

引用格式:

魏祯祯, 宋程威, 郭丽丽, 郭琪, 侯小改. ‘凤丹’牡丹 *PoERF113* 基因的克隆及表达分析[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2022, 48(6): 659–665.

WEI Z Z, SONG C W, GUO L L, GUO Q, HOU X G. Cloning and expression analysis of *PoERF113* gene in *Paeonia ostii* ‘Fengdan’[J]. Journal of Hunan Agricultural University(Natural Sciences), 2022, 48(6): 659–665.

投稿网址: <http://xb.hunau.edu.cn>



## ‘凤丹’牡丹 *PoERF113* 基因的克隆及表达分析

魏祯祯, 宋程威, 郭丽丽, 郭琪, 侯小改\*

(河南科技大学农学院, 河南 洛阳 471023)

**摘要:** 为克隆‘凤丹’(*Paeonia ostii*)花瓣衰老相关基因 *PoERF113* 的序列, 分析其编码蛋白质性质, 探索其在不同发育时期花瓣、不同组织和不同品种的表达模式及对乙烯的响应, 采用 RT-PCR 技术, 从‘凤丹’牡丹中克隆到花瓣衰老相关基因 *PoERF113*。该基因属于 AP2/ERF 家族, 其开放阅读框(ORF)为 636 bp, 编码 1 个由 211 个氨基酸残基组成的蛋白, 含有 1 个 AP2 保守结构域, 不包含跨膜结构, 蛋白相对分子质量约为 53 000, 理论等电点(pI)为 5.13, 为不稳定蛋白, 具有亲水性; qRT-PCR 分析结果表明, *PoERF113* 基因在露色期、初开期、半开期、盛花期、始衰期、衰败期均有表达, 主要在‘凤丹’露色期的花瓣和叶片中表达; 在早花‘凤丹’突变株系中表达量最高; *PoERF113* 基因在早花‘凤丹’突变株系与‘凤丹’中的序列相同, 不存在碱基差异; *PoERF113* 基因对乙烯有响应, 其表达量随处理时间和生育进程的延长呈逐渐升高的趋势, 推测该基因可能与乙烯诱导后导致花衰老进程相关。

**关键词:** ‘凤丹’牡丹; *PoERF113*; 基因克隆; 表达分析

中图分类号: Q786; S685.11

文献标志码: A

文章编号: 1007-1032(2022)06-0659-07

### Cloning and expression analysis of *PoERF113* gene in *Paeonia ostii* ‘Fengdan’

WEI Zhenzhen, SONG Chengwei, GUO Lili, GUO Qi, HOU Xiaogai\*

(College of Agriculture, Henan University of Science and Technology, Luoyang, Henan 471023, China)

**Abstract:** To investigate the petal senescence-related gene *PoERF113* of ‘Fengdan’ (*Paeonia ostii*) expression patterns in petals, different tissues and different varieties at different flowering stages and their response to ethylene, we did cloning analyzed its coded protein properties in this study. First, we used RT-PCR technology to clone the petal senescence related gene *PoERF113* gene from ‘Fengdan’. The gene belongs to AP2/ERF family. Its open reading frame(ORF) is 636 bp, encoding a protein consisting of 211 amino acid residues. It contains one AP2 conservative domain and does not contain transmembrane structure. The molecular weight of the protein is about 53 000, and the theoretical isoelectric point (pI) is 5.13. It is unstable protein and hydrophilic. The results of qRT-PCR analysis showed that *PoERF113* gene was expressed in the open color stage, the first open stage, the half open stage, the full bloom stage, the first decline stage, and the decline stage, mainly in the petals and leaves of ‘Fengdan’ in the open color stage; The highest expression was found in ‘Fengdan’ mutant strain of Zaohua; The sequence of *PoERF113* gene in the ‘Fengdan’ mutant line of Zaohua was the same as that in ‘Fengdan’ and there was no base difference; *PoERF113* gene was responsive to ethylene, and its expression level gradually increased with the extension of treatment time and growth process. It was speculated that this gene might be related to the process of flower senescence induced by ethylene. This experiment laid a

收稿日期: 2022-10-27

修回日期: 2022-11-06

基金项目: 国家自然科学基金项目(U1804233); 河南省创新型科技人才队伍建设工程(202101510003); 河南省中药材产业技术体系(2021-24)

作者简介: 魏祯祯(1996—), 女, 河南郑州人, 硕士研究生, 主要从事牡丹抗旱栽培与分子生物学研究, z35089658@163.com; \*通信作者, 侯小改, 博士, 教授, 主要从事牡丹栽培生理生态与分子生物学研究, hkdhxg@haust.edu.cn

preliminary foundation for further study on the function of *PoERF113* gene and its molecular mechanism in peony petal senescence and florescence regulation.

