

墨兰 *FT* 同源基因的时空表达及功能分析

黄玮婷, 吴博文, 方中明*

(武汉生物工程学院应用生物技术研究中心, 武汉 430415)

摘要: *FLOWERING LOCUS T (FT)* 基因是植物开花调控途径的整合基因, 整合来自光周期途径、春化途径和自主途径等不同花发育途径的信号, 在植物花发育中发挥着重要作用。从墨兰品种‘企剑黑墨’中克隆了新的 *FT* 同源基因, 并对其各组织部位的表达特性和生物学功能进行了分析。结果表明, 墨兰 *FT* 基因 cDNA 全长序列为 618 bp, 其中开放阅读框为 531 bp, 编码 176 个氨基酸。其氨基酸序列与拟南芥、水稻中 *FT* 基因的氨基酸序列有较高的同源性。墨兰 *FT* 同源基因在‘企剑黑墨’各器官中均有表达, 营养生长期 *FT* 基因在腋芽中的表达量最高, 生殖生长期 *FT* 基因在腋芽, 花梗, 花蕾等器官中的表达量较高, 在根和叶中的表达量最低。在拟南芥中超表达墨兰 *FT* 同源基因, 能显著促进拟南芥开花。

关键词: 墨兰; *FT* 基因; 基因表达

中图分类号: S682.31; Q781

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2017)01-0135-07

Temporal and spatial expression and functional analysis of *FT* homologous genes in *Cymbidium sinense*

HUANG Weiting, WU Bowen, FANG Zhongming

(Center of Applied Biotechnology, Wuhan Institute of Bioengineering, Wuhan 430415)

Abstract: The *FLOWERING LOCUS T (FT)* gene plays a central role in integrating flowering signals in plants because its expression is regulated antagonistically by the photoperiod, vernalization pathways and autonomous pathway. We studied the temporal and spatial expression patterns and biological function of homologous gene *FT* which was isolated from *Cymbidium Sinense* ‘Qijian Heimo’. It showed that the gene contained 618 bp nucleotides with a 531 bp open reading frame (ORF), encoding 176 amino acids (AAs). The *CsFT* gene was expressed in all organs of *C. Sinense* ‘Qijian Heimo’, and the *CsFT* transcript level was higher in axillary buds than in other organs at vegetative stage. At reproductive stage, the expression of *CsFT* was the highest in axillary bud, scape, flower bud, while the lowest in root and leaf. Over-expression of *CsFT* in *Arabidopsis thaliana* showed that the *CsFT* transgenic lines bloomed earlier than that of the WT plants.

Key words: *Cymbidium sinense*; *FT* gene; gene expression

墨兰 (*Cymbidium sinense*) 作为七大类国兰之一^[1], 主要分布于我国福建、台湾、广东、广西、云南等地。墨兰花期为 9 月至翌年 3 月, 是一种可以作为年宵花的名贵地生兰。但墨兰的幼年期为 4 年左右^[2], 生产成本高, 因此如何进行花期调控缩短墨兰的开花年限, 使其提早开花具有重要意义。此外, 墨兰的花期一般只有半个月, 作为年宵花卉还需在花期和延长花期上进行调控^[3]。

FLOWERING LOCUS T (FT) 作为一个花期调控途径中的关键基因, 属 *PEBP/RKIP* 基因家族, 位于花发育途径中的汇集点, 整合来自光周期途径、春化途径和自主途径等不同花发育途径的信号, 受上游基因 *CO* 的调控, 引起 *API*、*SOC1* 等下游花分生组织决定基因的表达来调控植物的开花^[4-6]。*FT* 基因在成花转变过程中起重要作用。近年来, 已陆续克隆了拟南芥 *AtFT*^[7]、杨树 *PdFT*^[8]、番茄 *SFT*^[9],

收稿日期: 2016-07-26

基金项目: 国家自然科学基金(31301250)和湖北省教育厅科学技术研究项目(B2015392, B2015394)共同资助。

作者简介: 黄玮婷, 讲师。E-mail: 406789670@qq.com

* 通信作者: 方中明, 博士, 副教授。E-mail: zmfang@mail.hzau.edu.cn

小麦 *TaFT*^[10]、葡萄 *VvFT*^[11]、南瓜 *CmFT*^[6]、水稻 *Hd3a*^[12]、马铃薯 *SP3D*^[13]、玉米 *ZCN8*^[14]及大豆 *FT2a*^[15]等多个重要物种中的 *FT* 同源基因, 并发现 *FT* 同源基因表达能促进植物开花。同时, 还发现 *FT* 基因参与了植物生长与发育过程, 如促进气孔开放、花发育、块茎和鳞茎的生长^[16]。所以, 克隆墨兰 *FT* 同源基因有利于解释其花芽发育过程中的分子机理, 而转基因技术是验证基因功能最直接最有效的方法。

