

拟南芥开花时间调控的研究进展*

张素芝^{1,2)} 左建儒^{2)**}

¹⁾四川农业大学玉米研究所, 作物资源与遗传改良教育部重点实验室, 雅安 625014;

²⁾中国科学院遗传与发育生物学研究所, 植物基因组学国家重点实验室, 北京 100101)

摘要 调控开花时间是大多数植物由营养生长向生殖生长转化的一个重要生长发育过程. 影响拟南芥开花时间的因素有很多, 其中光照和温度是两个主要的外部因素, 而赤霉素 (GA) 和一些自主性因子是主要的内部因素. 目前, 一般按照对以上因素的反应将晚花突变体归于四条开花调控途径: 光周期途径、春化途径、自主途径和 GA 途径. 在不断变化的外部环境条件和内部生理条件下, 这些途径通过一些主要的整合基因如 *SOC1*、*FT*、*LFY* 等实现了对拟南芥开花时间的精确调控.

关键词 拟南芥, 开花时间, 整合途径

学科分类号 Q75

开花是植物由营养生长向生殖生长转型的最重要的一个过程, 在合适的时间完成这个转型是植物实现生殖发育所必需的. 通过对开花时间的调控, 植物才能实现种间同步杂交并产生尽可能多的种子, 这是植物在长期进化过程中形成的对环境条件的一种适应. 最近十余年来, 利用拟南芥为模式植物, 对高等植物开花时间调控机理与信号转导途径的研究取得了长足的进步. 目前我们对植物开花时间调控机制的了解主要是通过通过对拟南芥的遗传学研究获得的.

拟南芥的开花时间受许多因素的影响, 其中光照 (光质、光强、日照长度) 和温度是主要的外部因素, 自主途径因子和赤霉素 (GA) 是主要的内部因素. 此外, 植物的生理状况 (如年龄、植株大小)、胁迫条件 (如干旱、营养匮乏、拥挤、病害、极点温度)、植物激素、水杨酸、碳水化合物、维生素 C、谷胱甘肽、过氧化氢、 Ca^{2+} 浓度、microRNA 等也对开花时间产生一定的影响. 通常这多种信号汇集在一起调控顶端分生组织 (shoot apical meristem; SAM) 的发育过程^[1,2], 这种随着内在生理条件和外界环境条件的变化而对开花时间所进行的精细调控, 是拟南芥在长期进化过程中形成的一种适应性的选择优势.

拟南芥对开花时间的调控是通过多个不同的遗传位点来实现的. 现在已发现拟南芥中有 80 多个位点影响开花时间, 其中 20 多个位点与晚花有关^[3].

目前对开花时间的研究主要集中于筛选开花时间改变的突变体及这些突变基因的克隆和功能研究. 根据开花突变体在不同环境条件下 (主要指光照、温度) 的表型和遗传上位性实验, 通常将晚花突变体分为四条开花促进途径: 光周期途径 (photoperiod pathway)、自主途径 (autonomous pathway)、春化途径 (vernalization pathway) 和赤霉素途径 (GA pathway)^[1,2]. 本文主要对最近几年拟南芥开花时间调控的研究进展作一小结并对部分重要结果进行简单的讨论.

1 拟南芥的开花促进途径

1.1 光周期途径

日照长度 (即光周期) 是影响开花时间的主要因素之一. 拟南芥是一种兼性的 (facultative) 长日照植物, 长日照条件能促进拟南芥开花转型, 而短日照条件则促进其营养生长. 目前发现, 在光周期途径中的主要调控基因有 *CONSTANS* (CO)、*CRY2/FHA*、*GIGANTEA* (GI)、*FT* 和 *FWA*. 它们的突变体在长日照 (LD) 条件下延迟开花, 但在短日照

*国家自然科学基金委优秀创新团队 (30221002) 和杰出青年科学基金 (30125025)、中国科学院知识创新工程重要方向性资助项目 (KSCX2-SW-308).

** 通讯联系人. Tel: 010-64863356, Fax: 010-64873428

E-mail: jrzuo@genetics.ac.cn

收稿日期: 2005-10-24, 接受日期: 2005-12-31

(SD)条件下开花时间与野生型相似. 除 *CO* 以外, 其他基因还参与其他途径. 其中 *FWA* 和 *FT* 位于 *CO* 的下游而 *GI* 和 *CRY2* 位于 *CO* 上游^[1].

CO 编码具有两个 B-box 类型锌指结构的 GATA 转录因子, 其 C 端有 CCT 域. 其中 CCT 域是 GFP::CO 核定位所必需的, 而 B-box 与蛋白质之间的互相作用有关. 由于没有任何突变能完全抑制 *35S::CO* 的早花表型, 说明 *CO* 能激活几条平行的开花途径^[4]. 此外, *CO* 位于生物钟的输出途径, 因而也是生物钟和开花时间途径之间监测日照长度的重要元件^[5]. *FT* 与 *TFL1* 相似, 是一个 Raf-like 激酶抑制蛋白. 除受 *CO* 调节促进开花以外, 在拟南芥中最新发现的温度感知途径和光质途径也是通过调节 *FT* 的表达调节开花时间^[6,7]. *GI* 是具有 6 个跨膜域的核蛋白, 其突变表型及下游基因的表达方式说明 *GI* 与光信号输入生物钟有关^[8]. *FWA* 编码一个具有同源域 (homeodomain) 的转录因子. 在 *fwa* 突变体中, *FWA* 编码区的核酸序列并没有发生变化, 造成功能获得性突变的原因是 *FWA* 启动子上两个正向重复序列的甲基化水平下降, 使 *FWA* 异位表达^[9]. 一些控制 DNA 甲基化的突变体, 例如 *ddm1* (decreased DNA methylation 1) 和 *ddm2* (decreased DNA methylation 2) 均可以使 *FWA* 启动子上的 DNA 甲基化丢失, 造成 *FWA* 过量表达和晚花的表型. 最近 Kinoshita 等^[10]发现, *FWA* 甲基化调控“印记” (imprint) 的建立是通过特异的母配子来源的 DME DNA 糖基化酶活性实现的.

