

# 桃(*Prunus persica*)中 2 个 *MADS* box 基因功能的初步鉴定和遗传作图

徐勇<sup>1</sup>, 张林<sup>2</sup>, 马荣才<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> 首都师范大学生命科学学院, 北京 100037;

<sup>2</sup> 北京市农林科学院北京农业生物技术研究中心, 北京 100097

\* 联系人, E-mail: [marongcai@baafs.net.cn](mailto:marongcai@baafs.net.cn)

2007-10-06 收稿, 2008-01-14 接受

国家自然科学基金(批准号: 30500395)、国家高技术研究发展计划(批准号: 2006AA10Z130)和北京市自然科学基金(批准号: 5073046)资助项目

**摘要** 我们在以前的研究中克隆了 2 个桃 *MADS* box 基因, *PpMADS4* 和 *PpMADS6*, 它们分别为 *AGAMOUS* (*AG*) 和 *FRUITFULL* (*FUL*) 的同源基因, 本研究把它们进一步转入拟南芥中分析它们的功能。转基因结果表明, 这 2 个基因都能导致拟南芥早花, 二级花序减少, 出现顶端花, 但 *PpMADS4* 与 *PpMADS6* 对拟南芥花器官有截然不同的影响。*PpMADS4* 引起转基因植株花器官同源异型转变: 萼片心皮化, 花瓣雄蕊化; *PpMADS6* 转基因植株表现为花瓣、雄蕊和心皮花器官数目的增加。它们对果实发育也产生不同的影响: *PpMADS4* 转基因植株的角果在伸长期花的外 2 轮萼片和花瓣不脱落; *PpMADS6* 转基因植株的角果成熟后不开裂, 并可诱导从一朵花中长出多个果角。这些结果表明, *PpMADS4* 在拟南芥中可模拟 *AG* 的功能, 而 *PpMADS6* 与拟南芥 *FUL* 功能相似。*PpMADS6* 对花器官数目的影响暗示 *FUL* 同源基因具有调节花器官数目的新功能。通过 RT-PCR 分析花器官发育和控制顶端分生组织的基因表达, 结果表明, *PpMADS6* 诱导产生超数花器官可能是通过控制 *CLV-WUS* 通路的基因来实现的。此外, 将 *PpMADS4* 转化为一个 SSR 标记, 并将其定位在桃属植物的 G5 连锁群上, 与 *PpMADS6* 基因位于同一染色体区段上。最后, 对 *PpMADS4* 和 *PpMADS6* 在农作物及果树育种上的潜在应用价值进行了讨论。

**关键词**

*MADS* box 基因

花器官

果实

桃(*Prunus persica*)

遗传定位

目前 ABCE 模型能较成功地解释花器官发育<sup>[1-4]</sup>, 它包含相互作用的 A, B, C, E 共 4 类花器官特性基因。A+E 决定萼片的发生, A+B+E 决定花瓣的发生, B+C+E 决定雄蕊的发育, C+E 决定心皮的发育。此外, 胚的发生由 D 类基因和 E 类基因协同控制。在拟南芥中, A 类基因有 2 个, *APETALA1* (*API*) 和 *AP2*, 其中 *API* 有 2 个旁系同源基因, 分别为 *CAULIFLOWER* (*CAL*) 和 *FRUITFULL* (*FUL*); B 类基因 2 个, *APETALA3* (*AP3*) 和 *PISTILLATA* (*PI*); C 类基因主要是 *AGAMOUS* (*AG*), 它有 3 个旁系同源基因 *SEED-STICK* (*STK*), *SHATTERPROOF1* (*SHP1*) 和 *SHP2*; E 类基因有 4 个,

*SEPALLATA1* (*SEP1*), *SEP2*, *SEP3*, *SEP4*<sup>[3]</sup>。除 *AP2* 外, 这些基因都为 一类结构上非常保守的 型 *MADS* box 基因。它们的同源基因广泛存在于植物界中。花器官特性基因的变异主要引起花器官的同源异型转变, 直到目前这些基因对花器官数目的影响未有报道。

花器官特性基因及其同源基因主要在花中表达, 但有些基因也在果实中表达, 可能是果实发育的重要调控因子。如 *AG* 和 *FUL* 在心皮和果实中均表达, *AG* 和其旁系同源基因 *SHP* 和 *SEEDSTICK* 协同 E 类基因决定胚的发育<sup>[5]</sup>, 因为果实主要由胚发育而来, 因此 *AG* 也可能是控制果实发育的重要遗传因子。研究

表明,拟南芥中FUL调控心皮壁(valve)(发育为角果的裂片)的分化和心皮壁细胞的膨胀,从而控制果实的伸长.此外,FUL还控制角果裂合处细胞的木质化,影响角果开裂<sup>[6]</sup>.因此,FUL在农业上有非常重要的作用.目前,已尝试通过在油菜上过表达FUL或其同源基因防止油菜角果开裂<sup>[7,8]</sup>.

