

被子植物成花诱导和性别决定机制的研究进展

丁一, 徐启江*

东北林业大学林木遗传育种国家重点实验室, 生命科学学院, 哈尔滨150040

摘要: 开花植物具有多样性的生殖系统, 其中单性花的形成是促进异交、避免自交衰退、保持遗传多样性的重要途径。单性花物种分布于被子植物不同进化分支上的事实表明, 物种的雌雄异花性可能是通过不同的机制进化形成的。本文从花发育、性染色体、植物激素和环境因素四个方面, 阐述了被子植物性别分化调控机制的研究进展。

关键词: 花发育; 单性花; 被子植物

Progress on Floral Induction and Sex Determination in Angiosperm

DING Yi, XU Qi-Jiang*

The State Key Laboratory of Tree Genetics and Breeding, College of Life Sciences, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China

Abstract: Flowering plants exhibit spectacular sexual diversity. The formation of unisexual flowers is thought to promote outcrossing, prevent inbreeding depression, and enhance genetic variability. These unisexual species are distributed throughout the angiosperm phylogeny, indicating that dicliny has evolved independently numerous times, likely through diverse mechanisms. The current progresses of the sex differentiation in angiosperm, including floral development sex chromosomes, plant hormones, and environmental factors, were reviewed in this paper.

Key words: floral development; unisexual flower; angiosperm

被子植物具有两性花(完全花)或单性花(不完全花)等多样性的有性生殖系统(Tanurdzic和Banks 2004)。在大约35万种被子植物中(Litt和Kramer 2010), 大多数种类能够形成兼具雄性功能和雌性功能的两性花, 但也有大约30%的种类会产生只具雄性功能或雌性功能的单性花(Richards 1997)。被子植物的性别状态可以从个体或群体水平上加以界定, 如雌雄同体(hermaphrodite)、雌雄同株(monoecism)、雌雄异株(dioecism)、雌花两性花异株(gynodioecism)和雄花两性花异株(andro dioecism)等。其中雌雄异株是被子植物性别分离的极端事例, 在被子植物中大约只占6% (Renner和Ricklefs 1995)。这些单性花物种分布于被子植物不同进化分支上的事实表明, 物种的雌雄异花性可能是通过不同机制而独立进化形成(Mitchell和Diggle 2005)。雌雄异花是避免自交衰退、促进异交、保持遗传多样性的一种策略, 其进化机制正日益受到生物学家的关注。

与动物的性别是在胚胎发育时期由性染色体决定不同, 植物的性别决定是由基因、环境和激素协同调控的动态过程, 性别表型决定机制具有

多样性, 如白麦瓶草(*Silene latifolia*)的性染色体决定机制; 玉米(*Zea mays*)和黄瓜(*Cucumis sativa*)的激素决定机制; 水蕨(*Ceratopteris richardii*)的信息素信号交联决定机制(Tanurdzic和Banks 2004)。目前, 对被子植物性别决定机制的研究主要集中于遗传性别决定(genetic sex determination, GSD)系统和环境性别决定(environmental sex determination, ESD)系统(Golenberg和West 2013)。在GSD中, 性别分离由通过减数分裂而发生分离的等位基因所决定, 其基因的表达模式不变但是基因的含量发生变化; 在ESD中, 性别分离是由外部因素调控基因表达所决定, 其基因含量恒定而表达模式具有多样性。实质上, 这两种性别决定系统的本质都是由基因调控, 其区别在于编码区和调控序列。被子植物的性别表型多样, 其调控机制复杂, 本文

收稿 2013-11-04 修定 2013-12-25

资助 林木遗传育种国家重点实验室(东北林业大学)创新项目(2013B010)、黑龙江省自然科学基金项目(C201016)、哈尔滨市科技创新人才专项资金项目(2013RFLXJ015)和农业部公益性行业项目(200903018-6-5)。

* 通讯作者(E-mail: qijiangxu@126.com; Tel: 0451-82191783)。

综述了被子植物性别决定机制的研究进展, 并对该领域未来的研究方向进行了展望。

1 被子植物性器官发育的分子基础

作为特有的创新性状和重要的生殖器官, 花的发育是被子植物生命周期中重要的一个综合发育过程, 包括开花诱导、信号传递、属性决定、器官发生, 涉及不同发育方式的转换, 既受环境因子(如光周期、温度等)的诱导, 又受到自身内部因素的调节, 经过一系列信号转导过程, 启动成花决定过程中的控制基因, 在复杂的基因互作网络调控下完成成花诱导, 营养茎端分生组织(vegetative meristem, VM)转变为花序分生组织(inflorescence meristem, IM), 然后在IM的侧翼形成花分生组织(floral meristem, FM), 分化出花器官。