本研究对墨兰品种‘企剑黑墨’(*Cymbidium sinense* ‘Qijianheimo’)中克隆到的 *FT* 同源基因进行了各个阶段组织器官的表达特性分析, 并且进行了拟南芥转基因功能验证等生物学功能分析, 以期为国兰的花期调控提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

采用墨兰品种‘企剑黑墨’(*C. sinense* ‘Qijianheimo’), 植物表达载体采用 pBI121, 农杆菌采用 GV3101, 拟南芥采用 Col 型野生型种子, 由武汉生物工程学院基因工程实验室提供。

1.2 方法

墨兰 *CsFT* 基因 cDNA 全长为研究者前期已克隆并在 NCBI 注册(登录号 HM120862)的序列, 与其他物种 *FT* 同源基因序列同源性比较使用 NCBI 在线分析软件 BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>)。各个物种 *FT* 基因的 DNA 和氨基酸序列多重比对使用 ClustalX 软件, 各个物种 *FT* 氨基酸序列进化树构建采用 MEGA4 软件。为检测墨兰 *CsFT* 同源基因在不同器官中的表达特征, 取墨兰开花前后植株的不同部位如根、假鳞茎、叶、腋芽、花梗、花苞、花瓣、花萼、舌瓣及合蕊柱, 采用 Trizol 提取 RNA, 并反转录合成 cDNA 第一链, cDNA 稀释 5 倍后进行实时荧光定量 PCR 反应。墨兰 *CsFT* 基因利用实时荧光定量 PCR 检测的引物为 F: 5'-AGA GTTGAAGTTGGAGGGAATG-3', R: 5'-GGTCGTT GCTGGGATATCG-3', *ACTIN* 基因利用实时荧光定量 PCR 检测的引物为 F: 5'-AATCCAAGGCAAAC AGA-3', R: 5'-CCATyACCAGAATCCAG-3'。实时荧光定量 PCR 在 ABI 7500 Real-Time PCR 仪上进行, 反应体系及程序参照 SYBR® Premix Ex Taq™ II (TaKaRa) 说明书, 每个反应设 4 次重复, 所得数据使用 ABI 7500 Real-Time PCR system 软件进行处理。根据反应后的 CT 值将不同阶段取材的根中 *CsFT* 基因的表达量定为 1, 同一阶段的其他组织器

官的表达量均与根的表达量做相对比较。

超表达载体的构建为根据墨兰 *CsFT* 基因的全长序列和载体 pBI121 多克隆位点中的 *Xba* I 和 *Bam*HI 酶切位点设计引物: *XFT*-F: 5'-TCTAGAGC TGAAGGAAGTGATAGCAA-3', *BFT*-R: 5'-GGAT CCAGCAGTGACGCAAAGGAAA-3', 以墨兰叶片 cDNA 为模板, 进行 PCR 扩增, PCR 产物连接 pMD18-T 载体, 鉴定后连 pBI121 载体, 鉴定后转化农杆菌 GV3101。

农杆菌转化拟南芥采用花序浸泡法, 收集当代转基因植株种子 (T_0 代), 无菌播种于含有 Kan 抗生素 ($50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 的 1/2 MS 固体培养基上筛选。播种后的培养皿先置于 4°C 冰箱中, 冷处理 48 h, 促进种子萌发。后转入光照培养箱中, 正常培养条件为 14 h 光照 (L) / 10 h 黑暗 (D)。将生长 15 d 左右的绿色抗性植株移栽到钵钵里, 基质为泥炭土与蛭石比为 3:1。收集 T_1 代种子, 播种在含有 Kan 抗生素 ($50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 的 1/2 MS 培养基上, 统计分离比, 选取符合 3 存活:1 死亡分离比的转基因株系植株移栽至钵钵里进行培养。 T_2 代长日处理条件为 16 h L/8 h D, 短日处理条件为 8 h L/16 h D。另外, 以拟南芥野生型为对照, 用 35S 启动子序列及插入目的基因序列设计引物, 进行 PCR 检测目的基因的表达。引物序列为 F: 5'-TTGCGATAAAGGAAAGGC-3', R: 5'-AC GAAGACGAAGCGGTGT-3'。

2 结果与分析

2.1 墨兰 *CsFT* 基因序列全长的克隆及序列分析

前期研究已通过 RT-PCR 和 RACE 等方法克隆了墨兰品种‘企剑黑墨’的 *FT* 同源基因, 将其命名为 *CsFT* (*Cymbidium sinense* FLOWERING LOCUS T), 并对 *CsFT* 基因在 NCBI 上进行了登录 (GenBank accession number HM120862)。通过序列分析发现, *CsFT* 的 DNA 序列包含 2 个外显子和 1 个内含子, 内含子大小为 161 bp。*CsFT* 全长 cDNA 为 618 bp, 其中包括一个 531 bp 大小的 ORF (开放阅读框), 编码 176 个氨基酸。蛋白质 pI/Mw 分别为 6.42/19848.3。*CsFT* 全长基因组 DNA 序列如图 1 所示。DNA 序列比对结果表明, 墨兰与 NCBI 上已登录的其他国兰如春兰、建兰的 *FT* 同源性非常高, 达到 99%。

