

植物春化特性及春化作用机理^①

胡 巍 侯喜林^② 史公军

(南京农业大学园艺学院 南京 210095)

摘要 春化作用是某些高等植物成花转变的重要环节,被认为是植物在低温诱导下促使其相关基因的表达,从而导致生理状态转变的一种受遗传控制的生理过程。本文对植物春化反应特性、春化作用的生理生化特性及春化作用的分子生物学等方面的研究进展进行了概述,并对春化研究中的问题进行了分析和展望。

关键词 春化作用, 成花, 春化特性, 分子生物学

Characteristics and Mechanism of Plant Vernalization

HU Wei HOU Xi-Lin^② SHI Gong-Jun

(College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095)

Abstract Vernalization, one of the genetically controlled process induced by low temperature which involves expression of related genes, plays an important role for transition to flowering in some higher plants. In this paper, the research progresses on plant vernalization were summarized, including types of vernalization, physiological and biological characteristics of vernalization and molecular mechanism of vernalization. The existed problems in researches were discussed, and the prospect was put forward.

Key words Vernalization, Flowering, Vernalizational characteristics, Molecular biology

高等植物的成花过程(包括成花诱导和花芽分化等过程)是植物个体发育的中心环节。植物成花的诱导过程则是植物个体发育的核心问题之一。至21世纪20年代,科学家先后发现低温及日照长度对许多一、二年生植物开花的诱导起着关键性作用,从而开始了对春化作用和光周期现象的研究。而植物春化作用一直是植物发育生物学研究的热点,吸引着众多科学家不断努力以阐明其作用机理,彻底揭示植物生长发育的本质。春化作用机理研究经历了从生态特性及生理学转到遗传学及分子水平的发展过程,本文将对这些方面取得的进展作一概述。

1 植物春化生态特性

1.1 温度与植物成花诱导

植物生长发育受外界环境的影响较大,如温度、光照等。温度对植物发育(特别是对植物成花转变)有不同的作用。一些二年生的植物(如芹菜、胡萝卜、白菜、芥菜和天仙子等)和

① 上海市科技兴农攻关项目[农科攻字(2000)第1-4号]。

② 通讯作者。Author for correspondence. E-mail: hxl@njau.edu.cn.

作者简介:胡巍,1977年生,硕士,主要进行洋葱遗传育种与生理生化研究。现工作单位:武汉大学生命科学学院。侯喜林,1960年生,教授,博士生导师,研究方向为蔬菜遗传育种与生物技术。

收稿日期:2002-12-28 接受日期:2003-05-26 责任编辑:孙冬花

一些冬性一年生的植物(如小麦、黑麦等)成花主要受低温的影响,低温成为这些植物花诱导所必需的条件。在这些植物生长初期,若给予一定时期的低温处理,可大大加快其开花进程,可在当年正常结实并得到成熟的种子。这种低温促进植物开花的效应被称为低温诱导作用或春化作用(vernalization)。此外,高温也有促进某些植物(如莴苣、大豆等)开花的作用——所谓‘高温春化’(孟繁静,2000)。罗春梅和胡承霖(1986)研究表明,低温在春化中具有完成植物生理转变和加速其发育的双重作用。最近报道低温春化不仅是冬性小麦开花启动所必需的,而且是花序正常发育和顶部及基部小穗结实不可缺少的(梁铁兵等,2001)。

一般春化型植物都生长在温带地区,属于二年生,自然环境下都在寒冷季节接受低温。而不同植物春化所需的低温有所不同,一般有效低温介于0和10℃之间,最适温度为5~7℃。最适宜的低温被认为是在此低温下,其他条件相同时,植物完成春化的时间最短。试验证明植物完成春化的温度并不是越低越好,过低会对植物的生长发育产生不良影响(Weibe,1990)。赵大中等(2000)曾对春化作用与低温适应关系的遗传学基础作了系统的总结。一般来说,在相同低温下,冬性强的植物完成春化所需时间愈长。而对于起源于热带和亚热带的番茄,在生长初期(苗期)给予适当的低温处理,有利于提早开花(蒋先明,1984)。对番茄来说这种低温处理虽不是冬性植株春化的低温,但相对低于番茄整个生长期适宜的温度。这种促进开花现象很容易将此低温对促进开花的作用机理与春化作用联系起来。

低温对植物花诱导一般可在种子萌发或在植物生长的任何时期进行,有时甚至可在母体正在发育的幼胚中进行,而有的植物只有在绿体植株长到一定大小,才能感受低温。依据植物开始感受低温的时期,可将植物分为种子萌动春化型,如白菜、芥菜、萝卜、菠菜;绿体植株春化型,如洋葱、甘蓝、大蒜、大葱、芹菜。植物感受低温的时期因植物而异,甚至,同种植物不同生态型感受低温的时期和对低温的要求有差异,这与其系统发育有关。

一般认为茎尖生长点是接受低温的部位,即正在进行细胞分裂的组织才具有感受春化的能力,并通过细胞分裂传递春化效应。以完成春化植株的不同部位为外植体获得的离体再生植株,并能保持春化作用而迅速开花,而植物有性繁殖却导致春化作用的消失。这种现象促使遗传学家想了解植物春化作用特性是如何遗传的。

