

## 蝴蝶兰 *PhPIF4* 基因的克隆与响应 GA<sub>3</sub> 表达分析

张英杰<sup>1,2</sup>, 刘民晓<sup>1</sup>, 孙纪霞<sup>1</sup>, 张京伟<sup>1</sup>, 郭文姣<sup>1</sup>, 吕晓惠<sup>3</sup>, 吕英民<sup>2\*</sup>

1. 山东省烟台市农业科学研究院, 山东烟台 265500; 2. 北京林业大学园林学院, 北京 100083; 3. 山东省农业科学院休闲农业研究所, 山东济南 250108

**摘要:** 蝴蝶兰是我国销售量最大的年宵盆花花卉, 为了在蝴蝶兰生产栽培中对花期精准调控, 挖掘成花关键基因, 本文研究了生长调节剂 GA<sub>3</sub> 和 6-BA 对大辣椒蝴蝶兰品种的成花影响, 并对转录组数据中挖掘的 *PhPIF4* 基因进行克隆、生物信息学分析及对生长调节剂 GA<sub>3</sub> 的响应表达分析。结果表明: *PhPIF4* 具有 bHLH\_SF super family (cl00081) 同源异型盒家族的典型保守结构域, 大辣椒 *PhPIF4* 与小兰屿蝴蝶兰亲缘关系较近, 其次为建兰、墨兰和石斛兰。*PhPIF4* 基因编码蛋白定位于非叶绿体的细胞器中。GA<sub>3</sub> 处理增加了花梗长度, 对花梗长度影响最大的处理组为 200 mg/L GA<sub>3</sub>, GA<sub>3</sub> 可使花期提前 9~11 d。6-BA 可显著增加蝴蝶兰花量, 花量最多的处理组为 300 mg/L 6-BA, 但对花期和花梗长度无显著作用。二者混合使用时, 对蝴蝶兰开花时间和花期的影响介于二者之间。*PhPIF4* 与蝴蝶兰花发育过程紧密相关, 随着花发育进程其表达量逐渐加倍。喷施生长调节剂 GA<sub>3</sub> 后, *PhPIF4* 基因在花芽、叶和根中的表达量均显著增加, 且在现蕾期增加量最大, 表明 *PhPIF4* 基因的表达可能受 GA<sub>3</sub> 影响与调控, 参与了赤霉素成花途径。本研究为揭示 *PhPIF4* 在赤霉素调控生长发育的调控网络中的作用奠定基础。

**关键词:** 蝴蝶兰; *PhPIF4*; 生长调节剂; GA<sub>3</sub>

中图分类号: S688 文献标识码: A

## Cloning and Expression Analysis in Response to GA<sub>3</sub> of *PhPIF4* in *Phalaenopsis*

ZHANG Yingjie<sup>1,2</sup>, LIU Minxiao<sup>1</sup>, SUN Jixia<sup>1</sup>, ZHANG Jingwei<sup>1</sup>, GUO Wenjiao<sup>1</sup>, LYU Xiaohui<sup>3</sup>, LYU Yingmin<sup>2\*</sup>

1. Yantai Agricultural Science and Technology Institute, Yantai, Shandong 265500, China; 2. College of Landscape Architecture, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China; 3. Institute of Leisure Agriculture, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Jinan, Shandong 250108, China

**Abstract:** *Phalaenopsis* is the most popular Spring Festival pot flower in China. In order to accurately regulate the flowering stage and excavate the key flowering gene in the production and cultivation of *Phalaenopsis*, this paper studied the effects of growth regulators GA<sub>3</sub> and 6-BA on the flowering of *Phalaenopsis* Big Chilli, and the *PhPIF4* gene selected from transcriptome data was cloned, and its bioinformatics analysis and response to growth regulator GA<sub>3</sub> were studied. The results showed that *PhPIF4* had a typical conserved domain of the bHLH\_SF super family (cl00081) homeobox family. *PhPIF4* of Big Chilli is closely related to *Phalaenopsis equestris*, followed by *Cymbidium ensifolium*, *C. sinense* and *Dendrobium catenatum*. The protein encoded by *PhPIF4* was localized in non-chloroplast organelles. GA<sub>3</sub> treatment increased stalk length and the maximum stalk length of the treatment group was 200 mg/L GA<sub>3</sub>. GA<sub>3</sub> could bring forward flowering 9–11 d. 6-BA significantly increased the number of flowers, and the treatment group with the most flowering amount was 300mg/L 6-BA, but 6-BA had no significant effect on flowering time and stalk length. When the two growth regulators were mixed to spray, the effect on flowering time and flowering time of *Phalaenopsis* was between the two. *PhPIF4* was closely related to the development of flowering, and its expression gradually increased with the development of flowering. After spraying GA<sub>3</sub>, the expression of *PhPIF4* in flower buds, leaves and roots in-

收稿日期 2022-06-07; 修回日期 2022-06-30

基金项目 山东省重点研发计划项目 (No. 2021LZGC019); 2023 年烟台市统筹涉农项目。

作者简介 张英杰 (1987—), 女, 博士, 高级农艺师, 研究方向: 花卉栽培与育种。\*通信作者 (Corresponding author): 吕英民 (LYU Yingmin), E-mail: luyingmin@bjfu.edu.cn。

creased, and the increase was the largest in flower bud stage, suggesting that the expression of *PhPIF4* might be affected and regulated by  $GA_3$ , and *PhPIF4* might participate in the gibberellin flowering pathway. In this paper, the effects of  $GA_3$  and 6-BA on reproductive growth of *Phalaenopsis* were studied, and the expression of *PhPIF4* in response to GA was investigated, which would lay a foundation for revealing the role of *PhPIF4* in gibberellin regulation of growth and development regulatory network.

