

高等植物花发育的研究进展

冯献忠 杨素欣* 郭蔼光

(西北农业大学生物化学研究室, 陕西杨凌 712100)

摘 要 以金鱼草和拟南芥为例, 介绍近年高等植物花发育的研究进展。TFL 和 CEN 基因具有维持花序分生组织特性的功能; DCLV1 基因在营养型分生组织向生殖型分生组织转化中起调节作用; LEX AP1 CAL 和 FLO 控制花分生组织形态特征; AP1/SQUA AP2 作用于 A 功能区, 控制萼片和花瓣的发育; AP3/DEF PI/GLO 执行 B 功能控制花瓣和雄蕊的发育; AG/PLE 对应于 C 功能区控制雄蕊和心皮的发育; A B C 三个功能区共同作用控制整个花器官的结构。

关键词 花发育, 基因, 金鱼草, 拟南芥

中图分类号 Q945.45, Q78

世界上已知的植物有近 30 万种, 其中 90% 以上是开花植物。千百年来, 人们对花的形态、分类、遗传、生理等进行了大量的研究, 积累了丰富的知识。但是, 由于实验手段的限制, 花发育的研究一直局限在非常有限的领域中, 对于其中所包含的复杂内在机制仍不清楚。近几年来, 随着分子生物学和分子遗传学的发展, 为人们从分子水平上来认识花发育的本质提供了可能, 目前这一领域已成为植物发育分子生物学研究的热点和领先学科。继 1990 年在拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 和金鱼草 (*Antirrhium majus*) 中第一次分离到控制花发育的同源异型基因 (homeotic gene) 以来, 现在已获得了不少控制花发育的突变体, 克隆到了许多与花发育有关的基因, 并初步构建了花器官发育过程的遗传模型。本文以拟南芥和金鱼草为例, 对近几年这方面的进展作以介绍。

1 花序分生组织中特异表达基因

花序分生组织的决定 (determination) 和花原基的决定是两个独立的事件, 营养型分生组织转化为花序分生组织后, 分生组织的性质和形态都发生了变化, 不能再回复到原来的营养型分生组织。在许多品种中, 花序分生组织能迅速地转化为花分生组织, 野生型拟南芥花序分生组织可以产生多个花分生组织, 但其发育很难与后面的发育过程分开, 因此对此阶段的研究进展不大。现在认为至少有两种基因与花序发育有关, 一个是拟南芥中的 TERMINAL FLOWER (TFL) 基因, 在其隐性纯合突变体 *tfl-1* 中, 所有的腋生花序都发育成为顶花, 顶端和晚期的花序原基都发育为花分生组织, 开花提早^[1]。TFL1 在早期少量表达延迟营养型分生组织向生殖型分生组织转变, 在后期大量表达维持花序分生组织特性^[2]。在金鱼草发现了与之相似的突变体 *centroradialis (cen)*, CEN 基因具有 TFL1

收稿日期 1997-08-27

作者简介 冯献忠, 男, 1968 年生, 硕士, 助理研究员

* 杨素欣现在陕西师范大学生物系工作, 西安 710062

相似的功能,所编码蛋白质与细胞间信号传导有关蛋白质非常类似^[3]。

另一个基因是拟南芥菜的 *CLAVATA1*(*CLV1*),其突变导致分生组织扩大,打乱莲座叶和花序的叶序模式,改变了花器官的数目。现已证实 *CLV1* 基因与营养型分生组织向生殖型分生组织发育过程中的调节有关^[4,5]。在 *tlf-1 clv1* 双突变体中产生了与 *tlf-1* 相似的顶生花结构,但由于 *CLV1* 的缺失,双突变体中次生花序和侧花数分别是 *tlf-1* 的四倍和五倍,可见 *CLV1* 在调节分生组织的性质中有重要功能。而且, *tlf-1* 和 *tlf-1 clv1* 双突变体中通常都是顶生的单花,这又为 *TFL* 在控制花序分生组织的形态特征中的作用提供了一个证据。

另外还有研究表明,拟南芥菜的 *CDC2* 基因与花序分生组织向花分生组织的转变有关, *CDC2* RNA 分布在苗端分生组织和花序分生组织的 *L₁*、*L₂* 和 *L₃* 层中,而在早期花分生组织的 *L₁*、*L₂* 和 *L₃* 层中均未见其表达, *Martinez*^[6] 认为 *CDC2* 的这种表达模式是其与花同源异型基因拮抗作用的结果。