1.1 开花诱导途径

研究者利用模式植物拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)做了大量遗传学研究, 鉴定出了180多个参与调控开花的基因, 并确定存在6条调控开花的信号途径: 即光周期途径(photoperiod pathway)、春化途径(vernalization pathway)、自主途径(autonomous pathway)、赤霉素途径(gibberellin pathway)、温敏途径(thermosensory pathway)和年龄途径(aging pathway) (Fornara等2010)。

1.1.1 光周期途径 对编码锌指转录因子的*CONSTANS (CO)*基因的时空表达模式进行调控是光周期诱导开花的关键, *CO*组成型表达诱导早开花并使植物失去对光周期的敏感性。在节律钟的调控下, *CO*的表达水平在一天内呈周期性振荡, 短日(short day, SD)条件下于黎明后20 h达到最高峰(Suárez-López等2001), 长日(long day, LD)条件下其表达高峰受*GIGANTEA (GI)*、*FLAVIN-BINDING KELCH REPEAT F-BOX 1 (FKF1)*和*CYCLINGDOF FACTOR1 (CDF1)*的调整。SD条件下, *GI*和*FKF1*分别于日出后7和10 h达到表达高峰(Fornara等2009), 不利于*GI/FKF1*复合体的形成。因此, 不能有效阻遏*CO*抑制子*CDF1*的表达。LD条件下, *GI*和*FKF1*均于黎明后13 h达到表达高峰, 解除*CDF1*对*CO*的表达抑制(Sawa等2007)。*CDF1*、*GI*和*FKF1*调控*CO*表达的具体机制如下: 在清晨*CDF1*首先与*CO*启动子结合, 待*GI*充分表达后, 形成*GI/CDF1*复合体抑制*CO*表达。一旦*FKF1*

蛋白达到峰值, *FKF1*与*GI/CDF1*作用使*CDF1*降解, 并通过*F-box*结构域激活*CO*表达。

*CO*不仅在转录水平上受调控, *CO*蛋白的稳定性和积累量也受到调控。*CONSTITUTIVELY PHOTOMORPHOGENIC (COP1)*和*SUPPRESSOR OF PHYA-105 (SPA)*在*CO*翻译后的调控过程中发挥核心作用。作为E3泛素连接酶, *COP1*在*CRY*下游通过26S蛋白酶体依赖的途径直接降解*CO* (Liu等2008a)。*SPA*则通过*COP1*介导的泛素化而降解*CO* (Laubinger等2006)。*PHYB*在白天最初的几个小时内使*CO*维持在较低水平, 之后随着*CRY*和*PHYA*的活化, *PHYB*的活性被抑制, *CO*表达量升高(Jang等2008)。

1.1.2 春化途径 *FRIGIDA (FRI)*和*FLOWERING LOCUS C (FLC)*是春化作用发生的核心因子。*FRI*通过与*CBC (cap binding complex)*相互作用而上调*FLC*的表达(Geraldo等2009)。春化低温起始沉默*FLC*表达, 然后保持*FLC*沉默状态。*VERNALIZATION-INSENSITIVE 3 (VIN3)*和*VERNALIZATION 1 (VRN1)*、*VRN2*在这个过程中起主要作用。低温诱导*VIN3*表达, *VIN3*与*PRC2 (PHD-polycomb repressive complex 2)*作用(de Lucia等2008)使*FLC*基因座的H3K27发生三甲基化修饰(Finnegan和Dennis 2007), H3K27me3是基因沉默的典型标签。*VIN3*的功能是在春化作用后建立对*FLC*的抑制, *VRN1*和*VRN2*则参与对*FLC*抑制的维持。此外, *COOLAIR (反义FLC RNA)* (Swiezewski等 2009)以及*FLC*正义链第1个内含子编码的*COLD ASSISTED INTRONIC NONCODING RNA (COLDAIR)*也参与对*FLC*的调控(Heo和Sung 2011)。*FLC*直接抑制*FT*、*SOC1*和*SEP3*的表达, 但也能促进开花抑制子*SMZ*和*TOE3*的表达(Deng等2011)。*FLC*还能直接调节影响童期向成年期转换的基因如*SPL15*, 说明*FLC*在此过程中发挥作用(Willmann和Poethig 2011)。

