网络出版时间:2026-04-08 DOI:10.13207/j.jnwafu.2026.10.012

切花菊*CmCUC*基因鉴定及在腋芽发育中的作用分析

宋小洁,苑青,罗如君,丛天慈,杨青青,袁存权
(国家花卉工程技术研究中心,花卉种质创新与分子育种北京市重点实验室,北京林业大学 园林学院,北京 100083)

[摘 要] 【目的】克隆调控切花菊腋芽形成的关键基因*CmCUC*并分析其表达特性,为菊花株型改良提供理论依据。【方法】通过基因克隆分离切花菊'神马'的*CmCUC*基因序列,利用生物学信息方法分析CmCUC蛋白理化性质、蛋白结构、蛋白亲疏水性、保守结构域和启动子顺式元件,预测其跨膜结构及信号肽,利用农杆菌瞬时转化本氏烟草叶片,对*CmCUC*基因进行亚细胞定位,通过实时荧光定量分析*CmCUC*基因在菊花顶芽、腋芽、花、叶、根、茎等不同组织部位的表达特异性,明确其在不同分枝类型菊花顶芽和腋芽等组织中的表达模式,以及在'神马'腋芽不同发育阶段的表达特性。【结果】从切花菊'神马'中分离鉴定到1个NAC(NAM/ATAF/CUC)超家族CUC基因*CmCUC*,*CmCUC*基因全长1 017 bp。系统发育分析发现,CmCUC蛋白与罂粟PsCUC蛋白的进化关系更近;蛋白序列分析表明,CmCUC蛋白结构稳定,无信号肽且无跨膜螺旋区,为亲水性蛋白;CmCUC蛋白以无规则卷曲为主,且具有典型的NAM结构域,属于NAC基因家族。顺式作用元件预测分析显示,*CmCUC*基因启动子区域含有光响应元件、生长素响应元件、脱落酸响应元件和分生组织特异性表达相关元件;亚细胞定位结果显示,*CmCUC*基因定位于细胞核。表达分析结果显示,*CmCUC*基因在菊花顶芽和腋芽组织中表达量较高,而在花、叶、根、茎等组织中不表达或表达量较低;在不同分枝类型菊花中,*CmCUC*基因在顶端优势明显类型的顶芽中表达量较高;在腋芽形成的不同阶段,*CmCUC*基因在腋芽发育的早期阶段(腋生分生组织形成阶段)表达水平最高,随着腋芽形成,其表达水平逐渐下降。【结论】*CmCUC*基因属于NAC家族转录因子,可以促进切花菊的顶芽和腋芽等芽组织发育,特别是在腋芽发育过程中,其通过调控腋生分生组织的发育来促进腋芽形成。

[关键词] 切花菊;腋芽发育;*CmCUC*基因;表达模式
[中图分类号] S682.1+1 [文献标志码] A [文章编号] 1671-9387(2026)10-0113-09

Identification and functional analysis of *CmCUC* gene in axillary bud development of cut chrysanthemum (*Chrysanthemum* × *morifolium*)

SONG Xiaojie, YUAN Qing, LUO Rujun, CONG Tianci,
YANG Qingqing, YUAN Cunquan
(*National Engineering Research Center for Floriculture, Beijing Key Laboratory of Ornamental Plants Germplasm Innovation & Molecular Breeding, School of Landscape Architecture, Beijing Forestry University, Beijing* 100083, *China*)

Abstract: 【Objective】 This study aimed to clone the key gene *CmCUC* regulating the formation of cut *Chrysanthemum morifolium* axillary bud and to analyze its expression characteristics, thus providing theoretical

[收稿日期] 2025-07-25 [修回日期] 2025-11-21
[基金项目] 国家重点研发计划项目(2023YFD1200105);雄安新区科技计划项目;国家自然科学基金项目(32071827);中央高校基本科研业务费专项(QNTD202503);河北省省级科技计划项目(254X9918D)
[作者简介] 宋小洁(2001—),女,山东德州人,在读硕士,主要从事菊花分子育种研究。E-mail:1138919039@qq.com
[通信作者] 袁存权(1984—),男,内蒙古伊金霍洛旗人,副教授,博士生导师,主要从事园林植物遗传育种研究。E-mail:yuancunquan@163.com

and experimental basis for molecular breeding and plant type improvement of chrysanthemum.【Method】The *CmCUC* gene sequence of cut *C. morifolium* 'Shenma' was isolated by gene cloning. The physicochemical properties, protein structure, protein hydrophilicity and hydrophobicity, conserved domains and promoter cis-elements of CmCUC protein were analyzed by biological information method. Additionally, its transmembrane structure and signal peptide were predicted. The subcellular localization of *CmCUC* gene was performed by Agrobacterium-mediated transient transformation of *Nicotiana tabacum* leaves. The differential expression patterns of the *CmCUC* were investigated by qRT-PCR in various organs, including apical buds, axillary buds, flowers, leaves, roots, and stems, to clarify its expression patterns in the tissues of chrysanthemum cultivars with different branching types, along with its expression characteristics during different developmental stages of the axillary buds in 'Shenma'.【Result】A NAC(NAM/ATAF/CUC) superfamily CUC gene, *CmCUC*, was isolated and identified from cut *C. morifolium* 'Shenma'. The full length of the *CmCUC* gene was cloned to be 1 017 bp. Phylogenetic analysis showed that the CmCUC protein shared a closer evolutionary relationship with PsCUC protein of opium poppy. Protein sequence analysis revealed that CmCUC protein was a stable, hydrophilic protein lacking both a signal peptide and transmembrane helices. The CmCUC protein was mainly composed of random coils and contains a typical NAM domain, belonging to the NAC gene family. Prediction analysis of cisacting elements showed that the promoter region of the *CmCUC* gene contained light-responsive elements, auxin-responsive elements, abscisic acid-responsive elements, and meristem-specific expression related elements. Subcellular localization results demonstrated that *CmCUC* gene was localized in the nucleus. The expression analysis showed that *CmCUC* gene was highly expressed in apical buds and axillary buds, but not expressed or expressed at low levels in flowers, leaves, roots and stems. Among chrysanthemum cultivars with different branch types, the expression level of *CmCUC* gene was higher in the apical buds of those exhibiting strong apical dominance. At different stages of axillary bud development, the expression level of the *CmCUC* gene peaked at the early stage of axillary bud development (axillary meristem formation stage), and gradually decreased as the axillary bud formed.【Conclusion】The *CmCUC* gene belongs to the NAC family of transcription factors and can promote the development of bud tissues, including apical buds and axillary buds in cut *C. morifolium*. Particularly during axillary bud development, it facilitates axillary bud formation by regulating the development of axillary meristems.

