

引用格式:

陈丽, 范双喜. 基于病毒诱导的基因沉默(VIGS)方法的 *LsRGL1* 基因在生菜中的功能分析[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2024, 50(5): 21–26.

CHEN L, FAN S X. Function analysis of *LsRGL1* gene in lettuce(*Lactuca sativa* L.) based on virus-induced gene silencing(VIGS)[J]. Journal of Hunan Agricultural University(Natural Sciences), 2024, 50(5): 21–26.

投稿网址: <http://xb.hunau.edu.cn>



## 基于病毒诱导的基因沉默(VIGS)方法的 *LsRGL1* 基因在生菜中的功能分析

陈丽<sup>1</sup>, 范双喜<sup>2\*</sup>

(1.湖南省蔬菜研究所, 湖南 长沙 410125; 2.北京农业职业学院园艺园林学院, 北京 102400)

**摘要:** 为了确定 *LsRGL1* 基因对生菜抽薹的影响, 以 S39 生菜品种为试验材料, 通过逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)从 S39 生菜品种中克隆得到 *LsRGL1* 基因; 采用病毒诱导基因沉默(VIGS)方法, 利用烟草脆裂病毒(TRV)载体对目的基因进行沉默; 采用表型观察、石蜡切片、实时荧光定量 PCR(qPCR)方法、酶联免疫吸附法(ELISA)分别研究空白对照组(无 TRV 载体)、阴性对照组(按质量比 1 : 1 同时注射 TRV<sub>1</sub> 空载体和 TRV<sub>2</sub> 空载体)和试验组(按质量比 1 : 1 同时注射 TRV<sub>1</sub> 空载体和 TRV<sub>2</sub>-*LsRGL1* 重组载体)中植株表型、花芽分化、*LsRGL1* 基因的相对表达量和内源激素质量分数的变化。结果表明: 病毒侵染后, 试验组植株的茎长相对于空白对照组和阴性对照组的茎长明显增大, 且试验组各项表型数据均大于 2 个对照组的表型数据, 而空白对照组与阴性对照组各项表型数据之间并未出现明显差异; 石蜡切片结果表明试验组植株已经开始花芽分化, 相较于对照组提前进入生殖生长期; qPCR 分析结果显示, 试验组中 *LsRGL1* 基因的相对表达量相较于空白组和阴性对照组的显著下调, 且下调幅度均超过 50%。试验组中内源激素赤霉素(GA<sub>3</sub>)、脱落酸(ABA)、生长素(IAA)的含量显著高于对照组的含量, 而茉莉酸(JA)含量显著下降。综上可知, 沉默 *LsRGL1* 基因加快了生菜的抽薹。

**关键词:** 生菜; 表达分析; 内源激素; 病毒诱导的基因沉默(VIGS)

中图分类号: S636.2

文献标志码: A

文章编号: 1007-1032(2024)05-0021-06

### Function analysis of *LsRGL1* gene in lettuce(*Lactuca sativa* L.) based on virus-induced gene silencing(VIGS)

CHEN Li<sup>1</sup>, FAN Shuangxi<sup>2\*</sup>

(1.Hunan Vegetable Research Institute, Changsha, Hunan 410125, China; 2.School of Horticulture and Landscape, Beijing Vocational College of Agriculture, Beijing 102400, China)

**Abstract:** To determine the influence of the *LsRGL1* gene on lettuce bolting, the S39 lettuce variety was used as the experimental material, and the *LsRGL1* gene was cloned from the S39 lettuce variety using reverse transcription polymerase chain reaction(RT-PCR). The goal gene was silenced using a virus-induced gene silencing(VIGS) method with a tobacco rattle virus(TRV) vector. Methods of phenotypic observation, paraffin section, real-time fluorescence quantitative PCR(qPCR) and enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) were used to study the phenotypes, bud differentiation, relative expression levels of the *LsRGL1* gene, and endogenous hormone mass fractions changes in the blank control group(without TRV vector), negative control group(injection of TRV<sub>1</sub> empty vector and TRV<sub>2</sub> empty vector in a mass ratio of 1 : 1), and experimental group(injection of TRV<sub>1</sub> empty vector and TRV<sub>2</sub>-*LsRGL1* recombinant vector in a mass ratio of 1 : 1). The results showed that after virus infection, the stem length of the experimental group was significantly larger than that of the blank control group and the negative control group, and the data of all traits in the experimental group were all greater than those of the two control groups. There was no obvious difference in the traits of

