



王梦迪, 梁佳惠, 潘文强, 马艳芳, 金梦竹, 张铭芳, 杨凤萍, 张秀海, 于晓南, 杜运鹏. 乙烯响应因子 *LIERF12* 调控卷丹珠芽发生机制的初步解析[J]. 中国农业大学学报, 2025, 30(02): 80-93.

WANG Mengdi, LIANG Jiahui, PAN Wenqiang, MA Yanfang, JIN Mengzhu, ZHANG Mingfang, YANG Fengping, ZHANG Xiuhai, YU Xiaonan, DU Yunpeng. Preliminary analysis of the mechanism of ethylene response factor *LIERF12* regulating bulbil formation in *Lilium lancifolium* [J]. *Journal of China Agricultural University*, 2025, 30(02): 80-93.

DOI: 10.11841/j.issn.1007-4333.2025.02.08

乙烯响应因子 *LIERF12* 调控卷丹珠芽发生机制的初步解析

王梦迪^{1,2} 梁佳惠² 潘文强² 马艳芳^{1,2} 金梦竹^{1,2} 张铭芳² 杨凤萍² 张秀海²
于晓南^{1*} 杜运鹏^{2*}

(1. 北京林业大学 园林学院/花卉种质创新与分子育种北京市重点实验室, 北京 100083;

2. 北京市农林科学院 草业花卉与景观生态研究所/国家林业草原赏食百合工程技术研究中心, 北京 100097)

摘 要 为探究乙烯(Ethylene)对卷丹珠芽发生的作用,以卷丹(*Lilium lancifolium*)为试验材料,利用不同浓度的乙烯利(Ethephon, ETH)和乙烯信号转导抑制剂1-甲基环丙烯(1-Methylcyclopropene, 1-MCP)处理卷丹茎段,对其进行表型统计、生理指标测定和下游基因表达情况分析;通过卷丹珠芽形成过程的转录组数据筛选到可能参与调控珠芽发生的乙烯响应转录因子——*LIERF12*(Ethylene responsive factor 12),利用生物信息学软件对其生化特性分析预测;利用实时荧光定量法检测 *LIERF12* 基因在不同时期、不同组织、不同百合品种以及不同浓度ETH和1-MCP处理下的表达;最终通过基因沉默技术验证 *LIERF12* 在卷丹珠芽发生过程中的作用。结果表明:1)卷丹珠芽的发生发育过程共划分为4个时期:S0~S3;2)1-MCP处理导致叶腋处葡萄糖含量增加,通过促进腋芽发生标志基因 *L1STM*(*SHOOTMERISTEMLESS*)的表达量而促进卷丹珠芽的发生数量,而ETH处理则通过抑制 *L1STM* 表达而抑制了珠芽发生数量;3)*LIERF12* 在珠芽准备发生时期表达量较高,并且在自然能发生珠芽的百合品种中的表达量显著高于其他百合品种;4)ETH处理显著抑制 *LIERF12* 的表达,1-MCP处理则相反;5)沉默 *LIERF12* 基因导致 *L1STM* 表达下降,进一步抑制了卷丹珠芽的发生数量,证明了 *LIERF12* 在珠芽发生过程中的正调控作用。综上, *LIERF12* 通过响应乙烯信号转导,促进叶腋处葡萄糖积累,影响下游腋芽发生标志基因 *L1STM* 的表达,从而调控卷丹珠芽的形成。

关键词 卷丹; 珠芽; *LIERF12*; 乙烯; 基因沉默

中图分类号 S682.2+9

文章编号 1007-4333(2025)02-0080-14

文献标志码 A

Preliminary analysis of the mechanism of ethylene response factor *LIERF12* regulating bulbil formation in *Lilium lancifolium*

WANG Mengdi^{1,2}, LIANG Jiahui², PAN Wenqiang², MA Yanfang^{1,2}, JIN Mengzhu^{1,2},
ZHANG Mingfang², YANG Fengping², ZHANG Xiuhai², YU Xiaonan^{1*}, DU Yunpeng^{2*}

(1. College of Landscape Architecture/Beijing Key Laboratory of Ornamental Plants Germplasm Innovation & Molecular Breeding, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China;

2. Institute of Grassland, Flowers and Ecology/Ornamental & Edible Lily Engineering Research Center of National Forestry and Grassland, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Beijing 100097, China)

收稿日期: 2024-06-18

基金项目: 国家自然科学基金项目(32171864, 32371954); 北京市农林科学院优秀青年基金项目(YXQN202303); 北京市农林科学院国际科技合作平台建设项目(2024-13)

第一作者: 王梦迪(ORCID:0009-0005-4951-8139), 硕士研究生, E-mail: mengd_wang@163.com

通讯作者: 于晓南(ORCID:0000-0001-6471-5812), 教授, 主要从事园林植物资源与育种、观赏植物栽培与生产研究, E-mail: yuxiaonan626@126.com

杜运鹏(ORCID:0000-0001-7188-1309), 副研究员, 主要从事百合等主要球根植物种质创新与利用、鳞茎高质高效繁育相关基础及产业化关键技术研发与应用研究, E-mail: dyp_851212@126.com

Abstract To explore the effect of ethylene on bulbil formation of *Lilium lancifolium*, the stem segment of *Lilium lancifolium* was treated with different concentrations of ethephon (ETH) and ethylene signal transduction inhibitor 1-methylcyclopropene (1-MCP). The phenotypic statistics, physiological index determination and downstream gene expression analysis were carried out. The ethylene responsive factor *LIERF12* that may be involved in the regulation of bulbil formation was screened by using transcriptome data of *L. lancifolium* bulbil formation process. Bioinformatics software was used to analyze and predict its biochemical characteristics. The expression of *LIERF12* gene in different periods, different tissues, different lily varieties and different concentrations of ETH and 1-MCP treatment was detected by real-time fluorescence quantification. Finally, the role of *LIERF12* in the process of bulbil formation of *L. lancifolium* was verified by VIGS technology. The results showed that: 1) The development process of *L. lancifolium* bulbils was divided into four periods, which were S0, S1, S2, and S3; 2) 1-MCP treatment increased the glucose content in leaf axils and promoted the number of bulbils by promoting the expression of axillary bud marker gene *LISTM* (*SHOOTMERISTEMLESS*), while ETH treatment reduced the number of bulbils by inhibiting the expression of *LISTM*. 3) The expression level of *LIERF12* was higher in the period of bulbil preparation, and the expression level of *LIERF12* in lily varieties with natural bulbils was significantly higher than in other lily varieties. 4) ETH treatment significantly inhibited the expression of *LIERF12*, while 1-MCP treatment was the opposite. 5) Silencing the *LIERF12* gene resulted in a decrease in the expression of *LISTM*, which further inhibited the number of bulbils of *L. lancifolium*, demonstrating the positive regulatory role of *LIERF12* in the process of bulbil formation. In summary, *LIERF12* promotes the accumulation of glucose in leaf axils and affects the expression of the downstream axillary bud marker gene *LISTM* by responding to ethylene signal transduction, thereby regulating the formation of bulbils of *L. lancifolium*.

Keywords *Lilium lancifolium*; bulbil formation; *LIERF12*; ethylene; gene silencing

百合(*Lilium* spp.)是百合科(Liliaceae)百合属(*Lilium*)植物,是世界上具有重要商业价值的球根花卉。我国是世界百合属植物的自然分布中心,分布于我国的野生百合资源占世界百合属植物的50%以上,种质资源丰富^[1]。然而,我国百合种球繁育技术相对落后,种球退化严重,约90%以上的观赏百合种球依赖进口^[1]。目前,鳞片扦插是我国百合种球生产中常用的繁殖方式,但该种繁殖方式易受母鳞片营养供应和病毒积累等因素限制,影响种球质量。此外,百合还可以通过珠芽繁殖、组织培养与种子繁殖等方式进行繁殖。近年来相关研究发现,珠芽繁殖具有病毒含量低^[2-3]、容易脱毒^[4]、繁殖效率高和生产均一化程度好^[5]等优势。因此,珠芽繁殖是百合种球生产中具有开发潜力的无性繁殖方式之一。

珠芽是植物为了抵御不良环境和保障物种延续的一种进化策略,主要存在于百合属(*Lilium* L.)、半夏属(*Pinellia* Tenore)和薯蓣属(*Dioscorea* L.)^[6]。植物的珠芽主要着生在叶腋、茎节、花序和叶柄上,形态学和解剖学表明珠芽是由着生部位的分生组织分裂分化而来^[6]。百合珠芽主要着生于叶腋,是由腋生分生组织(Axillary meristems, AMs)发

育而来^[7-8]。自然界能够产生珠芽的百合有卷丹(*Lilium lancifolium*)、泸定百合(*Lilium sargentiae*)、淡黄花百合(*Lilium sulphureum*)和珠芽百合(*Lilium bulbiferum*)等,大部分亚洲百合杂种等系列在经过人为打顶或外源激素处理下也能够产生珠芽^[9]。卷丹作为自然三倍体植物,珠芽繁殖是其自然状态下繁殖的主要方式。研究发现,卷丹珠芽产生于植物中上部叶腋处,首先由叶柄基部表皮下的薄壁细胞经过平周分裂和垂周分裂形成隆起的腋生分生组织,即发生过程;之后通过分裂分化产生具有鳞片和顶端分生组织的成熟珠芽,即发育过程^[10]。

