浙 江 农 林 大 学 学 报, 2023, **40**(2): 330-337 Journal of Zhejiang A&F University doi: 10.11833/j.issn.2095-0756.20220333

# 紫薇 LiCMB1 基因的克隆及表达特性分析

尚林雪1,2,3, 王 群1,2,3, 张国哲1,2,3, 赵 雨1,2,3, 顾翠花1,2,3

(1. 浙江农林大学 风景园林与建筑学院,浙江 杭州 311300; 2. 浙江农林大学 浙江省园林植物种质创新与利用 重点实验室,浙江 杭州 311300; 3. 浙江农林大学 南方园林植物种质创新与利用国家林业和草原局重点实验 室,浙江 杭州 311300)

摘要:【目的】克隆紫薇 Lagerstroemia indica LiCMB1 基因并分析其在紫薇花芽分化的不同时期及不同组织和器官中的 表达,探讨 LiCMB1 基因的表达特性。【方法】利用简单克隆技术从紫薇中克隆得到 LiCMB1 的基因序列,通过 ExPasy 等在线工具对其进行蛋白质理化性质分析,使用 MEGA 6.0 构建系统进化树,结合紫薇花芽分化的表型观察和石蜡切 片,采用实时荧光定量 PCR 分析花芽分化的不同时期及不同组织和器官中 LiCMB1 基因的表达。【结果】LiCMB1 基 因属于 MADS-box 家族 SEP 类基因,除了具有典型的 MADS\_MEF2\_like 和 K-box 结构域外,靠近 C 端处还含有一个 SEP motif 保守基序; LiCMB1 在紫薇花芽分化过程中呈现先上升后下降的表达趋势,在各组织和器官中均有表达,表达 量从高到低依次为雌蕊、萼片、芽、长雄蕊、短雄蕊、花瓣、叶、茎、根,说明 LiCMB1 可能对紫薇的花芽分化起到重 要作用,且参与调控花器官发育。【结论】LiCMB1 基因属于 MADS-box 家族的 SEP 基因,在紫薇花芽分化的前期发挥 重要作用,尤其是在花萼分化期表达量最高,组织特异性分析表明该基因很可能参与了调控花器官发育。图 7 参 28 关键词:紫薇; LiCMB1 基因;花芽分化;花器官发育;表达分析

中图分类号: Q78; S685 文献标志码: A 文章编号: 2095-0756(2023)02-0330-08

# Cloning and expression characteristics of *LiCMB*1 gene in *Lagerstroemia indica*

SHANG Linxue<sup>1,2,3</sup>, WANG Qun<sup>1,2,3</sup>, ZHANG Guozhe<sup>1,2,3</sup>, ZHAO Yu<sup>1,2,3</sup>, GU Cuihua<sup>1,2,3</sup>

(1. College of Landscape and Architecture, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, Zhejiang, China; 2. Zhejiang Province Key Laboratory of Germplasm Innovation and Utilization for Garden Plants, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, Zhejiang, China; 3. Key Laboratory of National Forestry and Grassland Administration on Germplasm Innovation and Utilization for Southern Garden Plants, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, Zhejiang, China; 3. Key Laboratory of National Forestry and Grassland Administration on Germplasm Innovation and Utilization for Southern Garden Plants, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, Zhejiang, China)

Abstract: [Objective] The *LiCMB*1 gene of *Lagerstroemia indica* was cloned, and its expressions in different stages of flower bud differentiation and different tissues and organs were analyzed, so as to explore the expression characteristics of *LiCMB*1 gene. [Method] The gene sequence of *LiCMB*1 was cloned from *L. indica* by simple cloning technology. Physical and chemical properties of the protein were analyzed by online tools including ExPasy, and phylogenetic tree was constructed by MEGA 6.0 software. Combined with the phenotypic observation and paraffin section of *L.indica* flower bud differentiation, the expressions of *LiCMB*1 gene in different stages of flower bud differentiation and different tissues and organs were analyzed by real-time