将 *CsFT* 推导的氨基酸序列与其他物种的 *FT* 同源基因氨基酸序列进行比对 (图 2), 结果发现它们具有较高的保守性和同源性, 与春兰、建兰的氨基酸序列一致, 与水稻 *Hd3a*、拟南芥 *FT* 的氨基酸序

列同源性分别为 79%、74%。通过氨基酸序列比对发现国兰 FT 中包含区分 FT 和 TFL1 蛋白的关键氨基酸残基 Tyr(Y), 以及 140 位的另一个决定性氨基

酸残基 Gln(Q), 另外还具有 FT 类蛋白的 2 个保守基序即 14 个保守氨基酸序列 (LGRQTVYAPGW-RQN) 和 LYN/IYN 三联体。

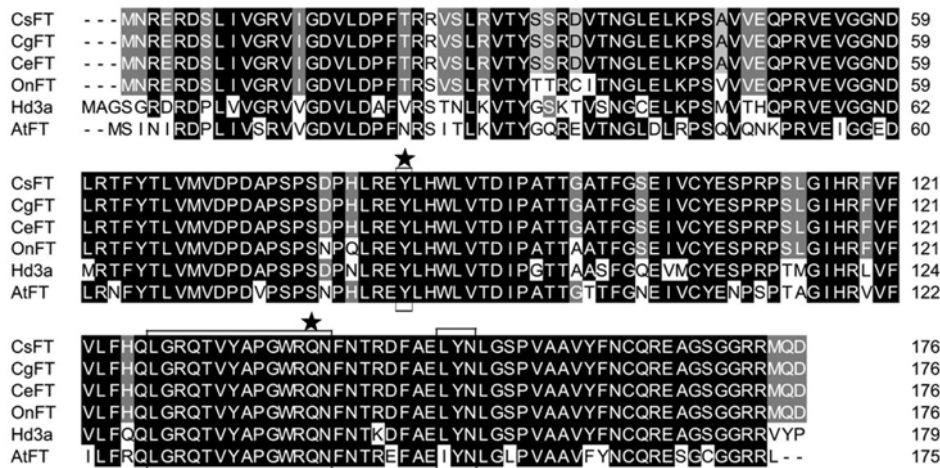


起始密码子和终止密码子下方用横线注明; 内含子序列上方用横线注明; 内含子两端序列 GT-AG 用“ □ ”表示; 具有核苷酸差异的碱基用“ ■ ”表示

Start and termination codons are underlined; The intron is marked by lines above the sequence; GT-AG are marked with open boxes; non-identical nucleotide acids are marked with shaded boxes

图 1 CsFT、CgFT、CeFT 基因 DNA 序列的比较

Figure 1 DNA sequence alignment of CsFT, CgFT and CeFT



具有一致性和相似性的氨基酸分别用黑色和灰色阴影表示。墨兰 CsFT、春兰 CgFT、建兰 CeFT、文心兰 OnFT、水稻 Hd3a 和拟南芥 AtFT 的 Genebank 的登录号分别为 HM12086、HM12086、HM803115、EU583502、BAB61028.1 和 BAA77838.1

The identity and similarity of amino acid sequences are marked by black and gray shades, respectively. The GeneBank accession numbers of C. Sinense CsFT, C. Goeringii CgFT, C. Ensifolium CeFT, Oncidium Gower Ramsey OnFT Oryza sativa Japonica Hd3a, and Arabidopsis thaliana AtFT are HM12086, HM12086, HM803115, EU583502, BAB61028.1 and BAA77838.1

图 2 墨兰、春兰、建兰 FT 推导的氨基酸序列与文心兰、水稻、拟南芥 FT 同源基因的氨基酸序列比较

Figure 2 Multiple sequence alignment of amino acid sequences of FT from Cymbidium with those of OnFT, Hd3a and AtFT