Key words: cut *Chrysanthemum*×*morifolium*; axillary bud development; *CmCUC* gene; expression pattern

植物分枝是自然界中普遍存在的现象,是植物形态建成中的重要组成部分,是决定作物产量和园艺植物观赏价值的重要性状[1]。菊花(*Chrysanthemum*×*morifolium* Ramat)作为中国传统名花和世界主要商品花卉,不同栽培应用类型对株型有着独特的需求,如园林景观用菊花品种对株型需求为顶端优势缺失的多分枝类型,而切花菊特别是单头切花菊则要求顶端优势极强的少分枝(或不分枝)类型。因此,培育理想分枝特性的新品种是菊花育种的重要目标之一,而解析菊花侧枝发育机制是其核心科学问题。植物的侧枝由叶腋部位的腋生分生组织(axillary meristem, AM)发育而成,植物侧枝发育一般包括3个阶段,分别为腋芽的形成、腋芽的释放(或腋芽的休眠)和腋芽的伸长[2],其中腋芽的形成是侧枝形成的关键阶段,这一阶段又可细分为叶腋部位的确定、叶腋内分生组织形成能力的维持、腋生分生组织的形成和叶原基的形成4个时期[3]。越来越多的研究表明,转录因子在腋芽的形成过程中发挥着重要调控功能[4]。例如番茄(*Solanum lycopersicum* L.)中*RAX1*同源基因*BLIND*的缺失会导致腋生分生组织无法形成[5];拟南芥*STM*基因在分生组织中特异性表达,其参与分生组织分生能力的维持并抑制分生组织的分化[6]。

CUC(CUP-SHAPED COTYLEDON)是一类具有NAC(NAM/ATAF/CUC)结构域的转录因子[7]。已有研究发现CUC亚家族基因在植物生长发育过程中具有重要作用,如参与植物形态建成、相邻器官间分离、分生组织起始等[8]。在拟南芥中,*AtCUC*基因通过调控下游*LAS*基因促进AM起始[9],并且激活*DA1*基因的表达,促进侧枝形成[10];

拟南芥 *cuc2* 突变体植株的叶缘变得平滑，*cuc3* 突变体叶片锯齿较少[11]；番茄中 *CUC2* 的同源基因丢失会使复叶的复杂性降低[12]；在花器官发育中，*CUC1* 和 *CUC2* 不仅是心皮边缘分生组织形成与定位的关键基因[13]，还是促进珠原基形成及影响早期胚珠发育的重要基因[14]。

分枝是菊花的重要性状，但目前关于菊花分枝性状的形成和调控机制并不清楚，分离鉴定的调控菊花腋芽形成的基因尚极为有限。本研究从菊花中分离鉴定 *CmCUC* 基因，对其序列特征及蛋白特性等进行分析，并对其在不同组织部位、腋芽形成不同阶段及不同分枝特性菊花中的表达模式进行研究，明确其在菊花腋芽发育中的作用，以期为深入探索其功能及解析其调控机制提供理论依据。

1　材料与方法

1.1　试验材料

基因克隆、组织特异性表达及腋芽形成不同阶段基因表达模式研究所选用的材料为切花菊品种‘神马’；为探究 *CmCUC* 基因在不同分枝特性菊花中的表达是否存在差异，选择代表 3 种不同分枝类型的 6 份菊花种质资源作为试验材料，分别为切花菊品种‘圣雪’‘神马’，地被菊品种‘匙之粉黛’‘2019-39’，野菊‘福州野菊’‘菊花脑’，以研究 *CmCUC* 基因在不同菊花品种顶芽和腋芽中的表达模式。以上材料均由国家花卉工程中心菊花课题组提供和保存，采用扦插方式繁殖。

1.2　试验方法

1.2.1　基因克隆　利用天根 RNA 快速提取试剂盒获取菊花营养生长期腋芽组织的 RNA，然后利用 PrimeScript™ RT Reagent kit 合成 cDNA。根据菊花 *CmCUC* 基因的编码区（CDS）序列设计引物，以 cDNA 为模板进行 PCR 扩增。PCR 扩增反应体系 25 μL：上下游引物各 1.0 μL，cDNA 1.0 μL，2× Phnta UniFi Master Mix 12.5 μL，ddH_2O 9.5 μL；PCR 扩增程序为：98 ℃预变性 30 s；98 ℃变性 10 s，62 ℃退火 10 s，72 ℃延伸 15 s，35 个循环；72 ℃延伸 5 min。利用琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒对菊花 *CmCUC* 基因的 PCR 产物进行纯化回收，连接到 pTOPO-Blunt 载体上，转化至 Top 10 大肠杆菌感受态中，并将鉴定为阳性的菌液送至北京擎科生物科技有限公司进行双向测序。

1.2.2　*CmCUC* 基因的生物信息学分析　从 NCBI 数据库中获得拟南芥、水稻、玉米等 22 个物种 *CUC* 基因的 CDS 序列，使用 MEGA11.0 采用邻位相接法构建系统发育树，利用在线软件 ExPASy（https://web.expasy.org/protparam/）、SWISS-MODEL（https://swissmodel.expasy.org/）、WoLF PSORT（https://www.genscript.com/wolf-psort.html）、T-MHMMM（https://services.healthtech.dtu.dk/services/TMHMM-2.0/）、SignalP（https://services.healthtech.dtu.dk/services/SignalP-6.0/）进行菊花 CUC 蛋白理化性质、二级结构、亲疏水性分析及定位预测分析、跨膜结构域预测分析、信号肽预测分析和蛋白质三级结构预测分析，利用 Smart 网站（http://smart.embl-heidelberg.de）预测菊花 CmCUC 蛋白的保守结构域，利用 TBtools 软件进行启动子顺式作用元件分析。

