

马铃薯 *StAPI* 基因的分子克隆与表达分析

樊春媛¹, 印敬明¹, 王冰¹, 韦青¹, 李根涛¹, 张云峰^{1,2}, 杨清^{1,*}

¹南京农业大学生命科学学院, 作物遗传与种质创新国家重点实验室, 南京 210095; ²江苏省环洪泽湖生态农业生物技术重点实验室, 江苏淮安 223300

摘要: 采用 RT-PCR 方法从马铃薯品种 ‘*Désirée*’ 中克隆了 *StAPI* cDNA 序列(GenBank 登录号 GU220568)。该基因 cDNA 开放阅读框长度为 735 bp, 编码一个由 244 个氨基酸残基组成的蛋白, 该蛋白分子量为 28.57 kDa, 理论等电点为 8.32。StAPI 蛋白含有 1 个高度保守的 MADS 结构域, 与烟草 NAP1 具有较高一致性。组织表达分析显示, *StAPI* 在马铃薯植株的顶芽、花和叶中有较高水平的转录表达, 在块茎中有微量表达。利用反义 *StCOL* 转基因马铃薯植株进一步分析表明, *StAPI* 的表达受 *StCOL* 的调控。

关键词: 马铃薯; *StAPI*; 克隆; 表达

Molecular Cloning and Expression Analysis of a Potato *StAPI* Gene

FAN Chun-Yuan¹, YIN Jing-Ming¹, WANG Bing¹, WEI Qing¹, LI Gen-Tao¹, ZHANG Yun-Feng^{1,2}, YANG Qing^{1,*}

¹State Key Laboratory of Crop Genetics and Germplasm Enhancement, College of Life Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; ²Jiangsu Key Laboratory for Eco-Agricultural Biotechnology around Hongze Lake, Huaian, Jiangsu 223300, China

Abstract: A homologue of *APETALA1* gene, designated *StAPI*, was isolated from potato ‘*Désirée*’ (*Solanum tuberosum*) by RT-PCR (GenBank accession number GU220568). The ORF of the *StAPI* was 735 bp long and encoded a putative protein of 244 amino acids with a molecular weight of 28.57 kDa and a theoretical pI of 8.32. *StAPI* protein contained a conserved MADS domain and had a high identity with AP1 homologous member from tobacco. Analysis on the mRNA level of *StAPI* showed that it was highly expressed in leaves, apical buds and flowers, and was expressed at lower levels in tubers. Further analysis with *StCOL*-antisense transgenic potato plants indicated that *StAPI* expression was regulated by *StCOL*.

Key words: potato; *StAPI*; cloning; expression

高等植物花的形成是一个非常复杂的生物学过程, 它是一个由一系列内源因子和环境信号介导的复杂的网络通路。花分生组织决定基因 *APETALA1* (*API*) 是植物从营养生长向生殖生长转换的关键性因子, 它一方面启动了花分生组织的发育, 另一方面也对花器官分化起了决定作用。*API* 的突变不仅抑制了花分生组织的形成, 部分花成为花序; 也使花器官的萼片与花瓣发育异常(Bowman 等 1993; Liu 等 2007)。

API 的表达受它的上游因子诱导。在长日照条件下, 光促使 *CONSTANS* (*CO*) 表达, *CO* 又促使叶片成花素 *FT* (*FLOWERING LOCUS T*) 表达 (Valverde 等 2004)。FT 蛋白作为系统的信号分子沿韧皮部向顶端分生组织移动(Corbesier 等 2007), 与优先在顶端分生组织表达的 *bZIP* 转录因子 *FD* 互作, 形成的 FT/*FD* 辅因子激活 *API* 表达, 并直接诱

导花芽分化和开花(Abe 等 2005; Wigge 等 2005; Blázquez 等 2006)。*API* 的表达受 *LEAFY* (*LFY*) 的正向调节, *LFY* 可直接促进 *API* 的转录(Parcy 等 2002)。