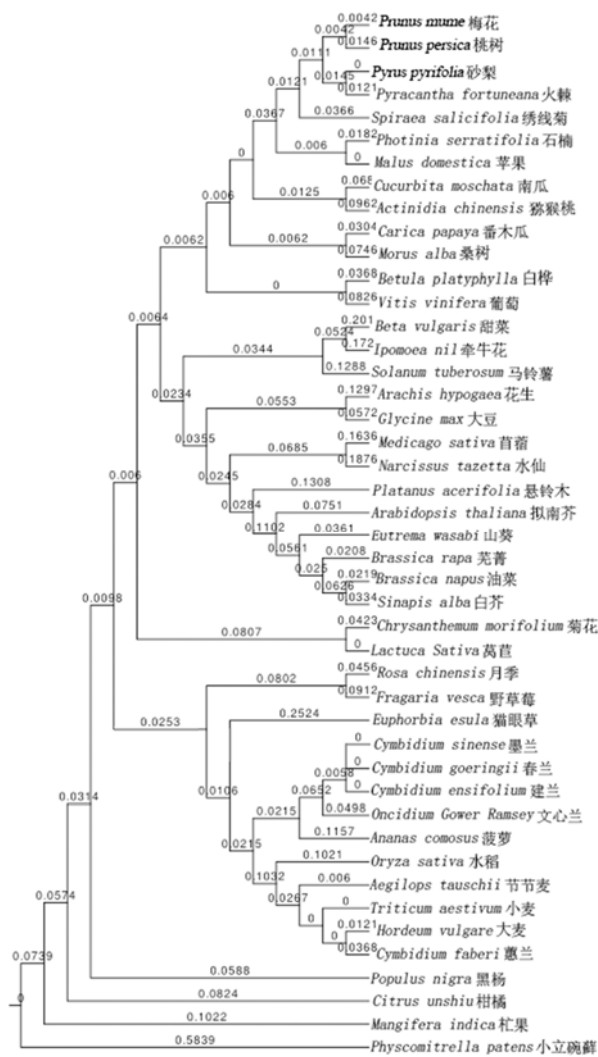


图 3 不同植物 FT 的氨基酸序列进化树分析
Figure 3 Phylogenetic analysis of the FT amino acid sequences from different plant species

将墨兰 *CsFT* 基因编码的氨基酸序列与 GenBank 中已登录的其他 44 种植物 FT 氨基酸序列进行聚类分析并绘制系统进化树 (图 3), 系统发育分析表明 *FT* 基因在进化上比较保守。结果如图 3 所示, 所有基因明显的聚为两大类, 即单子叶植物 *FT* 基因与双子叶植物 *FT* 基因。墨兰、春兰和建兰的 *FT* 基因与同属于兰科的文心兰 *OnFT* 的亲缘关系最为密切, 其次为菠萝, 同处于分化群单子叶植物分支上。

2.2 墨兰 *CsFT* 基因在不同器官中的表达特征

利用 Real-Time PCR 分析 *CsFT* 基因在墨兰花发育不同阶段不同器官的表达模式。结果表明: 在营养生长阶段 (图 4), *CsFT* 基因在墨兰各器官中均有表达, 在腋芽的表达量最高, 在叶和假鳞茎的表达量较低。在花苞发育阶段 (图 5), *CsFT* 基因在花苞的表达量最高, 其次为花轴和腋芽, 在叶中

的表达量最低。在开花阶段 (图 6), *CsFT* 在花轴的表达量最高, 在腋芽、假鳞茎、根等器官表达水平较高, 而在花萼、花瓣、舌瓣、合蕊柱等生殖器官及营养器官叶中几乎均不表达。

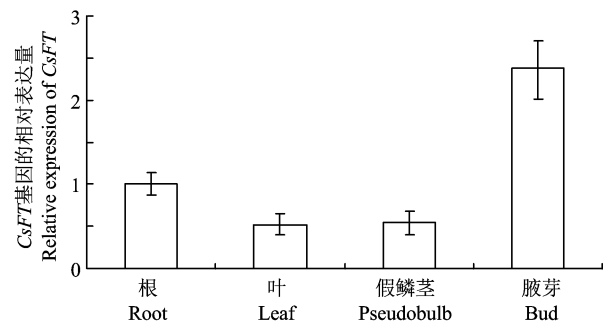


图 4 *CsFT* 基因在墨兰营养生长阶段各器官的表达量
Figure 4 Expression analysis of *CsFT* from different organs at vegetative stage

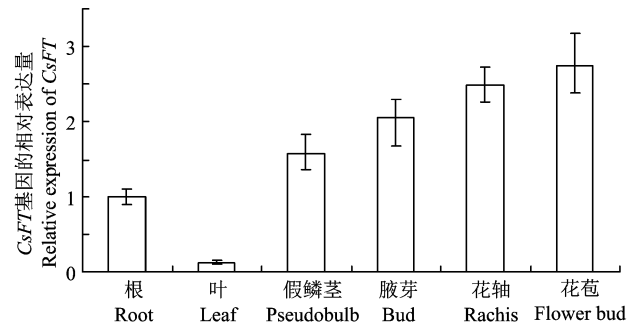


图 5 *CsFT* 基因在墨兰花苞阶段各器官的表达量
Figure 5 Expression analysis of *CsFT* from different organs at bud stage

