

# 牡丹开花调控转录因子基因 *PsCOL4* 的克隆、表达与系统进化分析

王顺利, 薛璟祺, 朱富勇, 张 萍, 任秀霞, 刘传娇, 张秀新\*

(中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 北京 100081)

**摘 要:** 采用 RT-PCR 方法从‘紫罗兰’牡丹 (*Paeonia suffruticosa* ‘Ziluolan’) 花芽中克隆得到 1 个重要开花调控转录因子基因 *CONSTANS-like*, 其 cDNA 全长 1 125 bp, 编码 373 个氨基酸。序列比对和结构域分析表明, 此蛋白包含两个 B-box 型锌指结构和 1 个 CCT 结构域, 与拟南芥的 *AtCOL4* 最为相似, 将其命名为 *PsCOL4*, GenBank 登录号为 KF113358。系统进化树分析表明, *PsCOL4* 与葡萄编码的 *VvCOL4* 的亲缘关系最近, 属于第 1 群组 CO 类似基因。实时定量 PCR 表明, *PsCOL4* 在不同组织器官中均有表达, 其中茎和叶中的表达量最高, 根中最低。在花芽不同发育时期, *PsCOL4* 的表达呈现递减趋势。不同光周期条件下, *PsCOL4* 的表达稍有不同, 短日照条件下在叶中的表达有所增加, 茎中稍有减少。

**关键词:** 牡丹; 光周期途径; *CONSTANS* 基因; *PsCOL4*; 实时定量 PCR

**中图分类号:** S 685.11

**文献标志码:** A

**文章编号:** 0513-353X (2014) 07-1409-09

## Molecular Cloning, Expression and Evolutionary Analysis of the Flowering-regulating Transcription Factor Gene *PsCOL4* in Tree Peony

WANG Shun-li, XUE Jing-qi, ZHU Fu-yong, ZHANG Ping, REN Xiu-xia, Liu Chuan-jiao, and ZHANG Xiu-xin\*

(Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

**Abstract:** One important flowering-regulating transcription factor gene *CONSTANS* (*CO*) was obtained from tree peony (*Paeonia suffruticosa* ‘Ziluolan’) by RT-PCR. The full cDNA length of *PsCOL4* was 1 125 bp, and could encode 373 amino acids. Sequence alignment and motif analysis showed that the deduced amino acids contained 2 B-box zinc finger motifs near the amino terminus and 1 conserved CCT domain near the carboxy terminus. It was designated as *PsCOL4* and the GenBank accession was KF113358, according to its high identity of *AtCOL4* in *Arabidopsis*. Phylogenetic analysis showed that it has close relationship with *Vitis vinifera*. The results of qRT-PCR revealed that the highest expression levels were appeared in the stems of *P. suffruticosa*, followed by leaves and buds. The expression pattern of *PsCOL4* from bud swelling to big-like flower-bud showed a decreased trend. The expression of *PsCOL4* has a few differences under different photoperiod treatments. The expression of *PsCOL4* increase in leaves

收稿日期: 2013-12-23; 修回日期: 2014-06-13

**基金项目:** 中国农业科学院院所基金项目 (2060302-2-12); 国家‘863’计划项目 (2011AA10020703); 国家公益性行业 (农业) 科研专项 (201203071); 中国农业科学院科技创新工程项目 (2013-2014); 农业部园艺作物生物学与种质创制重点实验室项目

\* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: zhxiuxin@163.com)

and decreased in stems under short day photoperiod, compared with that in long day photoperiod.

**Key words:** tree peony; photoperiod pathway; *CONSTANS*; *PsCOL4*; qRT-PCR

牡丹 (*Paeonia suffruticosa*) 原产于中国, 主要分布于中国的中部、西南部和西北部 (李嘉珏, 1999; Cheng, 2007; Yuan et al., 2011)。牡丹是多年生木本花卉, 自然花期相对集中 (北京地区一般为 4 月底到 5 月初) 而且很短, 单株自然花期约为 10 d, 因此不能满足人们在不同节日赏花的需求。另外, 牡丹的童期较长, 一般为 3~5 年, 大大增加了优良品种培育的难度 (李嘉珏, 1999)。因此深入开展牡丹成花的分子机理研究, 对指导牡丹生产具有十分重要的意义。

CONSTANS (CO) 蛋白是光周期途径中的一个关键的调控转录因子, 属于锌指蛋白, 含有保守的 B-box 结构域和 CCT 结构域 (Putterill et al., 1995)。长日照条件会激活 CO 基因的转录表达, 随后积累的 CO 蛋白通过激活下游基因 *FLOWERING LOCUS T (FT)* 和 *SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CONSTANS 1 (SOC1)* 的转录表达, 进而促进植株开花 (An et al., 2004)。在拟南芥中共发现了 17 个 CO 类似基因 (Putterill et al., 1995; Robson et al., 2001), 根据锌指结构域突变的情况, 可以将这 17 个基因分成 3 个组: 第 1 组包括 CO 和 *COL1~COL5*, 有 2 个 B-box; 第 2 组包括 *COL6~COL8* 和 *COL16*, 含有 1 个 B-box; 第 3 组包括 *COL9~COL15*, 含 1 个锌指结构和第 2 个分叉锌指 (Robson et al., 2001)。随后 CO 类似基因先后在单、双子叶植物中被发现, 其功能主要是在光照诱导下激活 *FT* 或其相关基因, 促进植株开花 (Yano et al., 2000; Suarez-Lopez et al., 2001; Griffiths et al., 2003; Nemoto et al., 2003; Ben-Naim et al., 2006; Almada et al., 2009; Herrmann et al., 2010; Huang et al., 2011)。由此可见, CO 类似基因在植物开花时间控制途径上的作用十分重要。尽管在牡丹中已经克隆得到了部分与花发育有关的基因, 如: *APETALAI* (任磊 等, 2011a)、*APETALA2* (任磊 等, 2011b) 和 *SEPALATA* (任磊 等, 2011c), 但是还未见有开花促进途径中的基因报道。因此克隆开花促进途径中的关键基因, 对研究牡丹花期调控具有重要意义。

