



中国水仙 *NtAP1* 基因的克隆与表达分析

杨 超,吴菁华,吴少华*

(福建农林大学 园艺学院, 福州 350002)

摘要:采用 RT-PCR 和 RACE 技术,从中国水仙(*Narcissus tazetta* var. *chinensis*)幼嫩花芽中分离得到 1 个与花发育相关的 MADS-box 基因,将其命名为 *NtAP1*(GenBank 登录号为 JN704304)。该基因全长 1 155 bp,含有 1 个 762 bp 的开放阅读框,编码 253 个氨基酸。系统进化分析表明,该基因属于 *AP1-like* 基因。半定量 RT-PCR 分析表明,该基因在水仙品种‘金盏银台’和‘玉玲珑’的花瓣、副冠、雄蕊和雌蕊中均有表达,且在雌蕊中的表达量最高。研究认为,该实验分离出的 *NtAP1* 基因在‘玉玲珑’重瓣的形成过程中没有发挥重要的作用。

关键词:中国水仙;花器官发育;MADS-box 基因;*NtAP1* 基因

中图分类号:Q785;Q786 文献标志码:A

Clone and Expression of *NtAP1* Homologous Gene from *Narcissus tazetta* var. *chinensis*

YANG Chao, WU Jinghua, WU Shaohua*

(College of Horticulture, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

Abstract: A flowering-related MADS-box gene named *NtAP1* (GenBank accession JN704304) was cloned from the flower bud of *Narcissus tazetta* var. *chinensis* using RT-PCR and RACE methods. The cDNA is 1 155 bp in length with an open reading frame 762 bp which is capable of encoding 253 amino acids. Phylogenetic analysis indicated that the gene belonged to the *AP1/AGL9* family *AP1* lineage. RT-PCR revealed that the existence of *NtAP1* was detectable in flowers, which the levels were the highest in pistil. This showed that the *NtAP1* gene which cloned in this study did not play an important role in the formation process of double flowers of ‘Yulinglong’.

Key words: *Narcissus tazetta* var. *chinensis*; floral organ development; MADS-box gene; *NtAP1* gene

中国水仙(*Narcissus tazetta* var. *chinensis*)是石蒜科水仙属的多年生草本植物,原产地地中海地区,是法国多花水仙的一个重要变种。目前栽培的品种主要有两种:‘金盏银台’和‘玉玲珑’。‘金盏银台’是单瓣花,‘玉玲珑’是重瓣花,是由于‘金盏银台’的雄蕊发生瓣化而形成的。

目前,关于重瓣花形成的分子机制主要基于花发育的 ABCDE 模型研究。其中,C 功能基因的突

变被认为是中国水仙重瓣花形成的主要原因,然而,邓新杰等分别从‘金盏银台’和‘玉玲珑’中克隆了 C 类功能基因 *NTAG1* 并对其进行了分析,初步认定重瓣水仙‘玉玲珑’的形成并非由该基因序列的变化或表达量的下降而引起的^[1]。此外,吴菁华等从‘金盏银台’中克隆了 B 类基因 *NtPI*,分析表明中国水仙重瓣花产生的原因可能是该基因在雄蕊中表达量的减少以及在花瓣中表达量的增加导致雄蕊发生瓣化。

收稿日期:2013-10-16;修改稿收到日期:2013-11-26

基金项目:福建省区域科技重大项目(2013N3016)

作者简介:杨 超(1986—),女,硕士,助教,主要从事园艺植物遗传育种研究。E-mail:yycc32@126.com

*通信作者:吴少华,硕士,博士生导师,教授,主要从事植物遗传育种研究。E-mail:348279953@qq.com

化^[2]。考虑到 B 功能基因同时参与了花瓣和雄蕊的发育,影响第 2 轮和第 3 轮花器官的形态建成,推测 B 功能基因可能与其它基因一起起作用,影响重瓣花的形成。同时,Dubois 等通过对重瓣玫瑰的研究表明,A 功能基因表达领域的拓展也会引起重瓣花的发生^[3]。