收稿日期: 2023-08-29

修回日期: 2024-01-06

基金项目: 国家自然科学基金项目(3177110780)

作者简介: 陈丽(1993—), 女, 湖南吉首人, 博士研究生, 主要从事蔬菜遗传育种与高效优质栽培研究, chenli@hunaas.cn; \*通信作者, 范双喜, 博士, 教授, 主要从事蔬菜抗逆生理及生物技术应用研究, fsx20201@126.com

the blank control group and the negative control group. The paraffin section results showed that the experimental group had begun bud differentiation, entering the reproductive growth period earlier than the control group. The qPCR analysis results showed that compared with the blank group and the negative control group, the relative expression level of the *LsRGL1* gene in the experimental group was significantly downregulated with 50% more in the amplitude. The mass fractions of endogenous hormones gibberellin(GA<sub>3</sub>), abscisic acid(ABA) and auxin(IAA) in the experimental group were significantly higher than those of the control group, while the mass fraction of jasmonic acid(JA) was significantly lower. In summary, silencing the *LsRGL1* gene could accelerate bolting in lettuce.

**Keywords:** lettuce; expression analysis; endogenous hormone; virus-induced gene silencing(VIGS)

生菜(*Lactuca sativa* L.)是一种一年生蔬菜作物,是全球食用最多的叶菜,因其食用和药用价值而受到高度重视<sup>[1-2]</sup>。生菜在 15~20 ℃ 的温度下生长最好;当温度超过 30 ℃ 时,生菜生长不良。生菜主要在大棚或露地栽培,在栽培过程中容易发生高温抽薹即开花茎早熟的现象<sup>[3-4]</sup>。高温会加速抽薹,造成叶片发苦,降低品质和产量,从而限制了生菜的销售<sup>[5]</sup>。为了提高品质和产量,需要推迟生菜的抽薹开花时间<sup>[6]</sup>。因此,探究生菜高温抽薹的机制,建立科学的预防技术体系显得尤为重要。

抽薹开花是从营养生长向生殖生长转变的关键环节,称为成花转变<sup>[7]</sup>。植物成花转变时期受到复杂的遗传调控网络的严格控制,涉及激素信号传递和花同源基因表达等成花转变的过程,它们的共同作用导致茎尖分生组织发生显著的发育变化<sup>[8]</sup>。许多因素控制着花的发育,包括了转录因子和赤霉素(GA<sub>3</sub>)、生长素(IAA)、脱落酸(ABA)、茉莉酸(JA)、水杨酸(SA)、细胞分裂素(CTK)和乙烯(ET)等<sup>[9]</sup>。其中,DELLA 蛋白亚家族作为赤霉素途径中的中枢阻遏蛋白,与遗传调控网络中叶片和茎尖中的许多转录因子相互作用并调节其活性,从而调控开花<sup>[10]</sup>。拟南芥中含有 DELLA 亚家族的 *RGA*、*GAI*、*RGL1*、*RGL2* 和 *RGL3* 这 5 种基因<sup>[11]</sup>,其中 *RGL1* 基因是 DELLA 亚家族中重要信号转导因子,在调控植物开花、果实发育等方面发挥着重要作用<sup>[12]</sup>。有研究发现,在拟南芥中 *RGL1* 基因的主要作用是控制开花和茎的伸长<sup>[13]</sup>; *RGL1* 基因通过编码赤霉素信号途径的阻碍物,促使拟南芥延迟抽薹开花<sup>[14]</sup>。在葡萄中, *VvRGL1* 基因响应 GA<sub>3</sub> 信号,参与葡萄无核果实发育的调控<sup>[15]</sup>。

病毒诱导的基因沉默(VIGS)是一种沉默基因的有效方法,具有周期短、见效快的显著优势。该方法利用植物的抗病毒防御机制来抑制特定入侵性病毒转录本的表达<sup>[16]</sup>。首个 VIGS 载体是使用烟

