

DOI: 10.1360/yc-007-1182

高等植物开花诱导研究进展

孙昌辉^{1,2}, 邓晓建¹, 方军², 储成才²

1. 四川农业大学水稻研究所, 成都 611130;
2. 中国科学院遗传与发育生物学研究所, 北京 100101

摘要: 高等植物由营养生长向生殖生长转换的过程称为开花诱导。开花诱导过程由遗传和外界环境两个因素决定, 受错综复杂的网络信号传导途径调控。近年来, 在双子叶模式植物拟南芥中, 开花诱导研究取得了很大进展, 探明了控制开花诱导的 4 条主要途径(光周期途径、春化途径、自主途径和 GA 途径)及调控机制。研究也表明, 开花基因在拟南芥、水稻以及其他高等植物之间具有很高的保守性。文章对相关研究的最新进展作一综述, 并指出了目前研究中存在的问题及相应的研究对策。

关键词: 开花诱导; 拟南芥; 水稻; 环境; 开花素

An overview of flowering transition in higher plants

SUN Chang-Hui^{1,2}, DENG Xiao-Jian¹, FANG Jun², CHU Cheng-Cai²

1. Institute of Rice Research, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China
2. Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

Abstract: In higher plant, flowering transition represents a crucial transition from the vegetative stage to the reproductive stage in life cycle. This process is controlled by both endogenous and environmental factors. In *Arabidopsis thaliana*, four pathways, photoperiod pathway, vernalization pathway, autonomous pathway, and GA pathway were involved in flowering control. These flowering transition pathways are shown to be highly conserved in *Arabidopsis* and other higher plants including rice (*Oryza sativa* L.). This review summarizes recent progresses on flowering time control.

Keywords: flowering transition; *Arabidopsis*; rice; environment; florigen

植物完整的生命周期分为营养生长和生殖生长两个阶段, 其中由营养生长向生殖生长转换的过程称为开花诱导。高等植物的开花诱导过程受自身遗传因子和外界环境因素两方面决定, 是开花基因在时间和空间上顺序表达的结果。顶端分生组织在这个过程中起着很重要的作用。顶端分生组织位于茎与根的主轴和侧枝的顶端, 按特定的方式不断分裂分化, 形成植物各种器官并发育成其特定的形态。不同高等植物的开花诱导过程在生理学上有一定的规律性和相似性: 当植物营养生长达到一定阶段后, 光照、温度、水分、营养等外界条件, 特别是光照

会刺激植物叶片产生成花物质或信号, 成花物质或信号通过输导组织被运输到茎尖, 刺激并启动顶端分生组织细胞内决定开花诱导基因的表达, 促成植物的成花决定态, 成花决定态可以被一些细胞获得, 这些细胞达到一定数量即发生质变而表现为组织的成花决定。这些细胞使营养分生组织转换成有性分生组织, 扁平的生长锥逐步突起, 形成花原基, 花原基形成的同时又会产生抑制顶端分生组织向叶、节和节间分化的物质, 最终完成整个开花过程^[1,2]。

近几年来, 随着拟南芥全基因组序列测定的完成, 开花诱导机理研究取得了显著进展, 控制拟南

收稿日期: 2007-05-18; 修回日期: 2007-08-21

作者简介: 孙昌辉(1982-), 男, 山东人, 硕士, 研究方向: 水稻遗传育种。Tel: 010-64889359; E-mail: chsun@genetics.ac.cn

通讯作者: 储成才(1966-), 男, 安徽人, 博士, 研究员, 研究方向: 植物分子遗传学。Tel: 010-64887570; E-mail: ccchu@genetics.ac.cn

芥开花诱导过程中的一些主干途径已经探明^[1,3]。但由于植物开花诱导的复杂性,如植物在开花过程中很大程度上受到营养条件、光、温以及植物内源信号传导机制等多方面影响,任何条件的变动都会给植物开花诱导过程带来不同程度的影响,所以彻底揭开植物开花诱导调控途径还有很长的路要走。本文以拟南芥为主,辅以水稻等其他植物,介绍了近几年来高等植物开花诱导的最新研究进展。

1 拟南芥开花诱导的 4 个途径

与很多高等植物一样,拟南芥具有显著的营养生长期。在此期间顶端分生组织只分化形成侧生分生组织,再由侧生分生组织发育成含有腋芽的叶片,由于拟南芥的茎节并不伸长,最终形成莲座状株型。拟南芥开花诱导的标志就是在这些分生组织中花原基的形成及其对叶分化的抑制。在开花诱导启动完成后,其叶原基的腋芽多数发育为侧生分生组织。特殊基因型的拟南芥的侧生分生组织还会继续分化形成腋生小花,重演顶端分生组织的命运;这些侧生分生组织分化为叶生小花后,节间伸长便开始了,伸长的茎或花序上又会产生茎生的叶和茎生的花。至此,拟南芥完成了自己的开花诱导过程。

在相当长的开花诱导研究中,人们一直认为某种或某些开花物质(如开花素)的形成是促使开花的主要原因。随着分子遗传学的发展,越来越多证据表明,开花诱导过程是受一个极其复杂的网络状信号传导途径调控的。近年来,随着大规模拟南芥、水稻等突变体的创制,被鉴定的开花突变体越来越多,为开花诱导途径的研究提供了很好的材料。特别是在拟南芥开花过程中起重要作用的基因相继被克隆后,使这个复杂的网络状信号传导途径被逐步揭开。研究表明,拟南芥开花诱导受四种反应途径调控:光周期途径、自主途径、春化途径和 GA 途径^[1~4]。

1.1 光周期途径

光周期是影响植物生长发育的一个很重要的条件,植物整个生命周期都是在光周期影响下调控完成的。拟南芥是一个典型的长日照植物,即长日照条件可以促进开花,短日照则会抑制开花。目前拟南芥中光周期调控开花途径是 4 个途径中最为清楚的一个,也是比较完整的一条途径。