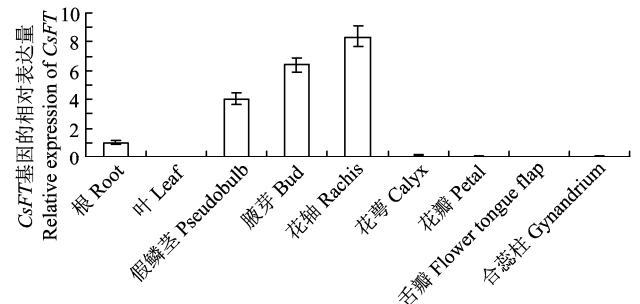
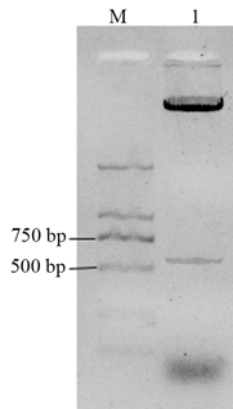


图 6 *CsFT* 在墨兰开花阶段各器官的表达量
Figure 6 Expression analysis of *CsFT* from different organs at flowering stage

2.3 墨兰 *CsFT* 基因超表达载体构建与转化拟南芥

用限制性内切酶 *Xba* I 和 *Bam* H I 将目的基因质粒 DNA 和 pBI121 载体质粒分别进行双酶切, 回收后将含有 *CsFT* 编码区的全长 cDNA 与表达载体连接, 形成 35S::*CsFT*。重组质粒转化大肠杆菌后, 菌落 PCR 检测得到阳性克隆后, 提取质粒, 用 *Xba* I 和 *Bam* H I 双酶切检测, 得到的片段大小与预

测的一样, *CsFT* 超表达载体已构建成功。形成 35S::*CsFT* (图 7)。



M. DL2000; 1. pBI121-*CsFT* 质粒利用 *Xba* I 和 *Bam* H I 双酶切

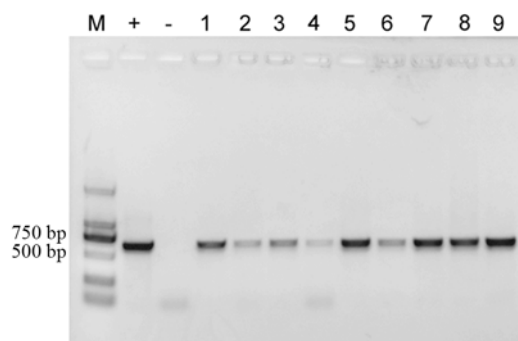
M. DNA Marker DL2000; 1. pBI121-*CsFT* digested with *Xba* I and *Bam* H I

图 7 pBI121-*CsFT* 质粒 DNA 酶切鉴定

Figure 7 The digested reaction of pBI121-*CsFT* plasmid DNA

2.4 转基因植株的筛选

收集转基因植株的 T_0 代种子, 培养基上筛选 5~7 d 后观察到非转化植株子叶开始变黄, 约 10 d 后, 转化植株开始长出真叶和主根, 叶片呈现绿色, 生长健壮, 初步鉴定为转基因植株, 而非转化植株逐渐黄化死亡 (图 9-A)。成功筛选到 53 株 Kan 抗性植株。



M. DNA 参照 DL2000; +. 阳性对照; -. 阴性对照; 1~9. 转化植株

M. DNA Marker DL2000; +. Positive control; -. Negative control; 1-9. Transgenic plants

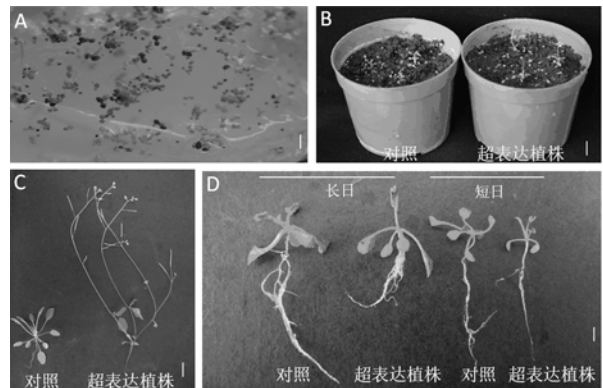
图 8 转基因植株 PCR 鉴定的部分结果

Figure 8 Partial results of PCR analysis for transgenic plants

单株收集转基因植株 T_1 代种子, 继续用固体培养基进行筛选。选取早花的 15 个株系, 观察抗性植株与非抗性植株的分离比, 在 15 株 T_1 代种子中, 符合经典遗传学中孟德尔的等位基因的分离规律的 T_1 代转基因株系有 11 个株系, 移栽至盆中。提取

T_1 代转基因植株叶片 DNA 作为模板, PCR 扩增产物长度为 600 bp (图 8)。结果显示在被鉴定的 11 个株系中有 9 个株系为阳性株系, 阳性率为 81.8%。