1.2 春化反应特性

春化反应特性的研究,至今还没有找到一种广泛利用的生理标记来评价春化作用的完成,主要以植物主茎生长点的形态变化的早晚——花芽分化为基本标记。评价春化作用效果的实验是将萌动种子或幼小植株置于低温下一定时间后,转到适宜生长的温度和长日照条件下生长,直到开花结果,分析低温处理对开花期的促进程度。而春化作用的效应主要是通过叶片数降低和抽薹时间的缩短表示,常以开花所需的时间、开花时的叶数、茎粗、株高等作为判断品种春化特性的形态指标。王士英(1997)提出小麦品种的春化反应是由其主茎最大可变叶片数和每一低温日数对出叶数的降低值决定,认为春化现象是小麦因低温而使得其生育早期的出叶数减少,进而导致主茎总叶数降低的一种生态适应方式。这从另一个角度来分析春化作用的效果,为春化作用的生态研究提供了可能的切入点。当然也有用低温处理后到抽薹时的积温作为判断完成春化与否的依据,但当日数低于春化需求时,则不能用积温作为品种春化反应的标准。根据低温春化诱导植物体内发生一系列化学变化,有报道利用生长点组织特异性染色反应,来判

断春化反应过程的完成(张恩和和黄鹏, 1998), 但却未见在其他植物上成功应用的报道。也有学者提出 $C_{20}GA_5/C_{19}GA_5$ 的比值可能是冬性小麦春化完成与否的标志(孟繁静, 2000), 但未见详细的报道。李季伦等(1980)、孟繁静等(1988)与傅永福和孟繁静(1994)发现茎尖中玉米赤霉烯酮含量与春化过程的进度同步, 达到最高值时即标志着春化作用的完成。相比之下, 以这些体内相关物质含量的变化作为指标不如生长点染色反应直接、简便。

春化作用的效果是花发端, 此过程并不发生在春化作用过程中, 而是发生在春化之后更合适植物生长的温度之下, 至今未找到一个可以接受的指标来检验春化进程, 这是研究春化作用的难点之一。

2 春化作用与植物生理变化

2.1 植物春化过程中物质变化

2.1.1 春化反应过程 低温诱导植物体内产生促进开花的物质被一些嫁接实验所证实, 但许多实验结果表明春化物质的不保守性、复杂性。早期有人根据二年生天仙子的嫁接和高温解除春化试验, 提出春化作用至少有两个阶段的模式。Dahanayake和Galwey(1998)报道, 油菜春化前和春化中后期予以高温处理都明显的增加了叶片数、开花时间, 并有消除低温春化的作用——延迟开花, 从而提出了与以天仙子建立的模式不完全相同的春化反应模式(图1)。这个模式较全面的说明了春化、去春化和抗春化(antivernalization)之间的物质转变和相互作用关系, 同时说明抗春化作用的前体与春化处理的前体不是同一物质。许多研究者一直试图从植物中分离这些特异热稳定物质。

2.1.2 与春化作用有关的物质 春化诱导植物开花曾被认为是植物体内的一种物质所致, 该物质消长与春化作用同步。Nitsan(1962)研究发现黑麦胚春化作用中存在一种与春化作用有关的生物大分子, 在春化过程中逐渐降低。此后大量的生化研究表明, 春化过程中植物体内的各种可溶性小分子物质大幅度的增加, 如 V_c 、糖、脯氨酸等, 但外源引入这些物质并未促进花芽分化, 因而没有研究者认为低温促进这些物质在幼苗内的积累是导致花芽分化的原因(Bernier *et al*, 1981; Chouard, 1960)。春化作用也引起体内某些酶活性变化, 如硝酸还原酶(Oaks *et al*, 1972; 凌俊和林振武, 1993)。过氧化物酶、过氧化氢酶、超氧化物歧化酶、抗坏血酸过氧化物酶(徐继等, 1994; Ye *et al*, 2000)。其中某些酶活性在低温的作用下增强或减弱, 也无法和花芽分化联系起来, 这些变化只能说明是低温作用的结果。大量的研究已阐明春化低

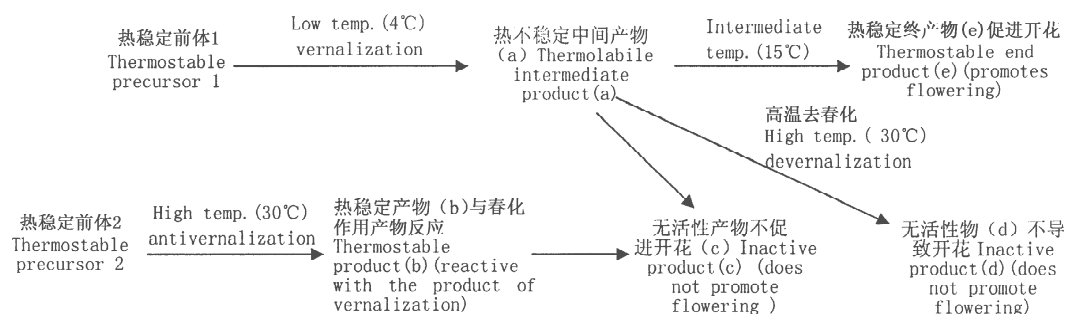


图1 油菜春化过程反应的模式(Dahanayake and Galwey, 1998)

Fig. 1 Proposed model for the vernalization process in *Brassica napus*

温引起植物反应与低温适应而引起植物应急反应有不同的作用机理。在此基础上,赵大中等(2000)利用低温处理4~5 d的冬小麦幼苗作为对照之一以消除低温适应所产生的影响,从而克隆到了春化相关基因。这些结果充分说明了春化作用的复杂性,并不能用单一的物质来阐明其作用机理,但也对研究春化提出了挑战。