目前除拟南芥(Mandel 等 1992)外, *API* 同源基因已在金鱼草(Huijser 等 1992)、花椰菜(Anthony 等 1995)、烟草(Jang 等 1999)、苹果(van der Linden 等 2002)、小麦(Yan 等 2003)、水稻(Fornara 等 2004)、菊花(Shchennikova 等 2004)、槐树(Song 等 2008)、大枣(Sun 等 2009)等许多植物中被克隆。过表达 *API* 的转基因植株较野生型营养生长

收稿 2010-04-01 修定 2010-06-12

资助 江苏省环洪泽湖生态农业生物技术重点实验室开放基金(HZHL0807)和作物遗传与种质创新国家重点实验室开放基金(ZW2007003)。

* 通讯作者(E-mail: qyang19@njau.edu.cn; Tel: 025-84395221)。

时间大大缩短,花期均出现不同程度的提前(Mandel和Yanofsky 1995; Peña等2001; Ellul等2004)。

马铃薯为茄科茄属一年生草本植物,是一种重要的粮蔬兼用作物。它既可以利用块茎进行无性繁殖,也可以开花产生种子进行有性繁殖。块茎的形成受到许多因素的影响,包括日照长度、土壤含氮水平、植物激素以及赤霉素等(Sarkar 2008)。Rodríguez-Falcón等(2006)认为马铃薯开花与块茎发育存在相似的信号途径,即由光敏色素 *PHYB* 介导的 *CO/FT* 途径。目前,马铃薯的 *CO* 同源基因 *StCOL* 已经被克隆,该基因在块茎发育的各个时期均有表达(Guo等2007)。*API* 是 *CO* 介导的开花调控途径中的下游基因,为了弄清 *API* 与马铃薯块茎形成的关系,本文采用 RT-PCR 方法,从马铃薯栽培品种 ‘*Désirée*’ 中克隆 *StAPI* 基因,并对其表达特征及与块茎形成的关系进行了初步分析。

材料与amp;方法

试验材料马铃薯 (*Solanum tuberosum* L.) 栽培品种 ‘*Désirée*’ 和 ‘*Désirée*’ 的反义 *StCOL* 转基因株系由本实验室保存。2009年3月将带有芽眼的块茎切块种于大棚内,自然光照,常规管理。在开花期分别取其根、茎、叶、花、顶芽,经液氮速冻后,在 $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存,用于基因克隆和不同组织中表达分析。在采收期分别取马铃薯的起始匍匐茎、延伸匍匐茎、膨大匍匐茎、初始块茎和成熟块茎,液氮速冻后,置 $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存,用于块茎形成过程中的基因表达分析。

以顶芽为材料提取总RNA,提取按照Invitrogen公司的Trizol试剂盒的说明书进行。cDNA第一链的合成按照Promega公司Reverse Transcription System说明书进行。*StAPI* cDNA保守区段的扩增使用基于对GenBank中已有的拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*, Z16421)、烟草 (*Nicotiana tabacum*, AF009127)、苹果 (*Malus × domestica*, EU672877)、甜橙 (*Citrus sinensis*, AY338974)、葡萄 (*Vitis vinifera*, AY538746)、枇杷 (*Eriobotrya japonica*, AY880261)和甘蓝 (*Brassica oleracea*, BOU67451)的 *API* mRNA序列比对结果设计的一对保守引物A1: 5' ATAGAGAACAAGATCAATAGACAAG 3' 和A2: 5' TCTCCTTAATCTTCTTTGATAGCAT 3'。PCR扩增程序如下: $94\text{ }^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min; $94\text{ }^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s,

$46\text{ }^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s, $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 延伸 30 s, 30 个循环; $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保温 10 min。

根据获得的 *StAPI* cDNA保守片段序列和番茄 *API* 同源基因 *LeMADS-MC* 序列(AF448521, Vrebalov等2002)设计引物A3: 5' ATGGGAAGAG-GAAAAGTTGAATTAAG 3' 和A4: 5' TCATAGATGTTTTATTCATGTTGTAAAGTGG 3'。扩增 *StAPI* cDNA全长序列,PCR条件为: $94\text{ }^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min; $94\text{ }^{\circ}\text{C}$ 变性 40 s, $55\text{ }^{\circ}\text{C}$ 退火 40 s, $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 延伸 40 s, 30 个循环; $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保温 10 min。