草脆裂病毒(TRV)构建的,该病毒通过将体外 RNA 转录本接种到本氏烟草中,有效地沉默了 *NbPDS* 基因的表达,产生的植物具有白化表型<sup>[17]</sup>。此后,术语“VIGS”用于代指任何使用重组病毒抑制内源性基因表达的方法<sup>[18]</sup>。VIGS 是真核生物中由 RNA 介导的反向遗传学技术,涉及不同类别的小 RNA,在基因沉默中具有特殊作用<sup>[19]</sup>。这些 RNA 已被用于以高通量方式单独或大规模鉴定植物物种中的基因功能<sup>[20]</sup>。总体而言,VIGS 技术的发展加快了与植物生物学多个研究领域(如植物生长和发育)有关的候选基因的发现。

前期本文作者分别对常温和高温条件下不同品种生菜抽薹的转录组进行了研究,发现相较于常温条件,高温下 *LsRGL1* 表达丰度降低。然而, *LsRGL1* 基因在生菜中的作用机制及其与抽薹的关系尚不清楚。本文作者首先克隆 *LsRGL1* 基因,并对其沉默表达;其次,利用 VIGS 研究其功能,采用实时荧光定量 PCR(qPCR)分析高温条件下 *LsRGL1* 的相对表达量,以期为进一步研究 *LsRGL1* 在生菜抽薹过程中的作用机制提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料及处理

以北京开心格林农业科技有限公司提供的易抽薹生菜品种 S39 为试验材料,将其种植在北京农学院计算机温室内,并进行生长管理。选择了大约 200 个无病种子,并在 50 孔盘中播种。当幼苗长到四叶一心时,将其转移到一个直径为 9 cm 的花盆里。将幼苗放置在恒温培养箱中培养,设置光周期为 16 h/8 h (光/暗),光照强度维持在 200 μmol/(m<sup>2</sup> s),温度维持在 20 ℃/15 ℃(昼/夜),相对湿度为 60%~65%。

待幼苗长到 5 叶 1 心时,挑选长势一致健壮的植株进行处理。空白对照组、阴性对照组和试验组分别处理 30 株,并且挑选有代表性的植株进行拍

照记录。

## 1.2 方法

### 1.2.1 *LsRGL1* 基因的克隆与 TRV<sub>2</sub>-*LsRGL1* 重组载体的构建

参照 RNApure 超纯总 RNA 快速提取试剂盒(艾德莱生物科技有限公司)说明书提取生菜总 RNA。利用 Thermo NanoDrop2000 紫外分光光度计检测 RNA 样品浓度;用 1%琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 质量。总 RNA 反转录步骤参照 TtansScript First-Strand cDNA Synthesis SuperMix 试剂盒(北京全式金生物技术有限公司)说明书。

利用 *LsRGL1* 的开放阅读框(全长 340 bp)设计一对特异性引物(正向引物序列为 ATGAAGAGGG ATCGTGAG, 反向引物序列为 GTTGGTGGGAAGA CGAATT)进行 PCR 反应获得克隆片段, PCR 反应体系如下: 10  $\mu$ L PrimeSTAR<sup>®</sup> HS(Premix)(北京宝日生物技术有限公司), 5  $\mu$ L ddH<sub>2</sub>O, 1  $\mu$ L cDNA 模板, 正、反向引物各 2  $\mu$ L。PCR 扩增程序如下: 98  $^{\circ}$ C 预变性 5 min; 98  $^{\circ}$ C 变性 12 s, 55  $^{\circ}$ C 退火 8 s, 72  $^{\circ}$ C 延伸 2 min, 共 38 个循环; 最后 72  $^{\circ}$ C 延伸 8 min<sup>[21]</sup>。通过电泳检测 PCR 扩增产物并回收。将回收的 PCR 产物(克隆片段)和 TRV<sub>2</sub> 空载体分别用 *EcoR* I 和 *Bam*H I 酶切后进行连接, 得到重组载体 TRV<sub>2</sub>-*LsRGL1*; 将重组载体转入大肠埃希菌感受态细胞。通过菌液 PCR 鉴定出阳性转化子并将其送至生工生物工程(上海)有限公司进行测序。