1.1.3 温敏途径 植物在营养生长阶段所处的环境温度也能影响开花。*FLOWERING LOCUS M (FLM)*和*SHORT VEGETATIVE PHASE (SVP)*是响应温敏途径的主要调节者。温度可以对*FLM* mRNA前体可变剪接位点的选择施加特异性影响, 说明温度依赖的*FLM* RNA可变剪接是开花的重要调节者(Balasubramanian等2006)。*MADS*盒蛋白*SVP*结

合在*FT*和*SOCI*启动子的CArG序列上发挥开花抑制子的作用(Lee等2007)。虽然SVP并不调控*FLC*的表达,但是两者具有相似的时空表达模式,ChIP(Chromatin immunoprecipitation)分析表明,SVP和*FLC*在*FT*和*SOCI*上具有共同的结合位点,说明SVP以依赖于*FLC*的方式调控*FT*和*SOCI*(Li等2008)。

1.1.4 GA途径 具有生物活性的GA由细胞质/细胞核定位受体GIBBERELLIC INSENSITIVE DWARF 1 (GID1)感知(Griffiths等2006)。GID1通过与GRAS家族的DELLA蛋白GIBBERELLIC ACID INSENSITIVE (GAI)、REPRESSOR OF GA1-3 (RGA)、RGA2LIKE 1 (RGAL1)相互作用而转导GA信号(Harberd等2009)。结合GA的GID1与DELLA蛋白的N末端结合而使之构象发生改变,促使E3泛素连接酶对其进行泛素化修饰,修饰后的DELLA蛋白通过26S蛋白酶体途径发生降解(Murase等2008)。因为DELLA蛋白与PHYTOCHROME INTERACTING FACTOR (PIF)直接相互作用而使之固定(Schwechheimer和Willige 2009),反义抑制PIF3可以诱导*CO*和*FT*表达,所以DELLA蛋白是光周期途径和GA途径整合点。

1.1.5 自主途径 自主途径的基因LUMINIDEP-*ENDENS* (*LD*)、*FCA*、*FY*、*FPA*、*FLOWERING LOCUS D* (*FLD*)、*FVE*、*FLK*和*REF6*通过抑制*FLC*表达而促进开花(Simpson 2004)。从具体功能上可将自主途径基因编码的蛋白质分为2类:染色质重塑因子和影响RNA加工的蛋白质。*FLD*通过阻止*FLC*的超乙酰化修饰而阻抑*FLC*的转录(He等2003);*FCA*含有2个RNA识别基序(RNA recognition motifs, RRM)和1个WW结构域,表明该蛋白质在RNA的转录后修饰过程中起作用。*FCA*与*FLC*的第6个外显子和第6个内含子序列结合反义RNA的多聚腺苷化位点(Liu等2007);与哺乳动物眼癌相关蛋白质RbAp46和RbAp48同源的*FVE*通过参与形成组蛋白脱乙酰基复合体而发挥作用(Ausín等2004);*FPA*蛋白含有3个RRM,与*FCA*以部分功能冗余的方式调控RNA介导染色质水平的*FLC*沉默。此外,*FPA*还参与RNA的可变剪接和多聚腺苷化(Horniyk等2010)。*FY*是一种RNA 3'-末端剪接因子,通过其C端的2个富含脯氨酸基序(PPLPP)与*FCA*的WW结构域相互作用而下调*FLC*(Simpson

等2003);*FLK*为RNA结合蛋白,*flk*在LD和SD条件下均表现为晚花,其原因是突变体的*FLC*表达激活,进而下调*SOCI*和*FT*(Lim等2004);作为转录调节子,含有2个双向核定位结构域和1个富含谷氨酸区的LD蛋白定位于细胞核调控*LFY*的启动子,同时也能与SUPPRESSOR OF FRIGIDA 4 (SUF4)结合阻止其对*FLC*基因座的作用(Kim等2006)。