1.2.3　*CmCUC* 基因表达载体构建及亚细胞定位　利用 QuickCut *Kpn* Ⅰ内切酶对 PCAMBIASuper1300-GFP 空载体进行酶切，以获得线性化的 PCAMBIASuper1300-GFP，再利用琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒对反应液中的线性化质粒进行纯化回收。利用菊花 *CmCUC* 基因序列和 PCAMBIASuper1300-GFP 序列信息设计同源臂引物，再利用 PCR 在菊花 *CmCUC* 基因两端加上同源臂。对加有同源臂的菊花 *CmCUC* 基因进行纯化回收，连接到线性化的 PCAMBIASuper1300-GFP 质粒上，转化至 Top 10 大肠杆菌感受态中，并将鉴定为阳性的单克隆菌液送至北京擎科生物科技有限公司测序，送返测序正确的菊花 *CmCUC*-GFP 融合表达质粒。借助冻融法将菊花 *CmCUC*-GFP 融合表达质粒转化至 GV3101 农杆菌感受态中，利用农杆菌瞬时转化本氏烟草叶片的方法对菊花 *CmCUC* 基因进行亚细胞定位，利用荧光共聚焦显微镜 SP8 观察并拍照。

1.2.4　*CmCUC* 基因表达分析　在切花菊‘神马’腋芽形成的 4 个发育阶段（其中第Ⅰ发育阶段为 AM 形成阶段，此时在叶原基叶腋部位的中央呈现出一个明显球状突起；第Ⅱ发育阶段为边界区域形成阶段，此时 AM 刚开始分化，两侧叶原基刚刚开始隆起，与中央的分生组织形成了明显边界，即有 2 条边界区域；第Ⅲ发育阶段为叶原基形成阶段，此时 AM 两侧的叶原基逐渐膨大，但叶原基尚且不能完全包裹 AM；第Ⅳ发育阶段为腋芽形成后停滞生长阶段，此时 AM 两侧的叶原基明显伸长，且叶原基已

经将AM紧密包裹),以顶芽、腋芽、花、叶、根、茎等不同组织部位以及6个不同分枝特性菊花品种的顶芽和腋芽cDNA为模板,以菊花18S基因为内参基因(表1)进行荧光定量PCR。菊花*CmCUC*基因的相对表达水平通过$2^{-\Delta\Delta Ct}$进行计算,荧光定量结果数据的分析与统计由Microsoft Office Excel完成,采用Graphpad Pism进行显著性分析和图片绘制。

表1 荧光定量PCR所用到的引物及序列

Table 1 Primers and sequences used for fluorescence quantitative PCR

基因 Gene	正向引物 Forward primer (5′→3′)	反向引物 Reverse primer (5′→3′)
CmCUC1	ATGGCGTATTTTAACCAACATTTTG	TCAGAAGCTCCAGATGCAATCAA
18S	AAACGGCTACCACATCCAAG	ACTCGAAAGAGCCCGGTATT

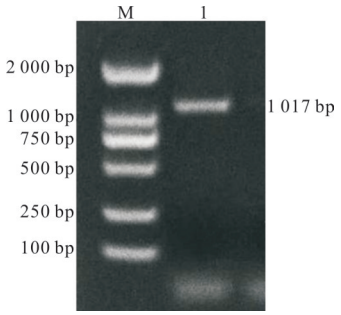
2 结果与分析

2.1 *CmCUC*基因的克隆

以切花菊'神马'腋芽的cDNA为模板进行PCR扩增,获得基因编码序列全长,利用琼脂糖凝胶电泳进行检测,显示在1 017 bp有目的条带(图1)。测序后与*CmCUC*基因的CDS序列一致,表明已成功克隆了*CmCUC*基因的编码区。

2.2 CmCUC蛋白的生物信息学分析

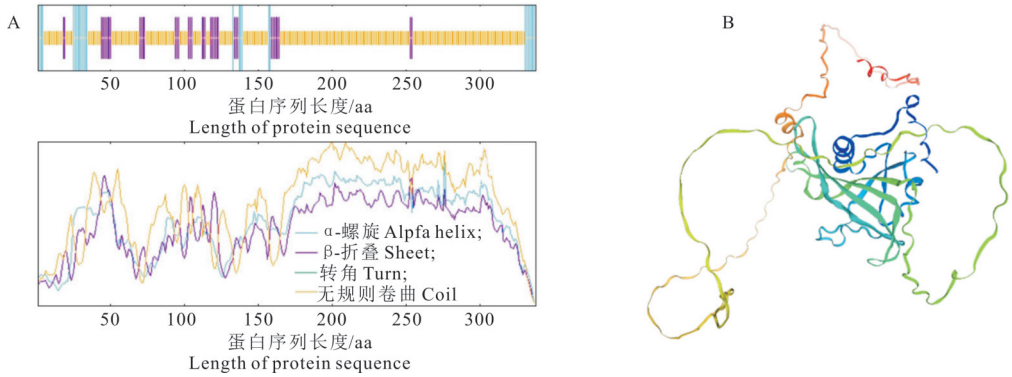
2.2.1 CmCUC蛋白理化性质分析和二级、三级结构预测 经在线软件ExPASy预测,CmCUC蛋白的氨基酸数目为338,分子质量为37 706.28 ku,等电点为8.34,表现为碱性(等电点≥7)。该蛋白序列的总平均亲水系数为负数,不稳定系数为33.92,说明其结构表现稳定。亚细胞定位预测结果显示,菊花CmCUC蛋白定位于细胞核中,可能作为转录因子发挥转录调控功能。蛋白质二级结构预测结果(图2-A)显示,该基因以无规则卷曲为主,有271个无规则卷曲结构,占比80.18%,其次延伸链占比11.54%,α-螺旋占比8.28%。蛋白质三维结构预测结果(图2-B)表明,其可信度(global model quality estimation,GMQE)为0.63,序列比对一致性为97.03%。