2 花分生组织特异表达基因

通过突变体的分离和鉴定,花分生组织特异性基因的研究取得了较大的进展,在拟南芥菜和金鱼草中至少有下列几种基因在花分生组织发育中起重要作用。

拟南芥菜的 *LEAFY*(*LFY*)基因突变体中,早生花发育为花序芽(inflorescence shoots)的结构,真正成花的晚生花仍具有部分花序性质,通常由外轮的萼片和内轮的萼片及心皮状器官(sepaloid and carpelloid organs)组成^[7,8],可见 *LFY* 不仅控制着花分生组织的形态特征,而且与花瓣和雄蕊的形成有关。金鱼草的 *floricaula*(*flo*)突变体与 *lfy* 相似,顶端花被花序完全替代,但常也出现心皮状器官^[9]。*LFY* 基因是以 *FLO* 为探针从拟南芥菜中分离到的,两者产物显示有 70% 的同源性,氨基末端有富含脯氨酸区,中间有一个酸性区,符合转录因子的特征。它们为启动花分生组织形成所必需,当其缺失时原基发育又会回到花序分生组织生长。原位杂交中发现, *LFY* 和 *FLO* RNA 存在于非常幼嫩的花分生组织中,短时间存在于花器官分生组织中,两者的区别是 *LFY* RNA 存在于雄蕊原基中,而 *FLO* 则不。研究还表明,花序原基中不存在 *LFY* RNA,在花原基形成早期整个花分生组织中都发现了 *LFY* 高水平的表达,但在花器官原基形成后其表达大部分消失^[10-12]。

控制花分生组织形态特异性的另一对基因是金鱼草 *SQUAMOSA*(*SQUA*)和拟南芥菜中的 *APETALA1*(*API*)。在 *squa* 突变体中没有非限制性生长向限制性生长的转变,由花序状顶端代替了正常花的位置,原位杂交显示, *SQUA* 在花原基形成可见器官之前就已开始表达,并持续到花器官形成后,除在第三轮外的各轮中都表达^[13],这说明 *SQUA* 不仅在早期发育中需要,而且在花器官形态特征构建中同样有作用。*apl* 突变体中,第 1 轮萼片为叶状器官所取代,第 2 轮的花瓣缺失,第 3、4 轮发育为正常的雄蕊和心皮,在第 1 轮器官的腋部常有次级花(secondary flower),其原因可能是花序分生组织未转变成为花分生组织。可见 *API* 在花分生组织的形成及轮 1 和轮 2 器官正常发育中起作用^[14,15]。在花序分生组织中未检测到 *API* RNA,其最早出现在花原基从花序分生组织侧端出现的时刻,并在整个花原基中表达,花器官原基形成后在内两轮中的表达降低,后期只在外

两轮中表达,此表达模式是与其控制花分生组织特异性和花器官形态特征的功能相一致的,后一功能将在下文详细说明。研究还表明 SQUA 和 AP1 的产物同属 MADS 盒类的转录因子,二者全长有 68% 的同源性^[16]。

拟南芥菜中有一种称为 CAULLFLOWER(CAL)的基因能加剧 apl 的变异程度,纯合的 cal 突变体与野生型表型一致,在 cal apl 双突变体中,花原基变为花序原基,在本该产生花的位置上产生了大量花序,这说明 CAL 的功能必须通过 APL 来实现。此基因同 AP1 也是编码 MADS 盒类的转录因子,与 AP1 的同源性可达 76%,在 MADS 盒区只有 5 个氨基酸的差异,这表明两种蛋白可能识别同样的 DNA 序列,调节同样的靶基因,在遗传功能上有重叠之处^[17]。

3 花器官发育的遗传模型

为了解释花分生组织如何形成花器官,前人曾提出过许多控制花器官形态特征的模型,这些模型有的假定花器官的发育是按一定时间顺序决定的,有的模型则认为控制器官的形态特征的决定因素是空间位置。它们在一定程度上解释了不少遗传现象,但由于前者在内外轮关系认识上的缺陷和后者对控制基因没有时间限制的缺陷,因此很快为另一种简单模型——ABC 模型^[18-21]所替代,要点如下:

① 花器官形态特征分别受 A B C 三个功能区的控制。野生型中每个功能区作用于相邻的两个轮,A 作用于轮 1(萼片)轮 2(花瓣),B 作用于轮 2(花瓣)轮 3(雄蕊),C 作用于轮 3(雄蕊)和轮 4(心皮)。只有 A 活性时产生萼片,AB 共同作用形成花瓣,BC 共同作用成为雄蕊,只有 C 活性时产生心皮。

② A C 活性相互拮抗,A 抑制 C 在轮 1 和轮 2 中的表达,C 抑制 A 在轮 3 和轮 4 中的表达。

③ A B C 的活性与它们在花中的位置无关,如在 bc 双突变体中,A 活性存在于所有轮中,使四轮都变为萼片。

4 花器官形态特征控制基因

目前的研究表明,植物花器官形态特征 (flower organ identity) 是由若干同源异型基因所控制的,现在从拟南芥菜和金鱼草中分别找到了 4 对同源异型基因 APETALA1 (AP1) /SQUAMOSA (SQUA), APETALA3 (AP3) /DEFICIENS (DEF), PISTILLATA (PI) /GLOBOSA (GLO), AGAOUS (AG) /PLENA (PLE), 认为它们与花器官形成特征的控制有关。在拟南芥菜中还发现了 APETALA2 (AP2) 也参与了这一过程,金鱼草中尚未找到其对应物,其中 AP1 AP2 被认为执行上述 A 功能, AP3/DEF, PI/GLO 执行 B 功能, AG/PLE 执行 C 功能。

具 A 功能的 AP2 基因是通过 T-DNA 标签获得的^[22]。AP2 同其他的器官特异性基因不同,不编码 MADS 盒区,但其中有 68 个氨基酸的 AP2 区,可能起与 MADS 盒相似的作用。AP2 RNA 在四个轮中都表达,茎和叶中也有 AP2 RNA 的积累,但尚未观察到由之所引起的营养生长型的变化。在 ap2 强突变体中轮 1 轮 2 中的萼片和花瓣分别被心皮和雄蕊所代替,AG 的表达区可以扩展到所有四轮细胞中,证明 AP2 是 AG 异位表达。

的负调控因子。

APETALA1 (AP1) 在控制花器官形态特征方面的功能最早并未被人们所重视, 因此在早期的器官形态构建模型 (包括早期 ABC 模型) 中未将其列入控制器官形态特征基因之列。现在研究表明, AP1 是 A 活性的主要组分之一, 控制萼片和花瓣的形成, 作用于 AP2 下游。在花发育早期 AP1 起调节花原基特异性的作用, 此时在整个花原基中表达, 在花发育晚期只限于在轮 1 和轮 2 中表达, 这时被认为是花器官特异性基因。在转基因植物中 AP1 可在两个时期中的任何一个阶段表达, 说明这两种功能是可以暂时分开的^[23]。

B 功能的 AP3 和 PI 定位于不同染色体上, 但突变体的形态两者非常相似, 都是轮 2 和轮 3 发生改变; 强突变体中, 轮 2 花瓣改变为萼片, 轮 3 雄蕊变为心皮。在 pi 突变体中, 经常发生轮 3 的缺失。AP3 属含 MADS 盒区的转录因子, 其表达始于萼片原基形成时, 表达位置在要生成花瓣和雄蕊的细胞中, 其表达模式与模型中的作用区域一致^[24, 25]。PI 是以金鱼草 GLO 为探针克隆到的, PI 也含 MADS 盒区, 在轮 2 和轮 3 中优先表达, 但 PI 的表达区延伸到轮 4 中, 这与遗传分析中其决定轮 2 轮 3 器官, 影响雌蕊发育, 但不改变其形态的功能是一致的^[26]。

金鱼草中 B 功能基因 DEF 和 GLO 已经有了较深入的研究, 它们都属于 MADS 盒类的转录因子, GLO 是以跨越 MADS 盒的 DEF 为探针分离的。在 MADS 盒区二者的同源性不是很高, 但在 MADS 盒区下游的 K 盒区有较高的同源性。DEF 和 GLO cDNA 体外转录表明, 其所编码的蛋白质与 DNA 的结合是异源二聚体 (heterodimer) 而非同源二聚体 (homodimer)。原位杂交实验表明 DEF GLO 与 AP3 有相同的表达模型^[27, 28]。def 和 glo 与 ap3 和 pi 有相似的表型: 轮 2 中的花瓣变为萼片, 轮 3 中的雄蕊变心皮。

