

超量表达 *FBL1* 对 84K 杨根系和生长量影响研究

舒文波^{1,2}, 赵树堂^{2*}, 章晶晶², 周艺华¹, 卢孟柱^{1,2}

(1. 南京林业大学南方现代林业协同创新中心, 江苏 南京 210037;

2. 林木遗传育种国家重点实验室, 中国林业科学研究院林业研究所, 北京 100091)

摘要:生长素及其信号转导系统对植物的生长发育具有重要的影响。本研究从银腺杨‘84K’(*Populus alba* × *P. glandulosa* cl. ‘84K’)中分离了生长素受体基因 *PtrFBL1*, 利用 PMDC32 构建了 PMDC32-*PtrFBL1* 超量表达载体, 并通过遗传转化获得了超量表达植株 17 个。对温室定植的 3 个转基因株系和对照植株的根系、生长量和光合指标等性状分析结果显示:转基因株系总根长和总根面积达到显著或极显著差异, 而根系干质量、平均不定根系长度、平均不定根直径差异不显著;株高、平均节间长、地径和高径比皆高于对照, 且大多数转基因株系达到显著差异;除气孔限制值(*Ls*)低于对照外, 气孔导度(*Cd*)、水分利用效率(*WUE*)、光能利用效率(*LUE*)和叶绿素相对含量皆高于对照, 且大多数转基因株系达到显著或极显著差异。以上结果表明, 可能是 *FBL1* 超表达增加了转基因株系根系面积, 提高了水分和养分的吸收利用, 进而导致转基因株系光能吸收和转化效率提高, 引起转基因株系生长加快。

关键词:超量表达; *FBL1*; 84K 杨; 根系; 生长量

中图分类号: S718.46

文献标识码: A

Over-expressing *FBL1* Receptor Led to Root Formation and Growth of *Populus alba* × *P. glandulosa* cl. ‘84K’

SHU Wen-bo^{1,2}, ZHAO Shu-tang², ZHANG Jing-jing², ZHOU Yi-hua¹, LU Meng-zhu^{1,2}

(1. Co-Innovation Center for Sustainable Forestry in Southern China, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, Jiangsu, China;

2. State Key Laboratory of Tree Genetics and Breeding, Research Institute of Forestry, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091, China)

Abstract: Poplar is one of the major fast-growing tree species in China, but little was known about the effect of auxin on fast growth and secondary growth of poplar plants. In this study, *PtrFBL1* for auxin receptor gene was cloned in poplar, the over-expression vector of PMDC32-*PtrFBL1* based on PMDC32 was constructed and 17 *PtrFBL1* over-expressed plants of *P. alba* × *P. glandulosa* cl. ‘84K’ were obtained. The root, growth and photosynthetic indexes of 3 transgenic lines and the control were analyzed. The results showed that the total root length and total root area of transgenic lines were higher than those of the non-transgenic control lines, and the differences were all significant or extremely significant. On the other hand, the mean adventitious root length, mean adventitious root diameter and root biomass were not significant. The plant height, average internode length, average internode diameter and ratio of height and diameter were higher than these of the control lines. In addition to lower limitation of stoma (*Ls*), all the other indexes, i. e. the stomatal conductance (*Cd*), water use efficiency (*WUE*), light use efficiency (*LUE*) and relative contents of chlorophyll were higher than those of the controls, and the differences from most transgenic lines reached significant or extremely significant levels. The transgenic lines increased the root areas, and had stronger photosynthetic efficiency and rate of water consumption, and promoted biomass accumulation on

收稿日期: 2015-06-15

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(“973”计划)“形成层干细胞维持、分化以及次生木质部发育的调控机制”(2012CB114500)

作者简介: 舒文波(1979—),男,在读博士,主要研究方向:林木遗传育种。E-mail:wenboshu@yeah.net

* 通讯作者: (1976—),男,博士,助理研究员,主要研究方向:林木遗传育种。E-mail:Zhaost318@163.com

ground, thus had the accelerated speed of growth. Therefore, the *PtrFBL1* gene has the potential to be manipulated to improve the growth.

