

DOI:10.11913/PSJ.2095-0837.2017.30354

张柯彬, 陈炳全, 刘志雄. 甜荞 *FaesAP2* 基因的克隆与表达分析[J]. 植物科学学报, 2017, 35(3): 354-361Zhang KB, Chen BQ, Liu ZX. Cloning and expression analysis of the *FaesAP2* gene from *Fagopyrum esculentum* (Polygonaceae) [J].*Plant Science Journal*, 2017, 35(3): 354-361

甜荞 *FaesAP2* 基因的克隆与表达分析

张柯彬, 陈炳全, 刘志雄*

(长江大学园艺园林学院, 湖北荆州 434025)

摘要: 本研究采用同源克隆和 RACE 技术, 从甜荞 (*Fagopyrum esculentum* Moench.) 品种‘西农 9976’中分离出调控花器官发育的 *FaesAP2* 基因, 该基因序列全长 1668 bp, 包含 1 个长为 1374 bp 的完整开放阅读框, 共编码 457 个氨基酸。序列比对以及系统发育分析结果发现, *FaesAP2* 蛋白拥有 2 个高度保守的 AP2 (APETALA2) 结构域, 在第 1 个 AP2 结构域前端有 1 段由 10 个氨基酸残基组成的高度保守的核定位信号区; 系统发育分析显示其与拟南芥 (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.) AP2 转录因子的亲缘关系较近。基因表达模式分析表明, 该基因在甜荞 pin 型和 thrum 型花的雄蕊和雌蕊中有明显的表达, 但在幼叶和花被片中不表达, 且其表达量在 2 种类型花不同发育时期呈现明显的变化, 均在花药迅速膨大期达到最高值, 因此推测该基因在甜荞花发育过程中可能参与了花器官发育的调控。

关键词: 甜荞; 花发育; APETALA2; *FaesAP2*

中图分类号: Q943.2

文献标识码: A

文章编号: 2095-0837(2017)03-0354-08

Cloning and expression analysis of the *FaesAP2* gene from *Fagopyrum esculentum* (Polygonaceae)

Zhang Ke-Bin, Chen Bing-Quan, Liu Zhi-Xiong*

(College of Horticulture and Gardening, Yangtze University, Jingzhou, Hubei 434025, China)

Abstract: The *FaesAG* gene, which regulates floral development, was isolated from common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench.) ‘xinong9976’ using homologous cloning and RACE methods. Results showed that the *FaesAG* cDNA was 1668 bp long with a 132 bp 5' leader region, 162 bp 3' untranslated region with a poly-A tail, and 1374 bp ORF encoding 457 amino acids. Sequence alignment and conceptual translation revealed that *FaesAP2* contained two highly conserved AP2 domains and a putative nuclear localization signal in front of the first AP2 domain. Phylogenetic analyses demonstrated that *FaesAP2* is close to the AP2 (APETALA2) transcript factor from *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. Expression analysis showed that *FaesAP2* was mainly expressed in the developing stamen and gynoecium of the pin and thrum flowers, respectively, but was absent from the developing leaves and tepals. Moreover, *FaesAP2* expression persisted throughout all stages of pin and thrum flower bud differentiation. When the anthers rapidly increased in size, *FaesAP2* expression reached the highest level in the pin and thrum flowers. These results show that *FaesAP2* might be involved in regulating floral organogenesis during *Fagopyrum esculentum* flower development.

Key words: *Fagopyrum esculentum* Moench.; Flower development; APETALA2; *FaesAP2*

收稿日期: 2016-11-02, 退修日期: 2017-01-11。

基金项目: 湖北省教育厅重点项目 (D20151302)。

This work was supported by a grant from the Key Project of Hubei Provincial Department of Education (D20151302)。

作者简介: 张柯彬 (1993-), 男, 硕士研究生, 研究方向为园林植物遗传发育与种质创新 (E-mail: 782537960@qq.com)。

* 通讯作者 (Author for correspondence. E-mail: zxliu77@yahoo.com)。

甜荞 (*Fagopyrum esculentum* Moench.) 是蓼科 (Polygonaceae) 荞麦属非禾谷类药食同源的小杂粮作物, 其种子富含赖氨酸、芦丁和抗氧化活性物等, 具有很高的营养价值和保健功效。同时甜荞还具有生育期短、耐瘠薄、耐涝抗旱等优点, 在亚洲、欧洲、北美等地区栽培历史悠久^[1]。甜荞和同属近缘种苦荞 (*F. tataricum* (L.) Gaertn) 是我国荞麦属的 2 个主要栽培种^[2,3]。在生产上, 甜荞的无限花序导致其不断开花结实, 同一植株甚至同一花序上存在不同发育时期的籽粒, 很难确定合适的收获时间; 加之落粒严重, 产量低, 直接限制这一重要经济作物的推广应用。因此, 系统研究甜荞花和籽粒的发育规律, 并运用到育种生产实践中, 对提高甜荞产量和探索高效栽培措施具有重要的理论意义和应用价值。