克隆的PCR产物利用DNA片段纯化回收试剂盒(TianGen公司)回收,然后连接到pMD18-T载体(TaKaRa公司),转化大肠杆菌DH5 α ,经蓝白斑筛选和PCR检测,阳性克隆送华大基因进行测序。

StAPI 基因生物信息学分析采用下列方法:(1)序列同源性比对由NCBI的BLAST程序进行(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/>)。(2)开放阅读框预测由NCBI的ORFfinder程序进行(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/gorf.html>)。(3)蛋白质一级结构(等电点、分子量)的预测由ProtParam完成(<http://www.expasy.org/tools/protparam.html>)。(4)蛋白质序列区域(domains)分析由Smart完成(<http://smart.embl-heidelberg.de/smart/>)。(5)蛋白质三级结构预测由Swiss Model Server完成(<http://swissmodel.expasy.org/>)。(6)氨基酸的多序列比较和进化树的构建由DNAMAN-Tree View程序完成。

基因表达分析采用半定量RT-PCR,内参为 *GAPDH* 基因,引物分别为 *GAPDHS*: 5' TCAAC-GAGAATGAATACAAGCCA 3' 和 *GAPDHA*: 5' TCGACAACAGAAACATCAGCAGT 3',PCR条件为: $94\text{ }^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min; $94\text{ }^{\circ}\text{C}$ 40 s, $53\text{ }^{\circ}\text{C}$ 40 s, $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 40 s, 26 个循环; $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 10 min。利用引物A3和A4进行半定量RT-PCR分别检测 *StAPI* 基因在不同马铃薯组织中的表达。PCR扩增条件为 $94\text{ }^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min; $94\text{ }^{\circ}\text{C}$ 40 s, $55\text{ }^{\circ}\text{C}$ 40 s, $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 40 s, 28 个循环; $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 10 min。PCR产物经1%琼脂糖凝胶电泳检测。

结果与amp;讨论

1 *StAPI* 基因的克隆

根据来自其他植物的 *API* 保守区段序列设计

引物,以马铃薯 cDNA 第一链为模板,进行 RT-PCR 扩增,得到约 500 bp 的片段。根据获得的保守区片段序列分析,发现与番茄 *API* 同源基因 *LeMADS-MC* 序列相似度达到近 97%,按照番茄 *LeMADS-MC* mRNA 序列设计基因特异性引物,进行马铃薯 *API* 基因全长 cDNA 扩增,得到大小约为 750 bp 核苷酸序列(图 1)。经过核酸序列比对,发现 *StAPI* 序列与番茄 *API* 同源基因 *LeMADS-MC* 和烟草 *API* 同源基因 *NAP1-2* 有较高的一致性,分别为 98% 和 88%。该序列已被提交到 GenBank, 登录号为 GU220568。

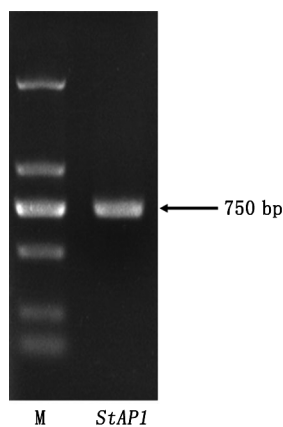


图 1 马铃薯 *StAPI* 基因扩增产物的琼脂糖凝胶电泳
Fig.1 Agarose gel electrophoresis of amplification product of *StAPI* from potato
M: DL2000, 条带由大到小分别为 2 000、1 000、750、500、250 和 100 bp。

2 *StAPI* 及其编码蛋白的生物信息学分析

StAPI 的 cDNA 序列含有一个长度为 735 bp ORF, 编码一个由 244 个氨基酸残基组成的蛋白, 蛋白分子量为 28.57 kDa, 等电点为 8.32。该蛋白在靠近 N- 末端的氨基酸特别保守(图 2)。相似性比较发现, *StAPI* 蛋白与来自烟草(*NAP1-2*)、牵牛(*PnAPI*)、拟南芥(*AtAPI*)、苹果(*MdAPI*-like)、葡萄(*VvAPI*-like)的同源蛋白有较高的一致性, 分别是 88.1%、77%、69.67%、65.2% 和 72.25%。

