

隐花素在生长素调控拟南芥下胚轴伸长中的作用分析

唐冬英,赵小英,谢敏敏,廖晓英,李丽,刘选明*

(湖南大学 生物学院,植物功能基因组学与发育调控湖南省重点实验室,中国湖南 长沙 410082)

摘要:以拟南芥野生型(Col-4)和隐花素双突变体 *cry1cry2* 为材料,研究不同光照条件下不同浓度吲哚乙酸 (IAA)和 IAA 极性运输抑制剂氨基萘乙酸(NPA)对幼苗下胚轴伸长的影响。结果显示,低浓度 IAA(10^{-7} mol/L)可促进连续白光和红光下 *cry1cry2* 幼苗下胚轴伸长,而连续蓝光下 *cry1cry2* 下胚轴的伸长则受到抑制。蓝光下相同浓度的 NPA 对 *cry1cry2* 幼苗下胚轴伸长的抑制程度比野生型要小。RT-PCR 分析结果显示,瞬时蓝光处理时 IAA 合成关键酶基因 *IGPS* 以及生长素应答基因 *IAA1* 和 *IAA5* 在 *cry1cry2* 突变体中的转录水平比野生型中要高。这表明隐花素可能部分通过调节 IAA 合成和/或 IAA 极性运输,介导蓝光调控拟南芥下胚轴的伸长。

关键词:隐花素;生长素(IAA);下胚轴;拟南芥

中图分类号:Q945

文献标识码:A

文章编号:1007-7847(2014)02-0124-05

Effect of Cryptochrome on IAA Regulating Hypocotyls Elongation in *Arabidopsis thaliana*

TANG Dong-ying, ZHAO Xiao-ying, XIE Min-min, LIAO Xiao-ying, LI Li, LIU Xuan-ming*

(College of Biology, Hunan Province Key Laboratory of Plant Functional Genomics and Developmental Regulation, Hunan University, Changsha 410082, Hunan, China)

Abstract: The wild-type *Arabidopsis thaliana* ecotypes Columbia (Col-4) and Cryptochrome *cry1cry2* double mutants were used to study the effect of indole acetic acid (IAA) and polar auxin transport inhibitor 1-naphthylphthalamic acid (NPA) on hypocotyl elongation in seedling under different light conditions. The results showed that the hypocotyls elongation of *cry1cry2* seedling was stimulated in the presence of low concentration of IAA (10^{-7} mol/L) under continuous white and red light, but inhibited under continuous blue light. The hypocotyls elongation of *cry1cry2* were less inhibited than that of wild type at relative higher concentration of NPA (5×10^{-6} mol/L). The RT-PCR results exhibited that the expression level of IAA synthesis gene *IGPS*, and IAA responsive gene *IAA1* and *IAA5* in *cry1cry2* mutant was higher than that in wild type seedling when exposed to blue light. These results demonstrated that cryptochrome might mediated blue light controlling hypocotyl elongation partly through regulating IAA synthesis and/or IAA polarization in *Arabidopsis thaliana*.

Key words: Cryptochrome; indole acetic acid (IAA); hypocotyl elongation; *Arabidopsis*

(*Life Science Research*, 2014, 18(2): 124~128)

收稿日期:2014-01-13;修回日期:2014-03-17

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31171176);湖南省自然科学基金资助项目(11JJJA002);高等学校博士学科点专项科研基金资助项目(20090161110030);生物发育工程与新产品研发协同创新中心资助项目(20134486)

作者简介:唐冬英(1970-),女,湖南衡阳人,硕士,讲师,博士研究生,主要从事植物生理与分子生物学方面的研究,Tel:0731-88821565, E-mail:dytang01@126.com; *通讯作者:刘选明(1963-),男,湖南邵阳人,湖南大学生物学院教授,博士,主要从事植物分子生物学、生物技术方面的研究,Tel:0731-88664029, E-mail:xml05@126.com。