1.2 花器官发育的ABCE模型

核心真双子叶植物的四轮花器官(萼片、花瓣、雄蕊和心皮)是由花分生组织属性基因激活的花器官特征属性基因所决定的,例如拟南芥A功能基因*AP1*和*AP2*、B功能基因*AP3*和*PISTILLATA* (*PT*)、C功能基因*AGAMOUS* (*AG*)、E功能基因*SEPALLATA1/2/3/4* (*SEPI/2/3/4*)。基于对拟南芥、金鱼草和矮牵牛等同源异型突变体研究,阐释了4类花器官同源异型基因(A、B、C和E)决定各花器官特征属性的分子机制(Coen和Meyerowitz 1991; Litt和Kramer 2010)。A+E功能基因控制萼片发育;A+B+E功能基因控制花瓣发育;B+C+E功能基因控制雄蕊发育;C+E功能基因控制雌蕊发育。除A功能基因*AP2*属于*APETALA2/EREBP*基因家族外,所有的A、B、C、E功能基因均属于MADS-box转录因子基因家族,以高度有序的MADS蛋白质复合体形式(Smaczniak等2012)结合在CArG序列[一致性序列: 5' CC(A/T)₆GG 3']序列上而激活靶基因的表达,如*FD*(Kaufmann等2010)、*UNUSUAL FLORAL ORGANS CRABS CLAW*(Wuest等2012)。

精确调控B和C功能基因的时空表达模式及表达水平是被子植物性器官发育所必需的。C功能基因在第3、4轮表达而发挥决定雄蕊和心皮特征属性的功能,如果该基因在四轮花器官中组成型表达,则导致花器官的同源异型转换,即萼片和花瓣分别转换为心皮和雄蕊。*AG*基因的弱突变体和RANi株系中,心皮发育缺陷,花分生组织失去确定性,但雄蕊的发育几乎未受影响(Sieburth等1995),表明雄蕊和心皮属性的确定与发育对*AG*表达水平的要求不同。

1.3 开花诱导途径的信号整合

来自多途径的开花信号被开花整合子*FLOWERING LOCUS T* (*FT*)和*SUPPRESSOR OF OVER-EXPRESSION OF CO1* (*SOCI*)所整合,进而激活花

分生组织属性基因 *APETALA1* (*API*) 和 *LEAFY* (*LFY*), 同时下调关键开花抑制基因 *FLOWERING LOCUS C* (*FLC*) 和 *SHORT VEGETATIVE PHASE* (*SVP*) 的表达, 使 IM 转变为 FM (Blázquez 和 Weigel 2000; Kumar 等 2012)。而维持 SAM 中心区处于营养发育阶段的开花抑制子即 *FT* 的同源基因 *TERMINAL FLOWER1* (*TFL1*) 通过拮抗 *LFY* 和 *API* 表达而维持 IM 的不确定性 (Jaeger 等 2013) (图 1-A)。

FT 与分生组织特异表达的 bZIP 类转录因子 *FD* 以及 14-3-3 在 SAM 内形成复合体激活 *API* 的表达 (Abe 等 2005; Wigge 等 2005; Taoka 等 2011)。*FT* 受光周期途径中 *CO* 的激活, 同时, 自主途径、温敏途径、春化途径及 *GA* 途径通过阻抑开花抑制子

FLOWERING LOCUS C-SHORT VEGETATIVE PHASE (*FLC-SVP*) 复合体而上调 *FT* 的表达。此外, *FT* 的表达还受抑制子的调控, 其直接抑制子包括含 *AP2* 结构域的 RAV 家族蛋白 *TEMPRANILLO1* (*TEM1*) 和 *TEM2* 以及 *miR172* 的靶点 *APETALA2*、*SCHLAFMÜTZE* (*SMZ*)、*SNARCHZAPFEN*、*TARGET OF EAT1* (*TOE1*)、*TOE2* 和 *TOE3* (Yant 等 2010), *FT* 也是 *FLC* 的直接作用位点 (Searle 等 2006)。

在 SAM, *FT-FD* 激活 MADS 域转录因子 *SOC1*, *SOC1* 与 *AGL24* 形成复合体直接促进花分生组织属性基因 *LFY* 的表达, 并通过 *LEY* 的介导而间接促进 *FT-FD* 的靶点花分生组织属性基因 *API* 的表达。*SOC1* 的表达不仅受到 *FLC*、*CO*、*GA* 信号的调控,