利用 Smart 在线服务分析 *StAPI* 蛋白, 发现 N- 末端第 1~60 位氨基酸残基间有 MADS 结构域, 第 75~176 位氨基酸残基间有 K-BOX 典型结构域(表

1), 说明 *StAPI* 蛋白以序列特异方式与 DNA 结合, 具有转录调节因子功能。利用在线分析软件 Swiss Model Servers 对马铃薯 *StAPI* 和烟草 *NAP1* 三级结构进行预测(图 3), 结果显示二者空间结构比较相似。

为了进一步了解 *StAPI* 蛋白与其他植物 *API*/*API*-like 蛋白的亲缘关系, 将 *StAPI* 与来自拟南芥、烟草、牵牛、芥菜、苹果等不同物种的 18 个同源蛋白序列进行了系统发生分析, 如图 4 所示, 马铃薯 *StAPI* 与 *NAP1*、*PnAPI* 同属于同一亚簇, 与烟草 *NAP1* 的亲缘关系更为相近。

3 *StAPI* 的组织表达特征分析

基因的表达特性与其生理功能密切相关。为了了解 *StAPI* 的功能, 利用半定量 RT-PCR 方法检测了马铃薯植株不同部位的 *StAPI* mRNA 水平。*StAPI* 主要在顶芽、花和叶中表达, 其中顶芽中表达最为强烈, 而根、茎中几乎检测不到(图 5-A)。这个结果与在烟草上获得的结果不完全一致, 在后者 *API* 同源基因主要在花器官表达, 根、茎、叶等营养器官不表达(Jang 等 1999)。在马铃薯块茎分化与发育过程中, *StAPI* 在初始块茎和成熟块茎中有微弱的表达, 而在匍匐茎中不表达。这个结果提示, *StAPI* 可能在块茎的发育过程中发挥作用(图 5-B), 但机理尚需要进一步深入地研究。

4 反义 *StCOL* 转基因植株中 *StAPI* 的表达分析

为了了解 *StAPI* 与 *StCOL* 之间的关系, 分析了反义 *StCOL* 转基因马铃薯植株的叶、顶芽、茎、匍匐茎、成熟块茎等各器官中 *StAPI* 基因的表达。结果显示, 在 *StCOL* 转基因植株叶和芽中的表达水平与对照相比明显的降低(图 6)。这表明 *StAPI* 的表达受 *StCOL* 的调控。在对照植株的块茎中没有检测到 *StAPI* 的表达, 这可能是 PCR 时 *StAPI* cDNA 模板量下调造成的。

在马铃薯块茎分化与发育这个过程中, 光调控是块茎形成的关键影响因子。有研究表明, 在花器官发育中起重要作用的转录因子 *CO* 参与了块茎形成的调控过程, 并起负调控作用(Martínez-García 等 2002)。本研究从马铃薯栽培品种 ‘*Désirée*’ 克隆得到了 *StAPI* 基因, 将有助于进一步研究 *StCOL* 介导的马铃薯块茎形成的调控机制。

