

## *DdSOC1* 基因调控德阳柿成花分子机制研究

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】柿属新种德阳柿 (*Diospyros deyangensis*) 具有短童期特征, 实生苗可当年开花。探明 *DdSOC1* 基因序列特征、表达模式及其参与德阳柿成花调控的功能分析。【方法】本研究以德阳柿为材料, 通过生物信息学、表达分析、互作验证等方法, 解析 *DdSOC1* 基因的功能。【结果】研究表明, 德阳柿和君迁子等物种遗传距离较近; 成花诱导过程中, *DdSOC1* 在叶、茎中均呈现丰度表达; 基于柿 cDNA 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表明 *DdSOC1* 均可和上述七个蛋白发生互作; qRT-PCR 结果显示, 蕾期的德阳柿实生单株中 *SOC1*, *GL2*, *NOV*, *NBS*, *UBC7*, *AGL14* 表达量均高于未开花实生苗, 而 *JOINTLESS*, *MIOX* 表达量低于未开花实生苗。【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, 为德阳柿短童期分子调控网络研究提供理论依据。

**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)02-0001-08

## The molecular mechanism of *DdSOC1* gene regulating flowering of *Diospyros deyangensis*

WAN Jianqi<sup>1</sup>, DING Yu<sup>1</sup>, REN Han<sup>1</sup>, LI Wenxia<sup>1</sup>, YNAG Yong<sup>1</sup>, HUANG Jimeng<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 functional of the *DdSOC1* gene's role in controlling flower production in *D. deyangensis* was investigated, along with its sequence characterization and expression pattern. 【Methods】Plant materials have been 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 were predicted using ExPasy ProtParam program. The MEGA7.0 software's 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 is used in the BiFC experiment. 【Results】The findings demonstrated that *D. deyangensis* *SOC1* shared a close genetic distance

收稿日期: 2024-09-26 接受日期: 2024-12-04

基金项目: 柿精准栽培关键技术研究 (2022YFD2200403); 广西自然科学基金 (2021GXNSFBA196032)

作者简介: 万建琦, 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

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. deyangnsis* *SOC1* protein. Furthermore, *D. deyangnsis* *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 14.56 kD. Its isoelectric point is 5.62. *SOC1* expression was highest during flowering and lowest during the bud stage in annual flowering *D. deyangnsis* 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 demonstrates that DdSOC1 does 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. deyangnsis*, seven putative interacting proteins (MIOX, AGL14, JOINTLESS, GL2, NOVEIN, NBS, 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, 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, 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. deyangnsis* 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, 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 interacts with seven potential plant interacting proteins. *D.deyangnsis* 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*, *JOINTLESS*) exhibited a contrast pattern. **【Conclusion】** This study isolated and cloned the *DdSOC1* gene, which is 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 confirm that *DdSOC1* interacts with interaction protein (*MIOX*, *AGL14*, *JOINTLESS*, *GL2*, *NOVEIN*, *NBS*, *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*) 是柿科 (Ebenaceae) 柿属 (*Diospyros*) 多年生木本植物, 又称红花野毛柿, 原产于四川省德阳市, 是雌雄异株落叶果树树种。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, 童期即指从种子萌发至具备正常开花能力的时期。木本植物童期普遍较长, 一般为 3~8 年<sup>[3]</sup>。云杉甚至需要 20~25 年才能进入成年期<sup>[4]</sup>。而作为栽培柿 (*Diospyros kaki*) 的近缘种, 德阳柿播种数月即可开花<sup>[5]</sup>, 为柿属植物短童期花发育研究提供了良好材料试材, 短童期调控分子机制研究对于柿早花结实、育种效率提高具有重要的理论意义和实践价值。

通过对模式作物拟南芥的研究, 发现了调控植物开花的重要整合因子 *SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CO 1* (*SOC1*)<sup>[6]</sup>。*SOC1* 隶属于 MADS-box 基因家族, 已被证实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促进植物成花转<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* 调控开花的机制同样被广泛研究<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* 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 被证实可以通过促进 *AtSOC1* 的过表达从而提前了干旱胁迫下菊花的开花时间<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来调节植物开花时间。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>。MADS-box 转录因子 *SOC1* 和 *DAL1* 相互作用介导松树营养到生殖的转变<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 蛋白相互作用参与调