**Keywords:** *Phalaenopsis*; *PhPIF4*; growth regulator;  $GA_3$

**DOI:** 10.3969/j.issn.1000-2561.2023.04.002

蝴蝶兰 (*Phalaenopsis* spp.) 是兰科蝴蝶兰属植物的统称, 是我国销售量最大的年宵盆花花卉, 也是国际畅销的盆花种类<sup>[1-2]</sup>。我国蝴蝶兰盆花上市时间主要在春节前, 因此蝴蝶兰花期精准调控尤为重要。目前在拟南芥中, 已确定了 6 个调控开花时间的途径: 光周期、春化、赤霉素、温度、自主和年龄途径<sup>[3-10]</sup>。本课题组在前期蝴蝶兰成花转录组数据中挖掘了大量的成花途径关键基因, 其中 *PhPIF4* 基因在成花途径中表达量显著增加 (未发表数据), 成花转变 (抽梗) 和小花原基分化期 (花梗长 10 cm) 基因 FPKM 值, 较低温处理前增长了 22 倍和 38 倍。PIF (phytochrome interacting factor) 蛋白是一类能够与激活状态的光敏色素 phyB 互作进而响应光信号的 bHLH (basic helix-loop-helix) 类型转录因子, 在植物生长发育中起到“枢纽”作用, 参与植物体内多信号通路调控植物的生长发育<sup>[11]</sup>。在植物体内, PIF 可能通过整合光和温度<sup>[12]</sup> 2 种关键的环境信号转导途径, 参与生物钟对内源激素信号网络的调控, 使植物能够迅速地适应周围的环境并精确调控其发育进程。研究发现, 在高温条件下, PIF4、生长素和植物伸长生长之间存在直接的分子联系<sup>[13]</sup>。正常的生长素反应需要赤霉素 ( $GA$ ) 的促进作用<sup>[14]</sup>。PIF4 通过与 DELLA 互作影响赤霉素的合成与功能发挥<sup>[15]</sup>。由 PIF4 介导的生长素和  $GA$  的串扰作用也可能作用于植物成花。因此, PIF4 可能在光、温度和激素等多途径成花复杂网络中扮演重要角色。

本研究通过对蝴蝶兰成花转录组数据分析挖掘出来的 *PhPIF4* 基因进行克隆和生物信息学分析, 以及对生长调节剂  $GA_3$  的响应表达分析, 以期阐明 *PhPIF4* 基因的调控机制, 对蝴蝶兰遗传改良、生长调节剂的应用技术提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试蝴蝶兰品种大辣椒 (Big Chilli) 引自厦

门和鸣花卉科技有限公司, 在山东省烟台市农业科学研究所内栽培 2 年。选用健康、无病虫害、长势基本一致的 4 叶 1 心的成熟苗进行试验。

### 1.2 方法

1.2.1 *PhPIF4* 基因序列的获取与分析 *PhPIF4* 基因序列源自本实验室的转录组数据 (NCBI Short Read Achieve 数据库中登录号: PRJNA783677, >TRINITY\_DN38810\_c0\_g1\_i3\_3\_2)。利用 BLAST 网站预测 PIF4 氨基酸序列中的保守结构域。用 DNAMAN (version 7) 软件进行氨基酸序列比对和保守结构域分析, 通过 clustal X 软件进行氨基酸序列同源性比较, 通过 GeneDoc 绘制多重序列比对图, 利用 MEGA 5.0 系统进化分析软件构建系统进化树。通过 ExPASy ([http://expasy.org/cgi-bin/pi\\_tool](http://expasy.org/cgi-bin/pi_tool)) 在线软件分析蛋白质的分子量和理论等电点, 利用 SignalP4.0Server 软件分析蛋白信号肽, 利用 SOPMA 分析蛋白二级结构, 利用 Phyre2 分析蛋白三维结构。

1.2.2 亚细胞定位 将整个 *PhPIF4* 编码区扩增并克隆到 pBWA(V)HS-GLosgfp 中, 酶切连接后将连接产物转化大肠杆菌感受态。用酶解液制备拟南芥幼苗叶片细胞原生质体, 然后在 PEG-4000 的作用下将 pBWA(V)HS-*PhPIF4*-GLosgfp 和 pBWA(V)HS-GLosgfp 导入原生质体。采用激光共聚焦显微镜 (Nikon C2-ER) 观察 *PhPIF4* 定位。

1.2.3 生长调节剂对成花的影响 试验组在转入低温处理 2 h 和 10、20、30 d 后分别喷施  $GA_3$  ( $T_1$ : 100 mg/L,  $T_2$ : 200 mg/L,  $T_3$ : 300 mg/L)、6-BA ( $T_4$ : 100 mg/L,  $T_5$ : 200 mg/L,  $T_6$ : 300 mg/L), 100 mg/L  $GA_3$ +100 mg/L 6-BA ( $T_7$ ) 及 300 mg/L  $GA_3$ +300 mg/L 6-BA ( $T_8$ ) 共 8 组处理, 清水为对照 (CK)。每组处理 15 株, 每株喷施 5 mL, 主要喷施第 3 和第 4 叶基部, 设 3 次重复。统计第 1 朵花的开放和凋谢日期、花梗长度和花量。用 Microsoft Excel 2010 软件处理数据及制图, 用 SPSS 19.0 软件对数据进行统计分析。