Key words: over-expressing; *FBL1*; *Populus alba* × *Populus glandulosa* cl. '84K'; root formation; growth

生长素 (auxin) 作为植物生长发育调控和逆境响应唯一具有极性运输特性的激素^[1], 在茎尖或根尖分生组织和幼嫩组织合成后, 通过在韧皮部长距离运输及细胞间的极性运输到达作用位点, 然后通过生长素信号转导途径发挥其生物学功能, 进而调控植物生长发育的各个方面, 如胚胎发育、器官形态建成、不定根发生和茎的发育等^[2]。

生长素信号转导途径包括信号感知、转导及基因响应等。生长素受体作为生长素信号转导的起始, 对植物生长发育具有重要调控作用。目前在植物中发现有 3 类生长素受体: ABP1 (Auxin Binding Protein 1)、TIR1/AFBs (Transport Inhibitor Resistant1/Auxin Signaling F-box) 及 SKP2A (S-phase Kinase-Associated Protein 2a)^[2]。生长素响应基因的转录调控主要是通过 TIR1/AFBs 信号途径实现的, 该途径包括生长素受体 TIR1/AFB、转录抑制子 Aux/IAA、生长素响应因子 ARF 等基因家族。TIR1/AFB 属富含亮氨酸重复序列 (LRRs) 的 F-box 蛋白, 与泛素化蛋白质降解途径有关, 在低生长素浓度时, Aux/IAA 与 ARFs 结合, 阻遏了生长素响应基因的转录; 当生长素浓度增高时, 生长素就会起到“分子胶”的作用, 使 Aux/IAA 与 SCF^{TIR1} 结合在一起, 形成 SCF^{TIR1}-生长素-Aux/IAA 复合物; 从而使 Aux/IAA 被泛素化并被 26S 蛋白酶体降解, ARFs 被释放出来, 与 AuxRE 结合, 转录激活或抑制生长素响应基因的表达, 产生 IAA 效应^[3]。因此, TIR1/AFBs 与生长素结合是生长素信号转导的关键步骤^[4]。研究证实, 在拟南芥中 TIR1 存在着一个基因家族, 且还有 5 个 AFB (auxin signaling F-box protein) 蛋白 (AFB1、AFB2、AFB3、AFB4 和 AFB5) 存在^[5]。TIR1 与 AFB2 是生长素信号正调节子^[6], 而 AFB4 对 TIR1 和 AFB2 具有上位性, 是一个负调节子^[7]。在幼苗生长发育期, TIR1 与 AFB2 比其他类似基因具有更重要的角色; 而在生根期, 比 AFB1 或 AFB3 具有较重要的角色^[6], 在拟南芥中突变 *TIR1* 后显著减少了侧根数量^[8]。虽然在拟南芥、番茄^[9]和水稻^[10]等植物中 *TIR1* 基因家族的功能已有了深入的研究, 但木本植物具有多年生、木材形成等特性, *TIR1* 基因家族如何在这些过程中发挥作用等相关信息知之甚少。本

研究从银腺杨 '84K' (*P. alba* × *P. glandulosa* cl. '84K') 中分离了拟南芥 *TIR1* 同源基因 *PtrFBL1*, 通过遗传转化获得超量表达转基因植株, 并对转基因植株的表型进行分析, 为了解生长素信号系统调控杨树不定根形成和生长发育奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