本研究中以牡丹栽培品种‘紫罗兰’为试验材料, 利用 RT-PCR 的方法, 克隆得到了 CO 同源基因的全长 cDNA 序列, 同时采用实时荧光定量 PCR 探讨了 CO 基因在‘紫罗兰’牡丹不同器官、不同发育时期的花芽以及在不同光周期条件下的表达情况, 为进一步研究牡丹 CO 同源基因的功能及其在成花转变中的作用奠定了基础, 也为牡丹花期调控研究提供了理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

引自菏泽牡丹园的牡丹栽培品种‘紫罗兰’ (*Paeonia suffruticosa* ‘Ziluolan’) 栽种于中国农业科学院蔬菜花卉研究所牡丹资源圃中, 于 2013 年春季收取其在膨大期、显蕾期、小风铃期和大风铃期的花芽, 用于后续表达分析研究。2013 年春季于栽种育苗钵中幼苗叶片长到 10 cm 左右时, 将其移至光照培养箱中 (BYC4-100, 宁波欧普), 经不同光周期处理后取其根、茎和叶, 用于后续表达分析。

组织器官表达分析取样: 收取移至培养箱之前的幼苗根、茎和叶, 液氮速冻后 -80 °C 保存备用。

光周期处理: 培养温度为 25 °C, 光照强度为 500  $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ , 设置 8 h/16 h 和 16 h/8 h 两种光/暗周期处理, 先在各光周期处理条件下生长 3 d, 然后于第 4 天收取幼苗的根、茎和叶, 液氮速冻后保存于 -80 °C 备用。

## 1.2 RNA 的提取和 cDNA 的合成

提取花芽总 RNA (Li et al., 2010; Wang et al., 2012)。取 1  $\mu$ L 利用 NanoDrop ND-1000 分光光度计测定 RNA 浓度, 并判断其质量。然后取 1  $\mu$ g 高质量的 RNA, 利用 OligdT 和随机引物合成 cDNA 链, 具体步骤参照 Promega 的 M-MLV Reverse Transcriptase 说明书 (Promega, M1701, USA)。

## 1.3 引物设计与 PCR 反应体系

根据本实验室 454 转录组测序所得到的 *CO* 的 5' 和 3' 的部分序列以及已发表的 *CO* 类似基因的序列, 利用 Primer 5.0 软件设计了 1 对可以扩增 *PsCOL4* 完整开放读码框 (Open Reading Frame, ORF) 的正、反向引物, PsCO-1F: 5'-ATGGGTAGAGAAGAGGGGAG-3'; PsCO-1R: 5'-TTATCAAAACGATGGAACGAT-3'。以上述反转录的 cDNA 为模板进行 PCR 反应, 反应体系为 50  $\mu$ L。94  $^{\circ}$ C 预变性 4 min; 94  $^{\circ}$ C 变性 45 s, 54  $^{\circ}$ C 退火 1 min, 72  $^{\circ}$ C 延伸 80 s, 34 个循环, 72  $^{\circ}$ C 延伸 10 min。扩增产物经过琼脂糖凝胶电泳分离后, 选取目的条带进行切胶、回收, 连接到 Promega 的 pGEM-T 载体上 (Promega, Madison, WI 53711-5399, USA), 经过遗传转化, 将重组质粒转入大肠杆菌 DH5 $\alpha$  中。最后利用菌液 PCR 鉴定阳性克隆, 并随机选取 3 个阳性克隆送至北京华大基因公司进行测序。

## 1.4 序列分析与系统进化树的构建

利用 BioEdit 7.0 软件, 对克隆得到的 cDNA 序列进行翻译, 然后利用 NCBI 中的 protein blast 进行相似蛋白的搜索, 并下载相似性 > 50% 的蛋白序列, 最后利用 DNAMAN 5.0 进行蛋白序列比对, 利用 MAGA4.1 构建系统进化树, 具体步骤参考 Wang 等 (2011) 的报道。

## 1.5 实时定量 PCR 反应

设计 1 对引物 qPsCO-1F: 5'-TTGATACCAAACCCTAACGC-3', qPsCO-1R: 5'-TGATTCTGAAC CACCTCCG-3', 其扩增子的长度为 242 bp。选择表达相对稳定的 *actin* 基因 (JN105298) 作为内参基因 (张玉喜 等, 2011), RTactin1F: 5'-GAGAGATTCCGTTGCCAG-3'; RTactin1R: 5'-TCCTTG CTCATTCTGTCTGC-3', 扩增子长度为 191 bp。qRT-PCR 反应体系为 20  $\mu$ L。94  $^{\circ}$ C 预变性 3 min; 94  $^{\circ}$ C 变性 15 s, 55  $^{\circ}$ C 复性 15 s, 72  $^{\circ}$ C 延伸 20 s, 40 个循环。最后利用 CFX96 real-time system (Bio-Rad) 自带软件来计算 *PsCOL4* 在不同发育时期的表达, 每个 PCR 反应至少 3 次重复。