已有研究报道,百合珠芽的发生和发育过程受到多种激素调控,包括生长素(Auxin)、赤霉素(GA)、细胞分裂素(CTK)、脱落酸(ABA)、茉莉酸(JA)和独脚金内酯(SL)等^[6],但是乙烯对珠芽形成的调控机制鲜有报道。乙烯是最早被确立为植物激素的植物调节物质之一,能促进种子萌发、叶片扩展、根毛伸长、侧根生长,诱导花芽分化和打破休眠,并参与果实成熟以及叶片脱落等过程^[11-15]。乙烯在植物腋芽的发生发育过程也起到关键作用,植物茎顶端高水平且自由扩散的乙烯

有利于腋芽的发生,但叶腋处高水平的乙烯往往会抑制腋芽的发生^[16]。ERF(Ethylene-responsive transcription factors)属于AP2/ERF(APETALA2/ETHYLENE RESPONSE FACTOR)亚家族,在乙烯信号转导通路中发挥重要作用,参与植物多种生命活动及逆境胁迫应答^[17]。有研究报道,水稻突变体基因*DSP*(*Defective stigma and panicle*)编码包含识别GCC基序的AP2/ERF结构域的转录因子,通过调控*PID*(*PINOID*)而作用于柱头起始过程;通过间接调控*LAX1*(*LAX PANICLE1*)而作用于分蘖起始过程,并且*DSP*与*LAX1*协同调控穗型的发育^[18]。水稻AP2/ERF转录因子*Os-EATB*(For ERF protein associated with tillering and panicle branching)会降低成熟期水稻的植株高度和穗长,促进分蘖和小穗的分枝潜力^[19]。此外,拟南芥AP2/ERF转录因子*AtEBE*(*ERF BUD ENHANCER*)在增殖细胞中强烈表达,并在植株打顶后在AMs中迅速且短暂地上调,并且过表达*AtEBE*会刺激腋芽的形成^[20]。但目前乙烯参与调控植物AMs发生以及腋芽发育过程的研究较少,其具体机制还有待探究。

本研究拟通过对卷丹珠芽的形成过程进行形态学观察和对卷丹茎段进行外源乙烯利(ETH)和1-甲基环丙烯(1-MCP)处理,并利用转录组分析、荧光定量(qRT-PCR)分析和TRV(烟草脆裂病毒)介导的VIGS(Virus induced gene silencing)等方法初步探究*LIERF12*在卷丹珠芽发生过程中的作用,以期优化百合珠芽繁殖技术提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

卷丹选自北京市农林科学院国家百合种质资源库,将卷丹独头种球栽植于北京市农林科学院玻璃温室中。结合张雪敏等^[3]的划分方式,将卷丹珠芽形成过程划分为S0、S1、S2和S3共4个时期,并对其进行形态学观察和取材。每个时期包含3个生物学重复,每个重复来源于3株卷丹叶腋的混样,每株卷丹取同一部位相邻的2个叶腋;迅速放入液氮后于-80℃储存,用于转录组测序与基因表达量检测。

用不同浓度的ETH和1-MCP处理卷丹茎段。茎段组培参考体外小鳞茎诱导系统^[21-22]。待冷藏的卷丹种球定植后萌芽至20 cm左右时,选用生长良好、状况一致的植株,截取约10 cm长的上部茎段,剪去2/3的叶片,于流水中冲洗1 h。之后用75%乙醇处理30 s,3%二氯异氰尿酸钠溶液处理30 min,用无菌水清洗3~5次。将茎段接种在含有不同浓度ETH和1-MCP并以脱脂棉为支撑物的液体MS(Murashige and Skoog)培养基上,组培室温度为(25±1)℃,光照强度2 000 μmol/(m²·s),光照16 h,黑暗8 h。为探讨乙烯在卷丹珠芽形成中的作用,采用不同浓度的ETH和1-MCP对茎段进行了5组处理^[23-24](表1)。待叶腋处发生珠芽时进行统计取材,每个处理包含3组生物学重复,每个重复来源于随机选择的5个卷丹茎段的30个叶腋混样。将样品迅速放入液氮后于-80℃储存,用于葡萄糖含量测定及基因表达量检测。

表1 本研究卷丹茎段的不同处理
Table 1 The stem segment treatment of *L. lancifolium* in this study

处理 Treatment	培养基成分 Medium component
对照 Control	4. 47 g/L MS+30 g/L 蔗糖(pH 5. 8)
乙烯利处理组 Ethephon treatment group	4. 47 g/L MS+30 g/L 蔗糖(pH 5. 8)+50 mg/L ETH 4. 47 g/L MS+30 g/L 蔗糖(pH 5. 8)+100 mg/L ETH
1-甲基环丙烯处理组 1-Methylcyclopropene treatment group	4. 47 g/L MS+30 g/L 蔗糖(pH 5. 8)+2 mg/L 1-MCP 4. 47 g/L MS+30 g/L 蔗糖(pH 5. 8)+8 mg/L 1-MCP

注: MS, Murashige 和 Skoog 培养基;ETH, 乙烯利; 1-MCP, 1-甲基环丙烯。
Note: MS, Murashige and Skoog medium; ETH, ethephon; 1-MCP, 1-Methylcyclopropene.

1.2 试验方法

1.2.1 总RNA提取和 *LIERF12* 表达分析

卷丹叶腋总RNA由多糖多酚植物离心柱型RNA快速提取试剂盒(Vazyme, RC401-01)提取。根据反转录试剂盒(Vazyme, R223-01)获得cDNA。将cDNA模板稀释至300 ng/ μ L进行qRT-PCR^[25]。荧光定量PCR反应条件和体系参考吴健^[26]方法,以FP(*F-BOX FAMILY PROTEIN*)基因为内参基因,采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法进行定量数据分析。

目的基因序列来源于转录组数据(NCBI登录号: PRJNA916842),其开放阅读框(Open reading frames, ORF)序列在ORF Finder在线网站(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder/>)搜索获得,定量引物使用Gen Script在线网站(<https://www.genscript.com/tools/real-time-pcr-taqman-primer-design-tool>)进行设计,在线界面Organism参数选择其他,产物片段大小范围选择180~220 bp,退火温度 ≥ 60 $^{\circ}\text{C}$ ^[27]。按照引物设计原则,进行定量引物筛选。本试验所用引物均由北京擎科生物技术股份有限公司合成(表2)。

表2 本研究引物及其序列信息

Table 2 Primers and sequences information in this study

引物名称 Primer name	碱基序列(5'-3') Base sequence(5'-3')
<i>LIERF12</i> -qPCR-F	ACCTCTACTGGGCAGCCTGT
<i>LIERF12</i> -qPCR-R	CTCTGAGGCGGCATCGAAGG
FP-F	TCGCCTACATCGCTAACCC
FR-R	TTCCCAATAATCGCAAGACC
<i>LIERF12</i> -TRV2-F	ACACCAACCCTTCGGAAACCA
<i>LIERF12</i> -TRV2-R	GAGAAGGGCGGCATCGTAGG
<i>L/STM</i> -qPCR-F	GTCGCGTCCTTCCTCACCAC
<i>L/STM</i> -qPCR-R	AGCGCCGGATTCTGTCAACAT

1.2.2 卷丹珠芽转录组数据中 *ERF* 基因家族的表达热图

基于卷丹珠芽转录组数据,利用TBtools绘制 *ERF* 基因家族在卷丹珠芽发生发育时期的表达热图,筛选出在卷丹珠芽形成过程中差异表达的关键 *ERF* 基因。

1.2.3 蛋白质理化性质分析、多序列比对及系统进化树构建

从TAIR数据库下载拟南芥的AP2/ERF家族基因蛋白序列,利用ClustalW软件进行蛋白的多序列比对,导出比对结果后,利用MEGA 7软件对拟南芥目的基因蛋白序列进行多序列比对,然后采用邻接法(Neighbor-Joining method)构建系统发育进化树。

借助Prot Param在线软件分析 *LIERF12* 蛋白的理化性质,使用Prot Scale在线软件预测 *LIERF12* 蛋白的亲疏水性,使用在线软件TMHMMServerv2.0分析 *LIERF12* 蛋白氨基酸的跨膜结构域,使用Net Phos 2.0 Server在线软件预测 *LIERF12* 蛋白质磷酸化位点^[3,27-28]。

1.2.4 *LIERF12* 的基因功能验证

选择目的基因长为263 bp的特异序列进行沉默,并设计上游引物 *LIERF12*-TRV2-F、下游引物 *LIERF12*-TRV2-R(表2)。使用卷丹珠芽S0时期cDNA为模板进行PCR扩增,扩增体系50 μ L,退火温度设为58 $^{\circ}\text{C}$,其中包括25 μ L 2 $\times$ Phanta Master Mix,上、下游引物各1 μ L,cDNA 2 μ L和ddH₂O 21 μ L。PCR仪反应程序:98 $^{\circ}\text{C}$ 30 s,98 $^{\circ}\text{C}$ 10 s,56 $^{\circ}\text{C}$ 5 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 15 s,35个循环,最后以72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸5 min,4 $^{\circ}\text{C}$ 保存^[27]。扩增产物经质量分数1.5%琼脂糖凝胶电泳检测,目的片段使用DNA通用型纯化回收试剂盒(DP214, TIANGEN)进行纯化回收。使用 *EcoRI* 内切酶对TRV2载体进行单酶切,与回收后的PCR产物使用同源重组法(TSV-S1,擎科生物)连接后,转化DH5 α 大肠杆菌感受态,测序后将构建成功的 *LIERF12*-TRV2载体和TRV1、TRV2空载分别转化至EHA105农杆菌中。

