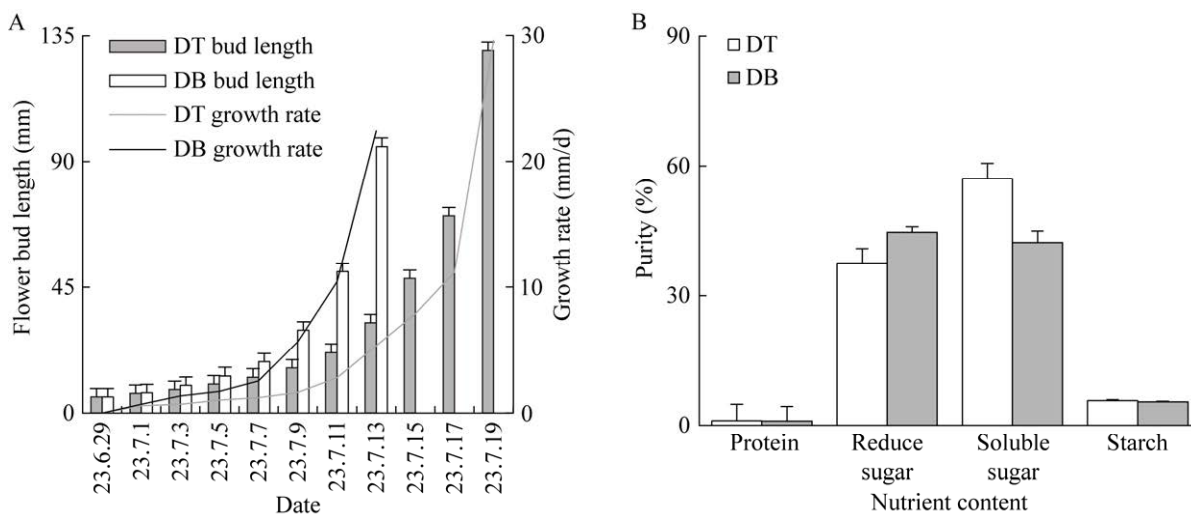


图 2 DT 和 DB 花蕾表型及营养成分分析 A: DT 与 DB 花蕾生长情况. B: DT 与 DB 花蕾蛋白质、还原糖、可溶性糖、淀粉含量

Figure 2 DT and DB flower bud phenotype and nutrient composition analysis. A: Bud growth of DT and DB. B: Contents of protein, reducing sugar, soluble sugar and starch in DT and DB flower buds.

有 15 d, DT 单花蕾的生长周期为 21 d, 是 DB 的 1.4–1.5 倍, 最终 DB 花蕾长度显著低于 DT 花蕾。

对两种黄花菜黄期花蕾中蛋白质、还原糖、可溶性糖和淀粉含量进行测定, 结果如图 2B 所示, 两种黄花菜花蕾具有相似的含量变化, 可溶性糖、还原糖含量较高, 淀粉及蛋白质含量较低, 蛋白质含量尤其低; 其中 DT 花蕾的可溶性糖含量比 DB 高 14.81%, 而 DT 花蕾的还原糖含量比 DB 的低 7.16%, DT 花蕾蛋白质和淀粉含量均略高于 DB (图 2B)。

2.2 转录组测序数据分析

对 DT 和 DB 花蕾 4 个不同发育阶段总计 24 份样本进行总 RNA 提取, 经检测, 样品总 RNA 质量均达到建库要求。转录组测序共获得 101.86 Gb 原始数据, 各样本 Q30 值达到 92% 以上, G+C 含量 \geq 46%, 说明测序结果准确度较好, 可用于后续分析, 筛选重复样本中原始数据长度最大的汇总为表 3。

使用 1.2.2 中的方法对样本有效数据进行拼接, 拼接后共有 250 742 个 unigene, unigene 碱基总数为 140 824 715 nt, 平均长度为 561.63 nt, N50 为 738, 转录本 N50/N90 的拼接长度从大到小排序, 累计到拼接转录本的长度不小于总长度的 50%/90%, 表明序列拼接结果具有较高的完整性和良好的拼接质量(表 4)。

将拼接后的 unigene 与 KEGG 数据库

(<http://www.kegg.jp>)、KOG 数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/COG/>)、GO 数据库(<http://www.geneontology.org>)、NR 数据库(<http://ncbi.nlm.nih.gov/>)进行比较, 获得功能注释。其中, 14 293 个 unigene 在 KEGG 数据库中进行了注释, 22 103 个 unigene 在 KOG 数据库中进行了注释, 28 921 个 unigene 在 GO 数据库中进行了注释, 75 976 个 unigene 在 NR 数据库中进行了注释(图 3)。

表 3 各样本转录组序列汇总

Table 3 Summary of transcriptome sequences of samples

Samples	Sequencing samples	Total reads (bp)	Clean reads (bp)	Average read length (bp)	Q30 (%)	G+C bases ratio (%)
DT-1	A	46 741 514	46 317 150	143.33	92.72	47.28
DT-2	B	52 626 008	52 462 550	139.06	93.19	47.16
DT-3	C	51 420 096	51 189 538	140.21	92.82	47.54
DT-4	D	46 280 892	45 852 988	141.50	92.38	46.97
DB-1	E	49 593 366	49 409 032	142.16	92.31	47.33
DB-2	F	45 938 584	45 796 028	140.63	93.07	47.16
DB-3	G	53 172 892	46 774 208	142.31	92.78	48.47
DB-4	H	39 689 346	39 525 636	142.83	92.64	47.01

表 4 拼接结果统计

Table 4 Statistics of splicing results

	No.	≥500 bp	≥1 000 bp	N50	N90	Max length (nt)	Min length (nt)	Total length (nt)	Average length (nt)
Transcript	614 948	244 441	102 237	867	275	14 800	201	384 947 244	625.98
Unigene	250 742	84 381	32 140	738	253	14 800	201	140 824 715	561.63

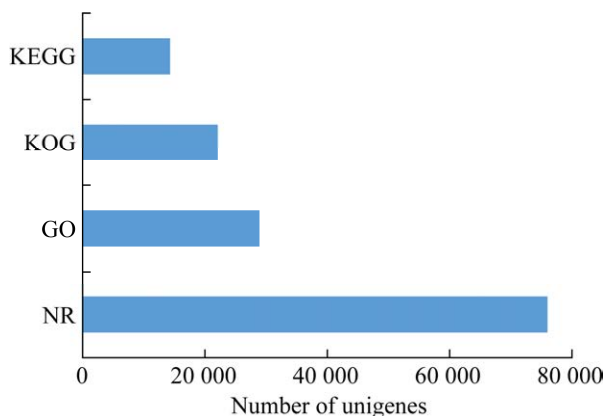


图 3 基因注释比率统计

Figure 3 Gene annotation ratio statistics.

2.3 花蕾发育过程中差异表达基因分析

根据花朵开放的先后顺序, 对 4 个不同开花时期的 DT 和 DB 花蕾转录水平进行两两比对, 4 个比较组中共获得了 26 974 个差异表达基因。在幼蕾期共检测到 11 399 个差异表达基因; 在绿期检测到的差异表达基因数量最少, 仅有 8 364 个; 而在转黄期检测到的差异表达基因数量则最多, 为 14 522 个, 其中 7 719 个差异表达基因上调表达, 6 803 个下调表达; 最后在黄期检测到的差异表达基因数量次之, 为 11 834 个(图 4A)。绘制 Venn 图来体现不同时期

差异表达基因之间的关系, 有 1 843 个差异基因在 4 个时期均表达, 有 3 769 个差异表达基因在幼蕾期特异表达, 绿期有 1 938 个特异表达, 转黄期有 4 839 个特异表达, 黄期有 4 531 个特异表达。相邻时期之间, 幼蕾期与绿期的共有差异表达基因数最少, 仅有 813 个, 说明这两个时期差异性较大, 特异性较强; 转黄期与黄期共有差异表达基因数最多, 有 1 967 个, 说明这两个时期表现出更相似的差异基因积累(图 4B)。通过 4 个比较组的差异表达基因的上下调水平的动态变化发现, 转黄期和黄期的差异表达基因数较多, 转黄期与细胞分裂相关基因最多, 有 294 个, 与激素相关基因次之, 有 52 个; 黄期与其相反, 黄期与激素相关基因最多, 有 710 个, 细胞分裂相关基因次之, 有 273 个, 推测激素与细胞分裂相关基因对 DT 与 DB 开花过程中的黄期和转黄期花蕾差异发挥主要作用, 而细胞分裂相关基因主要于转黄期发挥关

键作用, 激素相关基因主要在黄期起关键作用。黄期的下调基因明显高于上调基因, 故 DT 最终蕾长明显大于 DB 可能是某些限制或抑制与花蕾增大相关基因的表达量降低导致的; 转黄期上调基因数比下调基因数多 916 个, 上调的基因可能参与抑制细胞分裂、细胞扩张、营养物质代谢和激素信号转导等过程, 花蕾的细胞数量增多和细胞扩张, 进而促进花蕾的增大, 从而对 DT 花蕾发育产生正面影响。DT 与 DB 花蕾发育的转黄期、黄期差异表达基因数量较多, 可能是花蕾发育过程中花蕾大小差异比较关键的阶段, 这两个阶段的差异表达基因可能在花蕾发育大小的调控机制中具有重要的作用。

2.4 差异表达基因的富集分析

对 4 个比较组中的 26 974 个差异表达基因进行 GO 功能注释, 3 个一级分类单位包含 66 个二级分类功能组。生物学进程中所包含的二级分类单位数量最多, 有 26 个, 差异表达基因主