**Keywords:** *Paeonia ostii* 'Fengdan'; *PoERF113*; gene cloning; expression analysis

*ERF113* 基因属于 AP2/ERF 转录因子家族 ERF 亚家族的 B4 类, 编码的蛋白含有 1 个由 58 个基因组成的保守 AP2 结构域, 在抵抗大豆疫霉、抵御非生物胁迫、调节花衰老、促进愈伤组织形成和根生长等植物发育过程中发挥重要的作用<sup>[1-3]</sup>。KHASKHELI 等<sup>[4]</sup>在玫瑰中发现 *RhERF113* 基因的表达受乙烯诱导, 在萼片、花瓣、雄蕊和雌蕊等大多数花器官的衰老过程中表达量上调, 采用 VIGS 技术使 *RhERF113* 基因沉默, 加速了玫瑰花的衰老, 并且在花衰老过程中细胞分裂素含量呈降低的趋势, 与细胞分裂素有关 9 个基因 *RhIPT5*(*ISOPENTENYL TRANSFERASE 5*), *RhPR10.1*(*P ATHOGENESIS-RELATED 10.1*), *RhIPT8*, *RhHK2*(*HIS KINASE 2*), *RhHK3*, *RhCRR3*(*CYTOKININ RESPONSE REGULATOR 3*), *RhCRR5*, *RhHB6*(*HOMEBOX PROTEIN 6*) 和 *RhCRR8* 的表达水平也随之降低, 但这种衰老过程可以通过外源细胞分裂素处理得到恢复。

牡丹 (*Paeonia suffruticosa* Andr.) 是芍药科 (Paeoniaceae) 芍药属 (*Paeonia*) 植物, 原产于中国, 是传统观赏植物, 被广泛栽植, 观赏价值高, 市场需求量大<sup>[5-6]</sup>。目前关于牡丹花期调控的研究多注重于通过栽培、生长调节剂等手段延长花期, 对其分子机制的研究不多<sup>[7-10]</sup>。本研究以‘凤丹’花瓣为试验材料, 克隆获得‘凤丹’*ERF113* 基因序列, 采用生物信息学技术对 *PoERF113* 蛋白的理化性质、保守结构域、磷酸化位点、蛋白质高级结构等进行预测分析, 运用实时荧光 PCR 技术研究 *PoERF113* 基因的时空表达模式与不同花期、不同组织和不同品种的相关性及对乙烯的响应, 并对 *PoERF113* 基因在早花‘凤丹’突变株系与‘凤丹’中的基因序列进行比对, 以期后续 *ERF113* 基因的相关功能研究提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 植物材料

九年生早花‘凤丹’种植于河南科技大学实验园区内; 早花‘凤丹’突变株系种植于洛阳隋唐植物园; 晚花‘莲鹤’种植于洛阳国际牡丹园。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 总 RNA 提取及 cDNA 的合成

取‘凤丹’叶片、茎、花萼和不同时期(露色期、初开期、半开期、盛花期、始衰期、衰败期)的花瓣和用 10 mg/L 外源乙烯整株喷施圆桃期‘凤丹’后第 1、2、4、8 天的花瓣以及早花‘凤丹’突变株系、‘莲鹤’半开期的花瓣, 采用天根 RNAPrep Pure 多糖多酚植物总 RNA 提取试剂盒(离心柱型)完成总 RNA 的提取; 采用 PrimeScript™ II 1st Strand cDNA Synthesis Kit 获取 cDNA。

#### 1.2.2 ‘凤丹’ *PoERF113* 基因的克隆

从前期得到的‘凤丹’三代全长转录组数据库筛选出 *PoERF113* 基因序列, 利用 Primer Premier 5.0 设计基因克隆及实时荧光定量 PCR 特异性引物(表 1)。引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。50 μL PCR 扩增体系包括 2 μL cDNA 模板、1 μL TransStart FastPfu DNA Polymerase、10 μL 5×TransStart FastPfu Buffer、4 μL dNTP Mixture(2.5 mmol/L)、2 μL 引物 *PoERF113*-F 和 2 μL *PoERF113*-R(10 μmol/L)、29 μL ddH<sub>2</sub>O。反应程序为 95 °C 预变性 5 min; 94 °C 变性 30 s, 55 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 1 min, 33 个循环; 72 °C 延伸 7 min。*PoERF113* 基因 PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测, 采用 AxyPrep DNA 凝胶回收试剂盒回收目的条带, 与 pMD18-T Vector 载体连接后转至大肠埃希菌 DH5α 感受态细胞中, 利用 M13 引物进行普通 PCR 检测, 筛选出阳性单克隆送至生工生物工程(上海)股份有限公司测序。

表 1 *PoERF113* 基因克隆及 qRT-PCR 分析引物

引物	序列(5'-3')
PoERF113-F	TTCCCCGTCTACTCTGCT
PoERF113-R	TCTAGGCCATCGACCATC
PoERF113-RT-F	ACAGATTCGTCACCACCG
PoERF113-RT-R	CCAAACCCTTGCTGCCTTC
Actin-F	GGTCTATTCTTGCTTCCCTCAG
Actin-R	GAACTCACTATCAAACCCTCCAG