光对开花时间的调节一般是通过下列过程实现的: 不同波长的光被其受体接收后, 由光信号传导分子将光信号传递到内源的控时器——“生物钟 (circadian clock)”. 通过信号输出途径, 生物钟将检测的日照长度信号传输给主要信号分子 *CO*, 进而诱导其靶位基因 *FT* 的表达, 从而实现了日照长度对开花时间的调控^[2]. *CO* 位于生物钟输出途径, 在生物钟和开花时间之间起着纽带作用^[5]. 在此过程中, 任何影响光信号检测(如光受体)、生物钟组分和光信号输入、输出生物钟途径的突变都会影响拟南芥的开花时间. 生物钟对开花时间的调控已有许多报道^[11,12], 这里不展开讨论.

不同的植物对光周期反应采用不同的机制. 拟南芥是一种长日植物, 而水稻、马铃薯、烟草、牵牛花等短日照植物中也发现了一些拟南芥开花基因的同源基因, 它们通过与拟南芥类似或截然不同的方式调控开花时间. 水稻的 *OsGI*、*Hd1(Se1)* 和 *Hd3a*

基因分别是拟南芥 *GI*、*CO* 和 *FT* 的同源基因. 在 SD 和 LD 条件下水稻的 *Hd1* 能分别促进和抑制 *Hd3a* 的转录从而控制开花转型^[13,14], 这与拟南芥的 *CO* 基因在 LD 下促进 *FT* 的表达相反. 水稻 *OsGI* 激活 *Hd1(Se1)* 的机制与拟南芥很相似, 但在 LD 下 *Hd1(Se1)* 抑制 *Hd3a* 的表达, 导致水稻延迟开花^[15]. 小麦中也发现了三个 *AtCO* 的同源基因, *TaHd1*、*TaHd2* 和 *TaHd3*, 其中 *TaHd1-1* 能互补水稻 *Hd1* 的功能^[16]. 这说明, 为了适应环境, 一个重要的进化过程能通过同一组基因的不同调控方式而产生多样性. 另外, 牵牛花中 *CO* 的同源基因 *PnCO* 在 LD 或 SD 下过量表达都能促进拟南芥 *co* 突变体开花^[17], 这也表明 SD 和 LD 植物中的这些同源基因在结构和功能上都很相似.

1.2 春化途径

当物种传播时, 环境的选择压力使得开花时间改变的植物对新的环境具有一定选择优势, 不同生态型的拟南芥采用了不同策略适应环境. 大多数拟南芥生态型为晚花生态型, 即冬季生态型 (winter-annual), 它们在越冬前主要进行营养生长, 经过冬季低温后在翌年春季适宜条件下迅速开花. 而夏季生态型 (summer-annual) 不需要经过低温过程就能直接开花. 目前在实验室条件下最常用的 Columbia (Col)、Wassilewskija (WS)、Landberg *erecta* (Ler) 等都属于夏季生态型. 冬季生态型的晚花表型主要由两个显性位点 *FRIGIDA (FRI)* 和 *FLOWER LOCUS C (FLC)* 共同控制. *FRI* 编码一个植物特异的未知蛋白, 而 *FLC* 编码一个含 MADS 结构域的转录因子. *FRI* 能促进 *FLC* mRNA 的高水平表达, 从而导致了冬季生态型的晚花表型. 春化低温能拮抗 *FRI* 的作用降低并保持 *FLC* 的这种低水平表达状态, 从而促进了冬季生态型在春天合适的条件下开花. *FRI* 和 *FLC* 的二者之中任一个发生突变都能削弱或克服晚花表型, 夏季生态型就是通过 *FRI* 功能缺失性突变或 *FLC* 等位基因的自发突变进化而来^[18]. 最近还发现, *FRIGIDA LIKE1 (FRL1)* 特异地在 *FRI* 促进 *FLC* 表达方面起作用, 并且 *FRI*、*FRL1*、*FRL2* 都是维持拟南芥冬季生态型的习性所必需的^[19]. 此外, 由于 *flc* 功能缺失性突变体还能对春化作用作出反应, 因此除了依赖于 *FLC* 的春化途径以外, 还存在一条不依赖于 *FLC* 的春化途径, 但这条途径的作用机制还不清楚^[20].

春化反应是拟南芥冬季生态型对环境条件的一种适应. 春化作用分二个阶段, 首先响应春化低温

起始抑制 *FLC* mRNA 的表达, 然后保持这种 *FLC* 低水平表达状态. *VIN3* (vernalization-insensitive 3) 和 *VRN1* (vernalization 1)、*VRN2* (vernalization 2) 分别在这两个阶段起主要作用. *VIN3* 编码一个 PHD finger(与蛋白质之间的相互作用有关)蛋白, 许多染色质重建 (remodeling) 复合体的组分中含有 PHD finger^[21,22]. *VRN2* 是果蝇 Polycomb-Group (PcG) 发育调节因子 *Su(Z)12* 的同源基因, 在果蝇中 *Su(Z)12* 能通过修饰染色质结构调节基因表达^[23]. 最近发现, *Su(Z)12* 作为组蛋白甲基转移酶复合体的一部分直接作用于组蛋白 H3 的 Lys27, 并且还可能作用于 Lys9^[24]. *VRN1* 定位于核内, 具有二个植物特异的与 DNA 结合有关的 B3 结构域. 除与

VRN2 一起保持春化后 *FLC* 的低水平表达之外, *VRN1* 在春化作用及调控开花方面还有其他功能^[25].