在模式植物拟南芥中,A 类功能基因主要包括 *AP1* 和 *AP2* 基因^[4-5],该类基因不仅参与花分生组织的建立^[6],而且决定花器官的形成,调控萼片和花瓣的正常发育^[4,7],同时也能激活 B 类功能基因^[8]。到目前为止,已经从牡丹(*Paeonia suffruticosa* L.)^[9]、文心兰(*Oncidium*)^[10]、日本晚樱(*Prunus lannesiana*)^[11]、油菜花(*Brassica napus* L.)^[12]、太行花(*Taihangia rupestris*)^[13]、风信子(*Hyacinthus orientalis*)^[14]、马铃薯(*Solanum tuberosum*)^[15]、山核桃(*Carya cathayensis*)^[16]、白桦(*Betula platyphylla*)^[17]等多种植物中克隆了 A 类功能基因,并对其表达模式和功能开展了相关的研究。

为了进一步了解中国水仙花型变异的分子机理,本研究利用 RT-PCR 和 RACE 技术,从‘金盏银台’的幼嫩花芽中克隆了 A 类基因 *NtAP1*,并对其进行表达分析。

1 材料和方法

1.1 材料

供试材料为中国水仙‘金盏银台’和‘玉玲珑’2个品种,种球来源于主产区福建漳州。经过一段时间的水培后,分别取其幼嫩的花芽、叶片和盛花期的花瓣、副冠、雄蕊、雌蕊等各个花器官,液氮处理后置于-80 °C 保存备用。

1.2 方法

1.2.1 中国水仙 *NtAP1* 基因的克隆 利用北京百泰克生物技术有限公司的多糖多酚植物总 RNA 快

速提取试剂盒,提取中国水仙‘金盏银台’的花芽的总 RNA,并进行电泳检测和 OD 值的测定。利用 SMART™ RACE cDNA Amplification 试剂盒(Contech 公司),将所提取的‘金盏银台’幼嫩花芽的 RNA 反转录成 cDNA,作为 PCR 反应的模板。

通过对 GenBank 中单子叶植物的 *AP1-like* 基因家族成员的序列进行比较,查找、分析保守区序列,应用 DNAMAN 软件设计 1 对简并引物 AP1 和 AP2(表 1),PCR 扩增目的片段。根据所获得的 *NtAP1* 基因保守区 cDNA 的测序结果,设计 3'-RACE 的上游引物(AP3 和 AP4)和 5'-RACE 的下游引物(AP5 和 AP6),并进行槽式 PCR 反应(表 1)。反应结束后,1% 琼脂糖凝胶电泳,回收符合预期大小的目的片段,连接至 PMD₁₈-T 载体后,转化到大肠杆菌 DH 5 α 感受态细胞,送至上海博尚生物技术有限公司测序。

将已克隆并测序正确的中国水仙 *NtAP1* 基因保守区,3' 端和 5' 端的 cDNA 序列进行拼接整合,得到中国水仙 *NtAP1* 基因全长 cDNA 序列,在该序列起始密码子和终止密码子位置分别设计引物 AORF1 和 AORF2(表 1),扩增 *NtAP1* 基因的 ORF。

1.2.2 生物信息学分析 利用 ExPASY 的 ProtParam 工具分析 *NtAP1* 基因的 cDNA 序列及其所编码的蛋白质的结构特点(<http://www.expasy.org/tools/protparam.html>);利用 NCBI 的 Conserved Domain Search 软件分析 *NtAP1* 基因的氨基酸序列;并在 NCBI 上进行 blast 搜索,再利用 DNAMAN 软件分析 *NtAP1* 基因氨基酸序列的同源性,构建系统进化树。

1.2.3 中国水仙 *NtAP1* 基因的组织表达分析 为了研究 *NtAP1* 基因在单瓣和重瓣两种水仙不同组织器官中的表达特性,本研究利用 RT-PCR 技术进行半定量分析。分别提取‘金盏银台’和‘玉玲珑’的

表 1 引物序列

Table 1 Sequence of primers

目的条带扩增 Amplification of fragment	引物 Primer	退火温度 Tm/°C
保守区 Conserved region	AP1: ATGGG(G/T)(A/C)G(A/G/C/T)GG(A/C)A(A/G)GGTGGAG AP2: CTGAGCATCCATGGGGCAG	56
3'-RACE	第一轮 The first round AP3: GGAGGAGGAGTG CATTACGAAAGCC	60
	第二轮 The second round AP4: GCAA ACTAGCTCGTCTTCGCCATCG	64
5'-RACE	第一轮 The first round AP5: CTGAGCATCCATGGGGCAG	56
	第二轮 The second round AP6: GATTGGAGGTCTGTTAATGTAAGTGCTC	56
ORF	AORF1: ATGGGGAGAGGGAGAGTG CAGATG AORF2: TTATGCTCTCATATGACGGCCAAGC	56

