

拟南芥花期基因 *FT* 转化切花菊 ‘神马’

姜 丹, 梁建丽, 陈晓丽, 洪 波, 贾文锁, 赵梁军*

(中国农业大学观赏园艺与园林系, 北京 100193)

摘 要: 采用 RT-PCR 方法从拟南芥叶片中克隆 *FT* 基因, 经过测序分析、酶切之后, 连接到植物表达载体 Super1300⁺, 构建植物重组载体 *FT*- Super 1300⁺, 运用农杆菌介导法将 *FT* 基因导入切花菊 ‘神马’ 中, 鉴定其在转化植株体内的整合和表达。扩增得到的基因片段经测序分析与 GenBank 上的 *FT* 基因同源性为 100%; 构建的植物表达载体经过酶切分析证实外源基因已经正确插入; 转化后得到了 29 株抗性植株, PCR 和 PCR - Southern 杂交结果显示, 8 株抗性植株为阳性, 说明外源基因整合到转化植株的基因组中。RT-PCR 鉴定结果表明外源基因在转化植株叶片中表达。其中转 *FT* 基因的一个株系在组培条件下分化出花芽, 表明转基因植株花芽分化不受光周期影响, 花期可以提前。

关键词: 切花菊; *FT* 花期基因; 转基因; 花期

中图分类号: S 682.1⁺3

文献标识码: A

文章编号: 0513-353X (2010) 03-0441-08

Transformation of *Arabidopsis* Flowering Gene *FT* to from Cut Chrysanthemum ‘Jinba’ by *Agrobacterium* Mediate

JIANG Dan, LIANG Jian-li, CHEN Xiao-li, HONG Bo, JIA Wen-suo, and ZHAO Liang-jun*

(Department of Ornamental Horticulture and Landscape Architecture, China Agricultural University, Beijing 100193)

Abstract: *FT* gene was cloned by RT-PCR from wild type *Arabidopsis*. After sequencing, the *FT* gene with proper digestion sites was digested and inserted into plant expression vector Super 1300⁺, and was introduced into chrysanthemum genome by *Agrobacterium*-mediated transformation. The integration of *FT* was determined using PCR and PCR - Southern, and gene expression was tested by RT-PCR. After transformation, we obtained 29 resistant plants. PCR and PCR - Southern blot analysis showed that eight of them were positive. RT-PCR detected the expression of the exogenous *FT* gene in the leaves of transgenic plants. One line of eight transplants appeared flowering bud *in vitro*. It indicated that transplants flowered early without influence of light.

Key words: cut chrysanthemum; *FT* gene; transgenic; flowering

切花菊 (*Dendranthema morifolium* Tzvel.) ‘神马’ 是短日性菊花品种, 占切花菊市场的比重很大, 在北京地区 10 月份以后开花, 容易受到霜冻。目前普遍采用遮光和补光措施来调控 ‘神马’ 花期, 设备和能源成本很高。通过基因调控手段来调节花期, 可降低生产成本, 满足市场需求。近年来, 高等植物成花诱导取得了较大进展, 植物花器官发育控制基因 *AGAMOUS* (Yanofsky et al.,

收稿日期: 2009 - 09 - 20; 修回日期: 2010 - 02 - 23

基金项目: 国家 ‘863’ 计划项目 (2006AA100109); 农业部 ‘948’ 项目 (2008-G3)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: zhaolj5073@sina.com)

