

## DdSOC1 基因调控德阳柿成花分子机制

万建琦<sup>1</sup>, 丁 瑜<sup>1</sup>, 任 晗<sup>1</sup>, 李雯霞<sup>1</sup>, 杨 勇<sup>1</sup>, 黄金盟<sup>2</sup>, 关长飞<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>西北农林科技大学园艺学院, 陕西杨凌 712100; <sup>2</sup>广西特色作物研究院, 广西桂林 541004)

**摘要:**【目的】探究DdSOC1基因调控德阳柿(*Diospyros deyangensis*)成花的分子机制。【方法】通过生物信息学、基因表达量分析、酵母双杂筛选和双杂互作验证等方法,解析DdSOC1基因在调控成花中的功能。【结果】德阳柿DdSOC1序列和君迁子DfSOC1序列遗传距离较近;在成花诱导过程中,DdSOC1在茎、叶、芽中随开花进程出现差异表达;基于柿酵母文库,筛选获得7个DdSOC1的互作蛋白(MIOX、AGL14、JOINTLESS、GL2、NOVEIN、NBS、UBC7),酵母双杂交和双分子荧光互补试验表明,DdSOC1和上述7个蛋白均互作;qRT-PCR结果显示,一年生已开花的德阳柿SOC1、AGL14、JOINTLESS、NOVEIN、GL2、UBC7、NBS的表达量,幼叶高于成龄叶;二年生实生苗中,SOC1表达量差异不大,而AGL14、JOINTLESS、GL2、UBC7、MIOX表达量在开花实生苗中的表达量高于未开花实生苗。【结论】DdSOC1及其互作蛋白在德阳柿成花转变中发挥着重要作用,为探究德阳柿短童期分子调控网络提供了更多理论依据。

**关键词:**德阳柿; DdSOC1; 互作蛋白; 酵母双杂交; 双分子荧光互补; 实时荧光定量分析

中图分类号:S665.2

文献标志码:A

文章编号:1009-9980(2025)02-0276-12

## Molecular mechanism of DdSOC1 gene regulating flower bud initiation in *Diospyros deyangensis*

WAN Jianqi<sup>1</sup>, DING Yu<sup>1</sup>, REN Han<sup>1</sup>, LI Wenxia<sup>1</sup>, YANG Yong<sup>1</sup>, HUANG Jinmeng<sup>2</sup>, GUAN Changfei<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>College of Horticulture, Northwest A & F University, Yangling 712100, Shaanxi, China; <sup>2</sup>Guangxi Academy of Specialty Crops, Guilin 541004, Guangxi, China)

**Abstract:**【Objective】Seedlings of the new identified persimmon species *Diospyros deyangensis* have a short juvenile stage and can flower within one year after seed sowing. The function of the DdSOC1 gene in controlling flower bud initiation in *D. deyangensis* was investigated, along with its sequence characterization and expression pattern.【Methods】Plant materials were obtained from *Nicotiana tabacum* and 1- and 2-year-old persimmon (*D. deyangensis*) seedlings cultivated in the orchard at Northwest A & F University under natural conditions. Online analysis of the open reading frame of DdSOC1 was done using the ORF Finder. The physicochemical property of the encoded protein was predicted using Expasy ProtParam program. The MEGA7.0 software was used to create the phylogenetic tree. QRT-PCR was used to examine the expression features of DdSOC1. On the one-deficient and three-deficient plates, the self-toxicity and self-activation of DdSOC1 were explored. Verification of the screening library and yeast interaction was done on a four-lack plate. Confocal microscopy was used in the BiFC experiment.【Results】The findings demonstrated that *D. deyangensis* SOC1 shared a close genetic distance with SOC1 from *Diospyros lotus*, *Actinidia chinensis*, *Actinidia eriantha*, *Camellia sinensis* and other species. *Populus alba*, *Vitis vinifera*, *Malus domestica*, *Prunus persica*, *Mangifera indica* and other species were distantly linked to *D. deyangensis* SOC1 protein. Furthermore, *D. deyangensis* SOC1 protein was the most distantly related to that of the herbaceous plants *Triticum aestivum* and *Oryza sativa*. Online analysis demonstrated that DdSOC1 protein encodes 126 amino acids. The molecular weight is

收稿日期:2024-09-26 接受日期:2024-12-04

基金项目:国家重点研发计划(2022YFD2200403);广西自然科学基金项目(2021GXNSFBA196032)

作者简介:万建琦,在读硕士研究生,研究方向为果树育种与生物技术。E-mail:wanjianqi0101@qq.com

\*通信作者 Author for correspondence. E-mail:guanchangfei@nwafu.edu.cn

14.56 ku. Its isoelectric point is 5.62. *SOC1* expression was the highest during flowering and lowest during the bud stage in annual flowering *D. deyangensis* stems. As the flowering process progressed, *SOC1* expression in the leaves rose. *SOC1* expression in the buds peaked during the seedling stage and decreased during the flowering stage. For Y2H, the first deficient plate had plaques, whereas the third plate had none. It demonstrated that *DdSOC1* did not have autotoxicity and autoactivation. Following that, *DdSOC1* was employed as the bait protein to test the cDNA library of Fuping persimmon. Following colony PCR, the blue plaque on the four-deficient plate in the sieve library was forwarded for sequencing. By comparing the sequences obtained from the screening library with the NCBI BLAST and the genome annotation of *D. deyangensis*, seven putative interacting proteins (MIOX, AGL14, JOINTLESS, GL2, NOVEIN, NBS and UBC7) were screened out. The AD vectors of JOINTLESS, NOVEIN, GL2 and other interacting proteins were introduced into BD-SOC1 yeast-competent cells to verify yeast two-hybrid interactions. PGBKT7-53 + pGADT7-T, pGBKT7-Lam + pGADT7-T, and BD-SOC1 + pGADT7 were used as positive, negative and blank control. The combined plasmid was effectively transferred into yeast strains. The findings demonstrated that nine sets of yeast combinations were able to establish white colonies on DDO plates. Plaque was absent from both negative and blank controls on QDO and QDO/X/A plates. On QDO/X/A plates, the positive control and seven yeast combinations (BD-SOC1+AD-NBS, BD-SOC1+AD-JOINTLESS, BD-SOC1+AD-UBC7, BD-SOC1+AD-MIOX, BD-SOC1+AD-GL2, BD-SOC1+AD-NOVEIN and BD-SOC1+AD-AGL14) could grow properly and turn blue. The SOC1 protein and interaction proteins MIOX, JOINTLESS, AGL14, NOVEIN, UBC7 and GL2 in *D. deyangensis* were evaluated based on the results of the yeast two-hybrid. The pSPYCE (CE) vector of putative interacting proteins and the pSPYNE (NE) vector of *DdSOC1* were constructed. Following co-injection, YFP fluorescence signals were seen in tobacco cells. The findings demonstrated that JOINTLESS-cYFP + SOC1-nYFP produced the strongest yellow fluorescence in the tobacco cell membrane and nucleus out of the seven combinations. Other combinations (NOVEIN-cYFP + SOC1-nYFP, UBC7-cYFP + SOC1-nYFP, NBS-cYFP + SOC1-nYFP, GL2-cYFP + SOC1-nYFP and MIOX-cYFP + SOC1-nYFP) detected yellow fluorescence on the cell membrane, while the combination of AGL14-cYFP+SOC1-nYFP produced yellow fluorescence in the nucleus. According to the aforementioned findings, *DdSOC1* interacted with seven potential plant interacting proteins. *D. deyangensis* seedlings with various characteristics (flowering and non-flowering) were examined for the expression of *DdSOC1* and its interaction proteins in young leaves (leaves close to the apical bud) and mature leaves (adult leaves distant from the apical bud). According to the findings, juvenile leaves had higher expression levels of *SOC1*, *AGL14*, *JOINTLESS*, *NOVEIN*, *GL2*, *UBC7* and *NBS* than mature leaves, but younger leaves had lower expression levels of *MIOX*. The expression levels of *SOC1*, *NOVEIN* and *MIOX* in young leaves were lower than those in mature leaves in the two-year-old *D. deyangensis* seedlings, whereas the other genes (*GL2*, *UBC7*, *NBS*, *AGL14* and *JOINTLESS*) exhibited a contrast pattern.