2.1.3 春化作用与赤霉素(GAs) 对春化作用研究是从外部条件影响植株形态开始的,逐渐向寻找植物内部变化规律,这是春化研究早期的主要思路。春化素的提出吸引了一批科学家参与对开花相关物质的分离与分析研究。傅永福和孟繁静(1998)对春化相关激素作了详细的综述。大量研究证明赤霉素GAs具有代替某些植物开花所需低温的作用,促进开花。长日照植物或二年生要求低温的植物在成花诱导过程中体内赤霉素含量都增加(Aung *et al*, 1969)。对郁金香鳞茎春化处理发现鳞茎中可能存在某种以温度为转移的调节机制,导致赤霉素结合状态之间的相互转化(增田芳雄等, 1979)。进一步的研究发现赤霉素合成的关键酶——贝壳杉烯羟化酶是受低温诱导的,它在春化过程中起重要作用(Clarke *et al*, 1992)。

Michaels和Amasino(1999)研究发现拟南芥赤霉素生物合成突变体*gal-3*在春化处理后短日照下不能开花,表明*gal-3*突变体不能阻止在长、中光照条件下的春化反应,认为GAs没有直接作用于春化过程中,可能启动了另外的促花途径。在短日照条件下缺失基因*FLC*的拟南芥表现出晚花现象,可能是由于改变了GAs代谢,致使体内缺少GAs而延迟了开花(Wilson *et al*, 1992)。Oka等(2001)研究证实春化作用促使了GAs在体内的合成。这些结果表明GAs与春化相关性因物种而异,还发现不同结构的GAs类物质对春化的作用不同。现在,已证实赤霉素与低温春化促进植物开花的作用是通过各自独立的途径进行的。

2.2 春化作用过程中的代谢变化

上世纪50~80年代以春化过程中生理代谢变化为主的研究取得了一定进展。Chouard和Poingnant(1951)利用某些呼吸抑制剂研究了春化与萌发的关系。之后许多研究是利用各种化学物质来加速或延迟春化过程的进行,即从控制代谢过程入手。汤佩松等(1963)主要采用的“差异抑制”方法,从对春化过程中不同时期所起的作用来分析春化作用的代谢机制,提出了将春化过程分成若干部分过程的可能。谭克辉等(1981)应用各种代谢抑制剂指出春化过程可划分为:以糖的氧化过程为主,以核酸代谢为主以及以蛋白质代谢为主的3个分过程。各种代谢过程相互交替,前期为碳水化合物的氧化和能量代谢旺盛时期,中期为核酸代谢的旺盛时期,中后期为蛋白质起作用的时期(Yong *et al*, 2003)。但很难确定某个代谢反应在与诱导相关的代谢链中的位置,这远未阐明正在进行春化作用的细胞内的具体生化过程,仅提出了一些可能作为突破口的研究课题(谭克辉等, 1981; 谭克辉, 1984)。代谢抑制剂的应用曾为揭开春化过程的生理机制开辟了一个途径,但研究又多偏重于研究春化和萌芽间的一般关系,生理代谢也因决定过程是一个漫长、复合多步骤性的复杂过程,难以找到控制点,故春化研究进展缓慢(种康等, 2000)。

3 春化过程的分子生物学基础

分子生物学发展推动了植物发育的深入研究。植物春化作用是某些重要的基因在特定的条件下按照一定的时空顺序、不断解除阻遏而得到程序性表达的结果(谭克辉, 1992; 李振刚, 2000; Michaels and Amasino, 2001; Sheldon *et al*, 2000; Finnegan *et al*, 1998),它决定着分

化的方向。

3.1 蛋白质变化

Cahaian和Law (1979)提出春化作用是一种受遗传控制的生理过程。此过程中的核酸和蛋白质的变化已引起了许多研究者的重视。蛋白质含量变化是最初的认识。Teraoka (1967)研究表明低温处理冬小麦一段时间后,体内蛋白质合成的速率加快。春化过程中可溶性蛋白质含量一般是先上升,后期又下降。对小麦(任江萍等,1999;尹均等,2002)、白菜^{①②}等植物研究发现不同冬性品种可溶性蛋白质含量也存在差异,一般强冬性品种其含量较低。关于春化过程中特异蛋白质的诱导合成已有不少的研究。李秀珍等(1987a; 1987b)发现了52.5、38和16.2 kDa的蛋白与冬小麦春化花诱导密切相关。逯斌等(1991; 1992)进一步发现某些蛋白质随春化而产生,却又随去春化而消失,在正常冬性小麦中不存在,而在春小麦生长中存在,认为此蛋白与春化或开花有相关性,已证明主要是一些偏碱和中性的蛋白。这种转变发生在春化过程的中期,即蛋白质合成的关键时期,合成的新蛋白质与植株的发育状态密切相关。任江萍等(1999)和尹均等(2002)对春小麦、冬小麦采用差异比较法,研究得出53.2 kDa和46 kDa蛋白质是冬小麦通过春化发育的必要条件。低温诱导植物产生特异性蛋白中,只有较少部分与生长发育有密切关系,起控制作用,且不同植物与发育相关的特异蛋白质分子大小不一致。特异蛋白质的出现促使了研究者们进一步探寻是基因转录水平调控,还是翻译水平调控的结果,对这个问题回答必然使春化研究深入到核酸(DNA、RNA)水平。Tomita (1973)发现是一种特异的酶——春化酶,在植物营养生长和发育中起控制作用。有报道(杨肇驯等,1981;尹均等,2002)指出,过氧化氢酶、过氧化物酶、超氧化物歧化酶、酯酶等同工酶在春化过程中发生变化。这些研究虽未从根本上解决春化作用的机理,但为认识春化和进一步从分子水平揭示春化的机理提供了资料和信息。但这些主要是对种子萌动春化型的植物进行研究的结果,而对于绿体春化型植物,春化处理将导致处理材料发育不同步,因而对研究结果难下结论,这正是为什么绿体春化型植物研究春化较少的原因之一。