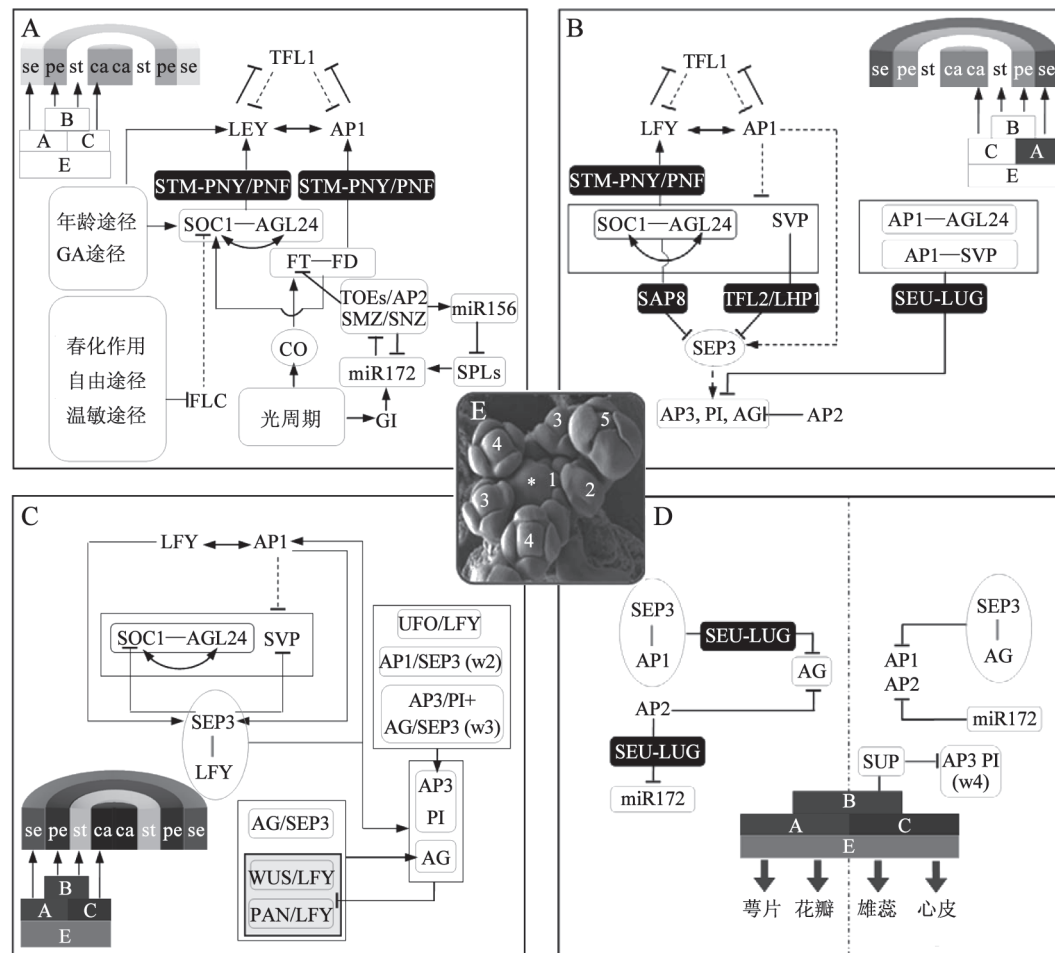


图1 花发育的遗传调控网络

Fig. 1 Dynamic genetic networks control flower development

A: 成花转变之前 (Jaeger 等 2013); B: 花分生组织发育的 1 和 2 阶段 (Gregis 等 2009); C: 花分生组织发育的 3 阶段 (Moyroud 等 2011); D: 花分生组织发育的 3 阶段 (Sridhar 等 2006); E: 羽衣甘蓝花原端的扫描电子显微镜图像。星号表示花序分生组织 (IM), 数字代表花芽发育的不同阶段。

与植株年龄调控开花途径相关联的miRNA156/SPL (SQUAMOSA BINDING FACTOR-LIKE)也能够上调SOC1 mRNA水平(Wang等2009)。SOC1正调开花功能的发挥与MADS盒蛋白AGL24的活性密切相关, 尽管SOC1和AGL24都受到春化作用的正调控, 与SOC1是FLC的直接靶点不同, AGL24诱导表达并不受FLC的调控(Michaels等2003)。SOC1和AGL24彼此上调对方的表达, 二者形成异源二聚体是SOC1定位于细胞核并与LFY启动子结合的先决条件(Lee等2008)。光周期途径的CO、GA途径以及年龄途径中miRNA156的靶标均促进SOC1的表达。FLC-SVP复合体抑制SOC1表达, 而SVP受自主途径、温敏途径和春化途径的调控(Lee和Lee 2010)。