VRN1、*VRN2* 和 *VIN3* 的结构和突变表型说明它们可能参与了 *FLC* 染色质的修饰. 对 *vin3*、*vrn2* 和 *vrn1* 突变体进行染色质免疫沉淀 (ChIP) 时的确发现春化作用导致 *FLC* 的染色质发生了一系列修饰作用, 其中 *VIN3* 是春化过程中组蛋白乙酰化修饰所必需的, 而 *VRN1* 和 *VRN2* 与 *FLC* 组蛋白 H3 Lys9 和 Lys27 的甲基化有关^[21, 26]. *vrn1* 和 *vrn2* 在春化过程中发生了低乙酰化修饰, 但当转回温暖的生长条件时这种低乙酰化水平和对 *FLC* 的抑制状态不能维持. 根据以上研究结果, Sung 等^[22]提出了春化作用的上位性抑制模型 (图 1): 在春化过程中,

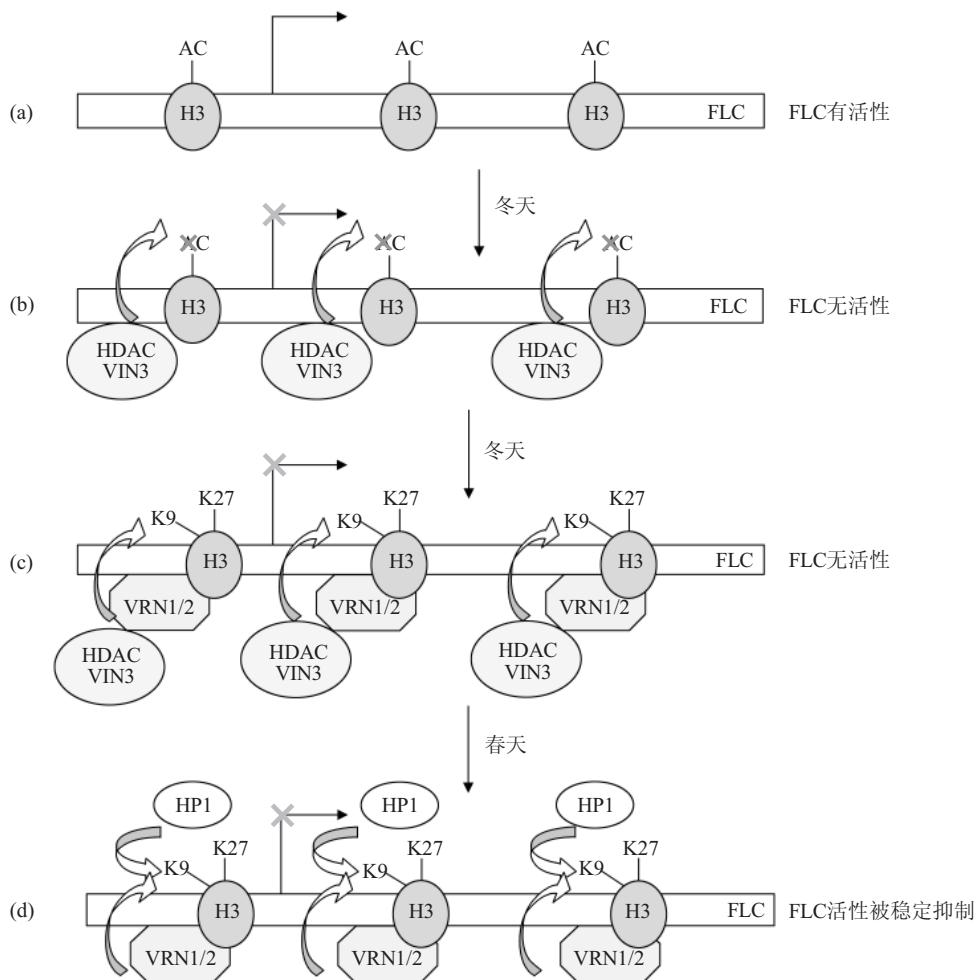


Fig. 1 Hypothetical model of the vernalization-mediated, epigenetic silencing of *FLC*

图 1 春化作用介导的 *FLC* 上位性沉默模型

(a) 冬天, *FLC* 组蛋白 H3 的乙酰化 (acetylate, AC) 使 *FLC* 处于活跃的转录状态. (b) 经冬天长时间的低温诱导后, *VIN3* 开始表达, 启动组蛋白脱乙酰酶复合体 (histone deacetylase, HDAC) 脱去 *FLC* 组蛋白 H3 的乙酰基, *FLC* 失去转录活性. (c) *FLC* 组蛋白 H3 的去乙酰化为包含 *VRN1*/*VRN2* 的复合体 (甲基化活性可能由哺乳动物和果蝇的 *E(z)* 类似物提供) 对组蛋白 H3 的赖氨酸 9(K9) 和赖氨酸 27(K27) 甲基化创造了条件, *FLC* 仍然没有转录活性. (d) 翌年春天气候转暖后, *VIN3* 不再表达, *VRN1*/*VRN2* 复合体及招募的异染色质蛋白 HP1 (使 H3 的 K9 双甲基化) 使 *FLC* 处于稳定的转录失活状态.

首先 *VIN3* 通过起始 HDAC 去乙酰化使 *FLC* 染色质的特异区域乙酰化水平降低, 随后通过包含 *VRN1* 和 *VRN2* 组分的组蛋白甲基转移酶复合体对 *FLC* 组蛋白 H3 Lys9 和 Lys27 进行甲基化修饰, 抑制了 *FLC* 的高水平表达, 并可能通过招募 HP1 异染色质蛋白最终导致了在有丝分裂时能稳定存在的抑制性的异染色质状态. 与此同时, 植物通过这种机制对冬季产生“记忆”.

各种植物种属间的春化机制究竟在多大程度上保守现在还不能确定. 在芸苔属中发现了多个 *FLC* 的同源基因, 其中 *VFR2* 是芜菁 (*B. rapa*) 中的 *FLC* 同源基因^[27]. 油菜 (*B. napus*) 中的 5 个 *FLC* 同源基因 *BnFLC1*~*BnFLC5* 过量表达能导致晚花, 并且春化作用能降低它们的表达水平^[28]. Schranz 等^[29]从芜菁中克隆的 5 个重复的 *BrFLC* 都以与 *AtFLC* 类似的方式在春化过程中起作用. 二倍体小麦的春化作用主要由 *VRN1* 和 *VRN2* 介导, 而 *VRN1* 的变异是多倍体小麦进化为春季生态型的分子基础^[30]. 由此可见, 这些作物春化作用的目标基因与拟南芥的 *FLC* 基因感受长时间低温的基本机制还是相同的.