模式植物拟南芥的研究成果可为果树研究提供借鉴,用于指导桃属果树花和果实发育的研究.如苹果的一些品种没有花瓣和雄蕊而生产更多萼片和花柱,这一表型与B类基因的突变极为相似,研究表明这一性状是由于B类基因——PI的同源基因MdPI突变导致<sup>[9]</sup>.从解剖结构上看,拟南芥的角果裂片与桃属果树果实内果皮都起源于珠被.桃中FUL的同源基因表达与桃果核开裂有很强的相关性<sup>[10]</sup>,但这个基因的功能没有通过转基因技术验证.

前人通过遗传分析发现了一些控制桃属植物花和果实发育的遗传位点<sup>[11~13]</sup>,但控制这些遗传位点的基因至今未得到鉴定.选取与目的性状相关基因的同源基因作为候选基因,分析这些候选基因的遗传座位是否与控制花和果实发育的遗传位点重合,可能是获得这些基因的一条捷径.

我们在前期研究中报道克隆了桃的2个MADS box基因,PpMADS4和PpMADS6,它们分别属于AG和FUL的同源基因<sup>[14]</sup>.本研究通过在拟南芥中过表达PpMADS4和PpMADS6,发现它们在开花时间、植株形态、花器官发育和果实发育中都有作用,它们所引起的一些新的表型变异预示这2个基因有着新的功能.在此基础上,我们对PpMADS6诱导拟南芥产生超数花器官的遗传通路做了初步研究.我们推测这2个基因是控制花和果实发育的重要遗传位点.

## 1 材料与方法

( ) 材料. 所用拟南芥生态型为Columbia (Col-0).大肠杆菌(*Esherichia coli*)和根癌农杆菌(*Agrobacterium tumefaciens*)转化的受体分别为*E. coli* DH5 $\alpha$ 和带有Psoup质粒的根癌农杆菌*A. tumefaciens* GV3101. PCR产物克隆载体为pGEM-T EASY (Promega, USA),植物转化载体质粒为pGreen系列载体<sup>[15]</sup>.用于桃基因遗传定位的选择作图材料由西班牙巴塞罗那大学Pere Arús博士提供.

( ) 基因表达分析. RNA提取采用RNease

Plant Mini Kit (QIAGEN, USA), cDNA合成使用SUPERSCRIPT试剂盒(Invitrogen, USA). RT-PCR技术检测基因表达所使用的引物为:内参引物为18S rDNA引物,即5'-CTGGTTGATCCTGCCAGTAGTC-ATATGCT-3'和5'-GACAGGTATCGACAATGATCCT-TCCGCA-3';检测桃PpMADS4表达引物为5'-ATG-GCCTATGAAAACAAATCC-3'和5'-TTAAACTAATT-GAAGGGCCAT-3';检测桃PpMADS6表达引物为5'-ATGGGGAGGGGAAGCGTGCA-3'和5'-CTATTC-ATTAAGGTGGCGGAG-3';检测拟南芥AP3表达引物为5'-AGCTGCGTCGTCTTGAGGAT-3'和5'-GGTT-TTAGCAACACCATGCCT-3';检测拟南芥AG表达引物为5'-GCTCAGGAAGTGGGAAGGCAG-3'和5'-TC-ACTCCAGGCCATTTCTTC-3';检测拟南芥WUS表达引物为5'-ACGGAACAAACATGACCACACC-3'和5'-GTTTGCCATCCTCCACCTAC-3';检测拟南芥CLV1表达引物为5'-ATGGTGCTGCTTCTGAGTGT-ATGT-3'和5'-AAACCCGAAAGTATTAGAAACCA-3';检测拟南芥STM表达引物为5'-TGGGTCATCCGAG-GAAGAAGTC-3'和5'-TCCAAGTATACCGAGAACC-AT-3';检测拟南芥CLV3表达引物为5'-TTACTATTT-CACCAGATCTCACTCAA-3'和5'-CAACCCATTCA-CTTTCCATTTTCAT-3'.

