

刘羽佳, 卓来凤, 马立钦, 等. 铁皮石斛 *DoTCP2* 基因克隆及非生物胁迫下的表达分析[J]. 江苏农业学报, 2025, 41(3): 588-598.
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2025.03.018

铁皮石斛 *DoTCP2* 基因克隆及非生物胁迫下的表达分析

刘羽佳^{1,2}, 卓来凤², 马立钦², 黄秋妮², 张 勇², 张颖智³, 李 翔^{1,2}, 刘博婷^{1,2}
(1. 广东省粤北食药资源利用与保护重点实验室/韶关学院, 广东 韶关 512005; 2. 韶关学院生物与农业学院, 广东 韶关 512005; 3. 韶关学院食品学院, 广东 韶关 512005)

摘要: TCP 转录因子是植物特有的一类调控生长发育和逆境胁迫反应的重要调控因子。为探究铁皮石斛 (*Dendrobium officinale*) *TCP2* 基因 (*DoTCP2*) 的表达特性和抗逆响应能力, 通过同源克隆技术从广东丹霞铁皮石斛品种的叶组织中成功分离出 *DoTCP2* 基因, 并对该基因序列进行生物信息学分析及表达模式探究。结果显示, *DoTCP2* (GenBank 登录号: PP534463) cDNA 全长 1 122 bp, 位于第 7 号染色体, 含有 4 个外显子和 3 个内含子, 编码长度为 373 个氨基酸的多肽链, 与参考序列 (序列号: LOC110114709) 进行比对分析, 发现存在 4 个碱基差异, 其中 3 个为同义替换。*DoTCP2* 蛋白理论相对分子量为 40 600, 理论等电点为 8.94, 为亲水性稳定蛋白质, 具有 TCP 保守结构域, 定位于细胞核, 无信号肽和跨膜结构域, 含有 46 个磷酸化位点。*DoTCP2* 与鼓槌石斛 (*Dendrobium chrysotoxum*) TCP 蛋白序列同源性高达 97.87%, 且遗传距离最近。*DoTCP2* 基因具有组织表达特异性, 在根组织中的相对表达量极显著高于其他组织, 可能在根发育和营养物质的吸收以及运输等过程中发挥作用。*DoTCP2* 基因在低温胁迫处理 6 h 时的相对表达量极显著上调 ($P < 0.01$), 暗示 *DoTCP2* 可能在低温胁迫响应中发挥重要作用; 在模拟干旱和外源脱落酸 (ABA) 处理下, *DoTCP2* 基因的相对表达量呈现下降趋势, 且在处理 24 h 后相对表达量最低, 与处理前差异达到极显著水平 ($P < 0.01$), 推测该基因可能通过 ABA 信号通路在调控铁皮石斛应答干旱胁迫中发挥负调控作用。本研究结果可为深入探究 *DoTCP2* 基因的抗逆功能及其在植物应对非生物胁迫响应中的潜在作用机制提供前期研究基础。

关键词: 铁皮石斛; TCP 转录因子; *DoTCP2* 基因; 非生物胁迫; 表达模式

中图分类号: Q785 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2025)03-0588-11

Cloning and expression analysis of *DoTCP2* gene in *Dendrobium officinale* under abiotic stress

LIU Yujia^{1,2}, ZHUO Laifeng², MA Liqin², HUANG Qiuni², ZHANG Yong², ZHANG Yingzhi³,
LI Xiang^{1,2}, LIU Boting^{1,2}

(1. Guangdong Provincial Key Laboratory of Utilization and Conservation of Food and Medicinal Resources in Northern Region/Shaoquan University, Shaoguan 512005, China; 2. College of Biology and Agriculture, Shaoguan University, Shaoguan 512005, China; 3. College of Food, Shaoguan University, Shaoguan 512005, China)

收稿日期: 2024-08-14

基金项目: 广东省基础与应用基础研究基金面上项目 (2024A151-5013167); 广东省普通高校重点领域专项 (2022ZDZX4044、2024ZDZX2023); 韶关学院科技计划项目 (240823118037510); 韶关学院科研重点项目 (SZ2023KJ19)

作者简介: 刘羽佳 (1984-), 女, 黑龙江哈尔滨人, 博士, 副教授, 研究方向为植物逆境生理与分子生物学。(E-mail) liuyj1206@sgu.edu.cn

通讯作者: 李 翔, (E-mail) xli89@sgu.edu.cn; 刘博婷, (E-mail) liubotings5566@163.com

Abstract: TCP transcription factors are a plant-specific group of regulators that play a vital role in governing growth, development, and responses to environmental stress. To investigate the expression characteristics and stress response capabilities of the *TCP2* gene (*DoTCP2*) from *Dendrobium officinale*, the gene was successfully iso-

lated from leaf tissues of the Guangdong Danxia variety of *Dendrobium officinale* using homology cloning. Subsequent bioinformatics analysis and expression pattern research were conducted. The results showed that the cDNA of *DoTCP2* (GenBank accession number was PP534463) was 1 122 bp in full length, located on chromosome seven, consisted of four exons and three introns, and encoded a polypeptide chain of 373 amino acids. Compared to the reference sequence (accession number: LOC110114709), there were four nucleotide differences, of which three were synonymous substitutions. The theoretical relative molecular weight of the *DoTCP2* protein was 40 600, and its theoretical isoelectric point was 8.94. It was a hydrophilic and stable protein with a conserved TCP domain, localized in the nucleus, without signal peptides or transmembrane regions, and contained 46 phosphorylation sites. The *DoTCP2* protein shared 97.87% sequence homology with the TCP protein of *Dendrobium chrysotoxum* and exhibited the closest genetic distance. *DoTCP2* exhibited tissue-specific expression, with highly significantly higher relative expression levels in root tissues compared to other tissues, suggesting its potential role in root development, nutrient absorption, and transport processes. The relative expression of *DoTCP2* was highly significantly upregulated after six hours of cold stress treatment ($P < 0.01$), indicating that *DoTCP2* might play an important role in the response to cold stress. Under simulated drought treatment and exogenous abscisic acid (ABA) treatment, the relative expression of *DoTCP2* showed a downward trend. The lowest expression levels were observed after 24 hours of treatment, with highly significant differences compared to the untreated levels ($P < 0.01$). The results suggest that *DoTCP2* may act as a negative regulator in the response to drought stress through the ABA signaling pathway. The findings can provide a foundation for further investigation into the stress-resistant functional characteristics of the *DoTCP2* gene and its potential mechanisms in plant responses to abiotic stress.

Key words: *Dendrobium officinale*; TCP transcription factor; *DoTCP2* gene; abiotic stress; expression profile

植物的生长发育深受寒冷、干旱、高温等环境胁迫因素的影响。为有效应对并适应这些复杂多变的环境条件,植物在生理响应、代谢途径、形态建成和分子水平上进化出复杂的调控机制^[1-2]。转录因子,如 TCP、MYB、HD-ZIP、bHLH、AP2/ERF、WRKY 等家族能够直接与基因启动子区域的特定 DNA 元件发生相互作用,或经由其他分子介导间接识别这些元件,从而在时间和空间维度上精确响应植物细胞内的信号转导及外界环境刺激,进而参与植物的生长发育和逆境胁迫的调控^[3-9]。

TCP (Teosinte branched1/cycloidea/proliferating cell factor) 转录因子作为植物界特有的一类关键调控蛋白,在植物生长发育的诸多环节中发挥着至关重要的作用^[5,10]。Cubas 等^[11]通过分析玉米 (*Zea mays* L.) 中 TB1、金鱼草 (*Antirrhinum majus* L.) 中 CYC 和水稻 (*Oryza sativa* L.) 中 PCF 的保守区域,发现三者均包含一个高度保守的 bHLH (碱性螺旋-环-螺旋) 二级结构域,因此,取这 3 个成员的首字母定义了这一新的 TCP 结构域^[12]。TCP 结构域位于 N 端,由 58~62 个氨基酸残基组成,根据 TCP 结构域结合位点碱基序列的不同,TCP 家族被分为两大类: Class I (也称 PCF 或 TCP-P 类) 和 Class II (也称 TCP-C 类)。其中,Class II 类 TCP 转录因子又可以进一步细分为 CIN 和 CYC/TB1 2 个亚类^[12-14]。