花瓣、副冠、雄蕊、雌蕊和叶片的 RNA 并逆转录成 cDNA, 以中国水仙 *Actin* 基因(GenBank 登录号 JN 204912)为内参, 引物为 *ActinSY*(5'-TGGGAT-GATATGGAGAAGATTGGC-3') 和 *ActinXY*(5'-GCATATCCTCATAGATTGGAACAGTG-3')。调整 cDNA 用量和循环数, 使内参基因的表达量一致, 以调整后的 cDNA 模板量进行 *NtAP1* 基因的 PCR 分析, 引物为 *ABDLSY*(5'-CCAACATCAT-GCTTAATTCAATTGC-3') 和 *ABDLXY*(5'-GT-TACAACCTCTACCCCTAC-3')。

2 结果与分析

2.1 中国水仙 *NtAP1* 基因的克隆

以中国水仙‘金盏银台’花芽总 RNA 逆转录成的 cDNA 为模板, 经 PCR 扩增, PCR 扩增产物如图 1 所示, 回收 PCR 产物并对其进行连接、转化和测序, 测序结果表明: 扩增到的 *NtAP1* 基因的保守区片段大小为 746 bp; 3'-RACE 片段大小为 514 bp, 与保守区有 204 bp 的重叠区域, 出现的第一个终止密码子是 TAA, 在 3' 端有 1 个包含 18 个 A 的多聚腺苷尾巴(polyA), 在 polyA 之前 329 bp 处出现加尾信号 AATAA; 5'-RACE 的片段大小为 399 bp,

与保守区有 261 bp 的重叠区域, 在第 139 位的 ATG 上游还有长 138 bp 的 5' 端非编码区。用 DNAMAN 软件拼接整合后发现, *NtAP1* 基因的 cDNA 全长 1 155 bp, 其中开放阅读框为 762 bp, 编码 253 个氨基酸, 5' 非编码区为 138 bp, 3' 非编码区为 255 bp。

对 *NtAP1* 基因的 ORF 进行 PCR 扩增, 结果表明, 所扩增的片段大小为 762 bp, 利用 DNAMAN 序列比对可知该核苷酸序列与所拼接的 cDNA 全长序列一致。将该基因命名为 *NtAP1* 基因, 在 GenBank 中登录, 登录号为 JN 704304。

2.2 生物信息学分析

利用 ExPASY 的 ProtParam 工具分析中国水仙 *NtAP1* 基因所编码的氨基酸序列, 结果表明: 该蛋白的分子量是 28 872.6 Da, 理论等电点 9.38, 总原子数 4 050, 原子组成为 C₁₂₃₈H₂₀₃₈N₃₇₄O₃₉₀S₁₀, 280 nm 处的消光系数为 24 075, 脂肪系数 81.78, 不稳定性系数 64.22, 说明该蛋白是一个不稳定蛋白, 总平均亲水性 -0.742, 说明该蛋白是一个亲水蛋白。

利用 NCBI 的 Conserved Domain Search 软件对中国水仙 *NtAP1* 基因的氨基酸序列进行分析, 得到 2 个保守结构域, 在氨基酸序列的 2~76 位处