1990)、*LEAFY/FLORICAULA* (Weigel et al., 1992) 等已经被成功分离, 并发现 *FT* (Flowering locus T) 基因蛋白产物的分布具有诱导开花的作用。*FT* 蛋白从叶片转运到茎尖的顶端, 在一个叶片中诱导产生的 *FT* 蛋白足够诱导植物花芽分化, *FT* 基因在叶片中的表达不会诱导其他与成花有关的成分产生 (Corbesier et al., 2007; Jaeger & Wigge, 2007; Mathieu et al., 2007)。水稻中的 *Hd3a* 是对应于 *FT* 基因的同源基因, 也有开花素的作用 (Kojima et al., 2002)。在水稻中, *FT* 蛋白在叶片中合成, 然后转运到顶端分生组织中诱导开花, 而在顶端分生组织中未见 *FT* 转录产物的累积 (Tamaki et al., 2007)。在南瓜上也有类似的报道 (Lin et al., 2007), 这些结果进一步证实了 *FT* 蛋白起着成花素的作用。拟南芥 *FT* 基因是控制光周期反应的关键基因, 其表达可促进开花。拟南芥 *FT* 蛋白和锌指转录因子 *FD* 结合, 时空信息的相互表达需要 *FD* 的部分调整 (Abe et al., 2005)。目前, 已经在多种植物中克隆了花期基因 (刘复权 等, 1999; 安利忻 等, 2001; 陈大明 等, 2001), 但研究对象多集中在拟南芥、水稻等模式植物上, 且着重于基础理论研究 (Chujo et al., 2003; Moon et al., 2005; Wigge et al., 2005; Yamaguchi et al., 2005)。另外, 运用外源基因转化菊花的研究报道已有很多 (邵寒霜 等, 1999; 洪波 等, 2006), 这为利用外源 *FT* 基因改变菊花花期的研究提供了参考。

本研究中采用农杆菌介导法将拟南芥花期基因 *FT* 转入切花菊 ‘神马’, 试图培育花期多样性的系列品种, 并探讨外源基因 *FT* 在菊花体内的表达情况及其与花期的关系, 为实现菊花花期的分子生物学调控积累资料。

1 材料与方法

1.1 材料

植物材料: 野生型拟南芥, 切花菊 ‘神马’。

菌种及质粒: 农杆菌 EHA105, 植物表达载体 Super 1300⁺, pMD18-T simple 载体。

1.2 花期基因 *FT* 的克隆

根据 GenBank 上的 *FT* 序列设计引物, 引物两端连上酶切位点, 5' 端引入 *Sal* I 酶切位点, 3' 端引入 *Spe* I 酶切位点, 以拟南芥的 cDNA 为模板进行 PCR 扩增, 获得的目的片段经过胶回收、连接克隆载体、转化大肠杆菌之后, 送菌样至生物公司测序。

1.3 表达载体的构建

1.3.1 *FT* 基因质粒的酶切

双酶切反应体系: 质粒: 2 μ L; *Sal* I: 1 μ L; *Spe* I: 1 μ L; 10 \times buffer 2 μ L; ddH₂O 14 μ L, 37 $^{\circ}$ C 3 h。

1.3.2 连接反应

连接体系: *FT* 基因胶回收产物 8 μ L; 表达载体 0.5 μ L; T₄ DNA Ligase 0.5 μ L; 10 \times buffer 1 μ L, 4 $^{\circ}$ C 过夜。连接产物转入大肠杆菌感受态, 之后涂在 LB 固体培养基上, 37 $^{\circ}$ C 倒置培养 14 h。

1.3.3 重组质粒的鉴定

酶切鉴定: 挑单菌落, 摇菌 12 ~ 13 h, 从菌液中提取质粒做双酶切, 反应体系以及条件同上。

1.4 冻溶热击法转化农杆菌感受态细胞

将 1 μ g 构建好的载体质粒加入 200 μ L 农杆菌感受态细胞中, 在液氮中速冻 1 min、28 $^{\circ}$ C 慢速振荡培养 4 h, 最后接种于 YEB 固体培养基上, 28 $^{\circ}$ C 培养约 48 h。以农杆菌菌液为模板进行 PCR

扩增，鉴定阳性克隆。

1.5 根癌农杆菌 EHA105 介导的叶盘法转化菊花

菊花叶片在经过预培养、共培养之后，转入选择培养基中，每 3 周继代 1 次。将获得的潮霉素抗性苗在生根培养基中进行生根培养，最后移栽上盆。

1.6 抗性植株的 PCR 检测

运用农杆菌介导法将外源基因转化菊花之后，获得了抗性植株，将其提取 DNA，进行 PCR 检测。

1.7 抗性植株的 PCR-Southern 杂交

按照 DIG DNA labeling and detection Kit (Roche) 的方法制备地高辛标记探针、进行 DNA 的转膜和固定、然后进行杂交反应，杂交结束后，经过洗膜、温育、封闭、室温抗体连接之后显影。