3.2 核酸的变化

研究表明春化作用与核酸的代谢密切相关(李淑俊和殷宏章,1956)。Sarhan和Daoust (1975)发现低温处理小麦后可溶性RNA及核糖体RNA提高。DNA-RNA体外杂交方法发现,30~50 d期间有新的mRNA出现(Ishikawa and Tateyama,1977),Tazawa等(1979)将小麦低温处理60 d,发现染色体在24℃下主要合成大于20S的mRNA,在3℃下以合成5~9S的mRNA为主。这些在一定程度上表明春化后合成mRNA对小麦进一步发育起了重要作用。谭克辉(1992)利用专一性的代谢抑制剂处理春化中的小麦,发现核酸代谢发生在春化处理的后期,尿嘧啶及尿苷酸显著地加快冬小麦发育,同时也观察到mRNA的出现有一定的顺序,认为春化处理诱导某些基因的启动或关闭是发生在转录水平上。可以看出在关键时期低温为特定基因的顺序表达提供了合适的内部环境并启动其表达,尔后对细胞内的代谢过程进一步的调节,以便为生长点分化建立必要的条件。这些研究为后来的基因克隆奠定了基础。近年来利用mRNA减法杂交和差异显示技术,获得了与春化相关的DNA序列(种康等,1994;2000; Chong *et al*,1994)。

① 奥岩松,1995. 大白菜晚抽薹的生理特性及数学模型研究. 博士学位论文. 南京农业大学.

② 李梅兰,2001. 甲基化与白菜的生长转变. 博士学位论文. 浙江大学.

3.3 分子遗传机理

在拟南芥、金鱼草等模式植物中,成功分离到了控制花器官发生的多个基因以及早花、晚花等各种突变体,从而打破了植物发育生物学研究的沉寂,并使植物发育学的机理研究由生理生化为主转变到以分子生物学及生理遗传学为主的途径,给春化研究带来了新的生机。

利用在拟南芥突变体已定位了80多个影响开花时间(包括促进开花和抑制开花)的基因(Levy and Dean,1998)。这些基因组成了不同的成花途径:自主促进途径(*autonomous promotion pathway*),如LD、FCA、FVE、FPA、FKF1(Nelson *et al*,2000)等;光周期促进途径(*photoperiodic promotion pathway*)(Koornneef *et al*, 1991)及春化促进途径(*vernalization promotion pathway*),环境条件对后两条途径有影响。

春化相关基因CO、FCA、GAL、EARLI1分别通过突变体途径在拟南芥中已相继被克隆(Wilson *et al*,1992; Wilkosz and Schlappi,2000)。McDaniel (1991)从拟南芥的春化相关的突变体中分别克隆到了春化作用的关键基因(*FLC*和*FRI*),并通过转反义基因,对这些基因的功能进行了研究,表明这些基因(*FCA*和*FRI*)是促进开花途径中的重要组分。从此有关*FLC*和*FRI*调控春化的研究报道较多,这些推进了植物开花机理的认识。春化相关基因*FLC*编码一个新的MADS域蛋白,此蛋白通过类似变阻器的机制实现控制开花(Michaels,1999; Dean *et al*,2002),类似的基因*FLF* (Sheldon *et al*,1999)、*FLM* (Scortecci *et al*,2001)也相继被克隆。研究发现开花基因*FLC*功能缺失体都可由低温春化处理而实现开花,认为拟南芥中春化作用可通过依赖*FLC*或独立于*FLC*途径促进开花。Tadege等(2001)在油菜中发现*BnFLC1~5*基因调节作用都与拟南芥中的相似,但不同的基因对春化作用有不同的表现。在萝卜上*VFR2*是两个控制春化反应开花时间的数量性状位点之一,已发现与拟南芥染色体V上控制开花的位点相似,与*FLC*同源,可能与拟南芥控制开花有相似的机理(Kole *et al*,2001)。而拟南芥晚花基因*VFR2*对开花的调控作用不是由于转录水平,而是由于此基因编码高水平的不同功能蛋白引起的。Ratcliffe等(2001)发现*MAF1*编码的蛋白质虽然表现出与*FLC*编码的蛋白功能相似,其过量表达也与*FLC*的蛋白具有相似功能——抑制开花,但经分析此基因却与春化无关,表明其控制开花的途径与*FLC*不同。近年来对成花基因*FLC*及其与*AGL20*基因的相互作用研究较为深入(Lee *et al*,2000; Borner *et al*,2000)。

基于转录水平的差异而产生特异蛋白质的表达,富集低温诱导的冬小麦cDNA文库差异筛选及差异显示技术已成功得到了一系列与春化相关cDNA克隆及基因*verc203* (种康等,1994; Chong *et al*,1994; 1998; 赵大中等,1999)。冬小麦中控制春化特性基因*VRN1*、*VRN3*、*VRN2*、*VRN4*和*VRN5*已分别定位于染色体5A、5B、5D、7B上,这表明植物春化特性是由多基因控制的,且基因之间存在相互、复杂的作用(Hay and Ellis, 1998)。在春黑麦中也发现了春化反应基因的等位基因*Sp1*,对春化作用较弱(Malyshenv *et al*,2001)。Soppe等(1999)研究拟南芥*efs*突变体发现春化是通过*EFS*基因促进开花的,有趣的是春化处理是通过*VRN2*基因调节*FLC*处于恒定,从而使分生组织记忆春化(Gendall *et al*,2001)。