拟南芥光周期途径是由光受体感受光信号开始

的。至今为止,在拟南芥中共发现了 4 类光敏色素 *PHYTOCHROME A (PHYA)*、*PHYB/D*、*PHYC/F*、*PHYE* 和 3 种隐花色素 *CRYPTOCHROME1(CRY1)*、*CRY2* 和 *CRY3*,它们感受昼夜长短和光的强弱,产生昼夜节律。光受体本身或与其有关的一些物质之间会形成某种平衡,如果日长和夜长发生变化,这种平衡就会被破坏,结果会使一些促进或抑制开花的基因表达,进而启动或抑制开花进程^[5]。所以,光周期诱导植物开花需要适当的昼夜节律,人们从拟南芥中克隆到的影响昼夜节律的基因 *CIRCADIAN CLOCK ASSOCIATED1(CCA1)*和 *LATE ELONGATED HYPOCOTYL(LHY)*,它们的 mRNA 的水平会随着昼夜节律的变化而改变,而且过量表达 *CCA1* 或 *LHY* 不但会导致下胚轴变长和晚花,还会改变它们本身和其他一些基因的节律性表达;*EARLY FLOWERING 3(ELF3)*、*TIMING OF CAB EXPRESSION1(TOC1)*、*FLAVIN BINDING KELCH-REPEAT-BOX1(FKF1)*、*ZEITLUPE(ZTL)*、*LUX ARRHYTHMO (LUX)*和 *LOV KELCH PROTEIN2(LKP2)*都属于昼夜节律类基因。这类基因位于光周期途径的上游^[6~8],它们感受昼夜变化而引起自身表达量的变化,最终在叶中激活 *CONSTANS(CO)*的表达^[9]。

*DOF FACTOR1(CDF1)*和 *GIGANTEA(GI)*在昼夜节律类基因和下游基因 *CO* 之间,起到了桥梁的作用。*CDF1* 和 *GI* 感受昼夜节律基因的变化,并把信号传递给 *CO*^[6]。研究表明 *CO* 的表达受到 *CDF1* 蛋白的抑制,但是到了下午, *CDF1* 蛋白在 *FLAVIN BINDING KELCH-REPEAT-BOX1(FKF1)*的参与下发生降解,此时 *CO* 的表达量将会上升^[10];另外 *PHYB* 和 *CRY2* 在稳定 *CO* 的转录产物方面起到了非常重要的作用^[11]。上述研究表明只有在长日照的傍晚和短日照的晚上, *CO* 的表达量才会积累达到最大值,当 *CO* 表达量超过特定临界值时就可以激活 *FT* 的表达,但是由于 *CO* 在夜间不稳定,所以拟南芥在长日照条件下容易开花。

随着光周期研究的深入,对于 1970 前生理学研究领域的现象和结论,人们试图用近代的分子遗传学的研究成果去解释,以求获得一个更为完整的开花诱导调控模型。对于开花素的寻找是其中最为吸引人的一个研究领域^[12]。1865 年 Sachs 引入成花物质概念,最早提出成花物质是由叶片运送到叶芽中导致开花;1936 年 Chailakhyan 根据嫁接实验提出开花素概念,认为对光周期有不同反应的植物之间可

能有相同的物质来促进开花;至此,很长一段时间内,人们通过各种途径寻找 Chailakhyan 所描述的开花素,但是一直没有结果。直到 2005 年, Huang 等^[13]研究表明 *FT* mRNA 就是我们寻找多年的开花素或其中一部分,这无疑是一项令人振奋的发现。但是 Laurent 等^[14]研究表明,开花素是 *FT* 蛋白而非 *FT* mRNA, 推翻了 *FT* mRNA 是开花素的结论: 研究人员利用荧光蛋白 GFP 对拟南芥中 *FT* 进行标记, 构建了 GFP:*FT* 融合蛋白转基因植株, 利用 GFP 荧光特性追踪了 *FT* 蛋白通过拟南芥脉管系统到达顶端分生组织, 激活其他基因并引起植物开花的全过程; 研究者还在两植株间进行了嫁接实验, 其中一株含有 *FT* 基因, 而另一株为 *FT* 缺失型突变体, 研究发现在前者叶片中产生的 *FT* 蛋白能够通过嫁接实验转移到后者植株体内并导致后者开花, 但是该实验中并没有检测到 *FT* mRNA 的转移。当 *FT* 运送到顶端分生组织后, 会激活 *FLOWERING LOCUS D(FD)* 的表达, 而后 *FT* 和 *FD* 组成蛋白复合物共同激活 *APETALA1(API)*、*LEAFY(LFY)* 等基因的表达, 最终促使拟南芥开花^[15,16]。

另外, 人们还发现了一个早花的拟南芥突变体 *tfl1*, 非常有趣的是, *TFL1* 跟 *FT* 有很高的同源性, 但它是开花抑制子。如果改变 *TFL1* 的一个氨基酸, 就会把 *TFL1* 转变成开花激活因子。虽然 *TFL1* 也可以通过韧皮部运送到顶端分生组织中, 但是 *TFL1* 在顶端分生组织中也大量的表达, 而且会抑制 *LFY* 和 *API/AP2* 的表达, 这就确定了 *TFL1* 并不是在运输途径中减弱 *FT* 的促进开花的作用^[17]。

1.2 春化途径

人们早就发现经过低温处理几周的一些植物往往会比没有处理的开花要早, 这种低温处理一段时间可促使植物开花的现象称为春化作用。春化作用的效应取决于植物本身所处的阶段、处理时间长短和所使用的温度。根据是否需要春化来完成生命循环, 可以把拟南芥分为冬一年生和多年生型; 夏一年生和短生命周期型, 他们分布在从北极圈附近到赤道附近的整个地球表面, 这说明不同环境的植物繁衍后代策略的形成是跟环境有密切关系的, 在今后这些生长发育有关的分子进化的研究将会是一个热点的领域。