银腺杨 '84K' 无菌苗为林木遗传育种国家重点实验室 (中国林业科学研究院) 保存并扩繁; 大肠杆菌 DH5 α 、农杆菌 GV3101 菌种及 pDNOR222.1 质粒均由本实验室保存; 限制性内切酶及 DNA 连接酶购自 NEB 公司; DNA 凝胶回收试剂盒、质粒提取试剂盒购自 AxyGen 公司; pGEM2TEasy 载体购自 Promega 公司; *Taq* DNA 聚合酶购自 TaKaRa 公司; RNA 提取、反转录、定量 PCR 以及其它试剂购自 Sigma 公司; PCR 引物合成和测序由英潍捷基生物公司完成。

1.2 方法

1.2.1 质粒和载体构建 本研究利用拟南芥 *TIR1* 基因序列在毛果杨 (*P. trichocarpa*) 基因组数据库 (<http://phytozome.jgi.doe.gov/pz/portal.html>) 进行比对, 得到毛果杨同源基因 *PtrFBL1* 序列, 根据该序列设计基因特异的 PCR 引物 (表 1), 通过 RT-PCR 方法从银腺杨 '84K' cDNA 中分离得到 *PtrFBL1* 基因, 克隆到载体 pDNOR222.1 上, 经测序后亚克隆至超量表达载体 PMDC32, 构建 35S::*PtrFBL1* 超表达载体并电击转化到农杆菌 GV3101, 利用农杆菌介导的叶盘法转化 '84K' 杨。

表 1 克隆 *PtrFBL1* 基因和实时定量 PCR 分析所用的引物

引物名称	引物序列 (5'-3')
PtrFBL-1-F	GCCTCTTCTTCAAGGATCG
PtrFBL-1-R	TCAAGAAAACCTTGACACAGAATC
PtrFBL-1RT-F	CACCATGTGTGTCTGGGTG
PtrFBL-1RT-R	TTCTGACCCAGCAGCTTACA
PtrUBQ -F	GTTGATTTTGTGGGAAGC
PtrUBQ -R	GATCTTGGCCTTCACGTTGT

1.2.2 植物材料培养和遗传转化 遗传转化外植体选用 '84K' 杨树组培苗顶端第 3、4 个叶片, 培养条件为温度 23 ~ 25℃、光照 16/8 h (白天/黑夜)、光照

强度 $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 的条件下培养。含有超表达 35S::*PtrFBL1* 的农杆菌在 $OD_{600} = 0.6 \sim 0.8$ 时侵染‘84K’叶盘。感染后的叶盘在不定芽诱导培养基(SIM, Murashige-Skoog (MS)) 基本培养基添加 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA 和 $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA 上,在温度为 $24 \pm 2^\circ\text{C}$ 的黑暗条件下共培养 3 d。共培养后的叶盘转移至含有 $3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ hygromycin B (潮霉素) 和 $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Timentin (特美汀) 的 SIM 上,在培养温度为 $23 \sim 25^\circ\text{C}$ 、光照为 16/8 h (白天/黑夜)、光照强度为 $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 的条件下诱导和筛选抗性不定芽。经过约一个月的诱导培养,将抗性不定芽转移至含有 $3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ hygromycin B 和 $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Timentin 的生根培养基(RIM, 即 1/2 MS 基本培养基添加 $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IBA 和 $0.02 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA) 中,直至诱导出不定根。随机选取 3 个超表达 35S::*PtrFBL1* 扦插后生长 1 个月的转基因株系,以‘84K’杨野生型植株为对照,每个株系至少扩繁 30 株,定植温室。测定超表达 35S::*PtrFBL1* 对转基因植株不定根和生长量的影响至少重复 3 次。

1.2.3 RNA 提取和 RT-PCR 分析 转基因株系和对照植株分别取 3 株混合取样, RNA 提取和反转录分别按照植物总 RNA 提取试剂盒(RNeasy Plant Kit) 和反转录试剂盒(SuperScript III first-strand synthesis system) 描述的方法进行,定量 PCR 的引物使用 Primer 5 软件(<http://frodo.wi.mit.edu/primer3/input.htm>) 设计(序列见表 1)。实时荧光定量 PCR 根据 SYBR Premix Ex Taq™ II 试剂盒(TaKaRa, Dalian, China) 和 Roche 480 实时荧光定量 PCR 仪(Roche Applied Science) 的说明书使用,每样品 4 次重复,用 *PtrUBQ* 基因作为内参对照。

