

拟南芥 *AtFBDLI* 在植物顶端生长调节中的作用

李建波^{1,2}, 张进¹, 刘伯斌¹, 徐有明², 卢孟柱¹, 陈军^{1*}

(1. 中国林业科学研究院林业研究所, 林木遗传育种国家重点实验室, 北京 100091;

2. 华中农业大学园艺林学学院, 湖北 武汉 430000)

摘要:拟南芥 *AtFBDLI* 基因是 *FBD-like* 基因家族的一员, 其编码蛋白含有类似于 F-box 的结构域。表达模式网络预测结果显示该基因在茎顶端分生组织中高丰度表达, 但对于 *FBD-like* 基因家族的研究还很少, 其功能目前尚不明确。为此, 本研究通过组织半定量表达分析和 GUS 染色显示 *AtFBDLI* 基因在拟南芥中具有时空表达特异性。结果表明: 在真叶形成前和形成初期, 该基因主要在茎顶端分生组织和下胚轴区域表达; 真叶形成后, 该基因在下胚轴的表达明显减少, 而主要集中在茎顶端分生组织表达。遗传转化显示: 与野生型植株相比, 过表达 *AtFBDLI* 基因的植株生长发育缓慢, 抽薹时间推迟 3~4 d, 莲座叶叶片面积减小, 叶片数目平均增多 10 片, 并且伴随有变态叶出现; 过表达植株株高比野生型矮, 株高最大差值达到 12 cm。共表达网络预测 *AtFBDLI* 与多个与生长素和花发育相关的基因具有共表达关系。以上研究结果表明: *AtFBDLI* 基因在拟南芥的生长发育过程中, 特别是在顶端分生组织分化过程中起重要作用。

关键词:拟南芥; F-box 结构域; 基因功能; 茎顶端分生组织

中图分类号: S718.6

文献标识码: A

The Effects of *AtFBDLI* on Apical Meristematic Growth of *Arabidopsis thaliana*

LI Jian-bo^{1,2}, ZHANG Jin¹, LIU Bo-bin¹, XU You-ming², LU Meng-zhu¹, CHEN Jun¹

(1. State Key Laboratory of Tree Genetics and Breeding, Research Institute of Forestry, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091, China;

2. College of Horticulture & Forestry Sciences, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430000, Hubei, China)

Abstract: *AtFBDLI* is a member of *FBD-like* gene family, which encodes proteins containing sequences similar to F-box structure domain. Online expression prediction indicates that *AtFBDLI* is mainly expressed in shoot apical meristem. Few studies have been conducted on *FBD-like* genes, which cause the function of these genes remains largely unknown. By using tissue-specific semi-quantitative analysis and GUS staining, the temporospatial expression pattern of *AtFBDLI* in *Arabidopsis thaliana* was investigated. The result showed that in the early stage of seedling development, the *AtFBDLI* was mainly expressed in shoot apical meristem and in hypocotyl. After the stage of euphylla emerged, the expression of *AtFBDLI* in hypocotyl decreased significantly and mainly restricted the shoot apical meristem. Compared with wild type plants, the *AtFBDLI* over-expressed plants displayed slowed growth with up to 12 cm shorter stems, delayed bolting time of 3 to 4 days, reduced rosette leaf area, increased leaf number up to 10, and abnormal leaves. Co-expression analysis showed that the transcription of *AtFBDLI* was correlated with several auxin-related or flowering regulation genes. The result of this study indicates that the *AtFBDLI* plays an essential role in plant growth and development in *Arabidopsis thaliana*, especially in the process of the shoot apical

收稿日期: 2013-04-09

基金项目: “863”计划课题(2013AA102702)

作者简介: 李建波(1987—), 男, 硕士研究生. 主要研究方向: 林木遗传育种. 电话: 010-62824020. E-mail: lkyuan101@163.com

* 通讯作者: 博士, 副研究员. 主要研究方向: 树木极性生长和细胞内蛋白质极性运输. 电话: 010-62824033. E-mail: chenjun@caf.ac.cn

meristem differentiation, highly likely through auxin-related pathways.

Key words: *Arabidopsis thaliana*; F-box domain; gene function; shoot apical meristem