TCP 转录因子已在众多植物中得到鉴定,并展现出多样化的功能,目前在拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*)^[15]、番茄 (*Solanum lycopersicum* L.)^[16]、胡杨 (*Populus euphratica* Olivier)^[17]、茶树 (*Camellia sinensis* Kuntze)^[18]、辣椒 (*Capsicum annuum* L.)^[19] 和金银花 (*Lonicera japonica* Thunb.)^[20] 等植物中被报道。先前的研究表明,TCP 转录因子具有多种功能,它参与细胞增殖协调、花序发育、枝条分枝、植物激素合成以及抵抗逆境胁迫等多种生命进程的调控^[21-24]。例如,在番茄中,*SITCP7* 基因表达量上调会导致番茄茎分枝数量显著增加,且该基因与 IAA (生长素)、ABA (脱落酸) 等信号转导途径存在负相关,共同调节番茄的腋芽发育及茎分枝过程^[25];在水稻中,*OsPCF7* 基因被明确定位于细胞核内,其上调表达能够促使水稻分蘖数量明显提升^[26]。另外,在模式植物拟南芥中,AtTCP14 转录因子通过有效抑制茉莉酸信号通路,显著增强植株的抗病性^[27]。值得注意的是,在水稻中的 miRNA-mRNA 调控网络分析中,TCP14 转录因子被揭示可与 miRNA319a-3p 发生相互作用,共同响应干旱胁迫^[28];在水曲柳 (*Fraxinus mandschurica* Rupr.) 中,*FmTCP4* 能够通过调节下游基因的表达量提高对低温、盐碱以及干旱胁迫的耐受性^[29]。然而,铁皮石斛中 TCP 转录因子在非生物胁迫下的调控机制尚

不明确。

铁皮石斛(*Dendrobium officinale*)是兰科石斛属的药食两用植物,因其独特的药用功效而广受关注。铁皮石斛主要分布地域涵盖安徽、浙江、福建、云南、广西及广东等多个省份,通常附生于悬崖峭壁或树木之上,独特的生长习性以及对极端生存环境的适应性,塑造了铁皮石斛出色的抗逆特性。基于已经公布的铁皮石斛基因组数据,Zhang 等^[30]共鉴定出 25 个铁皮石斛 TCP 转录因子基因,然而这些 TCP 基因的具体功能尚未明确,这制约了 TCP 基因在铁皮石斛抗逆育种中的应用。本研究拟以广东丹霞地区特有的铁皮石斛品种为材料,利用 RT-PCR 技术从其叶组织中克隆得到 *DoTCP2* 基因的 cDNA 序列,结合多种生物信息学方法,对该基因编码序列的特征以及系统发育进化关系进行分析,并通过转录组测序技术结合 RT-qPCR 分析方法对 *DoTCP2* 基因在铁皮石斛的根、茎、叶及花等不同组织部位中的表达特征及其在非生物胁迫下的响应模式进行较为系统的研究,为后续进一步探究 *DoTCP2* 基因的功能特性及其复杂的表达调控网络奠定前期研究基础,对于利用分子育种技术培育出具备优异抗逆性状的铁皮石斛新品种具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料是由韶关学院生物与农业学院分子生物学与基因工程研究室培育的广东丹霞地区特有的铁皮石斛品种。TRIzol 试剂、DNA 聚合酶、DNA 连接酶、pUCm-T 线性载体、PCR 引物以及 DNA 测序服务均由生工生物工程(上海)股份有限公司提供。Real Time PCR 试剂盒和第一链 cDNA 反转录试剂盒购自兰博利德生物技术(北京)有限公司。质粒

DNA 抽提、DNA 胶回收和 PCR 产物纯化等所需的试剂盒购自无锡百泰克生物技术有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 植物材料准备与胁迫处理 成熟的铁皮石斛蒴果经表面消毒后,接种于培养基中。培养条件设为白天光照 16 h,夜晚光照 8 h,培养温度设定为 (25 ± 2) °C。在无菌环境下培养约 180 d 后,挑选出生长状态优良且植株高度达到 5~6 cm 的组培幼苗,以供后续进行胁迫处理试验^[31]。另外,分别采集了一年生铁皮石斛在花期时的根、茎段、叶片、花及种子和原球茎。这些采集的样本均经过液氮快速冷冻处理,并储存于超低温冰箱中,以备后续用于组织特异性表达分析。每种样本均设置 3 次生物学重复。分别设置低温处理、干旱处理[使用聚乙二醇(PEG)模拟干旱]处理和外源 ABA 处理,用于非生物胁迫下基因表达分析试验。具体方法参照理雅等^[32]的方法。每种样本均设置 3 次生物学重复。

1.2.2 铁皮石斛总 RNA 的提取及基因克隆 采用 TRIzol 法提取方法 1.2.1 中采集的样本的总 RNA,精确测定 RNA 浓度后,按照反转录试剂盒的说明合成第一链 cDNA。以美国国家生物技术信息中心(NCBI)数据库收录的云南铁皮石斛 *TCP2* 基因(序列号:LOC110114709)为参考序列,利用 Primer Premier 5.0 软件设计特异性的 *DoTCP2* 扩增引物(表 1)。PCR 扩增体系包括:10.0 μL 的 2×*Taq* PCR Mix、各 1.0 μL 的 10.0 μmol/L 上下游引物、2.0 μL 的 50 ng/μL cDNA,用 ddH₂O 补足至 20.0 μL。PCR 扩增程序为:94 °C 预变性 3 min;随后进行 30 个循环,每个循环包括 94 °C 变性 30 s、58 °C 退火 30 s、72 °C 延伸 60 s;最后 72 °C 延伸 7 min。纯化回收经检测后的 PCR 扩增产物,构建 pUCm-T-*DoTCP2* 载体,委托生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序验证。

表 1 本研究所用引物信息

Table 1 Information of primers used in this study

引物名称	引物序列 (5'→3')	产物长度 (bp)	DNA 熔解温度 (°C)	用途
<i>DoTCP2</i> -F	ATGAAAGCGGAGGGGATCCAC	1 122	69.98	基因扩增
<i>DoTCP2</i> -R	TCAACCCCTTCCTCTCACCCCTTC		71.89	
<i>qDoTCP2</i> -F	ATCGCTGCAGAAGTAGTGG	151	49.88	实时荧光定量
<i>qDoTCP2</i> -R	GTGAAGACTAACC GGTTTC		52.81	
<i>qDoActin</i> -F	CCCTACCTCCTACCTCTGCG	150	59.91	内参基因
<i>qDoActin</i> -R	GCAAACCCAGCCTTCACCAT		58.89	

1.2.3 生物信息学分析 利用 NCBI 数据库的 BLASTP 在线工具进行比对分析,筛选出与 *DoTCP2* 蛋白氨基酸序列相似度高的其他物种中的同源序列。氨基酸多序列的比对使用 DNAMAN 9.0 软件进行,基于比对结果,利用 MEGAX 11 软件的邻接法构建进化树。通用 InterPro 在线工具对蛋白质结构域进行预测,并借助 ExPASy ProtParam 工具分析蛋白质的理化性质。为进一步探究蛋白质结构特征,分别采用 SPLIT 4.0 SERVER、SWISS-MODEL 和 Cell-PLoc 2.0 在线工具对蛋白质的二级结构、亲疏水性、三级结构和亚细胞定位进行预测分析;利用 TMHMM 2.0、SignalP 5.0 和 NetPhos 3.1 工具分别预测蛋白质的跨膜区域、信号肽和磷酸化位点;启动子序列的顺式作用元件通过 PlantCARE 工具进行解析。所有使用的工具及其对应网址可参见理雅等^[32]和 Liu 等^[33]的研究。

1.2.4 转录组分析 将方法 1.2.1 中采集的样本 cDNA 委托深圳华大基因科技有限公司完成高通量测序服务,每个样本均设置 3 次生物学重复。转录本表达分析参见理雅等^[32]和崔迪等^[34]的研究。基因表达量以 *TPM* (每百万读取中的转录本数) 进行标准化处理。

1.2.5 实时荧光定量 PCR (qPCR) 分析 使用 BIO-RAD CFX ConnectTM 荧光定量 PCR 仪和 *Taq* SYBR[®] Green qPCR Premix 试剂盒对 *DoTCP2* 基因在铁皮石