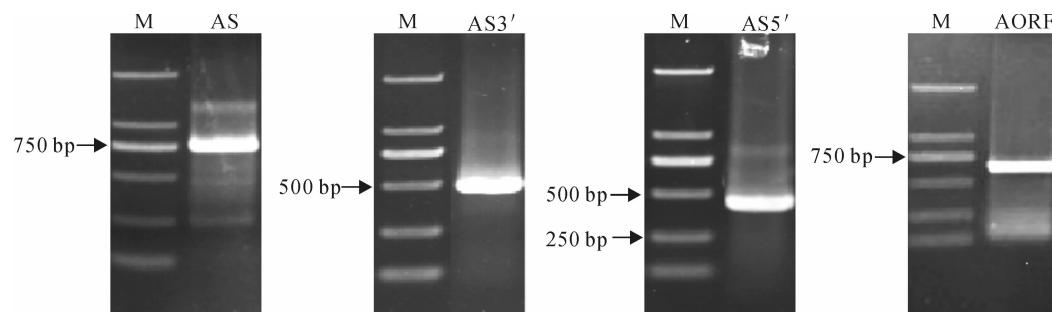


图 1 中国水仙 *NtAP1* 基因 PCR 扩增产物

M. DL2000; AS. 保守区; AS3'. 3'-RACE; AS5'. 5'-RACE; AORF. ORF

Fig. 1 PCR product of *NtAP1* gene from *Narcissus tazetta* var. *chinensis*

M. DL2000; AS. Conserved region; AS3'. 3'-RACE; AS5'. 5'-RACE; AORF. ORF

表 2 用于进行系统进化分析的氨基酸序列

Table 2 The amino acid sequences which to be made phylogenetic tree

类别 Class	氨基酸序列 Amino acid sequence
A	华山姜 AP1、油棕 AP1、麝香百合 AP1、石斛兰 AP1、郁金香 AP1、蕙兰 AP1、金鱼草 AP1、烟草 AP1、拟南芥 <i>Alpinia oblongifolia</i> (ABS83558), <i>Elaeis guineensis</i> (AAQ03221), <i>Lilium longiflorum</i> (ADT78583), <i>Dendrobium nobile</i> (ABQ08573), <i>Tulipa gesneriana</i> (BAJ09452), <i>Cymbidium faberi</i> (AGE15496), <i>Antirrhinum majus</i> (CAA45228), <i>Nicotiana tabacum</i> (AAD01421), <i>Arabidopsis thaliana</i> (CAA78909)
B	拟南芥 PI <i>Arabidopsis thaliana</i> (NP_197524)
C	拟南芥 AG <i>Arabidopsis thaliana</i> (NP_567569)
D	拟南芥 STK、拟南芥 SHP1、拟南芥 SHP2 <i>A. thaliana</i> (NP849351), <i>A. thaliana</i> (NP001078311), <i>A. thaliana</i> (NP850377)
E	拟南芥 AGL3、拟南芥 AGL9、拟南芥 SEP1、拟南芥 SEP2 <i>A. thaliana</i> (P29383), <i>A. thaliana</i> (AAB67832), <i>A. thaliana</i> (NP568322), <i>A. thaliana</i> (NP186880)

存在 1 个高度保守的 MADS-MEF2-like 结构域，在 90~168 位处存在 1 个 K-box 结构域，说明所克隆的基因属于典型的 MADS-box 家族基因。

为了研究中国水仙 *NtAP1* 基因与其它 MADS-box 基因的关系,选取 MADS-box 基因家族中的 5 个亚家族基因(A、B、C、D、E 类功能基因,表 2),利用 DNAMAN 软件,构建系统进化树(图 2),结果显示,所克隆出的基因属于 A 类功能基因。此外,A 类基因明显分为单子叶和双子叶两个分支,中国水仙与百合、郁金香等单子叶植物聚为一支,亲缘关系较近。

经 Blast 分析发现,所克隆的 *NtAP1* 基因编码的氨基酸序列与其它物种中已知的 *AP1-like* 基因氨基酸序列具有较高的相似性,其中与华山姜(*Alpinia oblongifolia*, ABS83558)的相似性为 81%,与油棕(*Elaeis guineensis*, AAQ03221)的相似性为 80%,与麝香百合(*Lilium longiflorum*, ADT78583)的相似性为 78%,与石斛兰(*Dendrobium nobile*, ABQ08573)、郁金香(*Tulipa gesneriana*, BAJ09452)、蕙兰(*Cymbidium faberi*, AGE15496)的相似性均为 77%。

将它们的氨基酸序列进行多重比对分析,结果

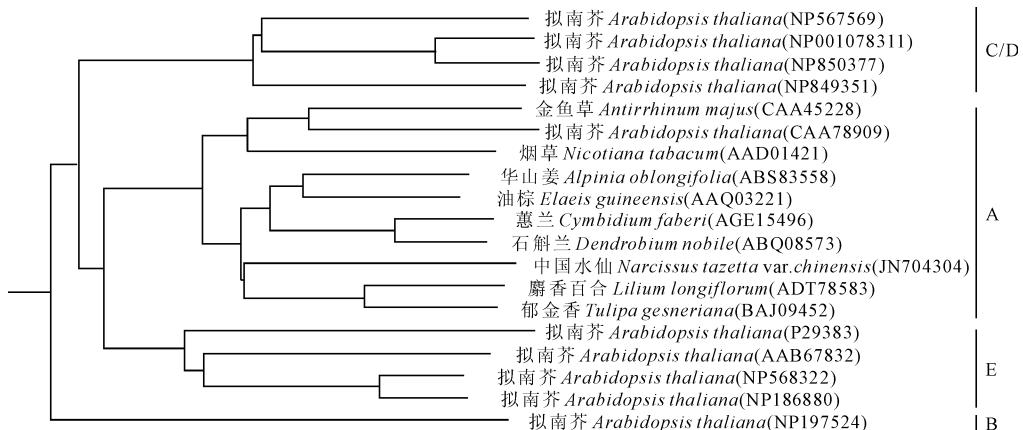


图 2 中国水仙 *NtAP1* 基因系统进化树

Fig. 2 Phylogenetic tree of the *NtAP1* gene from *Narcissus tazetta* var. *chinensis*