植物的主要组织器官源于初生分生组织和次生分生组织(或侧生分生组织),其中,初生分生组织包括茎顶端分生组织(SAM)和根顶端分生组织(RAM)^[1]。茎端分生组织的分化产生植物地上部分的主要器官,是植物生长发育最基本的活动之一^[2-4],也是树木纵向生长及侧生分生组织形成的必要前提。优良林木新品种的培育首先需要寻找和验证控制 SAM 维持和分化的基因。现阶段对林木的顶端分生组织研究较少,主要以拟南芥(*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh)为材料,并集中于干细胞的维持和分化的分子机制等方面。在维持干细胞稳定的分子机制中,CLV-WUS(CLA VATA-WUSCHEL)的负反馈调控作用是最典型的调节途径。WUS 抑制干细胞分化和维持干细胞数目,而 CLV 则促进干细胞分化和器官的形成^[5-6]。另一条途径即 KNOTTED-like (KNOX)同源蛋白 SHOOT MERISTEMLESS (STM),能促进干细胞的分裂,抑制分化^[7]。类 BELL1 蛋白 PENNYWISE (PNY)和 POUND-FOOLISH (PNF)在干细胞的分化和维持中同样发挥重要作用^[8]。通过对 SAM 中作用干细胞维持的相关基因和调控叶发育的 *CUP SHAPED COTYLEDON* (*CUC*)基因以及调控花器官发育的 *LEAFY* (*LFY*)基因等的功能分析发现,它们除在 SAM 形态的建成、叶片和花发育中起作用外,对植株的生长速度并无影响^[9-10]。因此,现阶段需要更进一步的寻找和挖掘参与 SAM 调控的基因及作用机制,以期达到加速培育速生植物新品种的目的。2009 年, Yadav 等^[11]用 *CLV3*、*WUS* 和 *FIL* 3 个典型基因分别标记 SAM 的 3 个区域,并构建了拟南芥顶端分生组织干细胞的基因表达图谱,将 SAM 中基因的表达区域划分为上述 3 个标记基因表达区域,即单个、两两交叉和三者交叉等的 7 个区域。在基因表达图谱中发现, *AtFBDLI* 基因主要在 *CLV3* 与 *WUS* 交叉的区域表达,但功能未知。区域特异表达的 *AtFBDLI* 基因在顶端分生组织的维持和分化中是否也起着重要作用是本研究旨在解决的主要问题。

拟南芥信息资源网 (TAIR, <http://www.arabidopsis.org/>) 中数据显示, *AtFBDLI* 基因位于拟南芥第 3 号染色体上,基因号为 *At3g59270*,属于 *FBD-like* 基因家族。美国国家生物技术信息中心 (NCBI,

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 数据库显示,在所有已检测的生物中共有 331 个类似结构的蛋白。此基因家族为植物界所特有,在细菌、古细菌、真菌和别的真核生物中均未见到。目前,网络预测和一些文献都提到了该基因在顶端分生组织中表达^[8,11],但并无证据显示其具有组织特异性,其具体功能也尚不明确。本研究以拟南芥为材料,通过不同组织的半定量表达和 GUS 染色对 *AtFBDLI* 的组织定位进行了分析。通过构建 *AtFBDLI* 过表达载体并转化拟南芥,对该基因在调节植物顶端生长发育过程中的作用进行了初步研究。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验所用拟南芥为 Columbia-0 生态型,由中国林业科学研究院林木遗传育种国家重点实验室保存。大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 菌株 *TransI-T1* 购自天根生化科技有限公司 (北京),根癌农杆菌 (*Agrobacterium tumefaciens*) 菌株 *GV3101* 由本实验室保存。

1.2 实验试剂

PCR 所用试剂和 Marker 购自天根生化科技有限公司 (北京)。RNA 提取和反转录试剂盒 SuperscriptII First-strand Kit、Gateway BP Enzyme Mix 及 Gateway LR Enzyme Mix 购买于 Invitrogen 公司 (上海)。用 Primer 5.0 软件设计引物,实验所需引物均在 Invitrogen 公司合成。GUS 染色缓冲液为 50 mmol · L⁻¹ NaPO₄ pH = 7.2 (68.4% Na₂HPO₄ 和 31.6% NaH₂PO₄), 0.5 mmol · L⁻¹ K₃Fe(CN)₆, 0.5 mmol · L⁻¹ K₄Fe(CN)₆, 0.2% Triton X-100; GUS 染色液为 50 mmol · L⁻¹ NaPO₄ pH = 7.2 (68.4% Na₂HPO₄ 和 31.6% NaH₂PO₄), 0.5 mmol · L⁻¹ K₃Fe(CN)₆, 0.5 mmol · L⁻¹ K₄Fe(CN)₆, 0.2% Triton X-100, 2 mmol · L⁻¹ X-Gluc, 药品均购自 Sigma (上海) 公司。

1.3 拟南芥种植方法与培养条件

2011 年 7 月将拟南芥种子先后分别用 75% 和 100% 的酒精灭菌和脱水,播种于 1/2 MS 培养基中。4 °C 条件下黑暗冷藏 3 d 再移至拟南芥培养室中发芽和培养,14 d 之后将拟南芥幼苗转移至混合土 (营养土:蛭石 = 10:1) 中继续培养。培养室的培养条件为 (22 ± 2) °C, 16 h 光照/8 h 黑暗,光照强度 110

