# 火龙果开花调控转录因子基因HpSOC1的克隆与表达分析

严佳文,解璞,袁启凤,肖图舰,毛永亚,马玉华\* 贵州省农业科学院果树科学研究所,贵阳550006

摘要: SOC1是拟南芥成花诱导过程中的关键基因之一,其表达产物能整合多条成花途径的调控信号。为揭示 火龙果(Hylocereus polyrhizus) SOC1同源基因在光周期成花途径中的作用机制,以火龙果芽为试验材料,应用 RACE技术克隆了SOC1同源基因,命名为HpSOC1。其cDNA全长为1365 bp,开放阅读框长度为651 bp,编码 216个氨基酸,GenBank登录号为MH230063。HpSOC1蛋白具有典型的MADS-box、K-box结构域和SOC1-MO-TIF,属于MADS基因家族中的SOC1/TM3亚家族,无信号肽输出位点和跨膜螺旋区,定位于细胞核内,属于非分 泌蛋白。基因表达分析结果显示,HpSOC1在茎、茎芽和花芽中的表达量显著高于根、花瓣和果皮;相比对照, 光照处理8 d时,HpSOC1表达显著上调。推测HpSOC1可能在营养生长向生殖生长转变的过程中发挥作用。 关键词:火龙果;光周期;SOC1同源基因;克隆;基因表达

火龙果(Hylocereus spp.)原产于墨西哥等中美 洲地区, 是一种典型的热带水果(俞超等2017)。我 国大陆地区于上世纪90年代开始引种试种火龙果, 目前已在多个南方省区广泛种植,经济效益显著 (Pan等2017)。火龙果属于典型的长日照植物,在 北半球各产区,每年5月至10月期间可多次开花结 果(Jiang等2016), 其中红肉类型成花的临界日照时 长为12 h (Jiang等2012)。研究表明, 延长光照时间 可诱导火龙果在非自然产期开花,从而实现周年 生产(Jiang等2016)。红肉类型火龙果只需较短时 间的补光处理即可有效催花,在植株无花果负载 情况下,持续补光15 d以上即可促进新的花芽分化 及形成(许明和翁武斌2015), 火龙果成花与光照时 间密切相关。植物成花受自身遗传因子和外界环 境因素的共同影响,其调控过程十分复杂。通过 对拟南芥成花的生理学和遗传学研究,目前已经 探明的调控途径有光周期、春化、温度、赤霉 素、自主和年龄(Srikanth和Schmid 2011)。以上6 条开花调控途径既相对独立,又通过信号整合因 子协同调控开花时间(张艺能等2014)。

SOC1 (SUPPRESSOR OF OVEREXPRES-SION OF CO1)是拟南芥(Arabidopsis thaliana)成花 诱导过程中的关键基因之一,其表达产物能整合 光周期、春化、赤霉素和年龄这几条成花途径的 调控信号(宋杨等2014;刘莉洁等2016)。近年来研 究表明, SOC1同源基因在大多数长、短日照植物 成花调控方面的功能相对保守:长日照条件下,水 稻(Oryza sativa) SOC1同源基因OsSOC1作为开花 促进因子参与成花过程(Tadege等2003); 玉米(Zea mays) ZmSOC1在拟南芥中过量表达可诱导LFY和 AP1的上调表达,导致开花时间提前(Zhao等2014); 过量表达石斛兰(Dendrobium) DOSOC1基因可以促 进其提早开花(Ding等2013); DcSOC1-1作为光周 期途径重要整合因子,在调控胡萝卜(Daucus carota) 先期抽薹过程中发挥重要作用(刘莉洁等2016)。 国内外对火龙果成花机理研究较少,还未见成花 相关基因相关报道,鉴定火龙果SOC1同源基因并 分析其功能具有重要意义。

研究以自交亲和型火龙果新品系黔蜜龙为试验材料,采用RACE技术获得了火龙果SOC1同源基因的cDNA全长序列,并进行了生物信息学分析;此外,还应用定量RT-PCR分析了该基因在不同组织中以及光照处理后的表达情况;以期为进一步研究火龙果SOC1同源基因功能奠定基础,为基于延长光周期的火龙果产期调控技术提供理论依据。

## 1 材料与方法

## 1.1 植物材料

试验材料处理于2017年4月10日在农业部火 龙果种质资源保护贵州创新基地(25°21'18''~25° 21'27''N, 105°46'14''~105°46'36''E)进行。选取长势