中国水仙 <i>Narcissus tazetta</i> var. <i>chinensis</i> (JN704304)	MGRGRVEMPEI R IENKINRQVF T FSKRRSGLLKKAH E ISVLCDAE V ALIVFSPKGKLY E Y S D S ME P ILERY R ERY S A P R	80
油棕 <i>Elaeis guineensis</i> (AAQ03221)	MGRGRVQLR I ENKINRQVF T FSKRRSGLLKKAH E ISVLCDAE V ALIVFSPKGKLY E Y S D S ME P ILERY R ERY T A P R	80
华山姜 <i>Alpinia oblongifolia</i> (ABS83558)	MGRGRVQLR I ENKINRQVF T FSKRRSGLLKKAH E ISVLCDAE V ALIVFSPKGKLY E Y S D S ME P ILERY R ERY C A P R	80
麝香百合 <i>Lilium longiflorum</i> (ADT78583)	MGRGRVQLR I ENKINRQVF T FSKRRSGLLKKAH E ISVLCDAE V ALIVFSPKGKLY E Y S D S ME P ILERY R ERY S A P R	80
石斛属 <i>Dendrobium nobile</i> (ABQ08573)	MGRGRVQLR I ENKINRQVF T FSKRRSGLLKKAH E ISVLCDAE V ALIVFSPKGKLY E Y S D S ME P ILERY R ERY S A P R	80
郁金香 <i>Tulipa gesneriana</i> (BAJ09452)	MGRGRVQLR I ENKINRQVF T FSKRRSGLLKKAH E ISVLCDAE V ALIVFSPKGKLY E Y S D S ME P ILERY R ERY S A P R	80
蕙兰 <i>Cymbidium faber</i> (AGE15496)	MGRGRVQLR I ENKINRQVF T FSKRRSGLLKKAH E ISVLCDAE V ALIVFSPKGKLY E Y S D S ME P ILERY R ERY H A P R	80
Consensusarar.....rienkinkrounfafksrrscllkahaeiulsdcaeauefa.....wakle.....z.....m.....ilarue.....se.....a.....	

		MHS-box	
中国水仙 <i>Narcissus tazetta</i> var. <i>chinensis</i> (JN704304)	TLLTDLQSGCGWVHDFNKLAKTENLQPSQRELMGECQL	k le q l	160
油棕 <i>Elaeis guineensis</i> (AAQ03221)	ISSSGFEIIGNWCECFGKLAKRVEVLLQPSQRELMGECQFEPNLKELQCLEQFLESSPKHHRDKECQINFESISELOKEKES		160
华山姜 <i>Alpinia oblongifolia</i> (ABS83558)	ISSELDGCENWHFHYGMLKAKRMENASISQRELMGECQCLTLSLRELQCLBNLCLNSLKHHRDRSKQVLLDSSIELOKEKES		160
麝香百合 <i>Lilium longiflorum</i> (ADT78583)	KQGDETESGSWSCEYSLRKLAKIDVLFQFRGRLMGECQFDSCTPRTIQCLEQFQLETLGKJKHRSRSRKQILFESISELOKEKES		160
石斛兰 <i>Dendrobium nobile</i> (ABQ08573)	FSNEANEGCAWHDYHMLKARVEVLLQPSQRELMGECQLHQLQCLEQFLESSPKHHRDKECQINFESISELOKEKES		160
郁金香 <i>Tulipa gesneriana</i> (BAJ09452)	TEADEFSASCWIEYGRKLAKRVEVLLQPSQRELMGECQFENCTPRTIQCLEQFQLETLAHPKHHRDKQOLLYDSSIELOKEKES		160
蕙兰 <i>Cymbidium faberi</i> (AGE15496)	FSNEANLGADWREBHYNLKARVEVLLQPSQRELMGECQCLTLSLRELQCLEQFLESSPKHHRDRSKQIMLBSISELOKEKES		160
Consensus	q w e lka lk r lmgeql k le q l k rr q s elq ke		