1.2.4 *PhPIF4* 基因时空表达及响应  $GA_3$  表达 在

蝴蝶兰 DBB (潜伏芽期, 低温处理前 20 d)、IFB (花序原基分化期, 花芽 0.5~1 cm)、FBD (小花原基分化期, 花梗 10 cm)、FB (现蕾期, 花梗 30 cm) 4 个时期分别取喷施  $GA_3$  300 mg/L 处理组及对照组的芽点 (潜伏芽、花芽和花梗顶端 0.5 cm)、叶片和根尖进行 qRT-PCR。使用 RNA 提取试剂盒提取各组织的总 RNA, 反转录合成 cDNA 第一链, 并以 cDNA 为模板进行 qRT-PCR。引物 PIF4(+): GTTCCAATACCACCCTTAC, PIF4(-): GTCAG CGGAAATAATAGTCTGT。每个 RT 反应分 2 步。第 1 步将 0.5  $\mu$ g RNA、2  $\mu$ L 4 $\times$ gDNA wiper Mi, 加入无核酸酶的  $H_2O$  至 8  $\mu$ L。在 GeneAmp<sup>®</sup> PCR System 9700 (Applied Biosystems, USA) 中, 42  $^{\circ}C$  下反应 2 min。第 2 步加入 2  $\mu$ L 的 5 $\times$ HiScript II Q RT SuperMix IIa, 反应在 GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems, USA) 中进行, 50  $^{\circ}C$  下反应 15 min, 85  $^{\circ}C$  下反应 5 s。然后将 10  $\mu$ L 的 RTRT reaction mix 用 nuclease-free water 稀释 10 倍, -20  $^{\circ}C$  保存。采用 LightCycler<sup>®</sup> 480 II Real-time PCR Instrument (Roche, Swiss) 进行 Real-time PCR, PCR 反应混合物为 10  $\mu$ L, 其中 cDNA 1  $\mu$ L, 2 $\times$ ChamQ SYBR qPCR Master Mix 5  $\mu$ L, 正引物 0.2  $\mu$ L, 反引物 0.2  $\mu$ L, nuclease-free water 3.6  $\mu$ L。在 384 孔光学板 (Roche, Swiss) 中 95  $^{\circ}C$  培养 30 s, 然后进行 40 个循环, 95  $^{\circ}C$  培养 10 s, 60  $^{\circ}C$  培养 30 s。每个样本重复 3 次。据扩增曲线确定基因的 Ct 值, 表达量的计算采用  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  法。

## 2 结果与分析

### 2.1 *PhPIF4* 基因序列分析

蝴蝶兰大辣椒 *PhPIF4* 基因 ORF 全长为

539 bp, 编码 176 个氨基酸。ProtParam 软件分析表明 *PhPIF4* 分子式为  $C_{854}H_{1333}N_{241}O_{250}S_{17}$ , 分子量为 19 521.46; 理论等电点 (pI) 为 7.05, 其中包含正电残基 (Asp+Glu) 8 个、负电残基 (Arg+Lys) 8 个, 理论半衰期为体外哺乳动物网织红细胞 30 h、在酵母体内 >20 h、在大肠杆菌体内 >10 h, 不稳定指数是 67.48, 脂溶指数是 68.24, 属于不稳定蛋白, 平均亲水性值为 -0.38, 为两性蛋白, 编码蛋白不含信号肽。对其二级结构和三维结构的分析发现, *PhPIF4* 蛋白中不规则卷曲结构所占比例为 78%,  $\alpha$ -螺旋比例为 35%,  $\beta$ -转角为 0% (图 1)。利用 NCBI 网站进行保守结构域分析, 发现 *PhPIF4* 基因编码的氨基酸具有 bHLH\_SF super family (cl00081) 同源异型盒家族的典型保守结构域 (图 2)。将 *PhPIF4* 氨基酸序列与小兰屿蝴蝶兰 (*Phalaenopsis equestris*, PhaPIF4, XP\_020586384.1)、建兰 (*Cymbidium ensifolium*, CyPIF4, QDL88406.1)、墨兰 (*Cymbidium sinense*, CymPIF4, QDH08906.1)、石斛兰 (*Dendrobium catenatum*, DePIF13, XP\_020694614.2)、鼓槌石斛 (*Dendrobium chrysotoxum*, DeIEQ34, KAH0453999.1) 进行对比, 并与 15 个物种 PIF4 建立系统进化树, 结果表明, 大辣椒 *PhPIF4* 与小兰屿蝴蝶兰亲缘关系较近, 其次为建兰、墨兰和石斛兰 (图 3)。

### 2.2 *PhPIF4* 亚细胞定位分析

在瞬时转化 35S-GFP 空载体的拟南芥原生质体中, *GFP* 基因大量表达, 绿色荧光信号在细胞质、质膜和细胞核中均有分布。而在瞬时转化 35S-PIF4-GFP 的拟南芥原生质体中, 绿色荧光信号主要分布于细胞器上, 细胞质、叶绿体和细胞核中均未检测到明显的荧光信号, 表明 *PhPIF4* 蛋白定位于非叶绿体的细胞器中 (图 4)。