被子植物中, *APETALA2* (*AP2*)-like 基因编码一个包含 1 到 2 个 AP2 结构域的 AP2/ERF 转录因子, 其在花发育过程中主要参与成花转变、花分生组织形成、萼片和花瓣的特征决定、果实和种子的发育。*AP2-like* 基因包括 *AINTEGUMENTA* (*ANT*) 和 *euAP2* 这 2 种类型^[4,5]。例如: 拟南芥 (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh) 中, *AP2* 具有促进花分生组织分化、参与调控花萼、花瓣和种子的发育, 并具有抑制 C 类基因 *AGAMOUS* (*AG*) 的活性, 同时调控 B 类基因 *AP3* 和 *PISTILLATA* (*PI*) 表达等多种功能^[6]。*BnAP2* 是油菜 (*Brassica napus* L.) 的 *AP2* 同源基因, 其可代替内源 *AP2* 基因, 恢复拟南芥 *AP2* 功能缺失突变体的表型, 行使 A 类基因的功能^[7]; 矮牵牛 (*Petunia hybrida* (Hooker) Vilm.) 的 *AP2* 同源基因 *PHAP2A* 在花发育中与 *AP2* 基因的表达模式相似, 其在拟南芥 *AP2* 突变体中异位表达也可恢复其表型, 但在矮牵牛中并不参与花被 (花萼和花瓣) 的发育调控^[8]。在番茄 (*Solanum lycopersicum* Lam.) 中, 其 *AP2* 同源基因 *TAP2* 通过参与调控乙烯的合成与信号转导, 从而调控番茄浆果的成熟^[9]。美味猕猴桃 (*Actinidia deliciosa* (A. Chev.) C. F. Liang et A. R. Ferguson) *AcdeAP2* 基因在花瓣中有明显的表达, 参与花器官发育调控^[10]。禾本科 (Poaceae) 植物大麦 (*Hordeum vulgare* L.) 中, *HvAP2* 基因在花发育过程中参与调控穗子的形状及籽粒的密度^[11]。兰科 (Orchidoideae) 植物意大利红门兰

(*Orchis italica* Poir.) 的 *OritAP2* 基因可在花被和唇瓣中表达, 并通过可变剪接产生 2 个异构体, 其中一个在茎、根和受精前的胚珠中表达, 另一个在开花前的花序和发育的胚珠中表达, 从而参与花器官的发育^[12]。原始基部被子植物睡莲 (*Nymphaea tetragona* L.) 的 *NsAP2* 基因在花原基、花萼、花瓣、雄蕊和雌蕊中均有表达, 且其在花萼和花瓣中的表达量明显高于雄蕊和雌蕊, 进一步的功能分析发现, *NsAP2* 在拟南芥中异位表达能明显增加转基因植株花瓣的数量和株高, 表明其在花发育过程中参与了花器官形态建成、花器官数量调控和株型发育^[13]。上述研究表明, *AP2* 同源基因在不同类群被子植物中的表达模式和功能呈现多样化。

甜荞是典型的二型花柱 (distyly) 植物, 其自然群体中 pin 型 (长花柱短雄蕊) 和 thrum 型 (短花柱长雄蕊) 植株按 1:1 分离, 仅异型花授粉才能正常结实。甜荞同时是相对早期分化的核心真双子叶植物, 其所属的石竹目 (Caryophyllales) 在进化过程中比核心真双子叶植物最主要的 2 大类群菊类 (Asterids) 和蔷薇类 (Rosids) 更为原始^[14]。本研究以花被片为红色的甜荞品种 ‘西农 9976’ 为实验材料, 对甜荞 *AP2* 同源基因在 pin 型和 thrum 型花发育过程中的表达模式进行研究, 推测该基因在调控花发育过程中的功能, 以期解析核心真双子叶植物 *AP2* 同源基因的表达模式和功能演化, 揭示其在蓼科以及其他二型花柱植物花发育调控中的作用和功能提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

挑选颗粒饱满的甜荞品种 ‘西农 9976’ 的种子, 于 2014 年 8 月底播种于盛满营养土基质的花盆中, 置于长江大学园艺园林学院植物园, 进行常规水肥管理。10 月初盛花期时, 将花盆移至实验室, 先将植株按 pin 型和 thrum 型分类, 用镊子剥离花被片、雄蕊和雌蕊, 同时采集幼叶; 将幼叶、花被片、雄蕊和雌蕊用液氮速冻; 另将甜荞 pin 型和 thrum 型花序的小花按发育时期分类, 在 Leica 165C 型体视显微镜下进行解剖、拍照后用液氮迅速固定, 用于总 RNA 提取。

1.2 实验方法

1.2.1 甜芥 *FaesAP2* 基因的克隆

采用 EASYspin 植物总 RNA 提取试剂盒(艾德莱, 北京)提取甜芥花序的总 RNA。参照 Fang 等^[1]的方法合成第 1 链 cDNA。根据 NCBI 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 中已公布的其他植物的 *AP2* 同源基因设计 3'-RACE 扩增引物 GSPAP2。采用 3'-full RACE Core Set Ver. 2.0 试剂盒(TaKaRa)扩增 *FaesAP2* 基因的 3'端序列; 再根据获得的测序结果设计 5'-RACE 扩增引物 GSP1AP2 和 GSP2AP2, 扩增 *FaesAP2* 基因的 5'端序列。扩增序列进行拼接后, 在 5'-UTR 和 3'-UTR 区设计扩增 *FaesAP2* 的上下游引物 *FaesAP2F* 和 *FaesAP2R*, 从而获得甜芥 *FaesAP2* 基因的全长序列。实验所用引物见表 1。