### 1.2.2 VIGS 技术沉默 *LsRGL1* 基因

将鉴定的重组质粒转化为农杆菌 GV3101, 制备侵染液。感染缓冲液由 10 mmol/L 氯化镁、10 mmol/L MES 缓冲液和 20 mmol/L 乙酰丁香酮组成。将植物分为 3 组: 空白对照组, 植株不注射载体; 阴性对照组, 将 TRV<sub>2</sub> 和 TRV<sub>1</sub> 空载体按质量比 1:1 比例混合后注入植株; 试验组, 将重组载体 TRV<sub>2</sub>-*LsRGL1* 和 TRV<sub>1</sub> 空载体按质量比 1:1 比例混合后注入植株<sup>[21]</sup>。感染 1 周后, 在 35  $^{\circ}$ C 保存 1 周, 其他生长条件保持不变。监测植株形态变化(包括测量茎长等); 随机选取注射后生长的新叶, 采用基因特异性引物进行 PCR 和 qPCR 分析。

### 1.2.3 石蜡切片

取茎尖后, 首先用 FAA 固定 24 h 以上, 然后用 30%(体积分数, 下同)、50%、70%、85%、95%、

100%的无水乙醇对材料逐级脱水, 时间分别为 0.5、0.5、0.5、0.5、0.5、1.0 h; 随后进行浸蜡、包埋、切片、展片、烘片、脱蜡、复水、脱水、透明化处理(脱水后的材料置于体积比为 1:1 的二甲苯乙醇溶液中 0.5 h, 之后置于纯二甲苯中 0.5 h), 最后观察拍照。

### 1.2.4 内源激素质量分数测定

按照 ELISA 检测试剂盒(赛默飞世尔科技有限公司)的说明书分别对空白对照组、阴性对照组和试验组的内源激素质量分数进行检测。称取 0.1 g 生菜叶, 用液氮研磨成粉末, 稀释标准品, 按操作规程加入样品, 37  $^{\circ}$ C 孵育 30 min。每孔注满洗涤液, 静置 30 s 后丢弃, 重复 5 次。除空白孔外, 每孔加酶标试剂 50  $\mu$ L, 37  $^{\circ}$ C 孵育 30 min, 重复洗涤 5 次。每孔各加显影剂 A、B 各 50  $\mu$ L, 于 37  $^{\circ}$ C、黑暗条件下摇 10 min 显色; 在每孔中加入 50  $\mu$ L 的停止溶液, 使反应停止(此时溶液由蓝色变为黄色)。在反应停止后 15 min 内测量吸光度: 将空白孔的吸光度调至零, 波长 450 nm, 分别测定 GA<sub>3</sub>、ABA、IAA 和 JA 在 492、490、490、450 nm 处的吸光度。

## 2 结果与分析

### 2.1 植株中 TRV 病毒载体的检测结果

分别以空白对照组、阴性对照组和试验组的特征 TRV 引物和新叶 cDNA 为模板进行 PCR 扩增。在被空载体和重组载体感染的植物中分别扩增得到约 200 bp 和 600 bp 的条带(图 1), 在空白对照组未感染 TRV 病毒的植物叶片中未检测到条带, 说明阴性对照组和试验组的植株都成功感染了 TRV 病毒。

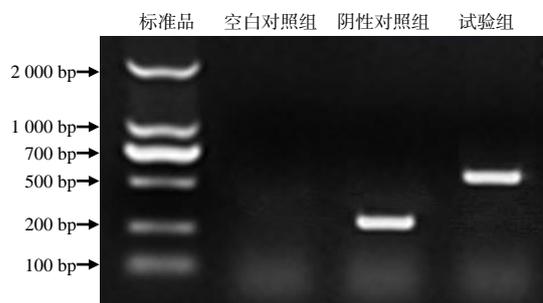


图 1 电泳检测 TRV 病毒

Fig. 1 Gel electrophoresis detection of TRV virus

### 2.2 感染病毒的生菜的表型性状

病毒侵染 2 周后, 可以观察到试验组植株的茎长相较于对照组明显增大(图 2)。对植株的株质量、株高、叶长和茎长进行观察和测量, 结果表明, 试

验组各项参数值均大于2个对照组的,而空白对照组与阴性对照组各项参数值之间并未出现明显变化(表1)。*LsRGL1* 基因沉默的结果表明,*LsRGL1* 对生菜抽薹有重要作用。通过这个试验结果,可以推测*LsRGL1* 基因在生菜生长和发育过程中可能发挥着重要作用。后续可以探究*LsRGL1* 基因在调控生菜的生长、形态特征以及对外界环境的响应中的具体机制。