单株收集转基因植株 T_2 代种子, 继续用含 Kan 抗生素的 1/2 MS 固体培养基进行筛选, 每株约播种 30 粒种子。约 10 d 后, 观察每株 T_2 代种子的萌发和小苗生长情况, 若种子萌发后植株均有 Kan 抗性, 能正常生长, 则该植株为纯合体, 其 Kan 抗性可稳定遗传; 如果种子萌发后植株均的 Kan 抗性发生分离, 则该植株为杂合体, 其 Kan 抗性不能稳定遗传。



A. T_0 代转基因拟南芥在 Kan 抗生素的 1/2 MS 的筛选; B. T_2 代植株在正常种植条件 (14 h L/10 h D) 15 d 表型; C. T_2 代植株在正常种植条件 (14 h L/10 h D) 30 d 表型; D. T_2 代株系在长日照处理 (16 h L/8 h D) 和短日照处理 (8 h L/16 h D) 培养 15 d 的表型。标尺为 5 mm

A. Screen of transgenic *Arabidopsis thaliana* T_0 lines on 1/2 MS containing Kan; B. Phenotype of 15-day-old 35S-*CsFT* T_2 plants under normal condition (14 h L/10 h D); C. Phenotype of 30-day-old 35S-*CsFT* T_2 plants under normal condition (14 h L/10 h D); D. Phenotype of 15-day-old 35S-*CsFT* T_2 plants under LD condition (16 h L/8 h D) and SD condition (8 h L/16 h D). Bar = 5 mm

图 9 异源超表达墨兰 *FT* 基因的拟南芥表型分析

Figure 9 Phenotypic analysis of transgenic *Arabidopsis thaliana* plants that ectopically expressed 35S-*CsFT*

2.5 转基因植株的表型分析

对筛选得到的 T_2 代转基因植株进行表型观察, 结果发现与野生型相比, 9 个转基因株系均提前开花。在 14 h L/10 h D 的正常种植条件下, 转基因拟南芥平均在播种后 15 d 抽薹, 22 d 开花, 而野生型在播种后 23 d 抽薹, 31 d 开花 (图 9B, 图 9C)。转基因植株在长日照处理 (16 h L/8 h D) 和短日照处理 (8 h L/16 h D) 条件下均比对照能够促进开花 (图 9-D)。

3 讨论

本试验采用同源基因克隆的方法在墨兰叶片中

克隆得到了成花途径关键基因 *FT*, 与已知同源基因编码的氨基酸序列比对, 发现所克隆到的国兰 *FT* 基因在 LYN/IYN 三联体位点为 LYN, 与文心兰的 *OnFT* 基因以及水稻的 *FT* 同源基因 *Hd3a* 相同, 而在拟南芥的 *FT* 为 IYN。这些保守性位点的氨基酸不同与长期进化过程中选择压力造成的功能分化尚不清楚。另外从这些位点的保守性来看, 同为单子叶植物的国兰与水稻的序列相似性较之双子叶植物拟南芥更高。这些保守序列可能与配体结合位点的形成有关^[17]。

拟南芥^[18]、水稻^[19]、杨树^[20]、玉米^[21]、葡萄^[10]和文心兰^[22]等多种植物的 *FT* 同源基因结构非常保守, 大多数都具有 4 个外显子和 3 个内含子的基因结构。4 个外显子的长度也比较保守, 其中最保守的是第 2 个和第 3 个外显子。但是也有例外, 小麦的 *TaFT* 及大麦的 *HvFT1* 基因为 3 个外显子和 2 个内含子, 缺少第 3 个内含子^[9], 而大麦其他基因 *HvFT2*, *HvFT3*, *HvFT4*, *HvFT5* 却是 4 个外显子和 3 个内含子^[23]。小麦与大麦为冬性植物, 需要经历一定时间的低温才能形成花芽。Faure 等由此认为内含子的缺失可能是冬性植物的普遍特征^[23]。但本试验克隆得到的墨兰 *FT* 基因与同属的春兰、建兰^[25]均为 2 个外显子和 1 个内含子的基因结构。相比其他植物, 第 1 个内含子位点一致, 但缺少第 2 个和第 3 个内含子。目前尚未有证据证明墨兰、春兰、建兰为冬性植物, 并且从建兰花期特点 (6—10 月开花) 来看, 其成花可能不需低温春化, 因此认为内含子的缺失并不能作为冬性植物的共有特征。

内含子是真核生物基因组中重要的组成元件。一般认为内含子的进化是基因进化的重要部分, 是与物种形成相适应的过程^[25], 内含子丢失可能是进化的主导。墨兰 *FT* 基因缺少其他植物中的第 2 和第 3 个内含子, 推测可能是由于在进化过程中内含子的丢失导致的。兰科植物是高等植物中最为进化的一类, *FT* 基因的内含子结构也许可以作为分子水平上的证据。而同属于兰科植物, 兰属植物墨兰、春兰、建兰的 *FT* 基因内含子也与文心兰属有区别^[22], 也许可以为兰属植物的划分提供分子依据, 但需进一步研究和分析才能下结论。