1.2.4 根系、生长量、叶绿素相对含量和光合测定

采用 WinRHIZO 根系分析系统测定温室定植 30 d 的转基因和对照株系的根系不同指标值(不定根系平均直径(mm)、长度(cm)、总根系长(cm)、总根系面积(cm^2)和根系干质量(g),每个株系至少测定 15 株;转基因和对照株系温室定植 105 d 时,测定株高(dm)、平均节间长(cm)和地径(mm),每个株系至少测定 15 株;转基因和对照株系温室定植 120 d 时,采用 SY-S02 植物叶绿素测定仪测定叶绿素相对含量(SPAD) 和 Li-6400 (美国) 便携式光合作用仪测定光合作用指标,每个株系至少测定 3 株。测定时选择自顶部向下的第 3 片、第 4 片和第 5 片叶进行测定,每个叶片测定 4 组数据。使用 Li-6400 从 8:

00—12:00 测定,仪器自动记录净光合速率(P_n)、胞间 CO_2 浓度(C_i)、气孔导度(C_d) ($\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)、蒸腾速率(T_r), 光合有效辐射(PAR)、空气 CO_2 浓度(C_a) 等数值,利用 $L_s = 1 - C_i/C_a$ 计算气孔限制值(L_s), 利用 $WUE = P_n/T_r$ ($\mu\text{mol} \cdot \text{mmol}^{-1}$) 进行计算水分利用效率(WUE), 利用 $LUE = P_n/PAR$ 进行计算光能利用效率(LUE)^[11]。

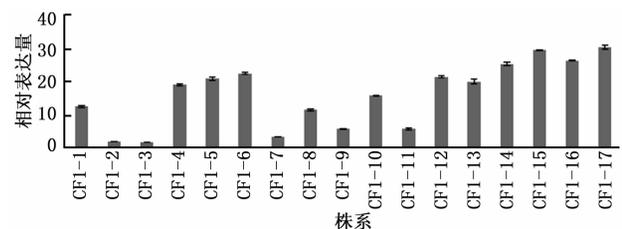
1.3 数据统计

应用 Microsoft Excel 和 SPSS17.0 软件对数据进行处理,采用配对样本单因素方差分析根系不同指标间、生长量间、光合指标间和叶绿素相对含量间的差异,并用 LSD 法检验差异显著性水平,用相关分析法检验生长量指标和光合指标间的关联性。

2 结果与分析

2.1 *PtrFBL1* 超表达转基因植株的获得和定量 RT-PCR 分析

为研究生长素信号转导对杨树生长发育的影响,利用农杆菌介导的叶盘法转化‘84K’杨,通过抗性筛选和 PCR 检测得到 17 个独立转基因株系。定量 RT-PCR 结果显示,*PtrFBL1* 基因 12 个组成型表达转基因株系温室生长 30 d 时苗木顶端组织表达量显著上升(图 1),与对照相比达 10 倍以上,从中随机挑选 3 个转基因株系(#6、#13 和#15) 和‘84K’对照进行扩繁,移栽至温室中,对其根系发育、生长量、光合特征等指标进行测定。