图2 病毒侵染后的生菜植株表型

Fig.2 Phenotypic characterization of lettuce plants after virus infection

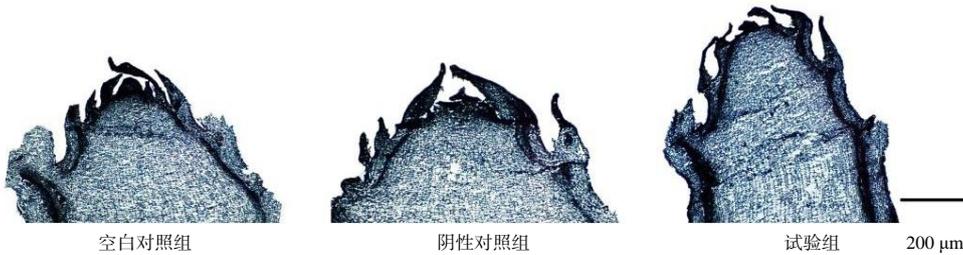
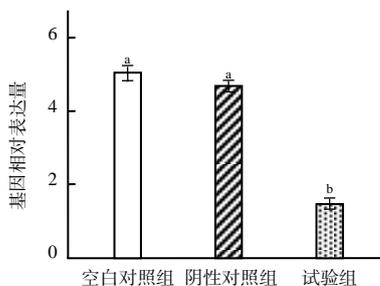


图3 基因沉默后生菜花芽分化

Fig.3 Differentiation of flower buds in lettuce after gene silencing

#### 2.4 基因沉默后 *LsRGL1* 表达量分析

采用 qPCR 分析了生菜的空白对照组、阴性对照组和试验组中 *LsRGL1* 基因的相对表达量。结果显示,试验组植株中, *LsRGL1* 基因的相对表达量相对于空白对照组和阴性对照组的均显著下降,下降幅度均超过 50%(图4)。这表明 VIGS 技术成功地实现了生菜中 *LsRGL1* 基因的沉默。



不同字母表示不同组别基因相对表达量差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

图4 基因沉默后生菜中 *LsRGL1* 的相对表达量

Fig.4 Relative expression levels of *LsRGL1* in lettuce after gene silencing

表1 侵染后生菜植株的表型数据

Table 1 Phenotypic data of lettuce plants after infection				
组别	株质量/g	株高/cm	叶长/cm	茎长/cm
空白对照组	(5.9±0.1)b	(14.0±0.3)b	(10.5±0.2)b	(1.2±0.1)b
阴性对照组	(5.5±0.1)b	(14.4±0.3)b	(8.1±0.2)c	(1.2±0.1)b
试验组	(6.8±0.1)a	(18.0±0.2)a	(14.2±0.3)a	(6.3±0.2)a

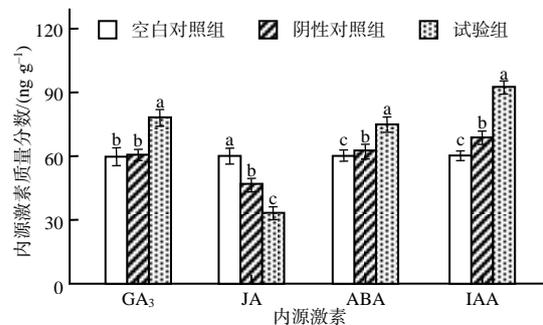
同列不同字母表示不同组别表型数据差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

#### 2.3 *LsRGL1* 沉默后花芽分化观察结果

选取沉默后的植株茎尖部位进行石蜡切片观察,结果(图3)表明,空白对照组和阴性对照组的茎尖存在明显圆锥形生长点,凸起比较明显,表明植株正在进行营养生长,顶端生长点较明显;而试验组植株茎尖生长点变平,无明显凸起,说明试验组植株已经开始花芽分化,提前进入生殖生长时期。因此, *LsRGL1* 基因沉默在一定程度上促进了生菜花芽分化,使植株提前进入抽薹开花时期。*LsRGL1* 可能在抑制生菜抽薹方面发挥重要作用。

#### 2.5 基因沉默后内源激素质量分数变化

为了验证 *LsRGL1* 基因沉默后对生菜内源激素的影响,通过对空白对照组、阴性对照组和试验组的植株进行不同激素质量分数的测定,结果(图5)表明试验组中  $GA_3$ 、ABA 和 IAA 的质量分数显著高于对照组的,而 JA 质量分数则显著下降。由图5