【Conclusion】 This study isolated and cloned the *DdSOC1* gene, which was relatively conserved in the evolution of woody plants; *DdSOC1* integrated flowering signals from leaves to achieve the transition from vegetative growth to reproductive growth; the results from Y2H and BiFC confirmed that *DdSOC1* interacted with interaction protein (MIOX, AGL14, JOINTLESS, GL2, NOVEIN, NBS and UBC7); MIOX may play a role in delaying flowering, while AGL14, JOINTLESS, GL2 and NBS may have a positive influence on the short-childhood of *D. deyangensis*.

**Key words:** *Diospyros deyangensis*; *DdSOC1*; Interaction protein; Y2H; BiFC; qPCR

德阳柿 (*Diospyros deyangensis*) 原产于四川省德阳市, 是柿科 (Ebenaceae) 柿属 (*Diospyros*) 多年生木本植物, 属于雌雄异株落叶果树树种, 又称红花野毛柿。前人通过形态学观察、分子标记、染色体倍性分析等手段发现德阳柿为四倍体, 属于柿属植物新种<sup>[1-2]</sup>。木本果树植物的生命周期分为童期、成年期和衰老期, 其中, 童期指从种子萌发至具备正常开花能力的时期。木本植物的童期普遍较长, 一般为 3~8 a(年)<sup>[3]</sup>, 云杉甚至需要 20~25 a 才能进入成年期<sup>[4]</sup>。然而, 德阳柿作为栽培柿 (*Diospyros kaki*) 的近缘种, 在播种数月后即可开花<sup>[5]</sup>, 是研究柿属植物短童期花发育机制的优良试材。研究短童期调控的分子机制对促进柿早花结实、提高育种效率具有重要的理论意义和实践价值。

通过对模式植物拟南芥的研究, 发现了调控植物开花的重要整合因子 *SUPPRESSOR OF OVER-EXPRESSION OF CO 1 (SOC1)*<sup>[6]</sup>。*SOC1* 隶属于 *MADS-box* 基因家族, 它可以整合来自光周期、春化作用、自主途径等多个开花调控途径的信号, 随后将信号传递给下游的花分生组织基因进而促进植物成花转化<sup>[6-7]</sup>。目前已从多种植物, 如甜橙 (*Citrus sinensis*)、银白杨 (*Populus trichocarpa*)、苹果 (*Malus domestica*)、欧洲葡萄 (*Vitis vinifera*) 中克隆出 *SOC1* 同源基因<sup>[8-11]</sup>。*SOC1* 调控开花的机制也被广泛研究<sup>[12]</sup>。前人研究发现, B3 结构域转录因子 REM16 通过结合 *SOC1* 和 *FT (FLOWERING LOCUS T)* 的启动子促进拟南芥开花<sup>[13]</sup>; BjuWRKY71-1 通过调节 *SOC1* 的表达促进芥菜开花<sup>[14]</sup>; 应激诱导型启动子 rd29A 通过促进 *AtSOC1* 的过表达可以将干旱胁迫下菊花的开花时间提前<sup>[15]</sup>。以上研究表明 *SOC1* 作为转录因子受到其他蛋白或核酸的调控后调节植物的开花时间。此外, *SOC1* 也可以与其他蛋白质形成二聚体或高阶复合物靶向调控开花基因进而影响植物开花节奏<sup>[16]</sup>。*SOC1* 和 *AGL6* 亚家族同源物 DAL1 相互作用介导松树营养生长到生殖生长的转变<sup>[4]</sup>; TaSOC1 通过与 *MADS-box* 开花调节因子 TaVRT2 竞争结合 TaVRN1, 形成 TaSOC1-TaVRN1 模块, 整合光周期和春化信号, 调控小麦开花<sup>[17]</sup>; BrSOC1b 通过与 BrAGL9a、BrAGL9b、BrAGL2 和 BrAGL8 蛋白相互作用, 共同参与调节白菜的开花<sup>[18]</sup>; 拟南芥中 *SOC1* 与 *AGL16* 形成蛋白质复合物, 共同作用于开花靶标基因<sup>[19]</sup>。*SOC1* 在调控植物开

花时间的过程中起到关键的作用, 然而至今还未有德阳柿 *SOC1* 基因相关的报道, *SOC1* 基因在德阳柿短童期中的作用也尚不清楚。

笔者在本研究中基于前期获得的德阳柿基因组数据, 分离 *DdSOC1* 基因并分析其序列特征, 探究 *DdSOC1* 基因在不同组织器官中的表达模式; 通过酵母双杂交 (Y2H) 筛库得到 *DdSOC1* 的互作蛋白并进行了 Y2H、双分子荧光互补 (BiFC) 的互作验证; 分析 1 年生、2 年生德阳柿实生苗蕾期叶片中互作蛋白基因的表达量, 以期探究 *DdSOC1* 基因在德阳柿短童期中的功能, 为研究德阳柿短童期分子调控网络提供理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验材料

植物材料为种植于陕西杨凌西北农林科技大学国家柿种质资源圃 (34°17'42.80" N, 108°04'8.21" E) 的 1 年生、2 年生德阳柿 (*D. deyangensis*) 实生苗; 本氏烟 (*Nicotiana tabacum*)。用于实时荧光定量的试验材料取自 1 年生、2 年生德阳柿蕾期实生苗叶片。

菌株: 富平尖柿的酵母双杂交文库, Y2H Gold 酵母菌株以及转入 pGBKT7 空载、阳性对照 (pGBT7-53+pGADT7-T)、阴性对照 (pGBT7-Lam+pGADT7-T) 的酵母菌株。

载体: Y2H 载体 pGBT7(BD)、pGADT7(AD); BiFC 载体 pSPYNE(NE)、pSPYCE(CE)。

### 1.2 *DdSOC1* 基因的克隆和序列分析

使用天根生化科技有限公司多糖多酚试剂盒 (DP441) 提取德阳柿叶片 RNA, 使用艾科瑞生物工程有限公司 Evo M-MLV 反转录试剂盒 (AG11728) 将所提 RNA 反转录合成模板 cDNA。根据基因组数据查询基因的序列, 利用 SnapGene Viewer 2.4.3 软件进行引物设计 (表 1)。采用艾科瑞高保真试剂盒 (AG12202) 扩增 CDS 序列。DNA 片段连接到 pMD19-T 载体后转化至大肠杆菌 DH5 $\alpha$  中, 经过菌落 PCR 和测序, 最终得到阳性克隆。

使用 ORF Finder (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder/>) 在线分析开放阅读框, 使用 Expasy 中的 ProtParam (<https://www.expasy.org/>) 工具预测编码蛋白的等电点和分子质量, 在 NCBI 上进行 SOC1-like 蛋白搜索, 下载相似性较高的蛋白质序列, 利用 MEGA 7.0 软件, 选择邻接法将相关物种的 SOC1 序

表1 *SOC1* 克隆相关引物  
Table 1 Related primers for cloning *SOC1*

用途 Purpose	引物编号 Primer code	引物序列(5'→3') Primer sequence (5'→3')
基因克隆 Gene cloning	SOC1-F SOC1-R	ATGCAGCATTTGAAGGAAGAAGC TTATAAAGGCCGGCGAGTCG
实时荧光定量PCR qRT-PCR	Actin-F Actin-R	CATGGAGAAAATCTGGCATCATAC GAAGCACTGGTGCTTCTG
	qPCR-SOC1-F qPCR-SOC1-R	AGCCTAACAGAACAGAGAATGCAAAGC AGTCCGATGAACAATTCCGTCTCC
载体构建 Vector construction	BD-SOC1-F BD-SOC1-R NE-SOC1-F NE-SOC1-R	ATGGAGGCCATTCCCCGGATGCAGCATTGAAGGAAGAAGC CCGCTGCAGGTCGACGGATCCTAAAGGCCGGCGAGTCG CCTACTAGTGGATCCATGCAGCATTGAAGGAAGAAGC CGGGAGCGGTACCTAAAGGCCGGCGAGTCG

注:NE. pSPYNE; BD. pGBT7。下划线碱基为不同载体同源臂序列。

Note: NE. pSPYNE; BD. pGBT7. Underlined bases are homologous arms sequences of different vectors.