注:转基因株系相对表达量计算依据设定‘84K’杨对照值为 1,图中为性状均值和标准误

图 1 转基因杨树不同株系相对表达量分析

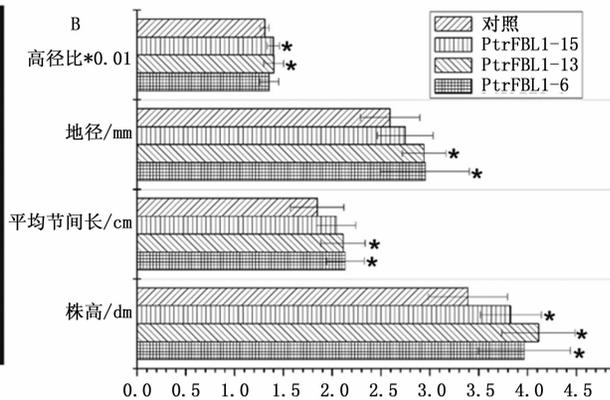
2.2 *PtrFBL1* 超表达促进转基因植株不定根生长

表型观察发现 *PtrFBL1* 超表达转基因植株根系发育明显增强(图 2),温室定植 30 d 时‘84K’杨 3 个转基因株系(#6、#13 和#15) 的不定根系直径和长度、总根系长、总根系面积、根系干质量分别为 $0.83 \sim 0.96 \text{ mm}$ 、 $4.3 \sim 5.0 \text{ cm}$ 、 $187.47 \sim 196.17 \text{ cm}$ 、 $13.7 \sim 15.9 \text{ cm}^2$ 、和 $0.0057 \sim 0.0154 \text{ g}$, 而对照植株分别为 0.82 mm 、 5.9 cm 、 136.86 cm 、 11.6 cm^2 和

0.016 5 g。结果表明:与对照植株相比,转基因株系的总根长和总根面积均显著增加,差异达到显著水平($P < 0.05$)或极显著水平($P < 0.01$),而根系干质量和平均不定根系长度有所降低,不定根直径却有所增加,但差异皆不显著($P > 0.05$)(图2)。说明 *PtrFBL1* 超表达促进了转基因植株根系的生长, *PtrFBL1* 介导的生长素信号系统可能对杨树根系生长具有重要的调控作用。

2.3 *PtrFBL1* 超表达促进了转基因植株苗高和地径生长

转基因植株苗高生长明显高于对照植株(图3A),为了进一步测定超量表达 *PtrFBL1* 基因对杨树生长量的影响,本研究对转基因株系温室定植 105 d 时相关生长量指标进行了测定。结果表明:转基因植株苗高、平均节间长、地径和高径比分别为 3.83 ~ 4.11 dm、2.04 ~ 2.13 cm、2.75 ~ 2.95 mm 和 135.39 ~ 140.08(图3B),而对照植株分别为 3.39

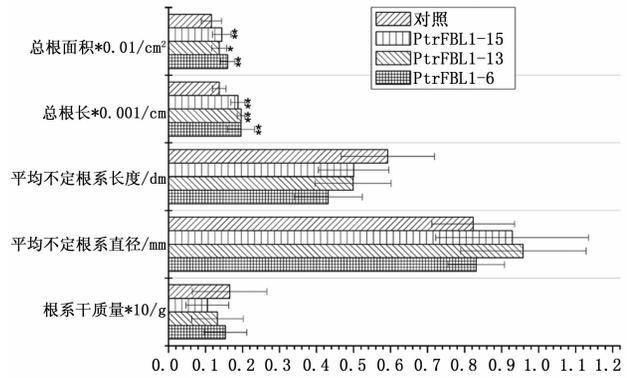


注:A表示温室种植105 d转基因杨和对照,B表示转基因杨生长相关性状值;*表示显著水平($P < 0.05$);比例尺代表1 cm

图3 转基因杨树生长量相关性状分析

2.4 *PtrFBL1* 超表达转基因株系的光合特征

蒸腾作用把植物生长所需要的水分和养分送至植物体各部,而光能利用效率是蒸腾作用的动力^[11]。由图4可知,转基因植株温室定植 120 d 时,3个转基因株系的 *Cd*、*WUE*、*Ls*、*LUE* 和叶绿素相对含量分别为 0.5 ~ 0.63 mol · m⁻² · s⁻¹、0.59 ~ 0.67 μmol · mmol⁻¹、0.08 ~ 0.104、0.001 9 ~ 0.022 和 32.913 ~ 35.269 SPAD,而对照植株分别为 0.42 mol · m⁻² · s⁻¹、0.53 μmol · mmol⁻¹、0.106、0.001 7 和 31.067 SPAD。方差分析表明,3个不同的转基因株系 *Cd*、*LUE* 和叶绿素相对含量皆高于对照植株,而 *WUE* 只有2个转基因株系高于对