不同字母表示不同组别同一内源激素质量分数差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

图5 基因沉默后植株中内源激素质量分数的变化

Fig.5 Changes in endogenous hormone mass fraction in plants after gene silencing

可知, 试验组植株中的  $GA_3$  激素质量分数达到 78 ng/g, 而 2 个对照组植株中  $GA_3$  质量分数仅有 60 ng/g 左右; 试验组 ABA 激素质量分数达到 74 ng/g, IAA 激素质量分数达到 92 ng/g; 而 JA 激素质量分数相对于 2 个对照组均有所下降, 仅有 33 ng/g。结果表明,  $GA_3$ 、ABA、IAA 和 JA 激素质量分数受 *LsRGL1* 基因表达的影响。

### 3 结论与讨论

RGL1 是 DELLA 亚家族中的重要信号转导因子, 在植物生长发育过程中发挥作用, 其在调控植物抽薹开花方面的研究已有报道<sup>[15]</sup>。有研究表明拟南芥中 *RGL1* 基因通过编码赤霉素负向调节物, 从而使拟南芥延迟抽薹开花<sup>[22]</sup>; *RGL1* 在拟南芥雌蕊中优先表达, 且在 GA 介导的信号传导中表现出组织特异性<sup>[23]</sup>。目前对于生菜 *LsRGL1* 基因在成花转变中的作用尚不清楚。

GA 作为一种重要的植物激素, 调控着植物的多种发育过程<sup>[24-25]</sup>。GA 生物合成抑制剂通过抑制花菜和紫甘蓝的抽薹和开花来提高花菜和紫甘蓝的产量, 而白菜、芥菜和萝卜则通过 GA 的作用促进抽薹和开花<sup>[26-27]</sup>。有研究表明, 在大白菜三叶期, 经过 3 h 的 GA 处理后, DELLA 蛋白编码基因的表达量下调, 表明这些基因可能抑制茎的生长, 用  $GA_3$  降解这些基因可以启动茎的伸长和发育<sup>[13]</sup>。在拟南芥中, 所有 *RGL1* 转基因植株均出现抽薹延迟, 这与其缺乏 GA 生物合成或 GA 感知时的结果一致<sup>[28]</sup>。研究<sup>[29]</sup>表明, *RGL1* 基因过表达或 *GAI* 的功能性获得可在一定程度上减少拟南芥 *WRKY75* 过表达植株的早花表型。在南瓜花雄蕊发育过程中, 成熟花中 GA 受体 *GID1b* 基因和 DELLA 抑制剂 *GAIPb* 基因的表达量显著升高<sup>[30]</sup>。本研究中, 通过在生菜中沉默 *LsRGL1*, 发现其能够诱导生菜快速抽薹。

激素在植物发育和生长的各个方面起着重要作用<sup>[31-32]</sup>。以生菜为例, 在花芽分化的同一阶段, 暴露于赤霉素和生长素联合作用下的茎粗相较于赤霉素单独作用下的茎粗增加<sup>[33-34]</sup>, 这是因为 IAA 促进了  $GA_3$  含量的升高, 从而进一步刺激了茎的生

长<sup>[35]</sup>。细胞分裂素和 GA 等激素信号控制着大白菜茎形成过程的开始和进展<sup>[36]</sup>。本研究发现, 沉默 *LsRGL1* 基因影响  $GA_3$ 、IAA、ABA 和 JA 的质量分数, 这一结果可为外源激素调控育种周期提供参考。内源激素质量分数的测定结果表明植株茎的伸长与激素密切相关, 因此, 有必要进一步阐明外源激素对生菜抽薹的调控机制。

本研究利用 VIGS 技术沉默 *LsRGL1*, 侵染 2 周的试验组植株中 *LsRGL1* 的表达量显著低于对照组的。在形态方面, 试验组植株茎长显著高于对照组植株茎长, 这与基因表达量的变化趋势相反。利用石蜡切片技术对沉默后的植株进行花芽分化观察, 发现试验组植株有明显花芽分化状态, 而对照组茎尖生长点并未见花芽分化。综上所述, 沉默 *LsRGL1* 能够明显加速生菜花芽分化, 使茎迅速伸长, 推测 *LsRGL1* 可以在一定程度上抑制抽薹。