光是影响植物生长发育的主要外界因素。植物对光辐射作出反应,并调节自身的生长和发育。例如:植物见光后,立即去黄化(包括子叶开张、下胚轴伸长受抑制等),以便进行光合作用^[1-3],这些光形态建成反应由两类光受体系统介导:光敏素(红光/远红光受体)和隐花素(蓝光/近紫外光受体)。隐花素 cry1 和 cry2 介导蓝光抑制拟南芥下胚轴伸长,并且蓝光信号转导在不同的植物中是保守的^[4,5]。生长素在植物光形态建成反应中也具有重要作用,介导光调控植物下胚轴伸长、向光性反应等,暗示生长素可能作为光信号传递链中的第二信使发挥作用^[6,7]。例如:李韶山和潘瑞焱推测蓝光处理降低了水稻体内的 IAA 水平,从而抑制生长;余让才和潘瑞焱等^[7]研究发现,黑暗下生长的水稻幼苗最高,白光处理次之,蓝光处理最矮,并且3种处理中 IAA 含量总是以黄化苗为最高,白光下的幼苗次之,蓝光下的幼苗最低,进一步证明蓝光对水稻幼苗生长的抑制,与蓝光下水稻幼苗中的 IAA 含量低有关。

此外,高等植物茎中存在生长素的极性运输,生长素在植物组织内的浓度梯度是由极性运输维持的,并且生长素极性运输的方向是由极性分布的输出载体决定的^[8],因此蓝光对植物幼苗生长的影响也可能与 IAA 极性运输有关。本研究以拟南芥野生型 Col-4、蓝光受体隐花素双突变体 cry1cry2 为材料,系统研究了外源 IAA、IAA 极性运输抑制剂 NPA 对不同光照条件下拟南芥下胚轴伸长的影响,并初步分析了瞬时蓝光对 IAA 生物合成关键酶吲哚乙酸甘油磷酸合成酶(IGPS)^[9]、生长素诱导蛋白1(indoleacetic acid-induced protein 1, IAA1)和蛋白5(indoleacetic acid-induced protein 5, IAA5)^[9,10]以及极性运输相关蛋白(At-APM1 和 AtAPP1)^[11]基因表达的调节。

1 材料与方法

1.1 实验材料

拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)野生型 Col-4、隐花素双突变体 cry1cry2 的种子由美国加州大学洛杉矶分校的林辰涛教授提供。实验所用 IAA、IAA 极性运输抑制剂 NPA 购自美国 Sigma 公司;RNAeasy Mini Kit 购自美国 Invitrogen 公司;M-MLV 逆转录酶、RQ1 DNase I、Oligo (dT)15 购自美国 Promega 公司;RNA 酶抑制剂、Taq DNA 聚合酶购自美国 MBI 公司;引物由上海生工生物工

程有限公司合成。

1.2 光源

本研究所用白色光源为 Philips 公司生产的白色荧光灯,蓝色光源和红色光源为日本东京理化公司生产的 LED-B 蓝色荧光灯和 LED-R 红色荧光灯。光照强度的测定采用 Li250 量子光度计(Li-Cor, Inc, Lincoln, NE)。

1.3 下胚轴长度的测定

拟南芥种子用 70%乙醇进行表面消毒 30 s, 10% 次氯酸钠灭菌 10 min,用无菌水冲洗 4~5 次后,将种子分别播于含不同浓度 IAA 和 NPA 的 MS 盐固体培养基上,每处理播 100 粒种子左右。4 °C 低温处理 4 d 后,转入不同光照培养箱中进行培养,温度为 22~23 °C。白光、蓝光和红光的光照强度分别为:36±2、20±2 和 50±2 μmol·m⁻²·s⁻¹,连续照光培养 6 d 后,测定下胚轴的长度。每处理随机测 20 株幼苗的下胚轴长度,取平均数,并计算标准误差。

1.4 总 RNA 提取

按照前面所介绍的方法,将种子播于 MS 盐固体培养基上,4 °C 低温 4 d,22~23 °C 暗培养 6 d 后,将黄化幼苗转入蓝光下(20±2 μmol·m⁻²·s⁻¹)培养 0、0.5、2、4、8、12、24 h,立即取材,并用液氮速冻后,放入-80 °C 暂时保存,以备提取 RNA。总 RNA 的提取,根据 RNAeasy Mini Kit 的说明进行,然后根据说明用 RQ1 DNase I 对总 RNA 进行处理,获取无 DNA 的总 RNA。