# 2 结果与分析

## 2.1 牡丹 *PsCOL4* cDNA 全长的克隆与序列分析

以 '紫罗兰' 牡丹花芽的 cDNA 为模板, 克隆得到了一个 1 125 bp 大小的含有完整开放读码框的 cDNA 序列 (图 1), 编码 373 个氨基酸。核苷酸 NCBI blast 分析发现, 克隆得到的 cDNA 序列与森林草莓 (*Fragaria vesca*) 的 *CONSTANS-like 4* 相似性最高, 其推导的氨基酸序列与葡萄的 *CONSTANS-like 4* 相似性最高, 故将其命名为 *PsCOL4* (*CONSTANS-like 4*), GenBank 登录号为 KF113358。

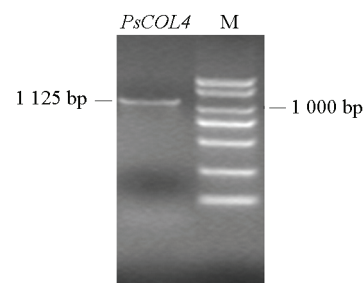


图 1 牡丹 *PsCOL4* 的 PCR 产物的琼脂糖凝胶电泳图  
Fig. 1 PCR amplification result on agarose gel of *PsCOL4*

## 2.2 牡丹 *PsCOL4* 编码氨基酸的同源性分析

氨基酸比对 (图 2) 发现, *PsCOL4* 含有典型的 B-box 和 CCT 结构域, 属于 CO 家族。两个 B-box 型锌指构型为 CX<sub>2</sub>CX<sub>8</sub>CX<sub>7</sub>CX<sub>2</sub>CX<sub>4</sub>HX<sub>8</sub>H 和 CX<sub>2</sub>CX<sub>8</sub>CX<sub>7</sub>CX<sub>4</sub>HX<sub>8</sub>H, 与拟南芥 CO 蛋白构型 (Putterill et al., 1995) 类似。

比对发现 *PsCOL4* 的 COOH 区域末端的 8 个氨基酸也高度保守, 由 GYGI/VVPSF 构成, *PsCOL4* 的中部区域保守性很低, 但仍有少数氨基酸序列表现为高度保守 (图 2)。基于氨基酸序列的同源性分析表明, *PsCOL4* 蛋白同葡萄 *VvCOL4* 蛋白的一致性最高, 为 69%, 与其他植物来源 CO 类似蛋白的一致性较低。但其在 B-box 锌指结构和 CCT 结构域处高度保守, 推断 *PsCOL4* 是具有生物功能的 CO 类似基因。

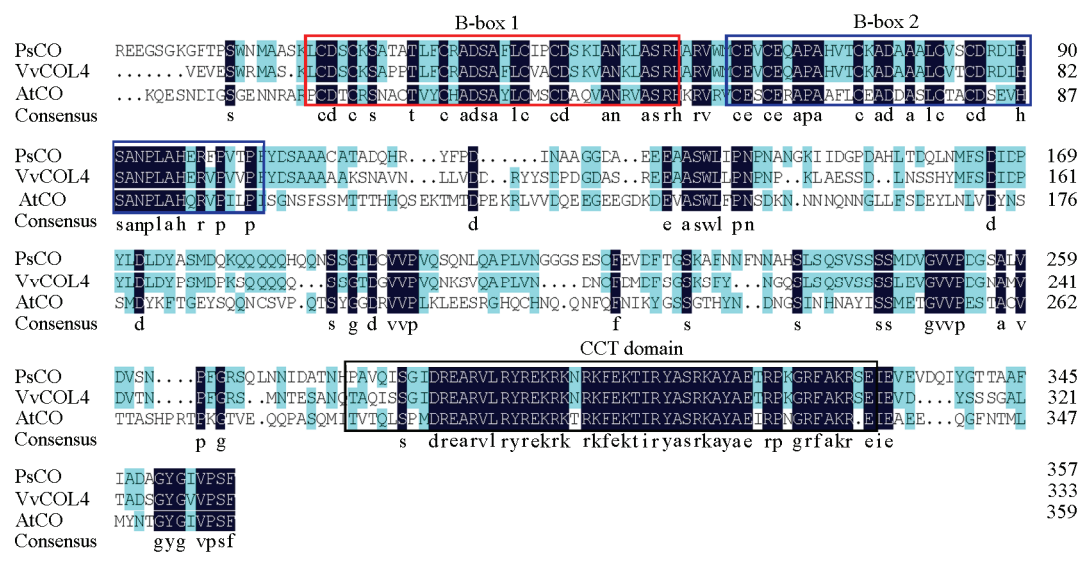


图 2 *PsCOL4* 基因的推测氨基酸序列与其他植物 CO 蛋白的多序列比对

*PsCO*: 牡丹 (KF113358); *VvCOL4*: 葡萄 (XM\_002263422); *AtCO*: 拟南芥 (NP\_97088)。

Fig. 2 Alignments of the *PsCOL4* deduced amino acid sequences with other CO proteins from plants

*PsCO*: *Paeonia suffruticosa* (KF113358); *VvCOL4*: *Vitis vinifera* (XM\_002263422); *AtCO*: *Arabidopsis thaliana* (NP\_97088) .