( ) 载体构建和遗传转化. 先用Kpn和Sac酶切线性化载体pGREEN0029,用Klenow酶补平,去磷酸化.同时用EcoR从载体35S CASSETTE<sup>[15]</sup>上切下包括35S和终止子的片段,然后2个片段连接,克隆验证正确的质粒为35S-0029中间载体.相应地,从T-easy载体上切下PpMADS4 (GenBank登录号:AY705973)和PpMADS6 (GenBank登录号:AY705972)基因的编码区,连接到35S-0029上,转化农杆菌GV3101感受态细胞,再用浸花法浸染拟南芥<sup>[16]</sup>,在含50  $\mu$ g/mL卡那霉素的MS培养基上筛选种子,从初步鉴定的转基因植株中提取基因组DNA进行PCR鉴定,部分植株提取RNA进行RT-PCR鉴定.

( ) PpMADS4基因SSR分子标记开发及其在桃属果树遗传图谱上的定位. 首先从桃基因组DNA中扩增PpMADS4基因片段,所使用的引物为5'-AC-AACAAACCGTCAAGTCACCTTC-3'和5'-CATGCC-TTCTTGACCTCTCAA-3'.从PpMADS4基因片段进行SSR标记分析的引物为:5'-CTCCTTACCTC-CCTCCATTGT-3'和5'-TGTGTTGTAGGCCTTCTTA-

GC-3'. 使用简约作图法对 *PpMADS4* 基因进行定位 [12]。首先记录 2 个亲本和 6 个后代的基因型, 根据 SSR 标记在 6 份材料的基因型和与哪个 bin 吻合, 确定标记的遗传座位。

## 2 结果

### 2.1 2 个桃 *MADS* box 基因导入拟南芥导致的表型变异

通过抗性培养基筛选和 PCR 鉴定得到 36 株 *35S::PpMADS4* 的转基因拟南芥。与野生拟南芥相比, 其中 20 个株系有严重表型变异, 13 个表现为轻微的变异, 3 株没有变异。得到 32 株 *35S::PpMADS6* 的转基因拟南芥, 与野生拟南芥相比, 其中 17 个株系有严重表型变异, 11 个表现为轻微的变异, 4 株没有变异。对 2 组遗传转化植株各选 4 株有严重表型变异, 1 株轻度变异, 1 株没有变异的植株提取 RNA, 通过 RT-PCR 检测导入基因的表达水平。图 1 表明, 有严重表型变异的植株相应的导入基因都有较高水平的表达, 而没有表型变异和野生型拟南芥不能检测到相应基因的表达, 说明这种表型变异是由于导入基因引起的。

转 *PpMADS4* 的植株表现为叶片内卷, 开花时间明显提前, 在 4 到 10 片莲座叶后即抽薹开花(图 2(b)),

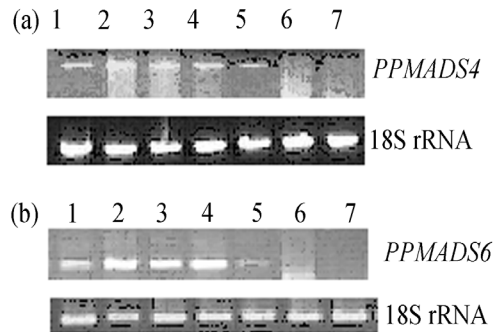


图 1 RT-PCR 检测 *PpMADS4*(a)和 *PpMADS6*(b)的转基因的表达水平

1~4, 表型变异严重的转基因植株; 5, 轻度变异植株; 6, 没有明显植株表型变异的植株; 7, 野生型拟南芥

而野生型拟南芥在相同条件下要长到 13~16 片莲座叶后才抽薹开花。表型变异严重植株可看到花器官发生同源异型转变: 萼片转变为心皮状结构, 花瓣花药化(图 2(d)和(e))。没有二级分支, 出现顶端花(图 2(i))。值得注意的是, 与对照相比, 角果伸长期花的外两轮不脱落(图 2(g))。这些表型变异都与所报道的相似 [18~21]。

转 *PpMADS6* 的植株表现为开花时间提前(图 3(b)), 出现顶端花(图 3(d)), 但这些变化没有 *PpMADS4* 的转基因植株变化明显。 *PpMADS6* 基因在拟南芥中的突出功能表现为使其花器官数变多, 如可观察到 5 片花瓣(图 3(f)), 8 个雄蕊和 4 个心皮(图