$\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 。

1.4 基因的组织器官表达分析

分别提取拟南芥的根、茎、叶、茎顶端分生组织、花和果荚共6个组织与器官的总RNA,并用紫外分光光度计测定样品RNA的浓度和纯度。利用In-vitrogen cDNA合成试剂盒将提取的总RNA反转录成cDNA之后,取等量的cDNA为模板进行半定量RT-PCR反应。PCR反应体系为:酶10 μL ,正反向引物(10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)各0.5 μL ,模板1 μL ,ddH₂O 8 μL ,共20 μL 。反应条件:94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性5 min;94 $^{\circ}\text{C}$ 1 min,56 $^{\circ}\text{C}$ 30 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 1 min,30个循环;72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸7 min;4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。*AtFBDLI* 基因半定量引物 *AtFBDLI*-F1 和 *AtFBDLI*-R1,内参基因 *ACTIN2* 引物 *ACTIN2*-F1 和 *ACTIN2*-R2,引物序列见表1。

1.5 *AtFBDLI* 基因的克隆和表达载体构建

根据TAIR网站提供的序列设计 *AtFBDLI* 编码

区正反向引物 *AtFBDLI*-F2、*AtFBDLI*-R2 和启动子正反向引物序列 *pAtFBDLI*-F1、*pAtFBDLI*-R1,引物序列见表1。引物序列中的下划线部分为attB接头序列,用于之后的gateway克隆。分别以拟南芥cDNA和基因组DNA为模版扩增获得 *AtFBDLI* 基因的编码序列和启动子序列。PCR反应体系:酶25 μL ,正反向引物(10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)各1 μL ,模版1 μL ,ddH₂O 22 μL ,共50 μL 。反应条件:98 $^{\circ}\text{C}$ 预变性30 s;98 $^{\circ}\text{C}$ 10 s,55 $^{\circ}\text{C}$ 15 s,68 $^{\circ}\text{C}$ 1 min,5个循环;98 $^{\circ}\text{C}$ 10 s,68 $^{\circ}\text{C}$ 1 min,30个循环;72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸7 min;4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。利用胶回收纯化的PCR产物与pDONR222.1质粒进行BP反应,获得入门载体。通过测序确定序列正确后利用LR反应将它们分别亚克隆到pMDC32和pMDC164载体中获得过表达载体 *p35S::AtFBDLI* 和 GUS 表达载体 *pAtFBDLI::GUS*。

表1 实验所用引物序列

引物	引物序列(5'-3')
<i>AtFBDLI</i> -F1	AAACAAGAAAGGGTTAAGATGCTC
<i>AtFBDLI</i> -R1	CTAGATACAGAAACAAGACTCCCAAAA
<i>ACTIN2</i> -F1	GCCCTCGTTTGTGGGAATGG
<i>ACTIN2</i> -R2	AAGCCTTGTATCTTGAGAGC
<i>AtFBDLI</i> -F2	<u>GGGACA</u> ACTTTGTACAAAAAAGTTGGAATGAATCTCGATTTTGATGACTCTAAG
<i>AtFBDLI</i> -R2	<u>CGCGCCG</u> CACAACCTTTGTACAAGAAAGTTGGGTATTAATAGAGGACAAGACAAGATTGTCAG
<i>pAtFBDLI</i> -F1	<u>GGGACA</u> ACTTTGTACAAAAAAGTTGGATGCTGTCTTCAAGCCTATCGT
<i>pAtFBDLI</i> -R1	<u>CGCGCCG</u> CACAACCTTTGTACAAGAAAGTTGGGTACTTTTTCAAAATGCAAATCACCAC

1.6 转化与检测

参考徐芳等^[12]和Clough等^[13]的方法,用电击法将含有目的基因的植物表达载体质粒转入农杆菌GV3101,并利用花粉管导入法转化野生型拟南芥。将T₁代种子在含有潮霉素(25 mg · mL⁻¹)的1/2 MS培养基上进行抗性筛选,2周后挑选阳性植株种植,并提取植株基因组DNA进行PCR验证。以筛选的阳性转基因植株的cDNA为模板,通过半定量RT-PCR检测阳性植株中 *AtFBDLI* 的表达量,反应体系和反应条件同1.4。

1.7 GUS 组织化学染色

参考Cecchetti等^[14]的方法,将带有 *pAtFBDLI::GUS* 的转基因植株浸入到90%冷丙酮中,冰浴固定15~20 min后去除丙酮,然后用Gus染色缓冲液浸洗3次。倒去洗涤缓冲液后加入适量的GUS染色液,真空抽气3次,在37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下染色过夜,第