列构建系统进化树(bootstrap 设为 1000 次)。

### 1.3 *DdSOC1* 基因的表达特征

采用 qRT-PCR 分析 *DdSOC1* 基因的表达特征, 引物见表 1。将 cDNA 质量浓度稀释至  $200 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$  后作为模板, 用 SYBR Green Pro *Taq* HS 预混型 qPCR 试剂盒(含 Rox)(AG11718)进行定量实验。

取一年生开花德阳柿实生苗茎、叶、芽三个部位, 在苗期、蕾期以及花期测定 *DdSOC1* 表达水平。

### 1.4 *DdSOC1* 自毒自激活验证及互作蛋白筛选

1.4.1 *DdSOC1* 自激活验证 以 *DdSOC1* 的连 T 载体质粒为模板, 设计 pGBT7(简称 BD)引物(表 1)并扩增, 用 *Sma* I 和 *Bam*H I 对 BD 进行双酶切, 同源重组后, 通过菌液 PCR 和测序比对获得重组载体 pGBT7-DdSOC1(BD-SOC1)。依照酵母感受态制备及转化试剂盒(PT1183, 源叶生物), 获得 BD-SOC1 阳性酵母菌株。

在 SD/-Trp 培养基上分别点 BD-SOC1 和 BD 空载的酵母菌液, 28 °C 倒置培养 2~3 d 后观察酵母生长情况, 若 BD-SOC1 在 SD/-Trp 平板上正常生长则表明其对酵母菌株无毒性。

在 SD/-Trp/-Ade/-His+X- $\alpha$ -Gal(TDO/X)上分别点上阳性对照(pGBT7-53+pGADT7-T)、阴性对照(pGBT7-Lam+pGADT7-T)、pGBT7 空载(BD-empty)、BD-SOC1, 观察酵母的生长情况。若 BD-SOC1 的菌液在三缺板上不长斑则说明不存在自激活, 可直接进行后续的筛选试验, 若在三缺板上长斑并变蓝, 则需筛选合适的抑制剂浓度抑制其自激活。

1.4.2 *DdSOC1* 酵母文库筛选 将柿的核次级文库

质粒转入 BD-SOC1 的酵母感受态细胞中, 经过转化后, 将菌液涂布至 SD/-Trp/-Leu/-Ade/-His(QDO)培养基上, 观察单菌落生长情况。挑取单菌落, 稀释后点至 SD/-Trp/-Leu/-Ade/-His/X- $\alpha$ -Gal/AbA(QDO/X/A)上, 观察是否有变蓝的菌落。

菌落 PCR 及测序: 将蓝色单菌落挑至离心管中加入 20  $\mu\text{L}$  裂解液(Lysis Buffer for Microorganism to Direct PCR, 9164, 宝日医), 热变性后低速离心, 取上清液作为模板进行菌落 PCR。选择电泳条带大于 500 bp 且单一的菌落 PCR 产物送至上海生工生物工程有限公司测序(表 2)。

表2 酵母测序引物

Table 2 Primers of yeast sequencing

用途 Purpose	引物编号 Primer code	引物序列(5'→3') Primer sequence (5'→3')
酵母测序 Yeast sequencing	T7 3'AD	TAATACGACTCACTATAGGG GAGATGGTGCACGATGCACAGT

1.4.3 互作蛋白克隆 将筛选测序得到的序列在 NCBI 的 BLAST 数据库中进行比对, 根据功能注释筛选互作蛋白, 在德阳柿基因组中找出对应的 CDS 序列, 并设计扩增引物(表 3)。

### 1.5 酵母双杂交(Y2H)

设计互作蛋白 pGADT7(AD)的引物(表 4)并扩增, 用 *Sma* I 和 *Bam*H I 对 AD 载体进行双酶切, 同源重组后, 对菌落 PCR、提质粒及测序。

参照 1.4.2 方法, 将空载(AD-empty)质粒及互作蛋白的 AD 质粒分别转入 BD-SOC1 酵母感受态细胞, 处理后的菌液涂布至 DDO(SD/-Trp/-Leu)平板

表3 互作蛋白扩增引物

Table 3 Primers for interacting protein CDS amplification

用途 Purpose	引物编号 Primer code	引物序列(5'→3') Primer sequence (5'→3')
基因克隆 Gene cloning	JOINTLESS-F	ATGAAGGATATACTTGGAAAGTACTC
	JOINTLESS-R	GTTATAAGGCAGCCCGAG
	AGL14-F	ATGGTGAGAGGGAAAGACCCAG
	AGL14-R	GTTCTCCGGCGGCAGT
	GL2-F	ATGAGCTCTGGAAGCAGAGCA
	GL2-R	TCGCTTCGTTTCTTCTTGAC
	NBS-F	ATGTACGGAACAAAATCTCACCG
	NBS-R	CTTGTGTTGAGCAGATATTG
	UBC7-F	ATGTCGACGCCGGCAGG
	UBC7-R	GTCAGCTGTCCAGCTCTG
	NOVEIN-F	ATGGAGGAAGAGCAACACCCG
	NOVEIN-R	GGGAGCGATCCTCAGAGG
	MIOX-F	ATGACCATTCTCGTCGAGCAG
	MIOX-R	CCATCGGAGCTTGGCC

上。培养至长出单菌落后,挑取单菌落点至DDO、QDO/X/A板上,观察酵母生长及变色情况。设置阳性和阴性对照。

### 1.6 双分子荧光互补(BiFC)

设计DdSOC1的pSPYNE(NE)以及互作蛋白pSPYCE(CE)的引物(表1,表5)并扩增,同源重组后测序检测,并提取重组质粒备用。

参照农杆菌感受态说明书将重组质粒转化至农杆菌感受态GV3101中,利用菌落PCR鉴定阳性菌株,在双抗LB液体培养基中培养。离心后弃上清液,用MES溶液重悬菌液,OD<sub>600</sub>值调整至0.8后加入乙酰丁香酮,室温黑暗静置。将CE和NE侵染液等比例混合,将农杆菌侵染液注射进烟草叶背,暗培养48 h。使用激光共聚焦显微镜(TCS SP8 SR, Leica,德国)观察YFP荧光。

表4 互作蛋白AD载体引物

Table 4 Primers of interaction protein AD vector

用途 Purpose	引物编号 Primer code	引物序列(5'→3') Primer sequence (5'→3')
载体构建 Vector construction	AD-JOINTLESS-F	<u>CAGTGAATTCCACCCGGGAT</u> GAAGGATATACTTGGAAAGTACTC
	AD-JOINTLESS-R	<u>CTCGAGCTCGATGGATCCCGT</u> TATAAGGCAGCCCGAG
	AD-AGL14-F	<u>CAGTGAATTCCACCCGGGATGGT</u> GAGAGGGAAAGACCCAG
	AD-AGL14-R	<u>CTCGAGCTCGATGGATCCCG</u> GGCAGT
	AD-GL2-F	<u>CAGTGAATTCCACCCGGGATGAG</u> CTCTGGAAGCAGAGCA
	AD-GL2-R	<u>CTCGAGCTCGATGGATCCTCG</u> CTTCGTTTCTTCTTGAC
	AD-NBS-F	<u>CAGTGAATTCCACCCGGGATGTAC</u> GGAACAAAATCTCACCG
	AD-NBS-R	<u>CTCGAGCTCGATGGATCCCTTG</u> TTGAGCAGATATTG
	AD-UBC7-F	<u>CAGTGAATTCCACCCGGGATGTC</u> GACGCCGGCGAGG
	AD-UBC7-R	<u>CTCGAGCTCGATGGATCCCGT</u> CAGCTGTCCAGCTCTG
	AD-NOVEIN-F	<u>CAGTGAATTCCACCCGGGATGGAG</u> GAAGAGCAACACCCG
	AD-NOVEIN-R	<u>CTCGAGCTCGATGGATCCGGAG</u> CGATCCTCAGAGG
	AD-MIOX-F	<u>CAGTGAATTCCACCCGGGATGACC</u> ATTCTCGTCGAGCAG
	AD-MIOX-R	<u>CTCGAGCTCGATGGATCCCCATCG</u> GAGCTTGGCC

注:AD. pGADT7。下划线碱基为不同载体同源臂序列。

Note: AD. pGADT7. Underlined bases are homologous arms sequences of different vectors.