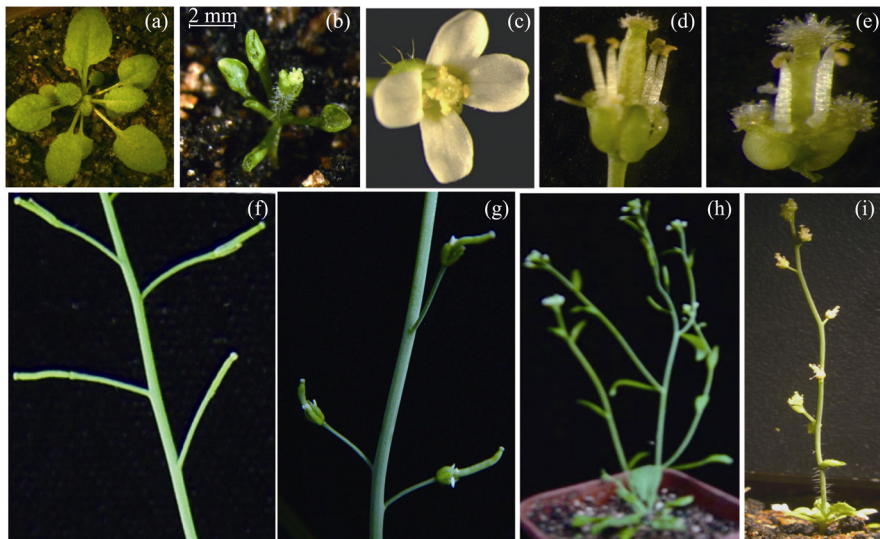


图 2 转 *PpMADS4* 基因的拟南芥表型变异

生长 20 d 的野生型拟南芥(a)和转基因拟南芥(b); 完全开放的花(c)和转基因植株的花((d)和(e)); 野生型(f)和转基因(g)拟南芥伸长期的角果; 野生型(h)和转基因拟南芥植株(i)

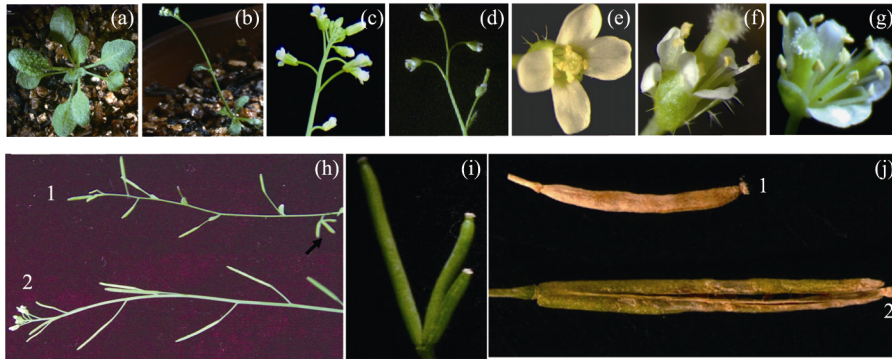


图3 转 *PpMADS6* 基因拟南芥表型变异

生长 20 d 的野生型拟南芥(a)和转基因拟南芥(b); 野生型拟南芥的花序(c)和转基因植株的花序(d); 野生型拟南芥完全开放的花(e)和转基因植株的花(f)和(g); (h) 野生型(1)和转基因(2)拟南芥伸长期的角果; (i) 转基因拟南芥的角果((h)中箭头所示角果的放大图); (j) 野生型(1)和转基因(2)的角果

3(g)). 这些多心皮的花可最终结出多个角果(图 3(h)和(i)). 表型严重的植株角果成熟后不开裂(图 3(j)).

### 2.2 拟南芥中过表达 *PpMADS6* 引起顶端分生组织相关基因表达变化

前人已对 *PpMADS4* 的同源基因 *AGAMOUS* 引起的花同源异型转变做了详尽研究, 而且本研究发现, *PpMADS6* 明显引起拟南芥花器官数目变化, 这种表型变异可能是由于与花器官发育和控制顶端分生组织分化的基因表达变化引起的. 所以, 对 *PpMADS6* 转基因植株中有关下游基因表达作了进一步分析. 我们通过 RT-PCR 分别检测这 2 类基因的表达情况. 选取 B 类基因 *AP3* 和 C 类基因 *AG* 作为花器官特异性基因的代表. 控制顶端分生组织的基因选取 *CLV1*, *CLV3*, *WUSCHEL (WUS)*, *SHOOTMERISTEMLESS (STM)*. 结果表明, 除了 *CLV1* 外, 其他基因与对照相比表达水平没有显著差异(数据未给出). *CLV1* 在花器官增多的转基因植株中表达下调(图 4).