节白菜的开花<sup>[18]</sup>；拟南芥中 AGL16 与 SOC1 形成蛋白质复合物，二者共同作用于相同的开花靶标基因<sup>[19]</sup>。SOC1 在植物开花时间中起到关键的作用，而至今未有德阳柿 *SOC1* 基因相关的报道，其在德阳柿短童期中的作用尚未清楚。

本研究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，探究其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，并对其进行了 Y2H、双分子荧光互补（BiFC）的互作验证；分析德阳柿种内不同年份互作蛋白的表达量，以期探究 *DdSOC1* 基因在德阳柿短童期中的功能，为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*）。实时荧光定量试验材料均取自 1 年生、2 年生蕾期德阳柿实生苗叶片。

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

载体：Y2H 载体 pGBKT7（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 合成模板 cDNA，根据测序得到的基因组数据查询基因，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 片段连接到载体 pMD19-T 载体后转化至 DH5 $\alpha$  中，经过菌落 PCR 以及测序，得到阳性克隆。

使用 ORF Finder 在线分析开放阅读框，使用 ExPASy 中的 ProtParam 工具预测编码蛋白的等电点和分子质量，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 MEGA7.0 软件中邻接法和相关物种 SOC1 序列构建系统进化树。

表 1 *SOC1* 克隆相关引物列表

Table1 List of related primers for cloning *SOC1*

用途	引物编号	引物序列（5'→3'）
Purpose	Primer code	Primer sequence (5'→3')
基因克隆	SOC1-F	ATGCAGCATTGGAAGGAAGAAGC
Gene cloning	SOC1-R	TTATAAAGGCCGGCAGTTCG
实时荧光定量	Actin-F	CATGGAGAAAATCTGGCATCATAC
PCR	Actin-R	GAAGCACTGGGTGCTCTCTG
qRT-PCR	qPCR- SOC1-F	AGCCTAACAGAAGAGAATGCAAAGC
	qPCR- SOC1-R	AGTCCGATGAACAATTCCGTCTCC

载体构建	BD- SOC1-F	<u>ATGGAGGCCGAATTCCCCGGGATGCAGCATTGAAGGAAGAAGC</u>
Vector construction	BD- SOC1-R	<u>CCGCTGCAGGTCGACGGATCCTAAAGGCCGGCGAGTTTCG</u>
	NE-SOC1-F	<u>CCTACTAGTGGATCCATGCAGCATTGAAGGAAGAAGC</u>
	NE- SOC1-R	<u>CGGGAGCGGTACCTAAAGGCCGGCGAGTTTCG</u>

注：NE: pSPYNE；BD: pGBKT7；下划线碱基为不同载体同源臂序列

Note: NE: pSPYNE; BD: pGBKT7; Underlined bases are homologous arms sequences of different vectors

### 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 浓度稀释至 200 ng· $\mu\text{L}^{-1}$  后作为模板，用 SYBR Green Pro Taq HS 预混型 qPCR 试剂盒（含 Rox）（AG11718）进行后续实验。

### 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 质粒为模板，设计 pGBKT7（简称 BD）体引物（表 1）并扩增，用 *Sma* I 和 *Bam* HI 对 BD 进行双酶切，同源重组后测序比对，获得重组载体 pGBKT7-*DdSOC1*（BD-SOC1），依照酵母感受态制备及转化试剂盒（D0310S），获得 BD-SOC1 阳性酵母菌株。

在 SD/-Trp 培养基上 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 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(pGBKT7-53+pGADT7-T)、阴性对照 (pGBKT7-Lam+pGADT7-T)、pGBKT7 空载 (BD-empty)、BD-SOC1，观察酵母生长情况。若 BD-SOC1 的菌液在三缺板上不长斑则说明不存在自激活，可进行后续的筛库实验；若长斑并变蓝，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），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，将 PCR 产物送至上海生工生物工程有限公司测序。

#### 1.4.3 互作蛋白克隆

将筛库得到的测序结果在 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 2）。

表 2 互作蛋白扩增引物列表

Table 2 List of primers for interacting protein CDS amplification

用途	引物编号	引物序列 (5'→3')
Purpose	Primer code	Primer sequence (5'→3')