1.8 RT-PCR 鉴定

提取转化植株叶片 RNA 进行反转录，之后以其 cDNA 为模板进行 PCR 扩增。

1.9 转化植株的表型观察

将转基因株系和对照植株置于组培条件下培养，培养温度 $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$ ，光照强度 2 000 lx，光周期 $14\text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$ 。通过观察和比较两类植株的花期表型变化，确认外源基因对菊花花期的调控作用。

2 结果与分析

2.1 *FT* 基因的克隆、酶切及其测序

从拟南芥的 cDNA 中扩增的 PCR 产物经电泳证明获得了 1 个大小约为 600 bp 的扩增条带 (图 1)，与预期的大小相符合，获得的阳性克隆进行双酶切鉴定和序列分析后，证明克隆产物为基因的完全编码序列 CDS，与 GenBank 上登录的 *FT* (AB027505) 基因同源性 100%。

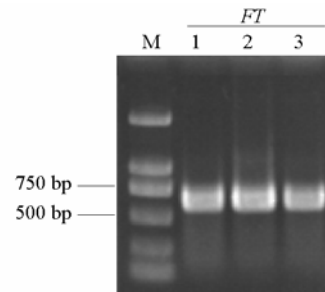


图 1 *FT* 基因 PCR 片段的电泳检测

Fig. 1 Electrophoresis test of *FT* gene

2.2 *FT* 重组质粒的构建

从菌液中提质粒，双酶切后获得与预期大小相一致的目的片段，用 T_4 DNA ligase 将目的片段连接到表达载体上，连接产物转化大肠杆菌感受态，挑单菌落摇菌，提质粒做酶切鉴定 (图 2)。

2.3 重组质粒的鉴定

对重组质粒用限制性内切酶 *Sal* I、*Spe* I 进行双酶切，酶切后的电泳图谱见图 3。从重组质粒中切出 600 bp 的片段，与目的基因相符合，说明 *FT* 基因已经插入 Super 1300⁺，载体构建成功。命名为 *FT*-Super 1300⁺。

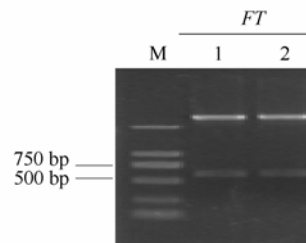


图 2 重组克隆载体酶切产物电泳检测

Fig. 2 Electrophoresis test of digestion products of recombinant cloned vector

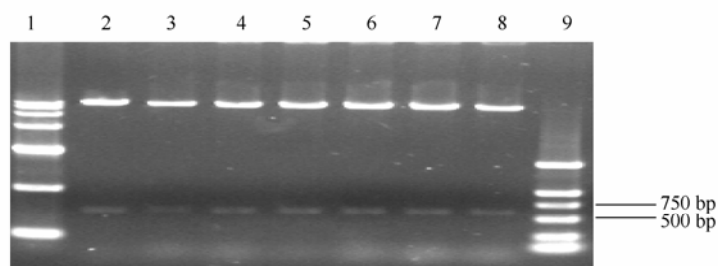


图 3 *FT-Super 1300⁺*重组质粒的双酶切电泳

1. DL15000 marker; 2~8. 重组质粒酶切产物; 9. DL2000 marker。

Fig. 3 Digestion electrophoresis test of recombinant plasmid of *FT-Super 1300⁺*

1. DL15000 marker; 2~8. Digestion product of recombinant plasmids; 9. DL2000 marker.

2.4 植物表达载体转化农杆菌感受态细胞

构建成功的植物表达载体经冻溶热击法转化农杆菌感受态细胞之后, 28 ℃倒置培养 2~3 d, 随机挑取平板上的单菌落, 于液体培养基中摇菌培养, 用菌液做模板进行 PCR 扩增, 结果显示在所挑选的 *FT-Super 1300⁺*菌斑上有 6 个显示有 PCR 扩增产物的条带 (图 4); 说明植物表达载体转入农杆菌中。