利用VIGS方法沉默 *LIERF12* 基因,选择生长良好、大小均一、芽长约5 cm的卷丹种球为材料,分别将 *LIERF12*-TRV2或TRV2、TRV1农杆菌侵染液($\text{OD}_{600}=1.0$)以体积比1:1混合,28 $^{\circ}\text{C}$ 避光静置3~5 h^[29]。对卷丹种球进行扎孔处理后,放入配制好的农杆菌重悬液中抽真空(0.8 MPa,5 min,重复2次)。将处理好的种球种植在北京市农林科学院玻璃温室中生长,以进行后续的表型观察。待种植后约60 d,对沉默植株进行珠芽数量统计^[30],进行3个生物学重复,每个重复由3个植株组成;然后迅速放入液氮后于-80 $^{\circ}\text{C}$ 储存,并取材进行后续的定量检

测和生理指标测定。

1.2.5 葡萄糖含量测定

选取 ETH、1-MCP 处理的茎段和 VIGS 植物的上部未发生珠芽的叶腋组织进行取材,迅速冻存在液氮中并储存于 -80°C 。使用葡萄糖含量测定试剂盒(BC2500, Solarbio)测定卷丹叶腋处的葡萄糖含量。样品为 0.1 g, 并进行 3 个生物学重复。

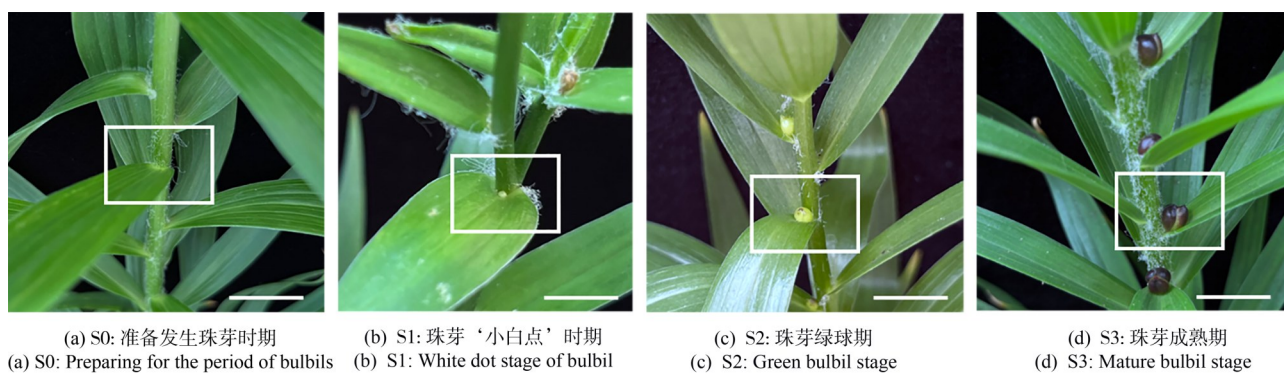
1.3 数据处理

数据通过 SPSS 软件进行显著性差异分析,采用 One-way ANOVA 和 Post hoc Tukey's HSD 方法, $P < 0.05$ 代表差异显著;采用 Student's t 检验进行统计分析,*表示具有显著性差异($P < 0.05$),**表示具有极显著性差异($P < 0.01$)。

2 结果与分析

2.1 卷丹珠芽发生发育的时期划分及形态学观察

为了解卷丹珠芽形成,通过连续观察,将卷丹珠芽发生发育过程划分为 4 个时期,分别是:植株中上部第 1 个叶腋处产生小白点状珠芽的 S1 时期、S1 时期上部(约 2 cm 处)待发生珠芽的叶腋处为 S0 时期、小白点状珠芽发育为绿色珠芽的 S2 时期以及最终发育成具有紧密鳞片结构的紫色成熟珠芽的 S3 时期(图 1)。其中,S0~S1 时期为珠芽发生时期,S1~S3 时期为珠芽发育时期。在种植后约 60 d,对整个卷丹植株进行整体观察,发现茎下部的黑色珠芽比上部的珠芽形成时间早,表明珠芽从下到上成熟,并且卷丹产生珠芽的位置主要集中在植株的中上部叶腋处。



S0~S3 依次发生在种植后约 10、20、40 和 60 d。白色方框为珠芽发生处。标尺为 1 cm。

Stages S0 to S3 are progressed sequentially at around 10, 20, 40, and 60 d, respectively. The white box indicates where the bulbil occurs. Scale=1 cm.

图 1 卷丹珠芽发生发育过程的形态学观察

Fig. 1 Morphological observation on the development of bulbils in *L. lancifolium*

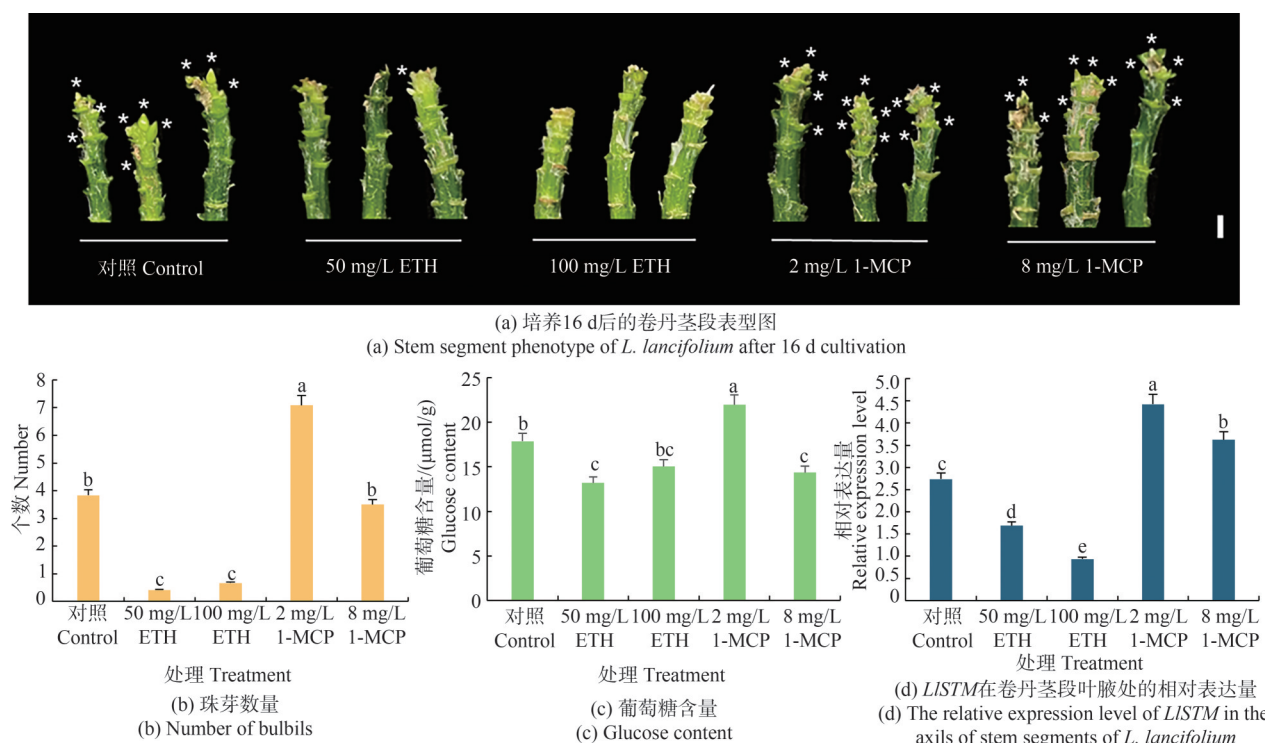
2.2 ETH 和 1-MCP 处理对卷丹珠芽发生的影响

为了探究乙烯对卷丹珠芽发生的影响,将卷丹茎段在含不同浓度 ETH 和 1-MCP 的 MS 液体培养基上进行培养,16 d 后观察表型并统计取材(图 2(a))。2 mg/L 的 1-MCP 可以显著促进卷丹茎段珠芽的形成,50 和 100 mg/L 的 ETH 则显著抑制珠芽的形成($P < 0.05$,图 2(b))。由于已有研究表明葡萄糖对百合珠芽发生具有促进作用^[30],本研究对不同浓度 ETH 和 1-MCP 处理的卷丹茎段上部叶腋进行葡萄糖含量测定发现,与对照相比,2 mg/L 的 1-MCP 处理导致叶腋处葡萄糖含量显著增加($P < 0.05$),8 mg/L 的 1-MCP 处理和 50 mg/L 的 ETH 处理则显著降低了叶腋处的葡萄糖含量($P <$

0.05),而 100 mg/L 的 ETH 处理与对照无显著差异(图 2(c))。通过 qRT-PCR 方法测定了 ETH、1-MCP 处理茎段叶腋处的 AMs 发生标志基因 *LlSTM* 的表达量,结果发现,*LlSTM* 被 1-MCP 处理激活,被 ETH 处理抑制($P < 0.05$,图 2(d))。以上结果表明:乙烯可能通过影响 *LlSTM* 的表达而抑制珠芽的发生,而乙烯信号转导抑制剂 1-MCP 的处理则通过增加葡萄糖含量、激活 *LlSTM* 表达而促进珠芽发生。

2.3 乙烯响应因子 ERF 家族基因在卷丹珠芽发生发育阶段的表达

为了进一步探究乙烯在卷丹珠芽发生过程中的分子机制,本研究利用卷丹珠芽发生发育阶段的



白色星号为珠芽发生处,标尺为0.5 cm。柱状图为3个生理重复的平均值±标准误。数据采用ANOVA和post hoc Tukey's HSD分析,图(b)~(d)中的小写字母代表差异显著($P < 0.05$)。ETH: 乙烯利; 1-MCP: 1-甲基环丙烯。图7和图8同。

The white asterisk indicates where the bulbil occurs. The scale bars represent 0.5 cm. The bars represent the mean±SD of three biological replicates. The data are analyzed by ANOVA and post hoc Tukey's HSD. The lowercase letters in Figures (b)~(d) represent significant differences ($P < 0.05$). ETH, ethephon; 1-MCP, 1-Methylcyclopropene. The same as Figs 7 and 8.

