



乙烯诱导水仙成花相关代谢物和基因的筛选与分析

何炎森, 李瑞美, 李和平

引用本文:

何炎森, 李瑞美, 李和平. 乙烯诱导水仙成花相关代谢物和基因的筛选与分析[J]. 热带亚热带植物学报, 2022, 30(2): 161-170.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11926/jtsb.4441>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

冰菜盐胁迫下的转录组分析

Transcriptome Analysis of *Mesembryanthemum crystallinum* under Salt Stress

热带亚热带植物学报. 2019, 27(3): 279-284 <https://doi.org/10.11926/jtsb.3972>

东乡野生稻苗期响应低温胁迫的转录组分析

Transcriptome Analysis of Response to Low Temperature Stress in Dongxiang Wild Rice at Seedling Stage

热带亚热带植物学报. 2021, 29(6): 616-625 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4387>

毛竹APX家族基因鉴定和表达分析

Identification and Expression Analysis of the APX Gene Family in *Phyllostachys edulis*

热带亚热带植物学报. 2020, 28(3): 255-264 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4155>

不同成熟度树葡萄叶片中类黄酮合成转录组基因分析

Transcriptome Analysis of Flavonoid Synthesis Related Genes in Different Maturity Leaves of *Myrciaria cauliflora*

热带亚热带植物学报. 2019, 27(6): 702-712 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4040>

铁皮石斛WOX转录因子的鉴定和分析

Identification and Analysis of WOX Transcription Factor in *Dendrobium officinale*

热带亚热带植物学报. 2021, 29(3): 301-310 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4294>

向下翻页, 浏览PDF全文

乙烯诱导水仙成花相关代谢物和基因的筛选与分析

何炎森, 李瑞美, 李和平

(福建省农业科学院亚热带农业研究所, 福建 漳州 363005)

摘要: 为了解乙烯诱导水仙(*Narcissus tazetta* var. *chinensis*)成花的生理和分子机制, 利用代谢组和转录组测序技术, 筛选乙烯诱导水仙成花的差异表达代谢物和基因。结果表明, 乙烯处理的侧芽检测到 12 个差异表达代谢物(DEM), 包括 7 个上调, 5 个下调, 其中, (\pm)7-表茉莉酸、多巴胺、亚精胺可能与乙烯诱导水仙成花正相关, 而吲哚及其衍生物呈负相关。转录组共获得 1 021 个差异表达基因(DEG), 包括 615 个上调, 406 个下调, 在 DEG 中鉴定筛选了 45 个与乙烯信号传导和开花相关的差异表达基因。乙烯诱导水仙成花启动可能先激活水仙鳞茎内源植物激素(尤其乙烯)信号通路的变化, 与开花促进基因 *FPF1* 和 *MADS15* 的上调表达密切相关。9 个基因的 qRT-PCR 结果验证了 RNA-Seq 的正确性。这些差异表达的代谢物和基因在水仙成花启动过程中可能具有重要作用。

关键词: 水仙花; 乙烯; 成花诱导; 转录组; 代谢组; 基因表达

doi: 10.11926/jtsb.4441

Screening of Metabolites and Genes Related to Floral Formation of Chinese Narcissus Induced by Ethylene

HE Yansen, LI Ruimei, LI Heping

(Institute of Subtropical Agriculture, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Zhangzhou 363005, Fujian, China)

Abstract: In order to understand the mechanism of the narcissus (*Narcissus tazetta* var. *chinensis*) floral induction, the differentially expressed metabolites and genes were screened from the outermost buds treated with exogenous ethylene by using metabolome and transcriptome sequencing techniques. The results showed that 12 differentially expressed metabolites (DEMs) were detected, including 7 up-regulated and 5 down-regulated DEMs. Among them, (\pm) 7-epigenJasmonic acid, dopamine and spermidine might be positively correlated with narcissus floral induction, while indole and its derivatives were negatively correlated. A total of 1 021 differentially expressed genes (DEGs) were identified in the transcriptome, including 615 up-regulated and 406 down-regulated DEGs. Forty-five differentially expressed genes related to ethylene signal transduction and flowering were identified in the DEGs. The changes of endogenous plant hormone (especially ethylene) signaling pathway in narcissus bulbs were activated firstly by exogenous ethylene, and the floral induction of narcissus *via* exogenous ethylene was closely related to the up-regulated expression of *FPF1* and *MADS15*. Nine genes correlated with flowering were verified by qRT-PCR analysis and the expression profiles were consistent with the RNA-Seq results. Therefore, these DEMs and DEGs might have vital function on the narcissus floral induction, which might play an important role in the floral formation of narcissus induced exogenous ethylene.

Key words: *Narcissus*; Ethylene; Floral induction; Transcriptome; Metabolite; Gene expression

收稿日期: 2021-05-08

接受日期: 2021-07-05

基金项目: 福建省漳州市科技重大专项(ZZ2019ZD03); 福建省公益类科研院所专项(2020R1030002)资助

This work was supported by the Major Project for Science and Technology in Zhangzhou City, Fujian (Grant No. ZZ2019ZD03); and the Special Project for Public Welfare Research Institutes in Fujian (Grant No. 2020R1030002).

作者简介: 何炎森(1968~), 男, 博士, 副研究员, 主要从事观赏植物栽培和遗传育种研究。E-mail: 1907750591@qq.com

* 通信作者 Corresponding author. E-mail: 1907750591@qq.com

水仙花(*Narcissus tazetta* var. *chinensis*)为石蒜科(Amaryllidaceae)水仙属多年生草本球根花卉,是中国传统名花,极具观赏价值。水仙花雕刻品是以每粒鳞茎的花枝数来分等级,花枝数越多,等级越高,每支花的单价也越高^[1]。为了提高经济效益,市面上销售的水仙鳞茎球基本上全部经过乙烯利熏蒸催花处理。外源乙烯(ethylene, C₂H₄)对许多观赏植物和果树的开花有明显的促进作用^[2],已被广泛应用于农业生产实践中。外源乙烯诱导水仙成花的研究主要在乙烯熏蒸处理时间、浓度、环境条件和效果等方面^[3-4],相关机理研究较少。申艳红等用外源乙烯处理整个鳞茎球,提高了可溶性糖、蛋白质、吲哚乙酸、玉米素含量和过氧化物酶活性,筛选到 31 个成花相关基因^[5]。外源乙烯诱导水仙成花的生理基础和分子机制的研究还亟待发展完善。

中国水仙必须经历‘芽仔’、‘钻仔’和‘种仔’阶段,栽培 3 a 后才成为商品球,自然条件下不能成花的水仙鳞茎母球内部最外侧芽可以被外源乙烯诱导成花。在生产实践上,花农判定水仙催花处理成败在于鳞茎母球内部的最外侧芽是否被诱导成花。本研究以中国水仙‘金盏银台’鳞茎母球内部最外侧芽为研究对象,利用高通量转录组和广泛靶向代谢组测序技术,从生理代谢和分子层面分析外源乙烯处理对代谢物及基因表达的影响,筛选乙烯诱导水仙成花的关键代谢物和基因,为乙烯诱导水仙成花机理的深入研究提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料