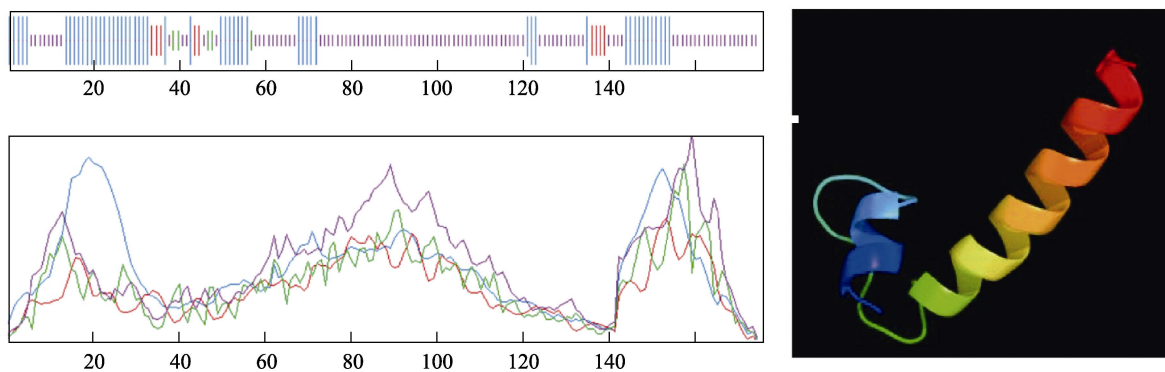


图 1 *PhPIF4* 蛋白的结构模型

Fig. 1 Dimensional structural models of *PhPIF4*

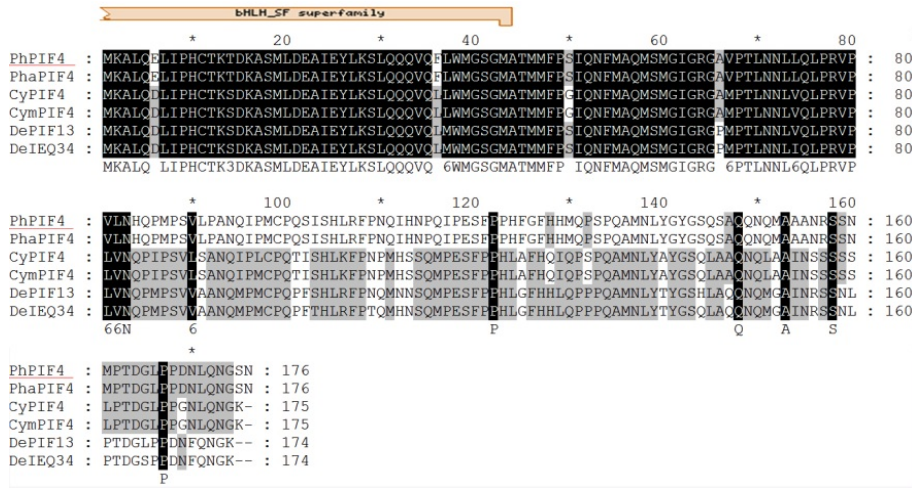


图 2 PhPIF4 氨基酸序列与其他物种比对分析

Fig. 2 Comparative analysis of the PhPIF4 amino acid sequences and other species

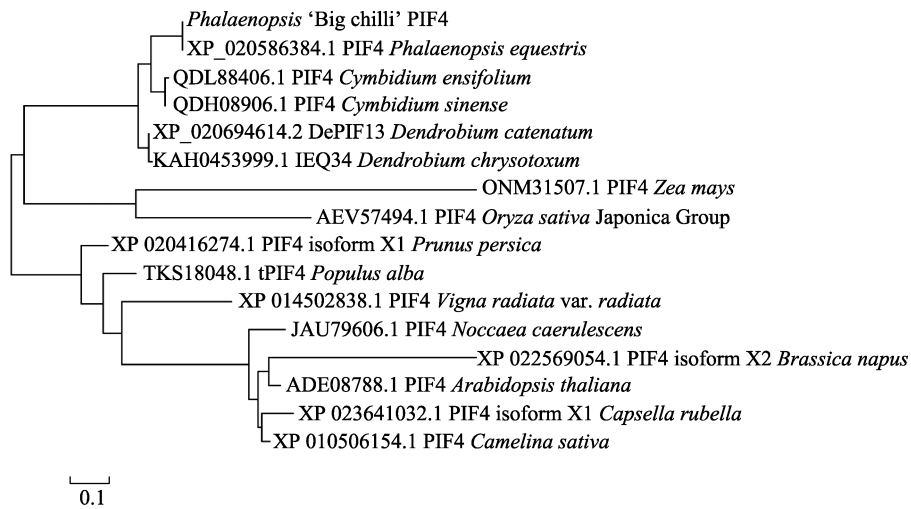


图 3 PhPIF4 系统进化树分析

Fig. 3 Molecular phylogenetic analysis of PhPIF4

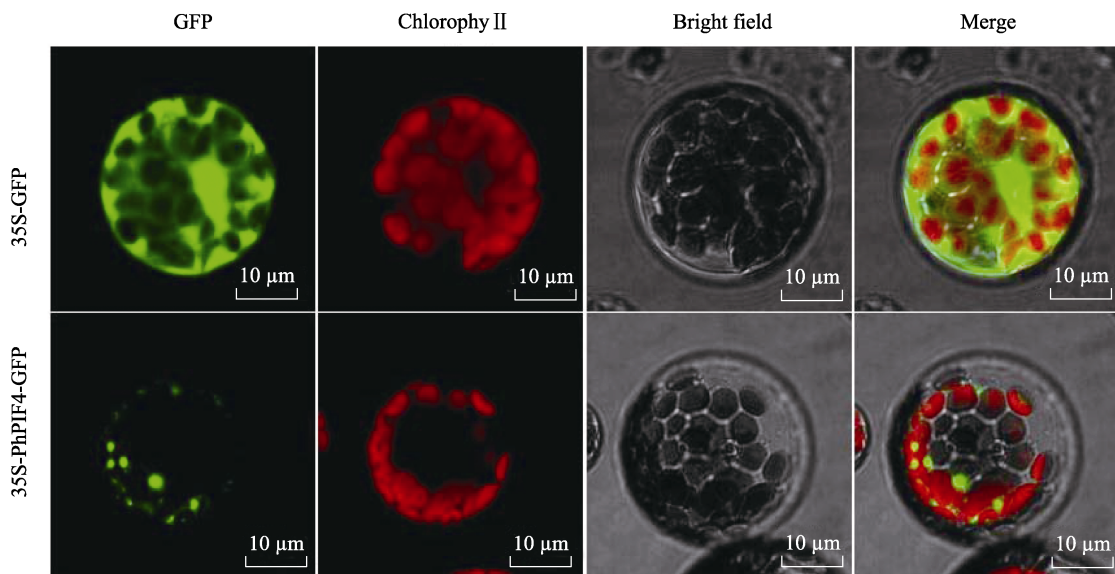


图 4 PhPIF4 蛋白的亚细胞定位 (比例尺: 10 μm)