中国水仙 <i>Narcissus tazetta</i> var. <i>chinensis</i> (JN704304)	LDRRNKFLDEECCITKAKARAPPTQCERQ..WEQ...QTSSSSPSSLLLTQDHPSLNLIGNYQARGSE.NNDAEAQAQCSV	234
油棕 <i>Elaeis guineensis</i> (AAQ03221)	LQEONQMLMEKEMLCKVQVK..LNGQAF..WEQQCQPFCTSSSSSPTSFGLGSLSLTFLNIGTYQCSNE.HGEEEAQCP...Q	232
华山姜 <i>Alpinia oblongifolia</i> (ABS83558)	LQEONQMSLKEQLEKQVKAKA..LVCQAH..WEQ...AQCTSSSSPF..FILADANEFLINLIGNYQGRATI.EGEVEAAGP..Q	229
麝香百合 <i>Lilium longiflorum</i> (ADT78583)	LQEENKAKRLVKEHRAKAKALTQWEGG.....QQCQFHSTCLPFSFLLEVEHLETLINLIGNYQGRDNGPNEG..AEACPM	232
石斛兰 <i>Dendrobium nobile</i> (ABQ08573)	LLEQNKFLDEKEIAKEKAKA..LTCIAP..WEKQN.LSQCYSSAFLH.VISDESVEPTSTSFTQAIAN...EEEESPQA..Q	228
郁金香 <i>Tulipa gesneriana</i> (BAJ09452)	LQEONQMLTEKLLLEEEQKSXASQAQNQECQPCQQQQQQQQCPHANNCSPSFLSADPFETLNMGTYQARGSSNEEDGATAQACP	240
蕙兰 <i>Cymbidium faberi</i> (AGE15496)	LDEONKFLDEKEIAKEKAKA..LVCQAF..WEKQN.QCCQYSSAFLSHAVISNFGSTIPASRTLRARAS...EEEESPQF..Q	229
Consensus	1_nk_le	K-box

中国水仙 <i>Narcissus tazetta</i> var. <i>chinensis</i> (JN704304)	A ^T GSS ^S LPPWM ^M GRRMR	252
油棕 <i>Elaeis guineensis</i> (AAQ03221)	VRIGNS ^S LPPWM ^M S.BLN	249
华山姜 <i>Alpinia oblongifolia</i> (AB883558)	ARINNS ^S LPPWM ^M S.BLN	246
麝香百合 <i>Lilium longiflorum</i> (ADT78583)	ACTESN ^S LPPWM ^M S.FVN	249
石斛兰 <i>Dendrobium nobile</i> (ABQ08573)	L ^R VSN ^T I ^L LPPWM ^M G.BMN	245
郁金香 <i>Tulipa gesneriana</i> (BAJ09452)	ARFGSN ^S LPPWM ^M S.FVN	257
蕙兰 <i>Cymbidium faberi</i> (AGE15496)	LRLGN ^T I ^L LPPWM ^M T.BMN	246
Consensus	lppwm1	

图 3 不同植物 AP1-like 氨基酸多重序列比对分析

Fig. 3 Multiple alignment of predicted amino acid sequences of *AP1-like* from different plants

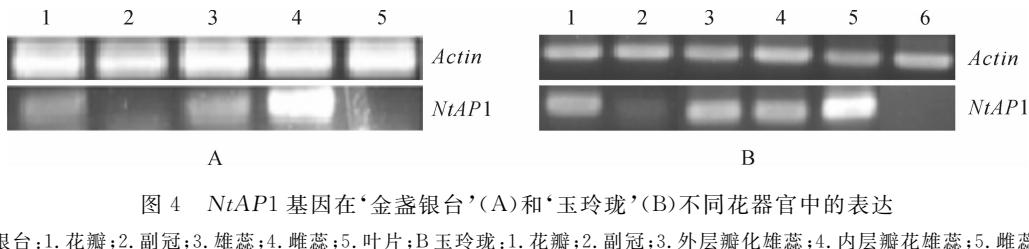


图4 *NtAP1*基因在‘金盏银台’(A)和‘玉玲珑’(B)不同花器官中的表达

A. 金盏银台:1. 花瓣;2. 副冠;3. 雄蕊;4. 雌蕊;5. 叶片;B 玉玲珑:1. 花瓣;2. 副冠;3. 外层瓣化雄蕊;4. 内层瓣化雄蕊;5. 雌蕊;6. 叶片

Fig. 4 The *NtAP1* gene expression in different parts of flower from ‘Jinzhanyintai’ (A) and ‘Yulinglong’ (B)