收稿日期: 2022-05-04; 修回日期: 2022-09-27

基金项目:浙江省自然科学基金资助项目 (LY21C160001);浙江省农业新品种重大专项花卉育种专项 (2021C02071-4)

作者简介:尚林雪 (ORCID: 0000-0003-1469-8078),从事园林植物种遗传育种研究。E-mail: 771613859@qq.com。 通信作者:顾翠花 (ORCID: 0000-0003-4086-8587),教授,博士,博士生导师,从事园林植物遗传育种 与种质资源创新研究。E-mail: gucuihua@zafu.edu.cn

quantitative PCR (RT-qPCR). [**Result**] *LiCMB*1 gene belongs to SEP gene of MADS-box family, except for typical MADS\_ MEF2\_ like and K-box structure domain, there is also a SEP motif conserved motif near the C-end. The results of RT-qPCR showed that the expression trend of *LiCMB*1 increased first and then decreased in the process of flower bud differentiation of *L. indica*. It is expressed in different tissues and organs, and the expression levels of *LiCMB*1 from high to low were in the order of pistil, sepal, bud, long stamen, short stamen, petal, leaf, stem, root, indicating that *LiCMB*1 may play an important role in flower bud differentiation and participate in the regulation of flower organ development. [**Conclusion**] *LiCMB*1 gene belongs to the *SEP* gene of MADS-box family. It plays an important role in the early stage of flower bud differentiation of *L. indica*, especially in the calyx differentiation period. Tissue specificity analysis indicated that it was likely involved in the regulation of floral organ development. [Ch, 7 fig. 28 ref.]

Key words: *Lagerstroemia indica*; *LiCMB*1 gene; flower bud differentiation; floral organ development; expression analysis

花芽分化是有花植物开花过程中最为重要的阶段,直接影响植物开花的质量和数量<sup>[1]</sup>。花芽分化是 一个高度复杂的生理生化和形态发生过程,受自身调控和外界环境的共同影响<sup>[2-3]</sup>。目前,在许多物种 中已经证实开花促进因子 *AP*1 (*APETALA*1)、成花素 *FT* (*FLOWERING LOCUS T*) 以及 *LFY* (*LEAFY*) 等<sup>[4-5]</sup> 参与调控花芽分化。*SEP* (*SEPALLATA*) 是 MADS-box 转录因子家族中的一员,在花芽萌发时发挥着重要 作用,能够调控 B 和 C 类功能基因的表达<sup>[6]</sup>。SEP 蛋白可参与花器官的形成与发育,控制萼片、花瓣以 及雄蕊的形成<sup>[7-8]</sup>。*AP*1 可直接或通过 *LFY* 间接促进 *SEP* 的表达来控制早期的花发育过程<sup>[9]</sup>。另外,拟 南芥 *Arabidopsis thaliana* 中的 *SEP*3 直接或间接地作用于 *SVP* (*SHORT VEGETATIVE PHASE*)、*SOC*1 (*SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CONSTANS* 1) 和 *FT* 等开花因子的下游基因<sup>[10]</sup>, *SEP*3 过表达能 够控制其提前开花<sup>[11]</sup>,且 *LiMADS*3 (百合 *Lilium brownii* var. *viridulum* 的 *SEP*3 同源基因)转基因拟南芥植 株也表现出早期开花表型<sup>[12]</sup>。*PpCMB*1 隶属 SEP 类基因的 SEP1 亚组,将其转入拟南芥与正常生长的相 比,*PpCMB*1 过表达具有明显促进抽薹早花的表型<sup>[13]</sup>。但目前关于 SEP 类基因 *CMB*1 调控花分生组织、 花器官和雄蕊等形成的研究较少。