### 2.3 *PpMADS4* 和 *PpMADS6* 基因的遗传作图

以上结果暗示, 这 2 个基因在桃花和果实发育中有重要功能, 因此开发这两个基因的分子标记并对它们遗传定位可加快它们在果树育种上的应用. 通过 Intron Finder ([http://ftp.sgn.cornell.edu/tools/intron\\_detection/find\\_introns.pl](http://ftp.sgn.cornell.edu/tools/intron_detection/find_introns.pl))预测 *PpMADS4* 的内含子位置, 设计引物扩增第 2 个内含子, 测序得到长 2.7 kb 的片段, 从中找到一个 2 碱基 CT 重复 26 次的 SSR. 因为 SSR 重复次数多, 产生分子变异的可能性高, 故针对这一段 SSR 的侧翼序列设计引物. 在作图样本中

发现多态性, 并将这个基因定位于第 5 遗传连锁群 Bin 5:46, 位于标记 BPPCT014 和 AG108A 之间(图 5). 前人以桃的一段 EST 为基础开发出一个分子标记并将其定位于桃属植物 G5 连锁群上 [11], 命名为 *PrpAPI*. 这段 EST 序列与 *PpMADS6* 相应区段的 DNA 序列相同, 因此 *PpMADS6* 应与 *PrpAPI* 有相同的遗传座位.

## 3 讨论

花器官特性基因在模式植物中有较为详尽的研究, 研究表明它们在花的发育中有非常关键的作用. 桃是重要的果树, 近年被选为研究蔷薇科的模式植物. 虽然桃在生长习性上与拟南芥有很大差别, 但是两种植物的花器官和果实发育过程还是有很多相似之处, 故对拟南芥的研究也可以用于桃花和果实的发育研究. 桃中克隆的 *AG* 同源基因 *PpMADS4* 在拟南芥中过表达导致卷叶、早花、花器官同源异型转变, 其效果与拟南芥中过表达自身 *AG* 的效果相同 [19], 完全符合 C 类基因的功能预测, 表明 *PpMADS4* 是桃中有功能的 C 类基因. 这与别人报道用桃 *PpAG1* 在拟南芥中过表达观察到的结果相同 [20], 但 *PpAG1* 序列没有在 GenBank 注册, 我们不能与之在序列上进行比较. 从其他蔷薇科物种, 如玫瑰 (*Rosa rugosa*) 和太行花 (*Taihangia rupestris*) 克隆 *AG* 的同源基因做类似研究也得到了相似的结果 [19,21]. 但本研究与前人报道的一个重要不同是, 这个基因过表达后导致花的外 2 轮花瓣和萼片在角果伸长期不脱落. *AG* 与 *SHP* 是旁系同源基因, 在拟南芥中过表达蔷薇科植物太

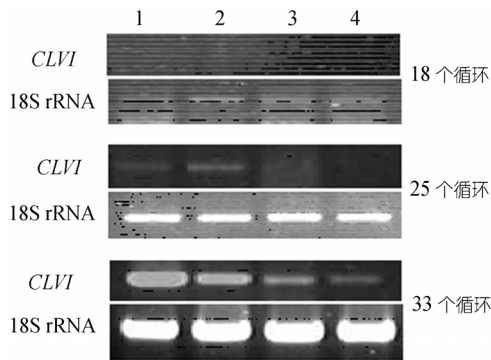


图4 *CLVI* 在转基因 *PpMADS6* 和对照拟南芥幼苗中的基因表达

1, 野生型拟南芥; 2, 转 *PpMADS6* 而无花器官变异的拟南芥; 3 和 4, 转 *PpMADS6* 产生超数花器官的拟南芥. 18S rRNA 为参照

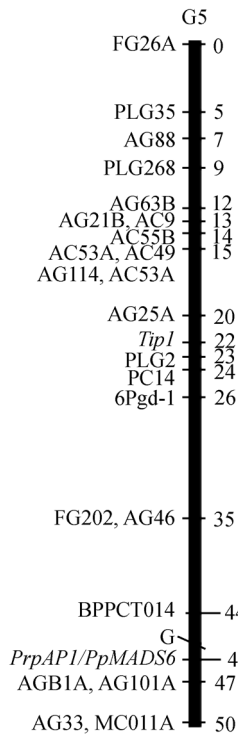


图5 *PpMADS4* 和 *PpMADS6* 的遗传作图

遗传连锁图的框架采用文献[11,12]. *PrpAPI/PpMADS6* 的位置参考文献[11]

行花 *TrSH* 也有相似的表型变异, 但过表达 *TrAG* 则观察不到这个现象 [21]. 这暗示即使在蔷薇科内, *AG* 的同源基因间也有细微的功能变异.