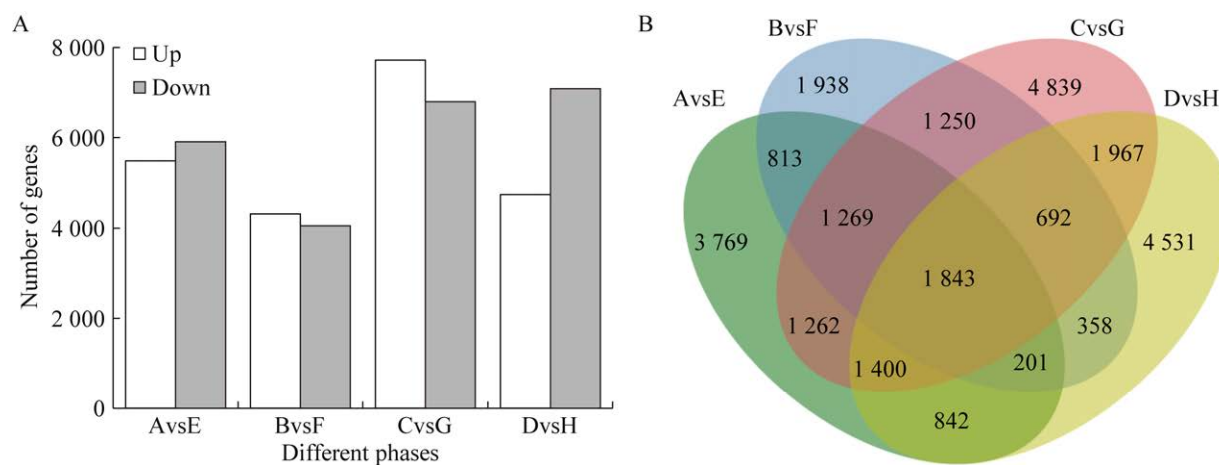


图 4 花蕾不同阶段差异表达基因情况 A: 花蕾发育过程中不同阶段的差异表达基因数量. B: 不同时期差异表达基因 Venn 图. AvsE: DT 和 DB 幼蕾期; BvsF: DT 和 DB 绿期; CvsG: DT 和 DB 转黄期; DvsH: DT 和 DB 黄期

Figure 4 Differentially expressed genes at different stages of flower buds. A: Number of differentially expressed genes at different stages of flower bud development. B: Venn diagram of differentially expressed genes in different periods. AvsE: DT and DB at young bud phase; BvsF: DT and DB green phase; CvsG: DT and DB yellowing phase; DvsH: DT and DB yellow phase.

要集中在细胞进程(cellular process)、代谢进程(metabolic process)、应激反应(response to stimulus)等二级分类单位中;其次为细胞组分,该分类单位主要集中在细胞(cell)、细胞部分(cell part)、细胞器(organelle)等二级分类单位中;而分子功能所含的二级分类单位则最少,且主要集中在

催化活性(catalytic activity)、结合(binding)、转运活性(transporter activity)等分类单位中。GO功能分类结果表明DT与DB花蕾差异表达基因的表达主要与细胞、细胞进程、代谢进程等相关联(图5)。26 974个差异表达基因被富集到了33条KEGG的pathway中,其中富集达到显著

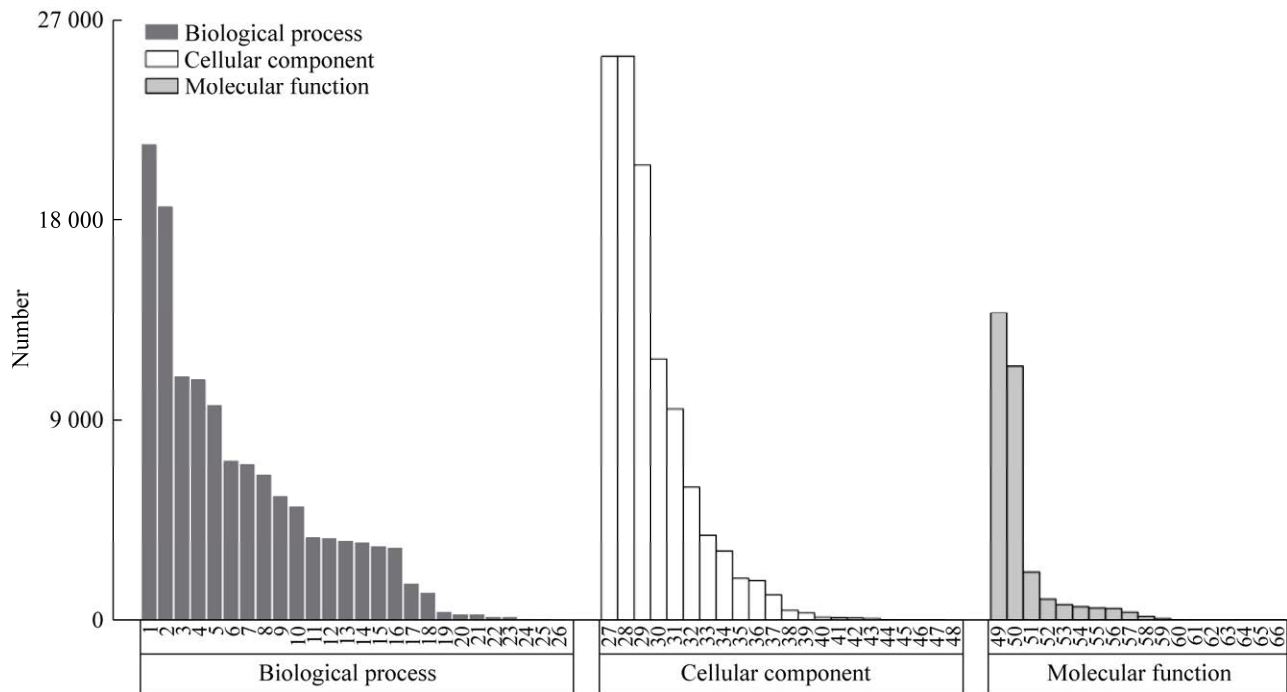


图5 差异表达基因的GO分类

Figure 5 GO classification of differentially expressed genes. 1: Cellular process; 2: Metabolic process; 3: Response to stimulus; 4: Biological regulation; 5: Regulation of biological process; 6: Developmental process; 7: Cellular component organization or biogenesis; 8: Multicellular organismal process; 9: Localization; 10: Establishment of localization; 11: Reproduction; 12: Reproductive process; 13: Negative regulation of biological process; 14: Signaling; 15: Positive regulation of biological process; 16: Multi-organism process; 17: Growth; 18: Immune system process; 19: Locomotion; 20: Rhythmic process; 21: Detoxification; 22: Behavior; 23: Biological adhesion; 24: Cell killing; 25: Cell aggregation; 26: Biological phase; 27: Cell; 28: Cell part; 29: Organelle; 30: Organelle part; 31: Membrane; 32: Protein-containing complex; 33: Membrane-enclosed lumen; 34: Membrane part; 35: Cell junction; 36: Symplast; 37: Extracellular region; 38: Supramolecular fiber; 39: Extracellular region part; 40: Synapse; 41: Synapse part; 42: Nucleoid; 43: Extracellular matrix; 44: Extracellular matrix component; 45: Other organism; 46: Other organism part; 47: Virion; 48: Virion part; 49: Catalytic activity; 50: Binding; 51: Transporter activity; 52: Structural molecule activity; 53: Molecular function regulator; 54: Signal transducer activity; 55: Enzyme regulator activity; 56: Molecular transducer activity; 57: Transcription factor activity, protein binding; 58: Antioxidant activity; 59: Electron transfer activity; 60: Translation regulator activity; 61: Channel regulator activity; 62: Receptor regulator activity; 63: Metallochaperone activity; 64: Protein tag; 65: Chemoattractant activity; 66: Nutrient reservoir activity.

水平的 KEGG 通路共有 9 个, 具体的通路为光合作用-天线蛋白质(photosynthesis-antenna proteins)、光合作用(photosynthesis)、油酸代谢(linoleic acid metabolism)、淀粉和蔗糖代谢(starch and sucrose metabolism)、甘油磷脂代谢(glycerophospholipid metabolism)、植物-病原互作(plant-pathogen interaction)、苯丙烷生物合成(phenylpropanoid biosynthesis)、戊糖和葡萄糖醛酸的相互转化(pentose and glucuronate interconversions)、植物激素信号转导(plant hormone signal transduction) (图 6), 其中植物激素信号转导是富集程度最高的代谢通路之一, 说明植物激素信号转导通路在调控花蕾大小发育过程中起重要作用, 此外光合作用、次生代谢物合成、糖类和脂类物质代谢也与花蕾大小发育有关。

2.5 激素信号转导通路中差异表达基因的筛选

从 4 个比较组中, 共获得 199 个与植物激素合成或信号转导相关的差异表达基因(图 7), 将筛选出的 199 个差异表达基因在 4 个时期的表达情况进行分析, 富集在 DT 和 DB 幼蕾期(AvsE)阶段的差异表达基因有 88 个, 45 个基因表达上调, 43 个基因下调表达; 富集在 DT 和 DB 绿期(BvsF)阶段的差异表达基因为 68 个, 27 个基因表达上调, 41 个基因下调表达; 富集在 DT 和 DB 转黄期(CvsG)阶段的差异表达基因为 77 个, 42 个基因表达上调, 35 个基因下调表达; 富集在 DT 和 DB 黄期(DvsH)阶段的差异表达基因为 72 个, 43 个基因表达上调, 29 个基因下调表达; 除第 2 阶段外, 第 1、3、4 阶段比较