A. Jinzhanyintai;1. Petal;2. Corona;3. Stamen;4. Pistil;5. Foliage;

B. Yulinglong;1. Petal;2. Corona;3. Outer stamen;4. Inner stamen;5. Pistil;6. Foliage

(图3)可以看出,中国水仙*NtAP1*基因与其它物种的MADS-box基因相似性较高,中国水仙*NtAP1*基因在5'端保守性较强,且在C末端具有典型的单子叶植物的AP1基序(LPPWML),说明所克隆的基因属于MADS基因家族的AP1-like功能基因。

2.3 *NtAP1*基因在不同组织器官中的表达模式

为了分析*NtAP1*基因是否参与重瓣水仙‘玉玲珑’的形成,本试验以中国水仙*Actin*基因为内参,采用半定量RT-PCR方法,分析*NtAP1*基因在单瓣水仙和重瓣水仙中的组织特异性表达,结果(图4,A、B)表明,该基因在‘金盏银台’和‘玉玲珑’的叶片中都没有表达,但在花瓣、副冠、雄蕊、雌蕊中都有表达,其中,在雌蕊中的表达量最高,在副冠中的表达量最低。

3 讨 论

Mandel等的研究表明,AP1基因能够通过UFO基因控制AP3和PI等B功能基因的表达区域,以转录激活因子的方式决定花瓣的特异性^[6]。基于吴菁华等的研究,中国水仙重瓣花的产生可能与B类功能基因*NtPI*有关^[2]。为了了解AP1类基因在中国水仙花发育过程中的作用,本研究克隆了一个中国水仙A类基因,经过Blast比对分析、系统进化分析得出,该基因属于AP1-like基因,并将其命名为*NtAP1*基因。

Bowman等的研究表明,在拟南芥中,A功能基

因主要参与萼片和花瓣的发育,只有当A基因拓展到第3、4轮花器官中表达时,雄蕊发育成花瓣,心皮发育成萼片,从而产生花中花的重瓣形态^[18]。吕山花从太行花(*Taihangia rupestris*)中克隆了一个AP1基因,构建该基因的过量表达载体,转基因拟南芥的雄蕊发生瓣化^[13]。然而,在本研究中,*NtAP1*基因在中国水仙的各轮花器官中均有不同程度的表达,这与经典的ABC模型不完全一致,意味着在中国水仙中,AP1类基因存在功能多样性,这种表达模式在其它植物中也存在。在日本晚樱(*Prunus lannesiana*)中,*ClAP1*基因在四轮花器官中表达,且表达情况基本一致^[11]。荷花玉兰(*Magnolia grandiflora*)的AP1同源基因在花朵的各个器官和组织以及叶片中都有不同程度的表达^[19]。在文心兰中,AP1同源基因OMADS10在萼片、花瓣、唇瓣、合蕊柱以及叶片、花茎中均有表达,其中,在合蕊柱中的表达量最高^[10]。在石斛兰中,AP1基因参与各轮花器官的形成,且在蕊柱中高丰度表达^[20]。这说明在很多情况下,AP1类基因的表达与模式植物拟南芥存在一定的差异,推测中国水仙*NtAP1*基因可能参与决定花瓣、副冠以及雌雄蕊原基的特性。此外,由于该基因在‘金盏银台’和‘玉玲珑’中的表达模式完全一致,可认为本研究分离到的AP1基因在中国水仙重瓣的发生中没有发挥重要的作用。

参考文献:

- [1] DENG X J(邓新杰),XIONG L J(熊莉君),WANG Y(王 洋),et al. Ectopic expression of an AGAMOUS homolog *NTAG1* from Chinese narcissus accelerated earlier flowering and senescence in *Arabidopsis*[J]. *Molecular Plant Breeding*(分子植物育种),2011,9(2):238—244(in Chinese).
- [2] WU J H(吴菁华),YANG CH(杨 超),WU SH H(吴少华). Cloning and expression analysis of *NtAP1* homologous gene from *Narcissus*