本研究利用 Real-Time PCR 分析了 *CsFT* 基因在墨兰花发育不同阶段不同器官中的表达模式, 结果表明: 营养生长阶段, *CsFT* 基因在腋芽中的表达量最高, 而花苞阶段则在花蕾中的表达量最高, 说明 *CsFT* 基因主要与顶端分生组织分化状态的维持以及花器官的分化有关, 这与已报道的其他植物中

的 *PEBP* 基因功能类似^[26]。开花阶段, *CsFT* 基因在花轴中的表达量最高, 而同时期叶片和花器官如花瓣、花萼及合蕊柱等部位基本无 *CsFT* 基因表达, 这与葡萄^[10]及菊花^[27]等其他植物中 *FT* 同源基因的表达结果一致。

Hou 等在文心兰中的研究表明, *OnFT* 在腋芽、幼嫩的花蕾器官中表达量最高, 在茎的表达量次之, 根中最低^[22], 本实验结果也与其一致。另外, 文心兰 *OnFT* 在营养生长阶段前期叶片中表达量低, 而在营养生长阶段向生殖生长阶段转变的时期中表达量增高。本实验结果显示, 墨兰 *CsFT* 在营养生长阶段叶片中表达量较低, 原因可能是取材时植株处于营养生长阶段前期, 此时尚未启动成花转变。孙崇波等在蕙兰中的研究表明 *CjFT* 在花芽分化初期的花芽中表达量最高, 之后随着花芽的成熟表达量逐渐降低, 开花阶段在花瓣、花萼、合蕊柱等部位表达量几乎不表达^[28]。本研究与其结果一致, 但更系统研究了 *CsFT* 基因在不同器官中的表达模式。

本研究构建了墨兰 *CsFT* 基因的超表达载体, 利用农杆菌介导法将墨兰 *CsFT* 基因导入拟南芥中, 通过 PCR 扩增获得了多个株系的阳性植株, 说明外源基因已经整合到转化植株的基因组中。通过对 T₂ 代转基因植株的表型观察, 均出现早花表型, 与拟南芥的 *FT* 基因具有类似的促进开花的作用^[18]。拟南芥为兼性长日照花卉, 本研究将 T₂ 代转基因拟南芥置于长日照和短日照条件下培养, 结果发现 *FT* 基因均能明显促进其开花。从水稻^[29]、杨树^[7]、葡萄^[10]、矮牵牛^[30]和番茄^[8]等报道来看, 在拟南芥中超表达 *FT* 同源基因均能显著促进开花, 反之, 在拟南芥和水稻中, 采用 RNAi 或 miRNA 手段使 *FT* 基因的表达下调后, 植株的开花时间延迟^[12]。这些结果表明 *FT* 同源基因是植物开花所必需的, 不论植物的光周期类型如何, 也不论物种的类型如何, *FT* 基因的功能在开花植物中较保守。本研究对墨兰 *CsFT* 进行功能分析, 结果与其他植物中同源基因的功能类似, 能够促进植物提前开花。

参考文献:

- [1] 刘仲健, 陈心启, 茹正忠. 中国兰属植物[M]. 北京: 科学出版社, 2006.
- [2] 潘瑞焱, 叶庆生. 国兰生理[M]. 北京: 科学出版社, 2006.
- [3] 陈栋, 操君喜, 朱根发. 国兰产业化现状与发展思路[J]. 中国花卉园艺, 2009(13): 8-10.
- [4] CORBESIER L, VINCENT C, JANG S, et al. *FT* protein movement contributes to long-distance signaling in floral