### 1.7 互作基因表达分析

参照1.3的方法,设计互作蛋白的定量引物(表6),取蕾期1年生、2年生德阳柿(*D. deyagensis*)实生苗顶芽附近3~4枚叶(幼叶)及枝条基部的成年叶分析互作基因表达量。

### 1.8 数据统计和分析

所有处理均包括3次重复,数据均表示为平均值±标准误差,统计分析和作图使用GraphPad Prism 8软件完成。

## 2 结果与分析

### 2.1 DdSOC1基因的克隆和序列分析

以德阳柿叶的cDNA为模板扩增得到DdSOC1基因,经测序验证扩增得到的序列与德阳柿基因组序列一致。该基因CDS全长381 bp,编码126个氨基酸;蛋白质的分子质量为14.56 ku、等电点为5.62。

利用MEGA 7.0软件对德阳柿及其他物种的SOC1序列进行系统发育树分析,结果(图1)显示,

表5 互作蛋白CE载体引物  
Table 5 Primers of interaction protein CE vector

用途 Purpose	引物编号 Primer code	引物序列(5'→3') Primer sequence (5'→3')
载体构建 Vector construction	CE-JOINTLESS-F	<u>CGCCACTAGTGGATCC</u> CATGAAGGATATACTGGAAAGTACTC
	CE-JOINTLESS-R	<u>CGGGAGCGGTACCGT</u> TATAAGGCAGCCCGAG
	CE-AGL14-F	<u>CGCCACTAGTGGATCC</u> ATGGTGAGAGGGAAAGACCCAG
	CE-AGL14-R	<u>CGGGAGCGGTACCGT</u> CTCCGGCGGCAGT
	CE-GL2-F	<u>CGCCACTAGTGGATCC</u> CATGAGCTCTGGAAGCAGAGCA
	CE-GL2-R	<u>CGGGAGCGGTACCTC</u> GCTCGTTTCTTCTTGAC
	CE-NBS-F	<u>CGCCACTAGTGGATCC</u> CATGTACGGAACAAAATCTCACCA
	CE-NBS-R	<u>CGGGAGCGGTACCC</u> TTGTGTTGAGCAGATATTG
	CE-UBC7-F	<u>CGCCACTAGTGGATCC</u> CATGTCGACGCCGGCGAGG
	CE-UBC7-R	<u>CGGGAGCGGTACCGT</u> CAGCTGTCCAGCTCTG
	CE-NOVEIN-F	<u>CGCCACTAGTGGATCC</u> CATGGAGGAAGAGAACACCCC
	CE-NOVEIN-R	<u>CGGGAGCGGTACCGG</u> GAGCGATCCTCAGAGG
	CE-MIOX-F	<u>CGCCACTAGTGGATCC</u> CATGACCATTCTCGTCGAGCAG
	CE-MIOX-R	<u>CGGGAGCGGTACCC</u> CATCGGAGCTTGGCC

注:CE. pSPYCE。下划线碱基为不同载体同源臂序列。

Note: CE. pSPYCE. Underlined bases are homologous arms sequences of different vectors.

表6 互作蛋白定量引物  
Table 6 Quantitative primers for interacting proteins

用途 Purpose	引物编号 Primer code	引物序列(5'→3') Primer sequence (5'→3')
实时荧光定量PCR qRT-PCR	qPCR-JOINTLESS-F	TCACACAAAGGGCGAACGAATC
	qPCR-JOINTLESS-R	TCTGTTTCAGTTGCTGGTTCTCTTC
	qPCR-AGL14-F	GGCGAAGATGACGAAGAAGATAGAG
	qPCR-AGL14-R	AACAGAGCACGATCCGAGACC
	qPCR-GL2-F	GGAAGCAGAGCAGCGTTGTG
	qPCR-GL2-R	CGAAGCGGACGAGAATGAAGTG
	qPCR-NBS-F	GTGGACAACGAGAAGCGAATGAG
	qPCR-NBS-R	GTGATAGTGAGGACGCAGCAATC
	qPCR-UBC7-F	CATCATGCTCTGGAACGCTGTC
	qPCR-UBC7-R	GGTGGTTATTGGGTAATCTCTGTG
	qPCR-NOVEIN-F	CCAAGACTCCATTAAGGGTGCTAC
	qPCR-NOVEIN-R	TTAACAGGCAAGGCAGGCAATG
	qPCR-MIOX-F	GCAGAACGCCATTGTAAGGACTAC
	qPCR-MIOX-R	TGTCACCAACAAACAGCCCCATTG

*DdSOC1*和*DlSOC1*关系最近,形成一个分支,与中华猕猴桃、毛花猕猴桃、茶SOC1蛋白序列一致性较高;与银白杨、欧洲葡萄、苹果、桃、杧果等SOC1蛋白的亲缘关系较远;与水稻、小麦SOC1蛋白亲缘关系最远。

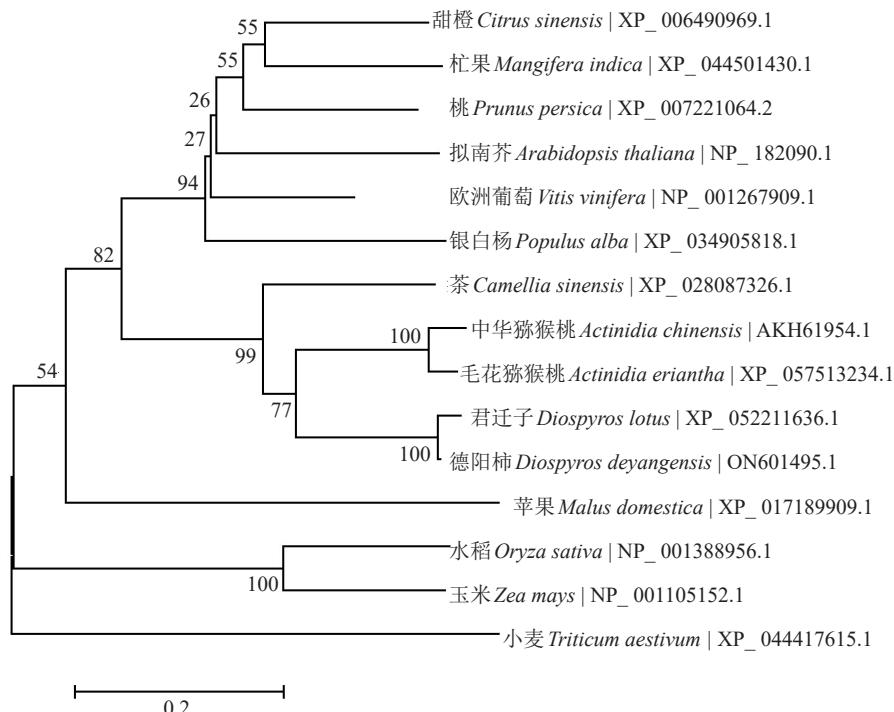
## 2.2 *DdSOC1*基因的表达特征

1年生开花德阳柿不同器官(茎、叶、芽)在不同时期*SOC1*的定量结果(图2)显示,茎中*SOC1*表达量在蕾期最低,而在花期达到最高;叶中*SOC1*表达

量随着开花进程逐渐升高;芽中*SOC1*的表达量在幼苗期最高,而在花期最低。

## 2.3 *DdSOC1*自毒自激活验证及酵母文库筛选

分别在SD-/Trp和SD-/Trp/Ade/His + X- $\alpha$ -gal培养基上对*DdSOC1*毒性及自激活进行检测,结果如图3所示,在SD-/Trp培养基上,BD-SOC1长出菌落,说明BD-SOC1对酵母生长无影响;在SD-/Trp-/Ade-/His + X- $\alpha$ -gal培养基上,只有阳性对照(Po)长出菌斑,阴性对照(Ne)、空白对照(BD-emp-

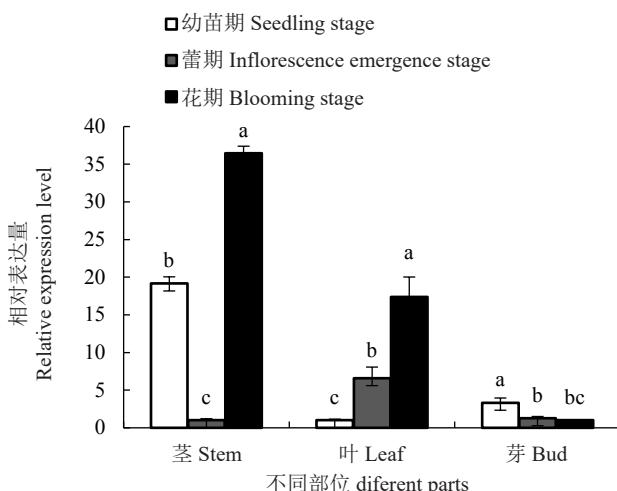


标红字体为 *DdSOC1* 的基因登录号, 标尺表示物种序列间差异的单位长度, 进化树分支处的数字表示该分支的置信度。

The red font is the gene ID of *DdSOC1*. The scale represents the unit length of the difference between species sequences, and the number of the phylogenetic tree represents the confidence of the branch.