1.5 半定量 RT-PCR

mRNA 量的分析,参照 Meadus 等^[12]、Marone 等^[13]、Mockler 等^[14]以及我们的前期研究方法^[15],从每个处理样品中取 2 μg 总 RNA,将其逆转录成 cDNA。将 cDNA 稀释成 10 倍,取 1 μL 进行 PCR。PCR 引物如表 1 所示。反应结束后,取 16 μL PCR 产物,在 1.5% 的琼脂糖凝胶上进行电泳。每个试验的 RT-PCR 反应至少重复 3 次,然后选用一张电泳图。以持家基因 *Actin2*(*ACT2*)的 PCR 产物作为分子内标,用定量软件 Image J (<http://rsb.info.nih.gov/ij/>)计算所检测基因的相对水平。

2 结果

2.1 外源 IAA 对拟南芥隐花素突变体幼苗下胚轴伸长的影响

为了研究蓝光对植物幼苗生长的影响是否与 IAA 有关,将拟南芥野生型 Col-4 和蓝光受体隐

表1 半定量 RT-PCR 引物序列
Table 1 Primer sequences of RT-PCR

Primer name	Primer sequence (from 5'-3')	
<i>ACT2</i>	F: CACTGTGCCAATCTACGAGGGT;	R: CACAAACGAGGGCTGGAACAAG
<i>IGPS</i>	F: ACCAGAAGTATTTCCAGGGAGGC;	R: CCAGCTATTCTTTCTCAGGGT
<i>ATA PM1</i>	F: GTGTTTGGGCATGATGAGACAC;	R: ACTCCTCCACTTCTTTGGCTTTC
<i>ATA PP1</i>	F: GTGATTGAGGACAGAGTATCTCG;	R: CTCTTCCCCTGTCAACTC GTCT
<i>IAA5</i>	F: GGACTCGAAATCACCGAACTAC;	R: GAACATCTCCAGCAAGCATCCA
<i>IAA1</i>	F: CGCAAGAACAACGACTCAACA;	R: GAGACAATGGATCATAAGGCAGT

花素双突变体 *cry1cry2* 播种于含不同浓度 IAA 的 MS 盐固体培养基上, 在不同光照条件下培养 6 d 后测幼苗下胚轴的长度。从图 1 可看出, 连续白光和红光条件下, 低浓度的 IAA (10^{-7} mol/L) 可促进隐花素 *cry1cry2* 双突变体幼苗下胚轴的伸长, 随 IAA 浓度增加突变体幼苗下胚轴的伸长则

受到抑制。当 IAA 浓度为 10^{-4} mol/L 时, 幼苗下胚轴伸长受到明显抑制, 且比未用 IAA 处理的幼苗要短。连续蓝光下, *cry1cry2* 双突变体幼苗下胚轴的伸长则受到抑制, 浓度越高抑制作用越强, 说明隐花素介导蓝光改变幼苗下胚轴对 IAA 的敏感性。

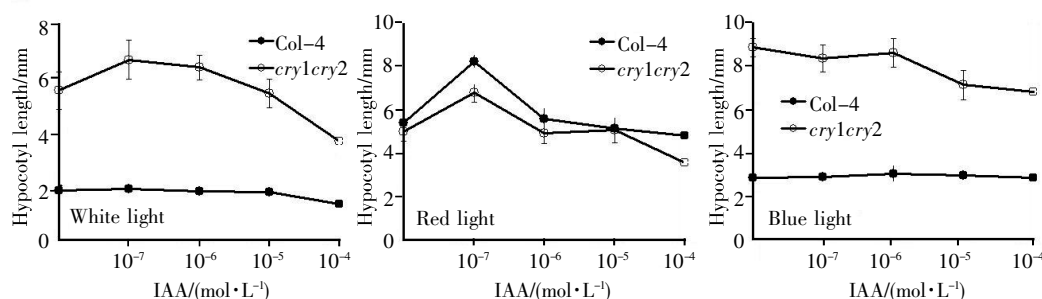


图1 连续白光、红光及蓝光培养条件下外源 IAA 对拟南芥野生型 Col-4 和 *cry1cry2* 突变体幼苗下胚轴伸长的影响

每处理至少测 20 株幼苗的下胚轴长度, 取平均数, 误差棒表示标准误差。

Fig.1 Effect of IAA on the hypocotyl elongation of wild type Col-4 and *cry1cry2* seedling grown in white, red or blue light condition

Data present the mean hypocotyl length of at least twenty seedlings. Error bar represents the SE.