M. DNA Marker;1. 目标基因片段。
M. DNA Marker;1. Target gene fragment.

图1 切花菊*CmCUC*基因的PCR扩增

Fig. 1 PCR amplification of the *CmCUC* gene in cut *Chrysanthemum morifolium*



A. 二级结构;B. 三级结构。A. Secondary structure;B. Tertiary structure.

图2 CmCUC蛋白二级和三级结构预测

Fig. 2 Prediction of the secondary and tertiary structure of CmCUC protein

2.2.2 CmCUC蛋白信号肽、跨膜区域预测和蛋白亲疏水性分析 为深入了解CmCUC蛋白的生物学功能,对其结构特性,包括信号肽、跨膜区域以及亲疏水性等进行了深入分析,结果见图3~5。信号肽预测结果(图3)显示,CmCUC蛋白不存在信号肽结构域,表明CmCUC蛋白可能不具备经典的分泌途径介导的蛋白转运功能。跨膜区域预测结果(图4)显示,CmCUC蛋白的氨基酸序列中不存在跨膜螺

旋区，为非膜蛋白，主要分布在膜外。蛋白亲疏水性分析结果（图 5）显示，CmCUC 蛋白为亲水性蛋白，其中异亮氨酸亲水性最强，亲水指数为 4.5，明精氨酸疏水性最强，疏水指数为－4.5。