\* 通讯作者(myh79@163.com)。

收稿 2018-08-06 修定 2018-09-30

资助 贵州省重点科技攻关项目(黔科合NZ[2015]3001号)、公益 性行业(农业)科研专项(201403036)、贵州省改革转制项 目(黔科合体Z字[2014]4003号)和贵州省科技计划项目(黔 科合平台人才[2017]5603)。

一致、无病虫害的三年生黔蜜龙火龙果[Hylocereus polyrhizus (Weber) Britton & Rose]植株进行人工补 光处理。光照时间为每天上午5:00~7:00,晚上 19:00~21:00,共4 h,光照强度为24.3 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>。 采集补光处理1、8、15和21 d时(露花芽)及对照(自 然条件下)向光面结果枝刺座周围约1 cm<sup>2</sup>的肉质 茎各3份,每份20个茎块,液氮速冻后保存于-80°C 超低温冰箱。此外,采集自然条件下生长的火龙 果根、茎、茎芽、花芽、花瓣(开花前5 h)和果皮 (花谢后10 d)各3份,液氮冻存。所有材料取样时间 均为下午15:00左右。

#### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 RNA提取及cDNA合成

采用TRIzol试剂(Invitrogen, 美国)提取火龙果 芽总RNA, NanoDrop 2000检测总RNA的浓度和纯 度,琼脂糖凝胶电泳检测RNA完整性, Agilent 2100 测定RIN值。选取电泳条带清晰, RIN值 $\geq$ 7.0、 OD<sub>260/280</sub> $\geq$ 1.8、OD<sub>260/230</sub> $\geq$ 1.5的总RNA用于cDNA合 成,具体方法参考逆转录试剂盒说明书(Promega, M1701,美国)。

#### 1.2.2 基因克隆和测序

根据课题组前期获得的SOC1 unigene序列,应用Primer 5.0软件设计5' RACE引物GSP1和3' RACE 引物GSP2,引物信息见表1。

分别以5' RACE和3' RACE的cDNA为模板, 用GSP1、GSP2及RACE克隆试剂盒(SMART<sup>™</sup> RACE cDNA Amplification Kit, Clontech)中的通用 引物UPM, 进行PCR扩增, 具体方法参照试剂说明 书。扩增产物以1%琼脂糖凝胶电泳检测, 目标产 物以Easy Pure Quick Gel Extraction Kit试剂盒 (TransGen Biotech, 北京)进行回收。纯化后的PCR 产物连接到pMD18-T载体(TaKaRa, 大连), 热激转 化导入大肠杆菌DH5α (Tiangen, 北京), 选取5个经 PCR验证为阳性的单克隆送至上海生工生物工程 技术服务有限公司进行测序。应用BioEidt 7.0软 件对RACE克隆获得的序列进行拼接, 预测其开放 阅读框(open reading frame, ORF), 根据ORF序列设 计特异引物HpSOC1-F、HpSOC1-R, 进行ORF扩 增验证, 引物信息见表1。

#### 1.2.3 序列分析与系统进化树的构建

应用BioEidt 7.0软件翻译SOC1同源基因的 cDNA序列,获得氨基酸序列。分别应用ProtParam (https://web.expasy.org/protparam/)预测蛋白分子量、 等电点和疏水性、ExPaSy PSORT在线工具(http:// psort.hgc.jp/)进行亚细胞定位分析、TMHMM Server v.2.0 (http://www.cbs.dtu. dk/services/TMHMM/)进 行蛋白跨膜结构域预测、PredictProtein (https:// www.predictprotein.org/)在线工具进行蛋白质二级 结构预测。在NCBI数据库中检索不同物种的SOC1 同源基因的蛋白序列并下载相似性大于60%的序 列,应用DANMAN 8.0比对氨基酸序列,以MEGA 7.0构建系统进化树。

#### 1.2.4 定量RT-PCR分析

根据火龙果SOC1同源基因和内参基因ACTIN 序列(Nie等2015),应用Primer 5.0软件设计定量RT-PCR引物,引物信息见表1。采用BIO-RAD CFX Connect™荧光定量PCR检测系统分析HpSOC1基 因的相对表达量。定量RT-PCR反应体系为20 μL, 具体参照Power SYBR<sup>®</sup> Green PCR Master Mix (Applied Biosystems<sup>®</sup> Cat: 4367659)试剂盒说明

