

植物春化作用条件及机理研究进展^{*}

刘磊, 刘世琦^{*}

(山东农业大学园艺科学与工程学院, 泰安 271018)

摘要: 植物的春化作用受环境条件诱导的同时,也受到其基因的表达调控。春化过程中存在着多种代谢途径。本文概括了外界环境条件温度和光照等对春化作用的影响,以及春化机理的研究进展,并对春化作用的研究进行了展望。

关键词: 春化作用; 环境条件; 春化机理; 基因

中图分类号: Q945.44

文献标识码: A

文章编号: 1004-1389(2005)02-0178-05

An Overview on Conditions and Mechanism of Plant Vernalization

LIU Lei and LIU Shi-qi^{*}

(College of Horticulture Science and Technology, Shandong Agriculture University, Taian 271018, China)

Abstract Vernalization could be induced by light, temperature and other environment signals, and it also be controlled by related genes. There are different metabolism ways in the course of vernalization. In this article, we summarized the research progress on plant vernalization mechanism and the effects of environment signals on vernalization. The prospects of plant vernalization research are looked in to the future.

Key words Vernalization; Environment signals; Vernalization mechanism; Gene

春化作用在冬性植物成花诱导中具有重要且不可替代的作用^[1],通常认为春化作用决定开花启动。春化作用是需低温春化植物成花诱导的关键,决定植物由营养生长转向生殖生长的过程。春化作用是一个非常复杂的生理过程,是外界环境条件和内部物质条件等共同作用的结果。春化作用本身并不诱导开花,只是为植物开花作准备,其感受部位在茎端生长点。一百多年来,人们对春化的内外因素的研究不断深入,研究春化的环境条件有助于人为控制和调节植物的春化进程,研究春化的内部机理有助于彻底认识春化作用的本质。

1 环境条件对春化的效应

1.1 温度

植物通过茎尖生长点感受低温刺激,从而通过春化。植物开花对低温的反应有两种类型:一类是相对春化型,如冬小麦、白菜和萝卜等,一般是种子春化植物,不经过低温春化,虽营养生长期延长,但最终也能抽薹开花;另一类是绝对春化型,如洋葱、芹菜、胡萝卜和甘蓝等,多是绿体春化植物,不经过低温春化,将一直保持营养生长状态,绝对不能开花。有研究表明,低温感应通过春化与花芽分化的早晚有关^[2]。梁铁兵等^[3]研究认为苗期的低温处理对小麦的成花具有关键性的作用,而且有量性积累的关系。研究报道^[4]也表明,低温对花芽分化的影响并不是简单的线性关系,而且,往往能够找到一个最适的花芽分化诱导温度或者温度范围^[2]。

^{*} 收稿日期: 2004-11-15 修回日期: 2004-12-10

基金项目: 山东省农业良种产业化开发项目 (鲁科农字 [2002]228号)

作者简介: 刘磊 (1979-),男,山东聊城人,在读硕士,从事蔬菜栽培生物学方面的研究。

^{*} 通讯作者: 刘世琦,教授, E-mail: liulucky99@yahoo.com.cn

1.2 低温春化时间

不同植物类型、不同品种所需春化时间不同,从几天到两三个月不等。史庆馨^[5]研究发现低温春化时间对大白菜抽薹开花期的影响达极显著水平,但并不呈规律性变化。张志焱等^[6]研究发现低温春化时间过长,则花芽分化过早,对植株营养生长有一定的抑制作用。

1.3 光照

低温春化时间满足后,光照是影响植物开花的关键因子。光照是植物生长发育中重要的环境因子,不仅提供光合作用所需要的能量,还可提供植物适应周围环境进行生长发育所需要的信息。当光作为环境信号时,它对植物生长发育的影响,主要通过光流量和光质(波长)两个方面来起作用^[52]。

不同光质和光周期对植物春化和开花有着不同的影响。红光可抑制短日植物开花,促进长日植物开花;远红光可抑制长日植物开花,促进短日植物开花。暗期利用红光进行闪光处理,则抑制短日植物开花,诱导长日植物开花。刘春香研究发现长日感应也影响到花芽分化后的抽薹开花阶段。张华锋^[1]研究发现,某些需要低温的植物,在植株发育早期用短日照处理,可以完全代替低温春化。