紫薇 Lagerstroemia indica 是少数夏季开花的木本植物,花型奇特,花期可达 100 d,极具观赏价值<sup>[14]</sup>。 紫薇是顶生圆锥花序,其生长锥发育的过程中,首先由花序顶部的花原基先发育,继而两侧不断形成新 的小花原基,最终形成完整的圆锥花序。关于紫薇花芽分化进程的研究较少,因此本研究拟通过对紫薇 LiCMB1 基因克隆,分析 LiCMB1 在花芽分化过程中不同时期以及不同组织中的表达模式,初步探究 LiCMB1 对紫薇花芽分化的调控作用,为紫薇的花期调控以及新品种选育等提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料采自浙江农林大学紫薇种质资源苗圃(30°15′02″N,119°43′37″E),选择12株生长条件一致,生长健壮,无病虫害的多年生紫薇植株为材料。观察自2021年3月9日开始,5月7日2次抽梢的新芽开始萌发后每5d采1次,5月25日花芽开始分化后3d取样1次,直至分化结束。

采样时在当年生枝条上不同方向二次抽梢后的嫩枝中,随机选取靠近顶芽相同位置的花芽 20 枚, 各采集 3 份,分别用于石蜡切片和 RNA 提取。此外,在紫薇营养生长阶段 (5 月 12 日),取紫薇的根、 嫩茎和嫩叶,在紫薇开花后 (7 月 2 日),取萼片、花瓣、雌蕊、长雄蕊和短雄蕊用于组织和器官特异性 分析。

#### 1.2 方法

1.2.1 形态观察与石蜡切片制作 将鲜样置于体视显微镜下观察并用游标卡尺记录外部的形态大小变化,石蜡切片的制作方法参考 SUN 等<sup>[15]</sup>方法并改进。改进方法为:将 FAA 中固定 24 h 后的花芽,采用体积分数为 50% 和 70% 的无水乙醇分别脱水 30 min,转入体积分数为 70% 的无水乙醇过夜;次日按

照从低至高的无水乙醇,二甲苯浓度梯度进行脱水透明处理;经过浸蜡,包埋,切片(LEICA RM2235), 厚度为9μm,番红-固绿双重染色等步骤后,中性树胶封片后,置于显微镜(Axio Imager 2,日本)下观 察并拍照。

1.2.2 总 RNA 提取及反转录 分别提取不同分化时期的花芽和不同组织的样品各 0.5 g,按照 Plant Total Isolation Kit 试剂盒说明书 (Vazyme,中国南京)提取 RNA。cDNA 反转录参照 HiScript III Reverse Transcriptase(Vazyme) 说明书进行,反转录后的 cDNA 保存于-20 ℃ 冰箱备用。

1.2.3 紫薇 *LiCMB*1 基因克隆 从转录组数据中筛选到 *LiCMB*1 基因蛋白质编码区 (CDS) 片段,运用 Primer Premier 5.0 软件设计特异性引物 (F: ATGGGGAGAGGGGAAGGTCGA; R: TTAAAGCGTCCA GTCTTGAAGG),由浙江有康生物科技有限公司合成,以反转录的 cDNA 为模板进行 PCR 扩增。PCR 反应体系如下: 95 ℃ 预变性 5 min; 95 ℃ 变性 30 s, 55 ℃ 退火 30 s, 72 ℃ 延伸 1 min, 35 个循环; 72 ℃ 延伸 10 min, 10 ℃ 延伸 5 min。PCR 扩增产物置于质量浓度为 1% 的琼脂糖凝胶电泳分离,切胶回收, 然后连接至 pMDTM18-T 载体后转化大肠埃希菌 *Escherichia coli* DH5α,涂板后进行蓝白斑筛选,挑菌 经 PCR 鉴定获得阳性克隆,将菌液送至浙江有康生物科技有限公司进行测序。

1.2.4 蛋白质结构及系统进化树分析 采用 ORF Finder (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder/)将核苷酸 序列翻译为氨基酸序列,采用美国国家生物技术信息中心 (NCBI)中 CDD (Conserved Domain Datebase)在 线软件 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/cdd)分析保守区域。用 Jalview 软件 (http://www.jalview.org/)对 *LiCMB*1 基因的氨基酸序列进行多重序列比对,使用 MEGA 6.0 软件邻接法 (NJ)构建系统发育树。采用 ExPasy 提供的 Prot-Param (https://web.expasy.org/protparam/)预测编码蛋白的基本理化性质,采用 NetPhos (http://www.cbs.dtu.dk/services/NetPhos/)对磷酸化位点进行分析。分别采用 SOPMA (https://npsa-prabi.ibcp.fr/)和 Cell-PLoc 2.0 (http://www.csbio.sjtu.edu.cn/bioinf/Cell-PLoc-2/)进行蛋白质二级结构和亚细胞定位预测情况。