2天用酒精梯度去除叶绿素,最后在体视镜下观察染色情况。

2 结果与分析

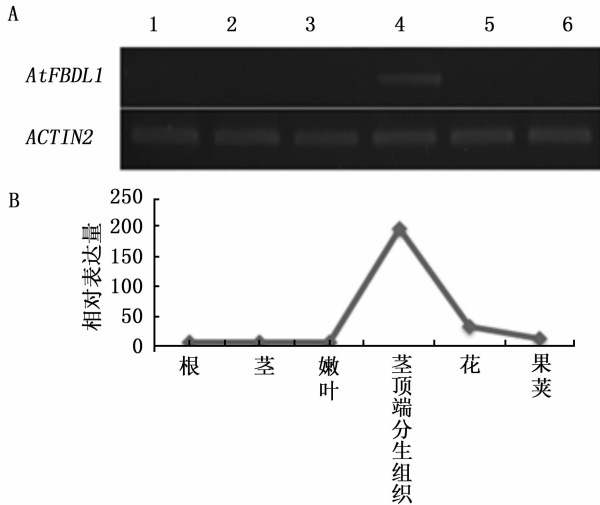
2.1 拟南芥 *AtFBDLI* 基因表达的组织特异性

利用半定量RT-PCR对拟南芥根、茎、嫩叶、茎顶端分生组织、花和果荚中的 *AtFBDLI* 进行组织表达定量分析。分析结果表明: *AtFBDLI* 主要在茎顶端分生组织表达,在其它器官组织中检测不到(图1A)。这与网络预测的该基因表达模式相同(图1B),进一步验证了 *AtFBDLI* 基因的表达具有组织特异性。

2.2 拟南芥 *AtFBDLI* 基因的表达量在不同生长时间的动态变化

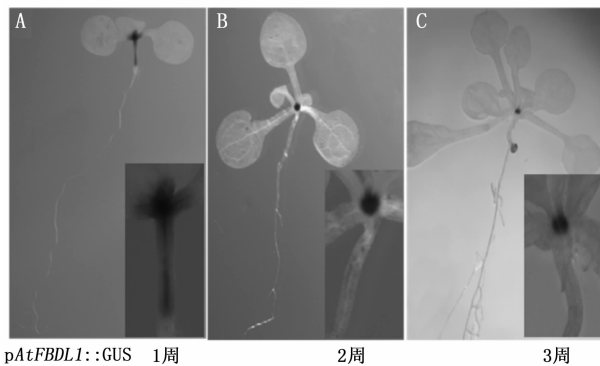
选取 *AtFBDLI* 基因上游2.1 kb DNA序列作为启动子区域,构建 *pAtFBDLI::GUS* 的表达载体,获

得转基因植株。分别取1周,2周和3周的转基因植株进行GUS染色,检测GUS活性。结果显示:在1周时,基因在茎顶端和下胚轴区域高丰度表达(图2A);在2~3周时,在下胚轴区域表达量明显减少,基因的表达主要集中在茎顶端区域(图2B~C),说明*AtFBDLI*的表达具有一定的时空性。



A. 半定量 RT-PCR 分析显示 *AtFBDLI* 基因在不同组织中的表达情况; B. 基于基因芯片数据库的网络预测显示 *AtFBDLI* 基因在不同组织中的相对表达情况; 1. 根; 2. 茎; 3. 嫩叶; 4. 茎顶端分生组织; 5. 花; 6. 果荚

图1 拟南芥 *AtFBDLI* 基因的组织表达分析



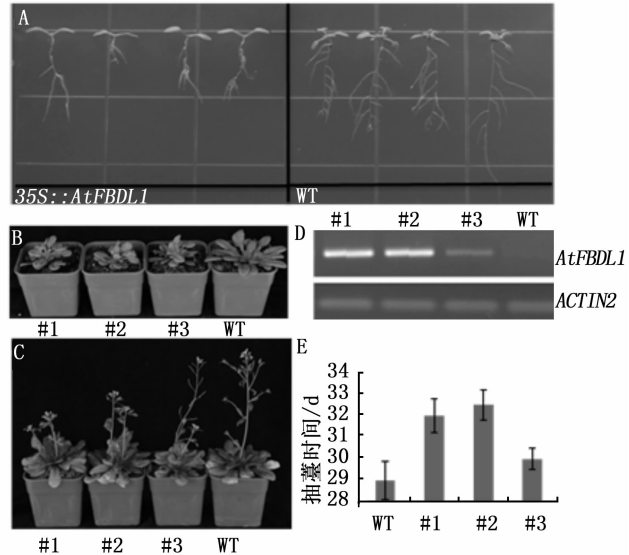
A. 1周时的GUS染色; B. 2周时的GUS染色;
C. 3周时的GUS染色

图2 GUS染色组织定位

2.3 拟南芥过表达 *AtFBDLI* 转基因植株的生长

选取拟南芥过表达 *AtFBDLI* 植株的3个T3代纯合株系和野生型植株进行表型观察。2周时,野生型植株出现2~4片真叶,过表达植株幼苗真叶尚未发育,且过表达植株的根系较野生型发育缓慢(图3A);4周时,观察到转基因植株出现2个明显的顶芽(图3B);6周时,抽薹后转基因植株的2个