1.4 温度与光周期的关系

光照是光周期的主导因素,温度也有较显著的作用,并且会影响植物对光照的反应。温度不仅影响光周期通过的时间,而且可以改变植物对光周期的要求。降低温度可以使长日植物在较短的日照下开花^[7]。降低夜温可以使短日植物在较长日照下开花。温度影响光周期反映的本质仍不清楚。还有许多要求低温春化的植物,在经过低温春化后,还要求在长日照条件下才能开花。

1.5 其它环境条件

植物春化过程中,除需要光照和一定时间的低温外,还需要适量的水分,充足的氧气和作为呼吸底物的营养物质等。试验表明,将已萌动的小麦种子失水干燥,当含水量低于40%时,即使用低温处理种子,也不能通过春化。在缺氧条件下,即使满足低温和水分的要求,仍不能通过春化。在春化期间,细胞内某些酶活性提高,氧化还原作用加强,呼吸作用增强,充足的氧气是进行生理生化活动的必要条件。

不仅高温可以解除春化作用,缺氧也有同样效果。通过春化时需要足够的营养物质,将小麦种

子的胚培养在富含蔗糖的培养基中,在低温下可以通过春化;若培养基中缺乏蔗糖,则不能通过春化^[7]。另外,植株本身生长状态对春化也有影响,茎尖感受态与植物本身年龄和生理状态有关,不同物种感受态对营养生长量的要求不同^[8]。

总之,植物春化和成花诱导受到多种环境因子的影响。不同的环境因子之间可能存在协同作用,共同影响春化和成花诱导过程。其中,光周期与低温是最重要的两种环境信号,植物对光周期和低温的反应能力主要受遗传性控制。田淑兰等^[9]认为,不同植物可能存在共同的成花内在控制机制,环境因子很可能是通过调节这一内在机制而影响成花过程的。植物接受外界环境条件刺激的诱导后,经信号转导过程,启动开花决定过程的控制基因,在诸多关键基因的相互作用和多种代谢作用的相互制约下,促进花芽分化。

2 春化机理研究

近百年来对春化作用和开花诱导的研究,主要集中在成花的决定过程,特别是对“开花素”和“春化素”的研究。谭克辉、Chandler等通过代谢抑制剂进行研究,发现春化过程是一个漫长、复合多步骤、分阶段性的复杂过程^[10],有阶段性和顺序性,一般在生长点发生质变。汤佩松、谭克辉提出春化过程可划分为以糖的氧化过程为主、以核酸代谢为主及以蛋白质代谢为主的3个过程。谭克辉^[10]、Michaels and Amasino^[11]和 Shelton等^[12]提出春化是某些重要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遗传控制的生理生化过程。

2.1 物质的变化

大量的生理生化研究表明,春化过程中植物体内各种小分子物质的大幅度增加,如维生素G、可溶性糖和脯氨酸等,这可能是春化过程中由以糖的氧化过程为主转为以核酸代谢和以蛋白质代谢为主的原因。但外源引入这些物质并未促进花芽分化,因而,Bernier和Chouard等研究者不认为低温促进这些物质在幼苗内的积累是导致春化和花芽分化的原因^[8]。

春化作用也会引起植物体内某些酶活性和成分的变化,张恩和、Oaks、凌俊和林振武等^[13]发现硝酸还原酶活性(NR)的升高,徐继Ye和尹均等发现过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)、抗坏血酸过氧化物酶(AsA-POD)和酯酶(EST)等