人们发现植物经历了春化作用以后, *FLC* 的表达量会一直维持在一个比较低的程度, 研究表明春化效应是通过细胞有丝分裂稳定保留下来的, 这说

明春化作用很大程度上受到了表观遗传学机理的调控。1998 年, Finnegan 等^[18]发现, 春化途径有跟 DNA 和组蛋白的甲基化有关, 经过大量的研究后指出低温会降低拟南芥体内 DNA 甲基化水平, 春化促进开花与甲基化水平的降低有关, 可能是低温诱导了对开花非常重要的基因或基因启动子的去甲基化引起的。近年来, 表观遗传学的研究的深入使人们对春化途径有了新的认识。春化会使 *FLC* 附近染色质堆积组蛋白修饰标记, 使其表达受到影响^[19]。在春化途径中, *VERNALIZATION2 (VRN2)* 是一个果蝇聚梳蛋白家族的 *Su(Z)12* 基因的同源基因, 可能跟 H3K27 和 H3K9 的甲基化有关, 在果蝇中聚梳蛋白复合体通过表观遗传学调控基因表达, 在胚胎早期就已经稳定的影响基因表达, 并且会伴随着果蝇以后的生长发育^[20,21]; 在动物中, H3K9 会缠绕 *HPI* 用来稳定其甲基化成果^[22]。在拟南芥中也发现了 *HPI* 的同源基因 *LIKE HPI (LHP1)*, *LHP1* 跟春化相关的抑制 *FLC* 途径有关^[23]; *VERNALIZATION1 (VRN1)* 编码了植物特有蛋白-基因结构域, 在有丝分裂过程中会稳定并普及^[24]; *VERNALIZATIONINDEPENDENT3 (VIN3)* 是 *FLC* 乙酰化所必须的蛋白, 只会在长时间的冷处理后会表达, 说明它可能是春化途径中必需的但非启动型的基因^[25]。高表达量的 *FLC* 会使植物失去开花的能力, 这发生在许多过冬拟南芥类型中, 被一个显性基因 *FRIGIDA (FRI)* 控制^[26], *FRI* 编码了一个盘绕蛋白, 可以促进 *FLC* 的表达, 但是并没有证据说明它是怎样上调 *FLC* 的表达的^[27,28]。

虽然春化作用调控的具体机理还不明了, 但从基因调控的水平, 我们可以肯定, 春化途径是通过抑制 *FLOWERING LOCUS C(FLC)* 的表达来促进开花的, 也有研究表明春化途径也可以直接促进开花。在 *FLC* 抑制途径中, *VERNALIZATION(VRN)* 类基因和 *HIGH EXPRESSION OF OSMOTICALLY RESPONSIVE GENES 1(HOS1)* 基因抑制 *FLC* 的表达, *FRIGIDA(FRI)* 基因促进 *FLC* 的表达。所有这些基因效应都会间接的作用于 *SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CONSTANS (SOC1)* 和 *FT*, 在叶中影响 *SOC1* 和 *FT* 的表达, 最终达到促进或抑制开花的目的; 但是在顶端分生组织的情况却恰好相反, *FLC* 的表达会受到 *FT* 的表达的抑制^[29-31]。

1.3 自主途径

外界环境因子对植物开花的诱导可使植物在较

适宜的环境下开花, 但如果缺少这种诱导, 有些植物在营养生长到达一定阶段后也会开花。至今为止在发现的众多拟南芥开花突变体中, 还没有完全不开花的, 这说明植物内部还存在着控制开花的自主途径。当植物的光周期等途径受阻后, 自主途径通过感受植物体内部的发育状态, 并与环境信号相互作用, 在不同时期促进开花。

人们将长日照和短日照下都晚花的突变体归为自主途径类突变体。与春化途径一样, 自主途径也是通过抑制 *FLC* 基因的表达来促进开花的。在拟南芥中相继克隆到了 *FCA*, *FY*, *FLD*, *FPA*, *FVE*, *LD*, 和 *FLK* 七个基因, 研究发现自主途径的这七个基因都跟染色质修饰或 RNA 修饰有关。*FVE* 编码了一个 MSI1 同源基因, *FLD* 编码了一个与赖氨酸去甲基化酶 LSD1 同源的基因, *FVE* 和 *FLD* 都跟组蛋白的乙酰化复合体的形成有关^[32]; *FCA*, *FPA* 和 *FLK* 都包涵一个可能的 RNA 结合结构域, 另外 *FCA* 和 *FPA* 蛋白都包含了一个 RNA 结合结构域 RRM^[33], 而 *FLK* 拥有 3 个 KH 保守结构域^[34,35], 而且高表达 *FCA* 基因可以逆转 *FRI* 对 *FLC* 的促进作用, 从而达到开花的目的^[36]; *FY* 和酵母菌中 mRNA3 端加 A 的末端加工因子 Pfs2p 同源^[37]; *LD* 编码了一个未知的蛋白^[38]。以上研究暗示了自主途径可能是跟春化途径共同通过调整染色体结构(如甲基化, 乙酰化等)来控制 *FLC* 的表达。但是, 这些基因的之间的关系并不是简单的加成作用: 人工构建的 *fca/fpa* 双突变体就比人们所预想的更加晚花, *fpa* 和 *fy* 突变体综合在一起会有致死的表型。另外, 许多研究表明, 这些基因不仅在开花诱导中起作用, 而且在植物的生长发育过程中很有可能扮演了更为广泛的角色^[39]。

1.4 GA 途径

早在 1957 年, Langridge 发现用 GA 处理拟南芥可以促进其提早开花。近几年来, 人们鉴定了许多 GA 合成和信号传导途径的突变体, 这些突变体在生长发育中经常会伴随有开花外的多种表型。

人们发现 3 个在 GA 生物合成中的突变体 *gal*, *ga4* 和 *ga5* 均表现出晚花的表型, 其中 *gal* 对拟南芥影响最为严重, 表现出半矮、晚花及顶端优势减弱等一系列表型。

在 GA 信号传导途径中的 3 个关键基因 *GIBBERELLIC ACID INSENSITIVE (GAI)*、*REPRESSOR OF GAI-3 (RGA)* 和 *RGA-LIKE 1(RGL1)*