基因克隆	JOINTLESS-F	ATGAAGGATATACTTGAAAGTACTC
Gene cloning	JOINTLESS-R	GTTATAAGGCAGCCCGAG
	AGL14-F	ATGGTGAGAGGGAAGACCCAG
	AGL14-R	GTTCTCCGGCGGCAGT
	GL2-F	ATGAGCTCTGGAAGCAGAGCA
	GL2-R	TCGCTTCGTTTTTCTTCTTGAC
	NBS-F	ATGTACGGAACAAAATCTCACCAG
	NBS-R	CTTGTGTTTGAGCAGATATTCG
	UBC7-F	ATGTCGACGCCGGCGAGG
	UBC7-R	GTCAGCTGTCCAGCTCTG
	NOVEIN-F	ATGGAGGAAGAGCAACACCCG
	NOVEIN-R	GGGAGCGATCCTCAGAGG
	MIOX-F	ATGACCATTCTCGTCGAGCAG
	MIOX-R	CCATCGGAGCTTGGCC

### 1.5 酵母双杂交 (Y2H)

设计互作蛋白 pGADT7 (AD) 的引物 (表 3) 并扩增, 用 *Sma* I 和 *Bam*HI 对 AD 载体进行双酶切, 同源重组后, 菌落 PCR 及测序, 提质粒。

参照 1.4.2 方法, 将空载 (AD-empty) 质粒及互作蛋白的 AD 质粒转入 BD-SOC1 酵母感受态细胞, 处理后的菌液涂布至 DDO 平板上。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。

表 3 互作蛋白 AD 载体引物列表

Table 3 Primer list of interaction protein AD vector

用途	引物编号	引物序列 (5'→3')
Purpose	Primer code	Primer sequence (5'→3')
载体构建	AD-JOINTLESS-F	<u>CAGTGAATTCCACCCGGG</u> ATGAAGGATATACTTGAAAGTACTC
Vector construction	AD-JOINTLESS-R	CTCGAGCTCGATGGATCCGTTATAAGGCAGCCCGAG
	AD-AGL14-F	<u>CAGTGAATTCCACCCGGG</u> ATGGTGAGAGGGAAGACCCAG
	AD-AGL14-R	CTCGAGCTCGATGGATCCGTTCTCCGGCGGCAGT
	AD-GL2-F	<u>CAGTGAATTCCACCCGGG</u> ATGAGCTCTGGAAGCAGAGCA
	AD-GL2-R	CTCGAGCTCGATGGATCCTCGCTTCGTTTTTCTTCTTGAC
	AD-NBS-F	<u>CAGTGAATTCCACCCGGG</u> ATGTACGGAACAAAATCTCACCAG
	AD-NBS-R	CTCGAGCTCGATGGATCCCTTGTGTTTGAGCAGATATTCG
	AD-UBC7-F	<u>CAGTGAATTCCACCCGGG</u> ATGTCGACGCCGGCGAGG
	AD-UBC7-R	CTCGAGCTCGATGGATCCGTCAGCTGTCCAGCTCTG
	AD-NOVEIN-F	<u>CAGTGAATTCCACCCGGG</u> ATGGAGGAAGAGCAACACCCG
	AD-NOVEIN-R	CTCGAGCTCGATGGATCCGGGAGCGATCCTCAGAGG
	AD-MIOX-F	<u>CAGTGAATTCCACCCGGG</u> ATGACCATTCTCGTCGAGCAG
	AD-MIOX-R	CTCGAGCTCGATGGATCCCATCGGAGCTTGGCC

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

### 1.6 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, 4) 并扩增, 同源重组测序检测后, 提重组质粒备用。

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, 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, 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 CE 载体引物列表  
Table 4 Primer list of interaction protein CE vector