活性和组分的变化^[14-15]。春化作用也诱导植物体内蛋白质和核酸含量的显著提高^[16]。这可能是春化作用中后期以核酸和蛋白质代谢为主的结果。

2.2 激素的作用

Bernier^[9]研究认为已知的五大类生长激素都与春化作用和成花诱导有着某种联系。许多需低温春化的植物开花过程中,春化的需求可以部分或全部的被使用 GA 所替代,孙日飞^[17]研究发现 GA₃ 处理随浓度的提高表现出与低温春化处理相似的结果。但 GA 并不能诱导所有需春化的植物开花^[7]。GA 可在已通过春化的冬小麦发育过程中起加速作用^[14]。Chandler, Dean 和 Oka 等^[18-19]试验曾证实 GA 加快春化过程和低温春化过程是两条相对独立的途径。Mariko Oka 等^[20]发现春化作用不仅是植物成花过程中 GA 合成的一个临界环境诱导因子,而且可以启动植物合成 GA 的转换途径^[20]。Jackson James 等研究发现马铃薯叶片组织中,蓝光可诱导 GA20ox 基因的表达,证明蓝光受体可能与这个基因有关^[21]。GA 感应开花以及 GA 诱导 LFY 的规律已经被进一步阐明,并且 GA 相应的启动子也被证明^[43]。孙果忠等^[22]研究发现 KT 可能具有部分代替部分光照的作用,KT 在暗春化中的作用较之在绿体春化中更为明显。李季伦、孟繁静等研究发现,在高等植物体内普遍存在一种微量生理活性物质——玉米赤霉烯酮(ZEN),随后实验表明 ZEN 在植物的成花诱导和开花过程中均可能起重要调控作用^[22, 24, 25]。

2.3 春化刺激产物

Leopold 等^[24]研究发现,与光周期刺激物不同,春化作用的刺激产物是不移动的。当分生组织进行春化时,同株的非分生组织仍保持非春化状态。因而认为春化状态只能通过细胞分裂进行传递。

2.4 分子机理研究

2.4.1 核酸和蛋白质的变化 研究发现春化作用中期,对核酸及蛋白质抑制剂很敏感,蛋白质组分的 PAGE 分析及 mRNA 体外翻译试验,证实这一时期有新的 mRNA 和蛋白质形成。Sarhan 和 Daoust(1975)发现低温处理小麦后其可溶性 RNA 及核糖体 RNA 提高^[25],在处理 30~50 天期间发现有新的 mRNA 出现^[26]。李秀珍、逯斌、任江萍等都发现了冬小麦春化过程中有多种特异蛋白质的诱导合成,这些蛋白质的分子量约为

17kD 22kD 27kD 38kD 及 51kD^[27]。奥岩松发现在春化阶段大白菜体内有两种特异蛋白质的出现。李梅兰等研究发现,春化诱导植株产生了一种分子量为 58kD 的特异蛋白质,同时也使一种蛋白质消失。这可能与春化基因的表达有关^[6],还可能与核酸和蛋白质代谢相关。

2.4.2 春化基因的研究 Burn 等^[30]认为春化作用的分子基础是 DNA 的去甲基化。通常认为甲基化与春化作用间关系密切,Koornneef 等认为甲基化可能通过调节 FWA 的表达而影响开花时间。Finnegan 等利用反义转基因植物研究,结果也证实春化作用通过降低植物基因组 DNA 的甲基化水平以发挥作用^[31]。Finnegan 等发现转入反义甲基转移酶基因 MET1 可降低甲基化水平,从而提早花期^[32]。但这都是在模式植物拟南芥上研究得到的结果,也有相反的例子,因而甲基化在春化中的作用尚不清楚^[33]。春化关键基因(FLC)已经证明在春化的分子机理和 DNA 甲基化中有重要作用^[42]。

McDaniel Dean Johanson 和 Ratcliffe 等从拟南芥的春化相关突变体中分别克隆到了春化作用调控的关键基因(FLC FCA 和 FRI 等),并对其进行了功能分析^[34-37]。FLC 的转录水平与开花时间有量化的关系,春化作用使其 mRNA 降低。

Michaels 和 Amasino 和 Sheldon 等及 Johanson 等认为,一般情况下,FRI 能促进 FLC mRNA 的积累,从而抑制开花^[38]。Gendall 等研究发现另外两个与春化作用相关的基因 VRN1 和 VRN2 能够保持 FLC 的抑制作用^[39]。FRI 和 FLC 已经在拟南芥基因组中被精确定位^[44]。