表1 火力	这果HpSOC	1基因克隆	及表达	分析	爿物
-------	---------	-------	-----	----	----

Table 1 The primers of <i>HpSOCT</i> for gene cloning and expression analysis					
引物类型	名称	序列(5′→3′)			
RACE克隆	GSP1	GTTGTATCATCTGTGGGGGGGGGGGTCT			
	GSP2	GGCGAAGCGGGTTGTTGAAGAAG			
	UPM	TAATACGACTCACTATAGGGCAAGCAGTGGTATCAACGCAGAGT			
ORF扩增	HpSOC1-F	ATGGTGAGGGGAAAAACCCAG			
	HpSOC1-R	TTAATTAACACGCTTAATTCTGC			
定量RT-PCR	qRT-HpSOC1-F	ATCAGAGGCACACAAGACAGA			
	qRT-HpSOC1-R	AGCTTCCATTGTCTCGATCCT			
	ACTIN-F	GAACAATGTTACCATACAGGTC			
	ACTIN-R	CAGCCCTCATTCATTGGTAT			

able 1	The prime	rs of HnSOCI	for gene	cloning	and e	voression	analycic	

书。定量RT-PCR程序为: 95°C预变性3 min; 95°C 变性10 s, 58°C退火20 s, 72°C延伸20 s, 40次循环; 最后设置熔解曲线分析程序。试验设置3次技术 重复,采用2<sup>-ΔΔCr</sup>法计算*HpSOC1*在不同处理及对照 样品中的表达量,数据以SPSS软件进行统计分析。

## 2 实验结果

#### 2.1 HpSOC1基因克隆

以火龙果芽cDNA为模板,应用RACE克隆分 别获得大小为670 bp的5'端片段(图1-A)和873 bp的 3'端片段(图1-B)。将得到的两段序列在BioEidt 7.0 软件中进行序列拼接,*HpSOC1*基因mRNA全长为 1 365 bp, ORF长度为651 bp。在ORF两端设计引 物进行PCR扩增,得到*HpSOC1*基因的ORF序列,测 序结果显示,PCR产物大小为651 bp (图1-C),与 RACE克隆拼接、预测序列完全一致。

#### 2.2 HpSOC1基因生物信息学分析

#### 2.2.1 HpSOC1编码蛋白理化性质分析

HpSOC1编码216个氨基酸组成的蛋白(图2), 其分子量为24.875 kDa,等电点9.32,带负电荷的氨 基酸(Asp+Glu)数量为32,带正电荷的氨基酸(Arg+ Lys)数量为38,不稳定指数59.28,平均疏水性值 为-0.808,属于亲水性蛋白。亚细胞定位结果显示, 该蛋白主要定位于细胞核内,无信号肽输出位点,是 非分泌蛋白。跨膜结构预测结果显示,该蛋白无跨膜 螺旋区,这一预测结果与其定位在细胞核内相符。

## 2.2.2 HpSOC1编码蛋白结构和进化树分析

将HpSOC1编码的氨基酸序列与丝石竹(Gyp-sophila paniculate)、拟南芥、水稻和玉米这几个

代表性物种中的SOC1同源蛋白进行序列比对,结 果显示,序列之间具有较高同源性,与GpSOC1的 同源性最高(75.11%)。氨基酸结构域预测结果显示, *HpSOC1*编码的氨基酸和代表物种的SOC1同源蛋 白一样,含有保守性较高的MADS-box和K-box,以 及保守性较低的I-domain和C-domain; C-domain末 端还含有保守性高的SOC1-MOTIF,属于SOC1/ TM3亚家族成员(图3)。蛋白质二级结构预测结果 表明*HpSOC1*编码蛋白的α-螺旋、β-折叠和延伸链 分别占比47.22%、42.59%和10.19%。

为进一步明确HpSOC1与其他物种SOC1同源 基因之间的进化关系,构建了HpSOC1与其他植物 SOC1同源蛋白(同源性大于60%)的系统进化树。 结果显示,HpSOC1与其他双子叶植物归为一组, 与丝石竹GpSOC1的亲缘关系最近,其次是菠菜 (Spinacia oleracea) SoSOC1和甜菜(Beta vulgaris) BvSOC1 (图4),进一步验证了HpSOC1基因属于 SOC1/TM3亚家族。