1.3 自主途径

自主途径的突变体无论在长日照条件还是在短日照条件下都延迟开花, 尤其在短日照条件下, 这种晚花表型更明显. 春化作用或低比率红光: 远红光 (R:FR) 能恢复自主途径突变体的正常开花表型^[1, 2]. 自主途径的突变体有 *fca*、*fpa*、*fy*、*fld*、*ld*、*five*, 最近刚发现的 *flk* 也属于自主途径^[31]. 自主途径的基因能抑制 *FLC* 的表达, 因此它们的突变体中 *FLC* mRNA 的水平都比野生型和长日照途径、GA 途径的晚花突变体中高^[20]. 自主途径的基因与不同生态型中 *FLC* 的作用结果不同, 但这种等位基因调控 *FLC* 表达的不同之处现在难以解释. 此外, 虽然所有的自主途径基因都能抑制 *FLC* 表达, 但它们之间并不是简单的线性关系. 通过双突变体分析, 发现自主途径的这些基因通过彼此独立的相互平行的途径调控 *FLC* 的表达^[3]. 目前, 所有的七个自主途径突变体都已克隆, 它们通过不同的机制调控开花时间.

LD 编码一个核蛋白, 它对开花时间的调节至少部分是通过调控 *LFY* 的表达实现的^[32]. *FPA*、*FCA* 和 *FLK* 都编码 RNA 结合蛋白. 与 *FCA* 和 *FPA* 具有多个 RNA 识别位点 (RNA recognition motifs, RRM) 的 RNA 结合蛋白不同, *FLK* 是具有三个 KH motifs 的 RNA 结合蛋白. *FLK* 和 *FCA* 都定位

于核内, 并通过 *FLC* 调控整合基因 *FT* 和 *SOC1* 的表达^[31]. *FCA* 编码的蛋白质具有两个 RNA-binding 域和一个 WW 蛋白相互作用域. *FCA* 转录的前体 mRNA 选择性剪切为四种形式: α 、 β 、 γ 、 δ , 其中只有 γ 编码完整的有功能的 *FCA* 蛋白^[33]. 最近, Quesada 等^[34]的研究使我们对 *FCA* 用选择性剪接方式调控开花时间的机制有了更深的了解. *FCA* 通过促进内含子 3 的剪接和 polyA 的形成负向调控自身表达, 结果导致有功能的 *FCA*- γ 转录减少而无编码功能的 *FCA*- β 转录增加. *FCA* WW 蛋白互作域对其负向自我调控表达是必需的^[34], 而 *FY* 也正是通过这个 WW 域与 *FCA* 形成 *FCA*-*FY* 复合体调节 *FCA* pre-mRNA 3' 端剪接^[35]. *FY* 蛋白与酵母多腺苷酸化因子 *Psf2p* 类似, 通过 RNA 结合蛋白 *FCA* 与多腺苷酸化因子的相互作用可能是 *FCA* 实现自我调控的生化机制^[36]. *FPA*、*FCA*、*FLK* 这些 RNA 结合蛋白的发现说明转录后调控可能是自主途径成员控制开花时间的一种重要的调节机制.

FLD 是人类 KIAA0601 的同源蛋白, 其 N 端都有一个特殊的与染色质重建有关的 SWIRM 结构域. KIAA0601 是人类组蛋白脱乙酰酶 1, 2 (*HDAC1/2*) 抑制复合体 (通过使组蛋白脱乙酰化抑制基因表达) 的一个组分, 因此 *FLD* 可能具有类似的功能. 与此一致, *fld* 中 *FLC* 染色质组蛋白 H4 乙酰化水平明显升高^[37], 因而导致 *FLC* 表达增加以及明显的晚花表型^[37, 38]. *FVE* 是酵母染色质装配及组蛋白修饰复合体组分 *MSI* 和哺乳动物眼瘤相关蛋白 (retinoblastoma-associated protein) *RbAp46*、*RbAp48* 的同源蛋白, 能通过与 *FLD* 相似的方式控制开花时间, 说明对 *FLC* 组蛋白进行乙酰化修饰是拟南芥调控开花时间的一种机制^[38].

1.4 GA 途径

GA 控制一系列的生长发育过程, 调控开花时间是其重要功能之一. 在拟南芥中, GA 是非诱导性条件下开花所必需的, 施加外源 GA 能促进拟南芥开花. GA 合成突变体和 GA 信号途径突变体一般延迟开花. 现在发现的一些影响拟南芥 GA 合成的突变体如 *gal*、*ga4*、*ga5*, 它们的野生型基因编码 GA 合成过程中不同步骤的酶^[1]. 而功能获得性突变体 *ddf1* 中 GA 水平的降低可能与 *GA20ox* 催化的 GA 合成步骤受阻有关^[39]. 从另一个角度来看, 过量表达编码 2 β -羟化酶的 *AtGA20ox7* 和 *AtGA20ox8* 通过水解 *C₂₀*-GAs, 也造成了 GA 缺陷型表型^[40].

GA 信号传导途径的基因也影响开花时间, 其

中 GAI、RGA 和 RGL1 是 GA 信号传导途径中三个关键组分, 它们的功能部分冗余, 当 GA 缺乏时都负调控 GA 信号途径, 而活性 GA 则能消除它们的抑制作用. GAI、RGA 和 RGL1 这三个蛋白质属于植物特异的调控蛋白中的 GRAS(GAI、RGA、SCARECROW)家族. 除了 GRAS 家族成员中高度保守的 VH11D 和 RVER 区域外, 在 RGA、GAI 和 RGL1 的 N 端还有一个特异的保守的 DELLA 结构域^[41]. DELLA 结构域的序列为 *GAI*、*RGA*、*RGL1* 的功能所必需, 缺失导致一系列 GA 缺陷表型. SPY 是 GAI 上游的一个负调控因子, 编码一个类似于哺乳动物丝氨酸 / 苏氨酸 N-乙酰氨基葡萄糖 (O-O-binding-N-acetylglucosamine) 转移酶的蛋白质. *spy* 突变体升高的 GA 水平及早花表型可能是增强了 GA 传导信号所致^[42]. PHOR1 是另一个与开花时间有关的 GA 信号途径组分, 在 GA 的作用下能转移到核内. PHOR1 属于与 armadillo 相关的螺旋状重复蛋白 (通常作为其他蛋白质和核酸装配的脚手架) 家族, 具有一个与泛素系统组分相关的结构域^[43]. 当有 GA 存在时, 与 PHOR1 有关的泛素复合物可能通过与 GRAS 家族 GAI/RGA 蛋白的 DELLA 域相互作用而将其降解, 从而激活 GA 信号传导途径, 促进下游信号分子如 SOC1、FPP1、GAMYB 的表达, 进而促进花序分生组织基因 (如 *LFY*) 的表达, 由此完成了 GA 对开花时间的调控^[4].