#### 1.2.3 ‘凤丹’ *PoERF113* 基因生物信息学分析

利用 Translate(<http://web.expasy.org/translate/>)

对 *PoERF113* 基因推导的氨基酸序列进行分析；根据 *PoERF113* 基因的开放阅读框(open reading frame, ORF), 运用 ProtParam(<https://web.expasy.org/protparam/>)分析 *PoERF113* 蛋白特性理化性质；运用在线软件(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>)分析 *PoERF113* 蛋白保守结构域；运用 Protscale(<https://web.expasy.org/protscale/>) 分析 *PoERF113* 蛋白亲疏水性；运用 NetPhos(<http://www.cbs.dtu.dk/services/NetPhos/>)分析 *PoERF113* 蛋白磷酸化位点；运用 TMHMM(<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM-2.0/>)分析 *PoERF113* 蛋白跨膜结构；运用 SPOMA([https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/secpred\\_sopma.pl](https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/secpred_sopma.pl)) 和 SWISS-MODEL(<https://www.swissmodel.expasy.org/interactive>)预测蛋白质的二级和三级结构。

1. 2. 4 *PoERF113* 基因的表达模式分析

根据测序所得的 *PoERF113* 基因的 ORF 序列，通过 Primer Premier 5.0 设计特异性引物，进行 qRT-PCR 试验。以 *Actin* 基因为内参基因，使用宝生物工程(大连)有限公司的实时荧光定量试剂盒 (TB Green™ Premix Ex Taq II) 检测 *PoERF113* 基因的表达量，每个样品设置 3 个生物学重复。

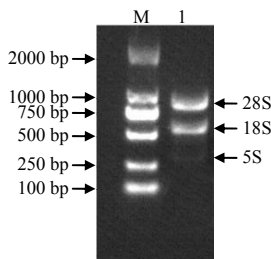
1. 2. 5 数据分析

采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法计算 *PoERF113* 基因的相对表达量<sup>[11]</sup>；运用 Excel 2010 进行数据整理与分析；运用 SPSS 19.0 进行统计分析；运用 Origin 8.0 绘图。

2 结果与分析

2.1 ‘凤丹’ *PoERF113* 基因的克隆及推导的氨基酸序列

提取‘凤丹’花瓣的总 RNA，经凝胶电泳检测，结果显示条带明亮、清晰，28S 带的亮度约为 18S 带亮度的 1.5~2.0 倍，RNA 质量较好(图 1)。

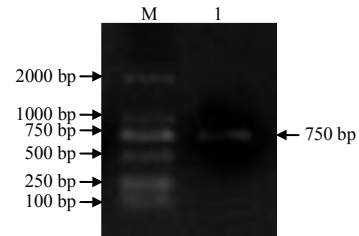


M DL2000 DNA Marker; 1 总 RNA。

图 1 总 RNA 凝胶电泳结果

Fig.1 Total RNA gel electrophoresis diagram

以‘凤丹’花瓣为材料提取花瓣组织总 RNA，反转录后获得 cDNA，利用特异性引物 *PoERF113*-F 和 *PoERF113*-R 进行扩增，凝胶电泳检测结果(图 2)显示：在约 750 bp 处发现 1 条清晰的特异性条带，



M DL2000 DNA Marker; 1 *PoERF113* 基因。

图 2 ‘凤丹’*PoERF113* 基因凝胶电泳结果

Fig.2 *PoERF113* gene electrophoresis diagram of ‘Fengdan’

与目的片段预测条带大小一致，该基因长 706 bp。通过 NCBI(National Center for Biotechnology Information)在线工具对其包含的开放阅读框进行分析，ORF 为 636 bp，编码 211 个氨基酸残基，ORF 序列及推导的氨基酸序列如图 3 所示。