### 参考文献:

- [1] 范双喜, 韩莹琰. 生菜品种与栽培[M]. 北京: 中国农业出版社, 2018.
- [2] 刘凯月, 王湘闽, 陈肖英, 等. 5 种常见蔬菜氨基酸组成及营养评价[J]. 现代农业科技, 2023(2): 194-196.
- [3] 石东风. 生菜的栽培技术[J]. 河南农业, 2021(25): 43.
- [4] 许玉坤. 栽培方式和基质配比对生菜生长及品质的影响[D]. 晋中: 山西农业大学, 2020.
- [5] WANG T Z, LIU M J, WU Y, et al. Genome-wide identification and expression analysis of MAPK gene family in lettuce (*Lactuca sativa* L.) and functional analysis of *LsMAPK4* in high-temperature-induced bolting[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(19): 11129.
- [6] OUYANG Z, TIAN J C, YAN X F, et al. Effects of different concentrations of dissolved oxygen or temperatures on the growth, photosynthesis, yield and quality of lettuce[J]. Agricultural Water Management, 2020, 228: 105896.
- [7] 王祺, 蒲媛媛, 赵玉红, 等. 强冬性甘蓝型冬油菜抽薹相关基因 *SVP* 和 *SOCI* 的克隆与表达分析[J]. 江苏农业学报, 2020, 36(5): 1088-1097.
- [8] 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.
- [9] CAMPOS G, OSORIO-MONTALVO P, SANCHEZ-BORGES R, et al. Plant hormone signaling in flowering:

- an epigenetic point of view[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2017, 214: 16–27.
- [10] HAO J H, ZHANG L L, LI P P, et al. Quantitative proteomics analysis of lettuce(*Lactuca sativa* L.) reveals molecular basis-associated auxin and photosynthesis with bolting induced by high temperature[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, 19(10): 2967.
- [11] CHEN L G, XIANG S Y, CHEN Y L, et al. *Arabidopsis* WRKY45 interacts with the DELLA protein RGL1 to positively regulate age-triggered leaf senescence[J]. *Molecular Plant*, 2017, 10(9): 1174–1189.
- [12] WEN C K, CHANG C R. *Arabidopsis* RGL1 encodes a negative regulator of gibberellin responses[J]. *The Plant Cell*, 2002, 14(1): 87–100.
- [13] GUAN H L, HUANG X M, ZHU Y N, et al. Identification of *DELLA* genes and key stage for GA sensitivity in bolting and flowering of flowering Chinese cabbage[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(22): 12092.
- [14] DAVIÈRE J M, ACHARD P. A pivotal role of DELLAs in regulating multiple hormone signals[J]. *Molecular Plant*, 2016, 9(1): 10–20.
- [15] 张文颖, 朱旭东, 崔腾飞, 等. 葡萄 *VvRGL* 基因应答 GA 调控无核果实发育的研究[J]. *西北植物学报*, 2019, 39(3): 381–390.
- [16] ZULFIQAR S, FAROOQ M A, ZHAO T T, et al. Virus-induced gene silencing(VIGS): a powerful tool for crop improvement and its advancement towards epigenetics[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(6): 5608.
- [17] KUMAGAI M H, DONSON J, DELLA-CIOPPA G, et al. Cytoplasmic inhibition of carotenoid biosynthesis with virus-derived RNA[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1995, 92(5): 1679–1683.
- [18] PFLIEGER S P, RICHARD M M S, BLANCHET S, et al. VIGS technology: an attractive tool for functional genomics studies in legumes[J]. *Functional Plant Biology*, 2013, 40(12): 1234–1248.
- [19] SAHU P P, PURANIK S, KHAN M, et al. Recent advances in tomato functional genomics: utilization of VIGS[J]. *Protoplasma*, 2012, 249(4): 1017–1027.
- [20] LI H G, ZHANG D F, XIE K, et al. Efficient and high-throughput pseudorecombinant-chimeric cucumber mosaic virus-based VIGS in maize[J]. *Plant Physiology*, 2021, 187(4): 2865–2876.
- [21] CHEN L, XU M N, LIU C J, et al. *LsMYB15* regulates bolting in leaf lettuce(*Lactuca sativa* L.) under high-temperature stress[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2022, 13: 921021.
- [22] HUANG T H, HSU W H, MAO W T, et al. The *Oncidium* ethylene synthesis gene *Oncidium* 1-aminocyclopropane-1 carboxylic acid synthase 12 and ethylene receptor gene *Oncidium* *ETR1* affect GA-DELLA and jasmonic acid signaling in regulating flowering time, anther dehiscence, and flower senescence in *Arabidopsis*[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2022, 13: 785441.
- [23] GOMEZ M D, BARRO-TRASTOY D, FUSTER-ALMUNIA C, et al. Gibberellin-mediated RGA-LIKE1 degradation regulates embryo sac development in *Arabidopsis*[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2020, 71(22): 7059–7072.
- [24] UEGUCHI-TANAKA M. Gibberellin metabolism and signaling[J]. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 2023, 87(10): 1093–1101.
- [25] RITONGA F N, ZHOU D D, ZHANG Y H, et al. The roles of gibberellins in regulating leaf development[J]. *Plants*, 2023, 12(6): 1243.
- [26] YIN Y Y, LI J, GUO B Y, et al. Exogenous GA(3) promotes flowering in *Paphiopedilum callosum*(Orchidaceae) through bolting and lateral flower development regulation[J]. *Horticulture Research*, 2022, 9: uhac091.
- [27] KOU E F, HUANG X M, ZHU Y N, et al. Crosstalk between auxin and gibberellin during stalk elongation in flowering Chinese cabbage[J]. *Scientific Reports*, 2021, 11(1): 3976.
- [28] WANG H P, PAN J J, LI Y, et al. The DELLA-CONSTANS transcription factor cascade integrates gibberellic acid and photoperiod signaling to regulate flowering[J]. *Plant Physiology*, 2016, 172(1): 479–488.
- [29] ZHANG L P, CHEN L G, YU D Q. Transcription factor WRKY75 interacts with DELLA proteins to affect flowering[J]. *Plant Physiology*, 2018, 176(1): 790–803.
- [30] PIMENTA LANGE M J, KNOP N, LANGE T. Stamen-derived bioactive gibberellin is essential for male flower development of *Cucurbita maxima* L[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2012, 63(7): 2681–2691.