中国水仙(*Narcissus tazetta* var. *chinensis*)‘金盏银台’鳞茎球来源于福建省农业科学院亚热带农业研究所试验基地。同批次“种仔”阉割后种植在相同田块,从收获的 3 a 生鳞茎球中,选择健康、排花状、主鳞茎围径(21±0.5) cm 的鳞茎球共 200 粒,随机分成 2 组各 100 粒,装于竹框内。一组放到花农仓库与 3 万多粒水仙花球同时进行乙烯利熏蒸处理[分别于 7 月 23 和 26 日各处理 1 次,便携式乙烯报警仪(PGD3-C-C₂H₄)测得处理过程仓库内乙烯气体质量浓度为 1 250~2 500 mg/m³],然后自然室温贮藏;另一组无乙烯处理,自然室温贮藏为对照。在催花处理后(7 月 27 日),对水仙鳞茎球进行解剖取

样,鳞茎母球内部最外侧芽的样品包含芽点和部分鳞茎盘,取样部位如图 1。每个处理 3 个重复,同时取样 2 份。有无乙烯处理的最外侧芽(lateral bud)分别标记为 EL 和 L。所有样品液氮速冻后装入塑料袋内,存于-80 °C 冰箱备用。

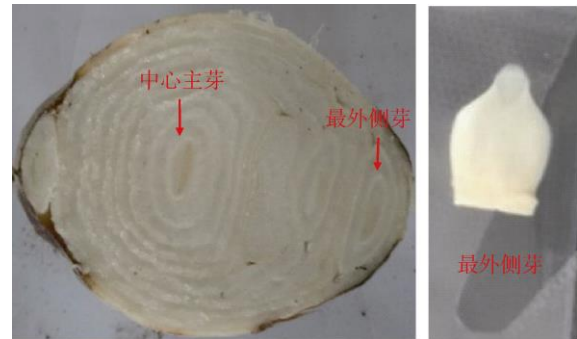


图 1 水仙鳞茎母球内部最外侧芽取样部位

Fig. 1 Sampling part of the outermost lateral bud inside mother bulb

1.2 石蜡切片观察

7 月 15 和 30 日分别取最外侧芽,分别标记为 L0715、L0730 和 EL0730。参考方舟^[6]的方法制作石蜡切片,对顶端生长点组织进行纵切面切片和电镜观察。

1.3 转录组、代谢组测序及数据分析

委托广东基迪奥生物技术有限公司进行转录组测序和液相色谱串联质谱分析代谢物。运用生物信息学技术和方法,对测序数据进行前期处理、序列比对、基因及基因组的注释、基因表达分析等。运用 Analyst1.6.3 及 Mutiaquant 软件分析代谢物质谱数据,利用广东基迪奥生物技术有限公司自建的代谢物数据库定性代谢物。以错误发现率(false discovery rate, FDR)<0.05 且两样品(组)间表达量的比值(fold change, FC)以 2 为底的对数值的绝对值(|log₂FC|)>1 为标准筛选转录组的差异表达基因(differentially expressed gene, DEG),以 OPLS-DA 中 VIP≥1 且|log₂FC|>0.5 为标准筛选代谢组的差异表达代谢物(differentially expressed metabolites, DEM)。

1.4 qRT-PCR 分析

选择 9 个侧芽差异表达基因(表 1),以 *actin* 基因(Unigene0067272)作为内参,采用 qRT-PCR 检测基因表达水平,3 次生物学重复,这些差异基因的表达谱与 RNA-Seq 结果进行比较分析。

2 结果和分析

2.1 乙烯处理对水仙成花的影响

水仙花芽分化时间与品种特性有关, 也受外界环境气候条件影响。漳州花农通常在7月15—30日(大暑节气前后1周)对水仙进行催花处理。对水仙鳞茎母球内部最外侧芽纵切面观察(图2), 7月15日,

最外侧芽(L0715)的顶端分生组织呈圆丘状, 处于营养生长期; 7月30日, 没有经过乙烯处理的最外侧芽(L0730)仍处于营养生长期, 而经过乙烯处理的最外侧芽(EL0730)的顶端分生组织已经形成凹凸面, 进入花序原基形成期, 这是营养生长向生殖生长转化的标志^[7], 说明外源乙烯可诱导水仙鳞茎母球内部最外侧芽的成花启动。

表1 qRT-PCR 分析的9个基因和引物

Table 1 qRT-PCR primers for 9 selected genes

基因 Gene	编码 ID	正向引物序列(5'~3') Forward primer sequence	反向引物序列(5'~3') Reverse primer sequence
<i>nirA</i>	Unigene0017759	TATCGGGTTTGCTGGCTTGT	ATTTGGTTGGTGAGGAGAGGT
<i>cah</i>	Unigene0031951	CTGTTGTGGGCATCCTTTAC	CACTGTCCCTACTTCTCCA
<i>MYC2</i>	Unigene0052627	CGCTGGCTTTGAGATGGAGA	CGAGATTGGTGGTGCTGGT
<i>ETR</i>	Unigene0057118	TCTCACCAGACTTGCCCTTG	TCCTTCGCTTTCCAACCAGA
<i>PP2C</i>	Unigene0064815	TCTTCTCAGCGTCTCTATC	TCCTTGTCGGTTCATTCCC
<i>LOX.1</i>	Unigene0071640	CACTGCCTTCGTCCCTAACC	CTGGAGTTGAGTTGTGATGGTCT
<i>PP2C</i>	Unigene0073753	CGTCAACAGCATCGCAGCA	TGGGATTCAACAGGGGACAG
<i>ETR</i>	Unigene0082441	CCCAACTTCTCGGTCCAAC	TCCTACTGCTCCTCCCTTCA
<i>PYL</i>	Unigene0094475	GCGACTAAGAGCAGGAGAG	CTGGTGTTCATCGGGCA
<i>actin</i>	Unigene0067272	AGCAAATCCAGCCTTCACCA	TTCTCTCTACTCCAGCATCA

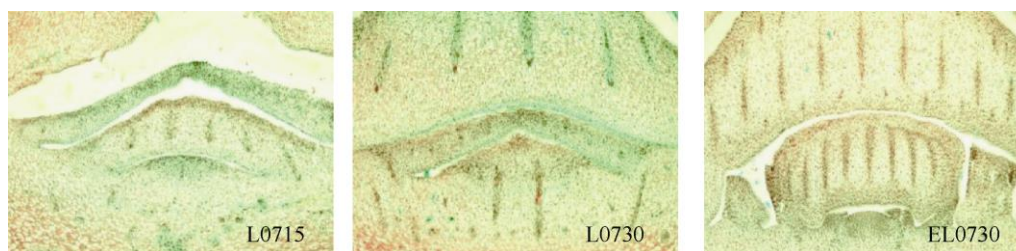


图2 水仙鳞茎母球内部最外侧芽纵切面。L0715: 7月15日无乙烯处理; L0730: 7月30日无乙烯处理, EL0730: 7月30日乙烯处理。

Fig. 2 Longitudinal section of the outmost lateral bud inside mother bulb of *Narcissus tazetta* var. *chinensis*. L0715: July 15 without C₂H₄ treatment; L0730: July 30 without C₂H₄ treatment; EL0730: July 30 with C₂H₄ treatment.