#### 2.3 HpSOC1表达分析

应用定量RT-PCR分析了*HpSOC1*基因在火龙果 不同组织和光照处理材料中的表达情况。*HpSOC1* 在根、茎、茎芽、花芽、花瓣和果皮中均表达,其 中茎、茎芽和花芽中的表达量显著高于根、花瓣 和果皮(图5) (P≤0.05)。光照处理1 d时, *HpSOC1* 表达量与对照接近,处理8 d时,其表达量(13.32± 3.01)显著高于处理1 d (5.24±1.37)和对照(5.52± 1.13) (P≤0.05),处理15和21 d时,其表达量恢复到 1 d时的水平,分别为3.33±0.96和3.74±0.68;各对照 样品中*HpSOC1*基因的表达量无显著差异(图6)。



图1 HpSOC1基因的RACE和开放阅读框扩增产物电泳图 Fig.1 PCR amplification result on agarose gel of RACE and ORF of HpSOC1 M: DL2000 marker, A: 5' RACE产物; B: 3' RACE产物; C: 开放阅读框扩增产物。

1	GTGAACGGTCAGTGATTCCTATACGACTCACTATAGGGCAAGCAGTGGTATCAACGCAGA
61	GTACATGGGGAAAAGAGAGAGAGATCAATCAATCACAAATTCACAGCCACCCCCCTTCTCT
121	ТТССССТСТАGTCTTCACCCCTCCCCCCAACCCAAAAAAAAAAAAAAAA
181	AAAATTCCAAAAAAAAAAGATCCATAACTAAAATCCCAGAACAATCAAAAAAGATTTTTT
241	TCTGGGTTCATTCATATCATATTCCCTCCACCGAAATTCAGTCCCCATTTTCATCTGGTA
301	ATTAAGTCAAACTCATCCAATTCTACAACACCCTTTTGAAATCTGAAGATTACTAAACCA
361	TATTGTATATATTCTACTGATTTACTGATCAATTAGGAAGTTTTGAAGGGAATAATCGA
421	TCATGGTGAGGGGAAAAACCCAGATGAAGAGGATAGAGAATGCAACAAGCAGGCAAGTAA
1	M V R G K T Q M K R I E N A T S R Q V
481	CCTTCTCGAAACGGCGAAGCGGGTTGTTGAAGAAGGCTTTTGAGCTTTCAGTTCTCTGTG
20	T F S K R R S G L L K K A F E L S V L C
541	ATGCTCAAGTTGCTCTCATCATCTTCTCTCCTAGAGGCAAGCTCTATGAATTTGCTAGTT
40	D A Q V A L I I F S P R G K L Y E F A S
601	CCAGCATGCAGGAAACTATTGTGCGTTATCAGAGGCACACAAGACAGAC
60	S S M Q E T I V R Y Q R H T R Q T R P T
661	ATGATACAACTGCAGAGGAAAGCATGCAGAGCATGAAGGAGGAAACTGCAACTTTGATGA
80	D D T T A E E S M Q S M K E E T A T L M
721	AGAGGATCGAGACAATGGAAGCTTCAAAACGGAGACTTCTGGGGGGAGAATTTGGCTTCAT
100	K R I E T M E A S K R R L L G E N L A S
781	GCACTTTGGAAGAGTTGCAACAGCTAGAAAGCCAATTGGAAAGAGGTGTAAGCAAAATCA
120	C T L E E L Q Q L E S Q L E R G V S K I
841	GAGCGAGAAAGAACCAAGTTTTCTCTGAACAAATCAGACAGTTGAGGGATAAGGAGAAGC
140	R A R K N Q V F S E Q I R Q L R D K E K
901	GACTTGCTGCTGAAAATGCTAGGCTGACTGAACAGTGTGCATTAACAAGAAAAGAACTTT
160	R L A A E N A R L T E Q C A L T R K E L
961	CAAATCAGCCGACTGAAGACACACCATCTGAGGATACGAATAGCCAAATATCTGAAGTGG
180	S N Q P T E D T P S E D T N S Q I S E V
$1\ 021$	AGACAGACTTATTCATTGGACTACCCGAGAGCAGAATTAAGCGTGTTAATTAA
200	ETDLFIGLPESRIKRVN*
$1\ 081$	AATAATGCATAATTATGTGTAATTAATCATACACTTTCTTAATTAGGTGTATGTTTTCAT
$1\ 141$	CTTGCACTTGATAATGTTTAACTAGGTGCAACATCATCTTGTTTGATTTGCTTATTGCTC
$1\ 201$	ACACACAATTAGTAGACTGTGTAGTATATATATATATTGTAATTTCACCTTCCTATATGCAT
1261	GTACTAATCTTTATGGTCATTGTTGATCGGTATAAAATGTGGAGACCGATGTAAATGGAA
1 321	ТТСАТАССТТӨӨТАТТААААААААААААААААААААААА