2.2 极性运输抑制剂对拟南芥隐花素突变体幼苗下胚轴伸长的影响

为了研究蓝光对拟南芥下胚轴伸长的影响是否与 IAA 的极性运输有关, 本研究中用不同浓度的 IAA 极性运输抑制剂 NPA 对野生型和 *cry1cry2* 突变体进行处理, 培养 6 d 后测幼苗下胚轴的长度, 并比较分析了 NPA 对幼苗下胚轴伸长的抑制程度。从图 2 中可看出, 连续白光、红光或蓝光下, 随 NPA 施用浓度增加, 野生型和突变体下胚轴的伸长都受到抑制, 但是红光条件下野生型与突变体之间无明显差异。白光下, 较低浓度 NPA (10^{-8} ~ 10^{-6} mol/L) 对野生型和突变体的抑制作用无显著差异, 但高浓度 NPA (5×10^{-6} mol/L) 对突变体的抑制作用比野生型要小。蓝光下, 相同浓度 NPA 对隐花素突变体下胚轴伸长的抑制程度比野生型要小, 说明隐花素介导蓝光改变幼苗下胚轴对 IAA 极性运输抑制剂的敏感性。

2.3 蓝光对 IAA 生物合成关键酶、IAA 诱导蛋

白酶以及 IAA 极性运输相关蛋白酶基因表达的调节

为从分子水平上揭示蓝光是否影响 IAA 合成或极性运输, 采用 RT-PCR 方法检测了瞬时蓝光对 IAA 生物合成关键酶、IAA 诱导蛋白酶以及 IAA 极性运输相关蛋白酶基因表达的影响。从图 3 中可看出, 将拟南芥黄化幼苗转入蓝光下处理 0.5~2 h, 野生型和 *cry1cry2* 突变体中 *IGPS* 的转录水平增加, 处理 2~24 h 内其转录水平下降, 但突变体中仍然保持较高的转录水平, 这与 Folta 等的研究结果一致^[10]。进一步检测生长素应答基因的表达量, 发现照光 0.5~2 h 内, 野生型及 *cry1cry2* 突变体中 *IAA1* 的转录水平下降; 处理 2 h 时 *cry1cry2* 突变体和野生型中的转录水平开始增加, 处理 8 h 时突变体中的表达水平最高, 野生型中的表达水平开始下降, 并且突变体中 *IAA1* 的转录水平比野生型约高 2 倍。与 *IAA1* 相似, 蓝光处理 0.5~2 h 时突变体中 *IAA5* 的表达量下降, 处

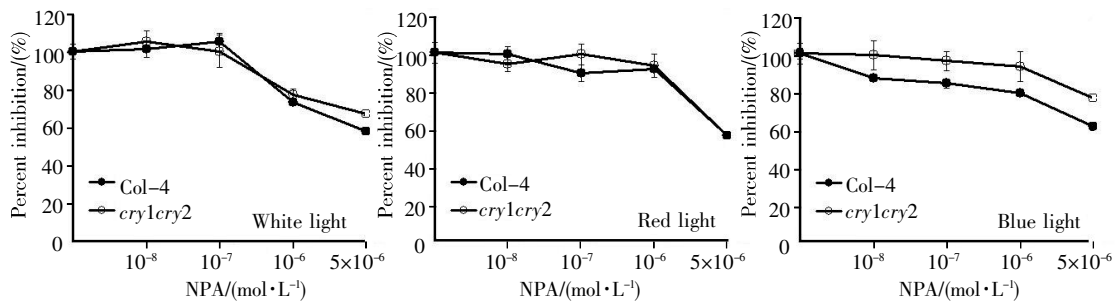


图 2 连续白光、红光及蓝光培养条件下 IAA 极性运输抑制剂 NPA 对拟南芥野生型 Col-4 和 *cry1cry2* 突变体幼苗下胚轴伸长的影响

每处理至少测 20 株幼苗的下胚轴长度,取平均数,然后与没有用 NPA 处理的幼苗的下胚轴长度进行比较,得到生长百分率。误差棒表示标准误差。

Fig.2 Effect of NPA on the hypocotyl elongation of wild type Col-4 and *cry1cry2* seedling grown in white, red or blue light condition

Data present the mean hypocotyl length of at least twenty seedlings expressed as a percentage of hypocotyl length on no NPA. Error bar represents the SE.