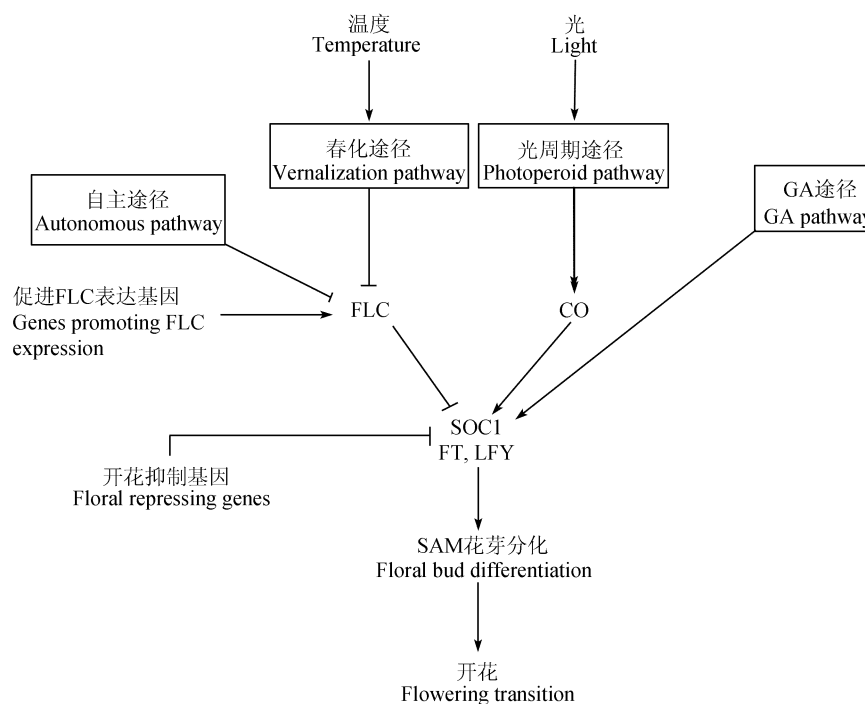
不仅在序列上有着很高的相似性, 而且功能也极为相似。*GAI*、*RGA* 和 *RGL1* 等基因的缺失突变体均表现为早花。研究表明, GA 生物合成途径突变体可能就是由于 GA 合成途径的打断而减少了对 *GAI*、*RGA* 和 *RGL1* 的抑制作用, 最终导致晚花, 这说明 GA 合成途径最终会作用于 *GAI*、*RGA* 和 *RGL1* 这 3 个基因, 从而影响开花。但是 *GAI*、*RGA* 和 *RGL1* 等基因缺失突变体并不能挽救所有 GA 合成途径突变体表型。早花突变体 *spy* 也可能跟 GA 信号传导途径有关, 它位于 *GAI* 的上游, 可能是激活 *GAI/RGA* 表达的必须基因^[2]。人们发现过量表达 *FPF1* 基因的转基因植株表现出早花的表型, 推断可能也是通过 GA 途径来实现的。*FPF1* 基因编码了一种小蛋白, 具体功能目前仍不清楚。*shi* 突变体表型接近于 GA 缺失突变体, 表现晚花。在 GA 下游途径中, 开花基因 *SOC1* 也受 GA 的调控, 而 *FPF1* 和 *GA-MYB* 在 GA 和开花因素中起中介作用。研究表明, *FPF1* 和 *SHI* 基因均位 *GAI/RGA/RGL* 的下游, *LFY* 的上游, 但并不会影响 *FT* 的表达^[29]。

GA 途径通过 *GAMYB* 激活 *LFY* 基因的表达已为人们所普遍接受, 但是 Achard 等^[40]研究发过表达的 *miR159* 转基因植株的 *MYB33* 和 *LFY* 表达量也会减少, 特别是在短日照下表现出晚花的表型, 这说明 GA 途径很可能有 miRNA 参与调控。研究表明 *miR159* 的表达受到了 GA 的正调控和 *GAI*、*RGA* 的负调控, 预示了 *miR159* 在 GA 途径中的作用和其调控机理的复杂性, 其具体机理还有待人们进一步研究。

从上述 4 个途径中不难看出, 在拟南芥开花诱导过程中, 各个途径的基因效应最终都汇集于几个关键基因: 自主途径和春化途径最终作用于 *FLC*, 抑制 *FLC* 的表达; 光周期途径通过调控 *CO* 的表达而间接作用于 *FT* 基因等。可以说, 4 种途径将各自产生的抑制或促进开花的效应作用于 *SOC1*、*FT*、*LFY* 这些关键基因, 其效应之和最终决定高等植物是否开花, 何时开花(图 1)^[41]。

2 开花诱导调控在高等植物中具有保守性

与拟南芥类似, 人们在水稻中发现了 *PHYA*、*PHYB* 和 *PHYC3* 种光敏色素, 在番茄中也发现了 5 种光敏色素 *PHYA*、*PHYB1*、*PHYB2*、*PHYE* 和 *PHYF*^[42]。这些不同植物中的同类光敏色素在序列和功能上具有很大的相似性, 这是否预示着不只是在拟南芥和

图 1 拟南芥开花调控途径^[41]Fig. 1 Interconnection of four major floral pathways in *Arabidopsis*^[41]

水稻中, 在一些其他植物中, 光周期途径中控制开花的基因乃至转导途径也具有相当的保守性? 最近的研究成果似乎对这种推测有所肯定。在许多植物光周期途径中, 特别是 *CO/FT* 这对基因组合保留了自己在开花诱导中独有的调控作用。越来越多证据表明, 在许多高等植物中, *FT* 类基因或其产物就是人们寻找多年的开花素之一。

水稻是开花诱导研究中另一个重要的模式植物。与拟南芥不同, 水稻是一种短日照植物。由于水稻生命周期长等原因, 相关研究相对于拟南芥来说, 仍然相对滞后, 但拟南芥中相关的研究毫无疑问给水稻开花诱导研究提供一个模式, 让人们不至于在完全黑暗中摸索。水稻中第一个被克隆的控制开花基因是 *PHOTOPERIODIC SENSITIVITY5 (SE5)*, 它编码了光敏色素合成途径中的一个血红素加氧酶, 与拟南芥 *HY1* 基因同源。在水稻光周期途径中起重要作用, 与 *HY1* 不同的是, 它可以绕过 *CCA1* 和 *LHY* 等时钟调控基因而直接调控下游开花基因的表达^[17]。随后, Yano 等^[45]利用近等基因系的方法在水稻抽穗期研究方面取得了很大突破。他们利用粳稻品种日本晴和籼稻品种 *Kasalath* 杂交和回交, 得到了大量定位群体, 共检测到 15 个与抽穗期相关的 QTL, 并

精细定位了其中 8 个, 明确了 6 个 QTL 的生物学功能。利用图位克隆方法克隆了 *Hd1*、*Hd3a* 和 *Hd6* 等 3 个 QTL 基因。*Hd1*、*Hd3a* 分别对应于拟南芥中的 *CO*、*FT* 基因, *Hd6* 编码了一个 *CK2* 蛋白激酶 α 亚基, 它们之间的调控关系也相当保守^[43~45]。Tamaki 等^[46]研究成果进一步证实了这点, 研究人员构建了 *Hd3a-GFP* 融合载体, 然后将该融合载体导入水稻中, 由于 *Hd3a* 和 *GFP* 紧密连锁的关系, 通过 GFP 蛋白发光特性就可以鉴定 *Hd3a* 的表达模式; 研究表明 *Hd3a* 蛋白不仅存在于叶和茎等植物通道部分, 也存在于顶端分生组织中, 而 *Hd3a* mRNA 只能在叶片部位检测到, 在韧皮部和输导组织部分以及顶端分生组织中几乎观测不到。这与拟南芥中的研究成果完全一致, 充分说明 *Hd3a* 和 *FT* 调控开花途径的是相当保守的, 它们分别起到了开花素的作用。但是, 与拟南芥不同的是, 水稻中的 *Hd1* 扮演了两个角色, 即在短日照条件下促进开花而在长日照条件下抑制开花, 说明在双子叶和单子叶, 长日照和短日照植物当中, 虽然基因间具有很高保守性, 但开花调控的机制可能不完全一样。