### 图2 HpSOC1基因cDNA全长序列、ORF和推测氨基酸序列

## Fig.2 cDNA sequence and deduced amino acid sequence of HpSOC1

带下划线的碱基序列ATG表示起始密码子;\*表示终止密码子TAA。

		MADS-box	I-domain	
HpSOC1 GpSOC1 AtSOC1 OsSOC1 ZmSOC1	MVRGKTQMKRIEN MVRGKTQMKRIEN MVRGKTQMKRIEN MVRGKTQMKRIEN MVRGKTQMKRIEN	ATSRQVTFSKRR <mark>S</mark> GLLKKAFELSVLCDAQVALTIFSPRGKLYEFASSSMQE ATSRQVTFSKRRNGLLKKAFELSVLCDAEVALTIFSPRGKLYEFASSSMQE ATSRQVTFSKRRNGLLKKAFELSVLCDAEV <mark>SLTIFSPKGKLYEFASSNMOT</mark> PTSRQVTFSKRRNGLLKKAFELSVLCDAEVALTVFSPRGKLYEFASASTOK PTSRQVTFSKRRNGLLKKAFELSVLCDAEVALTVFSPRGKLYEFASGSAGK	TIVRYQRHTRQTRPTD TIGRYQRHVRDAQPAR TIDRYLRHTKDRVSTK TIERYRTYTKENIGNK TIERYRTYTKDNVSNK	80 80 80 80 80
	I-domain	K-box		
HpSOC1 GpSOC1 AtSOC1 OsSOC1 ZmSOC1	DTTAEESMQSMKE DSSAEQDIQSLKE P.VSEENMQHLKY TVQQDIEQVKA TVQQDIERVKA	ETATLMKRIÐTMÐASKRRLIGÐNLASOTIÐELQQLESQLÐRGVSKIRARKN ETASLVKKVÐAIÐAKRRLIGÐNIGAGSLEÐIQQIÐNOLEKSVSKIRAKKN EAANMMKKIÐQLÐASKRKLIGÐGIGTOSIEELQQIÐQQLEKSVKCIRARKT DADGLAKKLÐALÐTYKRKLIGÐKLIÐCSIEÐLHSLÐVKLÐRSLISIRGRKT DADGLSKRLÐALÐAYKRKLIGÐRLÐOSIÐÐIHSLÐVKLÆKSLHCIRGRKT	QVFSEQIRQLRDKEKR QVFNEQIKQLKEKEKH QVFKEQIEQLKQKEKA KLLEEQVAKLREKEMK ELLEEQVRKLKQKEMS	160 160 159 158 158
	K-box	C-domain		
HpSOC1 GpSOC1 AtSOC1 OsSOC1 ZmSOC1	LAAENARUTEOCA LAAENORUTEKYG LAAENEKLSEKWG LRKDNEELREKCK LRKSNEDLREKCK	LTRKELS.NQFTEDT.PSEDTNSQISEVETDIFIGLESRIKRV WMPKEPSSVDKFTDDTSPSEDTASQISDVETDIFIGLEERIKRV SHESEVWS.NKNQESTGRGDEESSPSSEVETOIFIGLPCSSRK. NQPPLSAPLTVRAEDENPDRNINTTNDNMDVETEIFIGLPGRSRSSG KQPPVPMA.SAPPRAPAVDNVEDGHREPKDDGMDVETEITIGLE	N SSA GGAAEDSQAMPH .KDKAAVAVRS	216 221 214 229 231
		SOC1-MOTIF		

图3 HpSOC1基因编码氨基酸序列与其他植物SOC1的序列比对

Fig.3 Alignments of the *HpSOC1* deduced amino acid sequences with other SOC1 proteins from plants Hp: 火龙果; Gp: 丝石竹; At: 拟南芥; Os: 水稻; Zm: 玉米。