马铃薯	MGRGKVEI RK IENKINRQVTF SKRRGGIVKKAHEI SVLCD	40
牵牛A I E M S M L C D	9
烟草	MGRGRVQ I K F I E N K I N R Q V T F S K R R A G I L K K A H E I S V L C D	40
葡萄	MGRGRVQ I K F I E N K I N R Q V T F S K R S T G L L K K A H E I S V L C D	40
苹果	MGRGK V Q I R R I E N K I N R Q V T F S K R R G G I V K K A H E I S V L C D	40
拟南芥	MGRGK V E I K F I E N K I N R Q V T F S K R R G G I V K K A H E I S V L C D	40
统一序列	a e s l c d	
马铃薯	AEVVAI IVFSQK GK I FEYSS DSCMEQ I L E R Y E R Y S Y A E R R L	80
牵牛	AEVVAI IVFSQK CK I FEYSS DSCMEQ I L E R Y E R Y S Y A E R R L	49
烟草	AEVVAI V V F S H K G K L F E Y S T D S C M E K I L E R Y E R Y S Y A E R Q L	80
葡萄	AQVAI IVFSNKGK L I E Y A T D S C M E Q I L E R Y E R Y S Y A E R Q L	80
苹果	AEVVAI IVFSHKGK I FEYSS DSCMEQ I L E R Y E R Y S Y T E R R L	80
拟南芥	AEVGL I V F S H K G K L F E Y S T D S C M E K I L E R Y E R Y S Y A E R R L	80
统一序列	a v l v f s k g k e y d s c m e i l e r y e r y s y e r l	
马铃薯	IANNSESPVQENWSIEYTKL KARID I L Q R N H K H Y M G E D I D	120
牵牛	IANNSESPVQENWSIEYTKL KARID I L Q R N H K H Y M G E D I D	89
烟草	I A F E S E V . . N T N W S M E Y N R I K A K I E I L E R N Q R H Y I G E D I Q	118
葡萄	V E P D F E S . . Q G N W T F E Y S R L K A K V E V I Q R N H R H Y I G E D I D	118
苹果	I A S N S E S S V Q E N W S I E Y A K L K A K I D I L Q R N H K H Y M G E D I D	120
拟南芥	I A N N S E S . . S E N W T I E Y A K L K A K V E I L K R N H K H Y M G E D I D	118
统一序列	n w e y l k a l r n h y g e d l	
马铃薯	SMSIKDIQNLEQQIDSAIKL I R S R K N Q I M F E S I T E L Q K K E	160
牵牛	SMSIKDIQNLEQQIDSAIKL I R S R K N Q I M F E S I S E L Q K K E	129
烟草	A M S P K E I Q N L E Q Q I D T A I K H I R T R K N Q I M Y E S I N E I Q K K E	158
葡萄	S L T I K E I Q S L E Q Q I D T A H K Q I R L R K N Q I M F E S I T E L Q K K E	158
苹果	S L N L K D I Q N L E Q Q I D T S I K L I R S R K N Q I M F E S I S M L Q K K E	160
拟南芥	T L S I K D I Q N L E Q Q I D S S I K L I R S R R N Q I I Y E S I S E L Q K K E	158
统一序列	k q l e q q l d k i r r n q l e s l q k e	
马铃薯	RAIIEENNM I T K K I K E K D K I V E Q Q G E . W H C Q F . .	191
牵牛	RAIIEENNM I T K K I K E K D K I V E Q Q G E . W H C Q T . .	160
烟草	K A I Q E Q N S M I S K Q I K E R E K I L R A Q C E Q . W L C Q N Q G	192
葡萄	K A I Q E Q N N L L A K K I K E K E K A A A Q F Q V Q N W E C Q N H D	193
苹果	K A I Q E E N N M I S K K I K E K I N T V G Q Q V E . W H C Q . . .	190
拟南芥	R A I R E E N N M I A K K I K E K E K S A A A A A A A Q F Q A P . W E C Q N . .	195
统一序列	a i e n l k i k e q w q q	
马铃薯	NQVST.....STSFLLQF..HQCINMGGNYQ..DEA	218
牵牛	NQVST.....STSFLLQF..HQCINMGGNYQ..DEV	187
烟草	HNMPPFLFPQCHQIQHPYMLSHQPSFELNMGGLYQE.DDP	231
葡萄	LDLIF.....QPLFCINIGGTQQ..DEF	214
苹果	NQVPT.....STSFLLQF..HFCINIGGNYQ..EEA	217
拟南芥	HQVPPG.....SSSFLFQCPSLFCINIGGSYGGEEAA	227
统一序列	l n g g q	
马铃薯	VEARRNN.EIDINILDSLYP.LYNMKNH	243
牵牛	AEARRNN.EIDINILDSLYP.LYNMKNH	212
烟草	MAMRRN..DLEITLFEFVYN.CNLGCFA	255
葡萄	LQVRRN..QLDITLFEFYS.CHLGCFA	238
苹果	EEARRN..EIDINILDSLYP.CHLGCFA	241
拟南芥	DEARRNNNDLIDINILDSLYPFPCHLGCFA	254
统一序列	rrn l l l y	