Liu 等^[47]在牵牛花(*Pharbitis nil*)中克隆一个与拟南芥 *CO* 基因同源且也受时钟调控的基因 *PnCO*,

把 *PnCO* 转入拟南芥 *CO* 突变体中, 可以使 *CO* 突变体恢复到正常表型; Lifschitz 等^[48] 发现在番茄 (*Solanum lycopersicum*) 中也存在 *FT* 同源基因 *SINGLE-FLOWER TRUSS (SFT)*, 在烟草 (*Nicotiana tabacum*) 或番茄中过量表达 *FT* 或 *SFT* 基因都会促进提前开花; 研究还发现, 短日照的烟草和长日照的拟南芥的过表达 *SFT* 植株都会表现出早花, 把过表达 *SFT* 的番茄植株与 *sft* 突变体、短日的烟草, 番茄突变体 *uf* 做嫁接实验, 发现通过嫁接实验可以帮助这些植株越过开花障碍, 促进开花; *CO/FT* 基因组合甚至在土豆中也起到调控块茎生长的作用, 把拟南芥中的开花基因 *CO* 转入马铃薯 (*Solanum tuberosum*) 中, 在短日照条件下, 野生型马铃薯块茎生长受到了促进, 而过表达 *CO* 的转基因马铃薯的块茎生长受到了抑制^[49]。

随着拟南芥开花调控途径的日渐清晰, 人们还尝试着把拟南芥的一些开花基因转入其他高等植物来探索通过它们调控开花转化的实际应用价值。许多果树都存在着生育周期长的特点, 有些长达 20 年才开花, 为了解决果树生育期长的问题, 使果树能够更早的开花结果, Egea-Cortines 等^[50] 人把拟南芥中的基因 *LFY* 转入橘子树, 转基因植株明显缩短了生育周期, 比野生植株提早开花、结果。Bo 等^[51] 研究发现拟南芥中 *CO/FT* 基因组合可调控毛果杨 (*Populus trichocarpa*) 秋天停止生长, 转入基因 *FT* 的毛果杨在培养皿中培养四周后就可以长出柔荑花絮, 而野生毛果杨要开花起码要经过 8~20 年, 这些发现在杨树开花诱导研究领域迈出了重要一步, 表明 *CO/FT* 基因组合在数百万年的单独进化中也非常保守。

Lin 等^[52] 从将近 100 种葫芦科植物中选出未被驯化的 *Cucurbita moschata*, 这种植物只有在 SD 条件下开花, 之后将马铃薯 Y 病毒属 ZZMV (Zucchini yellow mosaic virus) 作为载体, 检测 *FT* mRNA 或 *FT* 蛋白的长距离运输是否是成花诱导所必需的。通过嫁接实验, 利用质谱分析的方法发现, 通过植物嫁接处维管束并长距离运输最终促进开花的是 *FT* 类基因的蛋白, 而并非 mRNA, 这跟在拟南芥和水稻中的研究结果相吻合, 说明在众多高等植物中, *FT* 很可能是我们所寻找多年的开花素。

相比光周期途径, 人们发现其他 3 个途径在高等植物中也具有很高的保守性。玉米 (*Zea mays* L.) 突变体 *dwarf 8* 具有早花和矮化双重表型, *Dwarf 8*

基因与拟南芥中 *GAI* 基因具有很高的同源性, 表明 *Dwarf 8* 基因控制玉米开花是通过 GA 途径^[53,54]; 春小麦不需过冬就可以开花, 而冬小麦只有经春化处理后才能开花, 小麦 *VRN* 类基因的克隆解决了困扰人们很久的这个难题, 研究发现, 冬小麦只有经过春化处理, *VRN* 类基因才表达, 而只有 *VRN* 类基因表达后才能促进小麦开花, 虽然, 小麦和拟南芥中的 *VRN* 类基因在序列上找不到同源性, 但这至少说明春化途径在高等植物中具有也具有一定的保守性^[55,56]。

3 开花诱导途径研究面临的问题与可能的解决途径

虽然拟南芥中控制开花诱导的主要途径已基本明晰, 但仍大都局限于基因和基因间作用, 完全揭示其错综复杂的网络信号传导途径仍是一个极富挑战性的课题。人们发现, 短日照和长日照植物开花诱导途径有很多不同之处。将 *SOC1* 基因分别转入长日照植物、日中性植物、短日照植物中, 发现只有转基因短日照植物可以越过光周期障碍^[57]。也就是说, 拟南芥中的开花诱导模型并不能完全解释短日照植物中开花诱导的机理, 因此, 对短日照植物如水稻等开花诱导机制的研究将有助于人们揭开开花诱导之谜。要更加深入的认识植物的开花诱导途径, 还需要有新的手段和思路。根据现在人们对成花机理的研究进展, 在今后, 规模化的突变体库的创制、近等基因系的构建和同源克隆方法将在人们揭示不同植物开花诱导机制上发挥重要作用。

3.1 突变体库的创制

20 世纪 70 年代以来, 理化诱变法及插入突变法的应用, 大大地加快了突变体的创制步伐, 从而创制了各种不同类型的突变体库, 得到了丰富的突变或变异材料, 为大规模发掘和分析基因的结构和功能提供了必要的条件。突变体的价值在拟南芥开花研究中得以充分的体现, 一个好的突变体很可能会解决困扰人们很久的难题, 所以, 通过突变体的创制、筛选及相关基因的克隆和鉴定在今后的开花研究中仍然会是最主要的手段之一。

3.2 近等基因系的构建

由于水稻的生育期比拟南芥长, 生态型更加丰富, 遗传背景不一致的水稻材料杂交以后 F_2 后代会呈现出较大范围的分离, 所以对类似水稻这样的植物开花基因的研究比起拟南芥具有更大的挑战性。