表 1 引物名称及序列
Table 1 Primer name and sequences

引物名称 Primer name	引物序列 Primer sequences (5' – 3')
GSPAP2	5'-TGGATTGTGACACGGCACATGCAGCAG-3'
GSP1AP2	5'-TGGAGCAGAAAGCCTTTGATCATCAC-3'
GSP2AP2	5'-CCTCTGTATCAAATAGTCCCAAGTACAC-3'
FaesAP2F	5'-AGGTTTCTAGATACGGTTAATCGAG-3'
FaesAP2R	5'-GAGCTCTTGGCTACGTCATGGGAATAATG-3'
QFaesAP2F	5'-GGTAAAGATGCTGTCCACAAAC-3'
QFaesAP2R	5'-TGTTTCCTTGGATTGAGCTAC-3'
QFaesactinF	5'-ACCTTGCTGGACGTGACCTTAC-3'
QFaesactinR	5'-CCATCAGGAAGCTCATAGTTC-3'

1.2.2 蛋白序列比对与分子系统发育分析

将 *FaesAP2* 基因的蛋白序列在 NCBI 数据库中执行 BlastP 搜索 (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)。选取来源于 30 个不同被子植物的 *AP2* 同源蛋白(表 2)。以拟南芥的 ANT 蛋白为外类群, 采用 MEGA 5.0 软件的邻接法(NJ)构建蛋白序列的系统发育树^[15]。同时, 选取 PHAP2A、TAP2、AcdeAP2 和 AtAP2 4 个 *AP2* 同源蛋白^[6,8-10], 采用 ClustalW 程序, 对 *FaesAP2* 蛋白的结构域进行分析。

1.2.3 *FaesAP2* 基因的表达分析

分别提取甜芥 pin 型和 thrum 型花植株的幼叶、花被片、雄蕊和雌蕊中的总 RNA, 合成第一链 cDNA。通过半定量 RT-PCR 方法检测 *FaesAP2* 基因在这 4 种器官中表达的组织特异性; 分别提取甜芥 pin 型和 thrum 型花雌蕊原基形成期、花药迅

速膨大期、花丝和花柱伸长期、花芽成熟期共 4 个发育时期花芽的总 RNA, 采用实时荧光定量 PCR 技术(QRT-PCR)检测 *FaesAP2* 基因在 2 种类型花不同发育时期的相对表达量。PCR 实验所用引物分别为 QFaesAP2F 和 QFaesAP2R(表 1), 以甜芥 *FaesActin* 为内参基因, 内参基因引物分别为 QFaesactinF 和 QFaesactinR(表 1)。采用 SPSS11.0 软件的最小显著性差异法(Least significant difference, *LSD*)比较同种花型不同发育时期基因表达量的差异。

表 2 构建分子系统发育树的 *AP2* 同源蛋白
Table 2 *AP2* homologous proteins for phylogenetic tree construction

蛋白名称 Protein	种名 Species	登录号 Accession number
CacaAP2	树豆 <i>Cajanus cajan</i> (L.) Mill sp.	KYP44918.1
GlmaAP2	黄豆 <i>Glycine max</i> (Linn.) Merr.	XP_006600938.1
CiarAP2	鹰嘴豆 <i>Cicer arietinum</i> L.	XP_004509117.1
MetrAP2	蒺藜苜蓿 <i>Medicago truncatula</i> Gaertn.	XP_003611692.1
Bep1AP2	白桦 <i>Betula platyphyll</i> Suk.	AEL29576.1
MadoAP2	苹果 <i>Malus domestica</i> Mill.	AGZ01974.1
PrpeAP2	桃 <i>Prunus persica</i> L.	AEB92231.1
PrmuAP2	梅 <i>Prunus mume</i> Sieb. et Zucc.	AJT39804.1
ViviAP2	葡萄 <i>Vitis vinifera</i> L.	ACO52508.1
PotoAP2	毛白杨 <i>Populus tomentosa</i> Carr.	AGM20693.1
CitrAP2	枳 <i>Citrus trifoliata</i> (L.) Raf.	ACG63707.1
GoraAP2	雷蒙德氏棉 <i>Gossypium raimondii</i> Ulbr.	XP_012491847.1
ThcaAP2	可可 <i>Theobroma cacao</i> L.	XP_007047337.2
AcdeAP2	美味猕猴桃 <i>Actinidia deliciosa</i> (A. Chev.) C.F. Liang et A.R. Ferguson	AER60526.1
CasiAP2	茶 <i>Camellia sinensis</i> (L.) O. Ktze.	AFK29251.1
PasuAP2	牡丹 <i>Paeonia suffruticosa</i> Andr.	AEK33829.1
PalaAP2	芍药 <i>Paeonia lactiflora</i> Pall.	AGI61068.1
TAP2	番茄 <i>Solanum lycopersicum</i> Mill.	NP_001234452.1
PHAP2A	矮牵牛 <i>Petunia hybrida</i> Vilm.	AAD39439.1
NiatAP2	烟草 <i>Nicotiana attenuata</i> L.	OIT36841.1
LIPLESS2	金鱼草 <i>Antirrhinum majus</i> L.	AAO52747.1
ErguAP2	猴面花 <i>Erythranthe guttata</i> (Fisch. ex DC.) G. L. Nesom	XP_012840811.1
TahaAP2	醉蝶花 <i>Tarenaya hassleriana</i> L.	XP_010531253.1
BrnaAP2	油菜 <i>Brassica napus</i> L.	ADU04499.1
AtAP2	拟南芥 <i>Arabidopsis thaliana</i> (L.) Heynh.	AAC13770.1
CasaAP2	亚麻荠 <i>Camelina sativa</i> (L.) Crantz	XP_010437250.1
FaesAP2	甜芥 <i>Fagopyrum esculentum</i> Moench.	AKI81900.1
OsAP2	水稻 <i>Oryza sativa Japonica</i> L.	ABF99568.1
HAP2	风信子 <i>Hyacinthus orientalis</i> L.	AAD22495.3
OritAP2	意大利红门兰 <i>Orchis italica</i> Poir.	AGV39620.1
AfAP2-1	蜻蜓凤梨 <i>Aechmea fasciata</i> (Lindl.) Baker	AMY95569.1
ANT	拟南芥 <i>Arabidopsis thaliana</i> (L.) Heynh.	AAA91040.1