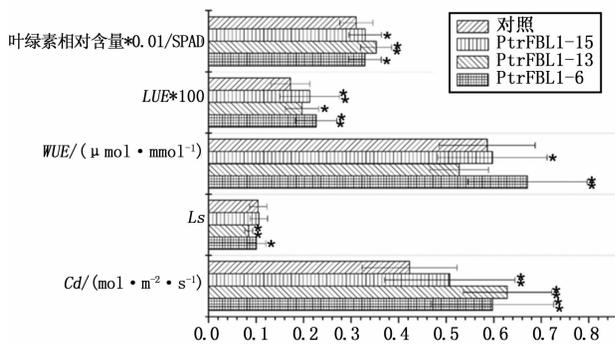
*表示显著水平($P < 0.05$),**表示极显著水平($P < 0.01$)

图2 转基因杨树根系相关性状分析

dm、1.85 cm、2.59 mm、130.84。方差分析结果表明,3个不同的转基因株系株高、平均节间长、地径和高径比皆高于对照植株,且株高3个株系皆达到显著性水平($P < 0.05$),而平均节间长、地径和高径比各2个株系的差异达到显著性水平($P < 0.05$)。

照植株,且达到显著差异($P < 0.05$)或极显著差异($P < 0.01$),但 *Ls* 值则低于对照植株,且2个转基因株系达到显著差异($P < 0.05$)或极显著差异($P < 0.01$)(图4)。苗高、节间长、地径、*Cd*、*WUE*、*Ls* 和 *LUE* 值的相关性分析结果(表2)表明,株高除与 *Ls* 负相关外,与其他因子皆呈正相关,但均未达到显著相关,影响程度依次为:*Cd* > *LUE* > 地径 > 节间长 > *WUE* > *Ls*;节间长与其他因子皆呈正相关,亦未达到显著相关,影响程度依次为:*LUE* > *WUE* > *Cd* > 地径 > 株高 > *Ls*;地径除与 *Cd* 负相关外,与其他因子皆呈正相关,且与 *LUE* 达到显著相关,而与 *Ls* 和 *WUE* 达到极显著相关,影响程度依次为:*WUE* > *Ls* > *LUE*

> 株高 > 地径 > *Cd*。



注: * 表示显著水平 ($P < 0.05$), ** 表示极显著水平 ($P < 0.01$)

图4 转基因杨树光合作用相关性状分析结果

表2 转基因杨树生长和光合性状相关系数

类别	株高	节间长	节间直径	<i>Cd</i>	<i>Ls</i>	<i>WUE</i>	<i>LUE</i>
株高	1						
节间长	0.104	1					
地径	0.316	0.139	1				
<i>Cd</i>	0.558	0.226	-0.009	1			
<i>Ls</i>	-0.018	0.056	0.808**	-0.380	1		
<i>WUE</i>	0.083	0.264	0.846**	0.057	0.836**	1	
<i>LUE</i>	0.320	0.270	0.732*	0.491	0.566	0.865**	1

注: * 表示显著水平 ($P < 0.05$), ** 表示极显著水平 ($P < 0.01$)

3 结论与讨论

生长素信号途径涉及对生长素信号的感受、转导和下游响应基因表达。最近, *TIR1*^[12]、*ABP1*^[2]、*SKPA2*^[13] 先后被证明是生长素受体, 其中, *TIR1* 通过调控下游生长素响应基因的表达调控植物生长发育, 参与泛素化蛋白质降解途径, 通过泛素化 *Aux/IAA* 使其被 26S 蛋白酶体降解, 进而激活 *ARFs*, 并调控生长素响应基因的转录。然而, 对于树木中起关键作用的生长素相应受体尚未鉴定, 特别是其对于树木高生长、次生生长的作用尚需进一步的研究。