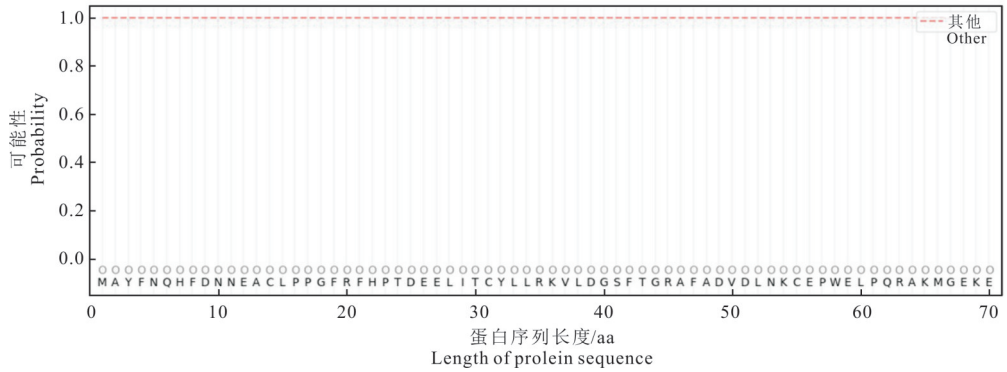


图 3　CmCUC 蛋白信号肽预测

Fig. 3　Prediction of signal peptide in CmCUC protein

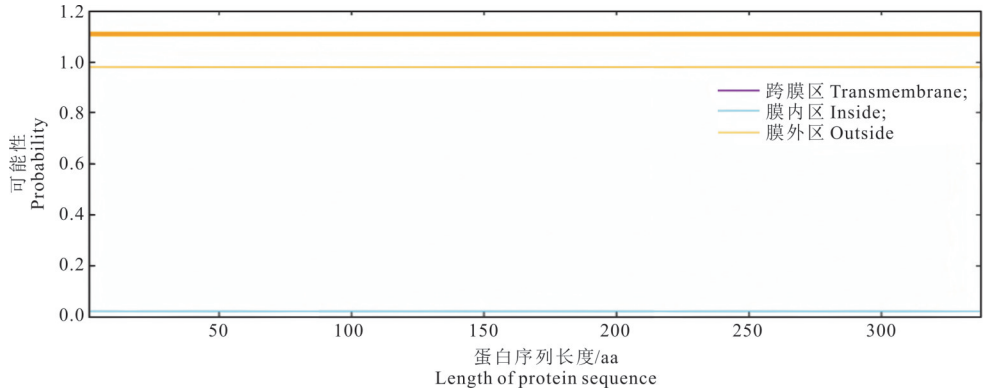


图 4　CmCUC 蛋白跨膜结构域预测

Fig. 4　Prediction of transmembrane domains in the CmCUC protein

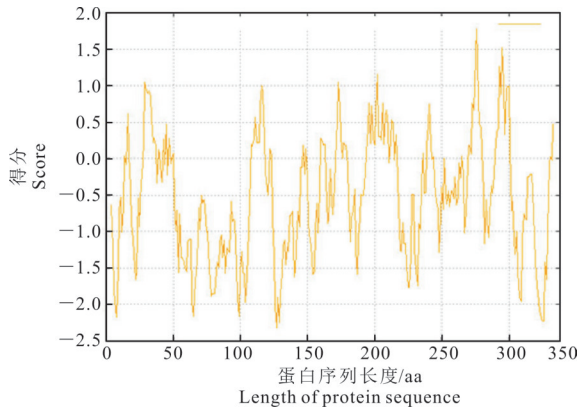


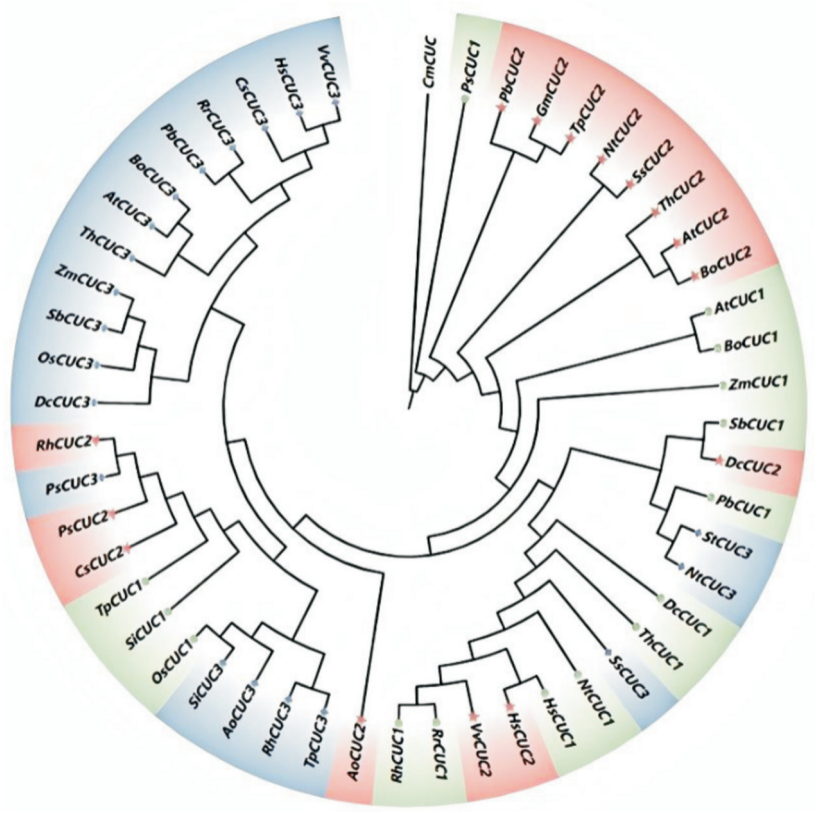
图 5　CmCUC 蛋白亲疏水性分析

Fig. 5　Hydrophilicity and hydrophobicity analysis of CmCUC protein

2.2.3　CmCUC 蛋白系统进化分析　为了探究菊花 CmCUC 蛋白在进化上的保守性及其与其他物种 CUC 基因家族的关系，利用 NCBI 获取拟南芥等多个物种的 CUCs 氨基酸序列，使用 MEGA 软件构建系统发育树，结果（图 6）显示，菊花的 CmCUC 蛋白与罂粟的 PsCUC 蛋白位于同一分支上，表明二者进化关系更近。系统发育树的分支结构进一步揭示了 CUC 基因家族在不同物种中的进化分化情况，为后续功能分析提供了重要的进化背景。

2.2.4　*CmCUC* 基因保守结构域和启动子顺式作用元件　保守结构域分析结果（图 7）显示，菊花 *CmCUC* 基因有一个保守结构域，为 Pfam：NAM 结构域，长度为 16～142 个氨基酸，表明 *CmCUC* 属于 NAM 亚族。

顺式作用元件预测分析结果（图 8）表明，*CmCUC* 基因的启动子区域包含多种潜在的顺式调控元件，环境因子响应元件中鉴定出多个光响应元件，提示 *CmCUC* 基因的表达可能受光信号通路的调控，激素响应元件涉及茉莉酸甲酯响应元件、生长素响应元件、脱落酸响应元件和水杨酸响应元件。此外，启动子序列中还存在 1 个分生组织特异性表达相关元件，暗示该基因可能在植物分生组织的分化过程中发挥调控作用。



At. 拟南芥;*Rc.* 月季;*Os.* 水稻;*Zm.* 玉米;*Sb.* 高粱;*St.* 马铃薯; *Gm.* 大豆;*Ao.* 芦笋;*Tp.* 红车轴草;*Hs.* 木槿;*Ps.* 罂粟;*Pb.* 白梨;*Si.* 谷子;*Vv.* 葡萄;*Nt.* 烟草;*Cs.* 茶;*Rr.* 玫瑰;*Ss.* 一串红; *Dc.* 黄石斛;*Bo.* 甘蓝;*Th.* 醉蝶花;*Rl.* 纽扣皱菊。

At. Arabidopsis thaliana;*Rc. Rosa chinensis*;*Os. Oryza sativa*;*Zm. Zea mays*;*Sb. Sorghum bicolor*;*St. Solanum tuberosum*;*Gm. Glycine max*;*Ao. Asparagus officinalis*;*Tp. Trifolium pratense*;*Hs. Hibiscus syriacus*;*Ps. Papaver somniferum*;*Pb. Pyrus bretschneideri*;*Si. Setaria italica*;*Vv. Vitis vinifera*;*Nt. Nicotiana tabacum*;*Cs. Camellia sinensis*;*Rr. Rosa rugosa*;*Ss. Salvia splendens*; *Dc. Dendrobium catenatum*;*Bo. Brassica oleracea* var. *capitata*;*Th. Tarenaya hassleriana*;*Rl. Rutidosis leptorrhynchoides*.

图 6 菊花 CmCUC 蛋白与其他物种 CUC 蛋白的系统进化树

Fig. 6 Phylogenetic tree of CmCUC in *Chrysanthemum morifolium* and CUC proteins of other species