Yano 等在对水稻抽穗期研究中, 利用 F_2 群体构建了 837 个分子标记的遗传图谱, 为纯化水稻各个抽穗期基因的遗传背景构建了大量近等基因系, 定位了 15 个水稻抽穗期 QTL, 并克隆到了 *Hd1*、*Hd3a* 和 *Hd6* 等抽穗期基因, 为今后高等植物生育期研究提供了一个很好的模式和思路。邓晓建等在发现 6442S-7 具有两个早熟显性基因后, 把其中一对基因定位在第 3 染色体短臂, 并对 6442S-7 用不同轮回亲本回交, 现已经将两早熟显性基因分离并导入不同背景水稻品种, 获得多个品种的近等基因系, 为今后品种的改良提供了很好的早熟材料。利用这些近等基因系, 本实验室将另一显性基因定位于第 8 染色体。

3.3 同源克隆

很多植物间开花基因如 *CO* 与 *Hd1*, *FT* 与 *Hd3a*, *FT* 和 *SFT* 等的同源性是很高的。因此, 充分利用生物信息学方法, 通过拟南芥已知开花基因来预测水稻、玉米等一些高等植物开花基因, 并用反向遗传学方法来验证预测的正确性, 也不失为一种便捷有效的方法。这种方法如能应用于毛果杨、橘树等多年生木本植物则更加显示出其他方法所不具备的优越性。

综上所述, 目前对高等植物开花转换的研究已取得可喜的进展, 随着今后生物技术和开花转换研究的深入, 人类很有可能运用基因工程的方法培育出大批早熟或晚熟的农作物品种, 把那些种子形成前生长缓慢的树木改造成易开花、繁殖快的树种, 满足人们生活和生产的需要。本实验室充分利用前期国家 863 支助下创建的水稻突变体库, 经过大规模筛选已经获得 9 个水稻生育期突变体, 并克隆了其中两个生育期基因(见方军, 博士论文, 未发表数据); 同时, 由于水稻的生育期是决定品种栽培地区与种植季节的重要农艺性状, 本实验室和四川农业大学水稻研究所开展合作, 借助成都地区适宜水稻生长的气候, 把本实验室的实验成果与水稻所多年的水稻育种经验相结合, 利用分子标记辅助快速选育适应广的品种。我们希望通过克隆这些水稻生育期基因来改良一些受生育期影响而不适合广泛栽培的优良品种, 最终更好的为农业生产服务。

参考文献(References):

- [1] ZENG Qun, ZHAO Zhong-Hua, ZHAO Shu-Qing. Signal pathways of flowering time regulation in plant. *Hereditas* (Beijing), 2006, 28(8): 1031–1036.
- 曾群, 赵仲华, 赵淑清. 植物开花时间调控的信号途径. *遗传*, 2006, 28(8): 1031–1036.
- [2] Mouradov A, Cremer F, Coupland G. Control of flowering time: interacting pathways as a basis for diversity. *Plant Cell*, 2002, 14(Suppl.): S111–130.
- [3] Yanovsky MJ, Kay SA. Living by the calendar: how plants know when to flower. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2003, 4(4): 265–276. [\[DOI\]](#)
- [4] Komeda Y. Genetic regulation of time to flower in *Arabidopsis thaliana*. *Annu Rev Plant Biol*, 2004, 55(1): 521–535. [\[DOI\]](#)
- [5] Takano M, Inagaki N, Xie X, Yuzurihara N, Hihara F, Ishizuka T, Yano M, Nishimura M, Miyao A, Hirochika H. Distinct and cooperative functions of phytochromes A, B, and C in the control of deetiolation and flowering in rice. *Plant Cell*, 2005, 17(12): 3311–3325. [\[DOI\]](#)
- [6] Doyle MR, Davis SJ, Bastow RM, McWatters HG, Kozma-Bognar L, Nagy F, Millar AJ, Amasino RM. The *ELF4* gene controls circadian rhythms and flowering time in *Arabidopsis thaliana*. *Nature*, 2002, 419(6902): 74–77. [\[DOI\]](#)
- [7] Hazen SP, Schultz TF, Pruneda-Paz JL, Borevitz JO, Ecker JR, Kay SA. *LUX ARRHYTHMO* encodes a Myb domain protein essential for circadian rhythms. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(29): 10387–10392. [\[DOI\]](#)
- [8] Imaizumi T, Tran HG, Swartz TE, Briggs WR. *FKF1* is essential for photoperiodic-specific light signalling in *Arabidopsis*. *Nature*, 2003, 426 (6964): 302–306. [\[DOI\]](#)
- [9] Ayre BG, Turgeon R. Graft transmission of a floral stimulant derived from *CONSTANS1*. *Plant Physiol*, 2004, 135(4): 2271–2278. [\[DOI\]](#)
- [10] Imaizumi T, Schultz TF, Harmon FG, Ho LA, Kay SA. *FKF1* F-Box protein mediates cyclic degradation of a repressor of *CONSTANS* in *Arabidopsis*. *Nature*, 2005, 426(5732): 302–306. [\[DOI\]](#)
- [11] Valverde F, Mouradov A, Soppe W, Ravenscroft D, Samach A, Coupland G. Photoreceptor regulation of *CONSTANS* protein in photoperiodic flowering. *Science*, 2004, 303(5660): 1003–1006. [\[DOI\]](#)
- [12] Périlleux C, Bernier G. The control of flowering: do genetic and physiological approaches converge. *Annu Plant Rev*, 2002, 6(1): 1–32.
- [13] Huang T, Bohnelius H, Eriksson S, Parcy F, Nilsson O. The mRNA of the *Arabidopsis* gene *FT* moves from leaf to shoot apex and induces flowering. *Science*, 2005, 309(5741): 1694–1696. [\[DOI\]](#)
- [14] Corbesier L, Vincent C, Jang S, Fornara F, Fan Q, Searle I, Giakountis A, Farrona S, Gissot L, Turnbull C, Coupland G. FT protein movement contributes to long-distance sig-

[1] ZENG Qun, ZHAO Zhong-Hua, ZHAO Shu-Qing. Signal pathways of flowering time regulation in plant. *Hereditas*