图2 ETH和1-MCP处理对卷丹茎段珠芽发生的影响

Fig. 2 Stem segments of *L. lancifolium* treated with ETH and 1-MCP

转录组数据对乙烯响应因子ERF家族基因的表达进行分析(图3(a)),并从中筛选出在S0和S1时期差异表达的ERF基因,发现 $LIERF12[\log_2(S0) > 1.5, \log_2(S1) < 0.5]$ 在卷丹珠芽S0时期有较高的表达,在S1时期表达量较低(图3(b)~(c))。

2.4 *LIERF12*蛋白系统进化树构建

为了解 $LIERF12$ 的生化特性,本研究将筛选出的 $LIERF12$ 转录因子与拟南芥AP2/ERF转录因子家族进行聚类(图4)。 $LIERF12$ 与拟南芥At1g77640亲缘关系最近,处于同一个进化分支上;其次,At1g44830(AtERF14)、At1g21910(AtDREB26)、At1g01250(AtERF23)、At1g71520(AtERF20)和At1g22810(AtERF19)聚类到相邻进化枝上,表明其与 $LIERF12$ 蛋白的亲缘关系较近。

2.5 *LIERF12*蛋白生物信息学分析

为了进一步探究 $LIERF12$ 的生化特性,对 $LIERF12$ 蛋白理化性质进行预测分析。 $LIERF12$

基因序列全长642 bp,编码214个氨基酸。该蛋白由22种氨基酸组成,丝氨酸(Ser)的含量最丰富(约占17%)(图5(a))。 $LIERF12$ 蛋白质的分子式为 $C_{1763}H_{2940}N_{588}O_{722}S_{176}$,相对分子质量为49 568.80,理论等电点(pI)为5.12。蛋白质不稳定系数为53.77,蛋白脂肪系数为24.66,亲水性平均系数为0.943,因此 $LIERF12$ 为不稳定亲水性蛋白(图5(b))。 $LIERF12$ 蛋白定位于膜外的概率约为1,且序列不包含跨膜区域,推测其不属于跨膜蛋白(图5(c))。 $LIERF12$ 蛋白序列包含52个磷酸化预测位点,涉及到Ser磷酸化位点有35个、苏氨酸(Thr)磷酸化位点有13个、酪氨酸(Tyr)磷酸化位点有4个(图5(d))。

$LIERF12$ 蛋白的二级结构预测由3种类型组成,其中包括69.74%的无规则卷曲(Coil)、24.62%的 α 螺旋(Alpha helix)、5.64%的延伸链(Extended strand),预测 $LIERF12$ 蛋白的主要二级结构是无规则卷曲(图6(a))。另外,通过预测

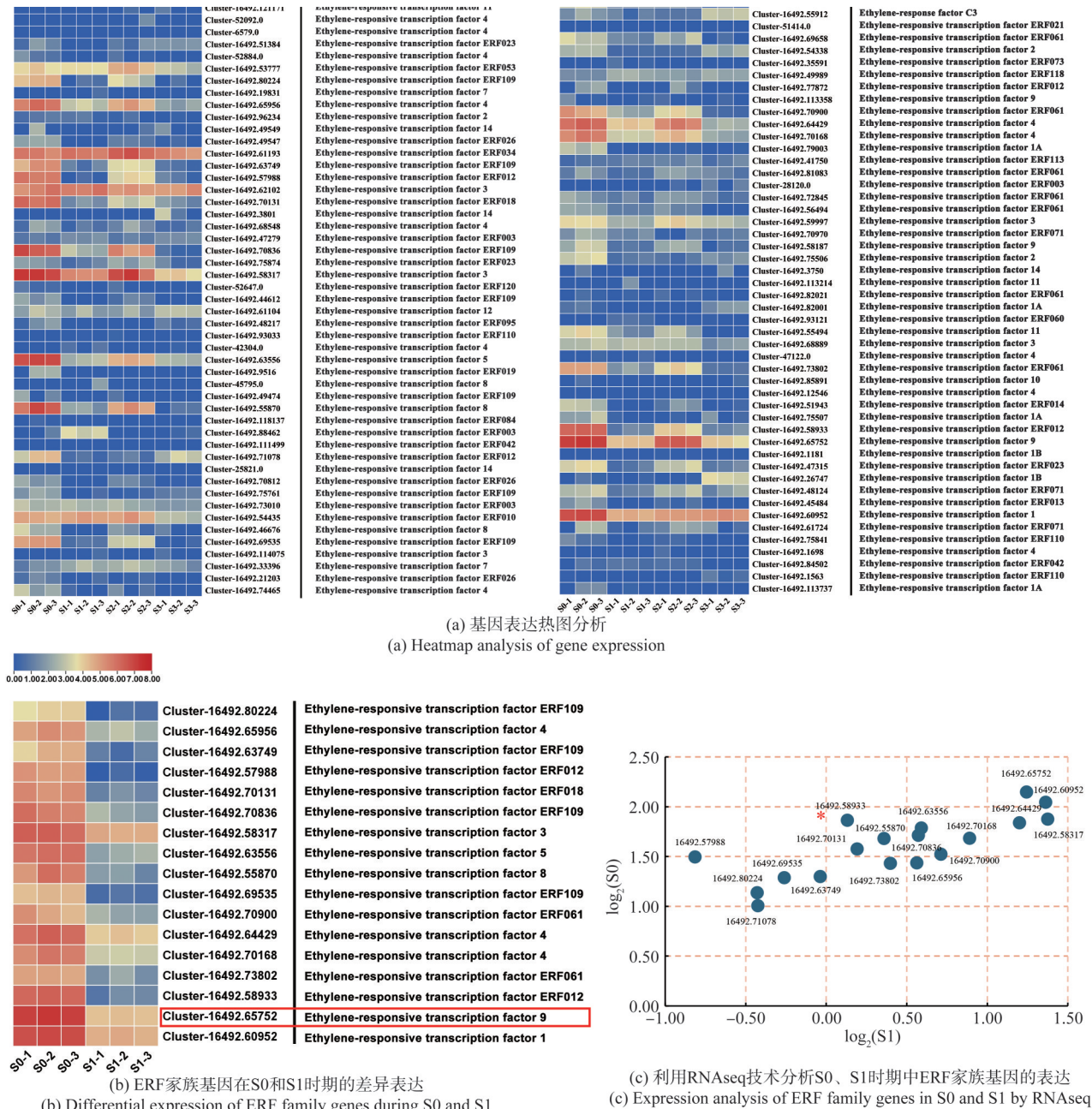


图3 乙烯响应因子ERF家族基因在卷丹珠芽发生发育过程的基因表达分析

Fig. 3 Analysis of ethylene response factor (ERF) family genes expression during bulbil development in *L. lancifolium*

LIERF12的三级结构发现, LIERF12是以AP2/ERF domain-containing protein作为目标建立了三维结构模型(图6(b))。

2.6 LIERF12的表达模式分析

为了探究LIERF12的表达模式,本研究首先通过qRT-PCR测定了LIERF12在卷丹珠芽发生时期植株上下部叶腋处、珠芽发生发育各时期和各组织

中的表达量。在S0时期, LIERF12在卷丹植株上部叶腋处的表达量要显著高于下部叶腋,也显著高于珠芽发育过程的S1~S3时期($P < 0.05$, 图7(a)~(b)), 推测LIERF12在卷丹植株上部叶腋处珠芽准备发生的S0时期的高水平表达有利于珠芽的发生。此外, 通过测定LIERF12在卷丹各个组织中的表达量, 发现其在叶片中表达水平最高($P < 0.05$, 图7(c))。