2 结果与分析

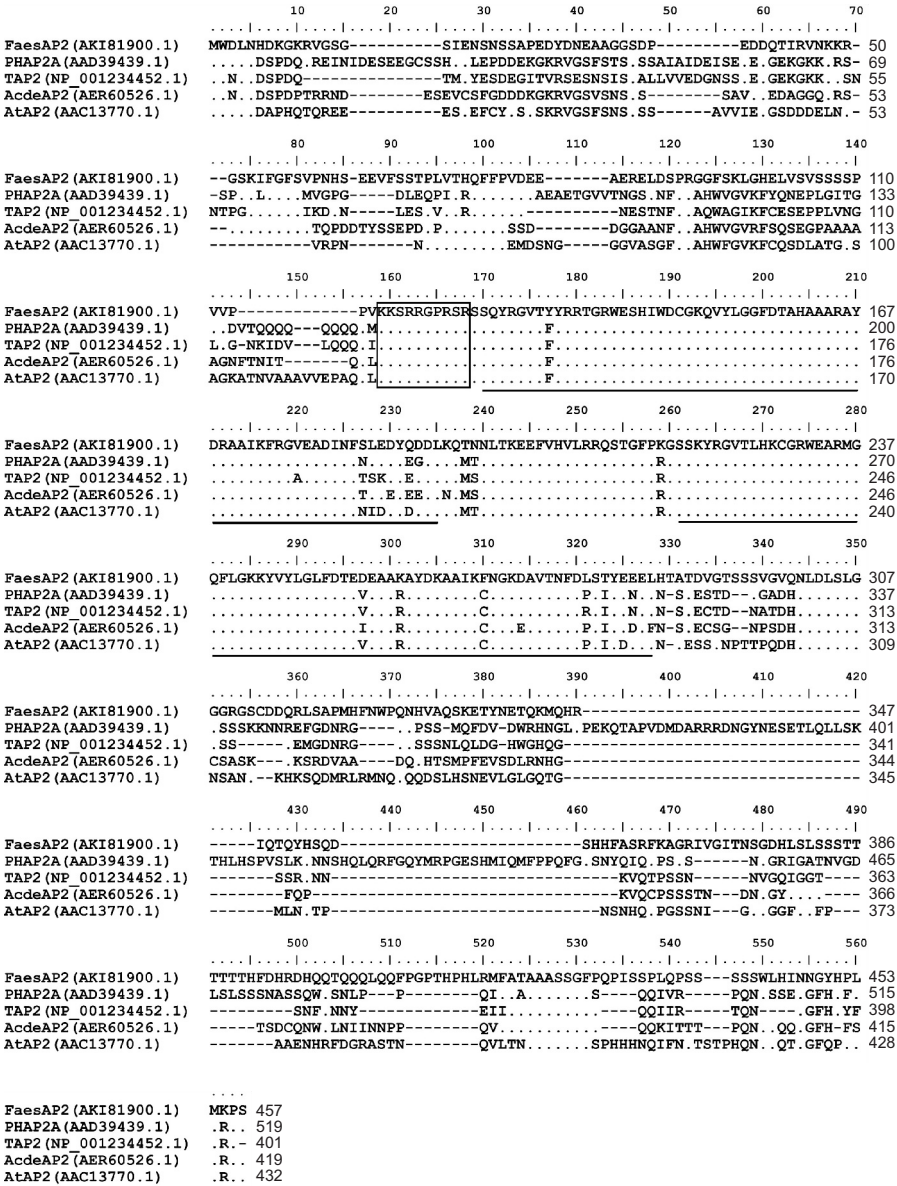
2.1 *FaesAP2* 基因全长 cDNA 克隆

本研究采用同源克隆的方法结合 RACE 技术，从甜芥花序中获得 *AP2* 同源基因，命名为 *FaesAP2*，GenBank 登录号为 KM386628。序列分析结果表明，*FaesAP2* 基因的 cDNA 序列全长为 1668 bp，包括 132 bp 的 5'-UTR、1374 bp 完整的 ORF 和 162 bp 的 3'-UTR 区，共编码 457 个氨基酸，其推

测的蛋白序列与拟南芥 *AP2* 蛋白同源性最高。

2.2 蛋白序列比对与分子系统发育分析

蛋白序列比对结果显示(图 1)，*FaesAP2* 包含 2 个高度保守的 *AP2* 结构域，第 1 个 *AP2* 结构域由 66 个氨基酸残基组成(127~192)，第 2 个 *AP2* 结构域由 68 个氨基酸残基组成(218~285)；在第 1 个 *AP2* 结构域前端有一个由 10 个氨基酸残基组成的核定位信号区(116~125)，该核定位信号区在序列结构上高度保守^[7,8]。



方框为核定位信号区，下划线代表 *AP2* 结构域。*FaesAP2*、*PHAP2A*、*TAP2*、*AcdeAP2*、*AtAP2* 分别表示甜芥、矮牵牛、番茄、美味猕猴桃和拟南芥的 *AP2* 同源蛋白。Putative nuclear localization signals of *FaesAP2* in front of the first *AP2* domain are boxed; underlined regions represent *AP2* domains. *FaesAP2*, *PHAP2A*, *TAP2*, *AcdeAP2*, and *AtAP2* of *AP2* homologous proteins from *Fagopyrum esculentum*, *Petunia hybrid*, *Solanum lycopersicum*, *Actinidia deliciosa*, and *Arabidopsis thaliana*, respectively.