Dubcovsky Barrett Iwaki 和 McIntosh 等发现普通小麦位于染色体长臂 5A 5B 和 5D 位置的春化作用的主控基因(VRN-1),发现 VRN-A1 VRN-B1 和 VRN-D1 同时控制着小麦冬春季节的生长和染色体上等位基因的发育^[45-48]。虽然 VRN-2 在普通小麦基因组中的作用和定位并没有完全证明,但 Yan 等利用反义 RNA 技术使 VRN-2 基因沉默,使锯齿型普通小麦花期提前 1 个多月,从而证明 VRN-2 基因在小麦春化过程中也有重要的作用^[49, 50]。Sibum Sung 和 Richard M Amasino 发现在长时间的低温处理可以诱导春化作用中另一个关键基因 VRN-3 的表达,并证明 FLC 和 VRN-1 VRN-2 VRN-3 等基因在染色体和 DNA 中有密切关系^[51]。

春化相关基因 *CQ*、*GAL*、*EARL1*分别通过突变体途径也相继被克隆出来^[40]。我国在冬小麦春化作用研究中取得较大的进展,构建了相关基因的 cDNA 文库,并克隆了几个春化相关基因: *Ver*c203^[8]、*Ver*17和 *Ver*79,对其功能进行了初步分析^[5]。谭克辉、种康等已经分离到一系列冬小麦春化基因的 cDNA 克隆^[35,41],并通过反义转基因技术进行了功能分析。

3 结束语

综上所述,春化作用基因的研究刚刚开始,由于植物春化过程和成花诱导中多种信号和多条途径参与,在阐明春化作用的调控模式和每一条途径的基因调控顺序之前,克隆每一条途径的一系列基因是必要的^[8]。对春化作用和成花诱导的完全理解将依赖于对相关基因的确定,同时有赖于各控制途径内部和途径之间相互作用的理解。由现有结果看,光周期与春化作用在植物成花诱导中起着重要的作用,而顶端分生组织接受低温和光周期刺激促进成花诱导的机理,还所知甚少。现有的研究主要集中在拟南芥和小麦等模式植物上,对绝对春化型植物的研究则更少。

高等植物的春化作用和成花研究是具有重要现实和实践意义的问题。近十年来运用分子生物学技术等新的技术手段和新思路,所取得的成果使人们对高等植物的春化和成花诱导有了更深入的了解,但还处在知识的相对积累阶段。今后利用新的突变体分离新的相关基因以及基因的表达调控和基因的相互作用,将是春化作用研究的热门课题^[29]。然而,在成花诱导阶段,光周期和低温春化作用的研究也不容忽视。植物的春化和成花诱导是内、外界因子共同协调相互作用的结果,是长期而十分复杂的过程,需要相关学科的合作并系统的研究。

参考文献:

[1] 张华锋,孟庆忠,张立军.环境因子在植物成花诱导中的作用及其机理[J].生物学通报,2000,35(7): 16~ 18.

[2] 刘春香,韩玉珠,栗长兰,等.大白菜的春化特性及未熟抽薹研究进展[J].吉林农业大学学报,2001,23(3): 61~ 64,71.

[3] 梁铁兵,雍伟东,谭克辉,等.春化处理控制冬小麦的小穗发育[J].植物学报,2001,43(8): 788~ 794.

[4] Matsui T, Eguchi H, Mori K. Mathematical Model of Flower Stalk Development in Chinese Cabbage Affected by Low Temperature and Photoperiod, [J]. Environ. Control

Biol, 1978, 17: 17~ 26.

[5] 史庆馨.春化时间对大白菜开花期及种子产量的影响[J].黑龙江农业科学,1997,5,38~ 40.

[6] 张志焱,刘长庆,孙发仁.春化条件对大白菜花芽分化和种株发育的影响[J].中国蔬菜,1995,5,35~ 36.

[7] 武维华主编.植物生理学[M].北京:科学出版社,2003.375~ 378.

[8] 种 康,雍伟东,谭克辉.高等植物春化作用研究进展[J].植物学通报,1999,16(3): 481~ 487.

[9] 田淑兰,陈 敏,白书农. *LFY/FLO*基因与高等植物成花诱导分子机理的研究进展[J].生物学通报,1999,34(9): 5~ 8.

[10] 谭克辉.春化过程中特异蛋白质合成[J].植物学集刊,1992,(6): 13~ 16.

[11] Michaels S D, Amasino R M, Loss of FLOWERING LOCUS C activity eliminates the late flowering phenotype of FRIGIDA and autonomous pathway mutants but not responsiveness to vernalization [J]. Plant Cell, 2001, 13: 935~ 941.