LFY以与FT平行的途径激活花分生组织属性基因。此外, FT在SOC1的介导下也能激活LFY。同时, AP1和LFY互为激活子。调控开花时间和花发育的LFY除受SOC1调控外, 还受到GA (Eriksson等2006)以及miRNA156/SPL的调控(Yamaguchi等2005)。

FM的确定性起始于LFY和API的上调表达。在IM侧翼的花原基中, SOC1-AGL24复合体(Lee等2008)、SPL3 (Yamaguchi等2009)以及GAMYB33 (Gocal等2001)直接上调LFY的表达是VM-IM转换的第一个发育事件。最新研究表明, KNOTTED-LIKE同源框蛋白SHOOT MERSTEMLESS (STM)和BELL-like同源框(BELL-like homeobox, BLH)蛋白PENNYWISE (PNY)、POUND-FOOLISH(PNF)形成异源二聚体, 与SOC1-AGL24协同激活LFY的表达(Smith等2011)。此外, FT通过促进SOC1的表达而间接上调LFY的表达。在IM发育的后期, 通过维持花分生组织属性的正反馈环, AP1和LFY相互上调对方的表达。SPL3、SPL9以及FT-FD协同STM-PNY/PNF均能诱导API的表达(Wang等2009)。

SD条件下, *gal-3*突变体几乎检测不到SOC1的表达(Moon等2003), 外源GA上调SOC1表达水平, 表明GA在调控SOC1表达方面具有重要作用。外源GA也能上调AGL24转录水平, 这是一个SOC1依赖的信号途径, 因为*soc1-2*突变体完全阻止了外源GA上调AGL24的效应(Liu等2008)。与对照相比, GA处理的野生型植株其SOC1和AGL24转录水

平大幅上升, 未经GA处理的*soc1-2/agl24-1*双突变体在SD条件下不开花, 加之SOC1可以与AGL24启动子结合。这些证据表明, SOC1与AGL24以GA依赖的方式彼此调控对方。

作为开花抑制子及SOC1的负调因子, SVP也受GA的调控。GA处理野生型植株的SVP表达水平下降, 而*gal-3*突变体的SVP表达水平很高。因此, GA可以通过促进SOC1的诱导基因(如AGL24)的表达和下调开花抑制子(如SVP)而调控SOC1表达。

LFY和SOC1是GA途径、光周期途径和春化途径的整合点。LFY启动子含有MYB转录因子结合位点(Blázquez和Weigel 2000), MYB33结合在LFY启动子的GA响应元件上, GA激活LFY的表达而促进开花。MYB33及其旁系同源基因MYB65和MYB101受miRNA159调控(Palatnik等2003), 而DELLA蛋白具有下调miRNA159的功能, 这表明GA通过降解DELLA蛋白而介导了miRNA159对开花的调控(Achard等2004)。

1.4 花器官同源异型MADS-box基因的调控

花发育过程可以划分为几个固定的阶段, 其中阶段1和2只进行花原基的增生而不会发生分化, 未分化状态的维持需要SEP3处于沉默状态, 开花时间转录因子SVP、SOC1和AGL24以功能冗余的方式下调E功能基因SEP3的表达(图1-B)。在花发育阶段1和2, SVP高丰度表达, 但是, SOC1和AGL24的表达不易被检测到。然而, 遗传学分析表明, 只有在*agl24-1/svp-41*双突变体和*soc1-2/agl24-1/svp-41*三突变体中, SEP3才会发生异位表达, 证实在幼小花芽中SOC1和AGL24确实参与了对SEP3的表达抑制。SOC1/AGL24与SAP18相互作用而阻止SEP3基因座H3的乙酰化修饰, SVP则通过与TERMINAL FLOWER2/LIKEHETEROCHROMATIN PROTEIN1 (TFL2/LHP1)相互作用而间接引起组蛋白H3的lys27发生三甲基化修饰, 使SEP3染色质处于沉默状态(Li等2007)。