图 1 德阳柿 *SOC1* 与其他物种 *SOC1* 序列的系统发育树分析

Fig. 1 Phylogenetic tree of *D. deyangensis* and other species *SOC1* sequences



统计图均以平均数±标准差表示,  $n=3$ ; 不同字母表示差异显著 ( $p<0.05$ )。

The statistical graphs are expressed as mean ± standard deviation,  $n=3$ ; different small letters indicate significant differences at  $p<0.05$ .

图 2 在幼苗期、蕾期、花期时德阳柿茎叶芽中 *SOC1* 表达量

Fig. 2 The expression of *SOC1* in stem and, leaf and buds of *D. deyangensis* at the seedling stage, inflorescence emergence and blooming stage

ty)、BD-SOC1 均未长出菌斑, 说明 *DdSOC1* 没有自激活现象。

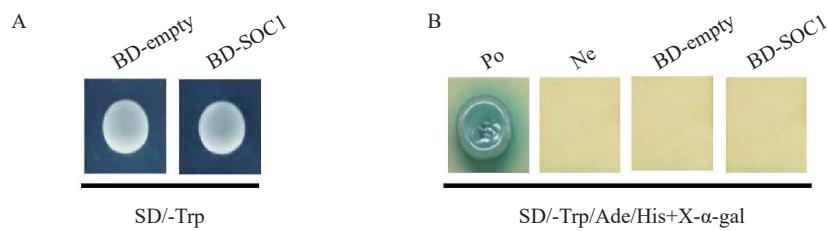
酵母筛选结果显示, BD-SOC1 质粒与酵母文库质粒共转入的酵母菌在 QDO 板上长出白色单菌落, 其在 QDO/X/A 板上均变蓝。对 QDO/X/A 上变蓝单菌落进行菌落 PCR 检测, 选择大于 500 bp 的条带测序; 利用 NCBI BLAST 以及德阳柿基因组注释对比后从中筛选出 7 条候选互作蛋白 (AGL14、JOINTLESS、NOVEIN、GL2、UBC7、NBS、MIOX)。

#### 2.4 酵母双杂交(Y2H)

酵母试验结果显示, 9 组酵母组合在 DDO 培养基上均长出白色菌落, 表明 9 组质粒均成功转入酵母菌株; 在 QDO 及 QDO/X/A 培养基上, 阴性和空白对照均无菌斑, 阳性对照以及 7 个酵母组合均能正常生长, 且可转变为蓝色(图 4)。因此, 德阳柿 *SOC1* 蛋白与 AGL14、JOINTLESS、NOVEIN、GL2、UBC7、NBS、MIOX 均可发生互作。

#### 2.5 双分子荧光互补(BiFC)

为验证 *DdSOC1* 与 7 个候选互作蛋白在植物体

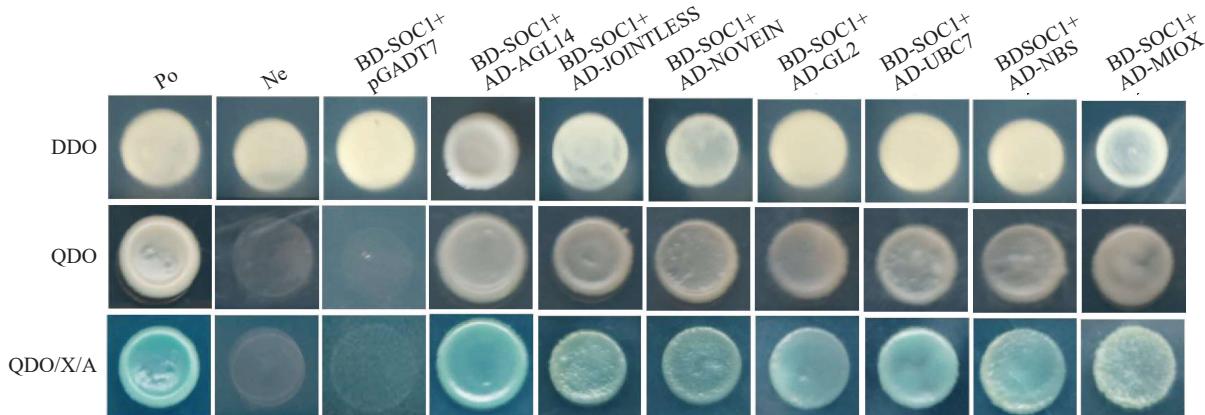


A. BD-SOC1 自毒检测;B. BD-SOC1 自激活检测;Po. pGBKT7-53+pGADT7-T;Ne. pGBKT7-Lam+pGADT7-T;BD-empty. pGBKT7 空载体;SD/-Trp. 一缺培养基;SD/-Trp/-Ade/-His+X- $\alpha$ -gal. 加入 X- $\alpha$ -gal 的三缺培养基。

A. BD-SOC1 autotoxicity detection; B. BD-SOC1 self-activation detection; Po. positive control, pGBKT7-53 + pGADT7-T; Ne. negative control, pGBKT7-Lam + pGADT7-T; BD-empty. blank control, pGBKT7 empty vector; SD/-Trp. one deficient medium; SD/-Trp/-Ade/-His + X- $\alpha$ -gal. Three-deficient medium supplemented with X- $\alpha$ -gal.

图 3 *DdSOC1* 自毒自激活检测

Fig. 3 Test of toxicity and self-activation of *DdSOC1*



Po. 阳性对照;Ne. 阴性对照;BD. pGBKT7;AD. pGADT7;DDO. 二缺培养基;QDO. 四缺培养基;QDO/X/A. 加入 X- $\alpha$ -gal 的四缺培养基。  
Po. positive control; Ne. negative control; BD. pGBKT7; AD. pGADT7; DDO. two-deficient medium; QDO. four-deficient medium; QDO/X/A. Four-deficient medium supplemented with X- $\alpha$ -gal.

图 4 *DdSOC1* 与互作蛋白的酵母双杂交试验

Fig. 4 Interaction between *DdSOC1* and related proteins in yeast two-hybrid assays

内的互作关系,将*DdSOC1*和候选互作蛋白分别构建BiFC载体pSPYNE(NE)和pSPYCE(CE),并在烟草细胞中共注射后观察YFP荧光信号。结果(图5)显示,7个组合中,JOINTLESS-cYFP+SOC1-nYFP在烟草细胞的细胞核、膜中发出较强烈的黄色荧光;AGL14-cYFP+Dd-SOC1-nYFP组合在细胞核中发出黄色荧光;其他组合在细胞膜上显示黄色荧光。以上情况表明*DdSOC1*与7个候选互作蛋白在植物体内均存在互作关系。