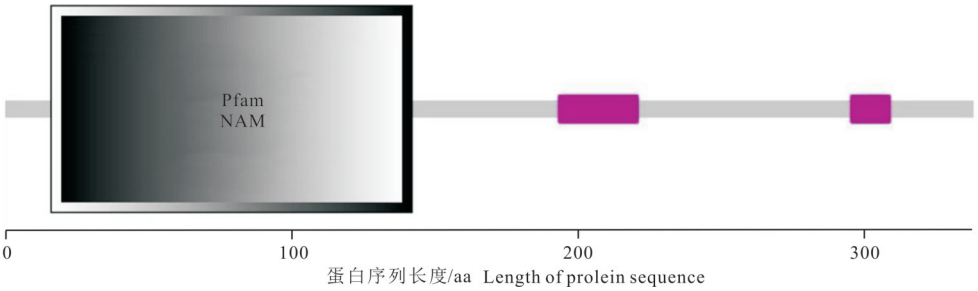


图 7 *CmCUC* 基因保守结构域的分布

Fig. 7 Conserved domain distribution map of *CmCUC* gene

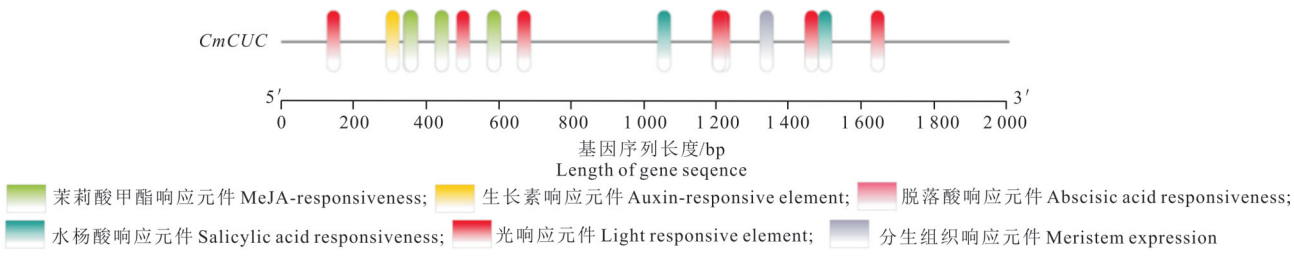
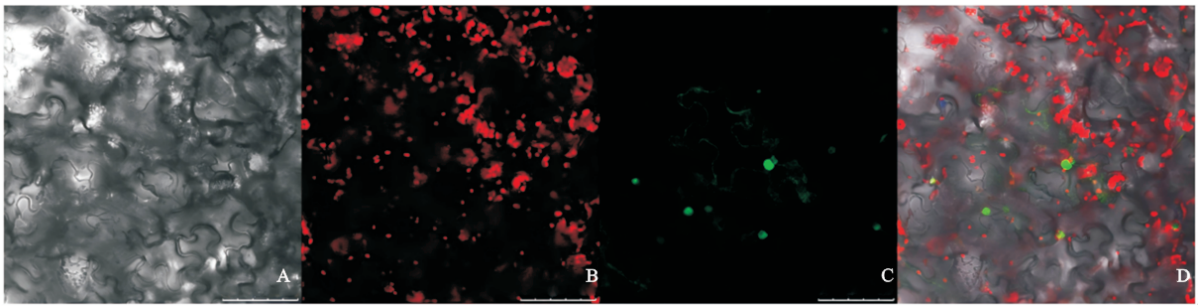


图 8 *CmCUC* 基因启动子顺式作用元件分析

Fig. 8 Analysis of cis-acting elements of *CmCUC* gene promoter

2.3　*CmCUC* 基因的亚细胞定位

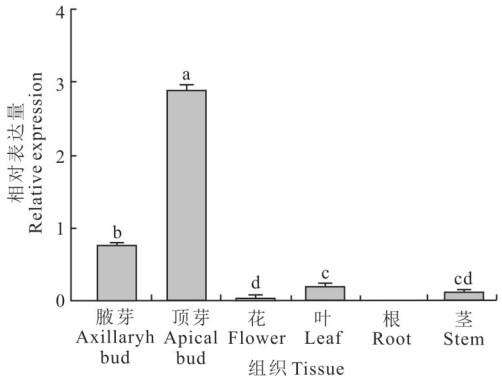
以测序正确的 *CmCUC* 基因阳性克隆质粒为模板，构建菊花 *CmCUC*-GFP 融合表达载体，利用农杆菌瞬时转化本氏烟草叶片，使用荧光共聚焦显微镜观察菊花 CmCUC 融合蛋白在烟草叶片下表皮细胞中的分布情况，结果见图 9。图 9 显示，细胞核中出现明显的荧光信号，表明 CmCUC 蛋白主要在细胞核中积累，与软件预测结果相符，其可能作为转录因子发挥调控功能。



A. 明场；B. 叶绿体自发荧光；C. 细胞核；D. 叠加图像。
A. Bright field；B. Chloroplast autofluorescence；C. Nucleus；D. Superimposed image.
图 9　*CmCUC* 基因的亚细胞定位
Fig. 9　Subcellular localization of the *CmCUC* gene

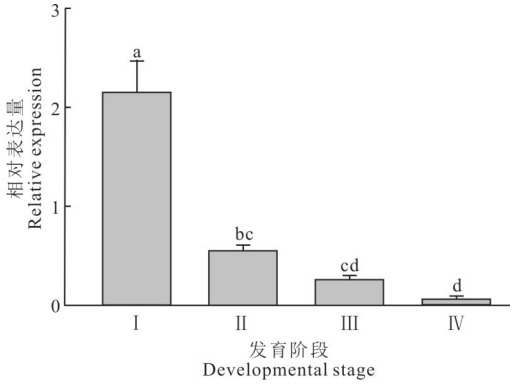
2.4　*CmCUC* 基因的表达模式分析

2.4.1　*CmCUC* 基因组织特异性表达　为进一步探究 *CmCUC* 基因组织特异性表达模式，对该基因在‘神马’菊花腋芽、顶芽、花、叶、根和茎等组织中的相对表达量进行了检测。荧光定量分析结果（图 10）显示，*CmCUC* 基因在顶芽中的表达水平最高，其次是腋芽，而在花、叶、根、茎组织中表达量较低。上述表达模式提示，*CmCUC* 基因可能在菊花芽相关器官的发育进程中发挥调控作用。



图柱上不同小写字母表示不同组织间显著差异（$P<0.05$）。图 12 同。
Different lowercase letters on the column indicate significant differences among different tissues ($P<0.05$). Fig. 12 is the same.
图 10　*CmCUC* 基因在‘神马’菊花不同部位的表达
Fig. 10　Expression pattern of *CmCUC* gene in different tissues of the chrysanthemum cultivar ‘Shenma’

2.4.2　*CmCUC* 基因在菊花腋芽形成不同阶段的表达　为了进一步明确 *CmCUC* 基因在‘神马’菊花腋芽形成过程中具体发挥作用的时期，对 *CmCUC* 基因在菊花腋芽形成 4 个关键时期的表达情况进行了分析。荧光定量分析结果（图 11）显示，*CmCUC* 基因在腋芽形成早期显著高表达，伴随着腋芽的逐渐形成，其表达水平不断下调，表明菊花 *CmCUC* 基因可能在腋芽形成早期特别是腋生分生组织形成过程中发挥着重要调控作用。



图柱上不同小写字母表示不同发育阶段间差异显著（$P<0.05$）。
Different lowercase letters on the column indicate significant differences among developmental stages ($P<0.05$).
图 11　*CmCUC* 基因在‘神马’菊花腋芽各发育阶段的表达
Fig. 11　*CmCUC* gene expression in different developmental stages of axillary buds in chrysanthemum cultivar ‘Shenma’