理 2~8 h 时野生型中的表达量下降,12~24 h 时突变体中的表达量也下降但仍高于野生型,说明隐花素 *cry1*、*cry2* 介导蓝光调节 IAA 合成相关基因和 IAA 应答基因的表达,并起抑制作用。因此,推测隐花素可能部分通过调节 IAA 合成而介导蓝光对拟南芥下胚轴伸长的调控^[15]。

参与极性运输的 NPA 结合蛋白酶基因 *At-APM1* 和 *AtAPP1* 各自在野生型和突变体中的表达模式基本一致,并且在突变体和野生型中的表达量无明显差异,说明隐花素 *cry1*、*cry2* 对 *At-APM1* 和 *AtAPP1* 基因的表达无明显影响。

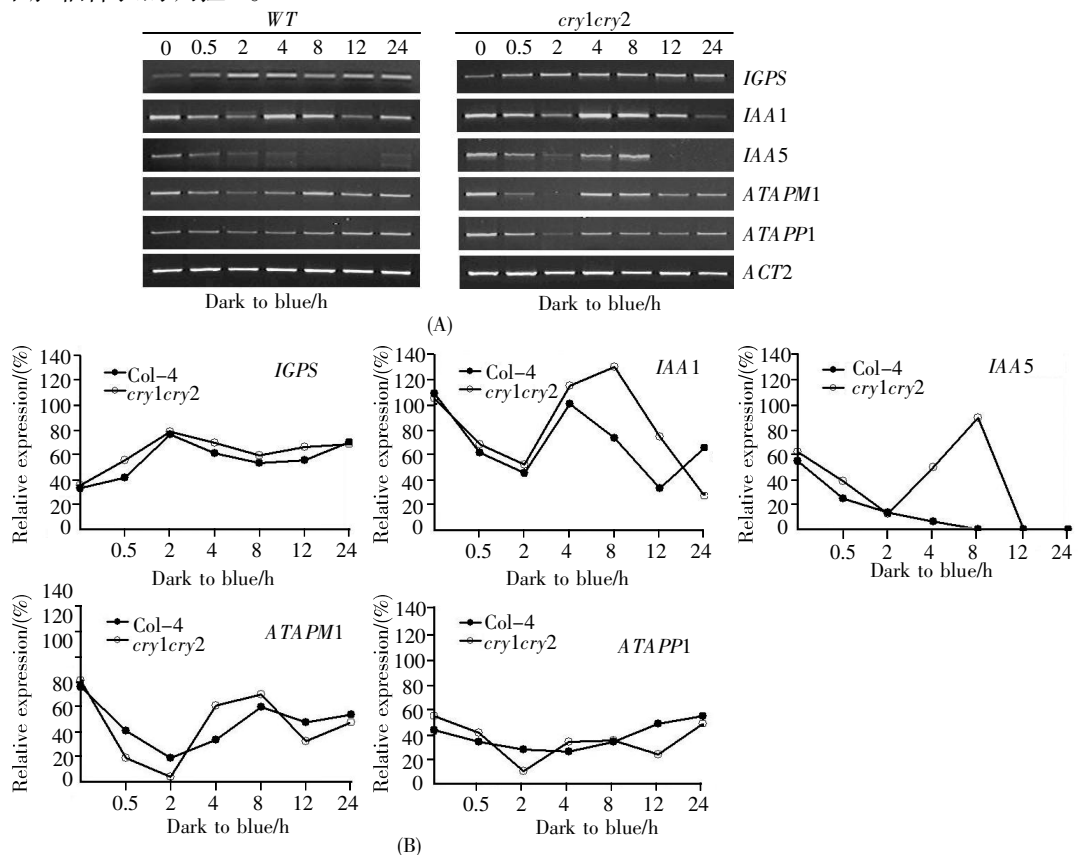


图 3 瞬时蓝光处理条件下,6 日龄拟南芥幼苗中 *IGPS*、*IAA1*、*IAA5*、*AtAPM1* 和 *AtAPP1* 基因表达的 RT-PCR 分析 (A) RT-PCR 电泳图;(B) 图 A 中基因的相对表达量。