2 拟南芥开花促进途径的整合

上述四条调控拟南芥开花的途径并不是孤立的, 而是根据外部环境条件和拟南芥内在生理条件的变化, 通过控制一些开花途径共同控制的整合因子的表达强度, 激活或抑制下游花序分生组织基因和花器官基因的表达, 从而使植物适应环境条件和自身生理条件的变化, 最大程度上优化其生长及发育的需要.

在拟南芥中, 目前已发现了三个整合基因 *SOC1*/*AGL20*、*FT* 和 *LFY*. *SOC1* 编码一个含 MADS 结构域的转录因子, 由于 *SOC1* 和 *FT* 都是 *CO* 的直接靶基因, 因此长日照途径与其整合很可能是通过转录调控实现的^[44], 而自主途径和春化途径通过 *FLC* 抑制这两个基因表达的机制尚不清楚. 最近发现, GA 途径也能通过 *SOC1* 促进开花转型, 这种激活 *SOC1* 表达的方式很可能是通过 GA 信号传导实现的^[45]. *LFY* 是一个花序分生组织基因 (floral meristem identity gene), 在开花转型期被诱导, 当

花序分生组织出现后, *LFY* 的表达逐渐增强. 另外, 作为花器官基因 (floral organ identity gene), *LFY* 还能直接激活 *API* 的表达^[46]. *LFY* 不受 *CO* 的直接调节, 并且 GA 途径和长日照途径在 *LFY* 启动子上作用的顺式元件不同^[47]. 这说明环境信号和内部信号是在 *LFY* 这个下游基因发生整合而不是在哪个上游组分 (图 2).

虽然这些整合因子在开花时间的调节方面具有类似功能, 但它们在各种途径中的地位有主次之分, 而且每条开花途径不可能控制所有的整合因子的表达. 作为各条开花途径的关键交叉点, 目前这些整合因子如何相互作用尚不十分清楚. 其中, *FT* 可能与 *LFY* 平行发挥作用并且为 *LFY* 功能所必需^[48]. 由于 *FT* 也能激活花序分生组织基因 *API*, 因此 *FT* 也可能平行地激活 *LFY* 与 *API* 的表达, 而随后 *LFY* 能直接激活 *API*^[4]. 另外, *SOC1* 通过 *AGL24* 实现对 *LFY* 的部分表达调控, 而 *FT* 又可能参与了 *SOC1* 的调节^[49].

3 拟南芥开花时间的抑制因子

开花时间基因和花序分生组织基因的均衡表达决定芽的结构和开花时间. 拟南芥中除了开花促进因子以外, 许多开花抑制因子也参与了多条开花途径的整合. 这些抑制因子大多是花序分生组织基因或花器官基因, 突变后造成早花表型, 它们通过不同的方式调节开花时间. 其中 *ELF3* 和 *ELF4* 基因的蛋白质产物能感受光照或日照长度^[50,51], 而 *FLC*、*TFL2*、*EBS* 能抑制 *FT* 的表达^[52,53], *TFL1* 则与 *LFY*、*API* 相互拮抗地控制开花时间^[54]. *VIPI-7*、*ESD4*、*PIE1* 的早花表型都与 *FLC* 的低表达水平有关^[55~57]. *EMF2*、*FIE*、*VRN2* 这些 PcG 蛋白可能通过改变染色质的结构来抑制转录^[58, 59]. 除了抑制开花以外, 这些开花抑制基因的突变体还具有其他表型, 其中一些突变体导致 *FT*、*API* 和其下游花器官基因如 *AGAMOUS*、*APETALA3*、*PISTILLATA* 等的异位表达, 说明这些基因的功能是多向性的 (pleiotropic)^[2]. 将早花突变体和晚花突变体结合起来, 进行双突变体、三突变体或多突变体的研究, 将能帮助我们更深入地阐明调控开花时间的机制.

4 植物开花时间调控研究的前景与展望

20 年前, Koornneef 首次报道在拟南芥中发现了 11 个控制开花的遗传位点, 这在植物开花时间调控的研究史上具有里程碑式的意义^[60]. 自此以后,