- naling in floral induction of *Arabidopsis*. *Science*, 2007, 316(5827):1030–1033.[\[DOI\]](#)
- [15] Abe M, Kobayashi Y, Yamamoto S, Daimon Y, Yamaguchi A, Ikeda Y, Ichinoki H, Notaguchi M, Goto K, Araki T. *FD*, a bZIP protein mediating signals from the floral pathway integrator *FT* at the shoot apex. *Science*, 2005, 309(5737): 1052–1056.[\[DOI\]](#)
- [16] Wigge PA, Kim MC, Jaeger KE, Busch W, Schmid M, Lohmann JU, Weigel D. Integration of spatial and temporal information during floral induction in *Arabidopsis*. *Science*, 2005, 309(5737): 1056–1059.[\[DOI\]](#)
- [17] Hanzawa Y, Money T, Bradley D. A single amino acid converts a repressor to an activator of flowering. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(21): 7748–7753.[\[DOI\]](#)
- [18] Finnegan EJ, Genger RK, Peacock WJ, Dennis ES. DNA methylation in plants. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1998, 49(1): 223–247.[\[DOI\]](#)
- [19] Bastow R, Mylne JS, Lister C, Lippman Z, Martienssen RA. Vernalization requires epigenetic silencing of *FLC* by histone methylation. *Nature*, 2004, 427(6970): 164–167.[\[DOI\]](#)
- [20] Muller J, Hart CM, Francis NJ, Vargas ML, Sengupta A, Wild B, Miller EL, O'Connor MB, Kingston RE, Simon JA. Histone methyltransferase activity of a *Drosophila* Polycomb group repressor complex. *Cell*, 2002, 111(2): 197–208.[\[DOI\]](#)
- [21] Czermin B, Melfi R, McCabe D, Seitz V, Imhof A, Pirrotta V. *Drosophila* enhancer of Zeste/ESC complexes have a histone H3 methyltransferase activity that marks chromosomal Polycomb sites. *Cell*, 2002, 111(2): 185–196.[\[DOI\]](#)
- [22] Bannister AJ, Zegerman P, Partridge JF, Miska EA, Thomas JO, Allshire RC, Kouzarides T. Selective recognition of methylated lysine 9 on histone H3 by the *HPI* chromo domain. *Nature*, 2001, 410(6824): 120–124.[\[DOI\]](#)
- [23] Mylne JS, Barrett L, Tessadori F, Mesnage S, Johnson L, Bernatavichute YV, Jacobsen SE, Fransz P, Dean C. *LHP1*, the *Arabidopsis* homologue of *HETEROCHROMATIN PROTEIN1*, is required for epigenetic silencing of *FLC*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(13): 5012–5017.[\[DOI\]](#)
- [24] Levy YY, Mesnage S, Mylne JS, Gendall AR, Dean C. Multiple roles of *Arabidopsis VRN1* in vernalization and flowering time control. *Science*, 2002, 297(5579): 234–246.[\[DOI\]](#)
- [25] Sung S, Amasino RM. Vernalization and epigenetics: how plants remember winter. *Curr Opin Plant Biol*, 2004, 7(1): 4–10.[\[DOI\]](#)
- [26] Johanson U, West J, Lister C, Michaels S, Amasino R, Dean C. Molecular analysis of *FRIGIDA*, a major determinant of natural variation in *Arabidopsis* flowering time. *Science*, 2000, 290(5490): 344–347.[\[DOI\]](#)
- [27] Michaels SD, Bezerra IC, Amasino RM. *FRIGIDA*-related genes are required for the winter-annual habit in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(9): 3281–3285.[\[DOI\]](#)
- [28] Schmitz RJ, Hong L, Michaels S, Amasino RM. *FRIGIDA-ESSENTIAL 1* interacts genetically with *FRIGIDA* and *FRIGIDA-LIKE 1* to promote the winter-annual habit of *Arabidopsis thaliana*. *Development*, 2005, 132(24): 5471–5478.[\[DOI\]](#)
- [29] Moon J, Suh SS, Lee H, Choi KR, Hong CB, Paek NC, Kim SG, Lee I. The *SOC 1* MADS-box gene integrates vernalization and gibberellin signals for flowering in *Arabidopsis*. *Plant J*, 2003, 35(5): 613–623.[\[DOI\]](#)
- [30] Curradi M, Izzo A, Badaracco G, Landsberger N. Molecular mechanisms of gene silencing mediated by DNA methylation. *Mol Cell Biol*, 2002, 22(9): 3157–3173.[\[DOI\]](#)
- [31] Searle I, He Y, Turck F, Vincent C, Fornara F, Krober S., Amasino RA, Coupland G. The transcription factor *FLC* confers a flowering response to vernalization by repressing meristem competence and systemic signaling in *Arabidopsis*. *Genes Dev*, 2006, 20(7): 898–912.[\[DOI\]](#)
- [32] He Y, Michaels SD, Amasino RM. Regulation of flowering time by histone acetylation in *Arabidopsis*. *Science*, 2003, 302(5651): 1751–1754.[\[DOI\]](#)
- [33] Macknight R, Bancroft I, Page T, Lister C, Schmidt R, Love K, Westphal L, Murphy G, Sherson S, Cobbett C. *FCA*, a gene controlling flowering time in *Arabidopsis*, encodes a protein containing RNA-Binding domains. *Dev Cell*, 2003, 4(1): 53–66.[\[DOI\]](#)
- [34] Lim MH, Kim J, Kim YS, Chung KS, Seo YH, Lee I, Kim J, Hong CB, Kim HJ, Park CM. A new *Arabidopsis* gene, *FLK*, encodes an RNA binding protein with K homology motifs and regulates flowering time via *FLOWERING LOCUS C*. *Plant Cell*, 2004, 16(3): 731–740.[\[DOI\]](#)
- [35] Mockler TC, Yu X, Shalitin D, Parikh D, Michael TP, Liou J, Huang J, Smith Z, Alonso JM, Ecker JR. Regulation of flowering time in *Arabidopsis* by K homology domain proteins. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(34): 12759–12764.[\[DOI\]](#)
- [36] Quesada V, Macknight R, Dean C, Simpson GG. Autoregulation of *FCA* pre-mRNA processing controls *Arabidopsis* flowering time. *EMBO J*, 2003, 22(12): 3142–3152.[\[DOI\]](#)
- [37] Simpson GG, Dean C. *Arabidopsis*, the Rosetta stone of flowering time? *Science*, 2002, 296(5566): 285–289.[\[DOI\]](#)
- [38] Lee I, Aukerman MJ, Gore SL, Lohman KN, Michaels SD, Weaver LM, John MC, Feldmann KA, Amasino RM. Isolation of *LUMINIDEPENDENS*: a gene involved in the control of flowering time in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 1994, 6(1): 75–83.[\[DOI\]](#)
- [39] Corbesier L, Coupland G. Photoperiodic flowering of *Arabidopsis*: integrating genetic and physiological approaches to characterization of the floral stimulus. *Plant*