突变体途径多以形态发生的变化为指标,所克隆到基因多是与形态发生直接相关,而漫长的成花决定过程中并不发生形态上的变化,只是一种生理状态的改变,或者以生化变化为主的多步骤性的复合过程。但突变体和转基因植株为揭示春化作用的分子机理提供了有利的条件。

3.4 去甲基化与春化作用

植物春化后的信息可稳定在细胞间传递却随有性繁殖消失,这种获得性遗传现象使学者很容易联想到基因的表达调控。Burn等(1993)利用去甲基化试剂5-氮胞苷——可降低DNA链上的5-甲基化胞嘧啶水平,处理拟南芥及十字花科植物遏蓝芥萌发的种子,诱导了这些植物在非春化处理条件下开花,从而提出DNA甲基化阻止了某些开花基因的表达,低温春化是通过去甲基化使某些基因转录,而导致花发端的假说。Finnegan等(1998)认为春化途径不是必须诱导开花的非阻遏环境,只有其他途径限制,才启动春化途径,认为低温诱导早花是遗传之后形成的,支持了春化是受DNA甲基化调控的假说,且认为去甲基化和春化可能具有相同成花途径。Ronemus等(1996)根据转胞嘧啶甲基化转移酶的反义基因研究,亦提出了DNA去甲基化是营养生长向生殖生长转化所必需的过程,同时发现赤霉素生物合成途径中的一个关键酶(贝壳杉烯羟化酶)的基因,因其启动子发生甲基化而钝化,最终阻碍了开花。对白菜成花转变中DNA甲基化程度和赤霉素含量的研究得出相似的结果^①。而Lízal和Relichova(2001)研究发现,拟南芥自然晚花生态型和晚开花突变体对春化和外施5-氮胞苷处理有不同的反应,这说明春化作用与甲基化是通过两条受甲基化调控的独立途径控制开花的。这个结果虽然没能清晰阐明甲基化与春化作用的相互关系,但至少可以说明甲基化与春化作用存在既独立又相互作用的联系。最近Finnegan实验室(Genger *et al*, 2003)对具不同春化反应且DNA甲基化水平较低的拟南芥转反义*MET1*基因的后代的春化研究发现,DNA去甲基化延迟了春化不敏感的拟南芥的开花,认为基因组范围内的DNA去甲基化,一方面降低了*FLC*的表达而促进开花;另一方面可激活成花阻遏基因*FWA*的表达,而抑制某些遗传背景的拟南芥开花。这一研究结果进一步揭示甲基化与春化及成花作用关系,同时给甲基化与成花的研究注入了新的活力,引人入胜。

4 成花转变的多途径假说

春化作用机理的深入研究为植物成花转变这一大课题的研究提供了资料。目前已发现植物成花转变的过程是通过多条途径完成的。徐云远等(2001)研究发现春化相关的基因*VER2*与茉莉酸诱导的信号传导途径基因部分同源,进一步研究表明,植物对春化处理的信号应答可能通过茉莉酸途径进行的。Michaels和Amasino(2001)在拟南芥成花研究的基础上,提出了植物成花的多途径(图2)。除了春化独立途径外,还有春化非独立途径、赤霉素途径、甲基化途径和自主促进途径之间存在着共同具有的*FLC*基因,它们之间相互作用,相互制约,同时又具有一定的独立性,调控成花转变的完成。这从整体上勾勒出植物成花及春化作用网络机理,但也不排除其他的途径。

5 研究展望

植物成花过程是一个高度复杂而复合的、在一定遗传背景控制下的生理生化及形态发生过程,成为当前植物发育生物学研究的热点(白书农,1998)。春化作用研究有利于揭示植物发育转变的机理。对春化作用的研究已取得了不少突破,但这距彻底认识春化作用的机理还相差甚远。但我们应该认识到低温春化处理引起春化相关基因按一定的时间顺序性和特异性程序表

^①李梅兰,2001. 甲基化与白菜的生长转变. 博士学位论文. 浙江大学.