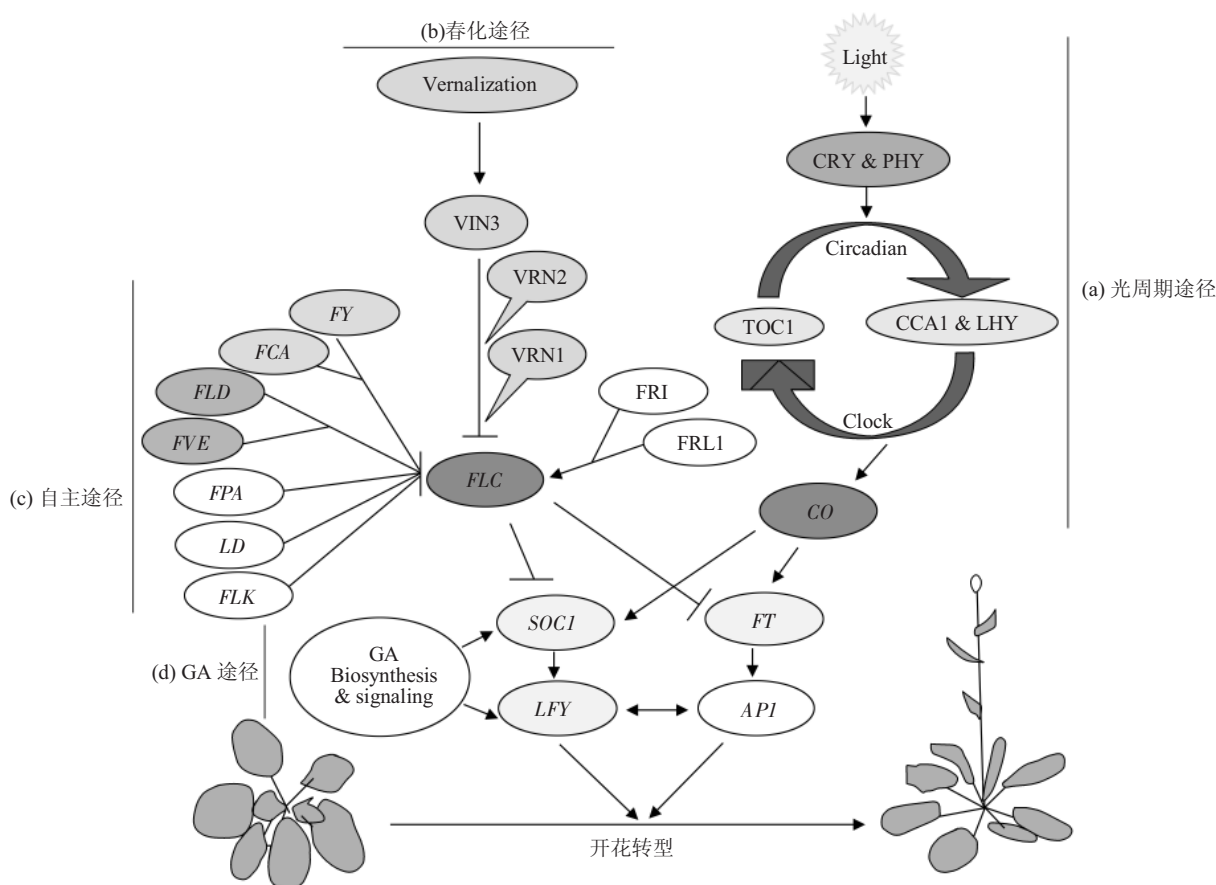


Fig. 2 The four flowering time pathways in *Arabidopsis*

图 2 调控拟南芥开花时间的四条途径

(a) 光周期途径: 光受体 PHY 和 CRY 接受光信号后, 通过生物钟调节 CO 的表达, 进而由 CO 的下游靶基因 SOC1 和 FT 通过花序分生组织基因(LFY、API 等)调节开花。(b) 春化途径: 春化作用通过 VIN3 起始抑制 FLC 的表达, 然后通过 VRN1 和 VRN2 等维持 FLC 的表达沉默状态。(c) 自主途径的七个基因通过不同的机制抑制 FLC 的表达, 进而促进了 SOC1 和 FT 的表达, 从而促进了开花。(d) GA 途径: 与 GA 合成及信号转导有关的组分通过 SOC1 和 LFY 调节开花时间。

各国的科技工作者一直致力于这些开花基因的克隆、功能研究和新的开花基因的发掘、功能分析及这些开花基因之间的相互关系研究。目前, 已经在分子水平上建立了受内部信号和外界环境共同调控的拟南芥开花时间模型。虽然最近的发现使人们对开花时间调控机制的认识上升到一个新的层次, 但是还不能完全解释这种复杂的调控机制, 仍然需要从分子水平上进一步了解这些开花基因的功能。由于其他一些因素(如胁迫或营养状况)对开花时间的调节是不直接的或多方面的, 而我们对其作用机制了解甚少。在这种情况下, 如何采取措施剔除这些不确定因素的影响, 使研究工作集中于开花时间调控的连贯性和一致性上? 另外, 还有一些基本问题需要回答, 如拟南芥是如何检测到温度等促进开花转型信号的? 其他植物的开花时间调节是否与拟

南芥采取类似的机制?

从应用的角度来看, 开花时间基因功能的研究必将推进现代农业生产的发展。例如, 早花基因可以用来缩短农作物的生长期, 从而像拟南芥一样实现一季多代。晚花基因可以用来提高甜菜, 牧草等作物的产量。同时, 人们还可以利用开花基因来调整花卉等观赏植物的花期, 从而极大地提高这些作物的经济效益。

致谢 感谢傅向东研究员和曹晓风研究员审阅本文并提供宝贵批评和建议。

参考文献

- 1 Mouradov A, Cremer F, Coupland G. Control of flowering time: interacting pathways as a basis for diversity. *Plant Cell*, 2002, **14** (Suppl): S111~S130