AG 是第一个从拟南芥菜中克隆到的同源异型基因, 顺序分析表明, AG 编码有特异 MADS 盒的转录因子, 其突变体中, 轮 1 和轮 2 器官都表现正常, 轮 3 中的雄蕊被花瓣代替, 轮 4 则分化成一朵新花, 花的总结构表现为外部一轮萼片, 内部两轮花瓣的多次连续。AG RNA 最早出现于萼片原基刚形成时, 主要在将要分化生成轮 3 轮 4 器官的花原基中央区表达; 花器官原基形成后仅在雄蕊和心皮原基中表达, 在花发育后期只在雄蕊和心皮特定细胞层中表达^[29, 30]。

用 AG 作探针在金鱼草中发现了与它功能相对应的 PLENA (PLE) 基因, 二者产物有 64% 同源性, 其 RNA 的表达模式与 AG 相同, 在金鱼草利用转座插入失活 A 功能的突变体中, PLE RNA 在轮 1 和轮 2 中异位表达, 说明 A 功能基因有抑制 PLE 在轮 1 轮 2 中表达的作用^[31]。

花发育基因间的关系是研究花发育机理中非常重要的问题, 在上述基因间还存在许多中间性调节基因, 由于篇幅所限, 将于另文综述。

尽管近几年来花发育分子机制方面的知识迅速增加, 使我们能够从分子水平上来认识花的形成过程, 特别是金鱼草和拟南芥菜许多进化上保守控制花发育的基本机制, 为我们展示了一个早日揭开花发育奥秘的诱人前景, 但是二者仍存在着许多重要区别, 同时对于花早期发育基因的认识还非常缺乏, 控制花发育的基因网络层次尚未完全建立, 因此该领域的工作方兴未艾, 要最终揭示花发育的本质还有很长的路。

参 考 文 献

- 1 Shannon S, Meeks-Wagner D R. A mutation in *Arabidopsis* TFL1 gene affects inflorescence meristem development. *Plant Cell*, 1991, 3: 877~ 892
- 2 Bradley D, Ratcliffe O, Vincent C, et al. Inflorescence commitment and architecture in *Arabidopsis*. *Science*, 1997, 275: 80~ 83
- 3 Bradley D, Carpenter R, Copsey L, et al. Control of inflorescence architecture in *Arabidopsis*. *Nature*, 1996, 379: 791~ 797
- 4 Leyser H M O, Fumey I J. Characterization of three shoot apical meristem mutants of *Arabidopsis thaliana*. *Development*, 1992, 116: 397~ 403
- 5 Clark S E, Running M P, Meyerowitz E M. CLAVATA1 a regulator of meristem and flower development in *Arabidopsis*. *Development*, 1993, 119: 397~ 418
- 6 Martinez M C, Jorgensen J E, Lawton M A, et al. Spatial pattern of expression in relation to meristem activity and cell proliferation during plant development. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, 89: 7360~ 7364
- 7 Huala E, Sussex I M. LEAFY interacts with floral homeotic genes to regulate *Arabidopsis* floral development. *Plant Cell*, 1992, 4: 901~ 911
- 8 Schultz E A, Haughn G M. LEAFY: a homeotic gene that regulates inflorescence development in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 1991, 3: 771~ 781
- 9 Weigel D, Alvarez J, Smyth D R, et al. LEAFY controls floral meristem identity in *Arabidopsis*. *Cell*, 1992, 69: 843~ 859
- 10 Coen E S, Romero J M, Doyle S, et al. FLORICAULA homeotic gene required for flower development in *Antirrhinum majus*. *Cell*, 1990, 63: 1311~ 1322
- 11 Carpenter R, Coen E S. Transposon induced chimeras show that *floricaula*, a meristem identity gene, acts non-autonomously between cell layers. *Development*, 1995, 121: 19~ 26
- 12 Weigel D, Meyerowitz E M. Activation of floral homeotic genes in *Arabidopsis*. *Science*, 1993, 261: 1723~ 1726
- 13 Huijser P, Klein T L, Nanning W E, et al. Bracteomania: an inflorescence anomaly, is caused by the loss of function of the MADS-box gene *squamosa* in *Antirrhinum majus*. *EMBO J*, 1992, 11: 1239~ 1249
- 14 Irish V F, Sussex I M. Function of the *apetala-1* gene during *Arabidopsis* floral development. *Plant Cell*, 1990, 2: 742~ 773
- 15 Mandel M A, Gustafson-Brown C, Savidge B, et al. Molecular characterization of *Arabidopsis* floral homeotic gene APETALA1. *Nature*, 1992, 360: 273~ 277
- 16 Coen E S. Flower development. *Cell Biology*, 1992, 4: 929~ 933
- 17 Bowman J L. Making cauliflower out of *Arabidopsis*: the specification of floral meristem identity. *Flower Newslett.* 1992, 14: 7~ 9
- 18 Coen E S, Meyerowitz E M. The war of the whorls: genetic interactions controlling flower development. *Nature*, 1991, 353: 31~ 37
- 19 Bowman J L, Smyth D R, Meyerowitz E M. Genetic interactions among floral homeotic genes of *Arabidopsis*. *Development*, 1991, 112: 1~ 20
- 20 Meyerowitz E M, Bowman J L, Brockman L L, et al. A genetic and molecular model for flower development in *Arabidopsis thaliana*. *Development (suppl.)*, 1991, 113: 157~ 167
- 21 Weigel D, Meyerowitz E M. The ABCs of floral homeotic genes. *Cell*, 1994, 78: 203~ 209
- 22 Tofuku K D, Den Boer B G W, Van Montagu M, et al. Control of *Arabidopsis* flower and seed development by homeotic gene APETALA2. *Plant Cell*, 1994, 6: 1121~ 1125