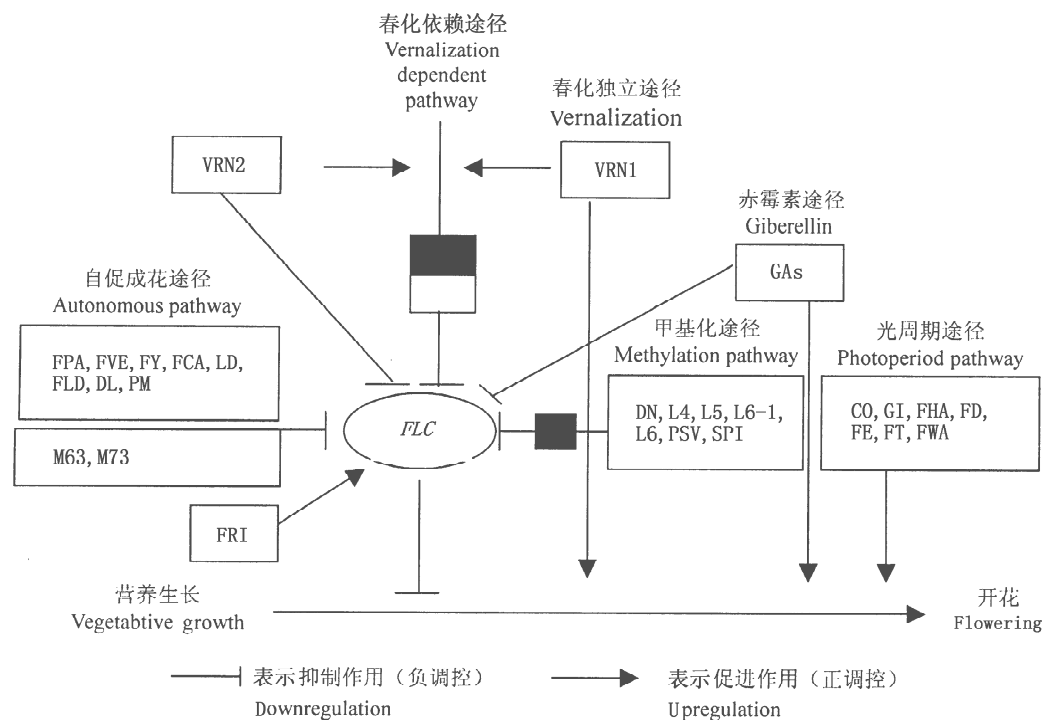


图2 拟南芥开花多途径 (Sheldon *et al*,2000; Michaels and Amasino, 2001; Finnegan *et al*,1998)

Fig. 2 Proposed pathways to flowering in *Arabidopsis*

阴影部分代表晚花突变体，其基因通过低温春化与 *FLC* 相作用，缺少低温和 5-azaC 处理，春化或甲基化途径中的步骤被阻遏。正方形中空白部分表示只有低温才能解除的阻遏；黑色部分表示通过去甲基化解除的阻遏。

The *FLC* gene, which plays the central role in this transition, is positively or negatively regulated by genes of all regulation pathways, with exception of the photoperiod pathway. Shaded part of the box represents incorporation of late flowering mutants in the proposed pathways. The step in the vernalization or methylation pathway that is blocked, in the absence of cold or 5-azaC treatment, is indicated by a square. The black part of the square represents a block, which can be alleviated by demethylation, but the white part is only alleviated by cold.

达,各基因不仅具有独立的功能,而且相互影响,相互作用,共同参与生理转变。春化作用的复杂性,必然要求建立和完善春化实验体系;阐明春化作用机理的必要前提仍然是化整为零,从认识春化相关作用途径入手,克隆每个途径春化相关的基因并认识其功能和相互作用。在此研究基础上将已有的生理生化基础与遗传学、分子生物信息学及计算机模拟等相结合,将推进对春化作用的生理、生化、信号及分子水平机理完整的认识。