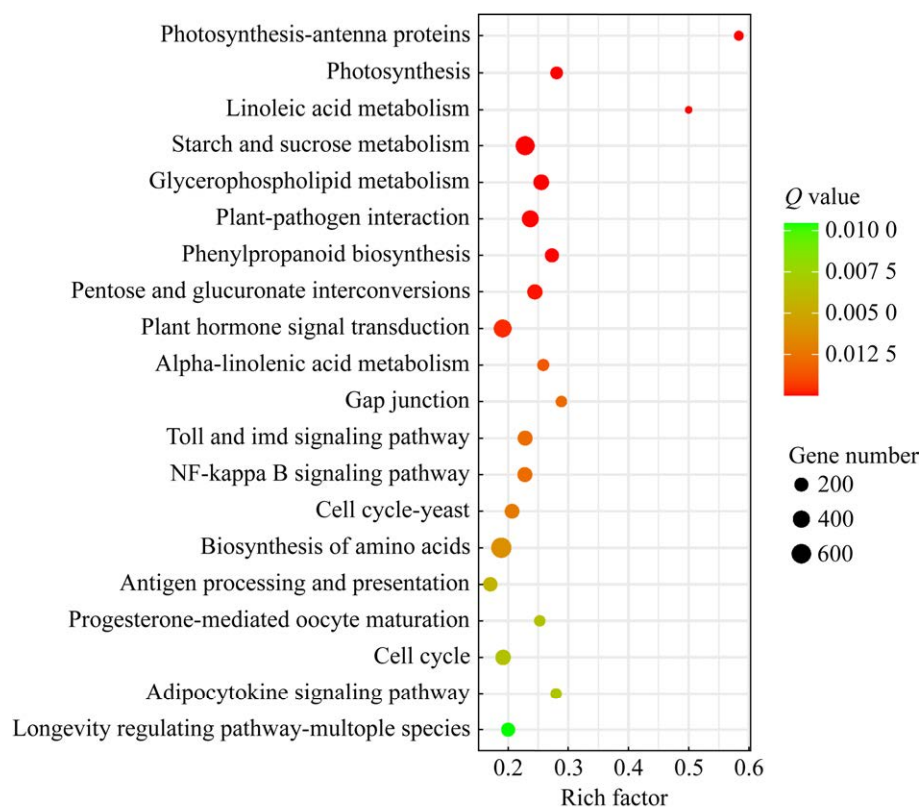


图 6 花蕾差异表达基因的 KEGG 富集通路

Figure 6 KEGG enrichment pathways of differentially expressed genes in flower buds.

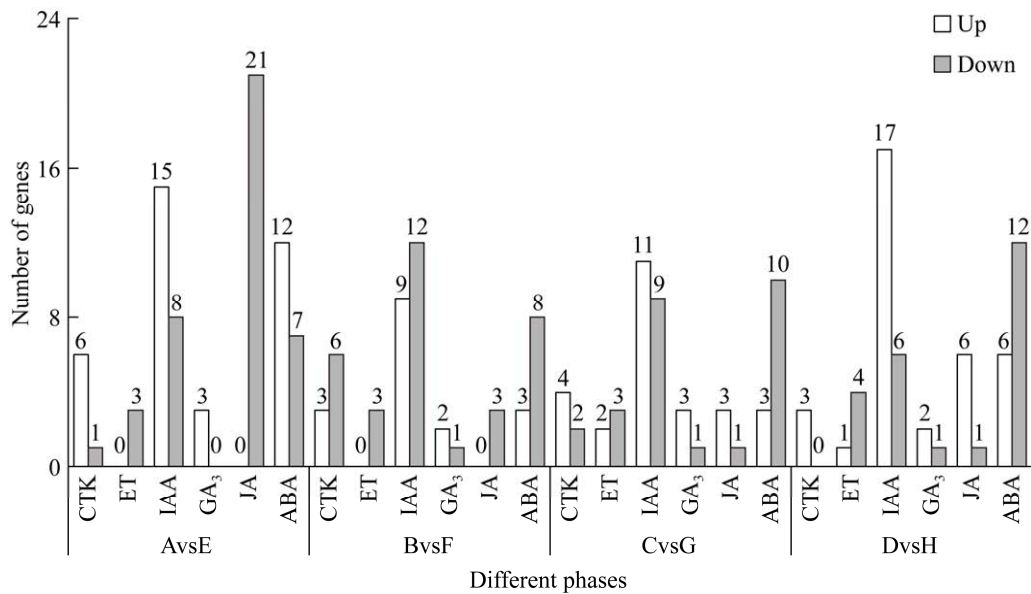


图7 植物激素信号转导途径中6种激素上下调的差异基因表达量

Figure 7 Up-regulated and down-regulated differential gene expression of 6 hormones in the plant hormone signal transduction pathway.

组上调基因数多于下调基因数,且 AvsE 比较组和 DvsH 比较组的组间差异基因数最多。这些激素相关基因的表达变化通过参与细胞内信号传导,进而调节基因的转录和相应功能的表达。

所筛选出的 199 个差异表达基因均与生长素、细胞分裂素、脱落酸、茉莉酸、赤霉素、乙烯这 6 大类植物激素均有相关,其中生长素 (IAA) 相关基因数量最多,共 57 个差异表达基因;其次是脱落酸 (ABA) 相关的 39 个基因和茉莉酸 (JA) 相关的 25 个基因,其中与 ABA 相关的 39 个差异表达基因被分别注释为 ABA 响应元件结合因子 (ABA-responsive element binding factors, ABF)、蛋白磷酸酶 2C (protein phosphatase 2C, PP2C)、pyrabactin resistance 1-like (PYL), 25 条 JA 相关差异表达基因,被分别注释为茉莉酸酯 ZIM 域 (jasmonate ZIM-domain, JAZ)、抗茉莉酸酯 1 (jasmonate-resistant 1, JAR1) 基因家族;细胞分裂素 (CTK) 和乙烯 (ET) 分别有 19 个和 11 个, 19 个 CTK 相关差异表达基因被分别注释为拟

南芥组氨酸激酶 2 (*Arabidopsis* histidine kinase 2, AHK2)、拟南芥组氨酸磷酸转移蛋白 (*Arabidopsis* histidine phosphotransfer protein, AHP)、拟南芥反应调节剂 (*Arabidopsis* response regulator, ARR)、细胞周期蛋白 D3 (cyclin D3, CYCD3), 11 个 ET 相关差异表达基因,在 4 个比较组中差异表达基因数相对稳定,被分别注释为 *copper transport protein 1 (CTR1)*、*early B-cell factor-1 (EBF1)*、*ethylene-insensitive3 (EIN3)*、*ethylene response factor (ERF)*、*reversion-to-ethylene sensitivity (ETR)*;赤霉素 (GA₃) 8 个关差异表达基因被分别注释为 *aspartic acid-glutamic acid-leucine-leucine-alanine (DELLA)*、*gibberellin-insensitive dwarf2 (GID2)*。可见在黄花菜花蕾生长过程中 6 大类内源激素参与调控,其中 IAA、ABA 和 JA 相关基因数量最多,尤其 IAA 可能在参与调控黄花菜生长发育中起关键作用。这些激素相关基因可能通过激素的合成或是与特定受体结合参与细胞内信号传导,影响细胞分裂,最终影响了花蕾的大小。

IAA 是植物生长和发育的关键信号, 通过对参与调控黄花菜生长发育中起关键作用的 IAA 相关基因进行分析, 57 个 IAA 相关差异表达基因被分别注释为 *ARF* (IAA 响应因子)、*SAUR* (IAA 响应蛋白)、*AUX* (IAA 流入载体)、*GH3* (生长素响应性 GH3 基因家族)、*TIR1* (一种 IAA 受体)^[21] (已提交至国家微生物科学数据中心, 登录号: NMDCX0000278)。其中 *ARF* 差异表达基因最显著, *ARF* 是一类能够特异地与 IAA 响应基因启动子区域结合的 IAA 响应元件, 能够激活或抑制下游基因的表达^[22]。对样本间差异最为显著的差异表达基因 *ARF* 进行分析, 一些 *ARFs* 可以在生长素信号通路中作为 IAA 受体调控 IAA 诱导的基因转录, IAA 是植物生长和发育的关键信号, 通过 IAA 响应转录因子发挥作用。

ARF 参与调控植物 IAA 信号传导途径, 影响植物生长和发育^[14]。与 *ARF* 相关的差异表达基因在幼蕾期有 8 个(已提交至国家微生物科学数据中心, 登录号: NMDCX0000278), 绿期 3 个, 转黄期 4 个, 黄期 5 个, 其中 ID 为 TRINITY_DN60535_c1_g2 和 TRINITY_DN66238_c1_g1 的 2 个基因仅在幼蕾期显著差异表达, 说明这两个基因的表达在幼蕾期对 IAA 信号通路的转录调控有重要影响, 绿期和黄期均有且仅有 1 个差异基因显著表达, 基因 ID 分别为 TRINITY_DN40648_c2_g1 和 TRINITY_DN58744_c0_g1, 意义同上, 而转黄期没有差异显著表达的特有基因, 推测转黄期为绿期与黄期的过渡阶段, 可能是 IAA 相关基因积累阶段。IAA 相关差异表达基因聚类热图可以看出 DT 和 DB 同一时期的花蕾样本相似性更高, 各差异基因间存在一定的相关性表达, *ARF* 相关的差异表达基因表现出聚集关系, 且在 DT 转黄期高表达, 推测 IAA 主要在转黄期发挥作用, 可能是