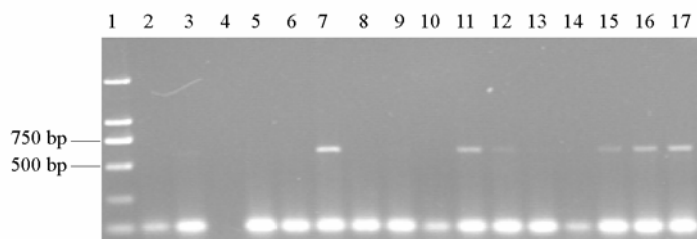


图 4 农杆菌阳性克隆的 PCR 鉴定

1. Marker; 2. 农杆菌质粒; 7、11、12、15、16、17. 农杆菌阳性转化子。

Fig. 4 PCR test of positive colony of *Agrobacterium*

1. Marker; 2. Negative control; 7, 11, 12, 15, 16, 17. Positive transformant of *Agrobacterium*.

2.5 菊花抗性植株的获得

侵染后的叶片在经过预培养、共培养和选择培养后, 结果如图版, A~E 所示。15 d 后大部分外植体变褐死亡, 少部分外植体边缘增厚隆起; 继续筛选培养到 30 d 左右, 可观察到少量抗性愈伤组织分化出绿色小芽; 60 d 后部分假阳性再生芽不再继续生长, 逐渐死亡, 抗性芽逐渐伸长, 长到 2~3 cm 的时候, 将其转移到添加抗生素和抑菌剂的生根培养基上生长, 一周之后生根, 由此获得潮霉素抗性植株。

2.6 菊花抗性植株的 PCR 检测

以抗性植株的 DNA 为模板, 用 *FT* 的特异性引物进行 PCR 检测, 从图 5 可知, 阴性对照无扩增条带, 转基因的抗性植株扩增出了约 600 bp 的条带, 与 *FT* 基因大小相符, 初步表明 *FT* 基因已经转入菊花基因组中, 获得了转基因植株。

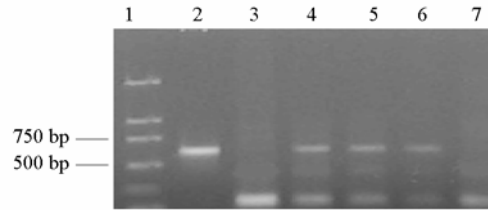


图 5 菊花抗性植株 PCR 电泳图

1. Marker; 2. 阳性对照质粒; 3. 野生型菊花; 4、5、6. 转基因植株; 7. 假阳性植株。

Fig. 5 PCR test of resistant plants of chrysanthemum

1. Marker; 2. Positive control plasmid; 3. Wild type chrysanthemum; 4, 5, 6. Transgenic plants; 7. False positive plant.

2.7 菊花抗性植株的 PCR - Southern 检测

对上述结果进行 PCR - Southern 杂交，结果如图 6、7 所示，一共有 8 株 PCR 扩增结果呈阳性的植株出现特异性杂交带，确定为转基因植株，进一步证实了 *FT* 基因整合到菊花基因组中，而未转化的植株则无特异性杂交带。

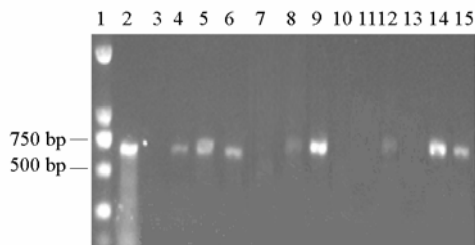


图 6 菊花转 *FT* 基因植株 PCR 电泳图

1. Marker; 2. 阳性对照; 3. 阴性对照; 4、5、6、8、9、12、14、15. 转基因植株; 7、10、11、13. 假阳性植株。

Fig. 6 PCR test of transgenic plants of chrysanthemum

1. Marker; 2. Positive control; 3. Negative control; 4, 5, 6, 8, 9, 12, 14, 15. Transgenic plants; 7, 10, 11, 13. False positive plants.

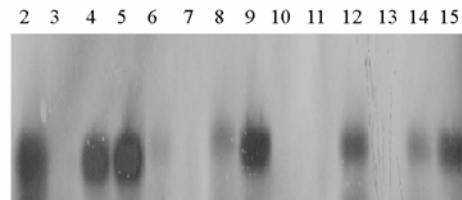


图 7 菊花转 *FT* 基因植株的 PCR - Southern 杂交检测图

2. 阳性对照; 3. 阴性对照; 4、5、6、8、9、12、14、15. 转基因植株; 7、10、11、13. 假阳性植株。

Fig. 7 PCR - Southern test of transgenic plants of chrysanthemum

2. Positive control; 3. Negative control; 4, 5, 6, 8, 9, 12, 14, 15. Transgenic plants; 7, 10, 11, 13. False positive plants.