与本研究在拟南芥中过表达 *PpMADS6* 的结果相似, 其他木本植物如苹果和桦树的 *FUL* 同源基因的同源表达 [22,23], 它们能促进早花, 改变植株形态, 减少

二级分枝, 表明这些基因可能在开花时间和花分生组织决定方面有功能. 此外, 过表达 *PpMADS6* 的拟南芥角果在成熟期不开裂, 暗示它与 *FUL* 行使相同功能, 控制角果裂合处细胞的木质化, 影响开裂. 从解剖结构上看, 拟南芥的角果裂片与桃属果树的果实的内果皮都起源于珠被. 如果这个基因在桃属果树中有相似的功能, 则它可能是控制果核开裂的关键基因. 研究表明 *FUL* 在桃中的同源基因 *PPERFUL* 的表达与桃果核的开裂有很强的相关性 [10]. *PpMADS6* 与 *PPERFUL* 是同一个基因(它们之间只有 1 个氨基酸的差异)的不同等位形式. 最近在拟南芥中揭示了一个调控网络, 通过调节角果裂片和隔膜之间的细胞分化控制果实开裂, 这一网络包括 *INDEHISCENT (IND)*, *ALCATRAZ (ALC)* 和 *SHPII2*, 调节裂片边缘细胞分化, 促进开裂; *FUL* 和 *REPLUMLESS (RPL)* 分别在裂片和隔膜通过负调节这些基因阻止果实开裂 [24]. 这一调节网络在桃属果树是否起作用值得进一步研究, 对这个问题的深入研究对于桃属果树生产中有一定的应用价值. 桃属果树扁桃的食用部分是果仁, 果核开裂的品种容易食用; 而桃等其他果树食用的是果肉, 在罐装食品中果核开裂会使果仁的苦味渗出, 影响风味, 故要求选育果核不易开裂的品种.

本研究与以往的一个显著不同是, 转 *PpMADS6* 基因拟南芥植株花器官数目改变, 主要是花的内 3 轮花瓣、雄蕊和心皮数目增多. 这种变化与本研究过表达桃 *AG* 的同源基因 *PpMADS4* 导致花器官的同源异型转变有本质的不同, 这些增多的花器官并不是异位发生, 而是出现在它们相应的轮上. 为探讨这一现象的机制, 我们检测一些可能与花器官数目变化有关的基因的表达变化. 用 RT-PCR 没有检测到 *AG* 和 *AP3* 在转基因植株叶片中的表达, 说明 *PpMADS6* 不能直接激活决定花器官的 B 类和 C 类基因的表达. 另外我们检测了 *CLV-WUS* 通路起作用的基因 *CLVI*, *CLV3*, *WUS* 和 *STM* [25-28]. 在这一通路中, *CLV* 限制顶端分生组织细胞的增加, 而 *WUS* 激活和维持分生组织的活动, 其他基因对它们的调控使顶端分生组织细胞处于平衡之中. 研究表明在 *PpMADS6* 的植株中 *CLVI* 基因的表达下调, 根据已有报道, *clv* 突变体可以产生更多的花分生组织, 从而诱导具有超数花器官的花. 因此 *PpMADS6* 可能是通过下调 *CLVI* 而对花器官数目施加影响. 在拟南芥中已经报道了一批花器官数量变化的突变体, 如 *ULTRAPETALA (ULT)*,

*PERIANTHIA* (*PAN*) 和 *EARLY EXTRA PETALS 1* (*EEPI*)<sup>[29~31]</sup>. 这些基因主要是通过 *-WUS* 通路起作用. 花器官基因对 *CLV-WUS* 通路的基因进行调节已有报道, 如拟南芥中 *AG* 调节 *WUS* 的时空表达<sup>[32]</sup>, 矮牵牛的 D 类基因和 E 类基因也对 *TER* (矮牵牛中 *WUS* 的同源基因) 有调节作用<sup>[33]</sup>. 本研究揭示了 *MADS* box 基因能对 *CLV-WUS* 通路基因进行调节.

必须注意的是, 本研究用 CaMV 35S 启动子促进 *PpMADS6* 基因表达得到超数花器官, 这一效应是否是桃 *PpMADS6* 特异的还有待进一步研究. *ful* 突变体和过表达拟南芥 *FUL* 都没有发现花器官的变化<sup>[6]</sup>. 在拟南芥中过表达来自其他物种的 *FUL* 同源基因也没有观察到类似的现象<sup>[22,23]</sup>.