DT 和 DB 产生表型差异的重要时期(图 8)。

2.6 IAA 相关差异表达基因 RT-qPCR 分析

对选取的 8 个生长素相关差异表达基因片段进行 RT-qPCR, 将结果进行统计分析, 这 8 个差异表达基因片段的 RT-qPCR 结果与转录组测序结果的变化趋势一致, 说明转录组测序结果真实可信(图 9)。

2.7 外源喷施激素对‘大同黄花’花蕾生长和营养成分的影响

植物激素参与调控植物的生长和发育过程, 对植物的营养成分有一定的影响, 其中包括蛋白质、可溶性糖和淀粉的合成和降解, 以及通过调节光合作用、糖的分配和转运, 从而影响植物的还原糖含量。为了进一步验证激素是否调控黄花菜花蕾的生长和营养成分的积累, 本研究通过外源喷施激素的方法, 分析激素对‘大同黄花’花蕾生长和营养成分的影响。结果表明, 激素处理对花蕾前期生长无明显差异, ABA、GA₃、IAA、6-BA 处理过的黄花菜植株的花蕾长度在转黄期相较于对照组增长显著, MeJA、ETH 处理过的花蕾相较于对照组基本无变化, 而 IAA 处理的‘大同黄花’植株的花蕾最终长度较对照组长 17 mm 左右, 相较于其他激素对花蕾生长的促进作用最为显著(图 10)。

除 ET 外的其他 5 种激素组中‘大同黄花’花蕾的蛋白质含量均较对照组显著增加, 而淀粉含量较对照组显著降低; 这 6 种激素处理还对还原糖含量较对照组均有不同程度的增加, 且各激素浓度梯度对还原糖含量的提升作用略有差异, 其中 GA₃、IAA 对还原糖含量的提升作用最为显著; 除 ABA 和 ETH 外, 其余 4 种激素的可溶性糖含量较对照组显著增加。激素在植物生长发育过程中受多种因素相互作用、相互调节, 脱落酸、赤霉素、生长素、茉莉酸、细胞分裂素对‘大同黄花’花蕾中蛋白质、还原糖、

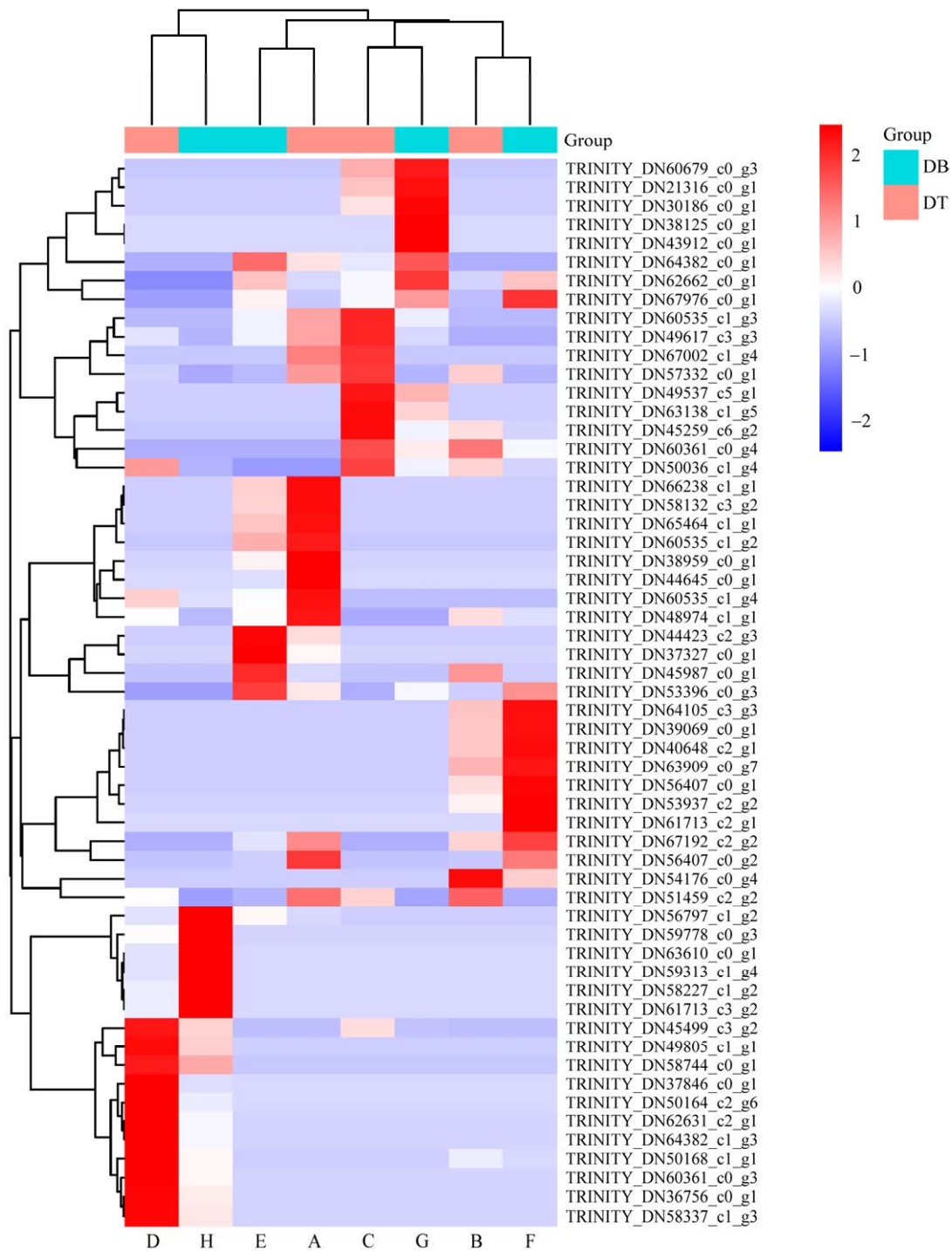


图 8 IAA 相关差异表达基因聚类热图 A、B、C、D 为 DT 花蕾的幼蕾期、绿期、转黄期、黄期；E、F、G、H 为 DB 花蕾的幼蕾期、绿期、转黄期、黄期

Figure 8 Cluster heatmap of IAA-related differentially expressed genes. A, B, C and D are the young bud phase, green phase, yellowing phase and yellow phase of Datong Huanghua bud, respectively. E, F, G, and H are the young bud phase, green phase, yellowing phase, and yellow stage of Dongbei Huanghua bud, respectively.

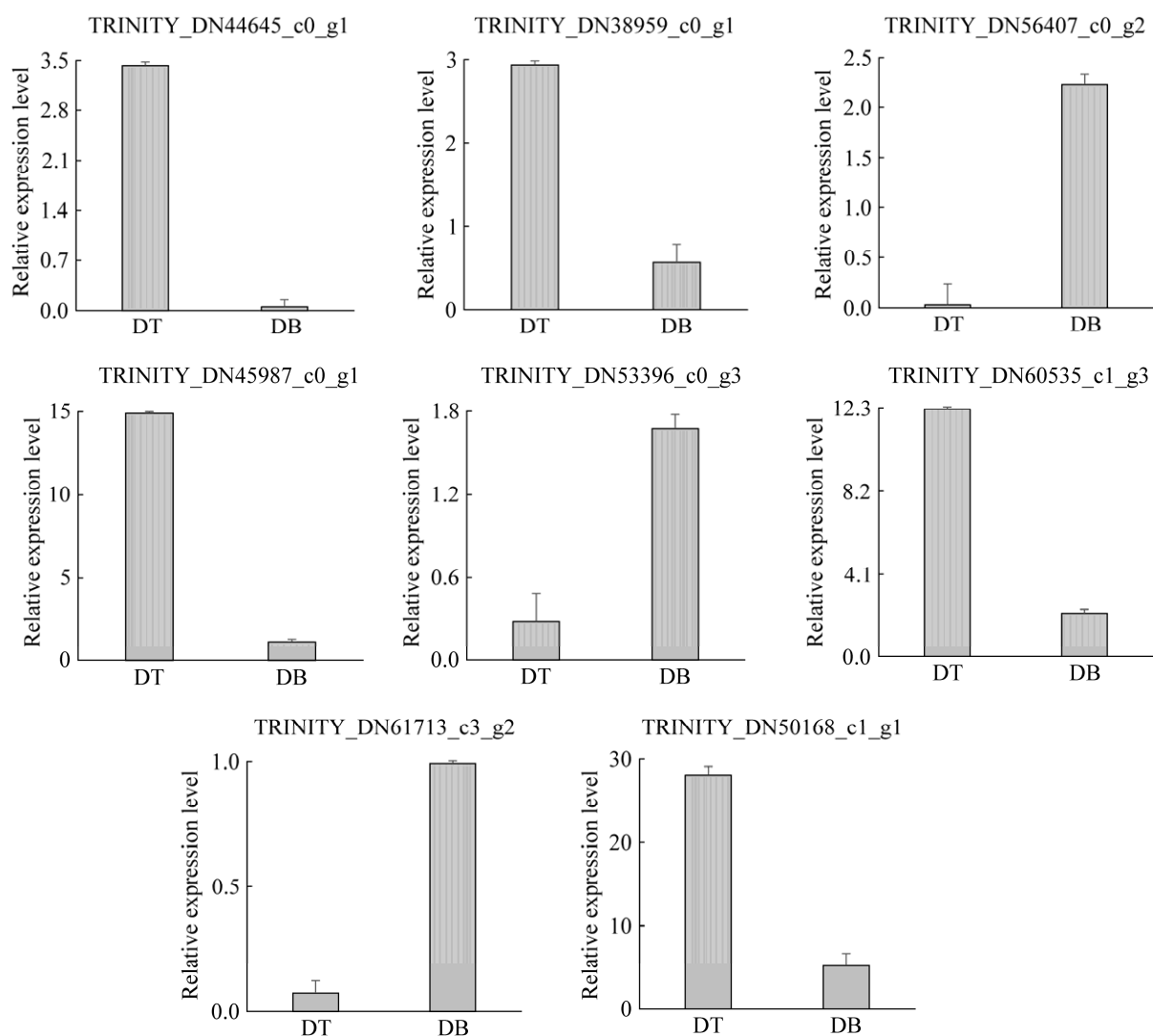


图9 生长素相关差异表达基因 RT-qPCR 验证

Figure 9 The differentially expressed genes related to IAA were verified by RT-qPCR.