## 2.3 牡丹 *PsCOL4* 系统进化分析

为了探讨牡丹 *PsCOL4* 与来自拟南芥中的 CO 基因家族的关系, 首先利用拟南芥中的 17 个 CO 和 CO 类似蛋白与 *PsCOL4* 构建了系统进化树, 以耐盐蛋白 (NP\_849598) 作为外源群。结果表明 *PsCOL4* 与 CO 类似蛋白的第一组群聚为一枝, 属于 group I (图 3), 这也表明将克隆得到的 CO 类似基因命名为 *PsCOL4* 的合理性。

利用来自其他物种的 16 个 CO 和 CO 类似蛋白构建了系统进化树, 来探讨 *PsCOL4* 与它们之间的系统进化关系。结果表明: 单、双子叶植物编码的 CO 类似蛋白, 各聚为一枝; *PsCOL4* 与其他物种编码的 CO-like-4 蛋白聚到一起, 与葡萄中的 *VvCOL4* 聚在一起, 可以推测其与葡萄的亲缘关系最近, 与单子叶植物编码的 CO 类似基因亲缘关系最远 (图 4)。

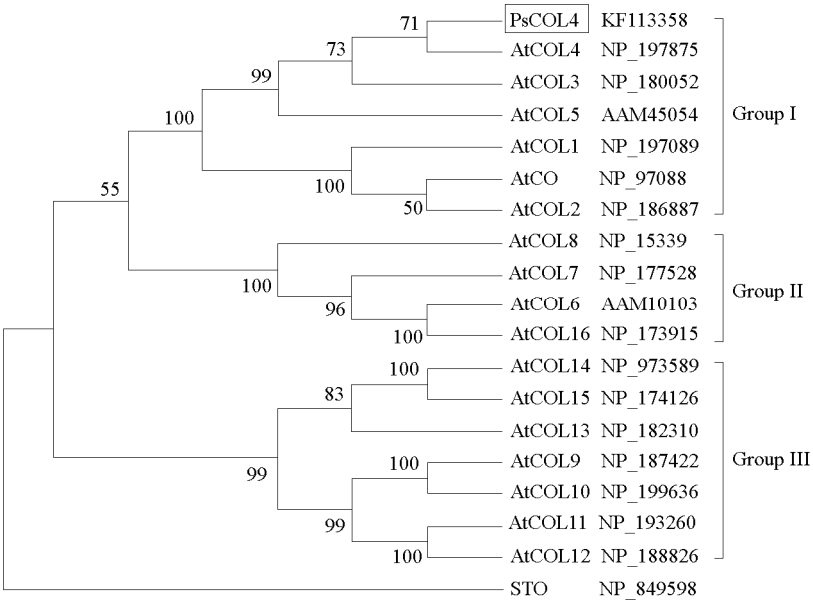


图 3 牡丹 *PsCOL4* 与拟南芥 CO-like 蛋白的系统进化分析

STO (SALT TOLERANCE, NP\_849598) 作为外源群。

Fig. 3 Phylogenetic relationship among *PsCOL4* and *Arabidopsis* CO-like proteins

The *Arabidopsis* accession numbers are indicated in the Figure and STO (SALT TOLERANCE, NP\_849598) as out-group.

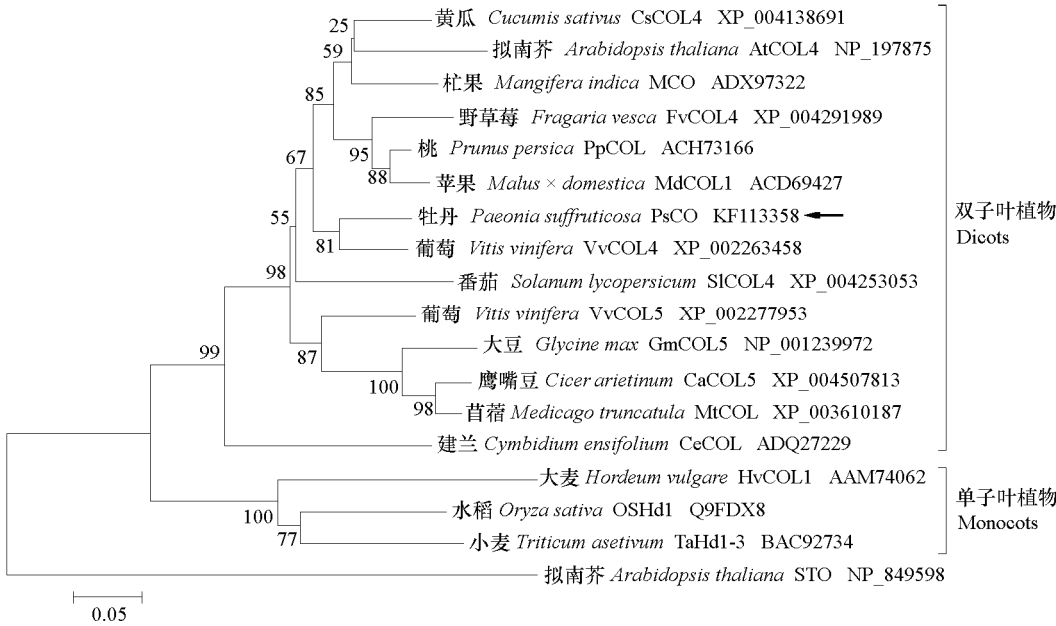


图 4 牡丹 *PsCOL4* 与其他物种 CO 蛋白的系统进化分析

自展值 (1 ~ 1 000) 标记各个节点, STO 蛋白 (SALT TOLERANCE, NP\_849598) 作为外源群。

Fig. 4 Phylogenetic relationship among CO and CO-like proteins

Boot-strap values from 1 000-replicates were indicated at each node and STO (SALT TOLERANCE, NP\_849598) was used as out-group.