- tazetta var. chinensis*[J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*(热带作物学报),2012,**33**(6):1 084—1 088(in Chinese).
- [3] DUBOIS A, RAYMOND O, MAENE M, et al. Tinkering with the C-function; a molecular frame for the selection of double flowers in cultivated roses[J]. *Plos One*, 2010, **5**(2):9288.
- [4] MANDEL M A, GUSTAFSON-BROWN C, SAVIDGE B, et al. Molecular characterization of the *Arabidopsis* floral homeotic gene *AP-ETALA1*[J]. *Nature*, 1992, **360**(6 401):273—277.
- [5] JOFUKU K D, DEN B B, VAN M M, et al. Control of *Arabidopsis* flower and seed development by the homeotic gene *APETALA2*[J]. *Plant Cell*, 1994, **6**(9):1 211—1 225.
- [6] MANDEL MA, GUSTAFSON-BROWN C, SAVIDGE B, et al. Molecular characterization of the *Arabidopsis* floral homeotic gene *AP-ETALA1*[J]. *Nature*, 1992, **360**(12):273—277.
- [7] IRISH V F, SUSSEX I M. Function of the *APETALA1* gene during *Arabidopsis* floral development[J]. *Plant Cell*, 1990, **2**(8):741—754.
- [8] MEDARD N, MARTIN F. Activation of the *Arabidopsis* B class homeotic genes by *APETALA1*[J]. *Plant Cell*, 2001, **13**(4):739—753.
- [9] REN L(任 磊), WANG Y(王 雁), ZHOU L(周 琳) et al. Cloning and expression of *PsAP1* gene related to flowering in tree peony [J]. *Acta Bot. Boreal.-Occident. Sin.*(西北植物学报),2011, **31**(9):1 719—1 725(in Chinese).
- [10] XU X Y(徐小雁), LONG M H(龙明华), TIAN M(田 敏). Fluorescent quantitative analysis of gene expression of *OMADS10* gene and *OAP3* gene in *Oncidium*[J]. *Hunan Agricultural Sciences*(湖南农业科学), 2011, (11):1—3,7(in Chinese).
- [11] LIU ZH X(刘志雄), WANG Y(王 莹), LÜ X M(吕小蒙), et al. Cloning and expression analysis of a floral organ identity gene *CfAP1* from *Prunus lannesiana*[J]. *Acta Horticulturae Sinica*(园艺学报), 2010, **37**(4):649—654(in Chinese).
- [12] HU X M(胡晓梅), ZHU X(祝 欣), WANG J M(王健美), et al. Analysis on differences of ABCD gene expression in bud and flower development of rape (*Brassica napus*)[J]. *Journal of Agricultural Science and Technology*(中国农业科技导报), 2007, **9**(5):80—86(in Chinese).
- [13] 吕山花. 太行花 MADS-box 基因克隆、表达模式及功能分析[D]. 北京:中国科学院植物研究所, 2006.
- [14] SU H Y(宿红艳), LI Q Z(李全梓), LI X G(李兴国), et al. Characterization and expression analysis of a MADS box gene, *HoMADS2*, in *Hyacinthus orientalis* L[J]. *Acta Genetica Sinica*(遗传学报), 2005, **32**(11):1 191—1 198(in Chinese).
- [15] FAN CH Y(樊春媛), YIN J M(印敬明), WANG B(王 冰), et al. Molecular cloning and expression analysis of a potato *StAP1* gene [J]. *Plant Physiology Communications*(植物生理学通讯), 2010, **46**(9):933—938(in Chinese).
- [16] WANG ZH J(王正加), HUANG Y J(黄有军), XIA G H(夏国华), et al. Cloning and analysis of the *APETALA1(AP1)* homolog gene from *Carya cathayensis*[J]. *Journal of Zhejiang Forestry College*(浙江林学院学报), 2008, **25**(4):427—430(in Chinese).
- [17] WEI ZH G(魏志刚), WEI J CH(魏继承), YANG CH P(杨传平), et al. Cloning and sequence analysis of MADS gene of *Betula platyphylla*[J]. *Journal of Northeast Forestry University*(东北林业大学学报), 2007, **35**(1):1—3(in Chinese).
- [18] BOWMAN J L, SMYTH D R, MEYEROWITZ E M. Genetic interactions among floral homeotic genes of *Arabidopsis*[J]. *Development*, 1991, **112**(1):1—20.
- [19] KIM S, KOH J, YOO M J, et al. Expression of floral MADS-box genes in basal angiosperms: implications for the evolution of floral regulators[J]. *The Plant Journal*, 2005, **43**(5):724—744.
- [20] YU H, GOH C J. Identification and characterization of three orchid MADS-box genes of the *AP1/AGL9* subfamily during floral transition [J]. *Plant Physiol.*, 2000, **123**(4):1 325—1 336.