[12] Sheldon C C, Finnegan E J, Rouse D J, *et al.* The control of flowering by vernalization [J]. Curr Opin Plant Biol, 2000, 3: 418~ 422.

[13] 张恩和,黄鹏.春化处理对当归苗生理活性的影响[J].甘肃农业大学学报,1998,3: 240~ 243.

[14] 秦 君,董毓琨,王海波.冬小麦春化研究[J].河北农业科学,2000,4(4): 59~ 64.

[15] 尹 均,任江萍,潘登奎,等.小麦春化发育相关蛋白质同工酶的研究[J].麦类作物学报,2002,22(1): 33~ 38.

[16] 赵大中,陈民,种 康,等.高等植物的春化作用和低温适应[J].植物生理学通讯,1998,34(4): 155~ 159.

[17] 孙日飞,张淑江,司家钢,等.春化和赤霉素对大白菜抽薹开花的影响[J].中国蔬菜,1999,3: 14~ 17.

[18] Chandler J, Wilson A, Dean C. Arabidopsis mutants showing an altered response to vernalization. Plant J, 1996, 10(4): 637~ 644.

[19] Oka M, Tasaka Y, Iwabuchi M. Elevated sensitivity to gibberellin by vernalization in the vegetative rosette plants of *Eustoma grandiflorum* and *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant Sci, 2001, 160: 1237~ 1245.

[20] Mariko Oka, Yasushi Tasaka, Masaki Iwabuchi, *et al.* Elevated sensitivity to gibberellin by vernalization in the vegetative rosette plants of *Eustoma grandiflorum* and *Arabidopsis thaliana*. Plant Science, 2001, 160: 1237~ 1245.

[21] Jackson S D., James P. E., Carrera E., *et al.* Regulation of transcript levels of a potato gibberellin 20-oxidase gene by light and phytochrome B [J]. Plant Physiol, 2000, 124: 423~ 430.

[22] 孙果忠,马民强,柴建芳,等.激动素(KT)在冬小麦春化中的作用[J].北京农业科学,1999,17(5): 8~ 9.

[23] 李季伦,朱彤霞,李永胜,等.玉米赤霉烯酮的研究[J].北京农业大学学报,1980,6(1): 13~ 28.

[24] 阙月美,梁振兴,韩玉珍,等.冬小麦和棉花开花结实过程中玉米赤霉烯酮含量的变化[J].北京农业大学学报,1990,16(2): 153~ 155.

[25] Meng Fanjing, Han Yanzhen, Wang Hui, *et al.* Zearenone, a key substance controlling plant development [A]. In Karssen C M, van Loon L C, Vreugdenhil D V eds. Progress in Plant Growth Regulation. Netherlands: Kluwer Academic Publisher, 1991, 227~ 231.

[26] Nooden L D, Leopold A C. Phytohormones and the endogenous regulation of senescence and abscission. In DS Letham, PB Goodwin, TJV Higgins, eds, Phytohormones and Related Compounds: A Comprehensive Treatise. Elsevier, Amsterdam, 1978, 2: 329.

[27] Sarhan F, Daoust M J. RNA synthesis in spring and winter wheat during cold accumulation [J]. Plant Physiol. 1975, 35: 62~ 65.

[28] Ishikawa K, Tateyama M. Changes in hybridizable RNA in wheat embryos during germination and vernalization [J]. Plant Cell Physiol, 1977, 18: 875~ 882.

[29] 任江萍,潘登奎,尹均.小麦春化过程中蛋白质变化研究[J].山西农业大学学报,1999,19: 298~ 301.

[30] Burn J E, Bagnall D J, Metzger J D, *et al.* DNA methylation, vernalization, and the initiation of flowering [J]. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1993, 90: 287~ 291.

[31] 赵大中,雍伟东,种康,等.高等植物开花研究现状简述[J].植物学通报,1999,16(2): 157~ 162.

[32] Finnegan E J, Genger R K, Kovac K, *et al.* DNA methylation and the promotion of flowering by vernalization [J]. Proc Nat Acad Sci USA, 1998, 95: 5824~ 5829.