图 1 *FaesAP2* 蛋白同源序列比对和结构分析

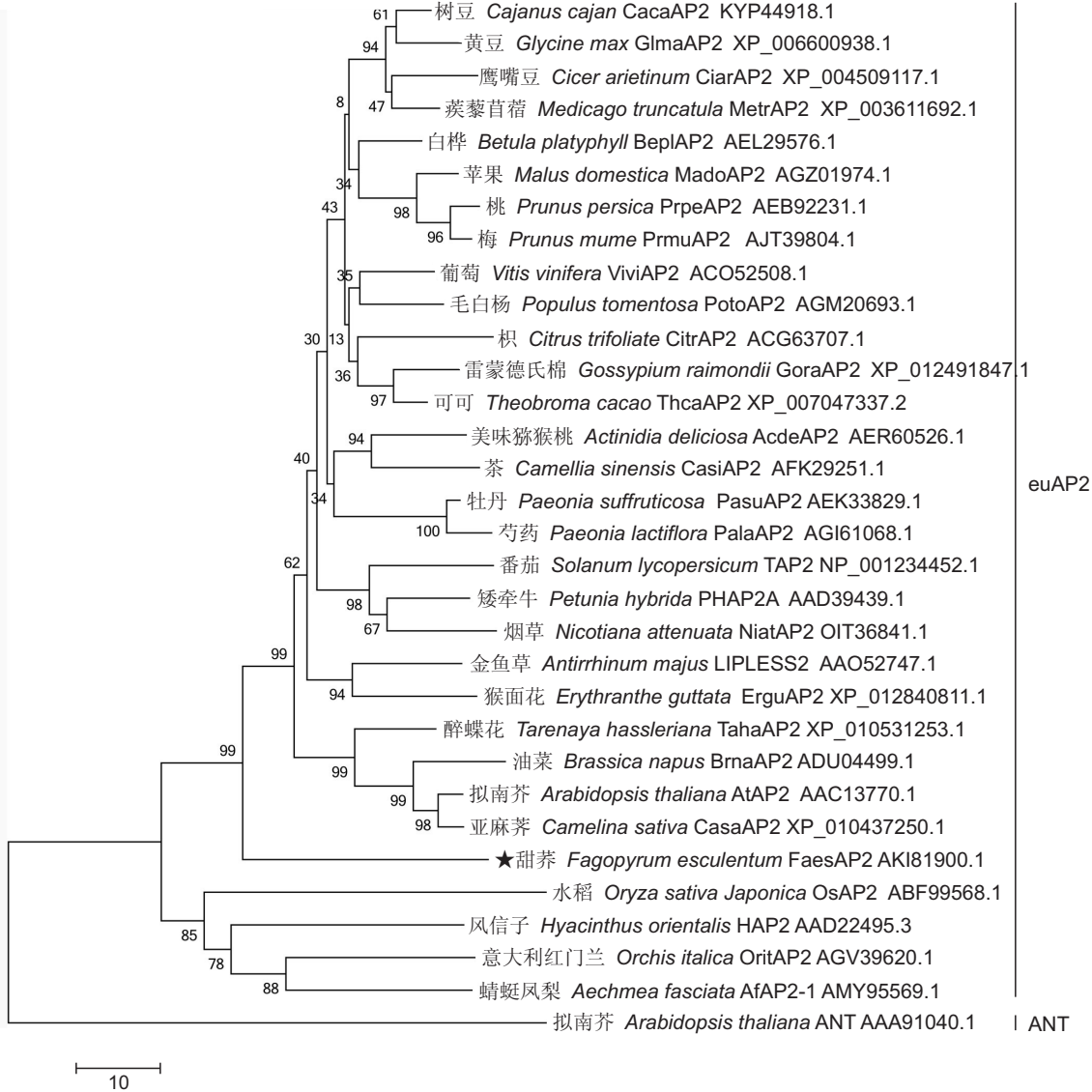
Fig. 1 Alignment of the putative amino acid sequence of *FaesAP2* with other homologous proteins sequences

系统发育分析表明(图 2), 甜荞 *FaesAP2* 与其他被子植物 euAP2 型蛋白聚为一类, 说明其属于拟南芥 euAP2 型直系同源蛋白。而且甜荞 *FaesAP2* 与其他双子叶植物 AP2 同源蛋白的亲缘关系较近, 与单子叶植物 AP2 同源蛋白的亲缘关系较远, 与经典分类学中的研究结果一致^[16,17]。