## 2.4 *PsCOL4* 在牡丹不同组织器官和不同发育时期花芽中的表达分析

通过对不同组织器官中 *PsCOL4* 的表达分析 (图 5) 发现, *PsCOL4* 在牡丹根、茎、叶和花芽中都有表达, 但表达量存在一定的差异。在根中的表达量最低, 茎和叶中的表达量最高。推测幼苗时期的牡丹中, *PsCOL4* 在茎和叶中发挥的作用更大。

*PsCOL4* 在不同发育时期花蕾中的表达 (图 6) 分析表明, 从花芽膨大期到大风铃时期, *PsCOL4* 的表达呈现递减趋势。可以推测 *PsCOL4* 在花芽发育早期的大量表达, 便于尽早启动下游基因 *FT* 或者 *SOC1* 的表达, 最终调控牡丹花的正常开放。这与葡萄中解除休眠的花芽呈现递减的趋势相同 (Almada et al., 2009)。因此推测 *PsCOL4* 是牡丹开花调控的重要转录因子。

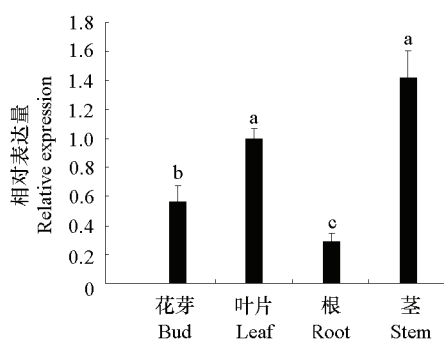


图 5 牡丹 *PsCOL4* 在幼苗的根、茎、叶和成年花蕾中的表达

a、b、c 表示在  $P \leq 0.05$  水平上差异显著。

Fig. 5 Expression analysis of *PsCOL4* gene in root, stem, leaf and bud in tree peony by qRT-PCR

a, b, c indicate significant difference at 0.05 level.

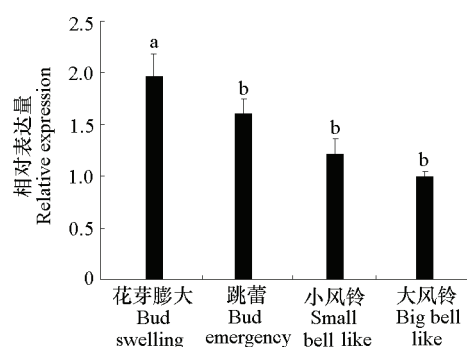


图 6 牡丹 *PsCOL4* 在不同发育时期花蕾中的表达

a、b 表示在  $P \leq 0.05$  水平上差异显著。

Fig. 6 Expression pattern analysis of *PsCOL4* gene in different developmental buds

a, b indicate significant difference at 0.05 level.

## 2.5 *PsCOL4* 在不同处理条件下牡丹根、茎和叶中的表达

两种光周期条件下, *PsCOL4* 在根中的表达量都比较低, 在茎和叶中的表达量都比较高 (图 7)。

与长日照条件下相比, 短日照条件下 *PsCOL4* 在叶片和根中的表达有增加的趋势, 而在茎中呈现降低的趋势。

总的来说, 不同光周期对 *PsCOL4* 的表达有一定的影响, 这同拟南芥 *CO* 基因和番茄 *SICOL1* 基因的表达模式 (Putterill et al., 1995; 叶雪凌 等, 2008) 不同。

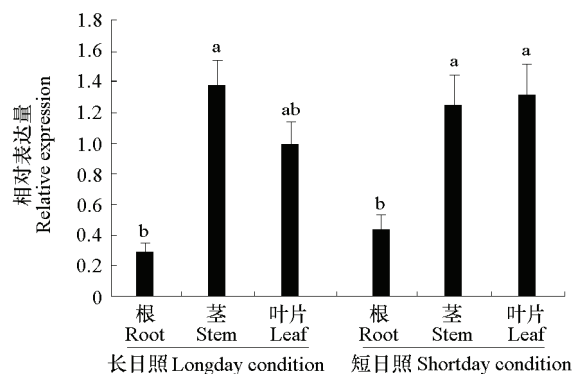


图 7 在长日照和短日照处理下牡丹 *PsCOL4* 在幼苗中的表达

a、b 表示在  $P \leq 0.05$  水平上差异显著。

Fig. 7 Expression analysis *PsCOL4* gene in tree peony seedlings under long and short day conditions

a, b indicate significant difference at 0.05 level.