图4 乙烯响应因子ERF转录因子家族系统进化树

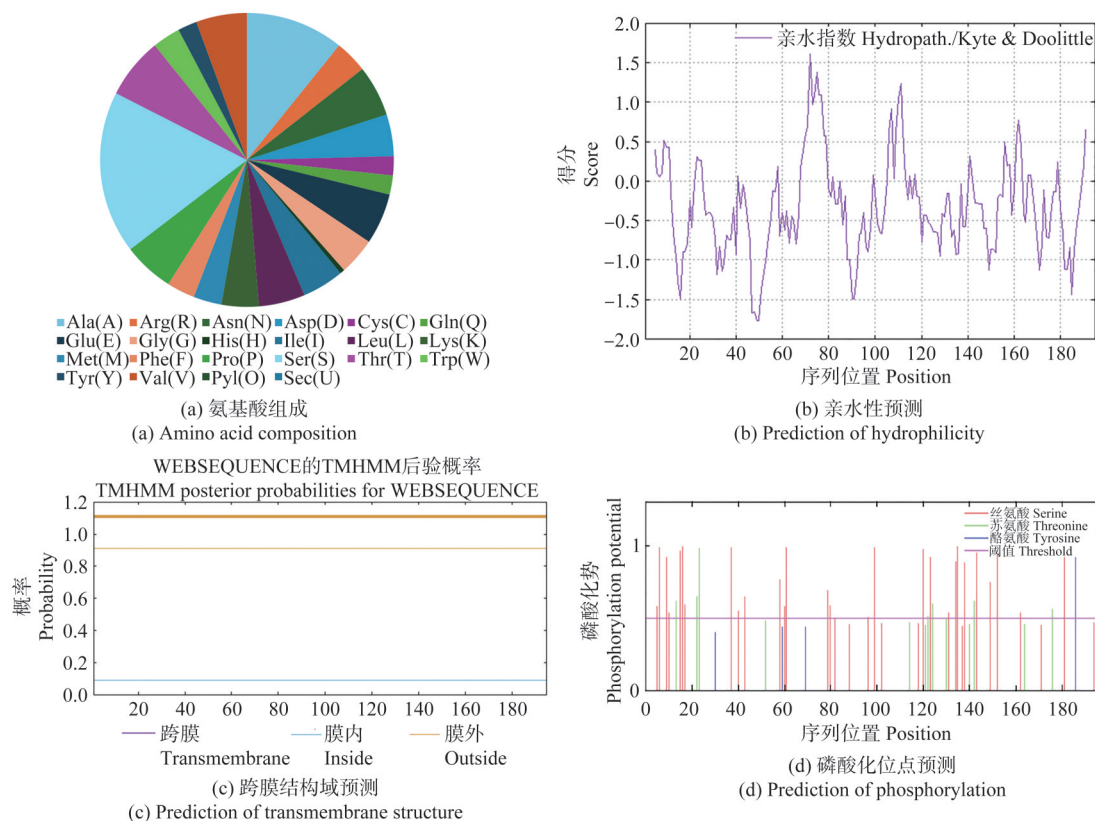


图5 LIERF12蛋白理化性质分析

Fig. 5 Analysis of physicochemical properties of LIERF12 protein

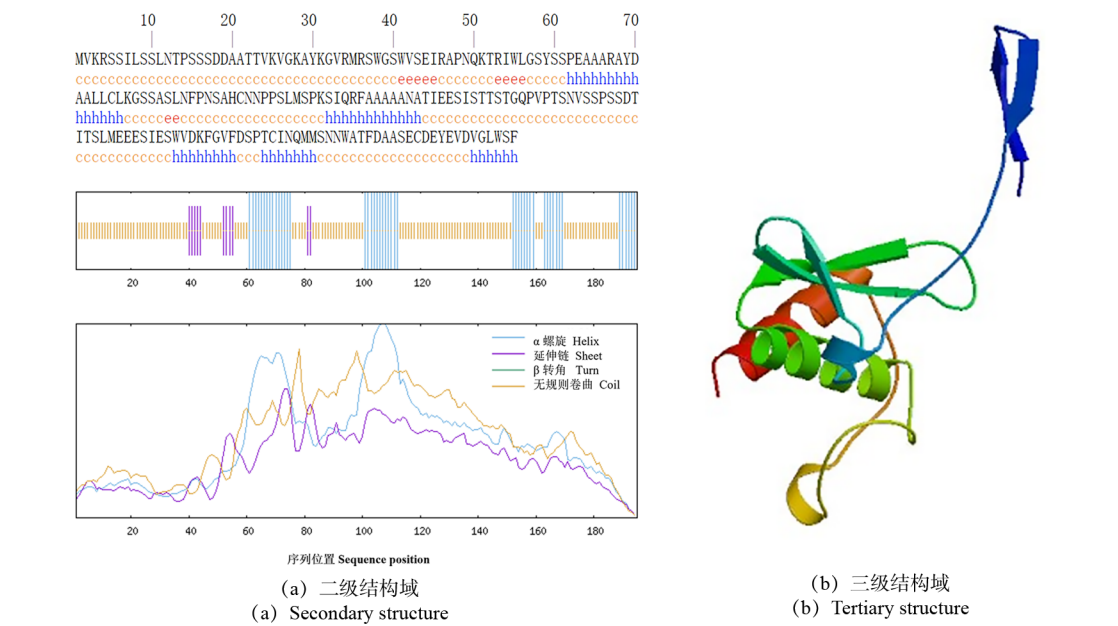


图6 LIERF12蛋白二、三级结构预测

Fig. 6 Prediction of secondary and tertiary structure of LIERF12 protein

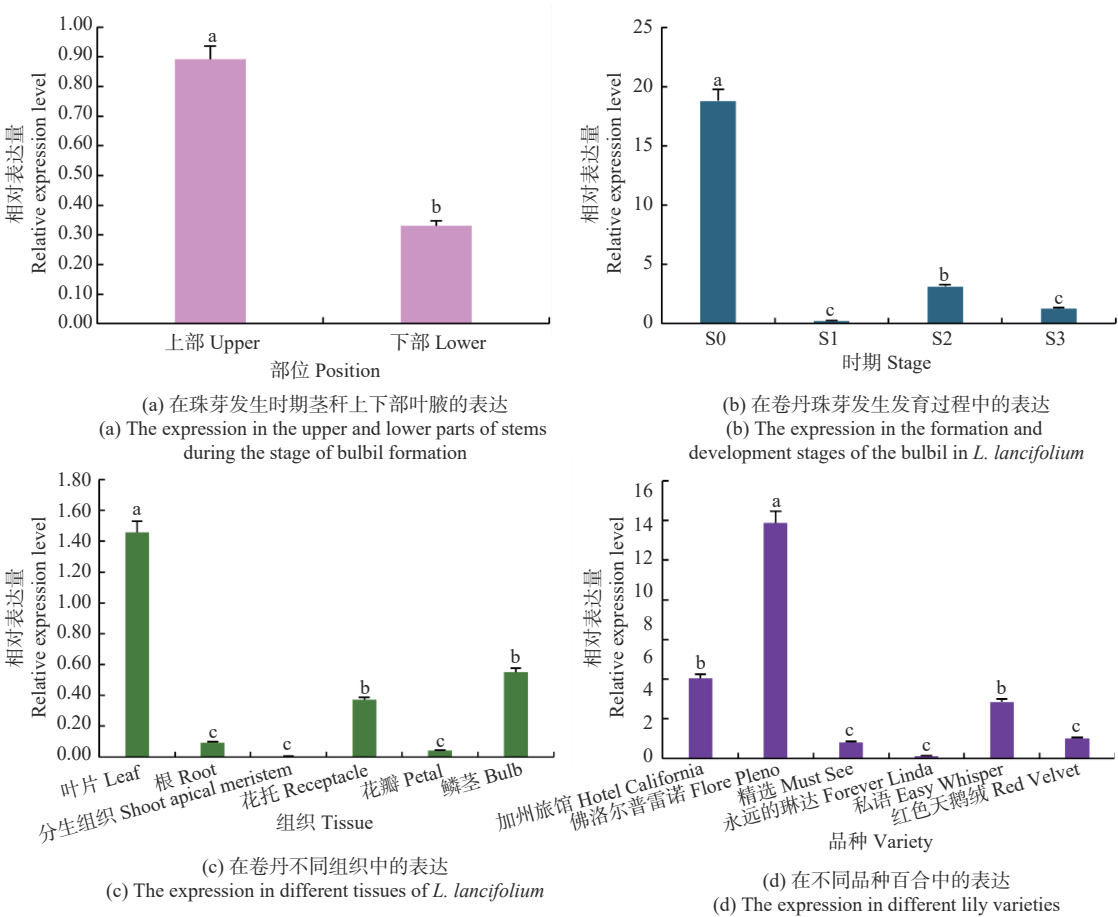


图7 LIERF12表达模式分析

Fig. 7 LIERF12 expression pattern analysis

选取6个来自不同系列的百合品种探究 *LIERF12* 在其它百合品种珠芽发生阶段的表达模式, 分别是A系列品种(‘弗洛尔普雷诺’(Flore Pleno)‘红色天鹅绒’(Red Velvet)‘永远的琳达’(Forever Linda)‘私语’(Easy Whisper))、LA重瓣系列(‘精选’(Must See))和OA系列(‘加州旅馆’(Hotel California))。其中A系列的‘弗洛尔普雷诺’和OA系列的‘加州旅馆’可以自然产生珠芽, LA重瓣系列的‘精选’是花后产生珠芽, 其余3个品种在自然条件下均不能产生珠芽。自然状态下能够发生珠芽的‘弗洛尔普雷诺’上部叶腋中, *LIERF12* 表达量显著高于其他品种($P < 0.05$); 无法发生珠芽的‘红色天鹅绒’‘永远的琳达’显著低于除‘精选’之外的其

它品种($P < 0.05$); ‘精选’上部叶腋的 *LIERF12* 表达量低于‘弗洛尔普雷诺’和‘红色天鹅绒’, 这可能是由于此时尚未发生珠芽(图7(d))。综上表明, *LIERF12* 可能在珠芽发生阶段发挥正调控作用。

为了深入探究ETH和1-MCP是否会影响珠芽形成过程中 *LIERF12* 的表达, 本研究通过qRT-PCR测定了不同浓度ETH、1-MCP处理下卷丹茎段叶腋处 *LIERF12* 的表达量(图8)。与对照相比, 2和8 mg/L 1-MCP可诱导 *LIERF12* 和 *LlSTM* 的基因表达, 而50和100 mg/L ETH可以抑制 *LIERF12* 和 *LlSTM* 的基因表达($P < 0.05$)。由此推测, *LIERF12* 可能介导了乙烯对卷丹珠芽发生的抑制作用。