2.4.3　*CmCUC* 基因在不同分枝类型菊花中的表达　为探究 *CmCUC* 基因在不同分枝类型菊花中的表达是否存在差异，选取切花菊、地被菊和野菊 3 种分枝类型的 6 份菊花种质资源的腋芽和顶芽作为试验材料，检测 *CmCUC* 基因的相对表达量。荧光定量分析结果（图 12）显示，不同分枝特性菊花顶芽和腋芽中基因表达水平存在差异，*CmCUC* 基因在野菊‘菊花脑’的顶芽中表达量最高，其次是切花菊品

种'圣雪'的顶芽,在地被菊品种'2019-39'腋芽中的表达量最低。上述结果进一步印证了*CmCUC*基因在芽器官发育调控中的潜在功能。

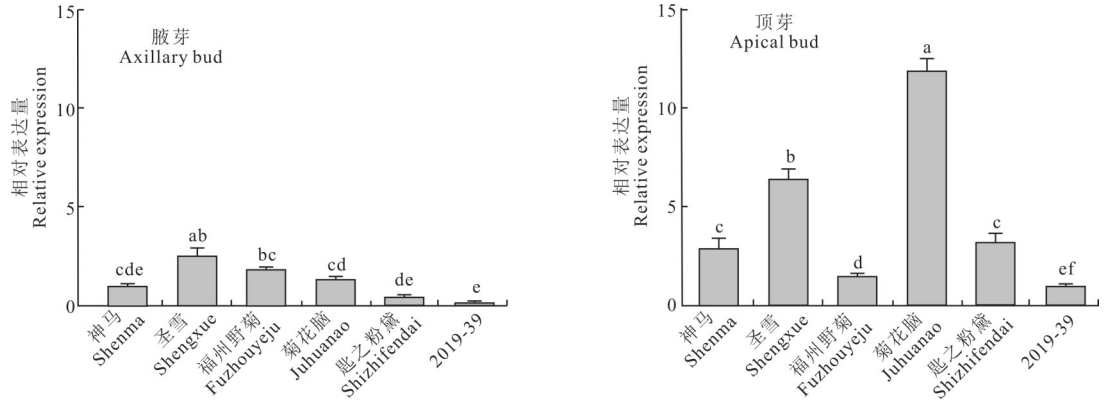


图 12 *CmCUC*基因在不同分枝类型菊花中的表达

Fig. 12 *CmCUC* gene expression in different branch types of *Chrysanthemum morifolium*

3 讨论与结论

植物分枝是植物株型的重要组成部分。在菊花中,不同的应用方式和应用场景对其分枝有着不同的要求,挖掘调控菊花分枝发育的关键基因并解析其调控机制,是理想分枝特性菊花新品种培育的核心科学问题。CUC基因家族是NAC基因家族的亚家族,在植物生长发育中扮演着重要角色[15]。本研究从菊花中克隆获得*CmCUC*基因;系统进化分析显示,CmCUC蛋白与罂粟PsCUC蛋白的进化关系更近;蛋白序列分析发现,CmCUC蛋白结构稳定,无信号肽且不存在跨膜螺旋区,为亲水性蛋白。

保守结构域分析表明,克隆得到的*CmCUC*基因具有明显的NAM结构域,证明其属于NAC基因家族。亚细胞定位结果显示,*CmCUC*基因定位在菊花的细胞核,这与拟南芥*AtCUC1*定位于细胞核的结果[16]一致。顺式作用元件预测分析表明,*CmCUC*基因的启动子区域含有光响应元件、生长素响应元件、茉莉酸甲酯响应元件、脱落酸响应元件和分生组织特异性表达相关元件,说明*CmCUC*基因可能受光诱导和生长素等激素诱导。这与已报道的生长素运输和响应基因能够调节*CUC*基因的表达进而调控早期胚胎顶端的发育[17]相一致。

已有研究表明,*CmCUC*基因主要受生长素、细胞分裂素和油菜素内酯激素调节[15,18-19],而切花菊*CmCUC*基因启动子区域鉴定出脱落酸和茉莉酸甲酯响应元件,暗示*CmCUC*基因可能同时受这两种激素调节,具体如何值得进一步研究。组织特异性表达分析结果显示,*CmCUC*基因主要在切花菊顶芽和腋芽中表达,说明*CmCUC*基因参与切花菊顶芽和腋芽的发育进程,这与已报道的*CUC*基因参与芽发育[20]相一致。对切花菊腋芽形成过程中几个关键发育时期基因表达的分析显示,*CmCUC*基因主要在切花菊腋芽形成的第一时期,即腋生分生组织形成时期表达水平最高,随后伴随着腋芽逐渐形成其表达水平不断下调,说明*CmCUC*基因参与切花菊腋芽分生组织的发育。拟南芥*cuc1cuc2*突变体表现出不能形成茎尖分生组织的表型,在*cuc*突变体中,其生芽率相比野生型明显降低[20]。此外,*CUC*基因还可与其他转录因子协同作用共同调控芽的发育。*CUC2*作为增强因子在*PLT*基因促进芽再生的过程中发挥作用[21];在ESR-CUC通路中,*ESR*基因在*CUC*上游发挥作用而影响早期茎尖分生组织的形成,进而影响不定芽的再生[22]。拟南芥中的*CUC2*和*CUC*3基因可直接与DA1启动子结合并激活其表达,而DA1则通过调控*UBP15*的降解来促进腋生分生组织的形成[23];*RAX1*和*LOF1*基因是编码MYB转录因子的基因,在*CUC*基因的上游起作用,从而诱导*CUC2*的表达来促进腋生分生组织的形成,而在*lof1*突变体中,*CUC1*、*CUC2*、*CUC3*基因的表达均有所下调[24]。在过表达miR164的*cuc3-2*突变体中,腋生分生组织的形成过程受到显著抑制,这一结果表明,*CUC1*、*CUC2*与*CUC3*三者需协同参与共同调控腋芽形成及腋生分生组织的建立[9]。综合本研究结果及已有文献[9,20,25]报道,表明*CmCUC*基因可能在切花菊顶芽和腋芽的形态建成尤其是腋生分生组织形成过程中发挥重要的调控作用,这为深入解析*CmCUC*基因调控菊花顶芽和腋芽发育的分子机制提供了理论依据。

[参考文献]

[1] EVERS J B, VAN DER KROL A R, VOS J, et al. Understanding shoot branching by modelling form and function [J]. Trends in Plant Science, 2011, 16(9): 464-467.