顶芽分别形成2个花茎,转基因拟南芥幼苗较高野生型明显矮(图3C);株系1和株系2的抽薹时间都比野生型的晚3~4d,株系3与野生型相差较小(图3E);株系1、株系2和株系3中 *AtFBDLI* 的表达量均高于野生型,株系1和株系2中 *AtFBDLI* 的表达量高于株系3,可见过表达株系中 *AtFBDLI* 的表达量越高,植株表型越明显(图3D、E)。



A~C为分别为2,4,6周过表达拟南芥与野生型幼苗的对比; D为过表达植株中 *AtFBDLI* 基因的表达量分析; E为抽薹时间比较

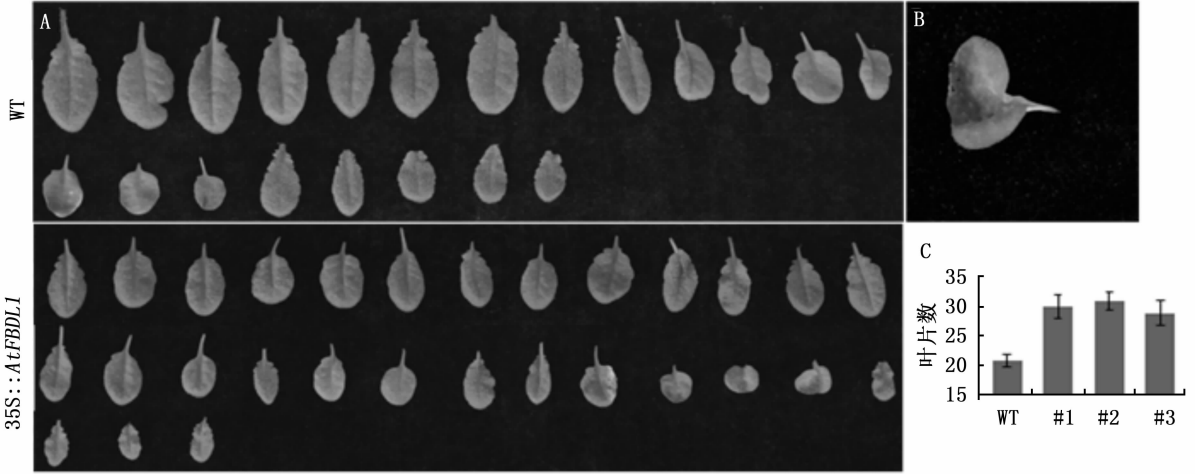
图3 拟南芥 *AtFBDLI* 过表达植株与野生型植株(WT)生长的比较

2.4 拟南芥过表达 *AtFBDLI* 转基因植株的莲座叶

拟南芥过表达植株在生长过程中出现2个顶芽,在2个顶芽周围形成了各自的莲座叶,并最终发育成2个不同的花茎。为了分析叶片的形态和数量变化,实验选取T3代纯合株系1,在4周时进行叶片分析。过表达植株莲座叶的面积明显比野生型小(图4A),但是莲座叶的数量比野生型多10片左右(图4C);过表达植株中出现变态叶,部分叶片下部出现融合现象(图4B),这种叶片主要发生在2个顶芽之间的部位。

2.5 拟南芥过表达转基因植株的矮化

对T3代纯合株系在不同时期的株高进行统计。对于多顶端的植株,以最高茎的高度为准。统计发现:过表达植株株高生长趋势与野生型相同,但是比野生型发育晚;在植株的整个生命周期中,转基因植株的高度均比野生型矮(图5)。



A. 过表达 *AtFBDL1* 植株莲座叶片与野生型莲座叶片的对比; B. 过表达 *AtFBDL1* 植株变态叶; C. 莲座叶数目统计

图 4 拟南芥 *AtFBDL1* 过表达植株与野生型植株 (WT) 莲座叶的比较

2.6 拟南芥 *AtFBDL1* 共表达基因

通过拟南芥基因共表达数据库分析 *AtFBDL1* 的共表达基因 (atted. jp/data/locus/At3g59270. shtml)。结果显示:共有 20 个基因与 *AtFBDL1* 基因共表达 (图 6、表 2),其中,直接共表达基因有 3 个,分别为 *At4g35900* (相关性 0.58)、*At4g31615* (相关性 0.61) 和 *At3g58770* (相关性 0.62)。*At4g35900* 编码 AtBZ-IP14/FD 蛋白,主要参与开花调控。FD 通过与 FT 相互作用,正向调节植物的开花。*At4g31615* 是一个功能未知的转录激活因子,属于 B3 蛋白家族。与 *AtFBDL1* 基因相似,*At4g31615* 也是主要在顶端分生