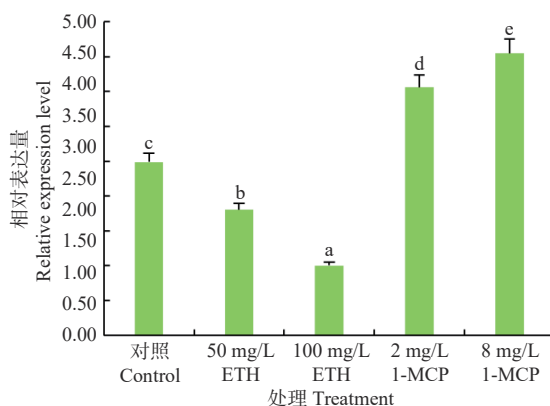


图8 ETH、1-MCP处理下 *LIERF12* 的表达模式分析

Fig. 8 Expression pattern analysis of *LIERF12* under treatment of ETH and 1-MCP

2.7 *LIERF12* 在卷丹珠芽发生过程中的功能分析

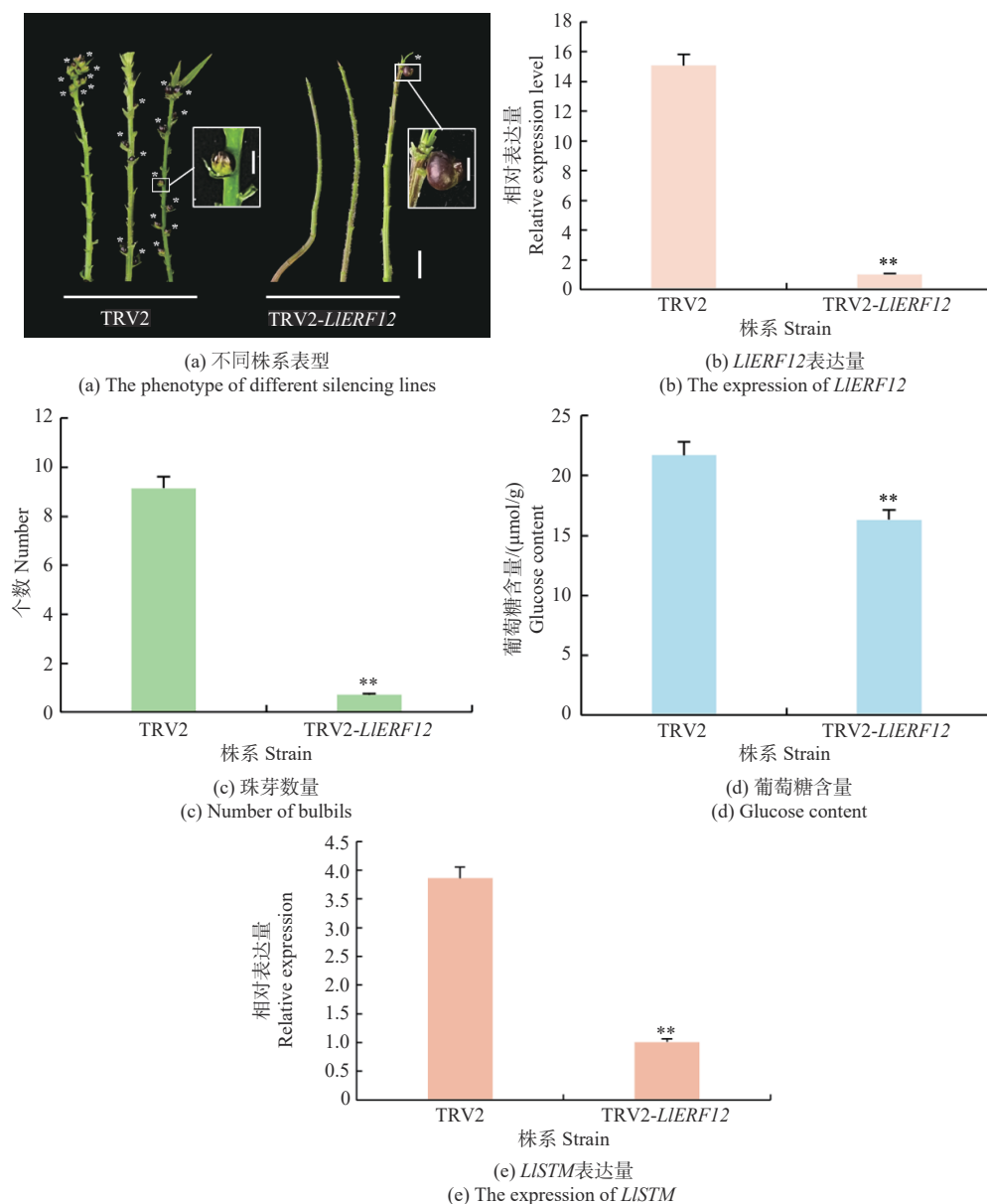
本研究通过VIGS技术沉默了卷丹种球中的 *LIERF12* 以探究 *LIERF12* 在卷丹珠芽发生过程中的功能, 并选择第60天作为采样点进行取材和珠芽表型统计(图9(a))。沉默 *LIERF12* 导致珠芽发生数量极显著降低, 且叶腋处葡萄糖含量极显著减少($P < 0.01$, 图9(b)~(d))。 *LIERF12* 沉默株系中的 *LlSTM* 基因表达量极显著降低($P < 0.01$), 说明腋生分生组织的发生过程被抑制(图9(e))。以上结果表明, *LIERF12* 在卷丹珠芽发生过程中起正调控作用。

3 讨论与结论

3.1 乙烯抑制剂1-MCP对叶腋处葡萄糖含量的影响

植物的生长发育除了依赖植物激素的调节, 还

需要糖为其提供能量。蔗糖可通过蔗糖合成酶(SUS)可逆地转化为尿苷二磷酸葡萄糖和果糖, 或通过蔗糖转化酶(INV)不可逆地转化为葡萄糖和果糖^[31-32]。在唐菖蒲和石蒜中, *GhSUS2* 和 *LsSUS4* 分别通过促进蔗糖转化过程而增加籽球的数量^[33-34]。此外, 植物激素可作为上游信号来调控蔗糖代谢的过程。在卷丹中, 外源生长素吲哚-3-乙酸(Indole-3-acetic acid, IAA)处理显著降低珠芽发生数量, 而生长素极性转运蛋白抑制剂(N-1-naphthylphthalamic acid, NPA)处理则增加珠芽发生数量; 并且沉默生长素合成基因 *LlTAR1* (TRYPTOPHAN AMINO-TRANSFERASE 1) 或 *LlYUC6* (YUCCA FLAVIN MONOOXYGENASE-LIKE 6) 通过降低叶腋处生长素水平而激活下游基因 *LlSusy1* (SUCROSE SYNTHASES 1) 和 *LlCWIN2* (CELL WALL INVERTASE 2), 进而加速蔗糖代谢, 促进



白色星号为珠芽发生处,标尺为5 cm。白色方框为珠芽的局部放大图,标尺为0.5 cm。TRV2:感染TRV2空载体的对照株系;TRV2-*LIERF12*:感染TRV2-*LIERF12*重组质粒的沉默株系。柱状图为3个生理重复的平均值 $\pm$ 标准误。数据采用Student's *t*-test分析(*: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$)。

The white asterisk indicates where the bulbil occurs, the scale bars represent 5 cm. The white box is a locally enlarged bulbil, the scale bars represent 0.5 cm. TRV2, control strain infected with TRV2 empty vector; TRV2-*LIERF12*, silencing strains of TRV2-*LIERF12* recombinant plasmid. The bars represent the mean $\pm$ SD of three biological replicates. Data are analyzed by using Student's *t*-test (*: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$).

图9 卷丹 *LIERF12* 沉默株系的表型和相关基因表达

Fig. 9 Phenotype and related gene expression of *LIERF12* silencing lines of *L. lancifolium*

叶腋处葡萄糖积累而促进珠芽形成^[30]。同时,葡萄糖的处理也能促进卷丹珠芽的发生^[30,35]。本研究发现对卷丹茎段施加乙烯抑制剂1-MCP会促进珠芽形成,并且叶腋处的葡萄糖含量显著增加。因此,推测卷丹叶腋处高水平的乙烯可能会抑制珠芽的形成,而1-MCP处理可能通过降低叶腋处乙烯含

量,诱导下游与蔗糖代谢相关基因的表达,促进叶腋处葡萄糖积累,进而促进珠芽发生。

3.2 *LIERF12* 响应上游乙烯信号并正调控卷丹珠芽形成

在维管植物中,主茎是来自茎尖分生组织(SAM),而分枝是由腋生分生组织(AM)分化而成

的。某些植物中的腋芽处于休眠状态,这是由于内源发育信号与环境因素之间复杂的相互作用造成的^[36-39]。以生长素 IAA 为主要代表的植物激素,通过在植物组织内的差异分布来调节植物的顶端优势和腋芽起始^[40-41]。而乙烯和生长素具有相同的生理作用,可以作为信号调控下游转录因子参与植物的器官形成和发育。ERF 转录因子作用于乙烯信号转导通路的最下游,参与了植物对乙烯的响应过程。有研究发现,油菜基因 *BnERF114. A1* 在拟南芥中异源过表达会抑制 IAA 扩散,促进生长素在顶端积累而导致植株矮化、分枝增多和顶端优势丧失^[42]。菊花乙烯响应因子 *CmERF053* 在植株打顶后表达迅速上调,并且参与细胞分裂素和生长素相关的枝条分枝途径^[43]。本研究结果表明, *LIERF12* 在卷丹准备发生珠芽的 S0 时期和自然状态下能够发生珠芽的品种表达量较高,在沉默之后珠芽数量会降低。并且, *LIERF12* 在 ETH 处理的卷丹茎段叶腋中表达水平下降。结合前人的研究结果推测, *LIERF12* 会响应上游乙烯信号,并可能与其它植物激素共同调控卷丹珠芽发生。