2.2 代谢组分析

根据公共数据库与基迪奥生物公司自建数据库对代谢物进行定性和鉴定, 得到184个代谢物, 包括99个已知和85个未知。已知代谢物主要包含16个羧酸和衍生物(carboxylic acid and derivative)、14个脂肪酰基(fatty acyl)、13个苯和取代衍生物(benzene and substituted derivative)、11个有机氧化合物(organoxygen compound)、7个小肽(mini peptide)、4个孕烯醇酮脂类(prenol lipid)、3个吲哚类和衍生品(indoles and derivative)、3个有机氮化合物(organonitrogen compound)、3个菲类和衍生品(phenanthrene and derivative)、3个嘧啶核苷酸(pyrimi-

dine nucleotides)等。共有62个代谢物被注释到63个代谢通路中, 主要富集在氨基酸代谢、碳水化合物代谢、脂质代谢、其他次生代谢物生物合成和膜转运。

LvsEL组间共检测到12个DEM(表2), 其中, (±)7-表茉莉酸、多巴胺、十八碳三烯酸、前列腺素、甘油磷酸胆碱、13-L-过氧氢亚油酸、亚精胺等7个代谢物上调表达; 苯丙氨酸、吲哚及其衍生物等4个代谢物下调表达。有5个DEM注释到15个代谢通路, 主要富集在甜菜素生物合成、甘油磷脂新陈代谢、色氨酸的生物合成、亚油酸的新陈代谢、苯丙素的生物合成等通道。LvsEL组间, (±)7-表茉莉酸上调表达(FC

表 2 差异代谢物

Table 2 Differential metabolites in LvsEL group

成分 Compound	log ₂ FC	Vip
(±)7-表茉莉酸 (±)7-epi Jasmonic acid	21.93	5.08
多巴胺 Dopamine	4.09	1.10
十八碳三烯酸 (9S,10E,12Z,15Z)-9-Hydroxy-10,12,15-octadecatrienoic acid	1.38	1.07
前列腺素 3-Methoxy prostaglandin F1 α	1.18	1.61
甘油磷酸胆碱 Glycerophosphocholine	1.14	2.04
13-L-过氧氢亚油酸 13-L-Hydroperoxylinoleic acid	1.01	2.29
亚精胺 Spermidine	0.65	1.49
苯丙氨酸 DL-Phenylalanine	-0.64	4.16
2-甲基吲哚 2-Methylindole	-0.79	1.03
4-甲酰基吲哚 4-Formyl indole	-0.82	3.09
(\hat{A} ±)-色氨酸 (\hat{A} ±)-Tryptophan	-0.85	2.98
吲哚 Indole	-0.86	1.32

为 21.93), 乙烯处理的最外侧芽(EL)中的含量远大于无乙烯处理的最外侧芽(L); 多巴胺上调表达(FC 为 1.49), 4 个吲哚及其衍生物表达下调(FC 为-0.79~0.86); 亚精胺(FC 为 0.65)上调表达。

2.3 转录组分析

测序数据经质量控制和序列拼接组装, 共获得 116 715 条 Unigenes, 平均序列长度为 776 bp, GC 含量 41.89%, N50 数量为 20 219, N50 长度 1 219 bp, 说明组装质量好。利用数据库对 Unigenes 进行注释, 在 Nr 数据库注释到 49 753 个, 在 KEGG 数据库注释到 43 936 个, 在 COG 数据库注释到 25 014 个, 在 Swissprot 数据库注释到 26 661 个, 共注释到了 49 949 个 Unigenes, 占 42.80%。

LvsEL 差异表达基因在 GO 数据库中得到注释的共有 1 021 个 Unigenes, 其中, 615 个上调, 406 个下调。对这些基因进行 GO 功能分类, 可以分成 3 大类: 细胞组分(cellular component)、分子功能(molecular function)和生物过程(biological process) (表 3)。在细胞组分中, 差异基因参与最多的是细胞(cell)、细胞区域(cell part)和细胞膜(membrane), 分别有 39、39 和 38 个, 占差异基因数的 62.9%、62.9%和 61.29%。在分子功能中, 差异基因参与最多的是催化活动(catalytic activity)、蛋白结合(binding)和转运活性(transporter activity), 分别有 93、55 和 9 个, 分别占差异基因数的 77.5%、45.83%和 7.5%。生物过程方面, 差异基因主要集中在代谢过程(metabolic process)、单生物过程(single-organism process)和细胞过程(cellular process), 分别有 90、75 和 71 个, 分

别占差异基因数的 75.63%、63.03%和 59.66%。

差异基因的 KEGG 通路富集分析表明, LvsEL 有 170 个基因在 KEGG 数据库中得到注释, 共注释到 77 个通路, 其中, 参与代谢大类(metabolic pathway)、次生代谢物生物合成(Biosynthesis of secondary metabolite)的差异基因最多, 分别有 73 个(占 42.94%)和 43 个(占 25.29%)。Q<0.05 的有 6 条通路(表 4), 分别为植物激素信号转导(plant hormone signal transduction)、植物 MAPK 信号通路(MAPK signaling pathway-plant)、植物-病原互作(plant-pathogen interaction)、类胡萝卜素生物合成(carotenoid biosynthesis)、亚油酸的新陈代谢(linoleic acid metabolism)、植物氮代谢(nitrogen metabolism)。其中, 在植物激素信号转导通路中的差异基因有 25 个(占 14.71%); 在植物 MAPK 信号通路和植物-病原互作通路中各有 20 个(各占 11.76%); 在类胡萝卜素生物合成和亚油酸的新陈代谢通路中各有 5 个(各占 2.94%); 在植物氮代谢通路有 6 个(占 3.53%)。此外, 在碳代谢(carbon metabolism)和氨基酸合成(biosynthesis of amino acids)通路中各有 8 个(各占 4.71%), 在氨基糖和核苷酸糖代谢通路(amino sugar and nucleotide sugar metabolism)中有 7 个(占 4.12%)。可见, LvsEL 差异基因显著性富集在植物激素信号转导通路、植物 MAPK 信号通路中。

在没有基因组信息和缺乏参考序列的情况下, 根据转录组数据注释结果, 获得开花相关的 Unigenes 有 99 个(未列出)。从差异表达基因中鉴定和筛选了 45 个可能与乙烯信号传导和开花相关的差异表达基因(表 5), 包括植物激素信号传导相关基因 25 个, 包

括与乙烯相关的 *ETR* 和 *EBF*, 与赤霉素相关的 *GID*, 与脱落酸相关的 *PYL*、*PP2C*; 与生长素相关的 *SAUR*、*IAA*、*GH3*, 与细胞分裂素相关的 *ARRA*, 与茉莉酸相关的 *MYC2*; 植物 MAPK 信号通路相关基因 4 个, 包