斛不同组织以及不同胁迫下的表达量进行 qPCR 检测,基因特异性和肌动蛋白 (*DoActin*) 内参引物见表 1。每种样本均设置 3 次生物学重复。qPCR 反应体系及反应程序参见理雅等^[32]和崔迪等^[34]的方法。每个样本进行 3 次技术重复,并采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算基因的相对表达量。

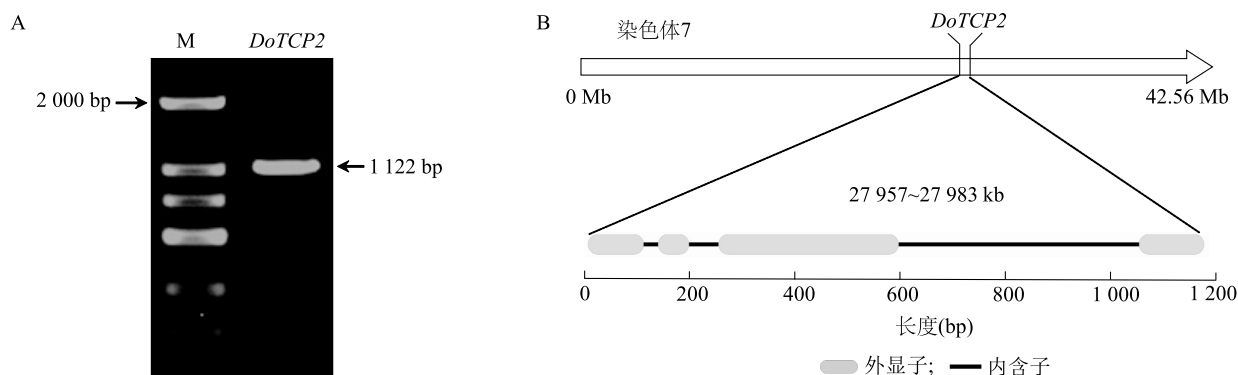
1.3 统计分析

采用 WPS 2019 软件对数据进行预处理,并利用 IBM SPSS 27.0 和 GraphPad Prism 9.5 软件对数据进行差异显著性分析和数据可视化处理。

2 结果与分析

2.1 *DoTCP2* 基因克隆与序列分析

DoTCP2 基因的 PCR 扩增以铁皮石斛叶组织 cDNA 作为模板,获得 1 条清晰且高度特异性的目的条带 (图 1A),经由核酸测序及序列比对分析,确认该基因全长序列为 1 122 个碱基对,编码 373 个氨基酸的开放阅读框,其结构为 4 个外显子区域和 3 个内含子区域相间排布,且定位于铁皮石斛第 7 号染色体 (图 1B)。与已知的参考序列 (序列号: LOC110114709) 进行对比分析发现, *DoTCP2* 基因序列中存在 4 个碱基差异,且其中只有 1 个碱基差异导致了氨基酸序列的非同义替换 (图 2),该基因序列已上传至 GenBank 数据库,登录号为 PP534463。



M:DL 2 000 marker; *DoTCP2*:cDNA PCR 扩增产物。

图 1 *DoTCP2* 基因克隆 (A) 及染色体定位 (B)

Fig.1 *DoTCP2* gene cloning (A) and chromosome location (B)

2.2 铁皮石斛 *DoTCP2* 蛋白理化性质分析

DoTCP2 蛋白序列内嵌有一个高度保守的 TCP 结构域,将该结构域归类于 TCP 转录因子超家族 (图 3A)。*DoTCP2* 蛋白的分子式为 $C_{1768}H_{2781}N_{523}O_{549}S_{13}$,

其理论相对分子量为 40 600,理论等电点为 8.94,不稳定性指数为 33.90,属于亲水性稳定蛋白质 (图 3B)。*DoTCP2* 蛋白二级结构以无规则卷曲为主,而 α -螺旋和 β -折叠则占比较低,分别为 7.51% 和


```

10      20      30      40      50      60      70      80      90      100
1 ATGAAAGCGGAGGGATCCACTCGAGCAAGCGGCTCGGGAGGGACAAGAACGACGAGGGCGTTGGTGACCTCCGTCCATGGCAAAACGCTCTTCGAGAATT
1 M K A E G I H S S K R L G R D K N D E G V G D L R P W Q N A S S R I

112     122     132     142     152     162     172     182     192     202
103 ATTAGGGTTTCACGCGTCTCCGGAGGTAAGGACCGTCACAGCAAAGTTTGACGGTGAAGGGGCTTCGAGATCGCCGCGTGC GGCTCTCGGTCTCCACCGCC
35 I R V S R V S G G K D R H S K V W T V K G L R D R R V R L S V S T A

214     224     234     244     254     264     274     284     304
205 ATCCAGTTCTACGACCTCCAAGACCGTCTTGGCTATGACCAGCCAGCAAGGCTGTTGACTGGCTCATCAAGGCCGCGCGGACGCTATTGTCGACCTCCCC
69 I Q F Y D L Q D R L G Y D Q P S K A V D W L I K A A A D A I V D L P

316     326     336     346     356     366     376     386     396     406
307 GAACTCGTGGGCCCATTTCCTCGTCCCGCGCTCCATGGAGCTTCCCGCTCGTTCCATGCAGAGAGGCACAGCCGGCGAGAAAGCAGCTCTCGCAGTCCAAGTCC
103 E L V G P F P V P P S M E L P A R S M Q R G T A G E K H L S Q S K S

418     428     438     448     458     468     478     488     498     508
409 ACGTGCAGCAGCGCATCGGAGACGAGCAAGGGCTCGGTACTGTCTTCTCTAGGTGCGAAGGATTTGGAAAGGAGAAGGAGACGAGGAGTGGCATAT
137 T C S S A S E T S K G S V L S F S R C E G F G K E K D Q E V A Y

520     530     540     550     560     570     580     590     600
511 CAGCATCAAAACCTGAACAAACAGAGCTCCTTCACTGAGCTTCTCACGGTTCGGTGGGAGCAGCACCGGGATCGCTGCAGAAAGTAGTGGATTTCAGTGGT
171 Q H Q N L N K Q S S F T E L L T V G G S S T G I A A E V V D F S S G

622     632     642     662     672     682     692     702     712
613 TTAAACCAAGCAATGAGGCCGCCACTGACCAATTCACCTGCCGAGTATTCAAGCAAGCTGGCATCTTTGGGCGAGACACCCAAAATTCCGCAATTTGAA
205 L N Q K Q M R P P L T N S T A D Y F K Q A G I F G Q T P K I P Q F E

724     734     744     754     764     774     784     794     804     814
715 CCCGGTTACTCTTCACTTCTGCATTTTGGAAACAACCTCATATGGGAATTTGGGATGATGTATACATAATACAGGAGAGCATCAGGACATGCAGCAGTTTCT
239 P G Y S S L L H F G N N P H M G I G M M S Y N T G E H Q D M Q Q F S

826     836     846     856     866     876     886     896     906     916
817 CTCATGCAGGATCATGCAATTCCTGTGGCAGCGTTGGCGCTGGGGGAGATTATAACCTCAATGCTCTCCATTCTTCTGGCGTTGCTGGATTAGTAGGGGG
273 L M Q D H A I P V A A L A P G G D Y N L N V S I S S G V A G F S R G

928     938     948     958     968     978     988     998     1008     1018
919 ACCCTTCAGTCCAATTACCGCATCACCACTTGTCCACGGTGCAAACTTGCCCTTTTCTTCTAGTGTACTCTTCCAATTTAGCATCAGCGGGTGT
307 T L Q S N S P H H H Q L V H G A N L P F F L S A T L P I S A S A G C

1030    1040    1050    1060    1070    1080    1090    1100    1110    1120
1021 TCCTTGAGAGAACCAATTTCTTGGTAGTTTAAATGGTCGCTGCAACTTAGCTGTAAACGAGGCACACAGGCACCCGGAACGAAGGGTGAGAGGAAGGGTTGA
341 S L E N Q F P G S F N G R L Q L S C N E A H R H P E L K G E R K G *