1.2.5 紫薇 *LiCMB*1 基因的表达分析 设计实时荧光定量 PCR (RT-qPCR) 上下游引物 (F-q: TCGCCGCCATCA TCTTCTC; R-q: CTCTAGCTCCTTTATGCTCATCTCC),并以 *LiEF*-1α 作为内参基因<sup>[16]</sup>。实时荧光定量 反应体系如下: SYBR PremixEx *Taq* 5 µL, cDNA 2 µL,上下游引物各 0.4 µL, ddH<sub>2</sub>O 2.2 µL。RT-qPCR 反应程序为: 95 ℃ 预变性 30 s, 95 ℃ 变性 5 s, 60 ℃ 复性 30 s, 40 个循环,每个样品 3 次生物学 重复。根据2<sup>-ΔΔC</sup>/法<sup>[17]</sup>分析 *LiCMB*1 的相对表达量,采用 Excel 2010 和 SPSS 22 进行数据分析,采用 SigmaPlot 12.5 进行绘图。

2 结果与分析

### 2.1 紫薇花芽分化时期的划分

根据改进后的石蜡切片结果以及体视显微镜的观察记录,紫薇在新生营养芽展叶第 57 天 (2021 年 5 月 25 日)后开始进入花芽分化,第 82 天 (2021 年 6 月 18 日)后雌、雄蕊出现,第 92 天 (2021 年 6 月 28 日)时花芽分化结束,形成完整的花器官。整个花芽分化过程可以划分为未分化期、开始分化期、花序分化期、花萼分化期、花瓣分化期、雄蕊分化期以及雌蕊分化期等 7 个时期 (图 1)。花芽分化时间集中在 5 月底至 6 月中下旬。

#### 2.2 紫薇 LiCMB1 基因开放阅读框 (ORF) 全长序列

以紫薇的花芽 cDNA 为模板, PCR 扩增获得完整的 ORF 序列, 长度为 756 bp(图 2), 共编码 251 个 氨基酸 (图 3)。通过 NCBI 在线 BLASTX (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi) 分析, 发现该序列与石榴 *Punica granatum* (XP\_031400101.1)、可可树 *Theobroma cacao* (XP\_017970029.1) 的 *CMB*1 基因同源性最 高,将其命名为 *LiCMB*1。

#### 2.3 紫薇 LiCMB1 蛋白特性及同源比对

预测紫薇 LiCMB1 蛋白分子式为 C<sub>1250</sub>H<sub>2027</sub>N<sub>383</sub>O<sub>387</sub>S<sub>10</sub>,相对分子量为 28 933.78,等电点为 8.93,亲 水性平均系数为-0.757,为亲水性蛋白 (图 4A),脂肪系数为 79.92。最富氨基酸占比为谷氨酸 (Glu) 和赖 氨酸 (Leu),氨基酸组成成分分析表明:LiCMB1 蛋白肽链正电荷残基 [精氨酸 (Arg)+赖氨酸 (Lys)] 总数 为 39,负电荷残基 [天冬氨酸 (Asp)+谷氨酸 (Glu)]为 35,推测其为碱性蛋白。NetPhos 分析显示:



A~F. 外观形态上未分化期至雌雄蕊分化期,其中雌雄蕊分化期在外观上无明显变化(F);G. 未分化期;H. 开始分化期;I. 花序分化期;J. 花萼分化期;K. 花瓣分化期;L. 雄蕊分化期;M. 雌蕊分化期;L. 花器官完成期;GP. 生长点;FL. 花原基;SF. 小花原基;SE. 花萼原基;PE. 花瓣原基;ST. 雄蕊原基;PI. 雌蕊原基;Ova. 子房;UP. 未分化期;SDP. 开始分化期;IDP. 花序分化期;CDP. 花萼分化期;PDP. 花瓣分化期;PSDP. 雌雄蕊分化期