用途	引物编号	引物序列 (5'→3')
Purpose	Primer code	Primer sequence (5'→3')
载体构建	CE-JOINTLESS-F	<u>CGCCACTAGTGGATCC</u> ATGAAGGATATACTTGGAAAGTACTC
Vector construction	CE-JOINTLESS-R	CGGGAGCGGT <u>ACCGTTATAAGGCAGCCCGAG</u>
	CE-AGL14-F	<u>CGCCACTAGTGGATCC</u> ATGGTGAGAGGGAAGACCCAG
	CE-AGL14-R	CGGGAGCGGT <u>ACCGTTCTCCGGCGGCAGT</u>
	CE-GL2-F	<u>CGCCACTAGTGGATCC</u> ATGAGCTCTGGAAGCAGAGCA
	CE-GL2-R	CGGGAGCGGT <u>ACCTCGCTTCGTTTTTCTTCTTGAC</u>
	CE-NBS-F	<u>CGCCACTAGTGGATCC</u> ATGTACGGAACAAAATCTCACCAG
	CE-NBS-R	CGGGAGCGGT <u>ACCCTTGTGTTTGAGCAGATATTCG</u>
	CE-UBC7-F	<u>CGCCACTAGTGGATCC</u> ATGTCGACGCCGGCGAGG
	CE-UBC7-R	CGGGAGCGGT <u>ACCGTTCAGCTGTCCAGCTCTG</u>
	CE-NOVEIN-F	<u>CGCCACTAGTGGATCC</u> ATGGAGGAAGAGCAACACCCG
	CE-NOVEIN-R	CGGGAGCGGT <u>ACCGGGAGCGATCCTCAGAGG</u>
	CE-MIOX-F	<u>CGCCACTAGTGGATCC</u> ATGACCATTCTCGTCGAGCAG
	CE-MIOX-R	CGGGAGCGGT <u>ACCCATCGGAGCTTGGCC</u>

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

### 1.7 互作蛋白表达分析

参照 1.3 方法, 设计互作蛋白的定量引物 (表 5), 取蕾期 1 年生、2 年生德阳柿 (*D. deyangensis*) 实生苗顶芽附近 3~4 片叶 (幼叶) 及枝条基部的成年叶分析互作蛋白表达量。

表 5 互作蛋白定量引物列表

Table 5 List of quantitative primers for interacting proteins

用途	引物编号	引物序列 (5'→3')
----	------	--------------

Purpose	Primer code	Primer sequence (5'→3')
实时荧光定量 PCR	qPCR-JOINTLESS-F	TCACACAAAGGGCGAACGAATC
qRT-PCR	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	GGTGTTTATTTGGGTAATCTTCTGTG
	qPCR-NOVEIN-F	CCAAAGACTCCATTAAGGGTGCTAC
	qPCR-NOVEIN-R	TTAACAGGCAAGGCAGGCAATG
	qPCR-MIOX-F	GCAGAAGCCATTCGTAAGGACTAC
	qPCR-MIOX-R	TGTCACCAACAACAGCCCATTG