Fig.4 Phylogenetic tree of the deduced amino acid sequences of SOC1s in *H. polyrhizus* and other species Gm: 大豆; Vu: 豇豆; Ai: 花生; Cc: 木豆; Pa: 杏; Pp: 桃; Ps: 中国李; Eg: 地黄; Pr: 牡丹; At: 拟南芥; Bn: 油菜; Hp: 火龙果; Gp: 丝石竹; Bv: 甜菜; So: 菠菜; Cs: 茶树; Hv: 大麦; Ta: 小麦; Os: 水稻; Zm: 玉米。



图5 HpSOC1在火龙果不同组织部位的表达情况
Fig.5 The relative expression levels of HpSOC1 genes in different organs of H. polyrhizus
不同小写字母表示差异达显著水平(P≤0.05)。



图6 光照处理下HpSOC1在火龙果芽中的表达情况
 Fig.6 The expression levels of HpSOC1 genes under night-breaking treatment in the bud of H. polyrhizus
 \*表示不同处理间差异达显著水平(P≤0.05)。

#### 3 讨论

高等植物成花过程分为成花诱导(floral induction)、成花启动(floral evocation)和花的发育(floral development)三个阶段。其中,成花诱导阶段是植 物从营养生长向生殖生长转变的过程,在成花过 程中发挥关键作用(宋杨等2014)。自然条件下,大 多数植物一年只开花一次,而火龙果可以多次开 花结果,通过延长光照时间可诱导火龙果在非自 然产期开花,实现周年生产(Jiang等2016)。揭示光 周期调控火龙果成花的作用机制对于基于人工补 光的产期调节技术的改良和应用具有重要意义。 *SOC1*是MADS-box基因家族中的开花时间控制基 因,广泛存在于单子叶和双子叶植物中(Smaczniak 等2012),与下游花分生组织特异基因协同作用完 成成花转变过程(Liu等2007)。

HpSOC1推测的氨基酸序列含有保守性高的 MADS-box和K-box,保守性较低的I-domain和 C-domain, C-domain末端含有保守性高的SOC1-MOTIF,属于典型的SOC1/TM3亚家族基因。亚细 胞定位、跨膜结构预测结果显示, HpSOC1蛋白没 有跨膜螺旋区,定位于细胞核内,与玉米(Zhao等 2014)和中国水仙(武丹等2017)中的研究报道一 致。基因表达分析结果显示, HpSOC1在火龙果 根、茎、茎芽、花芽、花瓣和果皮中均有表达, 其中茎、茎芽和花芽中的表达量显著高于根、花 瓣和果皮。前人研究报道表明: 拟南芥AtSOC1 (AGL20)在根、茎、叶片、花蕾和花器官中都有表 达,在叶片和茎顶端的表达最强,在根中的表达量 较低(Lee等2000); 芒果MSOCI在根、茎、叶、花和 早期花芽中均有表达,叶片表达量最高,以下依次 为茎、花芽和根(魏军亚等2015); 梅花PmSOC1like在茎、叶中的表达量较高,在花、果实和种子 中表达量较低(李玉舒等2016)。HpSOCI的表达模 式与拟南芥AtSOC1、芒果MSOC1和梅花PmSOC1like基本一致,由此推测HpSOC1可能主要在调控 火龙果花芽分化前期表达,促进其从营养生长向生 殖生长转变。光照处理8 d时, HpSOCI表达量高于 处理1 d和对照; 到处理15 d时则恢复到初始水平, 与对照无显著差异。光照处理可诱导火龙果HpSOC1 基因上调表达,这与长日照处理促进胡萝卜DcSOCI-1 基因表达(刘莉洁等2016)的结果一致。HpSOC1基

因可能在延长光照时间诱导火龙果成花过程中发挥一定的作用。

SOC1基因表达产物整合多条开花途径信号 (段续伟等2017),不仅调控开花时间,还参与花器 官形态建成(Liu等2009)。本研究克隆了火龙果 SOC1同源基因,对其进行了生物信息学和组织特 异性分析;初步研究了该基因对光周期的响应特 征,为后续深入研究其功能奠定了基础。下一步 将构建HpSOC1基因的植物表达载体并转化模式 植物,验证基因功能,分析光周期途径中受Hp-SOC1表达产物调控或与之协作的基因的表达模 式,以期从分子水平揭示HpSOC1基因在火龙果调 控营养生长向生殖生长转变过程中的机制和作用 机理。