```

箭头表示 *DoTCP2* 基因与参考序列间存在的碱基差异。左边数字表示核苷酸/氨基酸起始位点;字母行上面的数字表示核苷酸整数位点。

图2 *DoTCP2* 基因 cDNA 序列及其推导的氨基酸序列分析

Fig.2 cDNA sequence of *DoTCP2* gene and deduced amino acid sequence

8.85%(图3C)。DoTCP2 蛋白定位于细胞核内,且无跨膜结构域和信号肽(图3D、3E),符合转录因子的结构特征;另外,其三级结构构象(图3F)与水稻 PCF6 转录因子的相似度高达 85.45%,进一步印证了 DoTCP2 作为 TCP 转录因子家族成员的典型结构特征。此外,蛋白质磷酸化位点预测结果(图3G)显示,DoTCP2 共含有 46 个潜在的磷酸化位点,其中丝氨酸(Ser)位点数量最多,达到 34 个;苏氨酸(Thr)位点数量次之,共有 9 个;酪氨酸(Tyr)位点较少,仅有 3 个。这些磷酸化位点可能在 DoTCP2 蛋白的功能调控中发挥着重要作用。

2.3 铁皮石斛 *DoTCP2* 蛋白同源性和系统发育关系分析

在 NCBI 数据库中共筛选了 8 条与 *DoTCP2* 蛋白同源性超过 60% 的兰科植物 TCP 蛋白序列,涵盖鼓槌

石斛(*Dendrobium chrysotoxum*, 序列号 KAH0455859.1)、墨兰(*Cymbidium sinense* Jackson ex Andr. Willd., 序列号 ATU32558.1)、建兰(*Cymbidium ensifolium* Sw., 序列号 ATU32535.1)、红唇卡特兰(*Cattleya trianae* Linden & Rehb.f., 序列号 AQR59350.1)、小兰屿蝴蝶兰(*Phalaenopsis equestris* Rehb.f., 序列号 XP_020580520.1)、蕙兰(*Cymbidium faberi* Rolfe, 序列号 AJD14753.1)、香荚兰(*Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews, 序列号 KAG0499469.1)、深圳拟兰(*Apostasia shenzhenica* Z.J.Liu & L.J.Chen, 序列号 PKA52354.1),并进行了多重序列比对分析。结果(图4)显示,所分析的蛋白质序列均含有 TCP 转录因子家族的保守结构域,其中 DoTCP2 蛋白与鼓槌石斛(KAH0455859.1)的序列同源性最高,为 97.87%;与墨兰(ATU32558.1)和建兰(ATU32535.1)的序列同源性次之,分别为 88.59%

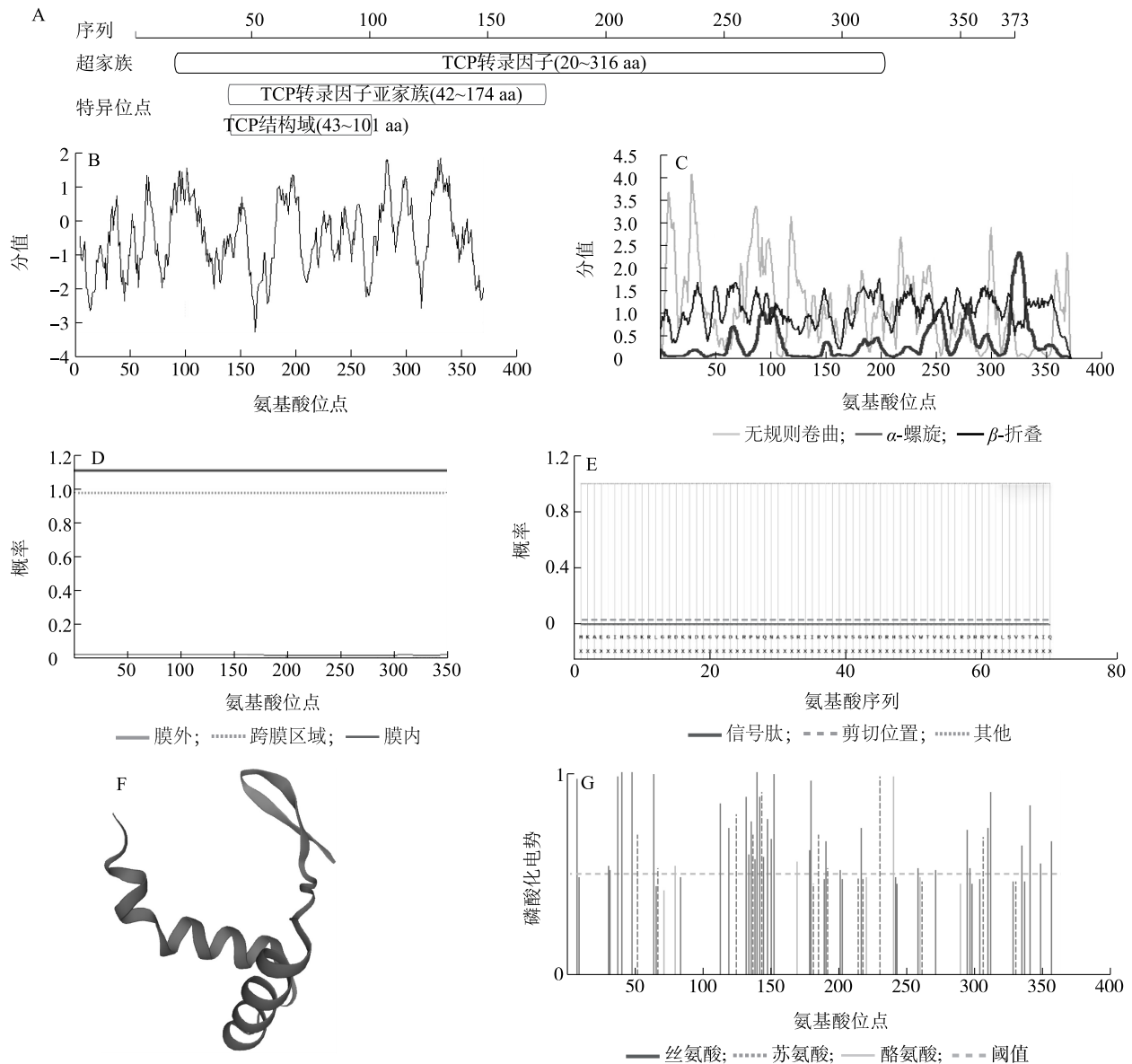


图3 *DoTCP2* 蛋白质结构域(A)、亲疏水性(B)、二级结构(C)、跨膜结构域(D)、信号肽(E)、三级结构(F)及磷酸化位点(G)预测分析结果

Fig.3 Prediction analysis of *DoTCP2* protein domain (A), hydrophobicity (B), secondary structure (C), transmembrane domain (D), signal peptide (E), tertiary structure (F) and phosphorylation sites (G)

和 88.33%。另外,为了解 *DoTCP2* 在进化上的位置,本研究选取了以上 8 个兰科植物以及水稻、玉米、拟南芥等共计 24 个不同植物的 TCP 蛋白构建了系统发育进化树。结果(图 5)显示,兰科植物的 TCP 蛋白均聚类于同一分支,且 *DoTCP2* 与鼓槌石斛(KAH0455859.1)的遗传距离最为接近,这与多重序列比对分析结果相吻合,进一步证实了二者之间亲缘关系最为紧密。

2.4 *DoTCP2* 基因的表达特征分析

RT-qPCR 分析结果表明,*DoTCP2* 基因在根中的表达量最高,在花、种子、叶片、原球茎中的相对表达量依次降低,茎中的相对表达量最低(图 6)。*DoTCP2* 在根中的相对表达量是茎的 82.18 倍,呈现出明显的差异性,这一结果提示,*DoTCP2* 基因可能在铁皮石斛根部发育、营养元素的汲取及转运等一系列生理过程中发挥着至关重要的作用。