2.8 菊花转化植株的 RT-PCR 检测

为检测外源基因在转化植株体内的表达情况，提取了 8 个转基因植株的总 RNA 反转录之后，用 cDNA 为模板进行 PCR 扩增，见图 8，有 6 个转化株系有阳性信号条带出现，2 个株系没有条带，这说明外源基因已经在转录水平表达。

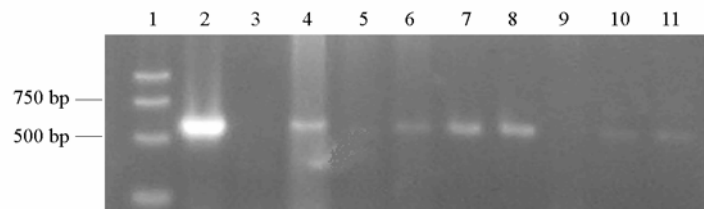


图 8 菊花转基因植株的 RT-PCR 检测电泳图

1. Marker; 2. 阳性对照; 3. 阴性对照; 4、6、7、8、10、11. 表达的转基因株系; 5、9. 未表达的转基因株系。

Fig. 8 RT-PCR test of transgenic plants of chrysanthemum

1. Marker; 2. Positive control; 3. Negative control; 4, 6, 7, 8, 10, 11. Expressed transgenic lines; 5, 9. Unexpressed transgenic lines.

2.9 菊花转化植株的表型观察

为了鉴定转化植株的生物学特性, 将转化植株在组培条件下培养。转基因无菌苗经过一次继代之后, 在瓶中长出新花芽, 野生型未分化花蕾 (图版, F), 转基因植株 line-7 的各 T1 代植株均发育出花蕾 (图版, G~I), 但花蕾附近的叶片狭长、叶缘缺刻不太明显。初步说明转 *FT* 植株不受光周期影响, 具有了自主开花特性。



图版说明:

A~E. 菊花抗性植株的生长过程 (A. 培养 30 d 后潮霉素抗性芽的形成; B、C. 60 d 后潮霉素抗性芽和假阳性芽的生长情况; D. 抗性植株的生根; E. 潮霉素抗性植株的生长情况)。

F~I. 转基因植株的表型变化 (F. 野生型菊花无菌苗; G~I. 转 *FT* 基因的一个株系)。

Explanation of plates:

A - E. Growth process of resistant plant of chrysanthemum (A. Form of HPT resistant buds after cultivating 30 days; B, C. Growth conditions of HPT resistant buds and false positive buds after cultivating 60 days; D. Rooting of resistant plant; E. Growth conditions of resistant HPT plants).

F - I. Appearance change of transgenic plants of chrysanthemum (F. Wild type of chrysanthemum vitro; G - I. One line of *FT* transgenic plants).

3 讨论

将特定的外源基因构建在植物表达载体中并转入受体植物, 并不是遗传转化的最终目标。转基因目的是外源基因在特定部位和时间内高水平表达并产生表型效应。大量研究表明, 外源基因在受体植物内可能会出现表达效率低、表达产物不稳定甚至基因失活或沉默等不良现象, 因此选择一个高效的启动子很重要 (王关林和方宏筠, 2002)。本研究用 Super 1300⁺植物表达载体质粒, 拥有一段多克隆位点, 在其前端有一个 Super Promoter, 能够高效诱导外源插入基因的表达, *FT* 基因内部没有 *Sal* I 和 *Spe* I 酶切位点, 并且双酶切反应温度和缓冲液均相同, 故将这两种酶的酶切识别位点置于目的基因的引物之前, 在克隆载体上将其酶切, 用 T₄DNA 连接酶将目的基因连接到 Super 1300⁺上完成载体构建。