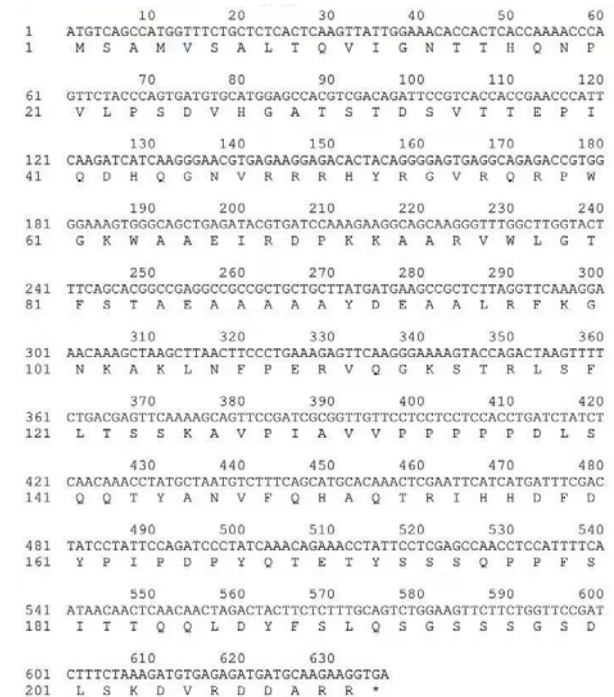


图 3 ‘凤丹’*PoERF113* 基因推导的氨基酸序列

Fig.3 Deduced amino acid sequence of ‘Fengdan’ *PoERF113* gene

2.2 ‘凤丹’ *PoERF113* 蛋白的预测分析

2.2.1 ‘凤丹’ *PoERF113* 蛋白特性分析及保守结构域预测

利用 ProtParam 对候选基因进行蛋白特性分析，结果表明该蛋白的相对分子质量为 53 000，理

论等电点(pI)为 5.13, 脂肪系数为 28.93, 不稳定系数为 52.83, 大于 40, 表明该蛋白为不稳定蛋白。

利用 NCBI 中 CDD(cyclic delay diversity, 循环延迟分集)保守结构域数据库对 PoERF113 蛋白进

行保守结构域预测。结果(图 4)表明, 该基因编码的蛋白具有 AP2 超家族结构域和特殊的 DNA 结合位点, 属于 AP2 家族一员。

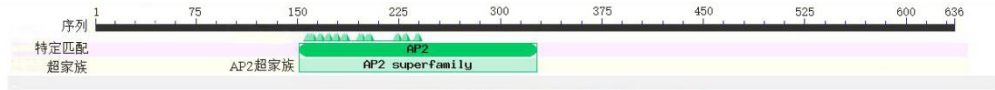


图 4 PoERF113 基因编码蛋白保守结构域预测结果

Fig.4 Prediction of conserved domain of PoERF113 gene coding protein

### 2.2.2 ‘凤丹’ PoERF113 蛋白亲/疏水性预测和跨膜结构域分析

运用 ProtScale 对 PoERF113 蛋白进行亲疏水性分析, 结果(图 5)显示, 疏水氨基酸(正值)少于亲水氨基酸(负值), 表明该蛋白为亲水性蛋白。

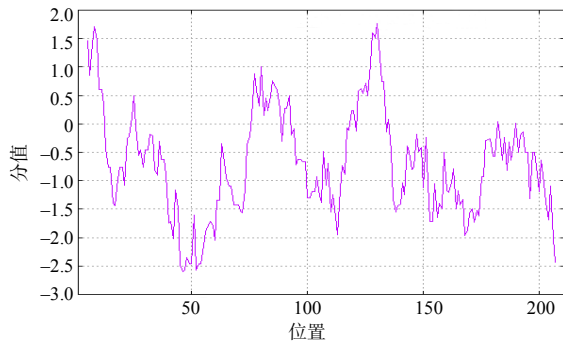


图 5 PoERF113 蛋白亲疏水性预测分析结果

Fig.5 Prediction analysis result of PoERF113 hydrophilicity

通过 TMHMM 对 PoERF113 基因进行跨膜结构域分析, 结果(图 6)表明, 该基因编码蛋白的 1~231 位氨基酸定位于细胞膜表面, 推测 PoERF113 蛋白可能不包含跨膜结构。

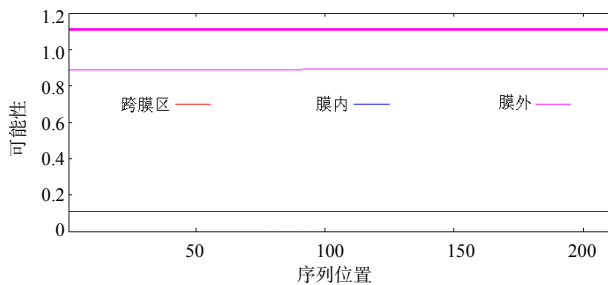


图 6 PoERF113 蛋白跨膜结构分析结果

Fig.6 Analysis result of PoERF113 transmembrane structure

### 2.2.3 ‘凤丹’ PoERF113 蛋白磷酸化位点分析

磷酸化主要集中在 Tyr(酪氨酸)、Ser(丝氨酸)、Thr(苏氨酸)残基上, 这些残基上具有游离的羟基, 且本身不带电荷, 磷酸化后的蛋白质具有电荷, 引起结构和蛋白质活性的变化。NetPhos 预测结果(图 7)表明, PoERF113 基因编码的氨基酸序列中有 19 个 Ser

位点、10 个 Thr 位点、4 个 Tyr 位点。

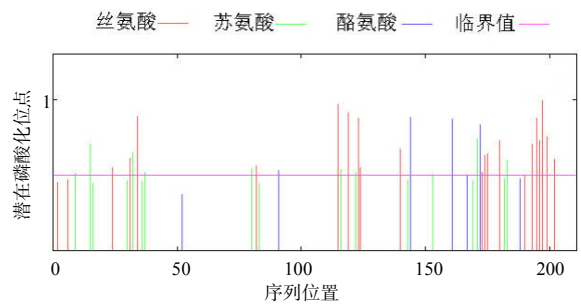


图 7 PoERF113 蛋白磷酸化位点分析结果

Fig.7 Analysis result of PoERF113 phosphorylation site

### 2.2.4 ‘凤丹’ PoERF113 蛋白高级结构预测分析

运用 SOPMA 预测蛋白质二级结构, 结果(图 8)显示, PoERF113 蛋白序列的二级结构中  $\alpha$ -螺旋包含 54 个氨基酸, 延伸链包含 29 个氨基酸,  $\beta$ -转角包含 12 个氨基酸, 无规则卷曲包含 116 个氨基酸。如图 9 所示, PoERF113 蛋白的三级结构与二级结构的预测结果保持一致。