[33] 张云,刘青林.植物花发育的分子机理研究进展[J].植物学通报,2003,20(5): 589~ 601.

[34] Sheldon C C, Burn J E, Perez P P, *et al.* The FLF MADS box gene: A repressor of flowering in Arabidopsis regulated by vernalization and methylation [J]. Plant Cell, 1999, 11: 445~ 458.

[35] Chong K, Tan K-H, Huang H-L, *et al.* Molecular cloning of a cDNA related to vernalization in winter wheat. Sci China, Ser B, 1995, 38: 799~ 806.

[36] Ratcliffe O J, Nadzan G C, Reuber T L, *et al.* Regulation of flowering in Arabidopsis by an FLC homologue [J]. Plant Physiol, 2001, 123: 122~ 132.

[37] Dean R T, Sheldon C C, Bagnall D J, *et al.* A repressor of flowering, is regulated by genes in different inductive pathways [J]. Plant J, 2002, 29: 183~ 191.

[38] Johanson U, West J, Lister C, *et al.* Molecular analysis of FRIGIDA, a major determinant of natural variation in Arabidopsis flowering time [J]. Science, 2000, 290: 344~ 347.

[39] Gendall A R, Levy Y Y, Wilson A, *et al.* The VERNALIZATION2 gene mediates the epigenetic regulation of vernalization in Arabidopsis [J]. Cell, 2001, 107(4): 525~ 535.

[40] 胡巍,侯喜林,史公军.植物春化特性及春化作用机理[J].植物学通报,2004,21(1): 26~ 36.

[41] Yong W-D, Chong K, Liang T-B, *et al.* Cloning and characterization of vernalization-related gene (vr203 F) cDNA 3' end [J]. Chin Sci Bull, 1999, 44: 1289~ 1293.

[42] Candice C Sheldon, E Jean Finnegan, Dean T rouse. The control of flowering by vernalization [J]. Plant Biology, 2000, 3: 418~ 422.

[43] Blazquez M A, Weigel D. Integration of floral inductive signals in Arabidopsis [J]. Nature, 2000, 404: 889~ 892.

[44] Osborn T C, Kole C, Parkin IAP, *et al.* Comparison of flowering time genes in Brassica rapa, B. napus and Arabidopsis thaliana. Genetics, 1997, 146: 1123~ 1129.

[45] Dubcovsky J, Lijavetzky D, Appendino L, *et al.* Comparative RFLP mapping of Triticum monococcum genes controlling vernalization requirement [J]. Theor Appl Genet 1998, 97: 968~ 975.

[46] Barrett B, Bayram M, Kidwell K. Identifying AFLP and microsatellite markers for vernalization response gene Vrn-B1 in hexaploid wheat (Triticum aestivum L.) using reciprocal mapping populations [J]. Plant Breed 2002, 121: 400~ 406.

[47] Iwaki K, Nishida J, Yanagisawa T, *et al.* Genetic analysis of Vrn-B1 for vernalization requirement by using linked dCAPS markers in bread wheat (Triticum aestivum L.) [J]. Theor Appl Genet, 2002, 104: 571~ 576.

[48] McIntosh R A, Yamazaki Y, Devos K M, *et al.* Catalogue of gene symbols for wheat [A]. In Pogna N E, Romano M, Pogna E, Galterio G (eds) Proceedings of the 10th International Wheat Genetics Symposium [C]. Instituto Sperimentale per la Cerealicoltura, Rome, 2003, 4: 1~ 34.

[49] Yan L, Loukoianov A, Tranquilli G, *et al.* The wheat VRN2 gene is a flowering repressor down-regulated by vernalization [J]. Science, 2004, 303: 1640~ 1644.

[50] Yan L., Helguera M., Kato K., *et al.* Allelic variation at the VRN-1 promoter region in polyploidy wheat [J]. Theor Appl Genet, 2004, 109: 1677~ 1686.

[51] Sibum Sung, Richard M Amasino. Vernalization and epigenetics: how plants remember winter [J]. Current Opinion in Plant Biology, 2004, 7: 4~ 10.

[52] 曹仪植.植物分子生物学[M].北京:高等教育出版社,2002. 273~ 275.