- 2 Simpson G G, Dean C. *Arabidopsis*, the Rosetta stone of flowering time?. *Science*, 2002, **296** (5566): 285~289
- 3 Koornneef M, Alonso-Blanco C, Blankestijn-de Vries H, *et al.* Genetic interactions among late-flowering mutants of *Arabidopsis*. *Genetics*, 1998, **148** (2): 885~892
- 4 Onouchi H, Igeno M I, Perilleux C, *et al.* Mutagenesis of plants overexpressing CONSTANS demonstrates novel interactions among *Arabidopsis* flowering-time genes. *Plant Cell*, 2000, **12**(6): 885~900
- 5 Suarez-Lopez P, Wheatley K, Robson F, *et al.* CONSTANS mediates between the circadian clock and the control of flowering in *Arabidopsis*. *Nature*, 2001, **410** (6832): 1116~1120
- 6 Cerdan P D, Chory J. Regulation of flowering time by light quality. *Nature*, 2003, **423** (6942): 881~885
- 7 Blazquez M A, Ahn J H, Weigel D. A thermosensory pathway controlling flowering time in *Arabidopsis thaliana*. *Nat Genet*, 2003, **33** (2): 168~171
- 8 Huq E, Tepperman J M, Quail P H. GIGANTEA is a nuclear protein involved in phytochrome signaling in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, **97** (17): 9789~9794
- 9 Soppe W J, Jacobsen S E, Alonso-Blanco C, *et al.* The late flowering phenotype of *fwa* mutants is caused by gain-of-function epigenetic alleles of a homeodomain gene. *Mol Cell*, 2000, **6** (4): 791~802
- 10 Kinoshita T, Miura A, Choi Y, *et al.* One-way control of FWA imprinting in *Arabidopsis* endosperm by DNA methylation. *Science*, 2004, **303** (5657): 521~523
- 11 Hayama R, Coupland G. Shedding light on the circadian clock and the photoperiodic control of flowering. *Curr Opin Plant Biol*, 2003, **6** (1): 13~19
- 12 Young M W, Kay S A. Time zones: a comparative genetics of circadian clocks. *Nat Rev Genet*, 2001, **2** (9): 702~715
- 13 Izawa T, Oikawa T, Sugiyama N, *et al.* Phytochrome mediates the external light signal to repress FT orthologs in photoperiodic flowering of rice. *Genes Dev*, 2002, **16** (15): 2006~2020
- 14 Kojima S, Takahashi Y, Kobayashi Y, *et al.* Hd3a, a rice ortholog of the *Arabidopsis* FT gene, promotes transition to flowering downstream of Hd1 under short-day conditions. *Plant Cell Physiol*, 2002, **43** (10): 1096~1105
- 15 Hayama R, Yokoi S, Tamaki S, *et al.* Adaptation of photoperiodic control pathways produces short-day flowering in rice. *Nature*, 2003, **422** (6933): 719~722
- 16 Nemoto Y, Kisaka M, Fuse T, *et al.* Characterization and functional analysis of three wheat genes with homology to the CONSTANS flowering time gene in transgenic rice. *Plant J*, 2003, **36** (1): 82~93
- 17 Liu J, Yu J, McIntosh L, *et al.* Isolation of a CONSTANS ortholog from *Pharbitis nil* and its role in flowering. *Plant Physiol*, 2001, **125** (4): 1821~1830
- 18 Michaels S D, He Y, Scortecci K C, *et al.* Attenuation of FLOWERING LOCUS C activity as a mechanism for the evolution of summer-annual flowering behavior in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003, **100** (17): 10102~10107
- 19 Michaels S D, Bezerra I C, Amasino R M. FRIGIDA-related genes are required for the winter-annual habit in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, **101**(9): 3281~3285
- 20 Michaels S D, Amasino R M. Loss of FLOWERING LOCUS C activity eliminates the late-flowering phenotype of FRIGIDA and autonomous pathway mutations but not responsiveness to vernalization. *Plant Cell*, 2001, **13** (4): 935~941
- 21 Sung S, Amasino R M. Vernalization and epigenetics: how plants remember winter. *Curr Opin Plant Biol*, 2004a, **7** (1): 4~10
- 22 Sung S, Amasino R M. Vernalization in *Arabidopsis thaliana* is mediated by the PHD finger protein VIN3. *Nature*, 2004b, **427** (6970): 159~164
- 23 Gendall A R, Levy Y Y, Wilson A, *et al.* The VERNALIZATION 2 gene mediates the epigenetic regulation of vernalization in *Arabidopsis*. *Cell*, 2001, **107** (4): 525~535
- 24 Czermin B, Melfi R, McCabe D, *et al.* Drosophila enhancer of Zeste/ESC complexes have a histone H3 methyltransferase activity that marks chromosomal polycomb sites. *Cell*, 2002, **111**(2): 185~196
- 25 Levy Y Y, Mesnage S, Mylne J S, *et al.* Multiple roles of *Arabidopsis* VRN1 in vernalization and flowering time control. *Science*, 2002, **297** (5579): 243~246
- 26 Bastow R, Mylne J S, Lister C, *et al.* Vernalization requires epigenetic silencing of FLC by histone methylation. *Nature*, 2004, **27** (6970): 164~167
- 27 Kole C, Quijada P, Michaels S D, *et al.* Evidence for homology of flowering-time genes VFR2 from *Brassica rapa* FLC from *Arabidopsis thaliana*. *Theor Appl Genet*, 2001, **102** (2~3): 425~430
- 28 Tadege M, Sheldon C C, Helliwell C A, *et al.* Control of flowering time by FLC orthologues in *Brassica napus*. *Plant J*, 2001, **28**(5): 545~553
- 29 Schranz M E, Quijada P, Sung S B, *et al.* Characterization and effects of the replicated flowering time gene FLC in *Brassica rapa*. *Genetics*, 2002, **162** (3): 1457~1468
- 30 Yan L, Loukoianov A, Tranquilli G, *et al.* Positional cloning of the wheat vernalization gene VRN1. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, **100** (10): 6263~6268
- 31 Lim M H, Kim J, Kim Y S, *et al.* 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
- 32 Aukerman M J, Lee I, Weigel D, *et al.* The *Arabidopsis* flowering-time gene LUMINIDEPENDENS is expressed primarily in regions of cell proliferation and encodes a nuclear protein that regulates LEAFY expression. *Plant J*, 1999, **18** (2): 195~203
- 33 Macknight R, Bancroft I, Page T, *et al.* FCA, a gene controlling flowering time in *Arabidopsis*, encodes a protein containing RNA-binding domains. *Cell*, 1997, **89** (5): 737~745
- 34 Quesada V, Macknight R, Dean C, *et al.* Autoregulation of FCA pre-mRNA processing controls *Arabidopsis* flowering time. *Embo J*, 2003, **22** (12): 3142~3152
- 35 Simpson G G, Dijkwel P P, Quesada V, *et al.* FY is an RNA 3'