## 1.8 数据统计和分析

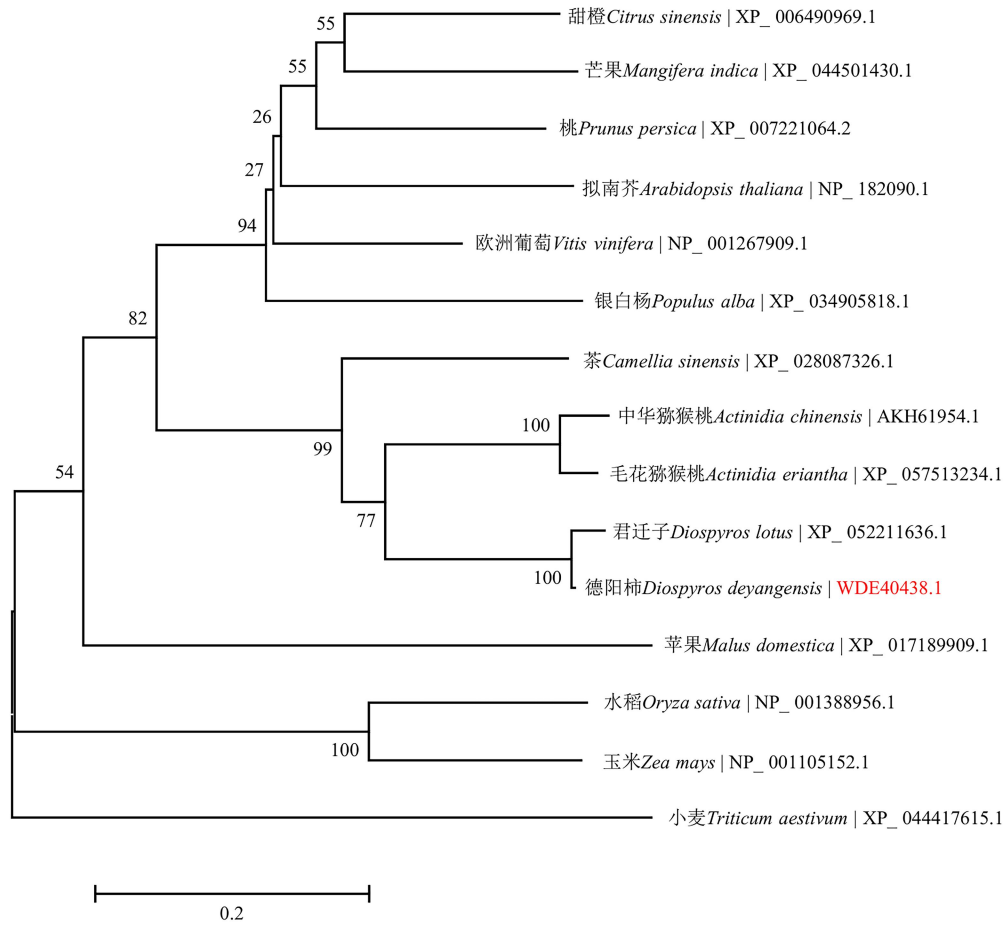
所有处理均包括 3 次重复，数据均表示为平均值±标准误差，统计分析和作图使用 GraphPad Prism 8 软件完成。

## 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 为模板扩增得到的 *DdSOC1* 基因经测序验证，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；分子质量为 14.56 kD；等电点为 5.62。





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 scale represents the unit length of the difference between species sequences, the number of the phylogenetic tree represents the confidence of the branch.

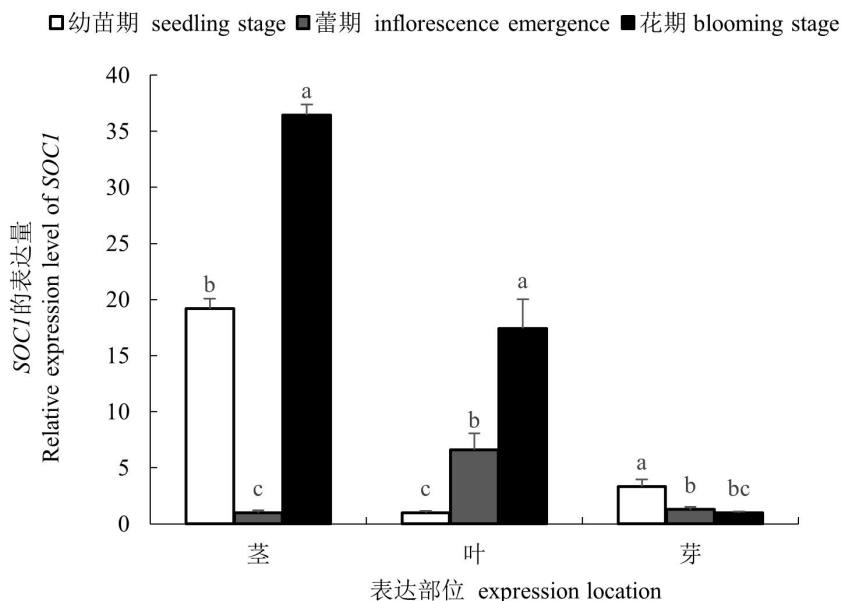
图 1 德阳柿 SOC1 与其他物种 SOC1 序列系统发育树分析

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

利用 MEGA7.0 软件对德阳柿及其他物种的 SOC1 序列进行系统发育树分析，结果显示，DdSOC1 和 DISOC1 关系最近，形成一个小的分支，与中华猕猴桃、毛花猕猴桃、茶 SOC1 蛋白序列一致性较高；银白杨、欧洲葡萄、苹果、桃、芒果等 SOC1 蛋白亲缘关系较远，与水稻、小麦 SOC1 蛋白亲缘关系最远。可以看出，木本植物 SOC1 蛋白同源性较高，显示了 SOC1 蛋白在物种进化上具有趋同性和保守性。

## 2.2 *DdSOC1* 基因的表达特征

取 1 年生开花德阳柿实生苗茎、叶、芽三个部位，测定 *DdSOC1* 表达水平。



统计图均为平均数±标准差表示,  $n=3$ ; a、b、c 不同字母表示差异显著性 ( $p<0.05$ )。

The statistical graphs were expressed as mean  $\pm$  standard deviation,  $n=3$ ; different letters of a, b, and c indicated significant differences ( $p<0.05$ ).