Fig.3 RT-PCR analysis of transcription levels of *IGPS*, *IAA1*, *IAA5*, *AtAPM1* and *AtAPP1* in six-day old *Arabidopsis* seedlings transferred from dark to blue light for indicated time

(A) Levels of mRNA expression are shown as RT-PCR gel image; (B) The relative expression signals of genes in (A).

3 讨论

光是植物生长和发育的主要能量来源,植物通过不同的光受体感受光,并通过一系列信号转导因子将光信号放大,调节基因的表达,最终调节自身的生长和发育^[16]。光对植物发育的影响至少部分是通过激素的作用实现的,例如光对植物茎的伸长的调控需要生长素作为中介物质^[8]。IAA 被认为是光敏素被激活后的一个传播因子,参与信号传导,玉米胚芽鞘中的 IAA 水平在红光照射后会降低,而这个反应会被远红光逆转。两种不同的红光辐射:低辐射反应和高辐射反应通过光敏素会导致 IAA 的降低;与此结果相一致,Amrit-phale 等提出红光和 IAA 在发芽诱导中的相反的效果。Behringer 和 Davied 提出植物光敏素调节茎的伸长部分原因是 IAA 水平变化的结果。另外,生长素对植物生长的作用有两重性,在低浓度下,通过细胞延长可以促进植物的生长;中浓度可以抑制生长,过高浓度则导致植物死亡^[17,18]。与前人研究结果相一致,本研究中低浓度 IAA(10^{-7} mol/L)可促进连续白光和红光条件下培养的 *cry1cry2* 突变体幼苗,随着 IAA 浓度增加,幼苗下胚轴伸长受到抑制。实验中还发现,本研究所采用的 IAA 浓度范围内,蓝光下培养的 *cry1cry2* 突变体的下胚轴伸长都受到明显抑制。这说明隐花素可能通过改变拟南芥幼苗内源 IAA 合成和/或者极性运输,介导蓝光调控拟南芥下胚轴的伸长。

基因表达分析结果发现,0~2 h 突变体和野生型中参与 IAA 生物合成的关键基因 *IGPS* 的表达量增加,2~8 h 下降,8~24 h 增加,并且在突变体中的表达量比野生型中要高,说明隐花素介导蓝光调节 IAA 合成相关基因的表达。与 *IGPS* 的变化趋势正好相反,*IAA1* 和 *IAA5* 在蓝光处理 0~2 h 时下降,2~8 h 增加,8~24 h 下降,并且 2~12 h 时突变体中的表达量比野生型中的要高。有研究报告 IAA 应答蛋白基因的表达受 IAA 诱导^[19],那么 *IAA1* 和 *IAA5* 在突变体中的表达量比野生中高,可能部分由于突变体中 *IGPS* 表达量高导致幼苗内源的 IAA 增加所致,但这还需要对幼苗体内 IAA 含量进行测定。

植物茎的伸长与生长素的极性运输有关,极性运输抑制剂 NPA 与生长素输出载体调节亚基结合而抑制极性运输^[9,11,20],由此可推测植物体内 NPA 结合蛋白的量直接影响 NPA 抑制茎伸长的

程度。在 NPA 施用量一致的条件下,输出载体多则茎伸长受抑制的程度小,相反则大。NPA 剂量反应研究结果表明,蓝光下 NPA 对隐花素突变体下胚轴伸长的抑制程度比野生型要小,这与 Jensen 等的研究结果一致^[21]。基因表达分析发现,蓝光下 IAA 极性运输相关蛋白基因 *AtAPM1* 和 *AtAPP1* 在突变体和野生型中的转录水平则无明显差异,说明隐花素可能通过调控其他输出载体如 *PIN1* 和 *PIN2*,致使拟南芥幼苗体内 IAA 输出载体发生变化,进而介导蓝光影响拟南芥下胚轴的伸长^[22]。

致 谢: 感谢美国加州大学洛杉矶分校林辰涛教授为本工作提供实验材料及对本工作的指导!