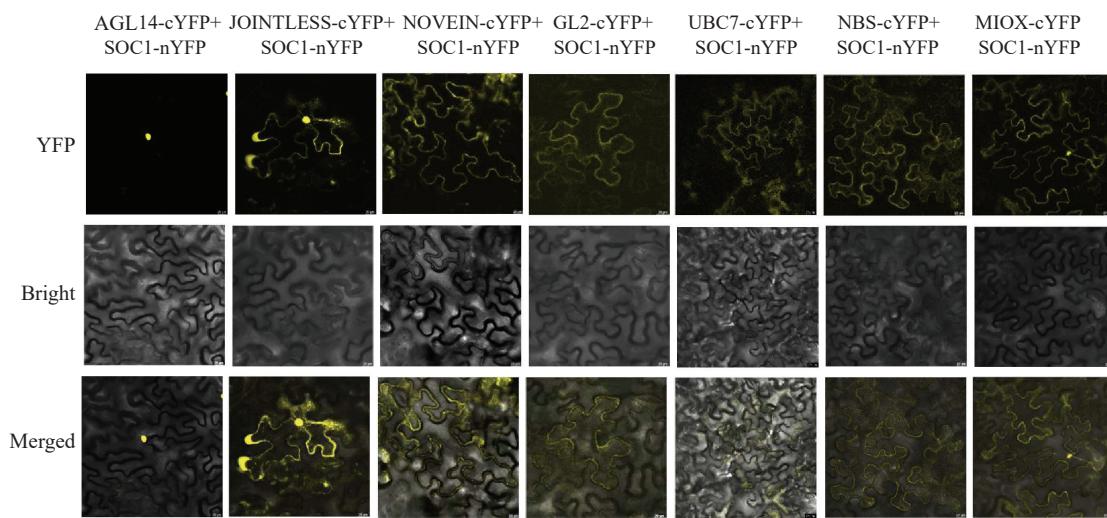
## 2.6 *DdSOC1* 及互作蛋白基因在德阳柿中的表达情况

探究了蕾期1年生、2年生不同性状(已开花、未开花)德阳柿实生苗幼叶(顶芽附近叶片)、成叶(远离顶芽的成年叶)中*DdSOC1*及互作蛋白基因的表

达情况。试验结果(图6)显示,与未开花实生苗相比,1年生已开花德阳柿实生苗的幼叶中*SOC1*、*AGL14*、*NOVEIN*、*GL2*、*UBC7*、*NBS*的表达量较成叶中高,而*MIOX*在幼叶的表达量则低于成叶;2年生已开花德阳柿实生苗中,幼叶中*SOC1*、*NOVEIN*表达量较成叶低,而其他基因(*GL2*、*UBC7*、*NBS*、*AGL14*、*JOINTLESS*)的表达量在幼叶中高于成叶;2年生未开花实生苗中,幼叶中*SOC1*表达量略低于成叶,其他基因(*GL2*、*AGL14*、*NOVEIN*、*JOINTLESS*、*UBC7*、*NBS*、*MIOX*)在幼叶中的表达量均高于成叶。

## 3 讨 论

本研究中笔者克隆出了*DdSOC1*基因,预测了



YFP. 荧光信号; Bright. 明场; Merged. 明场和荧光信号的叠加。标尺为 20 μm。

YFP. fluorescence signal; Bright. Brightfield; Merged. overlap of bright field and fluorescence signal. Scale bar = 20 μm.

图 5 DdSOC1 与互作蛋白的双分子荧光互补试验

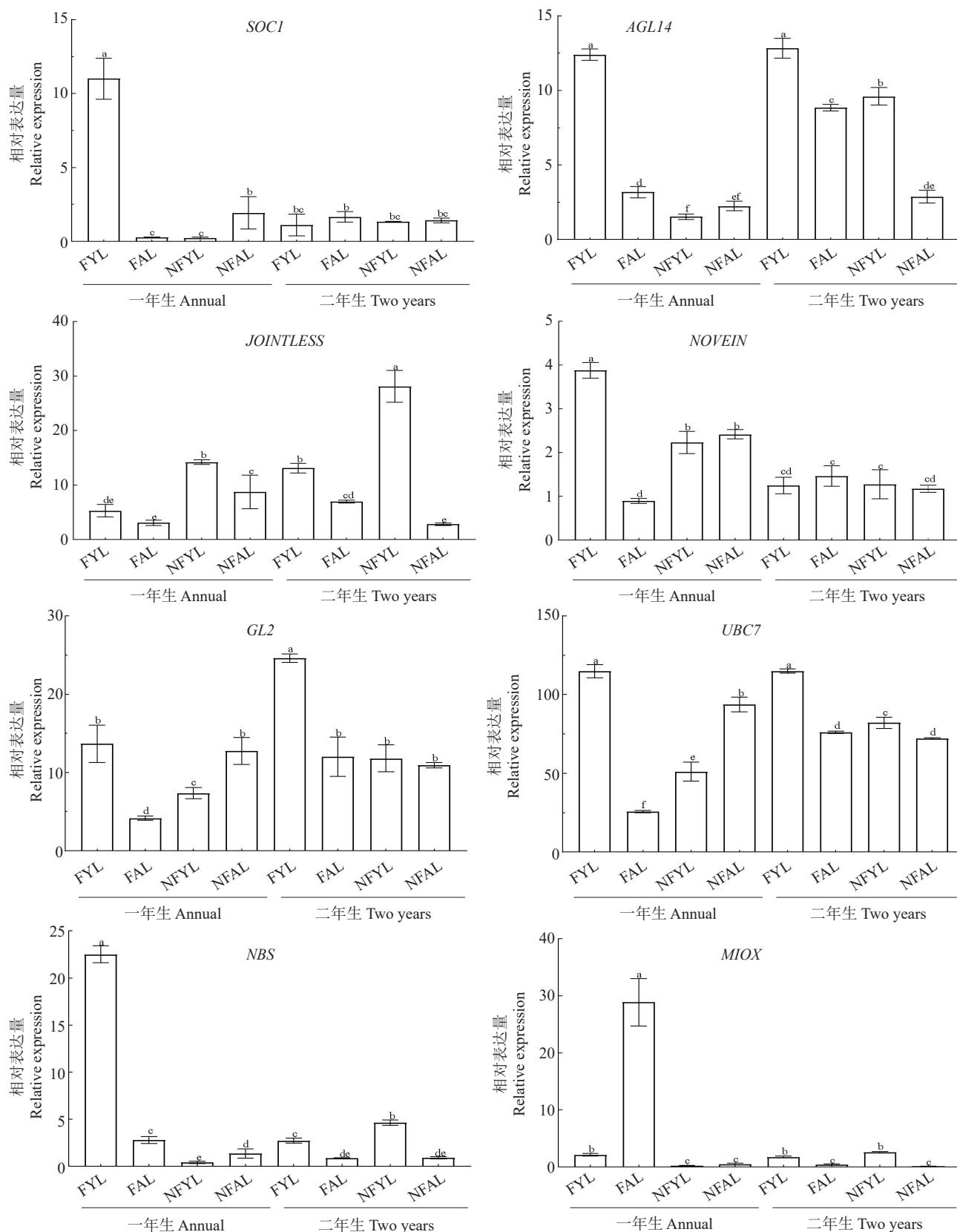
Fig. 5 Interaction between DdSOC1 and related proteins by bimolecular fluorescence complementation assays

DdSOC1 蛋白的等电点及分子质量等理化性质。进化树分析表明,DdSOC1 蛋白与拟南芥 AtSOC1、水稻 OsSOC1 亲缘关系较远,与欧洲葡萄 VvSOC1、茶 CsSOC1、中华猕猴桃 AcSOC1 等亲缘关系较近,与同属君迁子 DISOC1 相似性最高,这表明 SOC1 在木本植物上进化较为保守。DdSOC1 的表达特征结果显示,在整个成花过程中,叶、芽中 DdSOC1 表达量分别是逐渐升高和逐渐降低,茎中 DdSOC1 表达量先降低后升高;幼苗期 DdSOC1 在芽中表达量最高,蕾期在叶中表达量最高,花期在茎中表达量最高。以上结果表明,DdSOC1 整合了来自叶片的开花信号,以实现营养生长向生殖生长过渡的阶段,而不是直接调控花器官的发育,这与欧洲葡萄 (*V. vinifera*)、竹子 (*Bambusa oldhamii*)、白梨 (*Pyrus bretschneideri*)、荔枝 (*Litchi chinensis*) 的研究结果较为相似<sup>[20-23]</sup>。

在前人已探明的 *SOC1* 调控植物开花时间的网络中,*CO*、*FT*、*FLC*、*SVP*、*DELLA* 蛋白、*AGL24* 蛋白及 *LFY* 是重要的调控因子。其中,*SOC1* 与 *AGL24* 在植物茎顶端分生组织中相互作用形成复合物,然后结合在 *LFY* 启动子上激活其表达从而完成开花诱导<sup>[24-27]</sup>。明晰 DdSOC1 的成花调控网络,对探究 DdSOC1 调控德阳柿短童期分子机制具有重要意义。本研究基于富平尖柿 cDNA 核次级文库对 DdSOC1 进行互作蛋白的筛选,共筛选得到 7 个互