括 *CALM*、*WRKY22*、*RBOH* 和 *CopA*; 激素生物合成相关基因 7 个, 包括乙烯合成的 *ACO*, 脱落酸合成的 *CYP707A*, 油菜素类固醇合成的 *BR6OX* 和 *BAS*, 细胞分裂素合成的 *CKX* 和 *IPT*, 赤霉素合成的 *GA2ox*

表 3 LvsEL 差异基因 GO 功能分类

Table 3 GO annotation of differential expression genes (DEGs)

功能注释 GO annotation		GO 编码 GO ID	上调表达 Up expression	下调表达 Down expression	总和 Total
细胞组分 Cellular component	细胞区域 Cell part	0044464	26	13	39
	细胞 Cell	0005623	26	13	39
	细胞膜 Membrane	0016020	25	13	38
	膜部分 Membrane part	0044425	23	10	33
	细胞器 Organelle	0043226	20	8	28
	细胞器部分 Organelle part	0044422	7	4	11
	分子复合物 Macromolecular complex	0032991	5	5	10
	胞外区 Extracellular region	0005576	3	0	3
	细胞连接 Cell junction	0030054	2	0	2
	细外区部分 Extracellular region part	0044421	1	0	1
	膜包围内腔 Membrane-enclosed lumen	0031974	1	0	1
分子功能 Molecular function	催化活动 Catalytic activity	0003824	58	35	93
	蛋白结合 Protein binding	0005488	37	18	55
	转运活动 Transporter activity	0005215	8	1	9
	核酸结合转录因子活性 Nucleic acid binding transcription factor activity	0001071	1	1	2
	转录因子活性, 蛋白质结合 Transcription factor activity, protein binding	0000988	0	1	1
生物过程 Biological process	代谢过程 Metabolic process	0008152	59	31	90
	单生物过程 Single-organism process	0044699	54	19	75
	细胞过程 Cellular process	0009987	52	19	71
	刺激反应 Response to stimulus	0050896	14	8	22
	定位 Localization	0051179	19	3	22
	生物调节 Biological regulation	0065007	16	5	21
	生物过程调节 Regulation of biological process	0050789	13	5	18
	细胞组成、组织或生物发生 Cellular component organization or biogenesis	0071840	7	5	12
	发育过程 Developmental process	0032502	7	1	8
	信号 Signaling	0023052	4	2	6
	多细胞生物过程 Multicellular organismal process	0032501	6	0	6
	生物过程负调节 Negative regulation of biological process	0048519	2	1	3
	生长 Growth	0040007	2	0	2
	节奏过程 Rhythmic process	0048511	1	0	1
	多生物过程 Multi-organism process	0051704	1	0	1
	生殖过程 Reproductive process	0022414	1	0	1
	生殖 Reproduction	0000003	1	0	1

表 4 LvsEL 差异基因 KO 富集的主要通路

Table 4 Main pathway of differential expression genes (DEGs) by KO annotation

通路 Pathway	候选基因 Candidate gene	总数 Total	P	Q	ID
植物激素信号转导 Plant hormone signal transduction	25 (14.71%)	415 (4.02%)	0.000 000	0.000 001	ko04075
植物 MAPK 信号通路 MAPK signaling pathway-plant	20 (11.76%)	284 (2.75%)	0.000 000	0.000 002	ko04016
植物-病原互作 Plant-pathogen interaction	20 (11.76%)	520 (5.04%)	0.000 349	0.008 961	ko04626
类胡萝卜素生物合成 Carotenoid biosynthesis	5 (2.94%)	47 (0.46%)	0.001 006	0.019 359	ko00906
亚油酸的新陈代谢 Linoleic acid metabolism	5 (2.94%)	54 (0.52%)	0.001 890	0.029 105	ko00591
氮代谢 Nitrogen metabolism	6 (3.53%)	84 (0.81%)	0.002 584	0.033 155	ko00910

表 5 乙烯诱导水仙成花相关的差异基因

Table 5 Differential expressed genes involved in flowering transition of *Narcissus*

途径 Pathway	编号 ID	log ₂ FC	基因注释 Gene annotation	
植物激素信号转导 Plant hormone signal transduction	Unigene0026115	1.60	MYC2, 转录调控因子 Transcription factor MYC2	
	Unigene0052627	1.30	MYC2, 转录调控因子 Transcription factor MYC2	
	Unigene0095552	5.60	MYC2, 转录调控因子 Transcription factor MYC2	
	Unigene0019406	-1.20	IAA, 生长素响应蛋白 IAA, Auxin-responsive protein IAA	
	Unigene0038217	-1.80	GH3, 生长素响应基因 Auxin responsive GH3 gene family	
	Unigene0060054	-1.50	GH3, 生长素响应基因 Auxin responsive GH3 gene family	
	Unigene0060927	2.50	SAUR, 生长素响应蛋白 SAUR, SAUR family protein	
	Unigene0075960	-1.10	SAUR, 生长素响应蛋白 SAUR, SAUR family protein	
	Unigene0105131	-1.50	SAUR, 生长素响应蛋白 SAUR, SAUR family protein	
	Unigene0026656	3.50	ARR-A, 双组分响应调节因子 Two-component response regulator ARR-A family	
	Unigene0064905	-1.10	ARR-A, 双组分响应调节因子 Two-component response regulator ARR-A family	
	Unigene0084322	1.50	GID2, 赤霉素不敏感蛋白 GID2, F-box protein GID2	
	Unigene0038600	1.20	PYL, 脱落酸受体 Abscisic acid receptor PYR/PYL family	
	Unigene0094474	1.20	PYL, 脱落酸受体 Abscisic acid receptor PYR/PYL family	
	Unigene0094475	2.30	PYL, 脱落酸受体 Abscisic acid receptor PYR/PYL family	
	Unigene0105703	3.00	PYL, 脱落酸受体 Abscisic acid receptor PYR/PYL family	
	Unigene0105704	6.00	PYL, 脱落酸受体 Abscisic acid receptor PYR/PYL family	
	Unigene0064813	-1.20	PP2C, 蛋白磷酸酶 2C Protein phosphatase 2C	
	Unigene0064815	-2.50	PP2C, 蛋白磷酸酶 2C Protein phosphatase 2C	
	Unigene0073753	-2.10	PP2C, 蛋白磷酸酶 2C Protein phosphatase 2C	
	Unigene0074907	-1.60	PP2C, 蛋白磷酸酶 2C Protein phosphatase 2C	
	Unigene0057118	3.80	ETR, 乙烯受体 Ethylene receptor	
	Unigene0082441	1.40	ETR, 乙烯受体 Ethylene receptor	
	Unigene0088287	1.50	EBF, EIN3 绑定 F 盒结构域蛋白 EIN3-binding F-box protein	
	Unigene0092388	4.20	EBF, EIN3 绑定 F 盒结构域蛋白 EIN3-binding F-box protein	
植物 MAPK 信号 通路 MAPK signaling pathway of plant	Unigene0084709	-1.10	CALM, 钙调蛋白 Calmodulin	
	Unigene0025983	-2.70	WRKY22, 转录调控因子 22 Transcription factor 22	
	Unigene0007577	1.60	RBOH, 呼吸爆发氧化酶 Respiratory burst oxidase	
激素生物合成相关 Hormone biosynthesis-related	Unigene0014503	-1.10	CopA, 铜离子转运 ATP 酶 Cu ⁺ -exporting ATPase	
	Unigene0004810	1.70	CYP707A, 脱落酸羟化酶 (+)-abscisic acid 8'-hydroxylase	
	Unigene0007021	1.70	BR6OX, 油菜素类固醇氧化酶 Brassinosteroid-6-oxidase	
	Unigene0017514	1.20	BAS, PHYB 激活标记抑制因子 1 PHYB activation tagged suppressor 1	
	Unigene0049671	2.50	CKX, 细胞分裂素氧化酶 Cytokinin dehydrogenase	
	Unigene0083477	3.80	IPT, 细胞分裂素合酶 Cytokinin synthase	
	Unigene0031498	1.30	ACO, 乙酰辅酶 A 氧化酶 Acyl-CoA oxidase	
氨基酸、淀粉和糖 代谢 Amino acid, starch and sucrose metabolism	Unigene0082132	-2.60	GA2ox, 赤霉素 2-氧化酶 Gibberellin 2 beta-dioxygenase	
	Unigene0080426	1.80	GlnA, 谷氨酰胺合成酶 Glutamine synthetase	
	Unigene0050256	-1.20	SUS, 蔗糖合酶 Sucrose synthase	
	Unigene0008798	-2.50	TPP, 海藻糖-6-磷酸磷酸酶 Trehalose 6-phosphate phosphatase	
	开花相关基因 Flowering-related gene	Unigene0116688	11.23	FPF1, 开花促进因子 Flowering-promoting factor
		Unigene0019225	9.26	TFL1, 开花抑制基因 TFL1 lowering inhibitory gene TFL1
		Unigene0005459	2.21	MADS15, MADS-box 蛋白 AP1 MADS-box protein AP1
		Unigene0021016	1.10	AIL1, 乙烯响应因子 AP2 AP2-like ethylene-responsive factor
		Unigene0084099	1.19	VIP3, WD 重复春化独立蛋白 3 WD repeat-containing protein VIP3
		Unigene0077565	-1.80	DELLA, 开花抑制蛋白 GAI Flowering inhibitory protein GAI