#### 参考文献(References)

- Ding LH, Wang YW, Yu H (2013). Overexpression of DO-SOC1, an ortholog of Arabidopsis SOC1, promotes flowering in the orchid Dendrobium Chao Parya Smile. Plant Cell Physiol, 54 (4): 595–608
- Duan XW, Ni Y, Zhang KC, et al (2017). The flowering-related genes expression differences in different scionstock combination of cherry. Acta Hortic Sin, 44 (11): 2064– 2074 (in Chinese with English abstract) [段续伟, 倪杨, 张开春等(2017). 甜樱桃不同砧穗组合成花调控关键 基因表达差异研究. 园艺学报, 44 (11): 2064–2074]
- Jiang YL, Liao YY, Lin MT, et al (2012). The photoperiod-regulated bud formation of red pitaya (*Hylocereus* sp.). HortScience, 47 (8): 1063–1067
- Jiang YL, Liao YY, Lin MT, et al (2016). Bud development in response to night-breaking treatment in the non-inductive period in red pitaya (*Hylocereus* sp.). HortScience, 51 (6): 690–696
- Lee H, Shu SS, Park E, et al (2000). The AGAMOUSE-LIKE 20 MADS domain protein integrates floral inductive pathways in *Arabidopsis*. Genes Dev, 14 (18): 2366–2376
- Liu C, Xi WY, Shen LS, et al (2009). Regulation of floral patterning by flowering time genes. Dev Cell, 16 (5): 711–722
- Liu C, Zhou J, Bracha-Drori K, et al (2007). Specification of *Arabidopsis* floral meristem identity by repression of flowering time genes. Development, 134 (10): 1901–1910
- Liu LJ, Ou CG, Zhao ZW, et al (2016). Function analysis of Carrot SOC1 homologues responding to photoperiod. Acta Hortic Sin, 43 (6): 1099–1106 (in Chinese with English abstract) [刘莉洁, 欧承刚, 赵志伟等(2016). 胡萝 *卜SOC1*同源基因对光周期的响应及其功能. 园艺学报, 43 (6): 1099–1106]

- Li YS, Yang WR, Cheng TR, et al (2016). Molecular cloning and expression analysis of flowering-regulating franscription factor *PmSOC1-like* gene in *Prunus mume*. Acta Agric Boreali-Sin, 31 (5): 78–85 (in Chinese with English abstract) [李玉舒, 杨炜茹, 程堂仁等(2016). 梅花 *PmSOC1-like*基因的克隆与表达分析. 华北农学报, 31 (5): 78–85]
- Nie Q, Gao GL, Fan QJ, et al (2015). Isolation and characterization of a catalase gene "*HuCAT3*" from pitaya (*Hylocereus undatus*) and its expression under abiotic stress. Gene, 563: 63–71
- Pan LM, Fu X, Zhang R, et al (2017). Genetic diversity among germplasms of pitaya based on SSR markers. Sci Hortic, 225: 171–176
- Smaczniak C, Immink RG, Angenent GC, et al (2012). Developmental and evolutionary diversity of plant MADS-domain factors: insights from recent studies. Development, 139 (17): 3081–3098
- Song Y, Dou LD, Zhang HJ (2014). Molecular and genetic mechanisms of control of floral induction in higher plants. Plant Physiol J, 50 (10): 1459–1468 (in Chinese with English abstract) [宋杨, 窦连登, 张红军(2014). 高 等植物成花诱导调控的分子和遗传机制. 植物生理学 报, 50 (10): 1459–1468]
- Srikanth A, Schmid M (2011). Regulation of flowering time: all roads lead to rome. Cell Mol Life Sci, 68 (12): 2013– 2037
- Tadege M, Sheldon CC, Helliwell CA, et al (2003). Reciprocal control of flowering time by OsSOC1 in transgenic Arabidopsis and by FLC in transgenic rice. Plant Biotechnol J, 1 (5): 361–369
- Wei YJ, Tang J, Liu GY, et al (2015). Cloning and expression

analysis of *MSOC1* gene in mango (*Mangifera indica* L.). Acta Bot Boreal-Occident Sin, 35 (6): 1092–1097 (in Chinese with English abstract) [魏军亚, 唐杰, 刘国银等 (2015). 芒果*MSOC1*基因的克隆与表达分析. 西北植物 学报, 35 (6): 1092–1097]