参考文献(References):

- [1] CHORY J. Light modulation of vegetative development[J]. *Plant Cell*, 1997, 9(7):1225-1234.
- [2] LIN C, AHMAD M, GORDON D, *et al.* Expression of an *Arabidopsis* cryptochrome gene in transgenic tobacco results in hypersensitivity to blue, UV-A, and green light[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1995, 92(18):8423-8427.
- [3] LIN C, YANG H, GUO H, *et al.* Enhancement of blue-light sensitivity of *Arabidopsis* seedlings by a blue light receptor cryptochrome 2[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1998, 95 (5): 2686-2690.
- [4] LIN C. Plant blue-light receptors[J]. *Trends in Plant Science*, 2000, 5(8): 337-342.
- [5] LIN C. Blue light receptors and signal transduction[J]. *The Plant Cell Online*, 2002, 14 (Suppl 1):S207-S225.
- [6] GARCIA-MARTINEZ J L, GIL J. Light regulation of gibberellin biosynthesis and mode of action[J]. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2001, 20(4): 354-368.
- [7] 余让才,潘瑞焱. 蓝光对水稻幼苗生长及内源激素水平的影响[J]. *植物生理学报*(YU Rang-cai, PAN Rui-chi. Effects of blue light on the growth and levels of endogenous phytohormones in rice (*Oryza sativa* L.) seedlings[J]. *Acta Photophysiological Sinica*), 1997, 23(2):175-180.
- [8] 倪为民,陈晓亚,许智宏,等. 生长素极性运输研究进展[J]. *植物学报* (NI Wei-min, CHEN Xiao-ya, XU Zhi-hong. Advances in study of polar auxin transport[J]. *Acta Botanica Sinica*), 2000, 42(3): 221-228.
- [9] 倪迪安,许智宏. 生长素的生物合成、代谢、受体和极性运输[J]. *植物生理学通讯* (NI Di-an, XU Zhi-hong. Auxin biosynthesis, metabolism, receptor and polar transport[J]. *Plant Physiology Communications*), 2001, 37(4):346-352.
- [10] FOLTA K M, PONTIN M A, KARLIN-NEUMANN G, *et al.* Genomic and physiological studies of early cryptochrome 1 action demonstrate roles for auxin and gibberellin in the control of hypocotyls growth by blue light[J]. *The Plant Journal*, 2003, 36(2): 203-214.

(下转第 183 页)

- [33] LAMPARSKA-PRZYBYSZ M, GAJKOWSKA B, MOTYL T. BID-deficient breast cancer MCF-7 cells as a model for the study of autophagy in cancer therapy[J]. *Autophagy*, 2006, 2(1): 47-48.
- [34] LEVINE B, KLIONSKY D J. Development by self-digestion: molecular mechanisms and biological functions of autophagy[J]. *Developmental Cell*, 2004, 6 (4): 463.
- [35] RODRIGUEZ-ENRIQUEZ S, HE L, LEMASTERS J J. Role of mitochondrial permeability transition pores in mitochondrial autophagy[J]. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2004, 36 (12): 2463-2472.
- [36] SAMUELS Y, VELCULESCU V E. Oncogenic mutations of PIK3CA in human cancers[J]. *Cell Cycle*, 2004, 3 (10): 1221-1224.
- [37] ALTMAYER A, JUNG A C, IGNAT M, *et al.* Pharmacological enhancement of autophagy induced in a hepatocellular carcinoma cell line by high-LET radiation[J]. *Anticancer Research*, 2010, 30 (2): 303-310.
- [38] BENZINA S, ALTMAYER A, MALEK F, *et al.* High-LET radiation combined with oxaliplatin induce autophagy in U-87 glioblastoma cells[J]. *Cancer Letters*, 2008, 264 (1): 63-70.
- [39] MATTERN J, EFFERTH T, VOLM M. Overexpression of P-glycoprotein in human lung carcinoma xenografts after fractionated irradiation *in vivo*[J]. *Radiation Research*, 1991, 127 (3): 335-358.
- [40] SCHOENLEIN P V, BARRETT J T, KULHARYA A, *et al.* Radiation therapy depletes extrachromosomally amplified drug resistance genes and oncogenes from tumor cells via micronuclear capture of episomes and double minute chromosomes[J]. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*, 2003, 55 (4): 1051-1065.
- [41] KUMAR P, ZHANG D M, DEGENHARDT K, *et al.* Autophagy and transporter-based multi-drug resistance[J]. *Cells*, 2012, 1 (3): 558-575.
- [42] YU Y, CAO L, YANG L, *et al.* microRNA 30A promotes autophagy in response to cancer therapy[J]. *Autophagy*, 2012, 8 (5): 853-855.