等; 氨基酸、淀粉和糖代谢相关 3 个, 包括 *GlnA*、*SUS* 和 *TPP*; 开花相关的差异基因 6 个, 包括 *FPF1*、*TELI*、*MADS15*、*VIP3*、*AIL1* 和 *DELLA*。这些 DEG

有的可能仅仅参与乙烯的基本反应, 有的直接或间接地参与了水仙的成花诱导和开花调控。

为验证转录组测序的准确性和可重复性, 我们

选择 LvsEL 中 9 个差异基因进行 qRT-PCR, 除 Unigene0064815 基因序列的 GC 含量稍高, 导致溶解曲线左侧有小峰外, 其余基因的扩增曲线和溶解曲线都正常, 内参基因在不同样本中的 ct 值较稳定。

验证的 9 个基因中, 除 Unigene0071640 外, 其余 8 个基因在 qPCR 比较组中的表达趋势与转录组中表达趋势一致(图 3), qPCR 验证率接近 90% 以上, 说明 RNA-Seq 结果是可靠的。

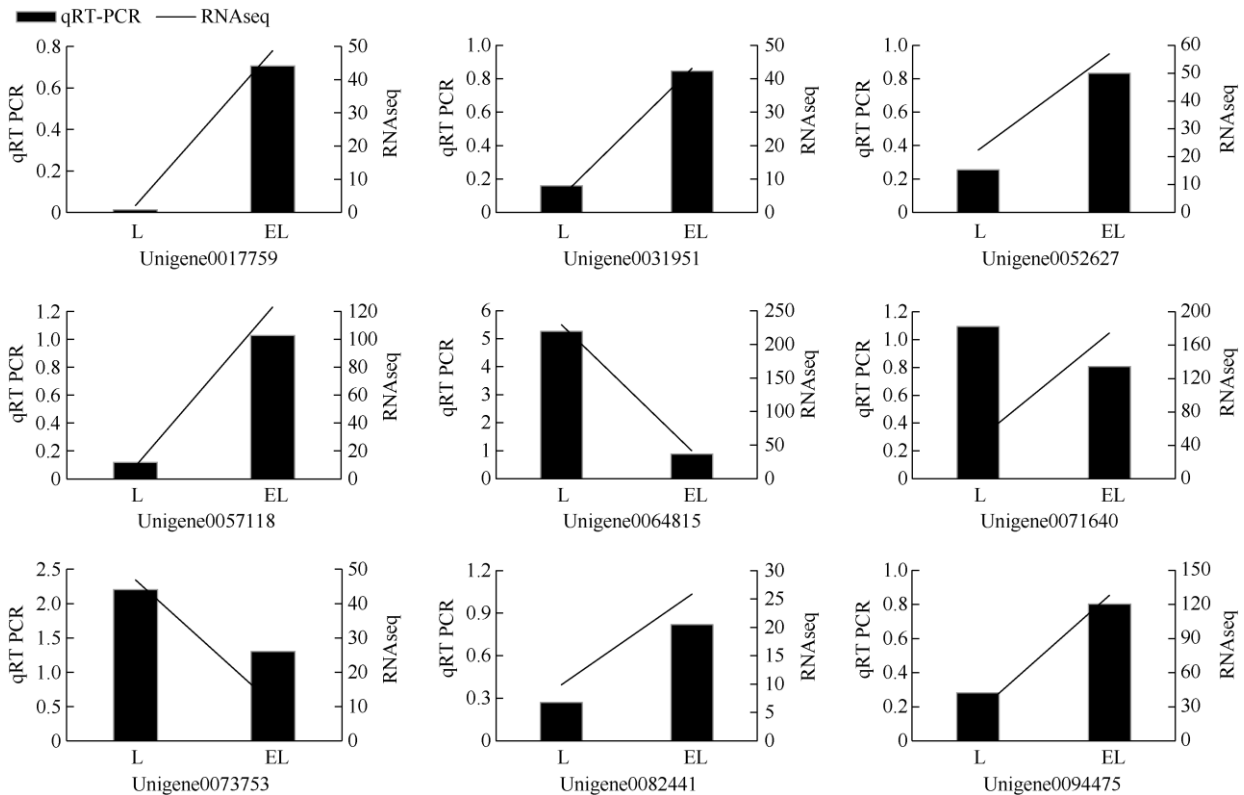


图 3 qRT-PCR 和 RNA-Seq 分析部分差异表达基因的相对表达量。L: 无 C₂H₄ 处理; EL: C₂H₄ 处理。

Fig. 3 Expression of partial DEGs by using qRT-PCR and RNA-Seq. L: Treated without C₂H₄; EL: Treated with C₂H₄.