决定性器官属性的B和C功能基因不仅受SEP3的调控, 异源二聚体AP1-AGL24和AP1-SVP通过招募共阻遏复合体SEUSS-LEUNIG (SEU-LUG)而监控SEP3的表达(图1-B) (Gregis等2009), 在花发育阶段3的早期, AP1直接或通过LFY介导

间接促进*SEP3*的表达(图1-C) (Moyroud等2011)。AP1也能直接抑制*FD*和*FDP*的表达, 确保分生组织属性的快速转换及花器官形态发生。AP1直接抑制开花抑制子*TFL1*, 同时直接激活*LFY*及*AP2*、*AP3*和*SEP3* (Kaufmann等2010)。LFY在直接激活4轮花器官中的花器官同源异型基因的同时, 也能直接抑制*TFL1*的表达(Moyroud等2011)。

*SEP3*也具有双功能特征。一旦*SEP3*被激活表达, *SEP3*便与*LFY*共同在内三轮激活B和C功能基因的表达(Liu等2009)。此外, 通过上调*API*的表达, *SEP3*与*LFY*形成一个正反馈环(Kaufmann等2009), 该反馈环还通过*SEP3*直接下调*SOC1*和*SVP*。

B功能基因的表达受到关键调节因子的严密控制。LFY、UNUSUAL FLORAL ORGANS (UFO)和AP1在花发育的早期阶段激活*AP3*和*PI*的表达(Lamb等2002)。UFO编码一个F-box蛋白, 作用于还未经确认的*AP3*和*PI*转录抑制子, 使之被蛋白酶体所降解。同时, 作为LFY的转录辅因子, UFO通过LFY介导结合在*AP3*调节区而发挥LFY激活*AP3*转录的功能(Chae等2008)。AP3和*PI*的表达水平一旦建立, AP3和PI蛋白可能与*SEP3*形成正向自主调控复合体, 通过正反馈环维持自身表达水平。B功能基因被激活表达后, AP2和AG则限定B功能基因的表达量和表达区域。*ap2-2*突变体的*AP3*和*PI*表达水平下降、表达区域压缩, 而在*ag-1/ap2-2*双突变体中则恢复了*AP3*和*PI*的正常表达水平和表达区域。AP2通过拮抗AG的表达而促进B功能基因的表达(Zhao等2007)。特别是对*PI*而言, AP2是抑制*PI*在第4轮中表达所必需的。第3轮和第4轮的边界是由C₂H₂-型锌指蛋白建立SUPERMAN (SUP)所界定, AP3和PI参与激活SUP在第3轮内边界表达, 使*AP3*和*PI*的表达区域限定在第3轮(Sakai等1995) C功能基因的表达同样受到激活子复合体和抑制子复合体的调控, 包括激活AG表达的LFY、WUSCHEL (WUS)和PERIANTHA (PAN)以及抑制AG表达的AP2、LEUNIG (LUG)、SEUSS (SEU)、BELLRING ER (BLR)、RABBIT EARS (RBE)和CURLY LEAF (CLF)。

SEP3-AP1异源二聚体招募SEU-LUG而抑制AG在外两轮花器官中表达(图1-D) (Sridhar等2006)。

AP1和AG之间的抑制作用是双向的: 在花发育阶段3, AG与*SEP3*形成复合体而发挥抑制AP1在三、四轮表达的活性(Kaufmann等2009)。然而, AG与AP2间的抑制关系可能是单向的, AG并不会在转录水平上拮抗AP2的表达。AP2结合在AG的第2个内含子序列上而直接下调AG的表达(Yant等2010) (图1-C)。AP2的表达受miR172的调控(Chen 2004)。两者的表达区域呈现互补性, 从花发育的阶段2起, AP2在外两轮中表达, miR172在内两轮中表达, 类似于AG的表达模式(Wollmann等2010)。但是, 在第3轮生殖器官与花被的边界处, AP2与miR172存在暂时的表达区域重叠的现象, 说明miR172并不能完全抑制AP2的表达。尽管调控miR172在内轮花器官中特异表达的机制还不清楚, 但这种表达模式, 连同负调因子的存在和正调因子的缺乏, 足以解释AP2在内两轮无表达的原因。与之相反, 通过招募SEU-LUG共阻遏复合体直接下调miR172的表达, AP2在外两轮花器官中发挥特异性功能(Grigorova等2011)。AP2的表达受miR172的调控。AP2自身是一个双功能转录因子, 通过反馈环直接抑制miR172b的表达, 并直接激活miR172b的间接抑制子miR156e的表达; AP2还能通过直接激活AGL15的表达而强化自身功能, 同时直接抑制*SOC1*和*FRUITFUL (FUL)* (Yant等2010)。