2.3 FaesAP2 基因的表达分析

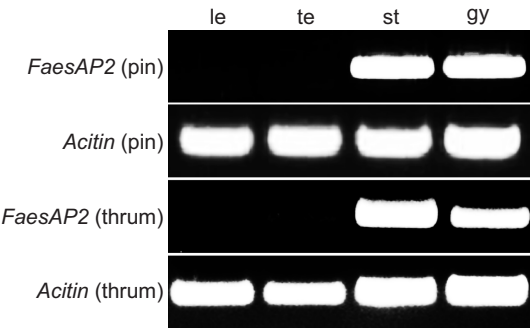
半定量 RT-PCR 检测显示(图 3), 甜荞 *FaesAP2* 基因仅在 pin 型和 thrum 型花发育中的雄蕊和雌蕊中表达, 在花被片和幼叶中不表达。且在 thrum 型花雄蕊中的表达量明显高于雌蕊。进一步通过 QRT-PCR 检测 *FaesAP2* 在 2 种类型花的 4 个发育

时期的基因相对表达量(图 4、图 5), 发现表达量在 2 种类型花发育不同时期呈现一定的变化, 并在花药迅速膨大期相对表达量最高(P2、T2 期), 随着花丝和柱头的伸长表达量有所下降。但 pin 型花发育后期该基因相对表达量持续降低; 而 thrum 型花在 T3 期下降后, 随着花丝的迅速伸长和雄蕊的成熟基因表达量又开始升高(T4 期)。从基因在不同花型发育时期相对表达量的变化来看, *FaesAP2* 基因在 pin 型花中 P2 期的表达量极显著高于其他 3 个时期($P < 0.01$), 且 P1 期显著高于 P3、P4 期($P < 0.05$); 而其在 pin 型花发育的后 2 个时期(P3、P4 期)的表达量无显著差异。然而, *FaesAP2*



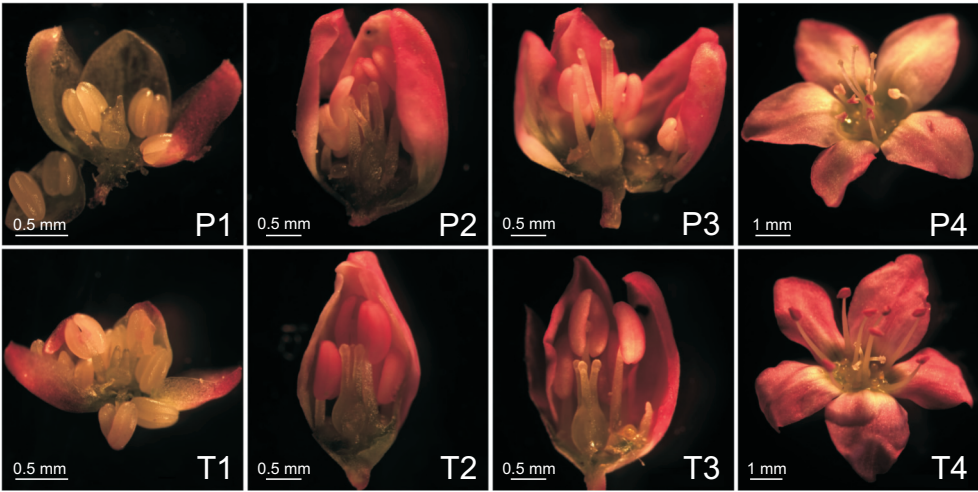
分支上的数字表示 1000 次重复计算获得的自展百分比; 标尺代表遗传距离。
Numbers represent the bootstrap percentage values calculated by 1000 replicates; scale bar represents genetic distance.

图 2 *FaesAP2* 同其他植物 AP2 同源蛋白的分子系统进化分析
Fig. 2 Phylogenetic analysis of *FaesAP2* with other AP2-like proteins



le: 幼叶; te: 花被片; st: 雄蕊; gy: 雌蕊。
le: junvenile leaf; te: tepal; st: stamen; gy: gynoecium.

图 3 *FaesAP2* 在甜芥不同器官中的表达
Fig. 3 Expression analysis of *FaesAP2* in different organs of *Fagopyrum esculentum*



P1 ~ P4: pin 型花 4 个不同发育时期的花芽; P1: 雌蕊原基形成期; P2: 花药迅速膨大期; P3: 花丝和花柱伸长期; P4: 花芽成熟期。T1 ~ T4: thrum 型花 4 个不同发育时期的花芽; T1: 雌蕊原基形成期; T2: 花药迅速膨大期; T3: 花丝和花柱伸长期; T4: 花芽成熟期。下同。
P1 – P4: Flower buds of pin flower at four different development stages; P1: Formation of gynoecium primordial; P2: Rapid enlargement in size of anther; P3: Filament and style elongation in pin flower; P4: Flower buds at maturity. T1 – T4: Flower buds of thrum flower at four different development stages; T1: Formation of gynoecium primordial; T2: Formation of gynoecium primordial; T3: Filament and style elongation in pin flower; T4: Flower buds at maturity. Same below.