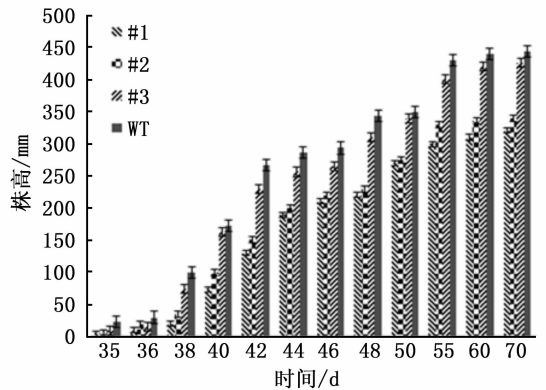


图 5 拟南芥 *AtFBDL1* 过表达植株与野生型植株 (WT) 株高随生长时间的变化

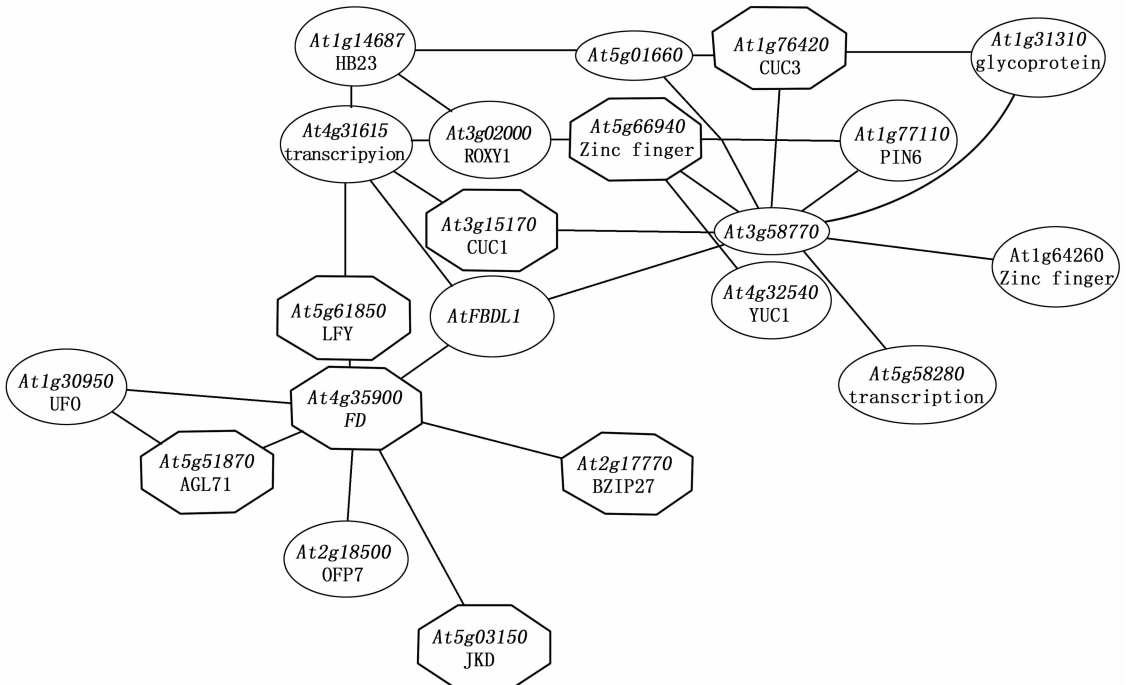


图 6 拟南芥 *AtFBDL1* 基因共表达网络

组织表达;而 *At3g58770* 则编码一个功能完全未知蛋白,也主要在顶端分生组织表达。间接共表达基因共 17 个,其中,包括 *PIN6* 等生长素转运蛋白编码基因,以及 *CUC1/3*、*LFY*、*HOMEBOX* 等与花发育等相关的基因。

表 2 拟南芥 *AtFBDL1* 共表达基因相关信息

基因号	共表达关系	相关系数	相关信息
<i>At3g58770</i>	直接	0.62	未知蛋白
<i>At4g31615</i>	直接	0.61	B3 家族转录因子
<i>At4g35900</i>	直接	0.58	bZIP 家族转录因子(开花调控)
<i>At5g61850</i>	间接	0.61	Orphan 家族转录因子(花分生组织特征基因)
<i>At1g76420</i>	间接	0.60	CUC3(调控顶端分生组织的形成)
<i>At4g32540</i>	间接	0.58	YUC1(参与生长素的合成)
<i>At5g66940</i>	间接	0.58	C2C2-Dof 家族转录因子
<i>At1g64260</i>	间接	0.54	MuDR 家族转座酶
<i>At3g15170</i>	间接	0.54	CUC1(调控顶端分生组织形成和植物激素介导的侧根的形成)
<i>At1g31310</i>	间接	0.54	富含羧基的糖蛋白家族蛋白
<i>At1g14687</i>	间接	0.53	AtHB32(同源框蛋白 32)
<i>At5g01660</i>	间接	0.53	InterPro 结构域
<i>At3g02000</i>	间接	0.52	二硫氧化还原酶
<i>At2g17770</i>	间接	0.50	bZIP 家族转录因子
<i>At1g77110</i>	间接	0.50	<i>PIN6</i> (生长素外向转运蛋白)
<i>At1g30950</i>	间接	0.49	UFO(识别花分生组织)
<i>At2g18500</i>	间接	0.42	OPF7(卵形家族蛋白)
<i>At5g58280</i>	间接	0.41	B3 家族转录因子
<i>At5g51870</i>	间接	0.40	MADS 家族转录因子
<i>At5g03150</i>	间接	0.27	C2H2 家族转录因子