作蛋白。Y2H 和 BiFC 试验结果均验证了 DdSOC1 与 7 个互作蛋白之间存在互作关系。此外, GL2-cYFP + SOC1-nYFP、NOVEIN-cYFP + SOC1-nYFP、JOINTLESS-cYFP + SOC1-nYFP 三个组合荧光强度较高,表明 DdSOC1 与这 3 个互作蛋白 (GL2、NOVEIN、JOINTLESS) 互作关系较紧密。后续可以通过 Co-IP 或 Pull-down 蛋白试验进行进一步验证。

为了进一步探究 DdSOC1 及其互作蛋白在德阳柿短童期中的作用,测定了 DdSOC1 基因在 1 年生和 2 年生德阳柿实生苗叶片中的表达量。德阳柿短童期现象在德阳柿种内也存在差异,即存在开花和未花两种性状,因此本研究中选取蕾期的叶片作为试验材料。在 1 年生德阳柿中,已开花实生苗幼叶 *SOC1* 表达量比成叶高,而在未开花实生苗中幼叶 *SOC1* 表达量比成叶低,这表明 *SOC1* 对德阳柿开花有着积极影响。同样地,AGL14、JOINTLESS、NOVEIN、GL2、UBC7、NBS 也表现出与 *SOC1* 相似的表达规律,即在 1 年生已开花的德阳柿的幼叶中高表达,这说明以上 6 个互作蛋白可能对德阳柿短童期具有正调控作用;而 MIOX 在 1 年生开花德阳柿实生苗幼叶中低表达,这说明其对德阳柿开花可能有阻遏作用。2 年生实生苗, *SOC1* 表达量在不同性状的实生苗中差异不大,而 AGL14、JOINTLESS、GL2、UBC7 在开花实生苗中的表达量高于未开花实生苗。此外,前人研究发现,AGL14 通过促进 *LFY* 和



FYL. 开花幼叶; FAL. 开花成叶; NFYL. 未花幼叶; NFAL. 未花成叶。统计图均以平均数±标准差表示,  $n=3$ 。不同小写字母表示差异显著( $p<0.05$ )。FYL. Flowering young leaf; FAL. Flowering adult leaf; NFYL. No flowering young leaf; NFAL. No flowering adult leaf. The statistical graphs are expressed as mean ± standard deviation,  $n=3$ . Different small letters indicate significant differences at  $p<0.05$ .

图 6 *DdSOC1* 及互作蛋白基因在德阳柿中的表达量测定

Fig. 6 Determination of the expression of *DdSOC1* and its interacting protein genes in *D. deyangensis*

*API* 的表达使拟南芥出现早花表型<sup>[28]</sup>, *AGL14* 也参与拟南芥花衰老方面的调节<sup>[29]</sup>; *JOINTLESS* 为典型的 *MADS-box* 基因, 与花序分生组织发育有着密切关系, 如在番茄中正调控番茄花序的分支和数量<sup>[30-31]</sup>; *GL2* 作为 *GL2-zip* 家族转录因子通过与 *ZIM* 结构域蛋白 *CsJAZ1* 相互作用, 进而调控延迟黄瓜雄花的开花时间<sup>[32]</sup>; *MIOX* 参与了晚熟橙花和叶片的发育过程<sup>[33]</sup>; 转录组学分析表明, *NBS* 在早开花紫苜蓿中高表达<sup>[34]</sup>, 而目前并未有关于 *NOVEIN*、*UBC7* 参与植物成花调控的报道。综上, 本研究中筛选得到 7 个互作蛋白, *AGL14*、*JOINTLESS*、*GL2*、*NBS* 可能正调控德阳柿短童期性状, *MIOX* 可能有延迟开花的作用, 而 *NOVEIN*、*UBC7* 可能不参与德阳柿的成花调控。

## 4 结 论

本研究从柿中克隆分离出 *DdSOC1* 基因, 其序列在木本植物中进化较为保守; *DdSOC1* 可能整合了来自叶片的开花信号, 以此实现营养生长向生殖生长的过渡; 筛选得到了 *DdSOC1* 的 7 个互作蛋白; *AGL14*、*JOINTLESS*、*GL2*、*NBS* 可能正调控促进德阳柿开花, *MIOX* 可能有延迟开花的作用, 而 *NOVEIN*、*UBC7* 可能不参与德阳柿成花调控。

## 参考文献 References:

- [1] ZHANG Y F, YANG Y, GUO J, HU C Q, ZHU R S. Taxonomic status of Deyangshi based on chromosome number and SRAP markers[J]. *Scientia Horticulturae*, 2016, 207: 57-64.
- [2] 胡杰. 部分柿属种形态学研究与染色体倍性鉴定[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2022.
- HU Jie. Morphological identification and chromosomal ploidy identification of some persimmon species[D]. Yangling: Northwest A & F University, 2022.
- [3] 楚乐乐, 刘海强, 盛星星, 郑玮璇, 龚赞, 胡春根, 张金智. 果树成花转变途径与调控研究进展[J]. 植物科学学报, 2022, 40(2): 281-290.
- CHU Lele, LIU Haiqiang, SHENG Xingxing, ZHENG Weixuan, GONG Zan, HU Chungen, ZHANG Jinzhi. Research progress on the pathways and regulation of flowering transformation in fruit trees[J]. *Plant Science Journal*, 2022, 40(2): 281-290.
- [4] MA J J, CHEN X, SONG Y T, ZHANG G F, ZHOU X Q, QUE S P, MAO F, PERVAIZ T, LIN J X, LI Y, LI W, WU H X, NIU S H. MADS-box transcription factors MADS11 and DAL1 interact to mediate the vegetative-to-reproductive transition in pine[J]. *Plant Physiology*, 2021, 187(1): 247-262.
- [5] 张平贤, 张青林, 徐莉清, 郭大勇, 罗正荣. 部分柿属植物的早花现象观察[J]. 落叶果树, 2017, 49(3): 24-26.
- ZHANG Pingxian, ZHANG Qinglin, XU Liqing, GUO Dayong, LUO Zhengrong. Observation on early flowering of some persimmon plants[J]. *Deciduous Fruits*, 2017, 49(3): 24-26.
- [6] PARCY F. Flowering: A time for integration[J]. *The International Journal of Developmental Biology*, 2005, 49(5/6): 585-593.
- [7] SIMPSON G G, DEAN C. *Arabidopsis*, the Rosetta stone of flowering time?[J]. *Science*, 2002, 296(5566): 285-289.
- [8] 孙晓茜, 戴洪义, 张玉刚. 柱型苹果 MADS-box 家族的 2 个同源基因克隆与生物信息学分析[J]. 华北农学报, 2012, 27(2): 50-54.
- SUN Xiaoqian, DAI Hongyi, ZHANG Yugang. Cloning and bioinformatic analysis of 2 homologous genes of MADS-box in columnar apple[J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2012, 27(2): 50-54.
- [9] 苏文龙, 刘程, 苏哲, 岳彩云, 王晓霞, 樊金会. 毛白杨形成层中 4 种 MADS-box 基因的克隆和序列分析[J]. 分子植物育种, 2015, 13(3): 653-657.
- SU Wenlong, LIU Cheng, SU Zhe, YUE Caiyun, WANG Xiaoxia, FAN Jinhui. Cloning and sequence analysis of four MADS-box genes from cambium of *Populus tomentosa*[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2015, 13(3): 653-657.
- [10] 黄晓婧, 张珺, 夏惠, 邓群仙, 王进, 吕秀兰, 梁东. 葡萄 MADS-box 转录因子家族全基因组鉴定及表达分析[J]. 园艺学报, 2019, 46(10): 1882-1896.
- HUANG Xiaojing, ZHANG Jun, XIA Hui, DENG Qunxian, WANG Jin, LÜ Xiulan, LIANG Dong. Genome-wide identification and expression analysis of the MADS-box gene family in *Vitis vinifera*[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2019, 46(10): 1882-1896.
- [11] 贺新兴, 杨杰, 高钱辉, 佟晓楠, 张晓媛, 李兴涛. 脐橙 *SOC1* 基因的克隆及其在脐橙花发育过程中的表达分析[J]. 分子植物育种, 2022, 20(15): 4948-4957.
- HE Xinxing, YANG Jie, GAO Qianhui, TONG Xiaonan, ZHANG Xiaoyuan, LI Xingtao. Cloning and expression analysis of *SOC1* gene during the development of navel orange flower[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2022, 20(15): 4948-4957.
- [12] MAPLE R, ZHU P, HEPWORTH J, WANG J W, DEAN C. Flowering time: From physiology, through genetics to mechanism[J]. *Plant Physiology*, 2024, 195(1): 190-212.
- [13] YU Y C, QIAO L F, CHEN J C, RONG Y H, ZHAO Y H, CUI X K, XU J P, HOU X M, DONG C H. *Arabidopsis REM16* acts as a B3 domain transcription factor to promote flowering time via directly binding to the promoters of *SOC1* and *FT*[J]. *The Plant Journal*, 2020, 103(4): 1386-1398.
- [14] DENG Q L, WANG Y D, FENG J J, WEI D Y, WANG Z M, TANG Q L. *Brassica juncea* BjuWRKY71-1 accelerates flowering by regulating the expression of *SOC1*[J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2024, 40(4): 1017-1028.