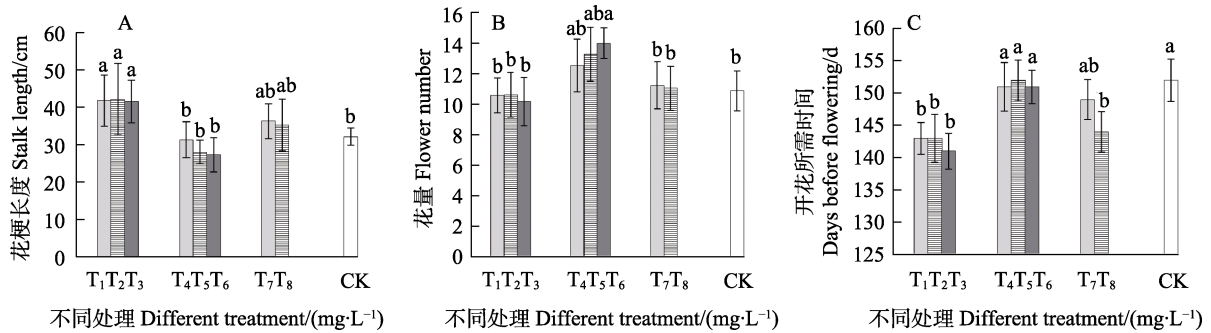
Fig. 4 Subcellular localization of PhPIF4 protein (Scale bar: 10 μm)

### 2.3 生长调节剂 $GA_3$ 对成花的影响

不同浓度  $GA_3$  处理均增加了蝴蝶兰花梗长度，使花期提前 9~11 d，但对花径和花量均无显著影响。花梗最长的处理组是 200 mg/L  $GA_3$ ，然而不同浓度  $GA_3$  处理的花梗长度增加的差异不显著。6-BA 可显著增加蝴蝶兰花量，花量最多的处理组为 300 mg/L 6-BA，但 6-BA 对花期和花梗长度无显著作用。 $GA_3$  和 6-BA 混合使用时，对蝴蝶兰开花时间和花期的影响介于二者之间（图 5）。

### 2.4 *PhPIF4* 基因表达量分析

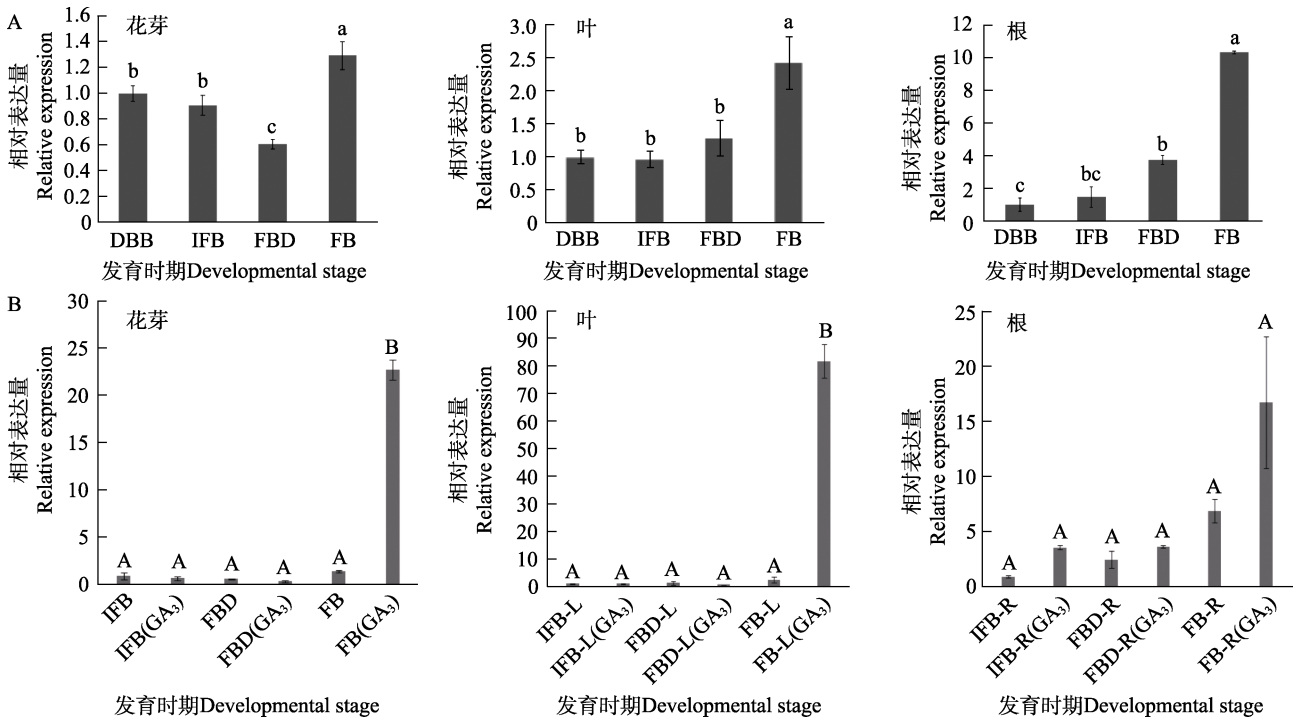
在蝴蝶兰花发育过程中，*PhPIF4* 基因在花芽、叶和根中的表达量变化不同（图 6）。在花芽中表达量变化相对较小，在叶片中表达量逐渐增加，在根中增加最显著，FB 期较 DBB 期增加了 10 倍以上。但不论在何种器官中，该基因均在 FB 期表达量最大。喷施生长调节剂  $GA_3$  后，*PhPIF4* 基因在花芽、叶和根中的表达量均有所增加，且在 FB 期增加量最大，表明 *PhPIF4* 基因的表达可能受  $GA_3$  影响与调控。



不同小写字母表示处理间差异显著 ( $P < 0.05$ )。

Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ( $P < 0.05$ ).