3 结论和讨论

营养物质和内源激素含量在成花诱导和形成中起着重要作用^[8]。代谢组分析表明, 外源乙烯处理使 12 个代谢物出现差异表达, 其中, 7 个代谢物上调表达, 5 个下调表达。外源乙烯处理显著促进了水仙外侧芽中(±)7-表茉莉酸的合成。已有研究报道, 内源茉莉酸参与紫萍(*Spirodela polyrhiza*)的开花调控^[9], 茉莉酸类物质在水稻(*Oryza sativa*)颖花诱导和发育中起着重要作用^[10]。外源乙烯处理也促进了多巴胺和亚精胺的合成。多巴胺是能诱导产生更多的花原基和显著促进花的发育^[11], 亚精胺可诱导烟草薄层外植体的营养芽成花^[12]。同时, 外源乙烯处理显著地促进十八碳三烯酸、前列腺素、甘油磷酸胆碱、亚油酸等营养活性物质的上调表达。这 4 种代谢物都是细胞膜的主要成分, 还参与细胞膜

对蛋白质的识别和信号传导。此外, 外源乙烯处理显著地降低了吲哚及其衍生物的水平。外源乙烯处理降低内源激素吲哚-3-乙酸(IAA)的水平, 有利于菠萝(*Ananas comosus*)的花芽分化^[13], 由吲哚类化合物组成的生长素(auxin)参与植物生长和发育诸多过程^[14]。外源乙烯诱导水仙成花可能与这些内源激素和营养物质的差异表达有关。转录组分析还表明, 外源乙烯处理, 导致 7 个内源激素生物合成相关的酶基因(*ACO*、*CYP707A*、*BR6OX*、*BAS*、*CKX*、*IPT* 和 *GA2ox*)以及 3 个营养物质合成酶基因(*GlnA*、*SUS* 和 *TPP*)出现表达差异, 可以进一步利用靶向代谢组技术进行准确定量和分析。

从石蜡切片观察到, 外源乙烯处理可诱导水仙鳞茎母球内部自然不能成花的最外侧芽从营养生长向生殖生长转变, 佐证了常规花农催花的科学性。LvsEL 差异基因 KEGG 通路富集分析表明,

外源乙烯处理, 差异表达基因主要富集在植物激素信号转导通路, 涉及乙烯、赤霉素、生长素、细胞分裂素、脱落酸、茉莉酸等共 25 个基因。乙烯、赤霉素、生长素、脱落酸、茉莉酸等植物激素参与开花调控^[15], 说明外源乙烯通过激活水仙鳞茎内部信号通路, 从而调控水仙最外侧芽从营养生长向生殖生长转变。乙烯是植物的 5 大类内源激素之一, 外源乙烯处理引起植物内源乙烯含量的增加^[16], 内源乙烯参与拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)、凤梨(*Aechmea fasciata*)从营养生长到生殖生长的过程^[17-18]。本研究转录组分析表明, 外源乙烯处理, 乙烯生物合成关键酶基因 *ACO* 上调表达, 这与前人^[19]对拟南芥、蝴蝶兰(*Phalaenopsis amabilis*)、青花菜(*Brassica oleracea*)的研究结果一致。据报道, 水仙 *NtACO* 过表达转基因烟草(*Nicotiana tabacum*)与野生型相比缩短了营养生长期, 开花较早^[20]。同时, 外源乙烯处理, 2 个 *EIN3* 基因上调表达。*EIN3* 在乙烯信号通路中起决定性作用, 也承担了乙烯和其他信号交流互作的任务^[21]。据报道, 水仙 *EIN3* 基因具有正调控乙烯响应的功能^[22], *AfEIN3* 可能在乙烯诱导凤梨开花中起重要作用^[23]。乙烯与生长素、光、赤霉素、茉莉酸、水杨酸、细胞分裂素、葡萄糖等途径存在着广泛的交叉反应, 共同参与了调控植物的生长发育和应对生物、非生物胁迫等过程^[24]。本研究由于检测方法的原因没能检测到乙烯成分, 但水仙最外侧芽能够成花最终是受到乙烯所调控, 因此推测, 外源乙烯诱导水仙成花可能与内源乙烯信号传导关联密切。

模式植物开花有光周期、温敏、春化、自主、赤霉素、抑制和年龄等 7 个遗传通路参与调控^[25]。本研究结果表明, 外源乙烯处理影响 *FPF1*、*TELI*、*MADS15*、*VIP3*、*AIL1* 和 *DELLA* 等 6 个开花相关基因的表达, 其中涉及赤霉素途径的开花抑制基因 *DELLA* 下调表达, *DELLA* 蛋白降解可以促进拟南芥开花^[26]; 涉及抑制途径的开花抑制基因 *TFL1* 上调表达。据报道, 在营养生长阶段, *TFL1* 基因低水平表达会延迟开花的转变, 但在花序分生组织(IM)中, *TFL1* 基因高水平表达可以维持IM的特性^[27]; 涉及光周期途径的 *AIL1* 上调表达, *AIL1* 属于 AP2/ERF 转录调控家族中的亚族, 可能调节光敏色素(PHY)的表达^[28], 参与花器官发育的起始和生长^[29]; 涉及春化途径的春化独立蛋白基因 *Vip3* 上调表达, *Vip3* 在花序分生组织中高表达, 有利于花序茎的数量

增加和簇生^[30]。总体来说, 外源乙烯处理能影响一些开花途径相关基因的表达, 但 *LEY*、*FLC* 在这个阶段并未表达, 而开花整合子基因 *FT* (Unigene0007988, FC 为-0.06; Unigene 0013465, FC 为-0.457)、*SOC* (Unigene0050424, FC 为 0.425)、*CO* (20 个 Unigenes 注释为 *COL* 基因, 其中 10 个上调表达、10 个下调表达)在处理间并没有显著差异。因此推测, 乙烯诱导水仙成花启动可能并不通过已知开花调控途径中的任何一条。这与从汉卿^[31]对乙烯诱导凤梨开花的研究结果基本相同。

值得重点关注的是, 本研究结果表明, 外源乙烯处理导致 1 个开花促进基因 *FPF1* 和 1 个开花识别基因 *MADS15* 的大量上调表达。据报道, *FPF1* 参与赤霉素信号途径中调控开花, *FPF1* 组成性表达导致拟南芥幼年期缩短提前开花^[32], *FPF1* 基因可能通过调节顶端分生组织对开花识别基因 *API* 的反应能力来控制开花时间^[33]。拟南芥、水稻、烟草、和棉花(*Gossypium* spp.)等多种植物的研究表明 *FPF1* 正调控开花时间^[34], 但目前其调控开花时间的信号途径并不清楚。而水仙的 *MADS15* 与拟南芥的 *API* 为同源基因, *API* 是开花启动的标志基因, 处于成花调控网络的关键位置^[35]。*MADS15* 过量表达使植物呈现早熟表型和提前开花^[36], 推测乙烯诱导水仙成花启动可能与 *FPF1* 基因和 *MADS15* 基因的上调表达密切相关。