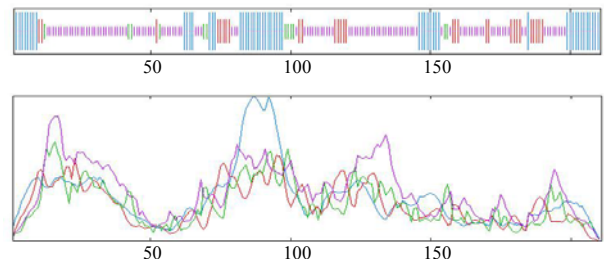


图 8 PoERF113 蛋白二级结构预测结果

Fig.8 PoERF113 secondary structure prediction

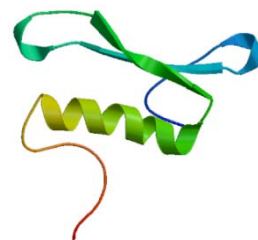


图 9 PoERF113 蛋白三级结构预测结果

Fig.9 PoERF113 tertiary structure prediction

### 2.3 ‘凤丹’ *PoERF113* 蛋白系统进化树分析

将 *PoERF113* 基因的氨基酸序列上传至 NCBI 数据库中,采用 bBLAST x 算法,选择 10 条同源性较高的氨基酸序列进行多序列比对分析并构建系统进化树,这 10 条序列分别为美国山核桃(*Carya illinoensis*, KAG2678378.1), 杨梅(*Morella rubra*, KAB1217539.1), 大叶栎(*Quercus lobata*, XP 030937739.1), 苹果(*Malus domestica*, XP 017183622.1), 非洲相思子(*Abrus precatorius*, XP 027360534.1), 葡萄(*Vitis vinifera*, CBI15759.3), 藤堤(*Vitis riparia*, XP 034672620.1), 南瓜(*Manihot esculenta*, XP 021622666.1), 菠菜(*Spinacia oleracea*, XP 021844726.1), 藜麦(*Chenopodium quinoa*, XP 021731943.1), 利用 MEGA X 软件分析‘凤丹’牡丹 *PoERF113* 基因与其他物种的进化关系, 比对结果如图 10 所示。从图 10 可以看出, ‘凤丹’*PoERF113* 基因与南瓜、菠菜、葡萄的亲缘关系较近, 与美国山核桃、杨梅等植物亲缘关系较远。

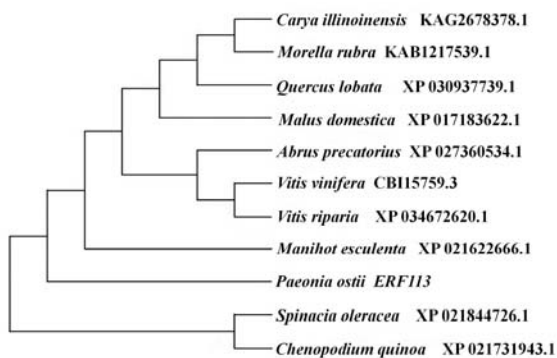
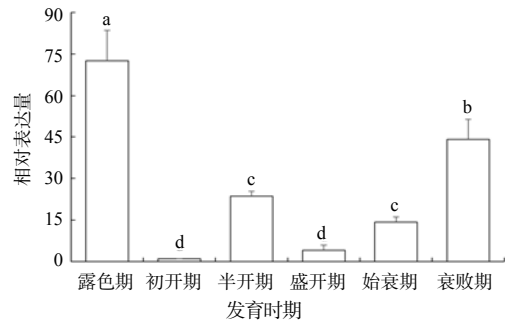


图 10 ‘凤丹’*PoERF113* 蛋白构建系统进化树分析结果  
Fig.10 Phylogenetic tree analysis of *PoERF113* construction in ‘Fengdan’

### 2.4 ‘凤丹’ *PoERF113* 基因表达模式分析

为确定 *PoERF113* 基因在‘凤丹’牡丹花发育不同时期花瓣中的表达情况, 利用荧光定量 PCR 技术, 以 *Actin* 基因为内参基因, 测定其在露色期、初开期、半开期、盛花期、始衰期、衰败期花瓣的相对表达量。结果(图 11)表明, *PoERF113* 基因在‘凤丹’牡丹各个花发育阶段中均有表达, 且不同花期的相对表达量存在差异。在露色期花瓣的相对表达量最高, 初开期花瓣中的相对表达量最低。