3.3 乙烯通过 *LIERF12* 影响下游分生组织发生标志基因 *L1STM* 调控卷丹珠芽形成

大量研究表明,生长点通过植物激素及转录因子控制干细胞维持^[44]。参与生长点干细胞维持与分化的基因 *STM*、*CUC2* (*CUP-SHAPED COTYLEDON 2*) 等在植物顶端分生组织、器官边缘的形成及生长发育等过程中发挥作用^[44-45]。其中一个对侧芽起始至关重要的基因 *STM*,在叶腋处的持续表达维持了 AM 分生组织活性,促进侧芽的起始^[46-47]。此外,有研究发现高水平的葡萄糖能通过激活 TOR 激酶而控制拟南芥全基因组组蛋白 H3K27me3 甲基化, FIE (FERTILIZATION-INDEPENDENT ENDOSPERM) 作为 PRC2 (POLYCOMBREPRESSIVE COMPLEX 2) 复合体的组成成分,通过被 TOR 磷酸化而降低一系列靶基因(包括 *STM* 基因)的 H3K27me3 修饰,从而激活靶基因的表达^[48]。本研究结果表明,在 1-MCP 处理的卷丹茎段叶腋处以及 *LIERF12* 基因沉默的植株中, *L1STM* 的表达水平升高。推测乙烯信号会通过转录因子 *LIERF12* 影响叶腋处葡萄糖含量变化,从而调控下游分生组织发生标志基因 *L1STM* 的表达。

本研究表明 *LIERF12* 响应乙烯信号转导,促进叶腋处葡萄糖积累,进一步影响下游分生组织发生标志基因 *L1STM* 的表达,调控卷丹珠芽的形成。本研究初步解析了 *LIERF12* 调控卷丹珠芽发生的分子机制,为深入解析其功能奠定了理论基础。

参考文献 References

- [1] 杜运鹏. 我国百合属植物资源评价及抗病基因同源序列(RGA)的研究[D]. 北京:北京林业大学, 2014
Du Y P. Collection and evaluation of *Lilium* spp in China (Liliaceae) and the research on resistance gene analog (RGA) [D]. Beijing: Beijing Forestry University, 2014 (in Chinese)
- [2] 郭海滨, 雷家军. 卷丹百合鳞片及珠芽组织培养研究[J]. 中国农学通报, 2006, 22(2): 72-74
Guo H B, Lei J J. The bulb scale and bulblet culture in vitro of *Lilium lancifolium* Thunb [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2006, 22(2): 72-74 (in Chinese)
- [3] 张雪敏, 李佳敏, 康圣楠, 李玉舒, 梁佳惠, 张铭芳, 张秀海, 于晓南, 杜运鹏. 百合无性繁殖器官病毒检测及 *LIMADS2* 调控珠芽发生的初步解析[J]. 河南农业大学学报, 2022, 56(6): 979-989
Zhang X M, Li J M, Kang S N, Li Y S, Liang J H, Zhang M F, Zhang X H, Yu X N, Du Y P. Detection of lily asexual reproductive organ virus and preliminary analysis of *LIMADS2* regulating bulbil formation [J]. *Journal of Henan Agricultural University*, 2022, 56(6): 979-989 (in Chinese)
- [4] 丰先红, 李健, 罗孝贵. 百合病毒脱除技术研究进展[J]. 农学学报, 2015, 5(9): 91-95
Feng X H, Li J, Luo X G. Research advances on virus elimination in lily [J]. *Journal of Agriculture*, 2015, 5(9): 91-95 (in Chinese)
- [5] Suh J K, Roh M S. New technique for cut flower production from bulbils of the Asiatic hybrid lily (*Lilium* × *elegrans* Thunb) [J]. *Scientia Horticulturae*, 2014, 165: 374-383
- [6] 郝春莲, 胡凤荣, 杨盼盼. 植物珠芽形成的研究进展[J/OL]. 分子植物育种, 2021, 1-10 [2024-03-25]. <https://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.s.2021.0722.1406.012.html>
Hao C L, Hu F R, Yang P P. Research progress on plant bulbil formation [J/OL]. *Molecular Plant Breeding*, 2021, 1-10 [2024-03-25]. <https://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.s.2021.0722.1406.012.html> (in Chinese)
- [7] Liang J H, Wu Z, Zheng J, Koskela E A, Fan L J, Fan G X, Gao D H, Dong Z F, Hou S F, Feng Z K, Wang F, Hytönen T, Wang H Q. The GATA factor HANABA TARANU promotes runner formation by regulating axillary bud initiation and outgrowth in cultivated strawberry [J]. *The Plant Journal*, 2022, 110(5): 1237-1254
- [8] Yang M L, Jiao Y L. Regulation of axillary meristem initiation by transcription factors and plant hormones [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2016, 7: 183
- [9] 王嘉悦. 亚洲百合不同品种珠芽诱导的研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2020
Wang J Y. Study on bulbil induction of different *Lilium* Asiatic hybrids [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2020 (in Chinese)
- [10] Yang P P, Xu L F, Xu H, He G R, Feng Y Y, Cao Y W, Tang Y C, Yuan S X, Ming J. Morphological and anatomical observation during the