致谢 感谢中国农业大学孟繁静先生对论文撰写提出了宝贵的意见。

参 考 文 献

白书农, 1998. 植物开花研究:从生理学到遗传学.见: 李承森主编.植物科学进展(第二卷). 北京:高等教育出版社, 146~163

种康,许智宏,谭克辉,2000.小麦春化相关基因在成花过程中的功能研究.中国科学基金, 14(1):31~34

- 种康,谭克辉,黄华樑,梁厚果,1994.冬小麦春化作用相关 cDNA 分子克隆研究.中国科学(B 辑), 24:964~967
- 傅永福,孟繁静,1994.玉米赤霉素烯酮与冬小麦的生长与发育.作物学报,20:270~276
- 傅永福,孟繁静,1998.植物的成花生理信号(综述).中国农业大学学报,3(3):1~11
- 蒋先明编, 1984. 蔬菜栽培生理学.北京:中国农业出版社,25~53
- 李季伦,朱彤霞,张旒,李宝仁,邓沛,李永生,孟繁静,1980.玉米赤霉素烯酮的研究.北京农业大学学报,1:13~26
- 李秀珍,郝迺斌,谭克辉,1987a.冬小麦春化过程中可溶性蛋白质组分与形态发生的关系.植物学报,29:429~498
- 李秀珍,郝迺斌,谭克辉,1987b.脱春化冬小麦幼苗中可溶性蛋白质组分及植物个体发育状态的影响.植物学报,29:320~323
- 李淑俊,殷宏章,1956.春化过程中小麦胚中核酸的含量变化.植物生理学通讯,(2):1~4
- 李振刚,2000.分子遗传学.北京:科学出版社,206~220
- 凌俊,林振武,1993.春化对油菜叶片硝酸还原酶活性的影响.植物生理学通讯,29(3):90~93
- 梁铁兵,雍伟东,谭克辉,徐继,种康,2001.春化处理控制冬性小麦的小穗发育.植物学报,43:788~794
- 逯斌,谭克辉,林兵,黄华樑,1991.冬小麦春化过程中开花特异蛋白质的分析等电聚焦研究初报.植物学集刊,5:219~222
- 逯斌,谭克辉,林兵,黄华樑,1992.冬小麦春化过程中低温诱导的与花芽分化相关的 mRNA 和蛋白质的合成.植物生理学报,18:113~120
- 罗春梅,胡承霖,1986.低温在小麦春化过程中的生理作用的初步探讨.安徽农学院学报,13(2):30~33
- 孟繁静,阙月美,韩玉珍,黎洪霞,王章存,1988.冬小麦越冬茎尖中玉米赤霉素烯酮.中国科学(B)辑, 12:1261~1266
- 孟繁静, 2000. 植物花发育的分子生物学. 北京: 中国农业出版社
- 任江萍,潘登奎,尹均,1999.小麦春化过程中蛋白质变化研究.山西农业大学学报,19:298~301
- 增田芳雄,胜见允行,今关英雄著,1979.辽宁铁岭农学院《植物激素》翻译小组译.植物激素.北京:科学出版社,184~188
- 谭克辉,1984.低温诱导植物开花的机理植物生理生化进展.北京:科技出版社,90~107
- 谭克辉,王宏文,何希文,李守全,1981.代谢抑制剂对冬小麦春化过程的影响.植物学报,23:371~376
- 谭克辉,1992.春化过程中特异蛋白质合成.植物学集刊,6:13~16
- 汤佩松,谭克辉,李凤英,何希文,1963.二硝基酚对冬小麦春化过程影响的初步报告.实验生物学,8:587~593
- 王士英,1997.小麦春化进化与植株年龄相关问题的商榷.作物学报,23:746~752
- 徐继,张玉竹,谭克辉,1994.冬小麦春化过程中 6-磷酸葡萄糖脱氢酶活性变化的研究.植物学集刊,7:344~348
- 杨肇驯,王文宏,谭克辉,1981.冬小麦幼苗春化期间过氧化物酶的变化.植物生理学报,7:311~316
- 尹均,任江萍,潘登奎,董爱香,2002.小麦春化发育相关蛋白质同工酶的研究.麦类作物学报,22(1):33~38
- 徐云远,种康,许智宏,谭克辉,2001.茉莉酸诱导的春化相关基因的表达模式.植物学报,43:871~873
- 赵大中,雍伟东,种康,谭克辉,1999.高等植物开花研究现状简述.植物学通报,16:157~162
- 赵大中,种康,谭克辉,2000.植物春化作用的机理、遗传与分子基础分析.见:林忠平主编.走向 21 世纪的植物分子生物学.北京:科学出版社,192~207
- 张恩和,黄鹏,1998.春化处理对当归苗生理活性的影响.甘肃农业大学学报,33:240~243
- Aung L H, De hertogh A A, Staby G, 1969. Temperature regulation of endogenous gibberellin activity and development of *Tulipa gesneriana* L. *Plant Physiol*, 44:403~406
- Bernier G, Kinet M, Sachs R M, 1981. The Physiology of Flowering. Boca Raton FL, USA: CRC Press, 69~82
- Borner R, Kampmann G, Chandle J, Gleissner Wisman E, Apel K, Melzer S, 2000. A MADS domain gene involved in the transition to flowering in *Arabidopsis*. *Plant J*, 24:591~599
- Burn J E, Babnall D J, Metzger J D, Dennis E S, 1993. DNA methylation, vernalization, and the promotion of flowering, *Proc Natl Sci USA*, 90:287~291
- Clarke A E, Dennis E, Joseph M, 1992. Frontiers of flowering. *Plant Cell*, 4:867~870
- Cahalan C, Law C N, 1979. The genetical control of cold resistance and vernalization requirement in wheat. *Heredity*,

42:125~132

- Chong K, Wang L P, Tan K H, Huang H L, Liang H G, 1994. Molecular cloning and characterization of vernalization related (verc17) gene in winter wheat. *Physiol Plant*, **92**:511~515
- Chong K, Bao S L, Xu T, Liang T B, Huang H L, Zeng J Z, Xu J, Xu Z H, Tan K H, 1998. Functional analysis of ver gene using antisense transgenic wheat plant. *Physiol Plant*, **102**: 87~92
- Chouard P, Poignant P, 1951. Recherches preliminaires sur la vernalization en presence d'inhibiteurs de germination et de respiration. *Compt Rend Acad Sci (paris)*, **232**:103~105
- Chouard P, 1960. Vernalization and its relations to dormancy. *Ann Rev of Plant Physiol*, **11**:191~208
- Dahanayake S R, Galwey N W, 1998. Effects of interaction between low and high temperature on flowering of spring rape (*Brassica napus* var. annua). *Annals of Botany*, **81**:609~617
- Dean R T, Sheldon C C, Bagnall D J, Peacock W J, Dennis E S, 2002. FLC, a repressor of flowering, is regulated by genes in different inductive pathways. *Plant J*, **29**:183~191
- Finnegan E J, Genger R K, Kovac K, Peacock W J, Dennis E S, 1998. DNA methylation and the promotion of flowering by vernalization. *Proc Natl Acad Sci USA*, **95**:5824~5829
- Gendall A R, Levy Y Y, Wilson A, Dean C, 2001. The VERNALIZATION 2 gene mediates the epigenetic regulation of vernalization in *Arabidopsis thaliana*. *Cell*, **107**:525~535
- Genger R K, Peacock W J, Dennis E S, Finnegan E J, 2003. Opposing effects of reduced DNA methylation on flowering time in *Arabidopsis thaliana*. *Planta*, **216**: 461~466
- Hay R K M, Ellis R P, 1998. The control of flowering in wheat and barley: wheat recent advances in molecular genetics can reveal. *Annals of Botany*, **82**:541~554
- Ishikawa K, Tateyama M, 1977. Changes in hybridizable RNA in winter wheat embryos during germination and vernalization. *Plant Cell Physiol*, **18**:875~882
- Kole C, Quijada P, Michaels S D, Amasino R M, Osborn T C, 2001. Evidence for homology of flowering-time genes VFR2 from *Bassica rape* and FLC from *Arabidopsis thaliana*. *Theor Appl Genet*, **102**:425~430
- Koornneef M, Hanhart C J, van der veen J H, 1991. A genetic and physiological analysis of late flowering mutants in *Arabidopsis*. *Mol Gen Genet*, **229**: 57~66
- Lee H, Suh S, Park E S, 2000. AGAMOUS — LIKE 20MADS domain protein integrated flored inductive parhuags in *Arabidopsis*. *Genes and Development*, **14**:2366~2376
- Levy Y Y, Dean C, 1998. The transition to flowering. *Plant Cell*, **10**:1973~1989
- Lízal P, Relichova J, 2001. The effect of day length, vernalization and DNA demethylation on the flowering time in *Arabidopsis thaliana*. *Physiologia Plantarum*, **113**:121~127
- Malyshenv S, Korzun V, Efremova T T, Borner A, 2001. Inheritance and molecular mapping of a gene determining vernalization response in the Siberian spring rye variety 'Onokhoyskaya'. *Cereal Res Commun*, **29**:259~265
- McDaniel C N, 1991. Early events in flowering: a black box with a bright future. *Plant Cell*, **3**:431~433
- Michaels S D, Amasino R M, 1999. The gibberellic acid biosynthesis mutant *gal-3* of *Arabidopsis thaliana* is responsive to vernalization. *Dev Genet*, **25**: 194~198
- Michaels S D, 1999. FLOWERING LOCUS C. Encodes a novel MADS. Domain protein that acts as a repressor of flowering, *Plant Cell*, **11**:949~956
- Michaels S D, Amasino R M, 2001. Loss of FLOWERING LOCUS C activity eliminates the late flowering phenotype of FRIGIDA and autonomous pathway mutants but not responsiveness to vernalization. *Plant Cell*, **13**:935~941
- Nelson D C, Lasswell J, Rogg L E, Cohen M A, Bartel B, 2000. FKF1, a clock-controlled gene that regulates the transition to flowering in *Arabidopsis*. *Cell*, **101**:331~340
- Nitsan J, 1962. Accumulation of a distinct macromolecular component in Rye embryos as a result of vernalization.