#### 图 1 紫薇花芽分化的进程图 Figure 1 Process of flower bud differentiation of *L. indica*

LiCMB1存在27个磷酸化修饰位点,其中丝氨酸磷酸化位点18个,苏氨酸磷酸化位点6个,酪氨酸磷酸化位点3个(图4B)。亚细胞定位预测结果表明LiCMB1位于细胞核中。采用NCBI-CDD保守结构域分析发现:LiCMB1具有典型的MADS\_MEF2\_like和K-box结构域。SOPMA在线网站预测蛋白的二级结构显示:该蛋白质含有51.79%的α-螺旋,3.59%的β-折叠,9.56%的延伸和33.06%的无规则卷曲(图4C)。



Figure 2 Cloning of LiCMB1

### 2.4 紫薇 LiCMB1 蛋白系统进化分析

采用 Jalview 软件将其与其他物种的 SEP 类蛋白进行比对发现:其氨基酸序列基本相似,除了含有 MADS-box 典型的结构域外,靠近 C 端处还含有一个典型的 SEP motif 保守基序 (图 5)。采用 MEGA 6.0 将紫薇 LiCMB1 与其他物种的 SEP 类蛋白构建系统发育树 (图 6): LiCMB1 与葡萄 Vitis vinifera 的 VvCMB1 以及其他物种的 SEP 类蛋白亲缘关系相对较远,而与石榴的 PgCMB1 具有较近的亲缘关系,蛋白质相似度高达 78.97%。

#### 2.5 紫薇 LiCMB1 基因表达分析

采用 RT-qPCR 技术,对紫薇花芽分化的 7 个时期、花器官完成期以及 9 个不同组织和器官中 LiCMB1 基因的表达情况进行分析 (图 7)。结果表明:LiCMB1 在紫薇花芽分化的过程中呈现先上升后下 降,然后趋于稳定的趋势,在花萼分化期时表达量最高,约为未分化时期表达量的 6 倍;此外, LiCMB1 在不同的组织和器官中都有表达,在根中的表达量最低,其次是茎,在雌蕊中的表达量最高, 约根中表达的 35 倍,萼片和花芽的表达量次之。而LiCMB1 在长雄蕊和短雄蕊中的表达量没有显著差 异,在花瓣中的表达相对于芽、萼片、雌蕊、长雄蕊和短雄蕊而言较弱,但对于根、茎和叶表达量较高。





## 3 结论与讨论

植物从营养生长到生殖生长的转变是开花植物发育的关键过程<sup>[18]</sup>。在这一发育过程中,紫薇花芽分 化显著的变化是花序和花的形成。许多 MADS-box 家族基因,特别是 SEP MADS-box 转录因子在调控花 芽分化过程中发挥着重要作用<sup>[11,19]</sup>。本研究发现:紫薇处于未分化期时花芽较小,当开始分化直至雌、 雄蕊出现时芽体不断增长膨大。然后根据各部分原基的出现进行时期的划分,将紫薇的花芽分化过程划 分为未分化期、开始分化期、花序分化期、花萼分化期、花瓣分化期、雄蕊分化期以及雌蕊分化期等 7 个时期,并从紫薇中克隆到 756 bp 的 *LiCMB*1 基因,共编码 251 个氨基酸,*LiCMB*1 的氨基酸序列除 了含有典型的 MADS\_MEF2\_like 和 K-box 结构域,在靠近 C 端的位置还含有相对保守的 SEP 基序。该 基序与 SEP3 蛋白复合物形成有关<sup>[20]</sup>,推测 SEP 基序可能与 LiCMB1 蛋白的功能有重要关系。系统进化 树分析显示:LiCMB1 与石榴的 PgCMB1 蛋白亲缘关系最近,蛋白质相似度高达 78.97%,这可能因为 紫薇和石榴都属于桃金娘目 Myrtales。而与葡萄、苹果 *Malus domestica*、拟南芥、烟草 *Nicotiana* 