## 3 讨论

被子植物中的光周期开花调控已经在很多植物中研究过, 结果表明不管是单子叶植物还是双子叶植物, 它们调控的分子机理是十分保守的 (Yanovsky & Kay, 2003)。光周期途径是亲缘关系较远的植物中最保守的开花响应途径, 它通过整合光照和生物钟等环境信号决定植株开花时间 (杨修勤



等, 2013)。而 CO 基因是生物钟和开花时间基因之间监测日照长度的重要元件, 在光周期途径中发挥核心功能。CO 蛋白可以整合光信号和生物钟信号, 诱导开花途径下游基因 *FT* 和 *SOC1* 的表达, 进而促进植株开花 (An et al., 2004)。目前在很多物种中都发现了 CO 的同源基因, 它们均含有保守的 B-box 型锌指结构和 CCT 基序 (Putterill et al., 1995; Yano et al., 2000; Suarez-Lopez et al., 2001; Griffiths et al., 2003; Guo et al., 2007; 叶雪凌 等, 2008; Almada et al., 2009; 郑本川 等, 2013)。本试验中首次克隆得到了 1 个光周期途径中的 CO 基因 *PsCOL4*, *PsCOL4* 含有 2 个 B-box 结构和 1 个 CCT 基序结构, 与拟南芥第 1 组群的 CO 类似基因具有相同的特点, 属于 CO 类似基因。CO 基因家族中成员的数量在不同植物中也是不同的。拟南芥中至少有 17 个基因, 番茄中至少有 4 个基因, 而葡萄中至少有 14 个推测的 CO 基因 (Griffiths et al., 2003; Ben-Naim et al., 2006; Almada et al., 2009)。因此推测 CO 类似基因在牡丹中可能也不止一个成员。

*PsCOL4* 基因在牡丹不同组织器官中均有表达, 但是表达量存在差异, 根中的表达量最低。而葡萄中 *VvCO* 和 *VvCOL1* 也是在根中的表达量最低 (Almada et al., 2009)。叶雪凌等 (2008) 在研究番茄 *CONSTANS* 类似基因在不同组织器官中的表达发现, *SICOL1* 在番茄的根、茎和叶片中也均有表达, 不过番茄叶片中的表达量最高。在甘蓝型油菜的研究中证实, CO 基因在不同组织器官中的表达受到油菜品系、取样时间的影响, 在整个生育期内, 早熟和晚熟甘蓝型油菜品系的 CO 基因以叶片中的表达量最高, 茎和蕾中表达量次之, 且早晚表达量高于中午时分 (郑本川 等, 2013)。在马铃薯不同发育时期, *StCOL* 基因的表达也存在差异, 在块茎形成前, *StCOL* 在叶片中表达量也是最高, 而在块茎形成后, 其在根中的表达量最高 (Guo et al., 2007)。因此推测在幼苗期, 牡丹茎中高表达的 *PsCOL4* 利于茎尖的生长 (Wigge et al., 2005)。对 *PsCOL4* 在不同发育时期花芽中的表达研究中发现, 其在花芽膨大期的表达量最高, 其可能的原因是高表达的 CO 将是诱导植物开花的开始。在拟南芥、杨树和黑麦的研究中也表明 CO 基因转录的增加与开花起始阶段是对应的 (Putterill et al., 1995; Yuccer et al., 2002; Martin et al., 2004)。综合 *PsCOL4* 蛋白结构特点以及在花芽中的表达模式, 可以推测 *PsCOL4* 是调控牡丹开花的重要转录因子。不同光周期研究证实, 在短日照条件下, *PsCOL4* 的表达量总体呈上升的趋势, 与葡萄中的 *VvCO* 和 *VvCOL1* 表达趋势相同, 与拟南芥和黑麦中的 CO 同源基因表达趋势相反 (Putterill et al., 1995; Martin et al., 2004; Almada et al., 2009), 其原因可能是由于不同植物的生态习性和发育状态所导致。总之, 牡丹光周期途径中的 CO 基因的成功克隆, 可以为以后深入研究牡丹开花诱导途径的分子机理奠定了理论基础。

## References

- Almada R, Cabrera N, Casaretto J A, Lara S R, Villanueva E G. 2009. *VvCO* and *VvCOL1*, two *CONSTANS* homologous genes, are regulated during flower induction and dormancy in grapevine buds. *Plant Cell*, 28: 1193 - 1203.
- An H, Roussot C, Suárez-López P, Corbesier L, Vincent C, Piñeiro M, Hepworth S, Mouradov A, Justin S, Turnbull C, Coupland G. 2004. *CONSTANS* acts in the phloem to regulate a systemic signal that induces photoperiodic flowering of *Arabidopsis*. *Development*, 131: 3615 - 3626.
- Ben-Naim O, Eshed R, Parnis A, Teper-Bamnolker P, Shalit A, Coupland G, Samach A, Lifschitz E. 2006. The CCAAT binding factor can mediate interactions between *CONSTANS*-like proteins and DNA. *Plant J*, 46: 462 - 476.
- Cheng F Y. 2007. Advances in the breeding of tree peonies and a cultivar system for the cultivar group. *International Journal of Plant Breeding*, (2): 90 - 104.
- Griffiths S, Dunford R P, Coupland G, Laurie D A. 2003. The evolution of *CONSTANS-like* gene families in barley, rice, and *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 131: 1855 - 1867.
- Guo J L, Yang Q, Liang F, Xing Y J, Wang Z. 2007. Molecular cloning and expression analysis of a novel *CONSTANS-like* gene from potato. *Biochemistry (Moscow)*, 72: 1241 - 1246.
- Herrmann D, Barre P, Santoni S, Julier B. 2010. Association of a *CONSTANS-LIKE* gene to flowering and height in autotetraploid alfalfa. *Theor Appl*