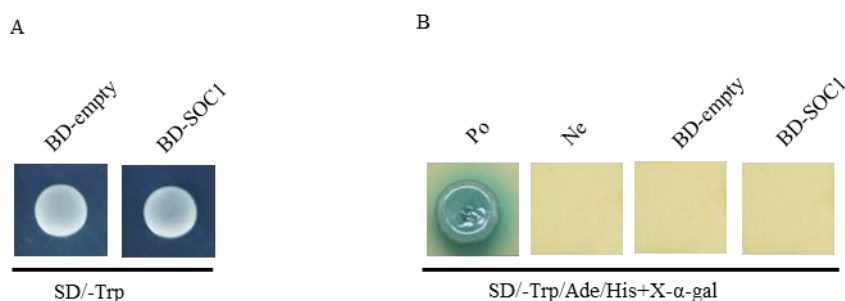
图 2 在幼苗期、蕾期、花期时德阳柿茎叶芽中 *SOC1* 表达量

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

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升高; 芽中 *SOC1* 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

在 SD/-Trp 和 SD/-Trp/Ade/His + X- $\alpha$ -gal 培养基上对 DdSOC1 毒性及自激活进行了检测, 结果如图 3 所示, SD/-Trp 上, BD-SOC1 长出菌落, 说明 BD-SOC1 对酵母菌生长无影响; SD/-Trp/-Ade/-His + X- $\alpha$ -gal 上, 只有阳性对照 (Po) 长出菌斑, 阴性对照 (Ne)、空白对照 (BD-empty)、BD-SOC1 均未长出菌斑, 说明 DdSOC1 没有自激活现象。



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.

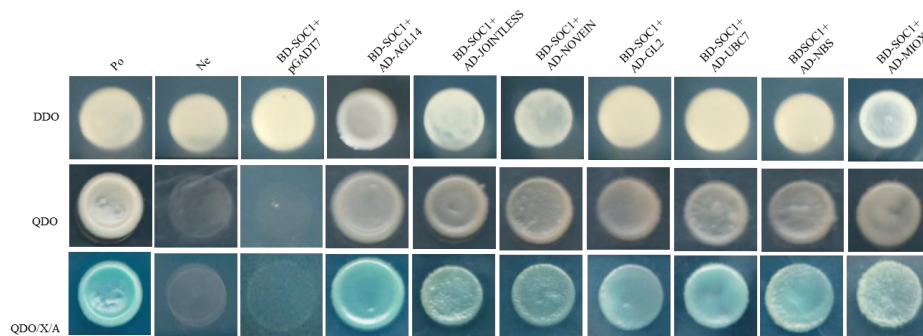
图 3 DdSOC1 自毒自激活检测

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

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七条候选互作蛋白 (AGL14、JOINTLESS、NOVEIN、GL2、UBC7、NBS、MIOX)。

#### 2.4 酵母双杂交 (Y2H)

酵母试验结果显示,9 组酵母组合均长出白色菌落,表明 9 组质粒成功转入酵母菌株;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 5)。因此,德阳柿 SOC1 蛋白与 AGL14、JOINTLESS、NOVEIN、GL2、UBC7、NBS、MIOX 可发生互作。