综上所述, 本研究结果表明外源乙烯可以诱导 3 a 生水仙鳞茎母球内部最外侧芽成花启动, 佐证了花农常规以最外侧芽是否被诱导成花来判断催花成败的科学性。利用代谢组和转录组技术, 探讨了外源乙烯促进水仙成花的原因。代谢组分析表明有 12 个代谢物出现差异表达, 其中, (±)7-表茉莉酸、多巴胺、亚精胺可能与乙烯诱导水仙成花正相关, 而吲哚及其衍生物呈负相关。转录组鉴定和筛选了 45 个与乙烯信号传导和开花相关的差异表达基因, 乙烯诱导水仙成花启动可能先激活水仙鳞茎内源植物激素(尤其乙烯)信号通路的变化, 与开花促进基因 *FPF1* 和 *MADS15* 的上调表达密切相关。这些差异代谢物和差异基因在外源乙烯诱导水仙成花启动的具体作用仍需进一步研究和验证。

参考文献

- [1] YE J B. A study on mechanisms and application of *Narcissus tazetta* var. *chinensis* Roem's flower forcing technique [J]. Chin Hort Abstr,

- 2009, 25(7): 26–28. doi: 10.3969/j.issn.1672-0873.2009.07.012.
- 叶季波. 中国水仙鳞茎催花技术机理及应用研究 [J]. 中国园艺文摘, 2009, 25(7): 26–28. doi: 10.3969/j.issn.1672-0873.2009.07.012.
- [2] CHEN X L, LU M Y. Progress of studies on application of ethrel in plant flower-formation regulation [J]. Guangxi Agric Sci, 2005, 36(2): 110–112. doi: 10.3969/j.issn.2095-1191.2005.02.008.
- 陈香玲, 卢美英. 乙烯利在植物成花方面的应用及研究进展 [J]. 广西农业科学, 2005, 36(2): 110–112. doi: 10.3969/j.issn.2095-1191.2005.02.008.
- [3] ZHANG J D. Study on chemical regulation of *Narcissus* blooms [J]. J Zhangzhou Teach Coll, 1995, 9(4): 112–112.
- 章骏德. 水仙化控的增花研究 [J]. 漳州师范学院学报(哲学社会科学版), 1995, 9(4): 112–115.
- [4] IMANISHI H. Effects of exposure of bulbs to smoke and ethylene on flowering of *Narcissus tazetta* cultivar ‘Grand Soleil d’Or’ [J]. Sci Hort, 1983, 21(2): 173–180.
- [5] SHEN Y H, JIANG T, ZHAO W W, et al. Study on technology and mechanism of ethylene treatment promotes the formation of more flowers of *Narcissus tazetta* var. *chinensis* [J]. J Agric Biotechnol, 2019, 27(6): 1003–1015. doi: 10.3969/j.issn.1674-7968.2019.06.006.
- 申艳红, 姜涛, 赵湾湾, 等. 乙烯处理水仙催多花技术和机理的研究 [J]. 农业生物技术学报, 2019, 27(6): 1003–1015. doi: 10.3969/j.issn.1674-7968.2019.06.006.
- [6] FANG Z. Morphological study on flower bud differentiation of *Narcissus tazetta* L. var. *chinensis* Roen [D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2017: 11–13.
- 方舟. 水仙‘金玉’花芽分化研究 [D]. 福州: 福建农林大学, 2017: 11–13.
- [7] ZHANG X Q, GAO J, PENG Z H. Morphological observation on flower bud differentiation and influences of storage conditions on the quantity of flower buds of *Narcissus tazetta* var. *chinensis* [J]. Bull Bot Res, 2012, 32(5): 549–553.
- 张晓晴, 高健, 彭镇华. 中国水仙花芽分化观察及储藏条件对花芽数的影响研究 [J]. 植物研究, 2012, 32(5): 549–553.
- [8] LI X L, YUAN Z Y, GAO D S. The research achievements on mechanism of floral formation in plants [J]. Acta Bot Boreali-Occid Sin, 2002, 22(1): 173–183. doi: 10.3321/j.issn:1000-4025.2002.01.031.
- 李宪利, 袁志友, 高东升. 高等植物成花分子机理研究现状及展望 [J]. 西北植物学报, 2002, 22(1): 173–183. doi: 10.3321/j.issn:1000-4025.2002.01.031.
- [9] KRAJNČIČ B, NEMEC J. The effect of jasmonic acid on flowering in *Spirodela polyrrhiza* (L.) Schleiden [J]. J Plant Physiol, 1995, 146(5/6): 754–756. doi: 10.1016/S0176-1617(11)81945-0.
- [10] HUANG Y M, ZENG X C. Induction effect of jasmonic acid (JA) related compounds on floret opening in rice [J]. Hubei Agric Sci, 2008, 47(10): 1125–1127. doi: 10.3969/j.issn.0439-8114.2008.10.008.
- 黄友明, 曾晓春. 茉莉酸相关化合物对水稻颖花开放的诱导效应 [J]. 湖北农业科学, 2008, 47(10): 1125–1127. doi: 10.3969/j.issn.0439-8114.2008.10.008.
- [11] KHURANA J P, TAMOT B K, MAHESHWARI N, et al. Role of catecholamines in promotion of flowering in a short-day duckweed, *Lemna paucicostata* 6746 [J]. Plant Physiol, 1987, 85(1): 10–12.
- [12] KAUR-SAWHNEY R, TIBURCIO A F, GALSTON A W. Spermidine and flower-bud differentiation in thin-layer explants of tobacco [J]. Planta, 1988, 173(2): 282–284. doi: 10.1007/BF00403022.
- [13] LIU S H, ZANG X P, ZHANG X M, et al. Changes of endogenous hormone levels during the inflorescence differentiation in pineapple (Smooth Cayenne. cv) [J]. Chin J Trop Crops, 2010, 31(9): 1487–1492. doi: 10.3969/j.issn.1000-2561.2010.09.010.
- 刘胜辉, 臧小平, 张秀梅, 等. 乙烯利诱导菠萝 (*Ananas comosus* (L.) Merrill) 花芽分化过程与内源激素的关系 [J]. 热带作物学报, 2010, 31(9): 1487–1492. doi: 10.3969/j.issn.1000-2561.2010.09.010.
- [14] ZHANG J. Review on Auxin signal transduction pathway and biological functions [J]. Life Sci Res, 2009, 13(3): 272–277. doi: 10.16605/j.cnki.1007-7847.2009.03.011.
- 张娟. 生长素信号转导途径及参与的生物学功能研究进展 [J]. 生命科学研究, 2009, 13(3): 272–277. doi: 10.16605/j.cnki.1007-7847.2009.03.011.
- [15] ZHOU L P, PAN C, WANG M X, et al. Progress on the mechanism of hormones regulating plant flower formation [J]. Hereditas, 2020, 42(8): 739–751. doi: 10.16288/j.ycz.20-014.
- 邹礼平, 潘铖, 王梦馨, 等. 激素调控植物成花机理研究进展 [J]. 遗传, 2020, 42(8): 739–751. doi: 10.16288/j.ycz.20-014.
- [16] KE D S, WANG A G, LUO G H. The effect of activated oxygen during the production of endogenous ethylene induced by exogenous ethylene [J]. Acta Phytophysiol Sin, 1997, 23(1): 67–72.
- 柯德森, 王爱国, 罗广华. 活性氧在外源乙烯诱导内源乙烯产生过程中的作用 [J]. 植物生理学报, 1997, 23(1): 67–72.
- [17] OGAWARA T, HIGASHI K, KAMADA H, et al. Ethylene advances the transition from vegetative growth to flowering in *Arabidopsis thaliana* [J]. J Plant Physiol, 2003, 160(11): 1335–1340. doi: 10.1078/0176-1617-01129.
- [18] DUKOVSKI D, BERNATZKY R, HAN S S. Flowering induction of *Guzmania* by ethylene [J]. Sci Hort, 2006, 110(1): 104–108. doi: 10.1016/j.scienta.2006.05.004.
- [19] POGSON B J, DOWNS C G, DAVIES K M. Differential expression of