图2 StAP1与其它同源蛋白氨基酸序列比对

Fig.2 Alignment of the amino acid sequence of StAP1 with that of other homologous

相同的氨基酸残基用黑色阴影显示, 保守位点用灰色阴影显示, 各物种同源蛋白如下: 马铃薯(StAP1, ADA77531); 拟南芥(AtAP1, NP_177074); 苹果(MdAP1-like, AAL61543); 烟草(NAP1-2, AAD01422); 牵牛(PnAP1, BAG71406); 葡萄(VvAP1-like, XP_002263170)。

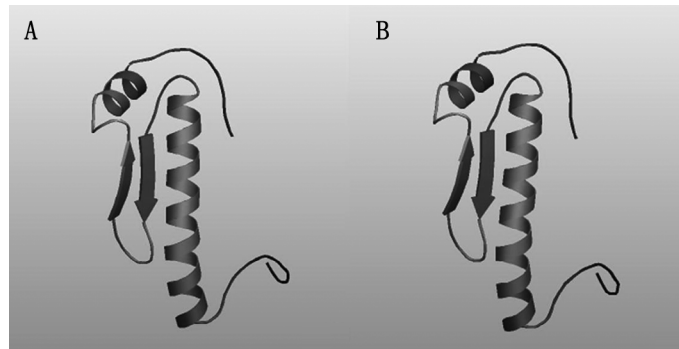


图3 烟草 NAP1 (A)和马铃薯 StAPI (B)三级结构模型
Fig.3 Tertiary structure model of NAP1 (A) and StAPI (B)

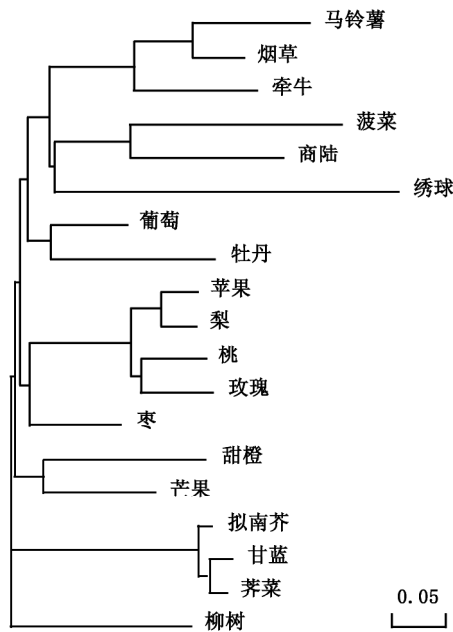


图4 StAPI 的系统发生分析

Fig.4 Phylogenetic analysis of StAPI

蛋白质及其索引号分别为: 马铃薯(StAPI, ADA77531)、烟草(NAP1-2, AAD01422)、牵牛(*Ipomoea nil*, PnAPI, BAG71406)、菠菜(*Spinacia oleracea*, SpAPI, ACE75943)、商陆(*Phytolacca americana*, PaAPI-like, AAP83384)、绣球(*Hydrangea macrophylla*, HmAPI-like, BAG68946)、葡萄(VvAPI-like, XP_002263170)、牡丹(*Paeonia suffruticosa*, PsAPI-like, AAP83419)、苹果(MdAPI-like, AAL61543)、梨(*Pyrus pyrifolia*, PpAPI, ABP93401)、桃(*Prunus persica*, PpAPI-like, ABU63953)、玫瑰(*Rosa hybrid cultivar*, RAPI-like, ACS74806)、枣(*Ziziphus jujuba*, ZjAPI-like, ACG70964)、甜橙(*CsAPI*, AAR01227)、芒果(*Mangifera indica*, MSAPI-like, ACS45102)、拟南芥(*AtAPI*, NP177074)、甘蓝(*BOAPI*, CAA86024)、芥菜(*Capsella bursa-pastoris*, CbAPI-like, ACD76816)和柳树(*Salix discolor*, SAPI, AAY82244)。