● DoTCP2	MKAEGIHSSKR.IGRCKNDE....GVGLRPWCNASSRIIRVSRVSGGKDRHSKVWTVKGLRDRRVRLSVSTAICFYDLCRLGYDCPSKAVDWIKAA	94
KAH0455859.1	MKAEGIHSSKR.IGRCKNDE....GVGLRPWCNASSRIIRVSRVSGGKDRHSKVWTVKGLRDRRVRLSVSTAICFYDLCRLGYDCPSKAVDWIKAA	94
ATU32558.1	MKAEGIHSSKR.IGRCKNDE....GVGLRPWCNASSRIIRVSRVSGGKDRHSKVWTVKGLRDRRVRLSVSTAICFYDLCRLGYDCPSKAVDWIKAA	94
ATU32535.1	MKAEGIHSSKR.IGRCKNDE....GVGLRPWCNASSRIIRVSRVSGGKDRHSKVWTVKGLRDRRVRLSVSTAICFYDLCRLGYDCPSKAVDWIKAA	94
AQR59350.1	.KSEGIHSSNR.IGRCKNDE....GVGLRPWCNASSRIIRVSRVSGGKDRHSKVWTVKGLRDRRVRLSVSTAICFYDLCRLGYDCPSKAVDWIKAA	93
XP_020580520.1	MKTEGIHSSKR.IGRCKNDE....GVGLRPWCNASSRIIRVSRVSGGKDRHSKVWTVKGLRDRRVRLSVSTAICFYDLCRLGYDCPSKAVDWIKAA	94
AJD14753.1	MDACQVHSSKR.FRRCKDEENGCLMGVSLRPWCNASSRIIRVSRVSGGKDRHSKVWTVKGLRDRRVRLSVSTAICFYDLCRLGYDCPSKAVDWIKAA	99
KAG0499469.1	MEAEGIHSSKR.TRNCKDEFAAVIKVSGIRSWCNASSRIIRVSRVSGGKDRHSKVWTVKGLRDRRVRLSVSTAICFYDLCRLGYDCPSKAVDWIKAA	99
PKA52354.1	MEAEGIHSSKR.TRNCKDEFAAVIKVSGIRSWCNASSRIIRVSRVSGGKDRHSKVWTVKGLRDRRVRLSVSTAICFYDLCRLGYDCPSKAVDWIKAA	100
TCP		
● DoTCP2	ADAIVDLPELVGPFVPPSMELPARS..MCRGTAGE..KHLSCSKSTCSSASETSKGSVLSFRCCEG.....FGKEKEK..DCEVAYCHCNINKCSST	182
KAH0455859.1	ADAIVDLPELVGPFVPPSMELPARS..MCRGTAGE..KHLSCSKSTCSSASETSKGSVLSFRCCEG.....FGKEKEK..DCEVAYCHCNINKCSST	182
ATU32558.1	ADAIVDLPELVGPFVPPSMELPARS..MCRGTAGE..KHLSCSKSTCSSASETSKGSVLSFRCCEG.....FGKEKEK..DCEVAYCHCNINKCSST	184
ATU32535.1	ADAIVDLPELVGPFVPPSMELPARS..MCRGTAGE..KHLSCSKSTCSSASETSKGSVLSFRCCEG.....FGKEKEK..DCEVAYCHCNINKCSST	184
AQR59350.1	ADAIVDLPELVGPFVPPSMELPARS..MCRGTAGE..KHLSCSKSTCSSASETSKGSVLSFRCCEG.....FGKEKEK..DCEVAYCHCNINKCSST	181
XP_020580520.1	ADAIVDLPELVGPFVPPSMELPARS..MCRGTAGE..KHLSCSKSTCSSASETSKGSVLSFRCCEG.....FGKEKEK..DCEVAYCHCNINKCSST	179
AJD14753.1	ADAIVDLPELVGPFVPPSMELPARS..MCRGTAGE..KHLSCSKSTCSSASETSKGSVLSFRCCEG.....FGKEKEK..DCEVAYCHCNINKCSST	197
KAG0499469.1	ADAIVDLPELVGPFVPPSMELPARS..MCRGTAGE..KHLSCSKSTCSSASETSKGSVLSFRCCEG.....FGKEKEK..DCEVAYCHCNINKCSST	190
PKA52354.1	ADAIVDLPELVGPFVPPSMELPARS..MCRGTAGE..KHLSCSKSTCSSASETSKGSVLSFRCCEG.....FGKEKEK..DCEVAYCHCNINKCSST	195
● DoTCP2	EIIITVGGSSGTG.IAAAEV...VDFSSGLNCKMRPPLTNTADYFKCAGIFGCTPKIPCFEPGYSSLIHFGNNEHMGIGMVSYN....TGEHCDMCCFSIM	274
KAH0455859.1	EIIITVGGSSGTG.IAAAEV...VDFSSGLNCKMRPPLTNTADYFKCAGIFGCTPKIPCFEPGYSSLIHFGNNEHMGIGMVSYN....TGEHCDMCCFSIM	277
ATU32558.1	EIIITVGGSSGTG.IAAAEV...VDFSSGLNCKMRPPLTNTADYFKCAGIFGCTPKIPCFEPGYSSLIHFGNNEHMGIGMVSYN....TGEHCDMCCFSIM	278
ATU32535.1	EIIITVGGSSGTG.IAAAEV...VDFSSGLNCKMRPPLTNTADYFKCAGIFGCTPKIPCFEPGYSSLIHFGNNEHMGIGMVSYN....TGEHCDMCCFSIM	278
AQR59350.1	EIIITVGGSSGTG.IAAAEV...VDFSSGLNCKMRPPLTNTADYFKCAGIFGCTPKIPCFEPGYSSLIHFGNNEHMGIGMVSYN....TGEHCDMCCFSIM	275
XP_020580520.1	EIIITVGGSSGTG.IAAAEV...VDFSSGLNCKMRPPLTNTADYFKCAGIFGCTPKIPCFEPGYSSLIHFGNNEHMGIGMVSYN....TGEHCDMCCFSIM	273
AJD14753.1	EIIITVGGSSGTG.IAAAEV...VDFSSGLNCKMRPPLTNTADYFKCAGIFGCTPKIPCFEPGYSSLIHFGNNEHMGIGMVSYN....TGEHCDMCCFSIM	287
KAG0499469.1	EIIITVGGSSGTG.IAAAEV...VDFSSGLNCKMRPPLTNTADYFKCAGIFGCTPKIPCFEPGYSSLIHFGNNEHMGIGMVSYN....TGEHCDMCCFSIM	288
PKA52354.1	EIIITVGGSSGTG.IAAAEV...VDFSSGLNCKMRPPLTNTADYFKCAGIFGCTPKIPCFEPGYSSLIHFGNNEHMGIGMVSYN....TGEHCDMCCFSIM	295
● DoTCP2	CDHAIFVAALA.FGGCYNINVSISGAGVAGFSRGTICNSNPHHCLVHCANIPFFLSATIPISASAGGSIENCFPGSFNGRILCLCNEAHRHEELKGERK	372
KAH0455859.1	CDHAIFVAALA.FGGCYNINVSISGAGVAGFSRGTICNSNPHHCLVHCANIPFFLSATIPISASAGGSIENCFPGSFNGRILCLCNEAHRHEELKGERK	375
ATU32558.1	CDHAIFVAALA.FGGCYNINVSISGAGVAGFSRGTICNSNPHHCLVHCANIPFFLSATIPISASAGGSIENCFPGSFNGRILCLCNEAHRHEELKGERK	376
ATU32535.1	CDHAIFVAALA.FGGCYNINVSISGAGVAGFSRGTICNSNPHHCLVHCANIPFFLSATIPISASAGGSIENCFPGSFNGRILCLCNEAHRHEELKGERK	376
AQR59350.1	CDHAIFVAAS...GGCYNINVSISGAGVAGFSRGTICNSNPHHCLVHCANIPFFLSATIPISASAGGSIENCFPGSFNGRILCLCNEAHRHEELKGERK	370
XP_020580520.1	CDHAIFVAALA.FGGCYNINVSISGAGVAGFSRGTICNSNPHHCLVHCANIPFFLSATIPISASAGGSIENCFPGSFNGRILCLCNEAHRHEELKGERK	371
AJD14753.1	CDHAIFVAALA.FGGCYNINVSISGAGVAGFSRGTICNSNPHHCLVHCANIPFFLSATIPISASAGGSIENCFPGSFNGRILCLCNEAHRHEELKGERK	385
KAG0499469.1	CDHAIFVAALA.FGGCYNINVSISGAGVAGFSRGTICNSNPHHCLVHCANIPFFLSATIPISASAGGSIENCFPGSFNGRILCLCNEAHRHEELKGERK	384
PKA52354.1	CDHAIFVAALA.FGGCYNINVSISGAGVAGFSRGTICNSNPHHCLVHCANIPFFLSATIPISASAGGSIENCFPGSFNGRILCLCNEAHRHEELKGERK	384