- 23 Gustafson-Brown C, Savidge B, Yanofsky M F. Regulation of the *Arabidopsis* floral homeotic gene APETALA1. *Cell*, 1994, 76 131~ 143
- 24 Bowman J L, Smyth D R, Meyerowitz E M. Genes directing flower development in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 1989, 1 37~ 52
- 25 Jack T, Fox G L, Meyerowitz E M. The homeotic gene APETALA3 of *Arabidopsis thaliana* encodes a MADS box and is expressed in petals and stamens. *Cell*, 1992, 66 683~ 697
- 26 Goto K, Meyerowitz E M. Function and regulation of the *Arabidopsis* floral homeotic gene *pistillata*. *Genes Development*, 1994, 8 1548~ 1556
- 27 Trobner W, Ramirez L, Motte P, et al. GLOBOSA A homeotic gene which interacts with DEFICIENS in the control of *Antirrhinum* floral organogenesis. *EMBO J*. 1992, 11 4693~ 4704
- 28 Ma H. The unfolding drama of flower development: recent results from genetic and molecular analysis. *Genes Dev.*, 1994, 8 745~ 766
- 29 Bowman J L, Drews G N, Meyerowitz E M. Expression of the *Arabidopsis* floral homeotic gene AGAMOUS is restricted to specific cell types late in flower development. *Plant Cell*, 1991, 3 749~ 758
- 30 Yanofsky M F, Ma H, Bowman J L, et al. The protein encoded by the *arabidopsis* homeotic gene *agamous* resembles transcriptional factors. *Nature*, 1990, 346 35~ 39
- 31 Bradley D, Carpenter P, Sommer H, et al. Complementary floral homeotic phenotypes result from opposite orientations of a transposon at the *plena* locus of *Antirrhinum*. *Cell*, 1993, 72 85~ 95

Progress of Flower Development in Higher Plants

Feng Xianzhong Yang Suxin Guo Aiguang

(Laboratory of Biochemistry, Northwestern Agricultural University, Yangling, Shaanxi 712100)

Abstract The article reviews the recent progress of flower development in *Antirrhinum* and *Arabidopsis*. TFL gene and CEN gene have the similar roles in controlling of inflorescence architecture. LFY, FLO, API and CAL are members of a general class of genes needed to confer floral identity. Wild type flower contains three genetic functions in which 1~ 4 in combination A, AB, BC, and C conferring identities sepal, petal, stamen, carpel respectively. Each genetic function comprises different homeotic genes.

Key words flower development, gene, *Antirrhinum*, *Arabidopsis*