- [15] JIN Z P, YU X, PEI Y X. Ectopic expression of *AtSOC1* gene driven by the inducible promoter rd29A, causes early flowering in *Chrysanthemum*[J]. *Scientia Horticulturae*, 2020, 261: 109051.
- [16] 齐联联,宿强,张珂. *SOC1* 调控植物开花时间的分子机制[J]. 草业科学,2022,39(1):149-160.
- QI Lianlian, SU Qiang, ZHANG Ke. Molecular mechanism of flowering time regulate by *SOC1*[J]. Pratacultural Science, 2022,39(1):149-160.
- [17] LUO X M, LIU B Y, XIE L, WANG K, XU D A, TIAN X L, XIE L N, LI L L, YE X G, HE Z H, XIA X C, YAN L L, CAO S H. The TaSOC1-TaVRN1 module integrates photoperiod and vernalization signals to regulate wheat flowering[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2024,22(3):635-649.
- [18] LI X, SHEN C W, CHEN R X, SUN B, LI D H, GUO X L, WU C H, KHAN N, CHEN B H, YUAN J P. Function of *BrSOC1b* gene in flowering regulation of Chinese cabbage and its protein interaction[J]. *Planta*, 2023,258(1):21.
- [19] DONG X, ZHANG L P, TANG Y H, YU D M, CHENG F, DONG Y X, JIANG X D, QIAN F M, GUO Z H, HU J Y. *Arabidopsis* AGAMOUS-LIKE16 and SUPPRESSOR OF CONSTANS1 regulate the genome-wide expression and flowering time[J]. *Plant Physiology*, 2023, 192(1):154-169.
- [20] 刘丹,孙欣,慕茜,吴伟民,章镇,房经贵. 葡萄花芽发育相关基因在不同节位芽中的表达分析[J]. 中国农业科学,2015,48(10):2007-2016.
- LIU Dan, SUN Xin, MU Qian, WU Weimin, ZHANG Zhen, FANG Jinggui. Analysis of expression levels of floral genes in the buds on different branch nodes of grapevine[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2015,48(10):2007-2016.
- [21] HOU D, LI L, MA T F, PEI J L, ZHAO Z Y, LU M Z, WU A M, LIN X C. The *SOC1*-like gene BoMADS50 is associated with the flowering of *Bambusa oldhamii*[J]. *Horticulture Research*, 2021,8(1):133.
- [22] LIU Z, WU X P, CHENG M Y, XIE Z H, XIONG C L, ZHANG S L, WU J Y, WANG P. Identification and functional characterization of *SOC1*-like genes in *Pyrus bretschneideri*[J]. *Genomics*, 2020,112(2):1622-1632.
- [23] SHI Y Y, ZHANG S W, GUI Q L, QING H W, LI M, YI C X, GUO H Q, CHEN H B, XU J Z, DING F. The *SOC1* gene plays an important role in regulating litchi flowering time[J]. *Genomics*, 2024,116(2):110804.
- [24] LEE J, LEE I. Regulation and function of *SOC1*, a flowering pathway integrator[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2010,61(9):2247-2254.
- [25] LIU C, CHEN H Y, ER H L, SOO H M, KUMAR P P, HAN J H, LIOU Y C, YU H. Direct interaction of AGL24 and SOC1 integrates flowering signals in *Arabidopsis*[J]. *Development*, 2008,135(8):1481-1491.
- [26] KHAN M R, KHAN I U, ALI G M. MPF2-like MADS-box genes affecting expression of *SOC1* and *MAF1* are recruited to control flowering time[J]. *Molecular Biotechnology*, 2013, 54(1):25-36.
- [27] 蒋炜,周雯文,李朝闯,闫凯,王宇,王志敏,宋明,汤青林. 青花菜开花促进因子AGL19与整合子AGL24和SOC1的互作研究[J]. 园艺学报,2017,44(10):1905-1913.
- JIANG Wei, ZHOU Wenwen, LI Zhaochuang, YAN Kai, WANG Yu, WANG Zhimin, SONG Ming, TANG Qinglin. Interactions of flowering promoting factor AGL19 with integrator factors AGL24 and SOC1 in *Brassica oleracea* var. *italica*[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2017,44(10):1905-1913.
- [28] PÉREZ- RUIZ R V, GARCÍA- PONCE B, MARSCH-MARTÍNEZ N, UGARTECHEA-CHIRINO Y, VILLAJOANA-BONEQUI M, DE FOLTER S, AZPEITIA E, DÁVILA-VELDERRAIN J, CRUZ-SÁNCHEZ D, GARAY-ARROYO A, DE LA PAZ SÁNCHEZ M, ESTÉVEZ-PALMAS J M, ÁLVAREZ-BUYLLA E R. XAANTAL2 (*AGL14*) is an important component of the complex gene regulatory network that underlies *Arabidopsis* shoot apical meristem transitions[J]. *Molecular Plant*, 2015,8(5):796-813.
- [29] CHEN W H, LIN P T, HSU W H, HSU H F, LI Y C, TSAO C W, HSU M C, MAO W T, YANG C H. Regulatory network for forever young flower-like genes in regulating *Arabidopsis* flower senescence and abscission[J]. *Communications Biology*, 2022,5(1):662.
- [30] HUERGA-FERNÁNDEZ S, DETRY N, ORMAN-LIGEZA B, BOUCHÉ F, HANIKENNE M, PÉRILLEUX C. JOINTLESS maintains inflorescence meristem identity in tomato[J]. *Plant & Cell Physiology*, 2024,65(7):1197-1211.
- [31] 王翔,尹钧. 番茄花柄离区发育基因 *JOINTLESS* 及互作蛋白基因的功能研究[J]. 园艺学报,2011,38(4):701-708.
- WANG Xiang, YIN Jun. Functional studies of *JOINTLESS* and its interacting MADS-domain proteins in tomato[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2011,38(4):701-708.
- [32] CAI Y L, BARTHOLOMEW E S, DONG M M, ZHAI X L, YIN S, ZHANG Y Q, FENG Z X, WU L C, LIU W, SHAN N, ZHANG X, REN H Z, LIU X W. The HD-ZIP IV transcription factor GL2-LIKE regulates male flowering time and fertility in cucumber[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2020, 71(18): 5425-5437.
- [33] ALÓS E, REY F, GIL J V, RODRIGO M J, ZACARIAS L. Ascorbic acid content and transcriptional profiling of genes involved in its metabolism during development of petals, leaves, and fruits of orange (*Citrus sinensis* cv. Valencia Late) [J]. *Plants*, 2021,10(12):2590.
- [34] MA D M, LIU B, GE L Q, WENG Y Y, CAO X H, LIU F, MAO P S, MA X Q. Identification and characterization of regulatory pathways involved in early flowering in the new leaves of alfalfa (*Medicago sativa* L.) by transcriptome analysis[J]. *BMC Plant Biology*, 2021,21(1):8.