- Cell Environ*, 2005, 28(1): 54–66. [\[DOI\]](#)
- [40] Achard P, Herr A, Baulcombe DC, Harberd NP. Modulation of floral development by a gibberellin-regulated microRNA. *Development*, 2004, 131(14): 3357–3365. [\[DOI\]](#)
- [41] Corbesier L, Coupland G. The quest for florigen: a review of recent progress. *J Exp Bot*, 2006, 57(13): 3395–403. [\[DOI\]](#)
- [42] Izawa T, Oikawa T, Tokutomi S, Okuno K, Shimamoto K. Phytochromes confer the photoperiodic control of flowering in rice (a short-day plant). *Plant J*, 2000, 22(5): 391–399. [\[DOI\]](#)
- [43] Takahashi Y, Shomura A, Sasaki T, Yano M. *Hd6*, a rice quantitative trait locus involved in photoperiod sensitivity, encodes the alpha subunit of protein kinase *CK2*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(14): 7922–7927. [\[DOI\]](#)
- [44] Monna L, Lin H, Kojima S, Sasaki T, Yano M. Genetic dissection of a genomic region for a quantitative trait locus, *Hd3*, into two loci, *Hd3a* and *Hd3b*, controlling heading date in rice. *Theor Appl Genet*, 2002, 104(5): 772–778. [\[DOI\]](#)
- [45] Yano M, Katayose Y, Ashikari M, Yamanouchi U, Monna L, Fuse T, Baba T, Yamamoto K, Umehara Y, Nagamura Y. *Hd1*, a major photoperiod sensitivity quantitative trait locus in rice, is closely related to the *Arabidopsis* flowering time gene *CONSTANS*. *Plant Cell*, 2000, 12(12): 2473–2484. [\[DOI\]](#)
- [46] Tamaki S, Matsuo S, Wong HL, Yokoi S, Shimamoto K. *Hd3a* protein is a mobile flowering signal in rice. *Science*, 2007, 316(5827): 1033–1036. [\[DOI\]](#)
- [47] Liu J, Yu J, McIntosh L, Kende H, Zeevaart JAD. Isolation of a *CONSTANS* ortholog from *Pharbitis nil* and its role in flowering. *Plant Physiol*, 2001, 125(4): 1821–1830. [\[DOI\]](#)
- [48] Lifschitz E, Eviatar T, Rozman A, Shalit A, Goldshmidt A, Amsellem Z, Alvarez JP, Eshed Y. The tomato *FT* ortholog triggers systemic signals that regulate growth and flowering and substitute for diverse environmental stimuli. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(16): 6398–6403. [\[DOI\]](#)
- [49] Martinez-Garcia JF, Virgos-Soler A, Prat S. Control of photoperiod-regulated tuberization in potato by the *Arabidopsis* flowering-time gene *CONSTANS*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(23): 15211–15216. [\[DOI\]](#)
- [50] Egea-Cortines M, Weiss J. A rapid coming of age in tree biotechnology. *Nat Biotechnol*, 2001, 19(3): 215–216. [\[DOI\]](#)
- [51] Bohlenius H, Huang T, Charbonnel-Campaa L, Brunner AM, Jansson S, Strauss SH, Nilsson O. *CO/FT* regulatory module controls timing of flowering and seasonal growth cessation in trees. *Science*, 2006, 312(5776): 1040–1043. [\[DOI\]](#)
- [52] Lin MK, Belanger H, Lee YJ, Varkonyi-Gasic E, Taoka K, Miura E, Xoconostle-Cazares B, Gendler K, Jorgensen RA, Phinney B, Lough TJ, Lucas WJ. FLOWERING LOCUS T protein may act as the long-distance florigenic signal in the Cucurbits. *Plant Cell*, 2007, 19(5): 1488–1506. [\[DOI\]](#)
- [53] Thornsberry JM, Goodman MM, Doebley J, Kresovich S, Nielsen D, Buckler IV ES. *Dwarf8* polymorphisms associate with variation in flowering time. *Nat Genet*, 2001, 28(3): 286–289. [\[DOI\]](#)
- [54] Suarez-Lopez P, Wheatley K, Robson F, Onouchi H, Valverde F, Coupland G. *CONSTANS* mediates between the circadian clock and the control of flowering in *Arabidopsis*. *Nature*, 2001, 410(6832): 1116–1120. [\[DOI\]](#)
- [55] Yan L, Loukoianov A, Blechl A, Tranquilli G, Ramakrishna W, SanMiguel P, Bennetzen JL, Echenique V, Dubcovsky J. The wheat *VRN2* gene is a flowering repressor down-regulated by vernalization. *Science*, 2004, 303(5664): 1640–1644. [\[DOI\]](#)
- [56] Yan L, Loukoianov A, Tranquilli G, Helguera M, Fahima T, Dubcovsky J. Positional cloning of the wheat vernalization gene *VRN1*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(10): 6263–6268. [\[DOI\]](#)
- [57] Borner R, Kampmann G, Chandler J, Gleissner R, Wisman E, Apel K, Melzer S. A MADS domain gene involved in the transition to flowering in *Arabidopsis*. *Plant J*, 2000, 24(5): 591–599. [\[DOI\]](#)

欢迎订阅 2008 年《果树学报》

《果树学报》是中国农业科学院郑州果树研究所主办的国家级学术期刊,中文园艺学核心期刊,中国科技核心期刊,已被美国化学文摘、俄罗斯文摘杂志、英国CABI等20余种国内外重要检索系统与数据库收录。据《中国科技期刊引证报告》(2006年版)统计结果,《果树学报》的影响因子达0.723,已成为国内外有影响的学术期刊之一。《果树学报》着重选发密切结合我国果树科研、教学、生产实际,反映学科学术水平和发展动向的优秀稿件,及时报道重大科研成果、阶段性成果和科研进展情况。栏目设置有研究论文、专论与综述、研究报告、技术与方法、新

品种选育快报及信息快递等;内容包括生物技术、品种与种质资源、生理与栽培、土壤与肥料、植物保护、贮藏加工等。读者对象为果树学科的科研人员、高等农业院校师生及基层果树管理技术人员。

本刊为双月刊,2008年每期128页码,定价15元,全年6期共90元。邮发代号:36-93,国际代号BM/1107。欢迎投稿,欢迎订阅。

编辑部地址:中国农业科学院郑州果树研究所

邮编:450009

电话:0371-65330927/28

传真:0371-65330982

E-mail: chinagsxb@163.com