本研究克隆了杨树 *TIR1* 同源基因 *FBL1*, 通过农杆菌介导的转化获得了转 *FBL1* 基因的杨树植株, 表达量分析后挑选了基因表达显著上升的转基因植株进行了表型观察。转基因各株系总根系长和总根系面积皆显著或极显著高于对照植株, 且植株的株高、平均节间长、地径和高径比均高于对照, 说明 *FBL1* 基因超表达增强了生长素信号途径, 引起了下游相关基因表达, 进而调控了杨树的生长、发育。生长素在植物主根、侧根、不定根及根毛发育过程中发挥着重要的作用^[14]。拟南芥 *TIR1* 突变体植株^[8]和抑制 *TIR1* 基因表达^[15]皆能使侧根数量明显减少, 增加抑制生长素信号的 *AXR2/IAA7* 和 *SHY2/*

IAA3 稳定性的突变体根系发育异常^[16]。研究还发现 *ARF* 在侧根形成中具有重要作用, 其与 *Aux/IAA* 不同互作对根的形成产生不同影响^[17], 具体由 *ARF7* 和 *ARF19* 通过激活 *LBD/ASLs* (*LBD29/ASL16* 和 *LBD16/ASL18*) 和 *EXP17* 调节侧根形成^[18]。这些研究表明 *TIR1* 通过调控下游的信号系统调节植物根系发育。许多研究发现, 根系大小和形态对植物获取水分和养分具有重要影响^[11], 因此, *FBL1* 基因对林木根系发育功能的确定, 为进一步了解木本植物根系发育提供了分子基础, 且对分子育种改良难生根林木、加快林木育种进程具有重要意义。

TIR1 基因对植物干旱也有影响^[19], 但对生长量的影响还未见报道。本研究中 *FBL1* 超表达转基因植株株高、平均节间长、地径和高径比均高于对照, 说明了 *FBL1* 对应杨树生长的正调控作用。这种促进作用可能存在两个原因: 一是 *FBL1* 可以直接通过生长素的作用促进茎顶端和侧生分生组织活性, 类似生长素对于植物生长的普遍调控作用; 二是高生长和径向生长是根系作用结果, 即转基因植株发达的根系促进地上部分的生长。地上部分所需的水分、营养均由根部吸收并通过导管分子向上运输, 而根所需要的维生素、糖等由地上部制造, 运送到根部提供能源和碳源。植物的生长发育是根系与地上部分相互促进、相互依赖、相互联系的过程^[11]。大多数转基因株系的 *Cd*、*WUE*、*LUE* 和叶绿素值高于对照, 可能是由于 *FBL1* 基因超表达增加了转基因植株根系面积, 提高了水分和养分的吸收利用, 进而导致转基因株系叶绿素和 *LUE* 值增加, 提高了植株光能吸收和转化效率; 同时 *Cd* 值增大, *Ls* 值降低, 增加了光合速率, 提高了蒸腾速率, 最终导致转基因植株生长速度加快。

综上所述, 本研究从银腺杨 ‘84K’ 中分离了 *PtrFBL1* 基因并通过遗传转化获得超表达转基因植株, 转基因植株总根系长、总根系面积及地上部分生长量显著增加, 说明 *FBL1* 介导的生长素信号转导系统对木本植物生长发育具有重要的影响, 但其调控机制有待进行深入解析。

参考文献:

- [1] Lau S, Shao N, Bock R, et al. Auxin signaling in algal lineages: fact or myth? [J]. Trends in plant science, 2009, 14 (4): 182-188.
- [2] Salehin, M., Bagchi, R., Estelle, M. SCF^{TIR1/AFB}-based auxin perception: mechanism and role in plant growth and development