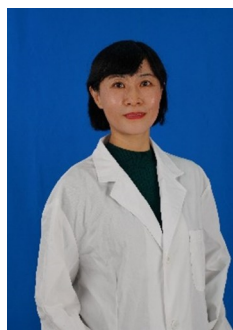
- formation of bulbils in *Lilium lancifolium* [J]. *Caryologia*, 2018, 71(2): 146-149
- [11] Yang S F, Hoffman N E. Ethylene biosynthesis and its regulation in higher plants [J]. *Annual Review of Plant Physiology*, 1984, 35: 155-189
- [12] Fischer R L, Bennett A B. Role of cell wall hydrolases in fruit ripening [J]. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1991, 42: 675-703
- [13] Raghothama K G, Lawton K A, Goldsbrough P B, Woodson W R. Characterization of an ethylene-regulated flower senescence-related gene from carnation [J]. *Plant Molecular Biology*, 1991, 17(1): 61-71
- [14] Serek M, Jones R B, Reid M S. Role of ethylene in opening and senescence of *Gladiolus* sp flowers [J]. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 1994, 119(5): 1014-1019
- [15] Xu T, Li T L, Qi M F. Calcium effects on mediating polygalacturonan activity by mRNA expression and protein accumulation during tomato pedicel explant abscission [J]. *Plant Growth Regulation*, 2010, 60(3): 255-263
- [16] Yeang A Y, Hillman J R. Ethylene and apical dominance [J]. *Physiologia Plantarum*, 1984, 60(3): 275-282
- [17] Feng K, Hou X L, Xing G M, Liu J X, Duan A Q, Xu Z S, Li M Y, Zhuang J, Xiong A S. Advances in AP2/ERF super-family transcription factors in plant [J]. *Critical Reviews in Biotechnology*, 2020, 40(6): 750-776
- [18] Yu L, Yao M, Mao L L, Ma T F, Nie Y S, Ma H L, Shao K, An H Q, Zhao J. Rice DSP controls stigma, panicle and tiller primordium initiation [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2023, 21(11): 2358-2373
- [19] Qi W W, Sun F, Wang Q J, Chen M L, Huang Y Q, Feng Y Q, Luo X J, Yang J S. Rice Ethylene-Response AP2/ERF factor OsEATB restricts internode elongation by down-regulating a gibberellin biosynthetic gene [J]. *Plant Physiology*, 2011, 157(1): 216-228
- [20] Mehrnia M, Balazadeh S, Zanor M I, Mueller-Roeber B. EBE, an AP2/ERF transcription factor highly expressed in proliferating cells, affects shoot architecture in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiology*, 2013, 162(2): 842-857
- [21] He G R, Cao Y W, Wang J, Song M, Bi M M, Tang Y C, Xu L F, Ming J, Yang P P. WUSCHEL-related homeobox genes cooperate with cytokinin to promote bulbil formation in *Lilium lancifolium* [J]. *Plant Physiology*, 2022, 190(1): 387-402
- [22] Yang P P, Xu L F, Xu H, Tang Y C, He G R, Cao Y W, Feng Y Y, Yuan S X, Ming J. Histological and transcriptomic analysis during bulbil formation in *Lilium lancifolium* [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8: 1508
- [23] 林香. 百合切花采后衰老相关机理的研究 [D]. 福建: 福建农林大学, 2007
- Lin X. The studies on senescence-associate mechanism of *Lilium* spp cut flowers [D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2007 (in Chinese)
- [24] 梁和, 李杨瑞, 周生茂, 满世志, 黄文尧. 不同浓度乙烯利处理对甘蔗若干生理生化特性的影响 [J]. 广西农业大学学报, 1995, 14(1): 1-8
- Liang H, Li Y R, Zhou S M, Man S Z, Huang W Y. Effects of different concentrations of ethephon on some physiological and biochemical characters in Sugarcane [J]. *Journal of Guangxi Agriculture University*, 1995, 14(1): 1-8 (in Chinese)
- [25] 王少坤, 李静如, 刘晨, 义鸣放, 吴健. 唐菖蒲蛋白磷酸酶 *GhPP2C1* 基因功能及其对ABA的响应 [J]. 中国农业大学学报, 2024, 29(3): 113-124
- Wang S K, Li J R, Liu C, Yi M F, Wu J. The function of Protein phosphatase gene *GhPP2C1* in *Gladiolus* and the response of ABA [J]. *Journal of China Agricultural University*, 2024, 29(3): 113-124 (in Chinese)
- [26] 吴健. 唐菖蒲 *GhNCED* 和 *GhABI5* 在调控球茎休眠中的作用机制 [D]. 北京: 中国农业大学, 2016
- Wu J. Molecular mechanism of *GhNCED* and *GhABI5* in regulating *Gladiolus* corm dormancy [D]. Beijing: China Agricultural University, 2016 (in Chinese)
- [27] 李佳敏, 王梦迪, 梁佳惠, 张铭芳, 杜运鹏, 张秀海, 李玉舒, 于晓南. 卷丹百合 *LIARF12* 基因的克隆、表达及功能分析 [J]. 河南农业大学学报, 2024, 58(2): 205-217
- Li J M, Wang M D, Liang J H, Zhang M F, Du Y P, Zhang X H, Li Y S, Yu X N. Cloning, expression and functional analysis of *LIARF12* gene in *Lilium lancifolium* [J]. *Journal of Henan Agricultural University*, 2024, 58(2): 205-217 (in Chinese)
- [28] 吴超, 戴梦怡, 张超, 石从广, 任明杰, 马晶晶, 申亚梅. *FLS* 基因调控玉兰与紫玉兰花色形成的机制研究 [J]. 核农学报, 2023, 37(10): 1947-1956
- Wu C, Dai M Y, Zhang C, Shi C G, Ren M J, Ma J J, Shen Y M. Study on the mechanism of the *FLS* gene regulating flower color formation in *Yulania denudata* and *Y. liliiflora* [J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2023, 37(10): 1947-1956 (in Chinese)
- [29] 李文辰, 刘鑫, 康越, 李伟, 齐泽铮, 于璐, 王芳. TRV 病毒诱导大豆基因沉默体系优化及应用 [J]. 生物技术通报, 2023, 39(7): 143-150
- Li W C, Liu X, Kang Y, Li W, Qi Z Z, Yu L, Wang F. Optimization and application of tobacco rattle virus-induced gene silencing system in soybean [J]. *Biotechnology Bulletin*, 2023, 39(7): 143-150 (in Chinese)
- [30] Xin Y, Chen X, Liang J H, Wang S K, Pan W Q, Wu J X, Zhang M F, Zaccai M, Yu X N, Zhang X H, Wu J, Du Y P. Auxin regulates bulbil initiation by mediating sucrose metabolism in *Lilium lancifolium* [J]. *Horticulture Research*, 2024, 11(4): uhao054
- [31] Koch K. Sucrose metabolism: Regulatory mechanisms and pivotal roles in sugar sensing and plant development [J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2004, 7(3): 235-246
- [32] Duan Y K, Yang L, Zhu H J, Zhou J, Sun H, Gong H J. Structure and expression analysis of sucrose phosphate synthase, sucrose synthase and invertase gene families in *Solanum lycopersicum* [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(9): 4698
- [33] Li J R, Seng S S, Li D L, Zhang F Q, Liu Y X, Yao T, Liang J H, Yi M F, Wu J. Antagonism between abscisic acid and gibberellin regulates starch synthesis and corm development in *Gladiolus hybridus* [J]. *Horticulture Research*, 2021, 8(1): 155
- [34] Ren Z M, Zhang D, Jiao C, Li D Q, Wu Y, Wang X Y, Gao C, Lin Y F, Ruan Y L, Xia Y P. Comparative transcriptome and metabolome analyses identified the mode of sucrose degradation as a metabolic marker for early vegetative propagation in bulbs of *Lycoris* [J]. *The Plant Journal*, 2022, 112(1): 115-134
- [35] Hao C L, Yang P P, Qu Y X, Hao Z H, Yin X Y, Tang Y C, Bi M M, Xu L F, Hu F R, Ming J. Sucrose function on the bulbil formation of *Lilium lancifolium* [J]. *Scientia Horticulturae*, 2024, 323: 112538
- [36] Kebrom T H, Brutnell T P, Finlayson S A. Suppression of sorghum axillary bud outgrowth by shade, phyB and defoliation signalling pathways [J]. *Plant, Cell & Environment*, 2010, 33(1): 48-58
- [37] Ward S P, Leyser O. Shoot branching [J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2004, 7(1): 73-78
- [38] Wang Y, Li J. Branching in rice [J]. *Current opinion in plant biology*, 2011, 14(1): 94-99

- [39] Domagalska M A, Leyser O. Signal integration in the control of shoot branching[J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2011, 12(4): 211-221
- [40] Cardarelli M, Cecchetti V. Auxin polar transport in stamen formation and development: How many actors[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2014, 5: 333
- [41] Mohanta T K, Bashir T, Hashem A, Abd_Allah E F, Khan A L, Al-Harrasi A S. Molecular players of auxin transport systems: Advances in genomic and molecular events[J]. *Journal of Plant Interactions*, 2018, 13(1): 483-495
- [42] Lü J Y, Guo Y, Du C L, Yu H B, Guo L J, Liu L, Zhao H X, Wang X F, Hu S W. BnERF114. A1, a rapeseed gene encoding APETALA2/ETHYLENE RESPONSE FACTOR regulates plant architecture through auxin accumulation in the apex in *Arabidopsis*[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(4): 2210
- [43] Nie J, Wen C, Xi L, Lü S H, Zhao Q C, Kou Y P, Ma N, Zhao L J, Zhou X F. The AP2/ERF transcription factor CmERF053 of *Chrysanthemum* positively regulates shoot branching, lateral root, and drought tolerance[J]. *Plant Cell Reports*, 2018, 37(7): 1049-1060
- [44] Gordon S P, Heisler M G, Reddy G V, Ohno C, Das P, Meyerowitz E M. Pattern formation during de novo assembly of the *Arabidopsis* shoot meristem[J]. *Development (Cambridge, England)*, 2007, 134(19): 3539-3548
- [45] Daimon Y, Takabe K, Tasaka M. The CUP-SHAPED COTYLEDON genes promote adventitious shoot formation on calli[J]. *Plant & Cell Physiology*, 2003, 44(2): 113-121
- [46] Shi B H, Zhang C, Tian C H, Wang J, Wang Q, Xu T F, Xu Y, Ohno C, Sablowski R, Heisler M G, Theres K, Wang Y, Jiao Y L. Two-step regulation of a meristematic cell population acting in shoot branching in *Arabidopsis*[J]. *PLoS genetics*, 2016, 12(7): e1006168
- [47] Long J, Barton M K. Initiation of axillary and floral meristems in *Arabidopsis*[J]. *Developmental Biology*, 2000, 218(2): 341-353
- [48] Ye R Q, Wang M Y, Du H, Chhajed S, Koh J, Liu K H, Shin J, Wu Y, Shi L, Xu L, Chen S X, Zhang Y J, Sheen J. Glucose-driven TOR-FIE-PRC2 signalling controls plant development[J]. *Nature*, 2022, 609(7929): 986-993

责任编辑: 董金波



第一作者简介: 王梦迪, 硕士研究生, 就读于北京林业大学园林学院风景园林(农学)专业。在导师指导下主要进行百合珠芽的发生发育等研究。在研究生阶段参与编写《芍药美学》(中国林业出版社), 参与3个芍药新品种培育并获得国际登陆。



通讯作者简介: 于晓南, 教授, 博士生导师。主要研究领域为园林植物资源与育种、观赏植物栽培与生产。参加和主持省部级以上科研项目20余项, 包括: 国家自然科学基金项目、国家林业局948项目、教育部重点项目、国家863项目、国家十一五、十二五科技支撑计划等。以第一作者和通讯作者发表科研论文100余篇, 其中SCI收录50余篇。获北京市科技进步二等奖1项、三等奖1项, 教育部高校科技进步奖1项, 霍英东第11届青年教师优秀奖1项。以第一发明人获批国家发明专利15项, 培育27个芍药新品种获得国际品种登录权, 以第一作者制定并颁布林业行业标准3项, 参与编写园林方面的专著10余部。



通讯作者简介: 杜运鹏, 副研究员, 博士生导师。主要从事观赏园艺领域百合等主要球根植物种质创新与利用、鳞茎高质高效繁育相关基础及产业化关键技术研发与应用。北京市科协青年托举人才, 山东省重点扶持区域急需紧缺人才; 中国园艺学会球宿根花卉分会百合专委会委员, 国家百合种质资源库和北京市百合种质资源圃负责人, 国家林业草原赏食百合工程技术研究中心秘书长, 百合产业国家创新联盟秘书长。近年来主持国家自然科学基金面上项目、国家重点研发计划项目、北京市科委项目、北京市农委项目及院优秀青年基金等项目10余项。在 *Nature Plants*、*Horticulture Research*、*BMC Plant Biology* 等杂志发表论文50余篇; 授权发明专利4项; 参与制定地方标准1项; 参编著作2部。获得北京市科技进步二等奖1项(排名第四); 国际登录百合新品种10个, 获得品种权1个, 审定品种2个。