麻疯树 Jatropha curcas; 烟草 Nicotiana tabaeum; 可可树 Theobroma cacao; 石榴 Punica granatam; 紫薇 Lagerstroermia indica; 葡葡 Vitis vinifera; 橡胶树 Hevea brasiliensis



Figure 5 Comparative analysis of LiCMB1 protein sequence









植株组织和器官

S1~S8 分别表示紫薇花芽分化的未分化期、开始分化期、花序分化期、花萼分化期、花瓣分化期、雄蕊分化期、雌蕊分化期以及花器官完成期;不同小写字母表示差异显著 (P<0.05)

图 7

7 紫薇 *LiCMB*1 基因的相对表达量 Figure 7 Relative expression of *LiCMB*1 gene tabacum 等植物的 SEP 类蛋白<sup>[21]</sup> 关系相对较远。

SICMB1 在番茄 Solanum lycopersicum 植株组织中的表达谱分析表明: SICMB1 可能参与调控花序和 萼片的发育<sup>[22]</sup>。从桃 Prunus persica 中分离出的 PpCMB1,可能通过抑制 PpDAM5 蛋白的功能促进花发 育,且 PpCMB1 主要在萼片和雌蕊中高表达<sup>[13]</sup>。本研究 RT-qPCR 结果表明: LiCMB1 整体呈先上升后下 降的表达趋势,这说明其在紫薇花芽分化过程的前期可能起到促进分化的作用。特别是在花序分化期至 花萼分化期时表达量较高,这表明 LiCMB1 参与了紫薇花芽分化的过程并在花萼分化期起到重要作用。 在形成完整的花器官后,LiCMB1 表达量相对较少,可能是其在该时期不发挥作用。此外,通过组织特 异性分析发现:LiCMB1 在各组织和器官中均有表达,在花瓣、芽、萼片和雌雄蕊等组织中显著提高, 且在雌蕊和萼片中的表达量要高于长雄蕊、短雄蕊和花瓣中的表达量。这说明 LiCMB1 可能在调控花器 官发育过程中发挥了作用,并且可能参与了雌蕊和萼片的发育过程。

在经典的花发育 ABCDE 模型中, SEP 亚组属于 E 类基因, 通常起到调控花瓣、萼片、雄蕊等的发育<sup>[23-24]</sup>。SEP 类基因 VvMADS6 能够促进葡萄花芽萌发, 表达量相对也较高<sup>[25]</sup>。重瓣百合 Lilium brownii 'Belonica' 中 LiSEP3 的表达模式与双子叶植物的有所不同,其主要在花中表达量较高,并且在最内侧 的花瓣中表达量最高<sup>[26]</sup>。番茄的 SEP 类基因 SICMB1 在花序中显著表达,其转录水平在花萼中也较高<sup>[22]</sup>,

可能正向调控番茄的花发育。*PsMADS*4 基因在牡丹 *Paeonia suffruticosa* 花发育过程中起着重要作用,且 与牡丹花的衰老具有密切关系<sup>[27]</sup>。*PheMADS*15 基因在毛竹 *Phyllostachy edulis* 花发育的初期表达量最高,主要在花芽中表达,可能参与毛竹成花转变过程<sup>[28]</sup>。

本研究通过对 LiCMB1 蛋白的基本性质以及其在花芽分化各个时期、不同组织和器官的表达特征做 了初步探索,发现 LiCMB1 在紫薇花芽分化过程中的花萼分化期起关键作用,并且可能参与调控花器官 的发育过程。但 LiCMB1 是否会与其他基因互作共同促进紫薇的花芽分化以及花发育,具体的调控机制 还有待进一步的验证。

- 4 参考文献
- [1] 董晓晓,别沛婷,袁涛.3个牡丹品种花芽分化过程形态及叶片碳水化合物质量分数变化[J].东北林业大学学报,2020, 48(7):34-39.