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

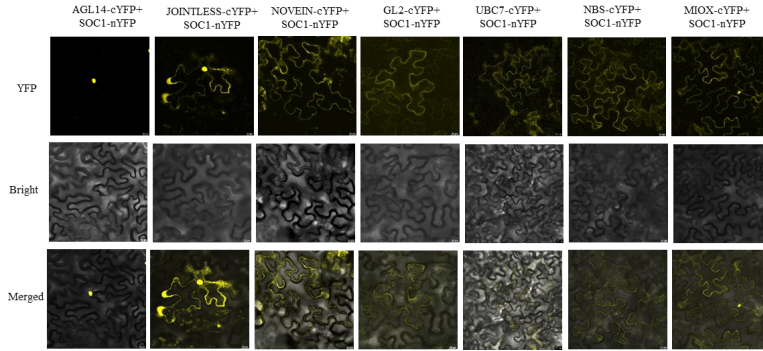
Po. positive control; Ne. negative control; BD. pGBKT7; AD. pGADT7; DDO. two-deficient medium; QDO. four-deficient medium; QDO/X/A. Four-deficient medium supplemented with X- $\alpha$ -gal.

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**

#### 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存在互作关系。



YFP. 荧光信号; Bright. 明场; Merged. 明场和荧光信号的叠加; 标尺为 20  $\mu\text{m}$

YFP. fluorescence signal; Bright. Brightfield; Merged. overlap of bright field and fluorescence signal; Scale bar = 20  $\mu\text{m}$

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**

### 2.6 *DdSOC1* 及互作蛋白基因在德阳柿中的表达

探究了德阳柿蕾期 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* 及互作蛋白基因在德阳柿中的表达情况。试验结果显示，1 年生德阳柿实生苗中，与未开花实生苗相比，幼叶中 *SOC1*、*AGL14*、*JOINTLESS*、*NOVEIN*、*GL2*、*UBC7*、*NBS* 表达量较成叶高，而 *MIOX* 表达量幼叶则低于成叶；2 年生德阳柿实生苗中，幼叶中 *SOC1*、*NOVEIN*、*MIOX* 表达量较成叶低，而其他基因（*GL2*、*UBC7*、*NBS*、*AGL14*、*JOINTLESS*）趋势正好相反。