- 活性影响因素的研究进展[J]. 微生物学杂志, 2015, 35(4): 87-92.
- [24] 孔波, 李雪平, 李夷騫, 等. 9竹种抗旱性评价与指标筛选[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2021, 47(6): 663-668.
- [25] ZHU L P, GAO X, ZHANG M H, et al. Whole genome sequence of an edible mushroom *Oudemansiella raphanipes* (Changgengu)[J]. *Journal of Fungi*, 2023, 9(2): 266.
- [26] 苏世贤, 李婕, 吴安波, 等. 常见菌材主要营养成分及内含物质的分析[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2022, 48(4): 436-442.
- 责任编辑: 毛友纯  
英文编辑: 柳正

(上接第26页)

- [31] LIU D X, YAN G B, WANG S B, et al. Comparative transcriptome profiling reveals the multiple levels of crosstalk in phytohormone networks in *Brassica napus*[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2023, 21(8): 1611-1627.
- [32] 阳芳, 何高镜, 郭圣军, 等. 影响马铃薯块茎低温糖化的植物激素相关基因的表达[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2022, 48(2): 160-167.
- [33] WAADT R, SELLER C A, HSU P K, et al. Plant hormone regulation of abiotic stress responses[J]. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 2022, 23(10): 680-694.
- [34] CHEN L, LIU C J, HAO J H, et al. GA signaling protein LsRGL1 interacts with the abscisic acid signaling-related gene *LsWRKY70* to affect the bolting of leaf lettuce[J]. *Horticulture Research*, 2023, 10(5): uhad054.
- [35] PU Y Y, LIU L J, WU J Y, et al. Transcriptome profile analysis of winter rapeseed(*Brassica napus* L.) in response to freezing stress, reveal potentially connected events to freezing stress[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(11): 2771.
- [36] OU X, WANG Y D, ZHANG J W, et al. Identification of BcARR genes and CTK effects on stalk development of flowering Chinese cabbage[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(13): 7412.
- 责任编辑: 伍锦花  
英文编辑: 柳正