可溶性糖含量较对照组均有不同程度的促进作用，而对淀粉含量可能具有抑制作用，乙烯对还原糖和淀粉含量较对照组有促进作用，对其他营养成分无显著作用(图 11)。

3 讨论与结论

花瓣是高等植物生殖系统的重要组成部分，花瓣发育是在植物激素和基因调控相互作用下发生的高度可控和有组织的自然现象^[23]。

表型性状分析并没有为大同黄花和东北黄花花蕾大小的发育机制提供线索，而是为育种提供了证据^[24]。‘大同黄花’花蕾相对较大，但‘东北黄花’相对早熟，生长周期短，花蕾大小与生长周期呈正相关，这在黄花菜种质资源多样化选择上具有重要意义^[25]。马一凡等^[26]通过对山西大同市、湖南衡阳市祁东县、甘肃庆阳市地区黄花菜品质以及风味物质进行测定，发现不同地区黄花菜的营养成分含量有显著差异，且‘大同黄花’

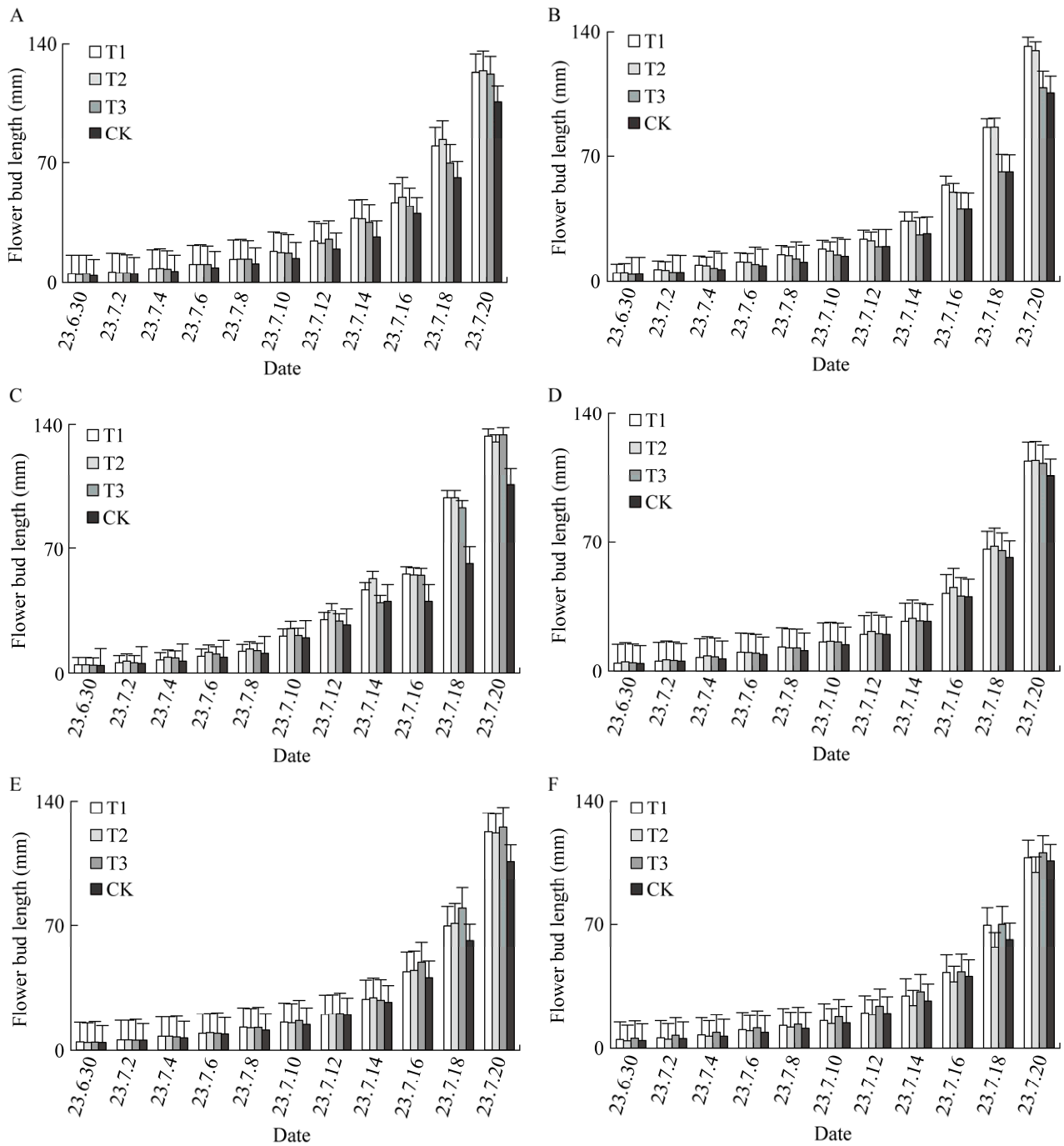


图 10 喷施激素后花蕾生长情况 A: ABA 处理下花蕾生长情况. B: GA₃ 处理下花蕾生长情况. C: IAA 处理下花蕾生长情况. D: MeJA 处理下花蕾生长情况. E: 6-BA 处理下花蕾生长情况. F: ETH 处理下花蕾生长情况

Figure 10 Flower bud growth after spraying with hormone. A: Flower bud growth under ABA treatment. B: Flower bud growth under GA₃ treatment. C: Flower bud growth under IAA treatment. D: Flower bud growth under MeJA treatment. E: Flower bud growth under 6-BA treatment. F: Flower bud growth under ETH treatment.

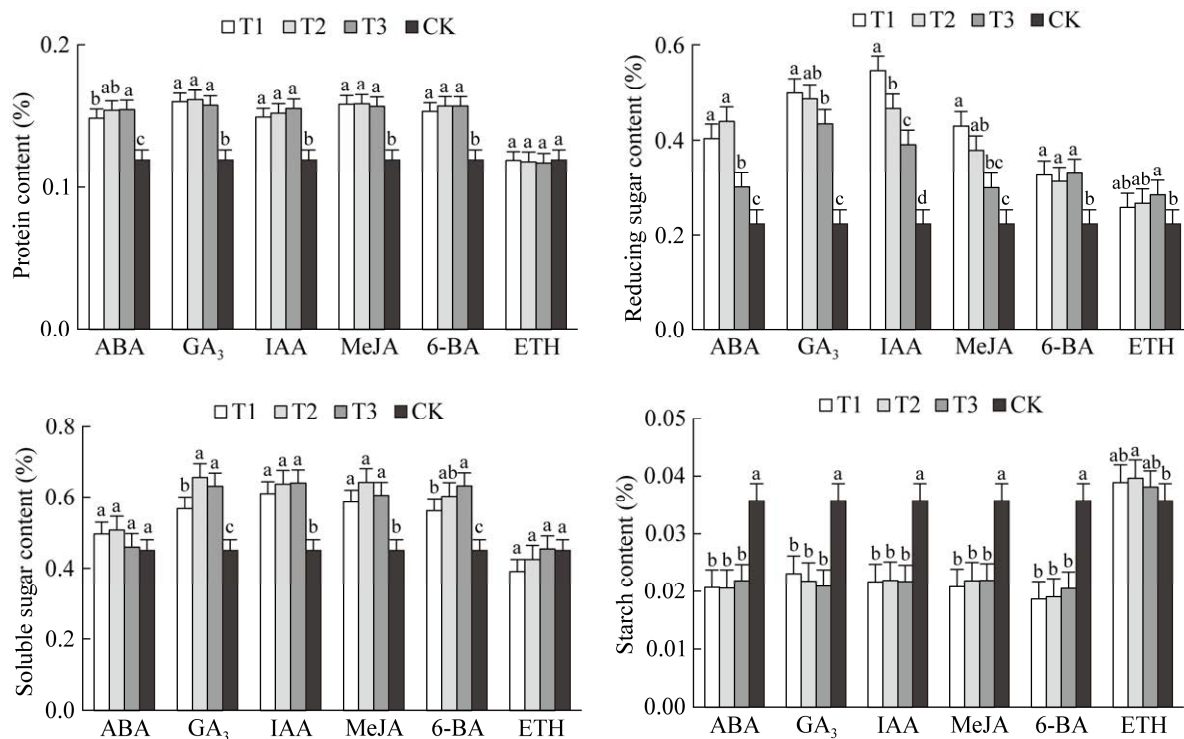


图 11 喷施激素后花蕾营养成分含量 图中小写字母为 0.05 水平上的显著性差异

Figure 11 Nutrient content of flower buds after spraying with hormone. The small letters in the figure are significant differences at the level of 0.05.