- Wu D, Wu JH, Zhang ZZ (2017). Cloning and subcellular localization of *NtSOC1* gene from *Narcissus tazetta* var. *chinensis*. Acta Bot Boreal-Occident Sin, 37 (10): 1889– 1895 (in Chinese with English abstract) [武丹, 吴菁华, 张志忠(2017). 中国水仙*NtSOC1*基因克隆及亚细胞定 位. 西北植物学报, 37 (10): 1889–1895]
- Xu M, Wong WB (2015). Biological characteristics and maturity regulating technology of pitaya. Fujian Agric Sci Tech, 46 (12): 24–26 (in Chinese with English abstract) [许明, 翁武斌(2015). 台湾常见火龙果产期调节技术. 福建农业科技, 46 (12): 24–26]
- Yu C, Chen Y, Wang CS, et al (2017). SNP sites development by specific length amplification fragment sequencing (SLAF-seq) and genetic analysis in red pitaya. Chin J Trop Crops, 38 (4): 591–596 (in Chinese with English abstract) [俞超, 陈煜, 汪财生等(2017). 基于SLAF-seq 技术的红心火龙果SNP位点开发及遗传分析. 热带作 物学报, 38 (4): 591–596]
- Zhang YN, Zhou YP, Chen HQ, et al (2014). Molecular basis of flowering time regulation in *Arabidopsis*. Chin Bull Bot, 49 (4): 468–482 (in Chinese with English abstract) [张艺能,周玉萍,陈琼华等(2014). 拟南芥开花时间调 控的分子基础. 植物学报, 49 (4): 468–482]
- Zhao SZ, Luo YZ, Zhang ZL, et al (2014). ZmSOC1, an MADS-Box transcription factor from Zea mays, promotes flowering in Arabidopsis. Int J Mol Sci, 15 (11): 19987–20003

# Molecular cloning and expression analysis of the flowering regulating transcription factor *HpSOC1* gene in *Hylocereus polyrhizus*

YAN Jia-Wen, XIE Pu, YUAN Qi-Feng, XIAO Tu-Jian, MAO Yong-Ya, MA Yu-Hua\*

Institute of Pomology, Guizhou Academy of Agricultural Sciences, Guiyang 550006, China

Abstract: *SOC1* is one of the key genes in flowering induction of *Arabidopsis thaliana*, and its encoded protein can integrate regulatory signals of multiple flowering pathways. To explore the molecular mechanism of *SOC1* homologous gene in photoperiod flowering pathway of pitaya [*Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton & Rose], *HpSOC1* was cloned through rapid amplification of cDNA ends technique from the bud of a pitaya strain qianmilong. The full-length cDNA and open reading frame (ORF) of *HpSOC1* is 1 365 bp and 651 bp, respectively, could encode 216 amino acids, and the GenBank accession number is MH230063. Sequence alignment and motif analysis showed that the deduced amino acids contains typical MADS-box and K-box domain, and a highly conserved motif named SOC1-MOTIF near the carboxy terminus. The phylogenetic analysis showed that it might belong to *SOC1/TM3* subfamily of MADS-box superfamily. The results of quantitative RT-PCR revealed that the expression level of *HpSOC1* gene in stem, stem bud and flower bud was significantly higher than that of root, petal and peel. Moreover, the transcription of the *HpSOC1* gene was significantly induced by 8 d night-breaking treatment, compared to untreated samples. It was deduced that *HpSOC1* may play an important role in flowering of pitaya.

Key words: pitaya (Hylocereus polyrhizus); photoperiod; SOC1 homologous gene; cloning; gene expression

Received 2018-08-06 Accepted 2018-09-30

This work was supported by the Guizhou Provincial Key Science and Technology Project (QKHNZ[2015]3001), the National Public Welfare Industry (Agriculture) Project of China (201403036), the Guizhou Provincial Reform and Transformation Project (QKHTZ[2014]4003) and Guizhou Provincial Science and Technology Program (QKHPTRC[2017]5603).

<sup>\*</sup>Corresponding author (myh79@163.com).