3 结论与讨论

实验表明:*AtFBDL1* 过表达植株呈现多顶芽表型,说明顶端 SAM 的正常形成和分化出现问题。*AtFBDL1* 编码蛋白含有类似于 F-box 的结构域^[15],拟南芥中已经确定编码 F-box 结构域的基因有 694 个^[16]。其中最典型的是生长素运输抑制剂响应蛋白 TIR1 及相关 F-box 蛋白^[17]。TIR1 蛋白通过 F-box 结构域与 SCF(Skp1-Rbx1-Cul1-F-box protein)泛素连接酶的其他组分结合。在生长素的信号转导途径中,SCF^{TIR1} 复合物被生长素调控与其底物生长素效应蛋白 Aux/IAA 的结合,加速 Aux/IAA 泛素化使其降解,从而启动下游基因的转录^[18]。对于编码有类似于 F-box 的结构域的 *AtFBDL1* 蛋白可能通过类似于 SCF^{TIR1} 的信号转导过程,对生长素起调控作用,在 *AtFBDL1* 蛋白过表达时,造成顶端生长素信号的紊乱,影响植物顶端的生长。同时,在生长素运输过程中,外向转运蛋白 PINs 通过极性运输生长素,使生长素在不同组织和细胞中形成浓度梯度,进而在

器官的发生和建成中发挥重要作用。共表达结果显示:*AtFBDL1* 与 *PIN6* 存在共表达关系。现阶段对于 *PIN6* 的具体功能还不清楚,但组织表达分析结果表明,*PIN6* 主要在顶端分生组织、原分生组织及茎中表达^[19]。可以推测含有类似于 F-box 结构域的 *AtFBDL1* 编码蛋白可能参与到了生长素转运蛋白 *PIN6* 对生长素在顶端分生组织中的运输,当 *AtFBDL1* 过表达时会造成生长素浓度的不正常极性分布,形成了多个顶芽的现象。

在网络预测的共表达基因中,主要发现两类具有典型顶端分生组织调节功能的基因。一类是在茎顶端分生组织中调节叶片发育的 *CUC* 基因,如 *CUC1* 和 *CUC3*。研究表明,*CUC1* 基因能够通过正调控 *STM* 和负调控 *ASYMMETRIC LEAVES1(ASI)*、*ASYMMETRIC LEAVES2(AS2)*,在 SAM 的形成过程中发挥作用^[9]。其中,*STM* 能够抑制干细胞的分化,过表达时植株出现不正常发育的变态叶^[20]。*ASI* 和 *AS2* 基因在叶片形态的极性调控中起着重要作用,影响叶片近轴和远轴面极性的形成,而且 *STM*、*ASI* 和 *AS2* 基因的非正常表达都会引起顶端的异常变化^[21]。另一类是顶端分生组织中调节花器官发育的基因,如 *LFY* 和 *FLOWER DEVELOPMENT(FD)* 等基因。*LFY* 属于花分生组织特征基因,在较早的花分生组织原基、营养生长阶段和抽薹前叶原基中都有表达,能促进植物从营养生长向生殖生长的转变^[10]。*FD* 基因编码一种 bZIP 转录因子,在调节开花过程中起重要作用,*fd* 突变体能推迟开花^[22]。*LFY* 和 *FD* 都能延长营养生长、推迟植物开花并使植物生长变缓慢^[23]。这两类基因分别通过调控不同的顶端器官原基(包括叶原基和花原基)的分化和发育来调节植物顶端的生长,然而 *AtFBDL1* 则与这两类基因都共表达,说明 *AtFBDL1* 可能同时参与了这 2 个过程,处于一个更为关键或者更为上游的位置。这两类基因在异常表达时产生的表型与本实验中 *AtFBDL1* 过表达所产生的表型具有相似之处,进一步说明可能存在这种关系;但是,它们之间具体的相互作用关系和调控机制还有待进一步研究。

从上述分析中可以推测 *AtFBDL1* 参与了生长素信号的转导,并可能与一些具有典型顶端分生组织调节功能的基因共同作用,最终影响植物顶端的形成与分化,对植株的生长发育起着重要作用。因此,对该基因在顶端分生组织发育调控中的功能和作用机理的进一步研究,将为寻找调节茎顶端分生组织