相比具有明显的优势。本研究结果显示‘大同黄花’花蕾的可溶性糖含量、蛋白质和淀粉含量均优于‘东北黄花’花蕾，而还原糖含量比‘东北黄花’低 7.16%，与马一凡等^[26]研究结果相似。

王亚坤等^[27]、刘保财等^[28]对睡莲、多花黄精转录组 GO 功能注释，发现植物萌发及发育过程的基因调控发生变化主要受细胞以及代谢过程的影响。本研究对 4 个比较组中的 26 974 个差异表达基因进行 GO 功能注释，发现‘大同黄花’与‘东北黄花’花蕾差异表达基因的表达主要与细胞、细胞进程、代谢进程等过程相关联，推测大部分差异表达基因参与细胞周期、DNA 复制、细胞凋亡、细胞信号传导等重要细胞过程以及涉及各种细胞代谢途径，如糖代谢等，这与前人研究一致^[29]。

本研究筛选到与植物激素信号转导通路相关的差异显著表达基因 199 个，这些基因的表达可能通过调节细胞分裂、伸长、器官形成和发育^[30]，从而影响黄花菜花蕾的生长发育。对‘大同黄花’和‘东北黄花’4 个比较组中与激素相关的差异表达基因进一步分析，发现激素合成代谢相关基因在不同发育时期的‘大同黄花’和‘东北黄花’花蕾中的表达有所差异。AvsE 阶段的植物激素信号转导通路富集的差异表达基因最多，说明植物激素在黄花菜花蕾发育前期发挥重要作用。

CTR1 在拟南芥的细胞核中被发现^[31]，与 *ETR* 一起作为乙烯信号传导的负调控因子^[32]，*ERF* 转录因子是乙烯信号转导途径中重要的组成部分，*CTR1* 通过与 EBF 蛋白相互作用并抑制 *EIN3* 转

录因子来稳定 *EIN3* 转录因子,从而增强乙烯反应并延迟生长恢复^[33]。本研究发现 ET 参与花蕾整个生长发育过程;喷施 ETH 对花蕾长度无显著影响,蛋白质与可溶性糖含量显著降低,可能是外源激素导致 *CTR1* 与 *ETR* 过表达而抑制了蛋白质与可溶性糖的形成。

马铃薯块茎的形成过程中,JA 会减少叶片的原始长度,促进分生组织的扩大和细胞的扩张^[34]。JA 可以在 *JAR1* 的催化下与异亮氨酸(Ile)结合生成复合物 *JA-Ile*,该复合物与茉莉酸受体 *COI1* 特异性结合之后,在 E3 泛素连接酶 SCFCO11 复合物的作用下促使 JAZ 蛋白的泛素化并使之被 26S 蛋白酶体降解,释放出 *MYC2*,从而启动茉莉酸早期应答基因的转录^[35]。本研究中 AvsE 阶段的 JA 相关差异基因表达量显著高于其他阶段,喷施 MeJA 后,花蕾蛋白质和还原糖含量显著增加,可能是 JA 主要于花蕾初期发挥作用,喷施激素后 *JAR* 和 *JAZ* 基因表达量上升,进而提高花蕾的营养成分。

PYL 基因参与 ABA 通路调节^[36];ABA 通过调节 *PP2C* 活性来调控细胞代谢^[37],ABA 受体结合 *PP2C* 并抑制 *PP2C* 的磷酸化活性,从而激活 *SnRK2s*,*SnRK2s* 进一步磷酸化并激活下游 ABA 依赖型转录因子 *AREB/ABF*,调控下游基因表达,进而影响植物生长发育^[38]。胡杨(*Populus euphratica Oliv.*) *PP2C* 的过表达导致树高增高,叶片形态和叶片结构发生改变,暗示 *PP2C* 磷酸酶在有利条件下发挥生长调节剂的作用^[39]。在花蕾 AvsE、DvsH 阶段中 ABA 相关的差异基因表达量较高;喷施 ABA 激素对花蕾长度及蛋白质和还原糖含量均有促进作用,可能 ABA 主要作用于初蕾期和黄期,且表型及营养成分受 *ABF*、*PP2C*、*PYL* 基因互作影响。

GA_3 可以促进细胞伸长^[40],通过 *DELLA* 参与调节拟南芥的开花^[41]。*DELLA* 蛋白是 GA_3

信号转导的负关键调节因子,属于 *GRAS* 基因家族^[42]; *GID1s* 为 GA_3 的受体蛋白,茶树 [*Camellia sinensis* (L.) *O.Ktze.*]过表达 *GID1s* 基因可以促进花叶发育,株高增加。本研究结果显示 GA_3 相关基因表达量在黄花菜花蕾发育的后两个阶段略高于前两个阶段,喷施 GA_3 后花蕾长度以及蛋白质、还原糖和可溶性糖含量均显著增加,说明 GA_3 不仅促进花蕾细胞的扩大,还增加了花蕾营养含量。

有研究表明外源或内源细胞分裂素能在植物生长发育过程中起到正调控作用,*ARR* 具有转录激活活性,通过促进细胞分裂素响应基因的转录,发挥正调控细胞分裂素信号传导的功能,延缓拟南芥的衰老^[43]。本研究发现喷施 6-BA 后花蕾长度与蛋白质、还原糖和可溶性糖含量有所增加,CTK 相关差异基因在花蕾 4 个时期均有表达,说明喷施 6-BA 能够促进 CTK 相关基因的转录。

4 个时期 IAA 差异表基因达量显著高于其他 5 种激素,这可能与 IAA 的功能和合成路径更为复杂有关。被注释于 *ARF* 中的差异基因数最多,*ARF* 在生殖期调节生长素反应,协调多个发育过程^[44];有研究证明生长素通过 *ARF* 依赖的信号转导途径调控 RNA 编辑过程^[45]。本研究分析 *ARF* 作为生长素相关差异表达基因中差异最为显著的基因与上述研究相符。有研究认为 *ARF* 是植物特有的基因家族^[46]。有报道分析番荔枝(*Annona squamosa*)中 *ARF* 基因的表达主要集中在花芽期,这说明 *ARF* 很可能也参与了早期花发育^[47]。本研究中幼蕾期 *ARF* 相关差异表达基因最多,4 个时期的 *ARF* 均处于上调状态,表明‘大同黄花’花蕾中 *ARF* 表达量显著高于‘东北黄花’,推测 *ARF* 对‘大同黄花’和‘东北黄花’花蕾表型及营养成分差异中起到关键的调控作用,*ARF* 正向调节花蕾表型及营养成分,

促进黄花菜的生长。植物激素对蛋白质含量、还原糖含量和可溶性糖含量的影响是复杂而多样的,可能受到其他环境因素和内部调控的交互影响。

此外,不同激素之间也可能存在相互作用和平衡调节,进一步调控植物的代谢过程。因此,不同植物激素对植物中蛋白质含量、还原糖含量、可溶性糖含量和淀粉含量的影响具有一定的差异性和复杂性。本研究为进一步研究‘大同黄花’与‘东北黄花’花蕾发育的调控机制奠定了理论基础。

REFERENCES

- [1] 李洲, 谭方曦, 赵乙灿, 张定山, 洪建基, 吴松海. 基于黄花菜产量与品质特征的优异种质筛选及评价[J]. 热带亚热带植物学报, 2024, 32(1): 82-92.
LI Z, TAN FX, ZHAO YC, ZHANG DS, HONG JJ, WU SH. Screening and evaluation of superior germplasm based on yield and quality characteristics of *Hemerocallis citrina*[J]. Journal of Tropical and Subtropical Botany, 2024, 32(1): 82-92 (in Chinese).
- [2] 程维舜, 蔡翔, 张安华, 田守胜, 赵志远, 王萍, 罗茜, 洪娟. 野生黄花菜花蕾营养与功能成分分析[J]. 陕西农业科学, 2022, 68(4): 22-25, 35.
CHENG WS, CAI X, ZHANG AH, TIAN SS, ZHAO ZY, WANG P, LUO X, HONG J. Analysis of nutrition and functional substance in flower buds of wild daylily[J]. Shaanxi Journal of Agricultural Sciences, 2022, 68(4): 22-25, 35 (in Chinese).
- [3] 罗春燕, 张芳芳. 不同产地黄花菜重金属及亚硫酸盐含量的对比分析研究[J]. 甘肃科技, 2021, 37(8): 50-54.
LUO CY, ZHANG FF. Comparative analysis of heavy metals and sulfite in daylily from different producing areas[J]. Gansu Science and Technology, 2021, 37(8): 50-54 (in Chinese).
- [4] JOSEPH AM, ROLAND AGKG, GEORGES YKA, ABOU BAKARI K, SIMON-PIERRE NA. Comparative study of dormant bud development in taro(*Xanthosoma sagittifolium*, *Xanthosoma* sp. and *Colocasia esculenta* (L.) schott) in relation to their size and localization on the principal tuber[J]. Journal of Experimental Agriculture International, 2023, 45(10): 212-223.
- [5] 郑甲成, 周磊, 钱宇宸, 刘婷, 孙红伟, 詹秋文. ERECTA 调控植物细胞生长功能的研究进展[J]. 分子植物育种, 2020, 18(9): 2922-2929.
ZHENG JC, ZHOU L, QIAN YC, LIU T, SUN HW, ZHAN QW. Research progress of ERECTA regulation on cell growth of plant[J]. Molecular Plant Breeding, 2020, 18(9): 2922-2929 (in Chinese).
- [6] 何文英, 张欢, 胡明华, 侯志文, 吴润心, 杨淞麟, 钟天秀, 廖飞雄. 基于转录组的金钱树扦插激素相关基因差异表达分析[J]. 分子植物育种, 2023. <https://link.cnki.net/urlid/46.1068.S.20230822.1438.006>.
HE WY, ZHANG H, HU MH, HOU ZW, WU RX, YANG SL, ZHONG TX, LIAO FX. Differentially expression of the genes related to endogenous phytohormone during the cuttings of *Zamioculcas zamiifolia* based on RNA-Seq[J]. Molecular Plant Breeding, 2023. <https://link.cnki.net/urlid/46.1068.S.20230822.1438.006> (in Chinese).
- [7] 李聪聪, 王浩乾, 叶琦璠, 陈瑶, 任恒泽, 李宇腾, 郝心愿, 王新超, 曹红利, 岳川. 植物激素对茶树春季新梢生长发育的调控作用研究[J]. 茶叶科学, 2023, 43(3): 335-348.
LI CC, WANG HQ, YE YF, CHEN Y, REN HZ, LI YT, HAO XY, WANG XC, CAO HL, YUE C. Study on the regulation roles of plant hormones on the growth and development of tea shoots in spring[J]. Journal of Tea Science, 2023, 43(3): 335-348 (in Chinese).
- [8] MILLER CN, DUMENIL J, LU FH, SMITH C, McKENZIE N, CHAPMAN V, BALL J, BOX M, BEVAN M. Variation in the expression of a transmembrane protein influences cell growth in *Arabidopsis thaliana* petals by altering auxin responses[J]. BMC Plant Biology, 2020, 20(1): 482.
- [9] TEIGE M, JONES M, TOLEDO-ORTIZ G. Plant organellar signaling: back and forth and intertwined with cellular signalling[J]. Journal of Experimental Botany, 2022, 73(21): 7103-7104.
- [10] 张金梅, 李明, 余晓环, 刘玉连, 邵艳华. 基于转录组测序的两种不同产地穿心莲差异表达基因研究[J]. 分子植物育种, 2023. <https://link.cnki.net/urlid/46.1068.S.20231228.0908.002>.
ZHANG JM, LI M, SHE XH, LIU YL, SHAO YH. Study on differentially expressed genes of *Andrographis paniculata* from two different habitats based on transcriptome sequencing[J]. Molecular Plant Breeding, 2023. <https://link.cnki.net/urlid/46.1068.S.20231228.0908.002> (in Chinese).