DONG Xiaoxiao, BIE Peiting, YUAN Tao. Changes of morphology and carbohydrate content in leaves of three tree peony during flower bud differentiation [J]. *Journal of Northeast Forestry University*, 2020, **48**(7): 34 – 39.

- [2] 部爰玲, 李建安, 刘儒, 等. 高等植物花芽分化机理研究进展[J]. 经济林研究, 2010, 28(2): 131-136.
   GAO Ailing, LI Jian'an, LIU Ru, *et al.* Advance in research on flower bud differentiation mechanism in higher plants[J] *Nonwood Forest Research*, 2010, 28(2): 131-136.
- [3] 曲波, 张微, 陈旭辉, 等. 植物花芽分化研究进展[J]. 中国农学通报, 2010, 26(24): 109-114. QU Bo, ZHANG Wei, CHEN Xuhui, et al. Research progress of flower bud differentiation mechanism of plant [J]. Chinese Agricultural Science, 2010, 26(24): 109-114.
- [4] HUANG Tao, BÖHLENIUS H, ERIKSSON S, et al. The mRNA of the Arabidopsis gene FT moves from leaf to shoot apex and induces flowering [J]. Science, 2005, 309(5741): 1694 – 1696.
- [5] MANDEL M A, GUSTAFSON-BROWN C, SAVIDGE B, et al. Molecular characterization of the Arabidopsis floral homeotic gene APETALA1 [J]. Nature, 1992, 360(6401): 273 – 277.
- [6] LIU Chang, XI Wanyan, SHEN Lisha, et al. Regulation of floral patterning by flowering time genes [J]. Developmental Cell, 2009, 16(5): 711 – 722.
- [7] IMMINK R G H, TONACO I A N, de FOLTER S, et al. SEPALLATA3: the 'glue' for MADS box transcription factor complex formation[J/OL]. Genome Biology, 2009, 10(2): R24[2022-04-21]. doi: 10.1186/gb-2009-10-2-r24.
- [8] SEYMOUR G B, RYDER C D, CEVIK V, et al. A SEPALLATA gene is involved in the development and ripening of strawberry (Fragaria x ananassa Duch.) fruit, a non-climacteric tissue [J]. Journal of Experimental Botany, 2011, 62(3): 1179 – 1188.
- [9] GREGIS V, SESSA A, COLOMBO L, et al. AGAMOUS-LIKE24 and SHORT VEGETATIVE PHASE determine floral meristem identity in Arabidopsis [J]. The Plant Journal, 2008, 56(6): 891 – 902.
- [10] TEPER-BAMNOLKER P, SAMACH A. The flowering integrator FT regulates SEPALLATA3 and FRUITFULL accumulation

in Arabidopsis leaves [J]. The Plant Cell, 2005, 17(10): 2661-2675.