(上接第 128 页)

- [11] MURPHY A S, HOOGER K R, PEER W A, *et al.* Identification, purification, and molecular cloning of *N*-1-naphthylphthalamic acid-binding plasma membrane-associated aminopeptidases from *Arabidopsis*[J]. *Plant Physiology*, 2002, 128(3): 935-950.
- [12] MEADUS W J. A semi-quantitative RT-PCR method to measure the *in vivo* effect of dietary conjugated linoleic acid on porcine muscle PPAR gene expression[J]. *Biological Procedures Online*, 2003, 5(1): 20-28.
- [13] MARONE M, MOZZETTI S, DE RITIS D, *et al.* Semiquantitative RT-PCR analysis to assess the expression levels of multiple transcripts from the same sample[J]. *Biological Procedures Online*, 2001, 3(1): 19-25.
- [14] MOCKLER T C, YU X, SHALITIN D, *et al.* Regulation of flowering time in *Arabidopsis* by K homology domain proteins[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2004, 101(34): 12759-12764.
- [15] ZHAO X, YU X, FOO E, *et al.* A study of Gibberellin homeostasis and cryptochrome-mediated blue light inhibition of hypocotyl elongation[J]. *Plant Physiology*, 2007, 145(1): 106-118.
- [16] 曾婷, 何志敏, 段桂芳, 等. 拟南芥转录因子 HB22 与 CRY1 相互作用研究[J]. *生命科学研究* (ZENG Ting, HE Zhi-min, DUAN Gui-fang, *et al.* Research on the interaction between CRY1 and transcription factor HB22 in *Arabidopsis*[J]. *Life Science Research*), 2013, 17(3): 223-229.
- [17] 朱素琴, 丁宝莲. 生长素 (IAA) 生物鉴定方法的改良[J]. *淮海工学院学报* (ZHU Su-qin, DING Bao-lian. Improvement of a method of IAA bioassay[J]. *Journal of Huaihai Institute of Technology*), 1999, 8(2): 54-55.
- [18] COLLETT C E, HARBERD N P, LEYSER O. Hormonal interactions in the control of *Arabidopsis* hypocotyl elongation[J]. *Plant Physiology*, 2000, 124(2): 553-562.
- [19] TIWARI S B, WANG X J, HAGEN G, *et al.* AUX/IAA proteins are active repressors, and their stability and activity are modulated by auxin[J]. *The Plant Cell Online*, 2001, 13(12): 2809-2822.
- [20] 欧阳剑, 李家洋. 拟南芥色氨酸与吲哚乙酸生物合成的研究进展[J]. *生物工程进展* (OU-YANG Jian, LI Jia-yang. Progress in plant tryptophan and indole-3-acetic acid biosynthesis [J]. *Progress in Biotechnology*), 1998, 18(2): 2-10.
- [21] JENSEN P J, HANGARTER R P, ESTELLE M. Auxin transport is required for hypocotyls elongation in light-grown but not dark-grown *Arabidopsis*[J]. *Plant Physiology*, 1998, 116(2): 455-462.
- [22] GUENOT B, BAYER E, KIERZKOWSKI D, *et al.* PIN1-independent leaf initiation in *Arabidopsis*[J]. *Plant Physiology*, 2012, 159(4): 1501-1510.