- [11] 崔思宇, 张志芬, 付晓峰, 刘俊青, 杨海顺. 燕麦植物激素信号转导通路中响应干旱胁迫的关键基因[J]. 麦类作物学报, 2023, 43(11): 1384-1393.
CUI SY, ZHANG ZF, FU XF, LIU JQ, YANG HS. Key genes in response to drought stress in plant hormone signal transduction pathway of oat[J]. Journal of Triticeae Crops, 2023, 43(11): 1384-1393 (in Chinese).
- [12] 吴林, 杨苏渝, 杨阳, 廖喜梅, 朱学栋, 朱菲菲, 梁峰铭, 李勇, 吕典秋. 基于转录组测序挖掘马铃薯块茎采后发芽关键基因[J]. 西南大学学报(自然科学版), 2023, 45(11): 70-80.
WU L, YANG SY, YANG Y, LIAO XM, ZHU XD, ZHU FF, LIANG FM, LI Y, LYU DQ. Identification of critical genes involved in postharvest sprouting of potato tubers based on RNA-seq analysis[J]. Journal of Southwest University (Natural Science Edition), 2023, 45(11): 70-80 (in Chinese).
- [13] ZHANG JX, DIAO FW, HAO BH, XU L, JIA BB, HOU YZ, DING SL, GUO W. Multiomics reveals *Claroideoglomus etunicatum* regulates plant hormone signal transduction, photosynthesis and La compartmentalization in maize to promote growth under La stress[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2023, 262: 115128.
- [14] VLČKO T, TARKOWSKÁ D, ŠIROKÁ J, PĚNČÍK A, SIMERSKÝ R, CHAMRÁD I, LENOBEL R, NOVÁK O, OHNOUTKOVÁ L. Hormone profiling and the root proteome analysis of *itpk1* mutant seedlings of barley (*Hordeum vulgare*) during the red-light induced photomorphogenesis[J]. Environmental and Experimental Botany, 2023, 213: 105428.
- [15] 祝连彩, 唐士金, 周丽. 考马斯亮蓝 G250 法测定蛋白质含量的教学实践及方法学探讨[J]. 教育教学论坛, 2020(23): 266-269.
ZHU LC, TANG SJ, ZHOU L. Teaching practice and methodological investigation of protein content determination using coomassie brilliant blue G250[J]. Education Teaching Forum, 2020(23): 266-269 (in Chinese).
- [16] 盛政, 杜文凯, 王崇崇, 张博安, 张海华, 杜琪珍. 茶多酚对茶食品中还原糖检测方法的影响[J]. 茶叶科学, 2023, 43(4): 567-575.
SHENG Z, DU WK, WANG CC, ZHANG BA, ZHANG HH, DU QZ. Effect of tea polyphenols on the determination of reducing sugar in tea food[J]. Journal of Tea Science, 2023, 43(4): 567-575 (in Chinese).
- [17] 李小永, 田小琴. 贵州省申核桃雌花芽分化期生理特性变化[J]. 安徽农学通报, 2023, 29(8): 90-93.
LI XY, TIAN XQ. Changes of physiological characteristics during female flower bud differentiation of walnut in Guizhou Province[J]. Anhui Agricultural Science Bulletin, 2023, 29(8): 90-93 (in Chinese).
- [18] GOPALAKRISHNAN R, WINSTON F. Whole-genome sequencing of yeast cells[J]. Current Protocols in Molecular Biology, 2019, 128(1): e103.
- [19] 李菁华, 杨广东, 胡尊艳, 郝智勇, 孙邦升, 陈林琪, 王雪扬, 李琬, 万书明. 不同时期喷施外源 ABA 对小豆碳代谢、内源激素及产量构成因素的影响[J]. 作物杂志, 2023(3): 175-182.
LI JH, YANG GD, HU ZY, HAO ZY, SUN BS, CHEN LQ, WANG XY, LI W, WAN SM. Effects of exogenous ABA spraying at different stages on carbon metabolism, endogenous hormones and yield components of adzuki bean[J]. Crops, 2023(3): 175-182 (in Chinese).
- [20] 李燕燕, 段华超, 李世民, 叶澜, 井卉竹, 董琼. 3 种外源植物激素对白枪杆幼苗生长特性的影响[J]. 贵州农业科学, 2021, 49(4): 112-117.
LI YY, DUAN HC, LI SM, YE L, JING HZ, DONG Q. Effect of three exogenous plant hormones on growth characteristics of *Fraxinus malacophylla* seedlings[J]. Guizhou Agricultural Sciences, 2021, 49(4): 112-117 (in Chinese).
- [21] 李昕儒, 高宇, 苗淑楠, 李腾, 董书言, 史先飞, 薛金爱, 季春丽, 李润植. 油莎豆生长素受体 TIR1 基因家族鉴定及响应盐胁迫和外源 IBA 的表达分析[J]. 热带作物学报, 2023, 44(5): 894-904.
LI XR, GAO Y, MIAO SN, LI T, DONG SY, SHI XF, XUE JA, JI CL, LI RZ. Identification of auxin receptor gene TIR1 family in *Cyperus esculentus* and the expression analysis in response to salt stress and exogenous IBA[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2023, 44(5): 894-904 (in Chinese).
- [22] JIANG JW, WANG ZC, CHEN ZR, WU YC, MU MQ, NIE WT, ZHAO SW, CUI GW, YIN XJ. Identification and evolutionary analysis of the auxin response factor (ARF) family based on transcriptome data from Caucasian clover and analysis of expression responses to hormones[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(20): 15357.
- [23] KUSHWAHA A, MISHRA V, TRIPATHI DK, GUPTA R, SINGH VP. Epigenetics governs senescence[J]. Plant Reproduction, 2024, 37(1): 33-36.
- [24] LU NN, MA Y, HOU M, ZHAO ZG. The function of floral traits and phenotypic selection in *Aconitum*