- Genet, 121: 865 – 876.
- Huang G W, Ma J H, Han Y Z, Chen X J, Fu Y F. 2011. Cloning and expression analysis of the soybean *CO-like* gene *GmCOL9*. Plant Mol Biol Rep, 29: 352 – 359.
- Li Jia-jue. 1999. Chinese tree peony and *Paeonia lactiflora*. Beijing: China Forestry Publishing House. (in Chinese)
- 李嘉珏. 1999. 中国牡丹与芍药. 北京: 中国林业出版社.
- Li X H, Wang K, Wang S L, Gao L Y, Xie Z Z, Hsam S L K, Zeller F J, Yan Y M. 2010. Molecular characterization and comparative transcriptional analysis of LMW-m-type genes from wheat (*Triticum aestivum* L.) and *Aegilops* species. Theor Appl Genet, 121: 845 – 856.
- Martin J, Storgaard M, Andersen C, Nielsen K. 2004. Photoperiodic regulation of flowering in perennial ryegrass involving a CONSTANS like homolog. Plant Mol Biol, 56: 159 – 169.
- Nemoto Y, Kisaka M, Fuse T, Yano M, Ogihara Y. 2003. Characterization and functional analysis of three wheat genes with homology to the *CONSTANS* flowering time gene in transgenic rice. Plant J, 36: 82 – 93.
- Putterill J, Robson F, Lee K, Simon R, Coupland G. 1995. The *CONSTANS* gene of *Arabidopsis* promotes flowering and encodes a protein showing similarities to zinc finger transcription factors. Cell, 80: 847 – 857.
- Ren Lei, Wang Yan, Zhou Lin, Peng Zhen-hua. 2011a. Isolation and flower organ-specific expression analysis of *APETALA2* gene *PsAP2* in tree peony // Zhang Qi-xiang. Studies on Chinese Ornamental Horticulture. Beijing: China Forestry Publishing House: 263 – 269. (in Chinese)
- 任磊, 王雁, 周琳, 彭镇华. 2011a. 牡丹 *APETALA2* 基因 *PsAP2* 的克隆及花器官特异性表达分析//张启翔. 中国观赏园艺研究进展. 北京: 中国林业出版社: 263 – 269.
- Ren Lei, Wang Yan, Zhou Lin, Peng Zhen-hua. 2011b. Isolation and expression analysis of *SEPALATA* gene in tree peony//Zhang Qi-xiang. Studies on Chinese Ornamental Horticulture. Beijing: China Forestry Publishing House: 270 – 277. (in Chinese)
- 任磊, 王雁, 周琳, 彭镇华. 2011b. 牡丹 *SEPALATA* 基因的克隆及表达分析//张启翔. 中国观赏园艺研究进展. 北京: 林业出版社: 270 – 277.
- Ren Lei, Wang Yan, Zhou Lin, Peng Zhen-hua. 2011c. Cloning and expression of *PsAPI* gene related to flowering in tree peony. Acta Bot Boreal-Occident Sin, 31(9): 1719 – 1725. (in Chinese)
- 任磊, 王雁, 周琳, 彭镇华. 2011c. 牡丹开花相关基因 *PsAPI* 的克隆与表达. 西北植物学报, 31(9): 1719 – 1725.
- Robson F, Costa M M, Hepworth S R, Vizir I, Pineiro M, Reeves P H, Putterill J, Coupland G. 2001. Functional importance of conserved domains in the flowering-time gene *CONSTANS* demonstrated by analysis of mutant alleles and transgenic plants. Plant J, 28: 619 – 631.
- Suarez-Lopez P, Wheatley K, Robson F, Onouchi H, Valverde F, Coupland G. 2001. *CONSTANS* mediates between the circadian clock and the control of flowering in *Arabidopsis*. Nature, 410: 1116 – 1120.
- Wang S L, Li X H, Wang K, Wang X Z, Li S S, Zhang Y Z, Guo G F, Zeller F J, Hsam S L K, Yan Y M. 2011. Phylogenetic analysis of C, M, N, and U genomes and their relationships with *Triticum* and other related genomes as revealed by LMW-GS genes at *Glu-3* loci. Genome, 54: 273 – 284.
- Wang S L, Shen X X, Ge P, Li J, Subburaj S, Li X H, Zeller F J, Hsam S L K, Yan Y M. 2012. Molecular characterization and dynamic expression patterns of two types of  $\gamma$ -gliadin genes from *Aegilops* and *Triticum* species. Theor Appl Genet, 125: 1371 – 84.
- Wigge P A, Kim M C, Jaeger K E, Busch W, Schmid M, Lohmann J U, Weigl D. 2005. Integration of spatial and temporal information during floral induction in *Arabidopsis*. Science, 309: 1056 – 1059.
- Yang Xiu-qin, Tang Qing-lin, Song Ming, Wang Zhi-min. 2013. Flowering control mechanism of *CO* as a key factor in photoperiod pathway. Plant Physiology Journal, 49 (9): 861 – 868. (in Chinese)
- 杨修勤, 汤青林, 宋明, 王志敏. 2013. 光周期途径核心因子 *CO* 的开花调控机制. 植物生理学报, 49 (9): 861 – 868.
- Yano M, Katayose Y, Ashikari M, Yamanouchi U, Monna L, Fuse T, Bana T, Yamamoto K, Umehara Y, Nagamura Y, Sasakia T. 2000. Hd1, a major photoperiod sensitivity quantitative trait locus in rice, is closely related to the *Arabidopsis* flowering time gene *CONSTANS*. Plant Cell, 12: 2473 – 2484.
- Yanovsky M, Kay S. 2003. Living by the calendar: How plants know when to flower. Nature reviews. Mol Cell Biol, (4): 265 – 275.
- Ye Xue-ling, Liu Zhi-yong, Wang Xiao-xuan, Du Yong-chen, Guo Yan-mei. 2008. Molecular cloning and expression analysis of a *CONSTANS*-like gene *SICO1* from *Solanum lycopersicum*. Acta Horticulturae Sinica, 35 (11): 1607 – 1612. (in Chinese)