本研究结果表明, *PpMADS6* 还可以诱导拟南芥在一朵花产生多个心皮, 最终发育为多个角果. 据我们所知, 这一表型在拟南芥中也是首次报道. 但是, 这些转基因植株只有约 10% 的花能结出多个角果,

而且角果长度也只有野生型拟南芥的一半左右. 这一现象能否应用于农业生产还值得进一步探讨.

鉴于我们所分离的 2 个基因在拟南芥中的表现, 推测它们可能是负责桃属植物花和果实发育的重要候选基因. 目前在桃属植物中已发现 20 多个控制花和果实发育的遗传位点<sup>[11~13]</sup>. 本研究通过简约作图法将 *PpMADS4* 定位在国际公用的桃属果树遗传连锁图上, *PpMADS4* 和 *PpMADS6* 位于 G5 连锁群的一个染色体区段, 而另一个控制扁桃和桃表皮绒毛的遗传位点 G 也在这个染色体区段(图 5). 但是从目前对 *PpMADS4* 和 *PpMADS6* 及它们同源基因的功能分析来看, 很难将这两个基因与这一性状相联系. 我国科研人员使用 AFLP 标记定位了一个桃雌蕊退化的遗传位点<sup>[34]</sup>, 然而这个遗传位点没有整合进国际公用的桃属果树遗传连锁图上, 因此 *PpMADS4* 所在遗传座位不能与之比较, 但我们的结果表明 *PpMADS4* 是控制这个性状的候选基因.

致谢 基因遗传作图工作在葡萄牙化学和生物学技术研究所(ITQB)完成, 感谢该所 M. Margarida Oliveira 博士提供帮助.

## 参考文献

- 1 Theißen G, Saedler H. Plant biology. Floral quartets. *Nature*, 2001, 409: 469—471 [\[DOI\]](#)
- 2 Honma T, Goto K. Complexes of *MADS*-box proteins are sufficient to convert leaves into floral organs. *Nature*, 2001, 409: 525—529 [\[DOI\]](#)
- 3 Ditta G, Pinyopich A, Robles P, et al. The *SEP4* gene of *Arabidopsis thaliana* functions in floral organ and meristem identity. *Curr Biol*, 2004, 14: 1935—1940 [\[DOI\]](#)
- 4 Zahn L M, Leebens-Mack J, dePamphilis C W, et al. To B or not to B a flower: The role of *DEFICIENS* and *GLOBOSA* orthologs in the evolution of the angiosperms. *J Hered*, 2005, 96: 225—240 [\[DOI\]](#)
- 5 Pinyopich A, Ditta G S, Savidge B, et al. Assessing the redundancy of *MADS*-box genes during carpel and ovule development. *Nature*, 2003, 424: 85—88 [\[DOI\]](#)
- 6 Gu Q, Ferrandiz C, Yanofsky M F, et al. The *FRUITFULL MADS*-box gene mediates cell differentiation during *Arabidopsis* fruit development. *Development*, 1998, 125: 1509—1517
- 7 Østergaard L, Kempin S A, Bies D, et al. Pod shatter resistant Brassica fruit produced by ectopic expression of the *FRUITFULL* gene. *Plant Biotechnol J*, 2006, 4: 45—51 [\[DOI\]](#)
- 8 Chandler J, Corbesier L, Spielmann P, et al. Modulating flowering time and prevention of pod shatter in oilseed rape. *Mol Breed*, 2005, 15: 87—94 [\[DOI\]](#)
- 9 Yao J, Dong Y, Morris B A. Parthenocarpic apple fruit production conferred by transposon insertion mutations in a *MADS*-box transcription factor. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98: 1306—1311 [\[DOI\]](#)
- 10 Tani E, Polidoros A N, Tsaftaris A S. Characterization and expression analysis of *FRUITFULL*- and *SHATTERPROOF*-like genes from peach (*Prunus persica*) and their role in split-pit formation. *Tree Physiol*, 2007, 27: 649—659
- 11 Silva C, Garcia-Mas J, Sánchez A M, et al. Looking into flowering time in almond (*Prunus dulcis* (Mill.) D. A. Webb): The candidate gene approach. *Theor Appl Genet*, 2005, 110: 959—968 [\[DOI\]](#)