- induction of *Arabidopsis*[J]. Science, 2007, 316(5827): 1030-1033.
- [5] TAMAKI S, MATSUO S, WONG H L, et al. *Hd3a* protein is a mobile flowering signal in rice[J]. Science, 2007, 316(5827): 1033-1036.
- [6] LIN M K, BELANGER H, LEE Y J, et al. FLOWERING LOCUS T protein may act as the long-distance florigenic signal in the cucurbits[J]. Plant Cell, 2007, 19(5): 1488-1506.
- [7] ABE M, KOBAYASHI Y, YAMAMOTO S, et al. FD, a bZIP protein mediating signals from the floral pathway integrator *FT* at the shoot apex[J]. Science, 2005, 309(5737): 1052-1056.
- [8] HSU C Y, LIU Y, LUTHE D S, et al. Poplar *FT2* shortens the juvenile phase and promotes seasonal flowering[J]. Plant Cell, 2006, 18(8): 1846-1861.
- [9] LIFSCHITZ E, ESHED Y. Universal florigenic signals triggered by *FT* homologues regulate growth and flowering cycles in perennial day-neutral tomato[J]. J Exp Bot, 2006, 57(13): 3405-3414.
- [10] YAN L, FU D, LI C, et al. The wheat and barley vernalization gene *VRN3* is an orthologue of *FT* [J]. P Natl Acad Sci USA, 2006, 103(51): 19581-19586.
- [11] CARMONA M J, CALONJE M, MARTÍNEZ-ZAPATER J M. The *FT/TFL1* gene family in grapevine[J]. Plant Mol Biol, 2007, 63(5): 637-650.
- [12] KOMIYA R, IKEGAMI A, TAMAKI S, et al. *Hd3a* and *RFT1* are essential for flowering in rice[J]. Development, 2008, 135(4): 767-774.
- [13] NAVARRO C, ABELANDA J A, CRUZ-ORÓ E, et al. Control of flowering and storage organ formation in potato by *FLOWERING LOCUS T*[J]. Nature, 2011, 478(7367): 119-122.
- [14] MENG X, MUSZYNSKI M G, DANILEVSKAYA O N. The *FT*-like *ZCN8* gene functions as a floral activator and is involved in photoperiod sensitivity in maize[J]. Plant Cell, 2011, 23(3): 942-960.
- [15] ZHAO C, TAKESHIMA R, ZHU J, et al. A recessive allele for delayed flowering at the soybean maturity locus *E9* is a leaky allele of *FT2a*, a *FLOWERING LOCUS T* ortholog[J]. BMC Plant Biology, 2016, 16(1): 1-15.
- [16] 刘丽敏, 陈福祿, 张晓玫, 等. 成花素基因 *FT* 及其调控机制研究进展[J]. 分子植物育种, 2016, 14(7): 1705-1717.
- [17] BANFIELD M J, BRADY R L. The Structure of *Antirrhinum* Centroradialis protein (CEN) suggests a role as a kinase regulator[J]. J MOL BIOL, 2000, 297(5): 1159-1170.
- [18] KOBAYASHI Y, KAYA H, GOTO K, et al. A pair of related genes with antagonistic roles in mediating flowering signals[J]. Science, 1999, 286(5446): 1960-1962.
- [19] CHARDON F, DAMERVAL C. Phylogenomic analysis of the *PEBP* gene family in cereals[J]. J Mol Evo, 2005, 61(5): 579-590.
- [20] IGASAKI T, WATANABE Y, NISHIGUCHI M, et al. The *FLOWERING LOCUS T*/TERMINAL FLOWER 1 family in Lombardy poplar[J]. Plant Cell Physiol, 2008, 49(3): 291-300.
- [21] DANILEVSKAYA O N, MENG X, HOU Z, et al. A genomic and expression compendium of the expanded *PEBP* gene family from maize[J]. Plant Physiol, 2008, 146(1): 250-264.
- [22] HOU C J, YANG C H. Functional analysis of *FT* and *TFL1* orthologs from orchid (*Oncidium* Gower Ramsey) that regulate the vegetative reproductive transition[J]. Plant Cell Physiol, 2009, 50(8): 1544-1557.
- [23] FAURE S, HIGGINS J, TURNER A, et al. The *FLOWERING LOCUS T* like gene family in barley (*Hordeum vulgare*)[J]. Genetics, 2007, 176(1): 599-609.
- [24] HUANG W T, FANG Z M, ZENG S J, et al. Molecular cloning and functional analysis of three *FLOWERING LOCUS T* (*FT*) homologous genes from Chinese *cymbidium*[J]. Inte J Mol Sci, 2012, 13(9):11385-11398.
- [25] 靳霞, 吕占军. 内含子的进化及基因表达调节[J]. 生命的化学, 2008, 28(1):33-35.
- [26] 胡瑞波. 大豆 *FT/TFL1* 基因克隆、表达模式及功能分析[D]. 北京: 中国农业科学院, 2009.
- [27] 潘才博, 张启翔, 潘会堂, 等. 菊花 *FT* 类似基因的克隆与表达分析[J]. 园艺学报, 2010, 37(5): 769-776.
- [28] 孙崇波, 向林, 李小白, 等. 蕙兰 *Flowering locus T* 基因的克隆及其对开花的影响[J]. 中国农业科学, 2013, 46(7): 1419-1425.
- [29] KOJIMA S, TAKAHASHI Y, KOBAYASHI Y, et al. *Hd3a*, a rice ortholog of the *Arabidopsis FT* gene, promotes transition to flowering downstream of *Hdl* under short-day conditions[J]. Plant Cell Physiol, 2002, 43(10): 1096-1105.
- [30] HAYAMA R, AGASHE B, LULEY E, et al. A circadian rhythm set by dusk determines the expression of *FT* homologs and the short-day photoperiodic flowering response in *Pharbitis*[J]. Plant Cell, 2007, 19(10): 2988-3000.