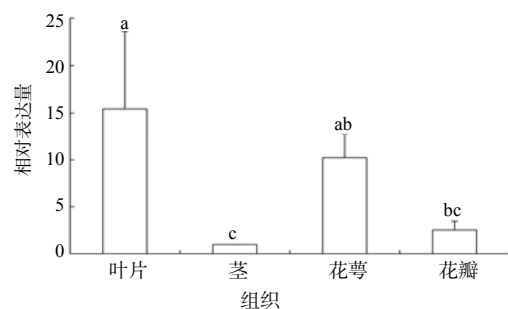


柱上不同字母示处理间的差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

图 11 *PoERF113* 基因在‘凤丹’不同发育时期花瓣中的相对表达量

Fig.11 Relative expression of *PoERF113* gene in petals of ‘Fengdan’ at different development stages

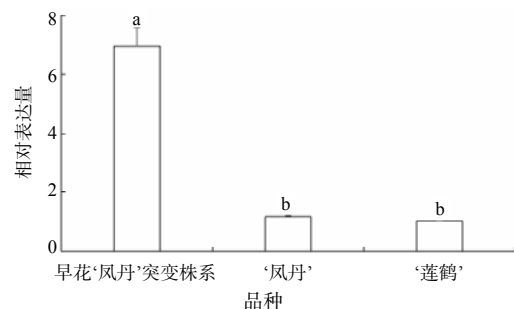
为分析 *PoERF113* 基因在组织中的表达模式, 选取同时期叶片、茎、花萼和花瓣进行 qRT-PCR, 以‘凤丹’牡丹的花瓣为对照。结果(图 12)表明, *PoERF113* 基因在‘凤丹’叶片、茎、花萼和花瓣中均有表达, 在‘凤丹’叶片的 *PoERF113* 基因的表达量极显著高于茎、花萼和花瓣中的表达量, 说明 *PoERF113* 基因主要在叶片中表达。



柱上不同字母示处理间的差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

图 12 *PoERF113* 基因在‘凤丹’不同组织中的相对表达量  
Fig.12 Relative expression level of *PoERF113* gene in different tissues of ‘Fengdan’

为明确 *PoERF113* 基因的表达特性, 利用 qRT-PCR 技术对早花‘凤丹’突变株系、早花‘凤丹’和晚花‘莲鹤’中 *PoERF113* 基因的表达进行分析。结果(图 13)表明, *PoERF113* 基因在早花‘凤丹’、晚

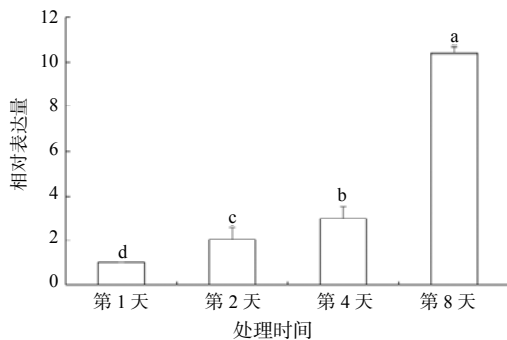


柱上不同字母示处理间的差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

图 13 *PoERF113* 基因在牡丹不同品种中的相对表达量  
Fig.13 Relative expression level of *PoERF113* gene in different cultivars of peony

花‘莲鹤’的花瓣中均有表达。在早花‘凤丹’突变株系的相对表达量最高,约为‘凤丹’的相对表达量的4.88倍,约为‘莲鹤’的相对表达量的6.54倍。

采用10 mg/L的外源乙烯处理‘凤丹’牡丹花瓣,发现 *PoERF113* 基因的表达量随处理时间的延长逐渐上升(图14),且表达量存在显著差异性。*PoERF113* 基因在处理第8天时相对表达量最高,约为处理第1天的10倍,表明 *PoERF113* 基因能被乙烯诱导表达,推测 *PoERF113* 基因可能参与了乙烯信号传导途径。



柱上不同字母表示处理间的差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

图14 乙烯诱导处理下‘凤丹’花瓣 *PoERF113* 基因的相对表达量

Fig.14 Relative expression level of *PoERF113* gene at ethylene treatment of ‘Fengdan’

## 2.5 早花‘凤丹’突变株系及‘凤丹’*PoERF113* 基因序列比对

为进一步探究 *ERF113* 基因在花期调控中的功能,以早花‘凤丹’突变体花瓣 cDNA 为模板,采用相同的引物与扩增条件进行 RT-PCR 扩增,利用 DNAMAN 6.0 对 *PoERF113* 基因在自然状态下‘凤丹’和早花‘凤丹’突变株系中的序列进行比对。结果表明,早花‘凤丹’突变株系 *PoERF113* 基因与‘凤丹’的序列不存在差异,2条序列的 ORF 框完全相同。