- [J]. *The Plant Cell*, 2015, 27(1): 9–19.
- [3] Yu H, Moss B L, Jang S S, *et al.* Mutations in the TIR1 auxin receptor that increase affinity for auxin/indole-3-acetic acid proteins result in auxin hypersensitivity [J]. *Plant physiology*, 2013, 162(1): 295–303.
- [4] Villalobos L I A C, Lee S, De Oliveira C, *et al.* A combinatorial TIR1/AFB-Aux/IAA co-receptor system for differential sensing of auxin [J]. *Nature Chemical Biology*, 2012, 8(5): 477–485.
- [5] Dharmasiri N, Dharmasiri S, Estelle M. The F-box protein TIR1 is an auxin receptor [J]. *Nature*, 2005, 435: 441–445.
- [6] Parry G, Calderon-Villalobos L, Prigge M, *et al.* Complex regulation of the TIR1/AFB family of auxin receptors [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2009, 106: 22540–22545.
- [7] Hu Z, Keçeli M A, Piisilä M, *et al.* F-box protein AFB4 plays a crucial role in plant growth, development and innate immunity [J]. *Cell research*, 2012, 22: 777–781.
- [8] Ruegger M, Dewey E, Gray W M, *et al.* The TIR1 protein of Arabidopsis functions in auxin response and is related to human SKP2 and yeast Grr1p [J]. *Genes & Development*, 1998, 12(2): 198–207.
- [9] Ren Z, Li Z, Miao Q, *et al.* The auxin receptor homologue in *Solanum lycopersicum* stimulates tomato fruit set and leaf morphogenesis [J]. *Journal of experimental botany*, 2011, 62(8): 2815–2826.
- [10] Bian H, Xie Y, Guo F, *et al.* Distinctive expression patterns and roles of the miRNA393/TIR1 homolog module in regulating flag leaf inclination and primary and crown root growth in rice (*Oryza sativa*) [J]. *New Phytologist*, 2012, 196(1): 149–161.
- [11] 甘肖梅. 桂林岩溶石山阴香光合生理生态特性研究 [D]. 广西: 广西师范大学硕士论文, 2010.
- [12] Peer W A. From perception to attenuation: auxin signalling and responses [J]. *Current opinion in plant biology*, 2013, 16(5): 561–568.
- [13] Jurado S, Díaz-Triviño S, Abraham Z, *et al.* SKP2A, an F-box protein that regulates cell division, is degraded via the ubiquitin pathway [J]. *The Plant Journal*, 2008, 53(5): 828–841.
- [14] Ljung K. Auxin metabolism and homeostasis during plant development [J]. *Development*, 2013, 40: 943–950.
- [15] Xie Q, Frugis G, Colgan D, *et al.* Arabidopsis NAC1 transduces auxin signal downstream of TIR1 to promote lateral root development [J]. *Genes & Development*, 2000, 14(23): 3024–3036.
- [16] Guseman J M, Hellmuth A, Lanctot A, *et al.* Auxin-induced degradation dynamics set the pace for lateral root development [J]. *Development*, 2015, 142(5): 905–909.
- [17] Piya S, Shrestha S K, Binder B, *et al.* Protein-protein interaction and gene co-expression maps of ARFs and Aux/IAAs in Arabidopsis [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2014, 5: 1–9.
- [18] Gupta A, Singh M, Laxmi A. Interaction between glucose and brassinosteroid during the regulation of lateral root development in Arabidopsis [J]. *Plant Physiology*, 2015, 168(1): 307–320.
- [19] Xia K, Wang R, Ou X, *et al.* OsTIR1 and OsAFB2 downregulation via OsmiR393 overexpression leads to more tillers, early flowering and less tolerance to salt and drought in rice [J]. *PLoS One*, 2012, 7(1): e30039.