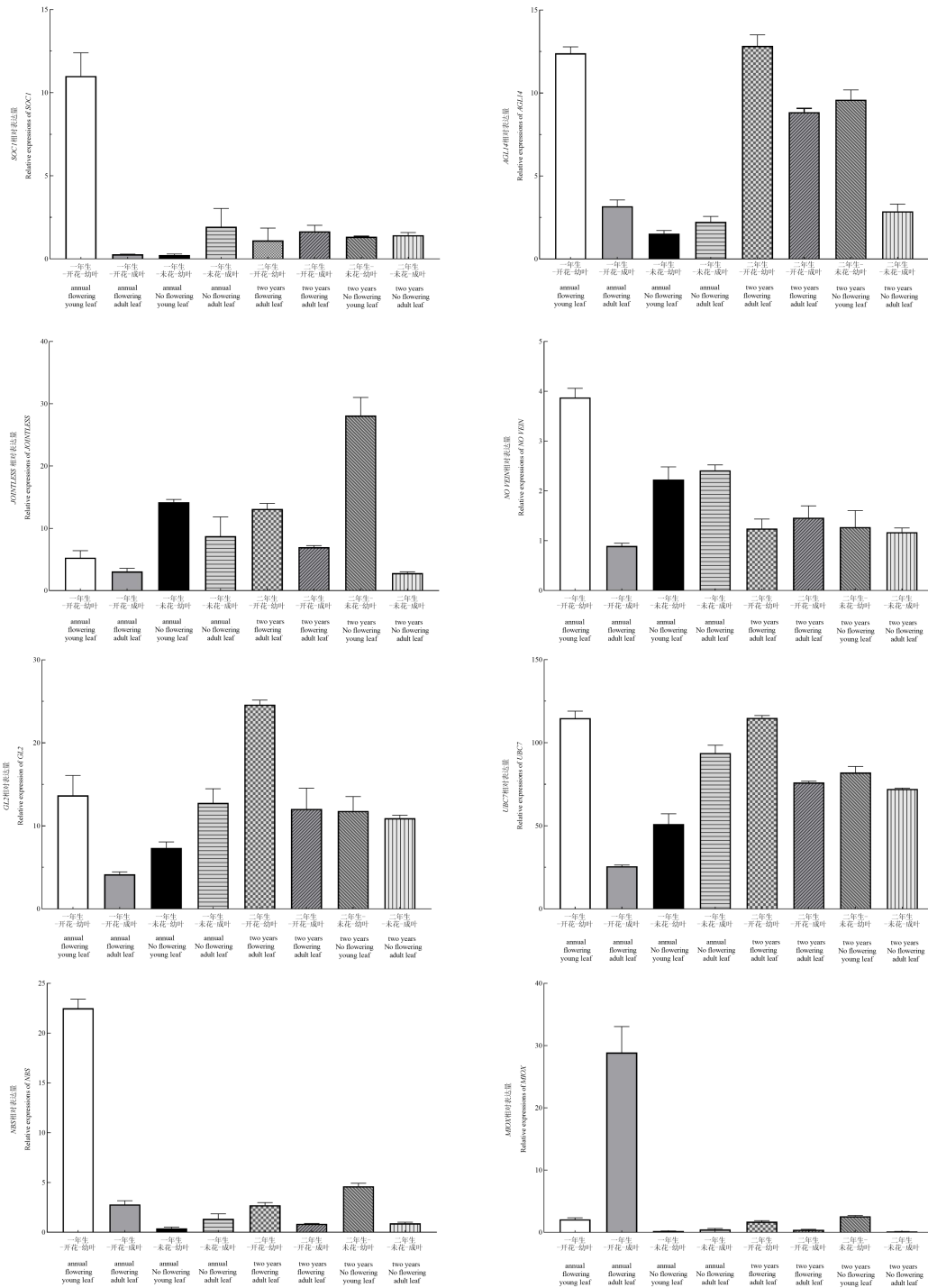


图 6 *DdSOC1* 及互作蛋白基因在德阳柿中的表达量测定

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

### 3 讨论

本研究中克隆出了 *DdSOC1* 基因，预测了 *DdSOC1* 蛋白的等电点及分子量等理化性质。生物信息学分析表明，*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* 等同源性较高,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。在 *DdSOC1* 表达特征结果显示,在整个成花过程中,叶、芽中 *DdSOC1* 表达量分别升高、降低,茎中表达量先降低后升高,幼苗期芽中表达量最高,蕾期叶中表达量最高,花期茎中含量最高;这表明, *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度的阶段,而不是直接调控花器官的发育,而这与欧洲葡萄 (*Vitis 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* 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>。明析 *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。通过 BLAST 进一步筛选得到 7 个互作蛋白。Y2H 和 BiFC 试验结果验证了 *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* 与这三个互作蛋白 (*GL2*、*NOVEIN*、*JOINTLESS*) 互作关系较强。后续可以通过 Co-IP 或 Pull-down 蛋白实验进行进一步验证。

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,测定了其在 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 *SOC1* 表达恰好相反,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* 也表现出和 *SOC1* 相似的规律,即在已开花的德阳柿的顶芽附近叶片中高表达,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; *MIOX* 表达规律和 *SOC1* 相反,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*、*MIOX* 表达量变化规律和 1 年生实生苗一致。此外,前人研究发现, *AGL14* 通过促进 *LFY* 和 *API* 的表达使拟南芥出现早花表型<sup>[28]</sup>,也有研究表明 *AGL14* 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* 相互作用调控黄瓜雄花的开花时间延迟<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* 在早开花紫苜蓿中出现了高表达<sup>[34]</sup>。综上,本研究筛选得到的七个互作蛋白, *AGL14*、*JOINTLESS*、*GL2*、*NBS* 可能正调控德阳柿短童期性状,而 *MIOX* 可能有延迟开花的作用。

#### 4 结论

综上所述,本研究克隆分离出 *DdSOC1* 基因,其在木本植物进化中较为保守;*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过度的阶段;筛选得到了 *DdSOC1* 的七个互作蛋白;*AGL14*、*JOINTLESS*、*GL2*、*NBS* 可能正调控促进德阳柿开花,而 *MIOX* 可能有延迟开花的作用。

#### 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及染色体倍性鉴定[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 Chungeng, 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, 房经费. 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 Jingui. 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, VILLAJUANA-BONEQUI M, DE FOLTER S, AZPEITIA E, DÁVILA-VELDERRAIN J, CRUZ-SÁNCHEZ D, GARAY-ARROYO A, SÁNCHEZ M D, 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.