关于菊花的转基因研究报道很多 (邵寒霜, 1999; Abe et al., 2005; Lin et al., 2007), 但利用转基因技术改变菊花花期的研究很少, 特别是未见用 *FT* 基因转化菊花的报道。本研究利用农杆菌介导法将拟南芥 *FT* 基因导入菊花中, 通过 PCR 扩增和 PCR - Southern 杂交检测获得了 8 株阳性植株, 说明外源基因已经整合到转化植株的基因组中; 进一步用 RT-PCR 鉴定, 结果表明外源基因在 6 株转化植株的叶片中表达; 通过形态观察, 发现有一个转基因株系 (line-7) 在组培条件下完成了花芽分化并长出花蕾。类似的结果在杨树上出现过, 如转入 *FT* 基因的毛果杨 (*Populus trichocarpa*) 在培养皿中培养 4 周后就可以长出柔荑花絮, 也使花期提前 (Bohlenius et al., 2006)。本试验进一步验证了 *FT* 基因在控制植物花芽分化上的有效性。

本报道目前仅观察了转基因植株的花蕾发生变化情况, 尚未深入了解 *FT* 基因对菊花的综合影响。今后尚需设计盆栽试验, 将转化植株和对照植株置于人工气候室条件下培养, 比较两类植株的花芽分化过程、开花特性、花器官观赏形状的稳定性, 研究光温因子组合的影响, 确认外源基因对菊花开花期调控的有效性。如果不同转 *FT* 基因株系间的花期发生变化而观赏性状保持不变, 则具有重要的实践意义; 如果转 *FT* 基因植株的开花形状能通过有性杂交遗传给后代, 则具有很大的育种价值。

本研究的遗传转化结果表明 Super 1300⁺这一组成型高效表达载体适用于菊花; 利用构建的植物表达载体 *FT*-Super 1300⁺可将外源 *FT* 基因插入菊花基因组并容易获得转基因植株; RT-PCR 检测结果表明外源 *FT* 基因能够在菊花叶片部位稳定表达; 转 *FT* 基因株系的组培苗在培养容器中分化出花蕾, 说明外源 *FT* 基因使短日照菊花 ‘神马’ 具有了在 16 h 光照条件下开花的特性, 通过转 *FT* 基因来改变菊花的花期是可行的。

References

- Abe M, Kobayashi Y, Yamamoto S, Daimon Y, Yamaguchi A, Ikeda Y, Ichinoki H, Notaguchi M, Goto K, Araki T. 2005. FD, a bZIP protein mediating signals from the floral pathway integrator *FT* at the shoot apex. *Science*, 309: 1052 - 1056.
- An Li-xin, Liu Wei-rong, Chen Zhang-liang, Li Yi. 2001. Studies on *Petunia hybrida* transformed with flower meristem identity gene *API*. *Acta Botanica Sinica*, (1): 63 - 66. (in Chinese)
- 安利忻, 刘维荣, 陈章良, 李 毅. 2001. 花分生组织决定基因 *API* 转化矮牵牛的研究. *植物学报*, (1): 63 - 66.
- Bohlenius H, Huang T, Charbonnel-Campaa L, Brunner A M, Jansson S, Strauss S H, Nilsson O. 2006. CO/FT regulatory module controls timing of flowering and seasonal growth cessation in trees. *Science*, (312): 1040 - 1043.
- Chen Da-ming, Jin Yong-feng, Zhang Shang-long. 2001. Cloning and characterization of the *LEAFY* homolog in *Citrus*. *Acta Horticulturae Sinica*, 28 (4): 295 - 300. (in Chinese)
- 陈大明, 金勇丰, 张上隆. 2001. 柑橘 *LEAFY* 同源基因片段分离及特性研究. *园艺学报*, 28 (4): 295 - 300.