表1 StAPI 的结构域分析

Table 1 Analysis of StAPI domains

结构域	起始位置	终止位置	E 值
MADS	1	60	6.33e-39
K-BOX	75	176	4.07e-45

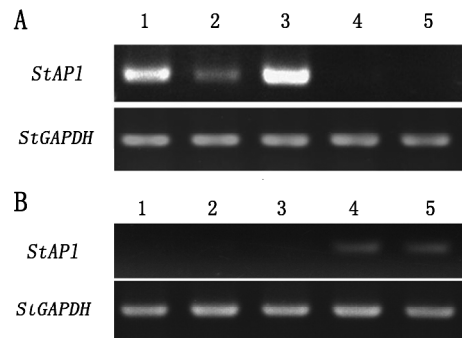


图5 StAPI 的组织表达分析

Fig.5 Expression analysis of StAPI in different tissues

A: StAPI 在不同组织的表达; 其中 1: 花; 2: 叶; 3: 顶芽; 4: 茎; 5: 根。 B: StAPI 在块茎形成过程中的表达; 其中 1: 起始匍匐茎; 2: 延伸匍匐茎; 3: 膨大匍匐茎; 4: 初始块茎; 5: 成熟块茎。

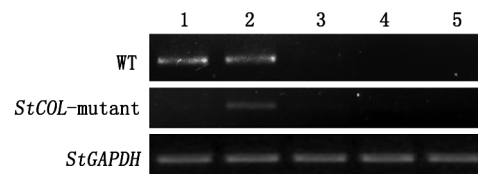


图6 反义 StCOL 转基因马铃薯植株中 StAPI 的表达分析

Fig.6 Expression analysis of StAPI in StCOL-antisense potato plants

1: 叶; 2: 顶芽; 3: 茎; 4: 匍匐茎; 5: 成熟块茎。 WT: 野生型; StCOL-mutant: 反义 StCOL 转基因植株; StGAPDH: 内参。