- [11] PELAZ S, GUSTAFSON-BROWN C, KOHALMI S E, et al. APETALA1 and SEPALLATA3 interact to promote flower development [J]. The Plant Journal, 2001, 26(4): 385 – 394.
- [12] TZENG T Y, HSIAO C C, CHI P J, et al. Two lily SEPALLATA-like genes cause different effects on floral formation and floral transition in Arabidopsis [J]. Plant Physiology, 2003, 133(3): 1091 – 1101.
- [13] 张新昊, 沈红艳, 文滨滨, 等. 桃 MADS-box 家族 PpCMB1 基因调控花发育分子机制[J]. 植物生理学报, 2021, 57(6):
   1211-1217.
   ZHANG Xinhao, SHEN Hongyan, WEN Binbin, et al. Molecular mechanism of PpCMB1 gene in peach MADS-box
- family regulating flower development [J]. *Plant Physiology Journal*, 2021, 57(6): 1211 1217.
  [14] ZHANG Qixiang. Studies on cultivars of crape myrtle (*Lagerstroemia indica*) and their uses in urban greening [J]. *Journal of Beijing Forestry University*, 1991, 13(4): 57 66.
- [15] SUN Chunqing, CHEN Fadi, TENG Nianjun, et al. Factors affecting seed set in the crosses between Dendranthema grandiflorum (Ramat.) Kitamura and its wild species [J]. Euphytica, 2010, 171(2): 181 – 192.
- [16] ZHENG Tangchun, CHEN Zhilin, JU Yiqian, *et al.* Reference gene selection for qRT-PCR analysis of flower development in *Lagerstroemia indica* and *L. speciosa* [J/OL]. *PLoS One*, 2018, **13**(3): e0195004[2022-04-21]. doi: 10.1371/journal. pone.0195004.
- [17] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2<sup>-ΔΔC<sub>r</sub></sup> method [J]. *Methods*, 2001, 25(4): 402 408.
- [18] 陈晨,喻方圆. 林木花芽分化研究进展[J]. 林业科学, 2020, 56(9): 119-129.
   CHEN Chen, YU Fangyuan. Research progress on flower bud differentiation of trees [J]. Scientia Silvae Sinicae, 2020, 56(9): 119-129.
- [19] PELAZ S, DITTA G S, BAUMANN E, et al. B and C floral organ identity functions require SEPALLATTA MADS-box genes [J]. Nature, 2000, 405(6783): 200 – 203.
- [20] HONMA T, GOTO K. Complexes of MADS-box proteins are sufficient to convert leaves into floral organs[J]. Nature, 2001, 409(6819): 525 - 529.
- [21] ZAHN L M, KONG H, LEEBENS-MACK J H, *et al.* The evolution of the SEPALLATA subfamily of MADS-box genes: a preangiosperm origin with multiple duplications throughout angiosperm history [J]. *Genetics*, 2005, **169**(4): 2209 – 2223.
- [22] ZHANG Jianling, HU Zongli, WANG Yunshu, et al. Suppression of a tomato SEPALLATA MADS-box gene, SICMB1, generates altered inflorescence architecture and enlarged sepals [J]. Plant Science, 2018, 272: 75 87.
- [23] KAUFMANN K, MELZER R, THEISSEN G. MIKC-type MADS-domain proteins: structural modularity, protein interactions and network evolution in land plants [J]. *Gene*, 2005, 347(2): 183 – 198.
- [24] WEIGEL D, MEYEROEITZ E M. The ABCs of floral homeotic genes [J]. Cell, 1994, 78(2): 203 209.
- [25] 黄晓婧, 张珺, 夏惠, 等. 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, *et al.* Genome-wide identification and expression analysis of the MADS-box gene family in *Vitis vinifera* [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2019, **46**(10): 1882 – 1896.

- [26] 隋娟娟,李晓昕,杨秋燕,等. 重瓣百合 LiSEP3 基因克隆与表达分析[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2017, 41(1): 42-48.
  SUI Juanjuan, LI Xiaoxin, YANG Qiuyan, et al. Cloning and expression analysis of gene LiSEP3 in double lily [J]. Journal of Nanjing Forestry University (Natural Science Edition), 2017, 41(1): 42-48.
- [27] 姜纯, 周陶敏, 盖树鹏, 等. 牡丹 *PsMADS*4 基因的克隆、表达分析及载体构建[J]. 植物生理学报, 2021, 57(1): 94-100.
   IIANG Chun, ZHOU Taomin, GAI Shupeng, *et al.* Cloning, expression analysis and vector construction of tree people.

JIANG Chun, ZHOU Taomin, GAI Shupeng, *et al.* Cloning, expression analysis and vector construction of tree peony *PsMADS*4 gene [J]. *Plant Physiology Journal*, 2021, **57**(1): 94 – 100.

[28] 程占超, 马艳军, 侯丹, 等. 毛竹 PheMADS15 基因的克隆及功能分析[J]. 浙江农林大学学报, 2017, 34(3): 421-426. CHENG Zhanchao, MA Yanjun, HOU Dan, et al. Isolation and functional analysis of the PheMADS15 gene in Phyllostachys edulis [J]. Journal of Zhejiang A&F University, 2017, 34(3): 421-426.