- Chujo A, Zhang Z, Kishino H, Shimamoto K, Kyoizuka J. 2003. Partial conservation of *LFY* function between rice and *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiology*, 44 (12): 1311 – 1319.
- Corbesier L, Vincent C, Jang S, Fornara F, Fan Q Z, Searle I, Giakountis A, Farrona S, Gissot L, Turnbull C, Coupland G. 2007. FT protein movement contributes to long-distance signaling in floral induction of *Arabidopsis*. *Science*, 316: 1030 – 1033.
- 洪 波, 全 征, 马 男, 李建科, Mie Kasuga, Kazuko Yamaguchi-Shinozaki, 高俊平. 2006. *AtDREB1A* 基因在菊花中的异源表达提高了植株对于干旱和盐渍胁迫的耐性. *中国科学 C 辑, 生命科学*, 36 (3): 223 – 231.
- Huang T, Bohnenius H, Eriksson S, Parcy F, Nilsson O. 2005. The mRNA of the *Arabidopsis* gene *FT* moves from leaf to shoot apex and induces flowering. *Science*, 309: 1694 – 1696.
- Jaeger K E, Wigge P A. 2007. FT protein acts as a long-range signal in *Arabidopsis*. *Curr Biol*, 17: 1050 – 1054.
- Kojima S, Takahashi Y, Kobayashi Y, Monna L, Sasaki T, Araki T, Yano M. 2002. Hd3a, a rice ortholog of the *Arabidopsis* *FT* gene promotes transition to flowering downstream of Hd1 under short-day conditions. *Plant Cell Physiology*, 43 (10): 1096 – 1105.
- Lin M K, Belanger H, Lee Y J, Varkonyi-Gasic E, Taoka K I, Miura E, Xoconostle-Cázares B, Gendler K, Jorgensen R A, Phinney B, Lough T J L, Lucas W J. 2007. FLOWERING LOCUS T protein may act as the long-distance florigenic signal in the cucurbits. *Plant Cell*, 19: 1488 – 1506.
- Liu Fu-quan, Zhu Guang-lian, Luo Da, Wu Xiang-yu, Xu Zhi-hong. 1999. Cloning and analysis of *CFL-A* *LFY*-like gene from cucumber. *Acta Botanica Sinica*, 41 (8): 813 – 819. (in Chinese)
- 刘复权, 朱广廉, 罗 达, 吴相钰, 许智宏. 1999. 黄瓜中 *LFY* 同源基因 *CFL* 的克隆与分析. *植物学报*, 41 (8): 813 – 819.
- Mathieu J, Warthmann N, Kottner F, Schmid M. 2007. Export of FT protein from phloem companion cells is sufficient for floral induction in *Arabidopsis*. *Curr Biol*, 17: 1055 – 1060.
- Moon J, Lee H, Kim M, Lee I. 2005. Analysis of flowering pathway integrators in *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiology*, 46 (2): 292 – 299.
- Shao Han-shuang, Li Ji-hong, Zheng Xue-qin, Chen Shou-cai. 1999. Cloning of the *LFY* cDNA from *Arabidopsis thaliana* and its transformation to *Chrysanthemum morifolium*. *Acta Botanica Sinica*, 41: 268 – 271. (in Chinese)
- 邵寒霜, 李继红, 郑学勤, 陈守才. 1999. 拟南芥 *LFY* cDNA 的克隆及转化菊花的研究. *植物学报*, 41: 268 – 271.
- Tamaki S, Matsuo S, Wong H L, Yokoi S, Shimamoto K. 2007. Hd3a protein is a mobile flowering signal in rice. *Science*, 316: 1033 – 1036.
- 王关林, 方宏筠. 2002. 植物基因工程 (第 2 版). 北京: 科学出版社: 89 – 106.
- Weigel D, Alvarez J, Smyth D R, Yanofsky M F, Meyerowitz E M. 1992. *LEAFY* controls floral meristem identity in *Arabidopsis*. *Cell*, 69 (5): 843 – 859.
- Wigge P A, Kim M C, Jaeger K E, Busch W, Schmid M, Lohmann J U, Weigel D. 2005. Integration of spatial and temporal information during floral induction in *Arabidopsis*. *Science*, 309 (5737): 1056 – 1059.
- Yamaguchi A, Kobayashi Y, Goto K, Abe M, Araki T. 2005. Twin sister of *FT* (*TSF*) acts as a floral pathway integrator redundantly with *FT*. *Plant Cell Physiology*, 46 (8): 1175 – 1189.
- Yanofsky M F, Ma H, Bowman J L, Drews G N, Feldmann K A, Meyerowitz E M. 1990. The protein encoded by the *Arabidopsis* homeotic gene *AGAMOUS* resembles transcription factors. *Nature*, 346: 35 – 39.