[2] DOMAGALSKA M A, LEYSER O. Signal integration in the control of shoot branching [J]. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2011, 12(4): 211-221.

[3] GRBIC V, BLEECKER A B. Axillary meristem development in *Arabidopsis thaliana* [J]. The Plant Journal: for Cell and Molecular Biology, 2000, 21(2): 215-223.

[4] STRABLE J. Activate, breakdown, branch out: *CUC2/3-DA1-UBP15* controls axillary meristem initiation [J]. The Plant Cell, 2020, 32(6): 1782-1783.

[5] SCHMITZ G, TILLMANN E, CARRIERO F, et al. The tomato *Blind* gene encodes a MYB transcription factor that controls the formation of lateral meristems [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2002, 99(2): 1064-1069.

[6] CHUNG Y, ZHU Y, WU M F, et al. Auxin response factors promote organogenesis by chromatin-mediated repression of the pluripotency gene *SHOOT MERISTEMLESS* [J]. Nature Communications, 2019, 10(1): 886.

[7] OLSEN A N, ERNST H A, LEGGIO L L, et al. NAC transcription factors: structurally distinct, functionally diverse [J]. Trends in Plant Science, 2005, 10(2): 79-87.

[8] AIDA M, ISHIDA T, FUKAKI H, et al. Genes involved in organ separation in *Arabidopsis*: an analysis of the *CUPSHAPED COTYLEDON* mutant [J]. The Plant Cell, 1997, 9(6): 841-857.

[9] RAMAN S, GREB T, PEAUCELLE A, et al. Interplay of miR164, *CUP-SHAPED COTYLEDON* genes and *LATERAL SUPPRESSOR* controls axillary meristem formation in *Arabidopsis thaliana* [J]. The Plant Journal, 2008, 55(1): 65-76.

[10] GALBIATI F, SINHA ROY D, SIMONINI S, et al. An integrative model of the control of ovule primordia formation [J]. The Plant Journal, 2013, 76(3): 446-455.

[11] HASSON A, PLESSIS A, BLEIN T, et al. Evolution and diverse roles of the *CUP-SHAPED COTYLEDON* genes in *Arabidopsis* leaf development [J]. The Plant Cell, 2011, 23(1): 54-68.

[12] BERGER Y, HARPAZ-SAAD S, BRAND A, et al. The NAC-domain transcription factor GOBLET specifies leaflet boundaries in compound tomato leaves [J]. Development, 2009, 136(5): 823-832.

[13] KAMIUCHI Y, YAMAMOTO K, FURUTANI M, et al. The *CUC1* and *CUC2* genes promote carpel margin meristem formation during *Arabidopsis* gynoecium development [J]. Frontiers in Plant Science, 2014, 5: 165.

[14] SPINELLI S V, MARTIN A P, VIOLA I L, et al. A mechanistic link between *STM* and *CUC1* during *Arabidopsis* development [J]. Plant Physiology, 2011, 156(4): 1894-1904.

[15] 张倩倩，侯思佳，孙振美，等. CUC 转录因子研究进展 [J]. 植物生理学报，2021，57(10)：1852-1862.
ZHANG Q Q, HOU S J, SUN Z M, et al. Research progress of CUC transcription factors [J]. Plant Physiology Journal, 2021, 57(10): 1852-1862.

[16] TAOKA K I, YANAGIMOTO Y, DAIMON Y, et al. The NAC domain mediates functional specificity of CUP-SHAPED COTYLEDON proteins [J]. The Plant Journal, 2004, 40(4): 462-473.

[17] AIDA M, VERNOUX T, FURUTANI M, et al. Roles of *PIN-FORMED1* and *MONOPTEROS* in pattern formation of the apical region of the *Arabidopsis* embryo [J]. Development, 2002, 129(17): 3965-3974.

[18] LI X G, SU Y H, ZHAO X Y, et al. Cytokinin overproduction-caused alteration of flower development is partially mediated by *CUC2* and *CUC3* in *Arabidopsis* [J]. Gene, 2010, 450(12): 109-120.

[19] SHE J, HAN Z, KIM T W, et al. Structural insight into brassinosteroid perception by BRI1 [J]. Nature, 2011, 474(7352): 472-476.

[20] DAIMON Y, TAKABE K, TASAKA M. The *CUP-SHAPED COTYLEDON* genes promote adventitious shoot formation on calli [J]. Plant and Cell Physiology, 2003, 44(2): 113-121.

[21] KAREEM A, DURGAPRASAD K, SUGIMOTO K, et al. *PLETHORA* genes control regeneration by a two-step mechanism [J]. Current Biology, 2015, 25(8): 1017-1030.

[22] IKEDA Y, BANNO H, NIU Q W, et al. The *ENHANCER OF SHOOT REGENERATION*2 gene in *Arabidopsis* regulates *CUP-SHAPED COTYLEDON*1 at the transcriptional level and controls cotyledon development [J]. Plant and Cell Physiology, 2006, 47(11): 1443-1456.

[23] DONG H, DUMENIL J, LU F H, et al. Ubiquitylation activates a peptidase that promotes cleavage and destabilization of its activating E3 ligases and diverse growth regulatory proteins to limit cell proliferation in *Arabidopsis* [J]. Genes & Development, 2017, 31(2): 197-208.

[24] LEE D K, GEISLER M, SPRINGER P S. *LATERAL ORGAN FUSION1* and *LATERAL ORGAN FUSION2* function in lateral organ separation and axillary meristem formation in *Arabidopsis* [J]. Development, 2009, 136(14): 2423-2432.

[25] 徐迎新，张策，刘煜光，等. 复色菊花青素生物合成关键基因探究 [J]. 西北农林科技大学学报（自然科学版），2026，54(5)：79-90.
XU Y X, ZHANG C, LIU Y G, et al. Exploration of key genes in anthocyanin biosynthesis in the multicolored *Chrysanthemum morifolium* [J]. Journal of Northwest A&F University (Nat Sci Ed), 2026, 54(5): 79-90.

（责任编辑：温晓平）