图 4 甜芥 pin 型和 thrum 型花不同发育时期的花芽

Fig. 4 Pin and thrum flower buds of *Fagopyrum esculentum* at different development stages

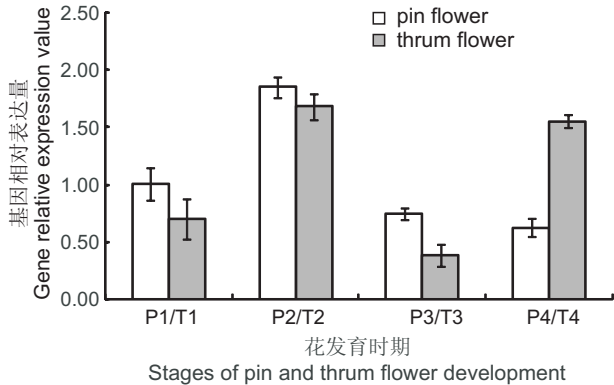


图 5 *FaesAP2* 基因在甜芥 pin 型和 thrum 型花不同发育时期的表达量

Fig. 5 Expression of *FaesAP2* in pin and thrum flowers of *Fagopyrum esculentum* Moench. at different development stages

基因在 thrum 型花 T2 和 T4 期的表达量均极显著高于 T1、T3 期 ($P < 0.01$), 但 T2 和 T4 时期的相对表达量无显著差异, 而 T1 期表达量显著高于 T3 期 ($P < 0.05$)。

3 讨论

在模式植物拟南芥中, *AP2* 是真正意义上的 A 类基因, 主要参与决定花被 (花萼和花瓣) 的形态特征, 并抑制 C 类基因的在外 2 轮花器官的中表达, 参与确立花的径向发育模式。该基因还具有参与花分生组织特性决定和种子发育的功能, 且在花序、花被、雄蕊、雌蕊、胚珠等花器官, 以及营养器官叶和茎中均有表达^[6]。油菜属于十字花科 (Brassicaceae), 为拟南芥的近缘种, 其 *AP2* 同

源基因 *BnAP2* 的表达模式和功能十分保守^[7]；在其他蔷薇类 (Rosids) 植物桃 (*Prunus persica* L.) 中，其 *AP2-like* 基因在果皮中的表达量最高，主要参与果实的生长发育调控^[18]。而在菊类 (Asterids) 植物矮牵牛中，*PHAP2A* 基因在花发育中的表达模式与 *AP2* 类似，其异位表达能恢复拟南芥 *AP2* 突变体的表型，但当该基因功能丧失时并不产生拟南芥相应基因突变体的表型，说明其功能可能发生分化^[8]；而在番茄中，*TAP2* 基因主要在发育的果实中表达，参与果实的发育^[9]。功能进化分析表明，*AP2* 同源基因在非十字花科类植物中并不行使 A 类基因功能。前人对其在不同类群植物中的表达模式研究发现，该基因仅在许多非核心真双子叶植物的叶、心皮中表达，但在许多蔷薇类核心真双子叶植物的叶、花萼、花瓣、雄蕊、雌蕊和果中均有表达^[5]。单子叶植物大麦的 *HvAP2* 基因在谷粒着生密度较高的穗中表达量较高，可以调控大麦穗的形状^[11]。小麦 *AP2* 同源基因的表达模式与 *HvAP2* 类似，可能也参与调控穗的形态发育^[19]。建兰 (*Cymbidium ensifolium* (L.) Sw.) *CeAP2* 基因在萼片和花瓣中有明显的表达，但其在合蕊柱中的表达量相对较低，主要参与花被的发育调控^[20]。睡莲 *NsAP2* 基因在花萼和花瓣中的表达量明显高于雄蕊和雌蕊，参与花器官数量的控制^[13]。*NnAP2* 是莲 (*Nelumbo nucifera* L.) *AP2* 的同源基因，其在花器官和营养器官中均有表达，但在花瓣中表达量最高，且重瓣品种花瓣中的表达量也明显高于单瓣品种，说明其调控花发育的功能与 *NsAP2* 类似^[21]。裸子植物挪威云杉 (*Picea abies* (L.) Karst.) 的 *AP2-like* 基因主要在有胚珠的珠鳞中表达，参与胚珠的发育调控^[22]。上述研究结果表明，*AP2* 同源基因在亲缘关系较近的植物中表达模式和功能类似，但在不同类群植物中的表达模式和功能明显不同。相对基因功能而言，*AP2* 同源基因有更广泛的表达区域，但总体来说其主要参与花和果等器官的生殖发育。

蓼科是在菊类和蔷薇类分化之前出现的相对早期的核心真双子叶植物类群，甜荞是蓼科典型的代表植物之一。在甜荞中，*FaesAP2* 基因仅在 pin 型和 thrum 型花发育中的雄蕊和雌蕊中表达，在花被片和叶中不表达，其表达的组织特异性明显与其他类群植物不同，也说明该类植物在进化上的特殊

性；但从表达区域看，其仅在具有生殖功能的花器官中表达，说明该基因参与了花器官的发育，其具体功能仍需进一步研究。

参考文献:

- [1] Fang ZW, Qi R, Li XF, Liu ZX. Ectopic expression of *FaesAP3*, a *Fagopyrum esculentum* (Polygonaceae) *AP3* orthologous gene rescues stamen development in an *Arabidopsis AP3* mutant [J]. *Gene*, 2014, 550(2): 200–206.
- [2] 孙伟, 安超, 郑希龙, 万和文, 陈延松等. 基于核糖体 DNA 内转录间隔区 ITS 序列的广义蓼属及近缘属分子系统学研究 [J]. 植物科学学报, 2014, 32(3): 228–235.
Sun W, An X, Zheng XL, Wan HW, Chen YS, et al. Phylogenetic analysis of *Polygonum* L. s. lat. and related genera (Polygonaceae) inferred from nrDNA internal transcribed spacer (ITS) sequences [J]. *Plant Science Journal*, 2014, 32(3): 228–235.
- [3] 潘凡, 石桃雄, 陈其蛟, 孟子烨, 梁成刚, 陈庆富. 苦荞种质主要农艺性状的变异及其对单株粒重的贡献研究 [J]. 植物科学学报, 2015, 33(6): 829–839.
Pan S, Shi TX, Chen QJ, Meng ZY, Liang CG, Chen QF. Variation in major agronomic traits and its contribution to grain weight per plant in tartary buckwheat germplasm [J]. *Plant Science Journal*, 2015, 33(6): 829–839.
- [4] Zeng L, Yin Y, You C, Pan Q, Xu D, et al. Evolution and protein interactions of *AP2* proteins in Brassicaceae: evidence linking development and environmental responses [J]. *Integr Plant Biol*, 2016, 58(6): 549–563.
- [5] Zumajo-Cardona C, Pabón-Mora N. Evolution of the *AP-ETALA2* gene lineage in seed plants [J]. *Mol Biol Evol*, 2016, 33(7): 1818–1832.
- [6] Krogan NT, Hogan K, Long JA. *APETALA2* negatively regulates multiple floral organ identity genes in *Arabidopsis* by recruiting the co-repressor TOPLESS and the histone deacetylase HDA19 [J]. *Development*, 2012, 139(22): 4180–4190.
- [7] Yan X, Zhang L, Chen B, Xiong Z, Chen C, et al. Functional identification and characterization of the *Brassica napus* transcription factor gene *BnAP2*, the ortholog of *Arabidopsis thaliana APETALA2* [J]. *PLoS One*, 2012, 7(3): e33890.
- [8] Maes T, Van de Steene N, Zethof J, Karimi M, D'Hauw M, et al. *Petunia Ap2-like* genes and their role in flower and seed development [J]. *Plant Cell*, 2001, 13(2): 229–244.
- [9] Karlova R, Rosin FM, Busscher-Lange J, Parapunova V, Do PT, et al. Transcriptome and metabolite profiling show that *APETALA2a* is a major regulator of tomato fruit ripening [J]. *Plant Cell*, 2011, 23(3): 923–941.

- [10] Varkonyi-Gasic E, Lough RH, Moss SM, Wu R, Hellens RP. Kiwifruit floral gene *APETALA2* is alternatively spliced and accumulates in aberrant indeterminate flowers in the absence of miR172[J]. *Plant Mol Biol*, 2012, 78(4-5): 417-429.
- [11] Houston K, McKim SM, Comadran J, Bonar N, Druka I, *et al.* Variation in the interaction between alleles of *HvAPETALA2* and microRNA172 determines the density of grains on the barley inflorescence[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2013, 110(41): 16675-16680.
- [12] Salemm M, Sica M, Iazzetti G, Gaudio L, Aceto S. The *AP2-like* gene *OitaAP2* is alternatively spliced and differentially expressed in inflorescence and vegetative tissues of the orchid *Orchis italica* [J]. *PLoS One*, 2013, 8(10): e77454.
- [13] Luo H, Chen S, Jiang J, Teng N, Chen Y, Chen F. The *AP2-like* gene *NsAP2* from water lily is involved in floral organogenesis and plant height[J]. *Plant Physiol*, 2012, 169(10): 992-998.
- [14] Brockington SF, Rudall PJ, Frohlich MW, Oppenheimer DG, Soltis PS, *et al.* 'Living stones' reveal alternative petal identity programs within the core eudicots[J]. *Plant J*, 2012, 69(2): 193-203.
- [15] Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods[J]. *Mol Biol Evol*, 2011, 28(10): 2731-2739.
- [16] Zeng LP, Zhang Q, Sun RR, Kong HZ, Zhang N, Ma H. Resolution of deep angiosperm phylogeny using conserved nuclear genes and estimates of early divergence times [J]. *Nat Commun*, 2014, 5: 4956.
- [17] 刘冰, 叶建飞, 刘夙, 汪远, 杨永等. 中国被子植物科属概览: 依据 APG III 系统 [J]. 生物多样性, 2015, 23(2): 225-231.
- Liu B, Ye JF, Liu S, Wang Y, Yang Y, *et al.* Families and genera of Chinese angiosperms: a synoptic classification based on APG III [J]. *Biodiversity Science*, 2015, 23(2): 225-231.
- [18] Zhang CH, Shangguan LF, Ma RJ, Sun X, Tao R, *et al.* Genome-wide analysis of the AP2/ERF superfamily in peach (*Prunus persica*) [J]. *Genet Mol Res*, 2012, 11(4): 4789-4809.
- [19] Gil-Humanes J, Pistón F, Martín A, Barro F. Comparative genomic analysis and expression of the *APETALA2-like* genes from barley, wheat, and barley-wheat amphiploids [J]. *BMC Plant Biol*, 2009, 9: 66.
- [20] Yang FX, Zhu GF, Wang Z, Liu HL, Huang D. A putative miR172-targeted *CeAPETALA2-like* gene is involved in floral patterning regulation of the orchid *Cymbidium ensifolium* [J]. *Genet Mol Res*, 2015, 14(4): 12049-61.
- [21] Liu Z, Gu C, Chen F, Jiang J, Yang Y, *et al.* Identification and expression of an *APETALA2-like* gene from *Nelumbo nucifera* [J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 2012, 168(2): 383-391.
- [22] Nilsson L, Carlsbecker A, Sundås-Larsson A, Vahala T. *APETALA2-like* genes from *Picea abies* show functional similarities to their *Arabidopsis* homologues [J]. *Planta*, 2007, 225(3): 589-602.

(责任编辑: 周媛)