- Nature*, **194**:400~401
- Oaks A, Wallace W, Stevens D, 1972. Synthesis and turnover of nitrate reductase in core roots. *Plant Physiol*, **50**:649
- Oka M, Tasaka Y, Iwabuchi M, 2001. Elevated sensitivity to gibberellin by vernalization in the vegetative rosette plants of *Eustoma grandiflorum* and *Arabidopsis thaliana*. *Plant Sci*, **160**:1237~1245
- Ratcliffe O J, Nadzan G C, Reuber T L, Riechmann J L, 2001. Regulation of flowering in *Arabidopsis* by an FLC homologue. *Plant Physiol*, **126**:122~132
- Ronemus J J, Galbiati M, Ticknor C, Chen J, Dellaporta S L, 1996. Demethylation-induced development pleiotropy in *Arabidopsis thaliana*. *Science*, **273**:654~657
- Sarhan F, Daoust M J, 1975. RNA synthesis in spring and winter wheat during cold accumulation, *Plant Physiol*, **35**: 62~65
- Scortecci K C, Michaels S D, Amasino R M, 2001. Identification of a MADS-box gene, *FLOWERING LOCUS M*, that represses flowering. *Plant J*, **26**: 229~236
- Sheldon C C, Finnegan E J, Rouse D J, Tadege M, Bagnall D J, Helliwell C A, Peacock W J, Dennis E S, 2000. The control of flowering by vernalization. *Curr Opin Plant Biol*, **3**:418~422
- Sheldon C C, Burn J E, Paswul P, 1999. The FLMADS box gene: a repressor of flowering in *Arabidopsis* regulated by vernalization and methylation. *Plant Cell*, **11**:445~458
- Soppe W J, Bentsink L, Knoor neef M, 1999. The early flowering mutant *efs* is involved in the autonomous promotion pathway of *Arabidopsis thaliana*. *Development*, **126**:4763~4770
- Tadege M, Sheldon C C, Helliwell C A, Stoutjesdijk P, Dennis E S, 2001. Control of flowering by FLC orthologues in *Brassica napus*. *Plant J*, **28**:545~553
- Tazawa T, Ishikawa K, Sasaki K, 1979. Ribonucleic acid synthesis at low and high temperature in isolated wheat winter chromatin. *Plant Cell Physiol*, **20**:453~462
- Teraoka H, 1967. Proteins of wheat embryos in the period of vernalization. *Plant Cell Physiol*, **8**:87~95
- Tomita T, 1973. Crop diagnostic study and its application in vernalization in winter wheat caused by proteinase. *Bull Natl Inst Agric Ser A*, **20**:1~6
- Weibe J H, 1990. Vernalization of vegetable crop — a review. *Acta Horticulture*, **276**:323~328
- Wilkosz R, Schlappi M, 2000. A gene expression screen identifies *EARL11* as a novel vernalization-responsive gene in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Mol Biol*, **44**:777~787
- Wilson R N, Heckman J W, Somerville C R, 1992. Gibberellin is required for flowering in *Arabidopsis thaliana* under short days. *Plant Physiol*, **100**:403~408
- Ye Z Z, Roxana R, Augustine T, 2000. The developmental transition to flowering represses ascorbate peroxidase activity and induces enzymatic lipid peroxidation in leaf tissue in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Sci*, **158**:115~127
- Yong W D, Xu Y Y, Xu W Z, Wang X, Li N, Wu J S, Liang T B, Chong K, Xu Z H, Tan K H, Zhu Z Q, 2003. Vernalization-induced flowering in wheat is mediated by a lectin-like gene *VER2*. *Planta*, **217**: 261~270