- gymnandrum* (Ranunculaceae)[J]. *Plant Biology*, 2021, 23(6): 931-938.
- [25] 王凌蔚, 侯非凡, 武江, 高阳, 张伟, 王金耀, 杨文静, 李森, 邢国明. 大同市云州区黄花菜资源调查与分析[J]. *山西农业科学*, 2023, 51(6): 663-675.
WANG LW, HOU FF, WU J, GAO Y, ZHANG W, WANG JY, YANG WJ, LI S, XING GM. Investigation and analysis on the resources of *Hemerocallis citrina* in Yunzhou district of Datong City[J]. *Journal of Shanxi Agricultural Sciences*, 2023, 51(6): 663-675 (in Chinese).
- [26] 马一凡, 于恒和, 黄峰, 强宇, 韩东, 贾启, 张春晖. 不同地区黄花菜营养品质及挥发性风味成分差异分析[J]. *中国调味品*, 2023, 48(12): 25-32.
MA YF, YU HH, HUANG F, QIANG Y, HAN D, JIA Q, ZHANG CH. Analysis of differences in nutritional quality and volatile flavor components of daylily from different regions[J]. *China Condiment*, 2023, 48(12): 25-32 (in Chinese).
- [27] 王亚坤, 李博文, 王丹宁, 岳泽众, 杨丽, 张燕, 徐函兵, 滕云. 遮阴处理下睡莲‘甘娜’叶脐解剖结构与转录组分析[J]. *分子植物育种*, 2024, 22(15): 4919-4929.
WANG YK, LI BW, WANG DN, YUE ZZ, YANG L, ZHANG Y, XU HB, TENG Y. Anatomical structure and transcriptome analysis of the nymphaea ‘Madame Ganna Walska’ umbilicus under shading treatment[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2024, 22(15): 4919-4929 (in Chinese).
- [28] 刘保财, 陈菁瑛, 张武君, 刘剑超, 黄颖楨, 赵云青, 刘红跃. 多花黄精种子萌发前后基因表达特征分析[J]. *广西植物*, 2023, 43(11): 2078-2090.
LIU BC, CHEN JY, ZHANG WJ, LIU JC, HUANG YZ, ZHAO YQ, LIU HY. Analysis of gene expression characteristics before and after seed germination of *Polygonatum cyrtonema*[J]. *Guihaia*, 2023, 43(11): 2078-2090 (in Chinese).
- [29] 麦翠珊, 李方剑, 邓雅茹, 李铁梅, 王金祥. 高等植物糖信号转导研究进展[J]. *植物生理学报*, 2023, 59(8): 1474-1488.
MAI CS, LI FJ, DENG YR, LI TM, WANG JX. Recent advances in sugar signal transduction in higher plants[J]. *Plant Physiology Journal*, 2023, 59(8): 1474-1488 (in Chinese).
- [30] ASIM M, ZHANG Y, LIU WW. Editorial: cooperation of gene regulatory networks and phytohormones in cell development and morphogenesis[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2023, 14: 1290538.
- [31] LI QP, FU HQ, YU X, WEN X, GUO HW, GUO Y, LI JR. The salt overly sensitive 2-constitutive triple response1 module coordinates plant growth and salt tolerance in *Arabidopsis*[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2024, 75(1): 391-404.
- [32] 石鹿溪, 田怀志, 熊兴伟, 穆远航, 张菊, 何方, 张庆勤, 张素勤. 耐盐小偃麦乙烯受体基因 *TtETR1* 克隆及表达特性分析[J]. *南方农业学报*, 2023, 54(1): 13-21.
SHI LX, TIAN HZ, XIONG XW, MU YH, ZHANG J, HE F, ZHANG QQ, ZHANG SQ. Cloning and expression characteristics of ethylene receptor gene *TtETR1* in response to salt stress in *Tritipyrum*[J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2023, 54(1): 13-21 (in Chinese).
- [33] PARK HL, SEO DH, LEE HY, BAKSHI A, PARK C, CHIEN YC, KIEBER JJ, BINDER BM, YOON GM. Ethylene-triggered subcellular trafficking of CTR1 enhances the response to ethylene gas[J]. *Nature Communications*, 2023, 14: 365.
- [34] 刘计涛, 王梦诗, 索海翠, 罗焕明, 王丽, 李成晨, 单建伟, 廖永珊, 李小波. 茉莉酸对马铃薯苗期低温胁迫耐性的影响[J]. *广东农业科学*, 2021, 48(12): 129-137.
LIU JT, WANG MS, SUO HC, LUO HM, WANG L, LI CC, SHAN JW, LIAO YS, LI XB. Effects of jasmonic acid on cold stress tolerance of potato at seedling stage[J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2021, 48(12): 129-137 (in Chinese).
- [35] 乔菊香, 吴嘉, 张国斌, 张悦, 张豪, 杨红玉, 王云月. 拟南芥茉莉酸信号途径突变体 *jar1* 的灰葡萄孢菌抗性分析[J]. *分子植物育种*, 2020, 18(12): 4009-4013.
QIAO JX, WU J, ZHANG GB, ZHANG Y, ZHANG H, YANG HY, WANG YY. Resistant analysis of jasmonic acid signaling mutant *jar1* to *Botrytis cinerea* in *Arabidopsis*[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2020, 18(12): 4009-4013 (in Chinese).
- [36] 王傲雪, 孟令君, 陈秀玲, 莫福磊, 吕瑞, 薛小棚, 孟凡越, 齐浩楠, 张珍珠. 番茄脱落酸受体 *PYL* 基因家族全基因组鉴定及表达分析[J]. *东北农业大学学报*, 2023, 54(1): 21-32.
WANG AX, MENG LJ, CHEN XL, MO FL, LYU R, XUE XP, MENG FY, QI HN, ZHANG ZZ. Genome-wide identification and expression analysis of abscisic acid receptor *PYL* gene family in tomato[J]. *Journal of Northeast Agricultural University*, 2023, 54(1): 21-32 (in Chinese).
- [37] 申玉晓, 邹金玉, 罗平, 尚文倩, 李永华, 何松林,

- 王政, 石力匀. ‘月月粉’月季 PP2C 家族基因鉴定及非生物胁迫响应分析[J]. 园艺学报, 2023, 50(10): 2139-2156.
- SHEN YX, ZOU JY, LUO P, SHANG WQ, LI YH, HE SL, WANG Z, SHI LY. Genome-wide identification and abiotic stress response analysis of PP2C family genes in *Rosa chinensis* ‘Old Blush’[J]. Horticultural Plant Journal, 2023, 50(10): 2139-2156 (in Chinese).
- [38] 许璇, 何钰贤, 姚允聪, 卢艳芬. 苹果属 PP2C A 亚家族基因的克隆及生信分析[J]. 北京农学院学报, 2022, 37(2): 33-38.
- XU X, HE YX, YAO YC, LU YF. Cloning and bioinformatics analysis of group A-PP2C genes in ‘*Malus hupehensis* Rehd.’[J]. Journal of Beijing University of Agriculture, 2022, 37(2): 33-38 (in Chinese).
- [39] RIGOULOT SB, PETZOLD HE, WILLIAMS SP, BRUNNER AM, BEERS EP. *Populus trichocarpa* clade A PP2C protein phosphatases: their stress-induced expression patterns, interactions in core abscisic acid signaling, and potential for regulation of growth and development[J]. Plant Molecular Biology, 2019, 100(3): 303-317.
- [40] CHEN RF, FAN YG, YAN HF, ZHOU HW, ZHOU ZF, WENG ML, HUANG X, LAKSHMANAN P, LI YR, QIU LH, WU JM. Enhanced activity of genes associated with photosynthesis, phytohormone metabolism and cell wall synthesis is involved in gibberellin-mediated sugarcane internode growth[J]. Frontiers in Genetics, 2020, 11: 570094.
- [41] ZHANG CY, JIAN MY, LI WJ, YAO XN, TAN CR, QIAN Q, HU YL, LIU X, HOU XL. Gibberellin signaling modulates flowering via the DELLA-BRAHMA-NF-YC module in *Arabidopsis*[J]. The Plant Cell, 2023, 35(9): 3470-3484.
- [42] 湛琦, 骆梦琳, 李佳玲, 周会汶, 张立莎, 刘亚男, 吴杨, 朱智国. 油茶 *DELLA* 基因的克隆和表达分析[J]. 热带亚热带植物学报, 2023, 31(5): 634-642.
- CHEN Q, LUO ML, LI JL, ZHOU HW, ZHANG LS, LIU YN, WU Y, ZHU ZG. Cloning and expression analysis of *DELLA* genes in *Camellia oleifera*[J]. Journal of Tropical and Subtropical Botany, 2023, 31(5): 634-642 (in Chinese).
- [43] 张晴, 邢静, 姚佳明, 殷庭超, 黄心如, 何悦, 张敬, 徐彬. 多年生黑麦草细胞分裂素信号通路 B 类 ARR 转录因子 LpARR10 的耐镉功能分析[J]. 草业学报, 2022, 31(5): 135-143.
- ZHANG Q, XING J, YAO JM, YIN TC, HUANG XR, HE Y, ZHANG J, XU B. The role of a cytokinin signaling pathway type-B ARR transcription factor, LpARR10, in cadmium tolerance of perennial ryegrass[J]. Acta Prataculturae Sinica, 2022, 31(5): 135-143 (in Chinese).
- [44] 田时雨, 张蓓林, 雷阳, 封闻, 吕立堂. 茶树全基因组生长素反应因子(ARF)基因家族鉴定及表达分析[J]. 中国茶叶, 2022, 44(6): 37-46.
- TIAN SY, ZHANG BL, LEI Y, FENG W, LÜ LT. Identification and expression analysis of auxin response factor (ARF) gene family in tea plants (*Camellia sinensis*)[J]. China Tea, 2022, 44(6): 37-46 (in Chinese).
- [45] LI ZA, LI Y, LIU D, MOLLOY DP, LUO ZF, LI HO, ZHAO J, ZHOU J, SU Y, WANG RZ, HUANG C, XIAO LT. YUCCA2 (YUC₂)-mediated 3-indoleacetic acid (IAA) biosynthesis regulates chloroplast RNA editing by relieving the auxin response factor 1 (ARF1)-dependent inhibition of editing factors in *Arabidopsis thaliana*[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(23): 16988.
- [46] 蒋存钰, 申彦华, 王义, 张美萍, 孙春玉. 生长素响应因子 ARF 研究进展[J]. 分子植物育种, 2022. <https://link.cnki.net/urlid/46.1068.S.20221215.1726.015>.
- JIANG CY, SHEN YH, WANG Y, ZHANG MP, SUN CY. Research progress of auxin response factor in plants[J]. Molecular Plant Breeding, 2022. <https://link.cnki.net/urlid/46.1068.S.20221215.1726.015> (in Chinese).
- [47] 周艳, 莫雨杏, 刘淑艺, 李卫锦, 黎海利, 刘锴栋. 基于转录组的番荔枝 ARF 基因家族鉴定及其在花发育中的表达分析[J]. 热带作物学报, 2023, 44(4): 661-672.
- ZHOU Y, MO YX, LIU SY, LI WJ, LI HL, LIU KD. Transcriptome-wide identification of the ARF gene family in sugar apple (*Annona squamosa* L.) and expression analysis during flower development[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2023, 44(4): 661-672 (in Chinese).

(本文责编 郝丽芳)