分化的基因和培育优良速生树种打下坚实的基础。

参考文献:

- [1] Steeves T A, Sussex I M. Patterns in plant development[M]. Cambridge:Syndicate of the university of Cambridge, 1989: 6 - 10.
- [2] Takacs E M, Du C, Ponnala L, *et al.* Ontogeny of the Maize Shoot Apical Meristem[J]. The Plant Cell, 2012, 24(8): 3219 - 3234.
- [3] Barton M. Twenty years on: the inner workings of the shoot apical meristem, a developmental dynamo [J]. Developmental biology, 2010, 341(1): 95 - 113.
- [4] Bowman J L, Eshed Y. Formation and maintenance of the shoot apical meristem [J]. Trends in plant science, 2000, 5(3): 110 - 115.
- [5] 王占军, 陈金慧, 施季森. 植物干细胞中 WUS/CLV 反馈调控机制的研究进展[J]. 林业科学, 2011, 47(4): 159 - 165.
- [6] 姜妍, 祖伟, 吴存祥. 茎顶端分生组织在植物发育过程中的保持, 转变和逆转[J]. 细胞生物学杂志, 2008, 30(2): 147 - 152.
- [7] Endrizzi K, Moussian B, Haecker A, *et al.* The *SHOOT MERIS-TEMLESS* gene is required for maintenance of undifferentiated cells in *Arabidopsis* shoot and floral meristems and acts at a different regulatory level than the meristem genes *WUSCHEL* and *ZWILLE* [J]. The Plant Journal, 1996, 10(6): 967 - 979.
- [8] Ung N, Lal S, Smith H M S. The Role of PENNYWISE and POUND-FOOLISH in the Maintenance of the Shoot Apical Meristem in *Arabidopsis* [J]. Plant physiology, 2011, 156(2): 605 - 614.
- [9] Hibara K I, Takada S, Tasaka M. *CUC1* gene activates the expression of SAM-related genes to induce adventitious shoot formation [J]. The Plant Journal, 2003, 36(5): 687 - 696.
- [10] Schultz E A, Haughn G W. *LEAFY*, a homeotic gene that regulates inflorescence development in *Arabidopsis* [J]. The Plant Cell, 1991, 3(8): 771 - 781.
- [11] Yadav R K, Girke T, Pasala S, *et al.* Gene expression map of the *Arabidopsis* shoot apical meristem stem cell niche [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2009, 106(12): 4941 - 4946.
- [12] 徐芳, 熊爱生, 彭日荷, 等. 植物遗传转化的新方法 [J]. 中国蔬菜, 2005, 1(3): 29 - 31.
- [13] Clough S J, Bent A F. Floral dip: a simplified method for *Agrobacterium*-mediated transformation of *Arabidopsis thaliana* [J]. The Plant Journal, 1998, 16(6): 735 - 743.
- [14] Cecchetti V, Pomponi M, Altamura M M, *et al.* Expression of rolB in tobacco flowers affects the coordinated processes of anther dehiscence and style elongation [J]. The Plant Journal, 2004, 38(3): 512 - 525.
- [15] Kipreos E T, Pagano M. The F-box protein family [J]. Genome Biol, 2000, 1(5): 1 - 7.
- [16] Xu G, Ma H, Nei M, *et al.* Evolution of F-box genes in plants: different modes of sequence divergence and their relationships with functional diversification [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2009, 106(3): 835 - 840.
- [17] Dharmasiri N, Dharmasiri S, Weijers D, *et al.* Plant development is regulated by a family of auxin receptor F-box proteins [J]. Developmental cell, 2005, 9(1): 109 - 119.
- [18] Kepinski S, Leyser O. The *Arabidopsis* F-box protein TIR1 is an auxin receptor [J]. Nature, 2005, 435(7041): 446 - 451.
- [19] Benková E, Michniewicz M, Sauer M, *et al.* Local, efflux-dependent auxin gradients as a common module for plant organ formation [J]. Cell, 2003, 115(5): 591 - 602.
- [20] Spinelli S V, Martin A P, Viola I L, *et al.* A mechanistic link between STM and CUC1 during *Arabidopsis* development [J]. Plant physiology, 2011, 156(4): 1894 - 1904.
- [21] Xu L, Xu Y, Dong A, *et al.* Novel as1 and as2 defects in leaf adaxial-abaxial polarity reveal the requirement for ASYMMETRIC LEAVES1 and 2 and ERECTA functions in specifying leaf adaxial identity [J]. Development, 2003, 130(17): 4097 - 4107.
- [22] Coen E S, Meyerowitz E M. The war of the whorls: genetic interactions controlling flower development [J]. Nature, 1991, 353(6339): 31 - 37.
- [23] Ahn J H, Miller D, Winter V J, *et al.* A divergent external loop confers antagonistic activity on floral regulators FT and TFL1 [J]. The EMBO journal, 2006, 25(3): 605 - 614.