## 3 结论与讨论

APETALA2/ERF(Apetala2/Ethylene-responsive factor, AP2/ERF)转录因子家族作为最早被鉴定与乙烯响应基因相结合的转录因子,具有高度保守的 AP2/ERF 结构域,且在植物生长和发育中发挥着不同的功能<sup>[12-14]</sup>。研究人员在拟南芥、桃、苹果等多种植物进行了全基因组的鉴定及相应功能的研究,在拟南芥中鉴定出122个 AP2/ERF 家族成员<sup>[15]</sup>,在桃中鉴定出131个 AP2/ERF 家族成员<sup>[16]</sup>,在苹果中鉴定出259个 AP2/ERF 家族成员<sup>[17]</sup>,在柑橘中鉴定出126个 AP2/ERF 家族成员<sup>[18]</sup>。

本研究通过克隆得到‘凤丹’牡丹 *PoERF113* 基因,并对该基因编码的氨基酸序列进行了一系列生物信息学分析,发现该基因属于 AP2/ERF 家族,编码蛋白含有1个 AP2 保守结构域,不包含跨膜结构,为不稳定蛋白,与易萍等<sup>[19]</sup>鉴定出的芒果 *MiERF113* 基因特征相符。*PoERF113* 基因在露色期、初开期、半开期、盛开期、始衰期、衰败期均有表达,但主要在露色期的花瓣中表达,与玫瑰 *RhERF113* 基因在开花的第五个阶段(花朵完全绽放)表达量达到高峰的表达模式不同<sup>[4]</sup>。前人研究结果表明, *ERF113* 同源基因在不同物种中的时空表达既有共性又有差异。蜻蜓凤梨 *AjERF113* 基因在外叶、心叶、茎、根中均有表达,但表达量较低,成熟的根中的表达量高于幼根,在花器官中表达量维持在较低水平<sup>[20]</sup>。本试验结果显示, *PoERF113* 基因在‘凤丹’的叶片、花瓣、茎、萼片中均有表达,在叶片中的相对表达量最高,在茎中的相对表达量最低,这暗示 *PoERF113* 基因可能主要调控叶片的生长发育。

花衰老是一个高度程序化的过程,由多方面因素共同作用,伴随着植物体内内源激素、自由基代谢、细胞内结构解体 and 膜系统的降解等一系列生理生化过程<sup>[21]</sup>。植物激素可以调节植物开花进程,乙烯、茉莉酸和脱落酸作为植物花衰老促进剂,生长素和细胞分裂素类激素发挥抑制花衰老的作用<sup>[22]</sup>。乙烯在植物生长和衰老中起重要作用,在花衰老期间,乙烯的积累成为促进植物衰老的关键步骤<sup>[23]</sup>。研究表明,外源乙烯处理‘洛阳红’切花可以促进其内源乙烯的生成<sup>[24]</sup>;对于乙烯依赖型植物,内源乙烯的生成将导致植物花衰老<sup>[25]</sup>;对于乙烯不依赖型植物,外源乙烯的应用不会引导其产生大量的内源乙烯,但也可以促进花衰老<sup>[26]</sup>。研究表明,拟南芥、蜻蜓凤梨等多个物种的 *ERF113* 同源基因均响应乙烯处理。外源乙烯处理6~24 h内,拟南芥 *RAP2.6L* 基因表达量呈逐渐上升的趋势<sup>[2]</sup>。外源乙烯处理1 h后,蜻蜓凤梨 *AjERF113* 基因在幼株和成株外叶、心叶、茎中表达量上升,响应乙烯诱导<sup>[20]</sup>。本研究中用乙烯喷施‘凤丹’植株, *PoERF113* 基因对乙烯有所响应,处理后, *PoERF113* 基因表达量升高,这与 AGUSTÍ 等<sup>[27]</sup>在柑橘(*Citrus clementina*)中的研究结果类似。推测该基因可能与乙烯诱导后导致花衰老进程相关。