图 5 植物生长调节剂对蝴蝶兰花梗长度、花量和开花时间的影响  
Fig. 5 Effects of plant growth regulator treatments on the stalk length, flower number and flowering date in *Phalaenopsis*.



A: 对照; B:  $GA_3$  处理。不同小写字母表示处理间差异显著 ( $P < 0.05$ )，不同大写字母表示处理间差异极显著 ( $P < 0.01$ )。

A: control; B:  $GA_3$  treatment. Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ( $P < 0.05$ ), different capital letters indicate extremely significant difference among treatments ( $P < 0.01$ ).

图 6  $GA_3$  处理蝴蝶兰花芽、叶片和根的 *PhPIF4* 基因表达量对比

Fig. 6 Expression of *PhPIF4* in flower buds, leaves and roots in *Phalaenopsis* under  $GA_3$  treatment

### 3 讨论

在蝴蝶兰生产栽培中,低温、长日照和植物生长调节剂是重要的催花技术手段。夜间 18~20 °C、白天 23~26 °C 的相对低温处理 40~50 d<sup>[16]</sup>以及增强光照可提前蝴蝶兰的自然花期以供应我国年宵用花。光照可促进蝴蝶兰成花,光周期对蝴蝶兰开花的影响不明显,但增加光强可增加花序数量,加速抽梗<sup>[17]</sup>。降低光辐照可以延缓蝴蝶兰的花梗发育,从而推迟蝴蝶兰的开花时间<sup>[18]</sup>。这可能与蝴蝶兰属于景天酸代谢(CAM)植物有关,CAM 受昼夜节律和光质<sup>[19]</sup>影响。拟南芥中许多 bHLH 转录因子的表达具有昼夜节律性,如 bHLH69 和 bHLH92<sup>[20]</sup>。bHLH 转录因子家族的 PIFs 可以通过与远红光吸收型光敏色素互作来调控植物开花,其中,PIF4 和 PIF5 的表达具有节律性,可能通过与节律钟基因的相互作用来调控植物的生长和开花<sup>[21]</sup>。受光照激活的光敏色素既可以通过光诱导的磷酸化作用与 PIFs 蛋白互作,也可与其直接互作,诱导 PIFs 蛋白迅速降解<sup>[22-24]</sup>。同时光敏色素还可以通过调控 COP1 (constitutively photomorphogenic 1)-SPA (suppressor of phytochrome A)复合体的活性,间接影响 PIFs 蛋白的稳定性<sup>[25-26]</sup>,降低 PIFs 的表达水平。PIFs 能够结合生物钟的核心组件 CCA1/LHY 启动子的 G-box 区域,参与生物钟的调节<sup>[27]</sup>。本研究发现 *PhPIF4* 基因编码的氨基酸具有 bHLH\_SF super family (cl00081)同源异型盒家族的典型保守结构域,bHLH 家族是植物中第二大类转录因子家族,参与植物不同组织众多代谢过程的调控,在植物光信号传导、抗逆胁迫和次生代谢等过程中发挥重要作用。本研究发现 *PhPIF4* 与蝴蝶兰花发育过程紧密相关,随着花发育其表达量逐渐加倍,但其与光敏色素和节律钟基因的互作关系有待进一步研究验证。

生长调节剂可影响蝴蝶兰成花转变。赤霉素被认为是促进蝴蝶兰花芽分化与花期提前最重要的生长调节剂<sup>[28-29]</sup>。郑锦凯等<sup>[30]</sup>研究发现 250、500、1000 mg/mL 赤霉素处理后蝴蝶兰花期分别提前了 5、9、17 d。此外,GA 可有效提高蝴蝶兰双梗率、花芽分化率和分枝率<sup>[31]</sup>,可代替环境信号来缩短植物的开花时间。BLANCHARD 等<sup>[32]</sup>研究发现单独喷施 200 mg/L 或 400 mg/L BA

(0.2 L/m<sup>2</sup>)的植株比未处理的植株早 3~9 d 出现明显的花序,平均每株多 0.7~3.5 个花序、多 3~8 朵花,但 BA 不能完全替代低温诱导。BA+GA 处理对不同速率下的花序数和总花数均无显著影响。刘晓荣<sup>[31]</sup>研究发现蝴蝶兰大花品种 2048 对植物生长调节剂较小花品种如满天红更敏感,10 mg/L 6-BA 显著增加了花芽分化速度,而 25 mg/L 与对照差异不显著。涂抹花芽处理试验中,25 mg/L 和 50 mg/L 6-BA、50 mg/L GA 均提高了双梗率。因此不同激素联合处理蝴蝶兰的成花作用效果在品种间存在差异。本研究仅针对大辣椒品种展开试验,发现 GA<sub>3</sub> 处理增加了花梗长度,并使花期提前。6-BA 可显著增加蝴蝶兰花量,但对花期和花梗长度无显著作用。2 种激素联合使用效果介于二者之间。

植物成花过程赤霉素信号转导通路主要包括 GID1、DELLA 蛋白以及介导 DELLA 蛋白降解的其他调控因子。当 GA 在细胞外的浓度较高时,GA 上的 C 端结构域会与 GID1 结合,从而引发一系列相关应答反应;当细胞外 GA 浓度低时,GA 则不与 GID1 结合,这时 GA 应答基因与 DELLA 蛋白结合,并被其抑制活性<sup>[33]</sup>。拟南芥 PIF1 能够与 2 个 DELLA 蛋白基因 RGA1 和 GAI 的启动子结合抑制黑暗中种子萌发<sup>[34]</sup>。拟南芥 DELLA 蛋白通过抑制 PIF4 的活性,调节植物开花时间,在缺乏 DELLA 蛋白时植物会表现出提前开花的表型<sup>[35]</sup>。GA 降解 DELLA 蛋白,在 GA 缺乏的植株中,DELLA 蛋白积累,PIF4 的活性被抑制,抑制 FT 相关基因的表达,导致开花延迟<sup>[36]</sup>。本研究中,喷施生长调节剂 GA<sub>3</sub> 后,*PhPIF4* 基因在花芽、叶和根中的表达量均有所增加,且在 FB 期表达量最大,表明 *PhPIF4* 基因的表达可能受 GA<sub>3</sub> 影响与调控。但赤霉素是直接调控 *PhPIF4*,还是通过赤霉素调节 DELLA 蛋白含量,使 DELLA 蛋白与 PIF4 蛋白互作,进而间接调节 *PhPIF4* 的表达量,仍有待进一步研究。