参考文献

- Abe M, Kobayashi Y, Yamamoto S, Daimon Y, Yamaguchi A, Ikeda Y, Ichinoki H, Notaguchi M, Goto K, Araki T (2005). FD, a bZIP protein mediating signals from the floral pathway integrator FT at the shoot apex. *Science*, 309: 1052~1056
- Anthony RG, James PE, Jordan BR (1995). The cDNA sequence of a cauliflower *apetala-1/squamosa* homolog. *Plant Physiol*, 108: 441~442
- Blázquez MA, Ferrándiz C, Madueño, F, Parcy F (2006). How floral meristems are built. *Plant Mol Biol*, 60: 855~870
- Bowman JL, Alvarez J, Weigel D, Meyerowitz EM, Smyth DR (1993). Control of flower development in *Arabidopsis thaliana* by *APETALA1* and interacting genes. *Development*, 119: 721~743
- Corbesier L, Vincent C, Jang S, Fornara F, Fan QZ, Searle I, Giakountis A, Farrona S, Gissot L, Turnbull C, et al. (2007). FT protein movement contributes to long-distance signaling in floral induction of *Arabidopsis*. *Science*, 316: 1030~1033
- Ellul P, Angosto T, García-Sogo B, García-Hurtado N, Martín-Trillo M, Salinas M, Moreno V, Lozano R, Martínez-Zapater JM (2004). Expression of *Arabidopsis APETALA1* in tomato reduces its vegetative cycle without affecting plant production. *Mol Breeding*, 13: 155~163
- Fornara F, Pařenicová L, Falasca G, Pelucchi N, Masiero S, Ciannamea S, Lopez-Dee Z, Altamura MM, Colombo L, Kater MM (2004). Functional characterization of *OsMADS18*, a member of the *API/SQUA* subfamily of MADS box genes. *Plant Physiol*, 135: 2207~2219
- Guo JL, Yang Q, Liang F, Xing YJ, Wang Z (2007). Molecular cloning and expression analysis of a novel *CONSTANS*-like gene from potato. *Biochemistry (Moscow)*, 72: 1241~1246
- Huijser P, Klein J, Lönnig WE, Meijer H, Saedler H, Sommer H (1992). Bracteomania, an inflorescence anomaly, is caused by the loss of function of the MADS-box gene *squamosa* in *Antirrhinum majus*. *EMBO J*, 11: 1239~1249
- Jang S, Hong MY, Chung YY, An G (1999). Ectopic expression of tobacco MADS genes modulates flowering time and plant architecture. *Mol Cells*, 6: 576~586
- Liu C, Zhou J, Bracha-Drori K, Yalovsky S, Ito T, Yu H (2007). Specification of *Arabidopsis* floral meristem identity by repression of flowering time genes. *Development*, 134: 1901~1910
- Mandel MA, Gustafson-Brown C, Savidge B, Yanofsky MF (1992). Molecular characterization of the *Arabidopsis* floral homeotic gene *APETALA1*. *Nature*, 360: 273~277
- Mandel MA, Yanofsky MF (1995). A gene triggering flower formation in *Arabidopsis*. *Nature*, 377: 522~524
- Martínez-García JF, Virgós-Soler A, Prat S (2002). Control of photoperiod-regulated tuberization in potato by the *Arabidopsis* flowering-time gene *CONSTANS*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 99: 15211~15216
- Parcy F, Bomblies K, Weigel D (2002). Interaction of *LEAFY*, *AGAMOUS* and *TERMINAL FLOWER1* in maintaining floral meristem identity in *Arabidopsis*. *Development*, 129: 2519~2527
- Peña L, Martín-Trillo M, Juárez J, Pina JA, Navarro L, Martínez-Zapater JM (2001). Constitutive expression of *Arabidopsis LEAFY* or *APETALA1* genes in citrus reduces their generation time. *Nat Biotechnol*, 19: 263~267
- Rodríguez-Falcón M, Bou J, Prat S (2006). Seasonal control of tuberization in potato: conserved elements with the flowering response. *Annu Rev Plant Biol*, 57: 151~180
- Sarkar D (2008). The signal transduction pathways controlling in planta tuberization in potato: an emerging synthesis. *Plant Cell Rep*, 27: 1~8
- Shchennikova AV, Shulga OA, Immink R, Skryabin KG, Angenent GC (2004). Identification and characterization of four chrysanthemum MADS-box genes, belonging to the *APETALA1/FRUITFULL* and *SEPALLATA3* subfamilies. *Plant Physiol*, 134: 1632~1641
- Song JC, Clemens J, Jameson PE (2008). Quantitative expression analysis of the ABC genes in *Sophora tetralpeta*, a woody legume with an unusual sequence of floral organ development. *J Exp Bot*, 59: 247~259
- Sun HF, Meng YP, Cao QF, Wada M, Liang AH (2009). Molecular cloning and expression analysis of a *SQUA/API* homologue in Chinese jujube (*Ziziphus jujube* Mill.). *Plant Mol Biol Rep*, 27: 534~541
- Valverde F, Mouradov A, Soppe W, Ravenscroft D, Samach A, Coupland G. (2004). Photoreceptor regulation of *CONSTANS* protein in photoperiodic flowering. *Science*, 303: 1003~1006
- van der Linden CG, Vosman B, Smulders MJM (2002). Cloning and characterization of four apple *MADS* box genes isolated from vegetative tissue. *J Exp Bot*, 53: 1025~1036
- Vrebalov J, Ruezinsky D, Padmanabhan V, White R, Medrano D, Drake R, Schuch W, Giovannoni J (2002). A MADS-box gene necessary for fruit ripening at the tomato *ripening-inhibitor (Rin)* locus. *Science*, 296: 343~346
- Wigge PA, Kim MC, Jaeger KE, Busch W, Schmid M, Lohmann JU, Weigel D (2005). Integration of spatial and temporal information during floral induction in *Arabidopsis*. *Science*, 309: 1056~1059
- Yan L, Loukoianov A, Tranquilli G, Helguera M, Fahima T, Dubcovsky J (2003). Positional cloning of the wheat vernalization gene *VRN1*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 100: 6263~6268