KAH0455859.1: 鼓槌石斛 (*Dendrobium chrysotoxum*); ATU32558.1: 墨兰 (*Cymbidium sinense* Jackson ex Andr. Willd.); ATU32535.1: 建兰 (*Cymbidium ensifolium* Sw.); AQR59350.1: 红唇卡特兰 (*Cattleya trianae* Linden & Rehb.f.); XP_020580520.1: 小兰屿蝴蝶兰 (*Phalaenopsis equestris* Rehb.f.); AJD14753.1: 蕙兰 (*Cymbidium faberi* Rolfe); KAG0499469.1: 香荚兰 (*Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews); PKA52354.1: 深圳拟兰 (*Apostasia shenzhenica* Z.J.Liu & L.J.Chen)。划实线的部分表示 TCP 结构域。右侧数字表示每行氨基酸的数量。

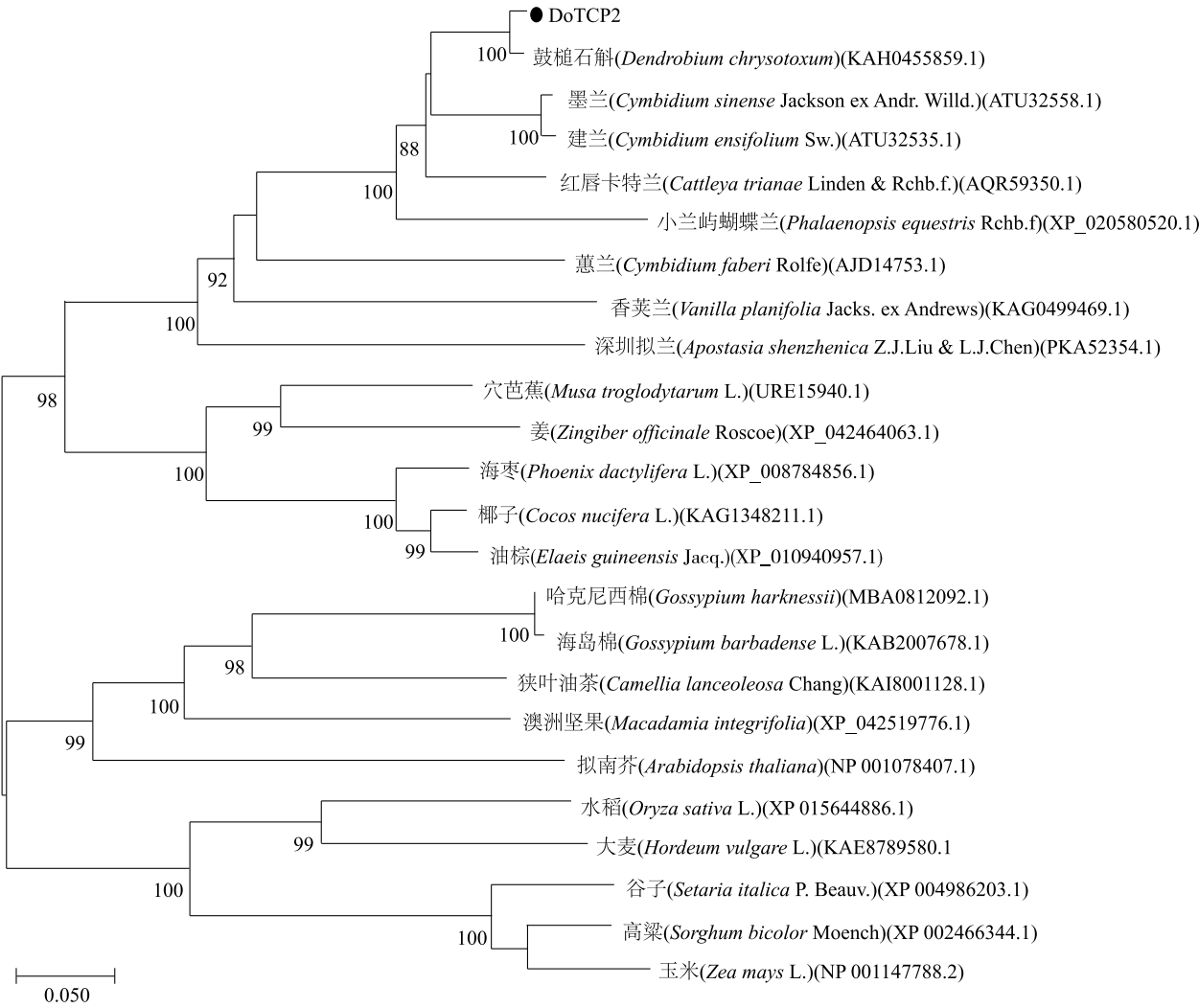
图 4 DoTCP2 与不同兰科物种 TCP 蛋白的多重序列比对分析结果

Fig.4 Multiple sequence alignment between DoTCP2 and TCP proteins from other orchid plants

2.5 DoTCP2 基因在不同处理条件下的表达模式分析

启动子序列的顺式作用元件分析结果显示,在 DoTCP2 基因起始密码子上游 2.0 kb 区域内,存在对干旱的响应、对低温的响应、对高渗环境的响应及 ABA 应答相关的元件(表 2)。因此,本研究进一步探究了 DoTCP2 基因在响应低温胁迫、模拟干旱条件及外源 ABA 处理条件下的表达模式。转录组数据分析和 qPCR 结果均显示,低温能够诱导 DoTCP2 基因的高效表达(图 7),其表达水平整体随着胁迫时间的延长呈上调趋势,并在胁迫 6 h 后相对表达量达到峰值,此时 TPM 值是未胁迫的 7.35 倍(图 7A),相对表达量

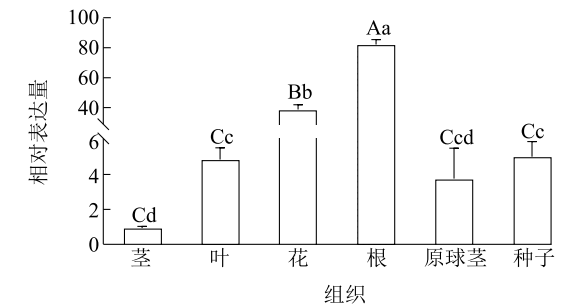
是未胁迫时的 16.15 倍(图 7D),暗示该基因可能在低温胁迫响应过程中发挥重要作用。值得关注的是,DoTCP2 基因在 PEG 和 ABA 处理下的表达水平随着处理时间的延长整体呈下降趋势(图 7),其中 PEG 处理 24 h 后 DoTCP2 相对表达量显著降低,TPM 值比处理前下降 22.26%(图 7B),相对表达量比处理前下降 66.79%(图 7E)。ABA 处理 24 h 后,DoTCP2 相对表达量最低,TPM 值比处理前降低 44.98%(图 7C),相对表达量比处理前降低 77.91%(图 7F),达到显著差异水平。基于上述结果,我们推测 DoTCP2 基因可能通过参与 ABA 信号通路,从而在铁皮石斛干旱胁迫响应中发挥重要作用。



实心圆点表示 *DoTCP2* 蛋白。

图 5 *DoTCP2* 与不同植物 TCP 同源蛋白系统进化树

Fig.5 Phylogenetic tree based on TCP homologous protein amino acid sequence of *DoTCP2* and other different plants