PIF 基因在植物生长发育中起到“枢纽”作用<sup>[37]</sup>,本文研究了 GA<sub>3</sub> 等生长调节剂对蝴蝶兰生殖生长的影响,探究了 *PhPIF4* 基因响应赤霉素的表达情况,为揭示其在蝴蝶兰生长发育过程中的作用奠定基础,进一步完善 *PhPIF4* 在赤霉素调控生长发育的调控网络,为其遗传育种应用做准备。

## 参考文献

- [1] LEE H B, LIM S H, LIM N H, AN S K, KIM K S. Growth and CO<sub>2</sub> exchange in young *Phalaenopsis* orchids grown under different levels of humidity during the vegetative period[J]. Horticulture, Environment and Biotechnology, 2018, 59(1): 37-43.
- [2] HSU C C, CHEN H H, CHEN W H. *Phalaenopsis*[M]. Van Huylbroeck J. Ornamental Crops. Berlin: Springer, 2018.
- [3] CHENG J Z, ZHOU Y P, LV T X, XIE C P, TIAN C E. Research progress on the autonomous flowering time pathway in *Arabidopsis*[J]. Physiology and Molecular Biology of Plants, 2017, 23(13): 477-485.
- [4] AUGÉ G A, BLAIR L K, KAREDIYA A, DONOHUE K. The autonomous flowering-time pathway pleiotropically regulates seed germination in *Arabidopsis thaliana*[J]. Annals of Botany, 2018, 121: 183-191.
- [5] DUNCAN S, HOLM S, QUESTA J. Seasonal shift in timing of vernalization as an adaptation to extreme winter[J]. Elife, 2015, 4: e06620.
- [6] SHU K, LUO X, MENG Y, YANG W. Toward a molecular understanding of abscisic acid actions in floral transition[J]. Plant Cell Physiol, 2018, 59: 215-221.
- [7] CAPOVILLA G, SCHMID M, POSÉ D. Control of flowering by ambient temperature[J]. Journal of Experimental Botany, 2015, 66: 59-69.
- [8] HYUN Y, RICHTER R, COUPLAND G. Competence to flower: agecontrolled sensitivity to environmental cues[J]. Plant Physiology, 2017, 173: 36-46.
- [9] JUNG C H, WONG C E, SINGH M B, BHALLA P L. Comparative genomic analysis of soybean flowering genes[J]. PLoS One, 2012, 7(6): e38250.
- [10] TEOTIA S, TANG G. To bloom or not to bloom: role of micro RNAs in plant flowering[J]. Molecular Plant, 2015, 8: 359-377.
- [11] 杨剑飞, 王宇, 杨琳, 李玉花. 光敏色素互作因子 PIFs 是整合多种信号调控植物生长发育的核心元件[J]. 植物生理学报, 2014, 50(8): 1109-1118.
- YANG J F, WANG Y, YANG L, LI Y H. Phytochrome-interacting factors integrate multiple signals to control plant growth and development[J]. Plant Physiology Journal, 2014, 50(8): 1109-1118. (in Chinese)
- [12] KUMAR S V, LUCYSHYN D, JAEGER K E, ALÓS E, ALVEY E, HARBERD N P, WIGGE P A. Transcription factor PIF4 controls the thermosensory activation of flowering[J]. Nature, 2012, 484(7393): 242.
- [13] FRANKLIN K A, LEE S H, PATEL D, KUMAR S V, SPARTZ A K, GU C, YE S, YU P, BREEN G, COHEN J D, WIGGE P A, GRAY W M. Phytochrome-interacting factor 4 (PIF4) regulates auxin biosynthesis at high temperature[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2011, 108: 20231-20235.
- [14] CHAPMAN E J, GREENHAM K, CASTILLEJO C, SARTOR R, BIALY A, SUN T P, ESTELLE M. Hypocotyl transcriptome reveals auxin regulation of growth-promoting genes through GA-dependent and -independent pathways[J]. PLoS One, 2012, 7: e36210.
- [15] XU H, LIU Q, YAO T, FU X. Shedding light on integrative GA signaling[J]. Current Opinion in Plant Biology, 2014, 21: 89-95.
- [16] CHEN W H, TSENG Y C, LIU Y C. Cool-night temperature induces spike emergence and affects photosynthetic efficiency and metabolizable carbohydrate and organic acid pools in *Phalaenopsis aphrodite*[J]. Plant Cell Reports, 2008, 27: 1667-1675.
- [17] LEE H B, LEE J H, AN S K, PARK J H, KIM K S. Growth characteristics and flowering initiation of *Phalaenopsis* Queen Beer 'Mantefon' as affected by the daily light integral[J]. Horticulture Environment and Biotechnology, 2019, 60: 637-645.
- [18] LIU Y C, LIU C H, LIN Y C, LU C H, CHEN W H, WANG H L. Effect of low irradiance on the photosynthetic performance and spiking of *Phalaenopsis*[J]. Photosynthetica, 2016, 54: 259-266.
- [19] ZHENG L, CEUSTERS J, MARIE-CHRISTINE V L. Light quality affects light harvesting and carbon sequestration during the diel cycle of crassulacean acid metabolism in *Phalaenopsis*[J]. Photosynthesis Research, 2019, 141: 195-207.
- [20] HANANO S, STRACKE R, JAKOBY M, MERKLE T, DOMAGALSKA M A, WEISSHAAR B, DAVIS S J. A systematic survey in *Arabidopsis thaliana* of transcription factors that modulate circadian parameters[J]. BMC Genomics, 2008, 9: 182.
- [21] GANGAPPA S N, KUMAR S V. DET1 and HY5 control PIF4-mediated thermosensory elongation growth through distinct mechanisms[J]. Cell Reports, 2017, 18(2): 344-351.
- [22] JEONG J, CHOI G. Phytochrome-interacting factors have both shared and distinct biological roles[J]. Molecules and Cells, 2013, 35(5): 371-380.
- [23] BU Q Y, ZHU L, HUQ E. Multiple kinases promote light induced degradation of PIF1[J]. Plant Signaling and Behavior, 2011, 6(8): 1119-1121.
- [24] NI W M, XU S L, CHALKLEY R J, PHAM T N D, GUAN S H, MALTBY D A, BURLINGAME A L, WANG Z Y, QUAIL P H. Multisite light-induced phosphorylation of the transcription factor PIF3 is necessary for both its rapid degradation and concomitant negative feedback modulation of photoreceptor phyB levels in *Arabidopsis*[J]. Plant Cell,