- 12 Dirlewanger E, Graziano E, Joobeur T, et al. Comparative mapping and marker-assisted selection in *Rosaceae* fruit crops. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101: 9891—9896[DOI]
- 13 Sanchez-Perez R, Howad W, Dicenta F, et al. Mapping major genes and quantitative trait loci controlling agronomic traits in almond. *Plant Breeding*, 2007, 126: 310—318[DOI]
- 14 吴凡, 徐勇, 常凤启, 等. 桃中两个 *MADS* box 基因的克隆与表达分析. *遗传学报*, 2004, 31: 908—918
- 15 Hellens R P, Edwards E A, Leyland N R, et al. pGreen: A versatile and flexible binary Ti vector for *Agrobacterium*-mediated plant transformation. *Plant Mol Biol*, 2000, 42: 819—832[DOI]
- 16 Clough S J, Bent A F. Floral dip: A simplified method for *Agrobacterium*-mediated transformation of *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*, 1998, 16: 735—743[DOI]
- 17 Howad W, Yamamoto T, Dirlewanger E, et al. Mapping with a few plants: Using selective mapping for microsatellite saturation of the *Prunus* reference map. *Genetics*, 2005, 171: 1305—1309[DOI]
- 18 Mizukami Y, Ma H. Ectopic expression of the floral homeotic gene *AGAMOUS* in transgenic *Arabidopsis* plants alters floral organ identity. *Cell*, 1992, 71: 119—131[DOI]
- 19 Kitahara K, Hibino Y, Aida R, et al. Ectopic expression of the rose *AGAMOUS*-like *MADS*-box genes '*MASAKO C1* and *DI*' causes similar homeotic transformation of sepal and petal in *Arabidopsis* and sepal in *Torenia*. *Plant Sci*, 2004, 166: 1245—1252[DOI]
- 20 Martin T, Hu M, Labbe H, et al. *PpAG1*, a homolog of *AGAMOUS*, expressed in developing peach flowers and fruit. *Can J Bot*, 2006, 84: 767—776[DOI]
- 21 Lü S, Du X, Lu W, et al. Two *AGAMOUS*-like *MADS*-box genes from *Taihangia rupestris* (*Rosaceae*) reveal independent trajectories in the evolution of class C and class D floral homeotic functions. *Evol Dev*, 2007, 9: 92—104
- 22 Sung S K, Yu G H, An G. Characterization of *MdMADS2*, a member of the *SQUAMOSA* subfamily of genes, in apple. *Plant Physiol*, 1999, 120: 969—978[DOI]
- 23 Elo A, Lemmetyinen J, Turunen M L, et al. Three *MADS*-box genes similar to *APETALA1* and *FRUITFULL* from silver birch (*Betula pendula*). *Physiol Plant*, 2001, 112: 95—103[DOI]
- 24 Dinneny J R, Weigel D, Yanofsky M F. A genetic framework for fruit patterning in *Arabidopsis thaliana*. *Development*, 2005, 132: 4687—4696[DOI]
- 25 Clark S E, Running M P, Meyerowitz E M. *CLAVATA1*, a regulator of meristem and flower development in *Arabidopsis*. *Development*, 1993, 119: 397—418
- 26 Clark S E, Running M P, Meyerowitz E M. The *CLAVATA3* is a specific regulator of shoot and floral meristem development affecting the same processes as *CLAVATA1*. *Development*, 1995, 121: 2057—2067
- 27 Laux T, Mayer K F, Berger J, et al. The *WUSCHEL* gene is required for shoot and floral meristem integrity in *Arabidopsis*. *Development*, 1996 122: 87—96
- 28 Long J A, Moan E I, Medford J I, et al. A member of the *KNOTTED* class of homeodomain proteins encoded by the *STM* gene of *Arabidopsis*. *Nature*, 1996, 379: 66—69[DOI]
- 29 Clark S E, Williams R W, Meyerowitz E M. The *ULTRAPETALA* gene controls shoot and floral meristem size in *Arabidopsis*. *Development*, 1997, 2001, 128: 1323—1333
- 30 Running M P, Meyerowitz E M. Mutations in the *PERIANTHIA* gene of *Arabidopsis* specifically alter floral organ number and initiation pattern. *Development*, 1996, 122: 1261—1269
- 31 Baker C C, Sieber P, Wellmer F, et al. The early extra petals1 mutant uncovers a role for microRNA miR164c in regulating petal number in *Arabidopsis*. *Curr Biol*, 2005, 15: 303—315[DOI]
- 32 Lohmann J U, Hong R, Hobe M, et al. A molecular link between stem cell regulation and floral patterning in *Arabidopsis*. *Cell*, 2001, 105: 793—803[DOI]
- 33 Ferrario S, Shchennikova A V, Franken J, et al. Control of floral meristem determinacy in *Petunia* by *MADS*-box transcription factors. *Plant Physiol*, 2006, 140 890—898[DOI]
- 34 乔飞, 王力荣, 范崇辉, 等. 利用 AFLP 和 RAPD 标记构建桃的遗传连锁图谱. *果树学报*, 2006, 5: 766—769