- end-processing factor that interacts with FCA to control the *Arabidopsis* floral transition. *Cell*, 2003, **113** (6): 777~787
- 36 Amasino R M. Flowering time: a pathway that begins at the 3' end. *Curr Biol*, 2003, **13** (17): R670~672
 - 37 He Y, Michaels S D, Amasino R M. Regulation of flowering time by histone acetylation in *Arabidopsis*. *Science* 2003, **302** (5651): 1751~1754
 - 38 Chen R, Zhang S, Sun S, *et al.* Characterization of a new mutant allele of the *Arabidopsis* flowering locus D (FLD) gene that controls the flowering time by repressing FLC. *Chinese Science Bulletin*, 2005, **50** (23): 2701~2706
 - 39 Ausin I, Alonso-Blanco C, Jarillo J A, *et al.* Regulation of flowering time by FVE, a retinoblastoma-associated protein. *Nat Genet*, 2004, **36** (2): 162~166
 - 40 Magome H, Yamaguchi S, Hanada A, *et al.* Dwarf and delayed-flowering 1, a novel *Arabidopsis* mutant deficient in gibberellin biosynthesis because of overexpression of a putative AP2 transcription factor. *Plant J*, 2004, **37** (5): 720~729
 - 41 Schomburg F M, Bizzell C M, Lee D J, *et al.* Overexpression of a novel class of gibberellin 2-oxidases decreases gibberellin levels and creates dwarf. *Plant Cell*, 2003, **15** (1): 151~163
 - 42 Wen C K, Chang C. *Arabidopsis* RGL1 encodes a negative regulator of gibberellin responses. *Plant Cell*, 2002, **14** (1): 87~100
 - 43 Jacobsen S E, Olszewski N E. Mutations at the SPINDLY locus of *Arabidopsis* alter gibberellin signal transduction. *Plant Cell*, 1993, **5** (8): 887~896
 - 44 Amador V, Monte E, Garcia-Martinez J, *et al.* Gibberellins signal nuclear import of PHOR1, a photoperiod-responsive protein with homology to *Drosophila* armadillo. *Cell*, 2001, **106** (3): 343~354
 - 45 Samach A, Onouchi H, Gold S E, *et al.* Distinct roles of CONSTANS target genes in reproductive development of *Arabidopsis*. *Science*, 2000a, **288** (5471): 1613~1616
 - 46 Borner R, Kampmann G, Chandler J, *et al.* A MADS domain gene involved in the transition to flowering in *Arabidopsis*. *Plant J*, 2000, **24** (5): 591~599
 - 47 Wagner D, Sabowski R, Meyerowitz E. Transcriptional activation of APETALA1 by LEAFY. *Science*, 1999, **285** (5427): 582~584
 - 48 Blazquez M A, Weigel D. Integration of floral inductive signals in *Arabidopsis*. *Nature*, 2000, **404** (6780): 889~892
 - 49 Ruiz-Garcia L, Madueno F, Wilkinson M, *et al.* Different roles of flowering-time genes in the activation of floral initiation genes in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 1997, **9** (11): 1921~1934
 - 50 Yu H, Xu Y, Tan E L, *et al.* AGAMOUS-LIKE 24, a dosage-dependent mediator of the flowering signals. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, **99** (25): 16336~16341
 - 51 Hicks K A, Albertson T M, Wagner D R. EARLY FLOWERING3 encodes a novel protein that regulates circadian clock function and flowering in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2001, **13** (6): 1281~1292
 - 52 Doyle M R, Davis S J, Bastow R M, *et al.* The ELF4 gene controls circadian rhythms and flowering time in *Arabidopsis thaliana*. *Nature*, 2002, **419** (6902): 74~77
 - 53 Takada S, Goto K. TERMINAL FLOWER2, an *Arabidopsis* Homolog of HETEROCHROMATIN PROTEIN1, counteracts the activation of FLOWERING LOCUS T by CONSTANS in the vascular tissues of leaves to regulate flowering time. *Plant Cell*, 2003, **15** (12): 2856~2865
 - 54 Pineiro M, Gomez-Mena C, Schaffer R, *et al.* EARLY BOLTING IN SHORT DAYS is related to chromatin remodeling factors and regulates flowering in *Arabidopsis* by repressing FT. *Plant Cell*, 2003, **15** (7): 1552~1562
 - 55 Liljegren S J, Gustafson-Brown C, Pinyopich A, *et al.* Interactions among APETALA1, LEAFY, and TERMINAL FLOWER1 specify meristem fate. *Plant Cell*, 1999, **11** (6): 107-1018
 - 56 Zhang H, Ransom C, Ludwig P, *et al.* Genetic analysis of early flowering mutants in *Arabidopsis* defines a class of pleiotropic developmental regulator required for expression of the flowering-time switch flowering locus C. *Genetics*, 2003, **164** (1): 347~358
 - 57 Reeves P H, Murtas G, Dash S, *et al.* Early in short days 4, a mutation in *Arabidopsis* that causes early flowering and reduces the mRNA abundance of the floral repressor FLC. *Development*, 2002, **129** (23): 5349~5361
 - 58 Noh Y S, Amasino R M. PIE1, an ISWI family gene, is required for FLC activation and floral repression in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2003, **15** (7): 1671~1682
 - 59 Kinoshita T, Harada J J, Goldberg R B, *et al.* Polycomb repression of flowering during early plant development. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, **98** (24): 14156~14161
 - 60 Koornneef M, Hanhart C J, Van der Veen J H. A genetic and physiological analysis of late flowering mutants in *Arabidopsis thaliana*. *Mol Gen Genet*, 1991, **229** (1): 57~66

Advance in The Flowering Time Control of *Arabidopsis**

ZHANG Su-Zhi^{1,2)}, ZUO Jian-Ru²⁾**

⁽¹⁾Maize Research Institute, Sichuan Agricultural University and Key Laboratory of Crop Genetic Resources and Improvement,
Ministry of Education, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China;

⁽²⁾State Key Laboratory of Plant Genomics, Institute of Genetics and Developmental Biology,
The Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

Abstract Flowering is one of the most important progresses for most plants during the transition from vegetative growth to reproductive growth. There are many factors that affect the flowering, including two main external factors, light and temperature, and the internal factors such as gibberellin acid (GA) and autonomous elements. At present, the late-flowering mutants are fallen into four pathways: photoperiod pathway, vernalization pathway, autonomous pathway and GA pathway according to factors described above. Through several floral integrators, such as *SOC1*, *FT* and *LFY*, the multiple flowering regulatory pathways control the flowering finely under the variable environmental condition and physiological condition.

Key words *Arabidopsis*, flowering, integrated pathway

*This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (30221002 and 30125025) and The Chinese Academy of Sciences (KSCX2-SW-308).

**Corresponding author . Tel: 86-10-64863356, Fax: 86-10-64873428, E-mail: jrzuo@genetics.ac.cn

Received: October 24, 2005 Accepted: December 31, 2005