- 2013, 25(7): 2679-2698.
- [25] LEIVAR P, MONTE E, OKA Y, LIU T, CARLE C, CASTILLON A, HUQ E, QUAIL P H. Multiple phytochrome-interacting bHLH transcription factors repress premature seedling photomorphogenesis in darkness[J]. *Current Biology*, 2008, 18(23): 1815-1823.
- [26] 李璐, 王翔, 王状元, 曹云, 胡格, 王留壹, 尹钧. 小麦光敏色素互作因子 *TaPIF4* 基因的克隆与表达分析[J]. *华北农学报*, 2019, 34(1): 74-82.  
LI L, WANG X, WANG Z Y, CAO Y, HU G, WANG L Y, YI J. Cloning and expression analysis of phytochrome interacting factor *TaPIF4* in wheat[J]. *Acta Agriculturae Boreali-sinica*, 2019, 34(1): 74-82. (in Chinese)
- [27] LAU O S, HUANG X, CHARRON J B, LEE J H, LI G, DENG X W. Interaction of *Arabidopsis* DET1 with CCA1 and LHY in mediating transcriptional repression in the plant circadian clock[J]. *Molecular Cell*, 2011, 43(5): 703-712.
- [28] 陈尚平, 汤久顺, 苏家乐, 李倩中, 刘晓青, 李畅. 蝴蝶兰花期控制技术的研究[J]. *中国农学通报*, 2009, 25(21): 236-239.  
CHEN S P, TANG J S, SU J L, LI Q Z, LIU X Q, LI C. The study of the regulation of flowering in *Phalaenopsis*[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2009, 25(21): 236-239. (in Chinese)
- [29] 祖超, 李蓉蓉, 李志刚, 王灿, 鱼欢, 郑维全, 杨建峰. 外源赤霉素调控胡椒花穗形成及增产机理[J]. *热带作物学报*, 2021, 42(2): 384-392.  
ZU C, LI R R, LI Z G, WANG C, YU H, ZHEGN W Q, YANG J F. Mechanism of exogenous gibberellin regulating the formation and yield increase of pepper flower panicle[J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2021, 42(2): 384-392. (in Chinese)
- [30] 郑锦凯, 俞继英, 王章飞, 马水晶, 马连华. 蝴蝶兰激素催花对比试验[J]. *现代园艺*, 2012 (8): 13.  
ZHENG J K, YU J Y, WANG Z F, MA S J, MA L H. Comparative test of hormone promoting flowering in *Phalaenopsis*[J]. *Modern gardening*, 2012 (8): 13. (in Chinese)
- [31] 刘晓荣. 蝴蝶兰花芽分化及花期调控研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2006.  
LIU X R. Studies on flower bud differentiation and flowering stage regulation of *Phalaenopsis*[D]. Yangling: Northwest A&F University, 2006. (in Chinese)
- [32] BLANCHARD M G, RUNKLE E S. Benzyladenine promotes flowering in *Doritaenopsis* and *Phalaenopsis* orchids[J]. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2008, 27(2): 141-150.
- [33] UEGUCHI-TANAKA M, NAKAJIMA M, MOTOYUKI A, MATSUOKA M. Gibberellin receptor and its role in gibberellin signaling in plants[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2007, 58(1): 183-198.
- [34] OH E, YAMAGUCHI S, HU J, YUSUKE J, JUNG B, PAIK I, LEE H S, SUNTP, KAMIYA Y J, CHOI G. PIL5, a phytochrome-interacting bHLH protein, regulates gibberellin responsiveness by binding directly to the GAI and RGA promoters in *Arabidopsis* seeds[J]. *Plant Cell*, 2007, 19(4): 1192-1208.
- [35] MUTASA-GOTTGENS E, HEDDEN P. Gibberellin as a factor in floral regulatory networks[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2009, 60(7): 1979-1989.
- [36] HISAMATSU T, KING R W. The nature of floral signals in *Arabidopsis*. II. roles for flowering locus t (FT) and gibberellin[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2008, 59(14): 3821-3829.
- [37] 张梦娇, 朱光, 陶海霞, 陈建民, 高勇. 光敏色素作用因子 PIFs 在植物生长发育中的研究进展[J]. *中国细胞生物学学报*, 2019, 41(8): 1633-1639.  
ZHANG M J, ZHU G, TAO H X, CHEN J M, GAO Y. Research advances of PIFs in plant growth and development[J]. *Chinese Journal of Cell Biology*, 2019, 41(8): 1633-1639. (in Chinese)