不同小写字母表示不同组织间差异显著 ($P < 0.05$), 不同大写字母表示不同组织间差异极显著 ($P < 0.01$)。

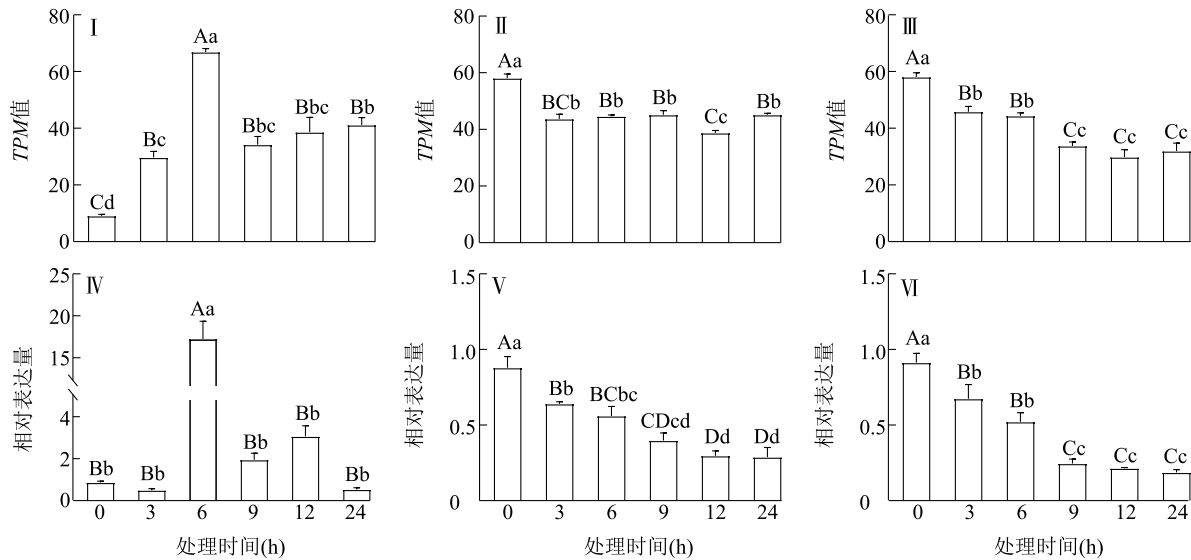
图 6 *DoTCP2* 基因在铁皮石斛不同组织中的表达水平

Fig.6 Expression level analysis of the *DoTCP2* gene in different tissues of *Dendrobium officinale*

表 2 *DoTCP2* 基因启动子顺式作用元件分析结果

Table 2 The acting elements analysis of *DoTCP2* promoter

序号	元件名称	核心序列	数目	功能预测
1	AAGAA-motif	GAAAGAA	1	对脱落酸的响应
2	ABRE	ACGTG	1	对脱落酸的响应
3	G-box	CACGTG	2	对低温及干旱的响应
4	MYC	CATTTG	1	对低温及干旱的响应
5	MYB	CAACTG/CAACAG/TAAGT/CAACCA	6	对低温及干旱的响应
6	MBS	CAACTG	2	对干旱的响应
7	STRE	AGGGG	5	对高渗环境的响应



I、II、III分别为 *DoTCP2* 基因在低温处理、聚乙二醇模拟干旱处理和外源脱落酸处理下的转录水平;IV、V、VI分别为 *DoTCP2* 基因在低温处理、聚乙二醇模拟干旱处理和外源脱落酸处理下的 RT-qPCR 表达水平。不同小写字母表示不同处理时间之间差异显著 ($P < 0.05$),不同大写字母表示不同处理时间之间差异极显著 ($P < 0.01$)。TPM:每百万读取中的转录本数。

图7 *DoTCP2* 基因在非生物胁迫下的表达情况分析

Fig.7 Expression level analysis of the *DoTCP2* gene under abiotic stresses

3 讨论

TCP 转录因子是植物界中一类普遍存在的调控蛋白,在植物生长、发育调控以及对非生物胁迫的响应中发挥着关键作用^[5,21-22]。Zhang 等^[30]于 2021 年基于已经公布的铁皮石斛基因组数据,鉴定出了 25 个 TCP 转录因子家族成员。本研究成功克隆了 *DoTCP2* 基因全长 cDNA 序列,长度为 1 122 bp,该序列编码 1 个包含 373 个氨基酸残基的多肽链,且该多肽链内含有 TCP 保守结构域,属于 TCP 转录因子家族。*DoTCP2* 蛋白与鼓槌石斛 TCP 蛋白序列同源性极高,且在进化树中 *DoTCP2* 与兰科植物 TCP 蛋白的遗传距离很近,表明该基因在兰科植物中高度保守,在进化历程中经历了相似的选择压力和进化事件,可能对兰科植物的生存和适应性至关重要。另外,*DoTCP2* 基因在根组织中相对表达量显著高于其他组织 ($P < 0.05$),而马铃薯 (*Solanum tuberosum* L.) *StTCP16* 基因在成熟茎中表达量最高,*StTCP19* 基因在幼小块茎中表达量最高^[35],柑橘 (*Citrus reticulata* Blanco) *CsTCP2* 基因在果实中的表达量最高^[36],毛白杨 (*Populus tomentosa* Carr.) 的 *PtoTCP20* 基因在茎和维管组织中的表达水平最高^[37],表明不同物种的 TCP 在不同组织或器官中

的表达具有显著的组织特异性模式,这与本研究结果一致。

此外,本研究对低温胁迫、PEG 和 ABA 处理模拟逆境胁迫条件下 *DoTCP2* 基因的表达特性进行了分析。低温环境对野生植物及农作物的地理分布构成了显著限制,成为制约其生产潜力的关键因素之一^[38]。因此,对抗寒基因的挖掘及其响应机制的解析,在农业生产领域具有重要意义。以往的研究结果显示,在水稻中过表达 *miR319* 能够通过对靶基因 *OsPCF5* 和 *OsPCF8* 表达量的下调调控从而提高低温驯化后的水稻幼苗耐冷性^[12];类似的,在拟南芥中过表达菊花脑 (*Chrysanthemum nankingense*) *miR319* 的靶基因 *CnTCP4* 能够导致转基因植株对低温过度敏感^[39];而金银花中的 6 个 TCP 基因家族成员 (*LjTCP8/LjTCP13/LjTCP14/LjTCP15/LjTCP16/LjTCP17*) 在低温胁迫下的基因表达量均呈现不同程度的上升趋势^[20]。本研究发现,低温胁迫处理后 *DoTCP2* 基因表达水平整体上呈上调趋势,且在胁迫 6 h 后相对表达量最高,推测该基因可能在调控铁皮石斛的低温耐受性方面发挥了一定的作用,但具体响应机制尚不清楚,有待深入研究。另外,TCP 也能够通过参与 ABA 信号通路来调节植物对非生物胁迫的耐受能力。例如,在水稻中过表达

OsTCP19 基因能够通过 ABA 信号通路促进脂肪滴合成、降低水分损失和减少氧离子,进而提高转基因株系对于干旱和高盐的耐受性^[40];在拟南芥中异源过表达玉米的 *ZmTCP42* 基因能够调控种子萌发阶段对 ABA 的敏感度,进而增强转基因植株的抗旱能力^[41]。本研究中,*DoTCP2* 基因在 PEG 和 ABA 处理下的表达水平均呈现出一致的下调趋势,推测 *DoTCP2* 基因可能经由 ABA 信号通路,在铁皮石斛对于干旱胁迫的响应过程中发挥负调控作用。然而,关于具体哪些基因参与 *DoTCP2* 介导的这一调控机制,目前尚属未知。因此,深入探究 *DoTCP2* 响应非生物胁迫的分子调控机制,对于推动铁皮石斛抗逆性育种研究具有重要意义。

综上所述,*DoTCP2* 基因可能在铁皮石斛抗寒响应中发挥正调控作用;在转录水平上,*DoTCP2* 可能依赖于 ABA 信号通路在铁皮石斛对于干旱胁迫过程中发挥负调控作用。因此,可将 *DoTCP2* 视为一个极具潜力的候选基因深入探究其在逆境胁迫下所介导的复杂响应机制与适应策略,以期对铁皮石斛的抗逆性育种研究提供研究基础。

参考文献:

- [1] MAHAJAN S, TUTEJA N. Cold, salinity and drought stresses: an overview[J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 2005, 444(2): 139-158.
- [2] LI Y X, YANG Z R, ZHANG Y Y, et al. The roles of HD-ZIP proteins in plant abiotic stress tolerance[J]. Frontiers in Plant Science, 2022, 13: 1027071.
- [3] 李子义, 贺子航, 卢惠君, 等. 拟南芥 *AtUNE12* 基因的耐盐功能初探[J]. 植物研究, 2020, 40(2): 257-265.
- [4] JOO H, BAEK W, LIM C W, et al. Post-translational modifications of bZIP transcription factors in abscisic acid signaling and drought responses[J]. Current Genomics, 2021, 22(1): 4-15.
- [5] 雷其冬, 孙旭东, 徐慧妮. 转录因子 TCP4 参与植物生长发育和抗逆调节研究进展[J]. 华北农学报, 2021, 36(增刊1): 210-214.
- [6] JIAO M Y, ZHANG J, CHENG W W, et al. Identification of the AP2/ERF transcription factor family of *Eleutherococcus senticosus* and its expression correlation with drought stress[J]. 3 Biotech, 2023, 13(7): 259.
- [7] WANG H L, CHENG X, YIN D M, et al. Advances in the research on plant WRKY transcription factors responsive to external stresses[J]. Current Issues in Molecular Biology, 2023, 45(4): 2861-2880.
- [8] JIA Y Q, NIU Y N, ZHAO H M, et al. Hierarchical transcription factor and regulatory network for drought response in *Betula platyphylla*[J/OL]. Horticulture Research, 2022, 9[2024-07-15]. <https://doi.org/10.1093/hr/uhac040>.
- [9] 董舒超, 凌嘉怡, 赵丽萍, 等. 转录因子调控番茄抗旱性研究进展[J]. 江苏农业科学, 2023, 51(9): 9-16.
- [10] CHALLA K R, AGGARWAL P, NATH U. Activation of YUCCA5 by the transcription factor TCP4 integrates developmental and environmental signals to promote hypocotyl elongation in *Arabidopsis* [J]. The Plant Cell, 2016, 28(9): 2117-2130.
- [11] CUBAS P, LAUTER N, DOEBLEY J, et al. The TCP domain: a motif found in proteins regulating plant growth and development [J]. The Plant Journal, 1999, 18(2): 215-222.
- [12] MARTÍN-TRILLO M, CUBAS P. TCP genes: a family snapshot ten years later[J]. Trends in Plant Science, 2010, 15(1): 31-39.
- [13] KOSUGI S, OHASHI Y. DNA binding and dimerization specificity and potential targets for the TCP protein family [J]. The Plant Journal, 2002, 30(3): 337-348.
- [14] NAVAUD O, DABOS P, CARNUS E, et al. TCP transcription factors predate the emergence of land plants[J]. Journal of Molecular Evolution, 2007, 65(1): 23-33.
- [15] RIECHMANN J L, HEARD J, MARTIN G, et al. *Arabidopsis* transcription factors: genome-wide comparative analysis among eukaryotes[J]. Science, 2000, 290(5499): 2105-2110.
- [16] PARAPUNOVA V, BUSSCHER M, BUSSCHER-LANGE J, et al. Identification, cloning and characterization of the tomato TCP transcription factor family[J]. BMC Plant Biology, 2014, 14: 157.
- [17] MA X D, MA J C, FAN D, et al. Genome-wide identification of TCP family transcription factors from *Populus euphratica* and their involvement in leaf shape regulation[J]. Scientific Reports, 2016, 6: 32795.
- [18] 温贝贝, 罗勇, 刘冬敏, 等. 茶树 TCP 转录因子的鉴定与表达分析[J]. 园艺学报, 2019, 46(12): 2369-2382.
- [19] DONG Z Y, HAO Y P, ZHAO Y Y, et al. Genome-wide analysis of the TCP transcription factor gene family in pepper (*Capsicum annuum* L.) [J]. Plants, 2024, 13(5): 641.
- [20] 谭政委, 郭水柱, 苏小雨, 等. 全基因组水平金银花 *TCP* 基因家族的鉴定及表达模式分析[J]. 中草药, 2024, 55(5): 1665-1676.
- [21] LING L, ZHANG W R, AN Y M, et al. Genome-wide analysis of the TCP transcription factor genes in five legume genomes and their response to salt and drought stresses[J]. Functional & Integrative Genomics, 2020, 20(4): 537-550.
- [22] QI X Y, QU Y X, GAO R, et al. The heterologous expression of a *Chrysanthemum nankingense* TCP transcription factor blocks cell division in yeast and *Arabidopsis thaliana* [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2019, 20(19): 4848.
- [23] VIOLA I L, CAMOIRANO A, GONZALEZ D H. Redox-dependent modulation of anthocyanin biosynthesis by the TCP transcription factor TCP15 during exposure to high light intensity conditions in *Arabidopsis* [J]. Plant Physiology, 2016, 170(1): 74-85.
- [24] AN J X, GUO Z X, GOU X P, et al. TCP1 positively regulates

- the expression of *DWF4* in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Signaling & Behavior*, 2011, 6(8):1117-1118.
- [25] 雷豆, 苏周, 吴雨, 等. 番茄 SITCP7 转录因子的克隆及表达分析[J]. *分子植物育种*, 2019, 17(5):1446-1453.
- [26] 朱姗姗. 水稻转录因子 PCF7 的功能研究[D]. 重庆: 重庆大学, 2015.
- [27] YANG L, TEIXEIRA P J P L, BISWAS S, et al. *Pseudomonas syringae* type III effector HopBB1 promotes host transcriptional repressor degradation to regulate phytohormone responses and virulence[J]. *Cell Host & Microbe*, 2017, 21(2):156-168.
- [28] CHEN J J, LI L Z. Multiple regression analysis reveals microRNA regulatory networks in *Oryza sativa* under drought stress[J]. *International Journal of Genomics*, 2018, 2018(1):9395261.
- [29] 刘春浩, 梁楠松, 于磊, 等. 水曲柳 TCP4 转录因子克隆及胁迫和激素下的表达分析[J]. *北京林业大学学报*, 2017, 39(6):22-31.
- [30] ZHANG L, LI C, YANG D N, et al. Genome-wide analysis of the TCP transcription factor genes in *Dendrobium catenatum* Lindl[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(19):10269.
- [31] 刘羽佳, 理雅, 姜雅涵, 等. 铁皮石斛蔗糖合酶 *DoSUS2* 基因克隆与表达分析[J]. *农业生物技术学报*, 2024, 32(3):546-558.
- [32] 理雅, 刘博婷, 赖思慧, 等. 铁皮石斛 *DcbHLH14* 基因克隆及表达分析[J]. *福建农业学报*, 2022, 37(9):1145-1155.
- [33] LIU Y J, LIU B T, LUO K F, et al. Genomic identification and expression analysis of acid invertase (*AINV*) gene family in *Dendrobium officinale* Kimura et Migo[J]. *BMC Plant Biology*, 2024, 24(1):396.
- [34] 崔迪, 孟丽君, 葛秀丽, 等. 铁皮石斛 *DobHLH51* 基因克隆及表达特性分析[J]. *山东农业科学*, 2024, 56(5):9-18.
- [35] 冯建英, 李立芹, 李佳皓, 等. 马铃薯 TCP 家族转录因子鉴定与表达模式分析[J]. *基因组学与应用生物学*, 2021, 40(增刊2):2756-2764.
- [36] 唐羽翔, 高旭, 崔亚宁, 等. 植物 TCP 转录因子研究进展[J]. *科学通报*, 2022, 67(33):3964-3975.
- [37] HOU J, XU H M, FAN D, et al. MiR319a-targeted *PtoTCP20* regulates secondary growth via interactions with *PtoWOX4* and *PtoWIND6* in *Populus tomentosa* [J]. *New Phytologist*, 2020, 228(4):1354-1368.
- [38] 乌凤章, 王贺新, 徐国辉, 等. 木本植物低温胁迫生理及分子机制研究进展[J]. *林业科学*, 2015, 51(7):116-128.
- [39] TIAN C, ZHAI L S, ZHU W J, et al. Characterization of the TCP gene family in *Chrysanthemum nankingense* and the role of *CnTCP4* in cold tolerance[J]. *Plants*, 2022, 11(7):936.
- [40] MUKHOPADHYAY P, TYAGI A K. *OsTCP19* influences developmental and abiotic stress signaling by modulating ABI4-mediated pathways[J]. *Scientific Reports*, 2015, 5:9998.
- [41] DING S C, CAI Z Z, DU H W, et al. Genome-wide analysis of TCP family genes in *Zea mays* L. identified a role for *ZmTCP42* in drought tolerance[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(11):2762.

(责任编辑:陈海霞)