## 参考文献:

- [1] KONG X P, TIAN H Y, YU Q Q, et al. PHB<sub>3</sub> maintains root stem cell niche identity through ROS-responsive AP2/ERF transcription factors in *Arabidopsis*[J]. Cell Reports, 2018, 22(5): 1350–1363.
- [2] KRISHNASWAMY S, VERMA S, RAHMAN M H, et al. Functional characterization of four APETALA<sub>2</sub>-family genes(RAP2. 6, RAP2. 6L, DREB19 and DREB26) in *Arabidopsis*[J]. Plant Molecular Biology, 2011, 75(1/2): 107–127.
- [3] SUN F, LIU P Q, XU J, et al. Mutation in RAP2. 6L, a transactivator of the ERF transcription factor family, enhances *Arabidopsis* resistance to *Pseudomonas syringae*[J]. Physiological and Molecular Plant Pathology, 2010, 74(5/6): 295–302.
- [4] KHASKHELI A J, AHMED W, MA C, et al. RhERF113 functions in ethylene-induced petal senescence by modulating cytokinin content in rose[J]. Plant and Cell Physiology, 2018, 59(12): 2442–2451.
- [5] 李嘉珏. 中国牡丹起源的研究[J]. 北京林业大学学报, 1998, 20(2): 22–26.
- [6] 洪德元, 潘开玉. 芍药属牡丹组的分类历史和分类处理[J]. 植物分类学报, 1999, 37(4): 351–368.
- [7] 李婷婷, 薛璟祺, 王顺利, 等. 秋发牡丹远缘杂交新材料筛选及系统优化[J]. 分子植物育种, 2019, 17(8): 2761–2768.
- [8] 岳高峰, 韩志强, 马俊强, 等. 不同遮阴处理对牡丹花期及花色品质的影响[J]. 湖北农业科学, 2020, 59(17): 83–86.
- [9] 黄金锋, 陈学湘, 刘菲. 外源激素对牡丹花期延迟试验[J]. 山东林业科技, 2016, 46(6): 22–25.
- [10] 石丰瑞. 牡丹长日照途径关键基因 *PsFT* 以及其上、下游基因 *PsCO*、*PsSOC1* 的克隆与表达分析[D]. 北京: 中国农业科学院, 2013.
- [11] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  method[J]. Methods, 2001, 25(4): 402–408.
- [12] DUBOUZET J G, SAKUMA Y, ITO Y, et al. *OsDREB* genes in rice, *Oryza sativa* L., encode transcription activators that function in drought-, high-salt- and cold-responsive gene expression[J]. Plant & Cell Physiology, 2003, 33(4): 751–763.
- [13] MIZOI J, SHINOZAKI K, YAMAGUCHI-SHINOZAKI K. AP2/ERF family transcription factors in plant abiotic stress responses[J]. Biochimica et Biophysica Acta(BBA)-Gene Regulatory Mechanisms, 2012, 1819(2): 86–96.
- [14] GU Y Q, YANG C, THARA V K, et al. *Pti4* is induced by ethylene and salicylic acid, and its product is phosphorylated by the Pto kinase[J]. The Plant Cell, 2000, 12(5): 771–786.
- [15] NAKANO T, SUZUKI K, FUJIMURA T, et al. Genome-wide analysis of the *ERF* gene family in *Arabidopsis* and rice[J]. Plant Physiology, 2006, 140(2): 411–432.
- [16] ZHANG C H, SHANGGUAN L F, MA R J, et al. Genome-wide analysis of the AP2/ERF superfamily in peach(*Prunus persica*)[J]. Genetics and Molecular Research, 2012, 11(4): 4789–4809.
- [17] GIRARDI C L, ROMBALDI C V, DAL CERO J, et al. Genome-wide analysis of the AP2/ERF superfamily in apple and transcriptional evidence of ERF involvement in scab pathogenesis[J]. Scientia Horticulturae, 2013, 151: 112–121.
- [18] XIE X L, SHEN S L, YIN X R, et al. Isolation, classification and transcription profiles of the AP2/ERF transcription factor superfamily in citrus[J]. Molecular Biology Reports, 2014, 41(7): 4261–4271.
- [19] 易萍, 黄方, 李丽, 等. 芒果乙烯响应转录因子 *MiERF113* 基因的克隆及表达分析[J]. 热带作物学报, 2022, 43(9): 1751–1758.
- [20] 雷明, 李志英, 王加宾, 等. 蜻蜓凤梨 *AfERF113* 基因的克隆与表达特性[J]. 西北农业学报, 2016, 25(12): 1851–1860.
- [21] PARVEEN S, ALTAF F, FAROOQ S, et al. Is proline the quintessential sentinel of plants? A case study of postharvest flower senescence in *Dianthus chinensis* L.[J]. Physiology and Molecular Biology of Plants, 2021, 27(7): 1597–1607.
- [22] VAN DOORN W G, ÇELIKEL F G, PAK C, et al. Delay of *Iris* flower senescence by cytokinins and jasmonates[J]. Physiologia Plantarum, 2013, 148(1): 105–120.
- [23] ZHANG H S, ZHOU C J. Signal transduction in leaf senescence[J]. Plant Molecular Biology, 2013, 82(6): 539–545.
- [24] 周琳, 贾培义, 刘娟, 等. 乙烯对‘洛阳红’牡丹切花开放和衰老进程及内源乙烯生物合成的影响[J]. 园艺学报, 2009, 36(2): 239–244.
- [25] SHIBUYA K. Molecular mechanisms of petal senescence in ornamental plants[J]. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science, 2012, 81(2): 140–149.
- [26] SHIBUYA K. Molecular aspects of flower senescence and strategies to improve flower longevity[J]. Breeding Science, 2018, 68(1): 99–108.
- [27] AGUSTÍ J, MERELO P, CERCÓS M, et al. Comparative transcriptional survey between laser-microdissected cells from laminar abscission zone and petiolar cortical tissue during ethylene-promoted abscission in citrus leaves[J]. BMC Plant Biology, 2009, 9: 127.

责任编辑: 毛友纯  
英文编辑: 柳正