- two 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid oxidase genes in broccoli after harvest [J]. *Plant Physiol*, 1995, 108(2): 651–657. doi: 10.1104/pp.108.2.651.
- [20] SUN S S, WEN X P, YANG F Y, et al. Cloning of ACC oxidase gene from *Narcissus tazetta* var. ‘Yunxiang’ and its transformation [J]. *Acta Hort Sin*, 2017, 44(7): 1388–1396. doi: 10.16420/j.issn.0513-353x.2016-0884.
- 孙申申, 温秀萍, 杨菲颖, 等. ‘云香’水仙 ACC 氧化酶基因克隆及遗传转化 [J]. *园艺学报*, 2017, 44(7): 1388–1396. doi: 10.16420/j.issn.0513-353x.2016-0884.
- [21] DOLGIKH V A, PUKHOVAYA E M, ZEMLYANSKAYA E V. Shaping ethylene response: The role of EIN3/EIL1 transcription factors [J]. *Front Plant Sci*, 2019, 10: 1030. doi: 10.3389/fpls.2019.01030.
- [22] XU J. Functional study of NFT1 and NEIN3 genes related to dormancy regulation in *Narcissus tazetta* var. *chinensis* [D]. Shanghai: East China Normal University, 2013: 63–65.
- 许静. 中国水仙休眠调控相关基因 *NFT1* 和 *NEIN3* 的功能研究 [D]. 上海: 华东师范大学, 2013: 63–65.
- [23] LI Z Y, ZHANG X Q, ZHANG K, et al. Cloning and expressing analysis of *EIN3* in *Aechmea fasciata* [J]. *Mol Plant Breed*, 2015, 13(1): 139–144.
- 李志英, 张学全, 张鲲, 等. 蜻蜓凤梨中 *EIN3* 的克隆及其表达特性分析 [J]. *分子植物育种*, 2015, 13(1): 139–144.
- [24] AN F Y, GUO H W. Molecular mechanism of ethylene signal transduction [J]. *Chin Bull Bot*, 2006, 23(5): 531–542. doi: 10.3969/j.issn.1674-3466.2006.05.009.
- 安丰英, 郭红卫. 乙烯信号转导的分子机制 [J]. *植物学通报*, 2006, 23(5): 531–542. doi: 10.3969/j.issn.1674-3466.2006.05.009.
- [25] SONG Y, DOU L D, ZHANG H J. Molecular and genetic mechanisms of control of floral induction in higher plants [J]. *Plant Physiol J*, 2014, 50(10): 1459–1468. doi: 10.13592/j.cnki.ppj.2014.0270.
- 宋杨, 窦连登, 张红军. 高等植物成花诱导调控的分子和遗传机制 [J]. *植物生理学报*, 2014, 50(10): 1459–1468. doi: 10.13592/j.cnki.ppj.2014.0270.
- [26] BAO S J, HUA C M, SHEN L S, et al. New insights into gibberellin signaling in regulating flowering in *Arabidopsis* [J]. *J Integr Plant Biol*, 2020, 62(1): 118–131. doi: 10.1111/jipb.12892.
- [27] WANG L N, LIU Q L. Phylogenetic tree and function analysis of inflorescence meristem identity gene *TFL1* [J]. *China Biotechnol*, 2008, 28(1): 106–112. doi: 10.3969/j.issn.1671-8135.2008.01.019.
- 王丽娜, 刘青林. 花序分生组织特性基因 *TFL1* 的系统发育及其功能分析 [J]. *中国生物工程杂志*, 2008, 28(1): 106–112. doi: 10.3969/j.issn.1671-8135.2008.01.019.
- [28] KARLBERG A, BAKO L, BHALERAO R P. Short day-mediated cessation of growth requires the downregulation of AINTEGUMENTALIKE1 transcription factor in hybrid aspen [J]. *PLoS Genet*, 2011, 7(11): e1002361. doi: 10.1371/journal.pgen.1002361.
- [29] MUDUNKOTHGE J S, KRIZEK B A. Three *Arabidopsis* *AIL/PLT* genes act in combination to regulate shoot apical meristem function [J]. *Plant J*, 2012, 71(1): 108–121. doi: 10.1111/j.1365-313X.2012.04975.x.
- [30] TAKAGI N, UEGUCHI C. Enhancement of meristem formation by *bouquet-1*, a mis-sense allele of the *VERNALIZATION INDEPENDENCE 3* gene encoding a WD40 repeat protein in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Genes Cells*, 2012, 17(12): 982–993. doi: 10.1111/gtc.12014.
- [31] CONG H Q. Expression characterization of flowering related genes after ethylene treatment in *Aechmea fasciata* and preliminary study on molecular mechanism of flower induction [D]. Haikou: Hainan University, 2012: 87–92.
- 丛汉卿. 乙烯诱导蜻蜓凤梨开花相关基因表达分析及其催花分子机制的初步研究 [D]. 海口: 海南大学, 2012: 87–92.
- [32] KANIA T, RUSSENBERGER D, PENG S, et al. *Fpfl* promotes flowering in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell*, 1997, 9(8): 1327–1338. doi: 10.1105/tpc.9.8.1327.
- [33] MELZER S, KAMPMANN G, CHANDLER J, et al. *FPFL* modulates the competence to flowering in *Arabidopsis* [J]. *Plant J*, 1999, 18(4): 395–405. doi: 10.1046/j.1365-313X.1999.00461.x.
- [34] WANG X Y, FAN S L, SONG M Z, et al. Upland cotton gene *ghfpfl* confers promotion of flowering time and shade-avoidance responses in *Arabidopsis thaliana* [J]. *PLoS ONE*, 2014, 9(3): e91869. doi: 10.1371/journal.pone.0091869.
- [35] MANDEL M A, GUSTAFSON-BROWN C, SAVIDGE B, et al. Molecular characterization of the *Arabidopsis* floral homeotic gene *APETALA1* [J]. *Nature*, 1992, 360(6401): 273–277. doi: 10.1038/360273a0.
- [36] LU S J, WEI H, WANG Y, et al. Overexpression of a transcription factor *OsMADS15* modifies plant architecture and flowering time in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *Plant Mol Biol Rep*, 2012, 30(6): 1461–1469. doi: 10.1007/s11105-012-0468-9.