- 叶雪凌, 刘志勇, 王孝宣, 杜永臣, 国艳梅. 2008. 番茄 *CONSTANS* 类似基因的克隆与表达分析. 园艺学报, 35 (11): 1607 - 1612.
- Yuan J H, Cheng F Y, Zhou S L. 2011. The phylogeographic structure and conservation genetics of the endangered tree peony, *Paeonia rockii* (Paeoniaceae), inferred from chloroplast gene sequences. Conserv Genet, 12: 1539 - 1549.
- Yuccer C, Harkess R L, Land S B, Luthe D S. 2002. Structure and developmental regulation of *CONSTANS-LIKE* genes isolated from *Populus*. Plant Sci, 163: 615 - 625.
- Zhang Yu-xi, Gai Shu-peng, Liu Chun-ying, Mu Ping, Zheng Guo-sheng. 2011. Selection of control genes in real-time qPCR analysis during bud dormancy release in tree peony (*Paeonia suffruticosa*). Molecular Plant Breeding, (9): 1052 - 1056. (in Chinese)
- 张玉喜, 盖树鹏, 刘春英, 穆平, 郑国生. 2011. 牡丹花芽休眠解除过程中实时定量 PCR 内参基因的选择. 分子植物育种, (9): 1052 - 1056.
- Zheng Ben-chuan, Zhang Jin-fang, Li Hao-jie, Chai Liang, Cui Cheng, Jiang Jun, Pu Xiao-bin, Niu Ying-ze, Jiang Liang-cai. 2013. Analysis of quantitative expression of the flowering-regulating transcription factor *CONSTANS* gene in *Brassica napus* L. Scientia Agricultura Sinica, 46 (12): 2592 - 2598. (in Chinese)
- 郑本川, 张锦芳, 李浩杰, 柴靓, 崔成, 蒋俊, 蒲晓斌, 牛应泽, 蒋梁材. 2013. 甘蓝型油菜开花调控转录因子 *CONSTANS* 的表达分析. 中国农业科学, 46 (12): 2592 - 2598.

## 通知

# 关于申报 2014 年度“华耐园艺科技奖”的通知

为了加快园艺科技的发展, 促进科研与生产的紧密衔接, 中国园艺学会和北京华耐农业发展有限公司联合设立“华耐园艺科技奖”, 经科技部国家科学技术奖励工作办公室批准, 对在国内园艺科技领域做出突出贡献的科研成果进行奖励, 由中国园艺学会具体承办。经 2014 年 4 月 2 日第十二届一次常务理事会议研究决定, 对 2014 年华耐园艺科技奖管理办法进行了调整, 奖励名额 8 个 (果树、蔬菜专业各 3 个, 西甜瓜和观赏园艺专业各 1 个, 奖金 5 万元; 特等奖 1 个, 奖金 10 万元; 可空缺)。现将有关事宜通知如下:

### 一、奖励范围:

华耐园艺科技奖奖励在全国园艺作物的种质资源、育种、生物技术、栽培、病虫害防治、贮藏加工等科学研究、技术推广中取得突出成绩的科研成果。

### 二、申报条件:

1. 属于华耐园艺科技奖奖励范围的科研成果。2. 不存在成果权属、完成单位、完成人等方面的争议。3. 尚未获得国家、省部级科技奖励的科研成果。

### 三、申报要求:

1. 由成果完成单位自愿申请, 填写华耐园艺科技奖申请表 (<http://cshs.org.cn>), 提供必要的成果奖励证明或评价材料, 经所在工作单位领导同意推荐并加盖公章、2 名正高级专业技术职务同行专家 (其中有 1 名外单位的专家) 联名推荐上报。

2. 将申请表的纸质材料一式两份邮寄至中国园艺学会办公室, 同时将电子版发至中国园艺学会邮箱 ([cshs@caas.cn](mailto:cshs@caas.cn))。邮件封面请写华耐园艺科技奖申报材料字样。

3. 申报截止时间 2014 年 8 月 31 日止 (以邮戳为准), 过期不予受理。

### 四、联系方式:

受理单位: 中国园艺学会华耐园艺科技奖办公室

联系人: 蒋淑芝, 电话: 010-82109526; 张彦, 电话: 010-82109528

通信地址: 北京中关村南大街 12 号 中国农业科学院蔬菜花卉研究所 (邮编 100081)

电子邮箱: [cshs@caas.cn](mailto:cshs@caas.cn); 网址: <http://cshs.org.cn> (具体详情请查阅中国园艺学会网站)

中国园艺学会  
2014 年 5 月 20 日