SEU介导LUG与抑制AG转录的蛋白质AP1、*SEP3*、AGAMOUS LIKE 24 (AGL24)、SHORT VEGETATIVE PHASE (SVP)间的相互作用。在花分生组织还未形成花器官即花发育的早期阶段, AP1、AGL24和SVP形成的多聚复合体通过结合在AG第2个内含子序列上而抑制AG的转录(Gregis等2009), 在萼片原基起始发育的花发育第3阶段, AGL24和SVP消失, 而LEU/EU/EP3复合体在四轮花组织中均存在。因此, 在花发育的后期阶段, AG在第3和4轮中的特异抑制需要AP2、BLR和RBE的存在(Krizek等2006)。AG在第3和4轮中的激活需要LFY及其辅因子*SEP3*、WUS和PAN的存在, AG被激活后, AG蛋白通过负反馈环而抑制WUS和PAN的表达(Maier等2009)。同时, AG/*SEP3*复合体通过与AG的靶序列结合而实现AG的自激活, 使AG在第3、4轮中维持适当表达水平而发挥确定生殖器官属性及终止花分生组织的功能(Gomez-

Mena等2005)。AG/SEP3复合体的形成可能具有隔离SEP3、弱化SEP3/LEU/SEU抑制复合体形成从而解除AG转录抑制的作用(Sridhar等2006)。

miRNA也参与抑制C功能基因的表达,例如金鱼草的miRFIS和矮牵牛的miRBL抑制AG在一、二轮花器官中表达(Cartolano等2007)。这些miRNA可能通过降解编码NF-YA家族转录因子的转录物而抑制C功能基因的表达,而NF-YA家族转录因子是C功能基因表达的激活子。C功能基因的表达还受到染色质重塑因子CURLY LEAF (CLF)的调控,CLF属于PcG (polycomb group)蛋白,在营养组织和花中均发挥抑制AG表达的作用。

开花调节子以直接的方式激活花发育基因的表达,无需较长的信号级联途径。例如,FD可直接与API基因的启动子结合(Wigge等2005);通过直接控制LFY的辅助调节因子SEP3, SVP、SOC1和AGL24可以调控B和C功能基因的表达。SOC1和AGL24抑制SEP3表达可以阻止花器官提前形成(Liu等2009)。花发育基因不仅促进花器官的形成,还能关闭花原基中的开花时间基因。例如,在花发育早期阶段,API诱导SEP3表达的同时下调AGL24和SVP,API/SEP3复合体激活其他花器官同源基因而促进花器官的形成(Gregis等2008)。然而,从花发育第2阶段起,API结合在FD和FDP基因座上抑制这两个基因的表达(Kaufmann等2010),

SEP3与SOC1和SVP结合而抑制它们的表达,同时SEP3还激活数目众多的花器官同源异型基因,AP2与SOC1结合负调其表达(Yant等2010)。

2 被子植物单性花发育

2.1 单性花发育的形态学模式及其进化途径

单性花植物可分为雌雄异花同株(monoecious)和雌雄异花异株(dioecious),分别占被子植物的7%和6%(Renner和Ricklefs 1995)。被子植物性别分离的进化过程基本遵循从两性花转换为单性花、从两性花个体转换为单性花个体的途径(Kinney等2008),其中个体性别分离是雌雄同株(hermaphrodite)经过100多次独立进化而产生的(Charlesworth 2002)。功能性雄蕊和雌蕊的发育是一个极其复杂的生物学过程,涉及大量的基因,从原基起始至器官成熟的整个过程中,在任何发育点发生突变都会导致性器官的缺失或败育,导致单性花的形成(Ming等2011)。

关于雌雄异花物种的性别分化,从形态发生和发育过程而言,存在2条单性花的形成途径: I型单性花发育模式与II型单性花发育模式(Mitchell和Diggle 2005)。在I型单性花发育模式中,单性花经历雌雄同体阶段,所有的花器官原基均发生并起始发育,但性器官之一在随后的发育阶段退化或败育(Sherry等1993)(图2)。如玉米(*Zea mays*)(Cheng等1983)和白麦瓶草(*Silene latifolia*)(Farbos

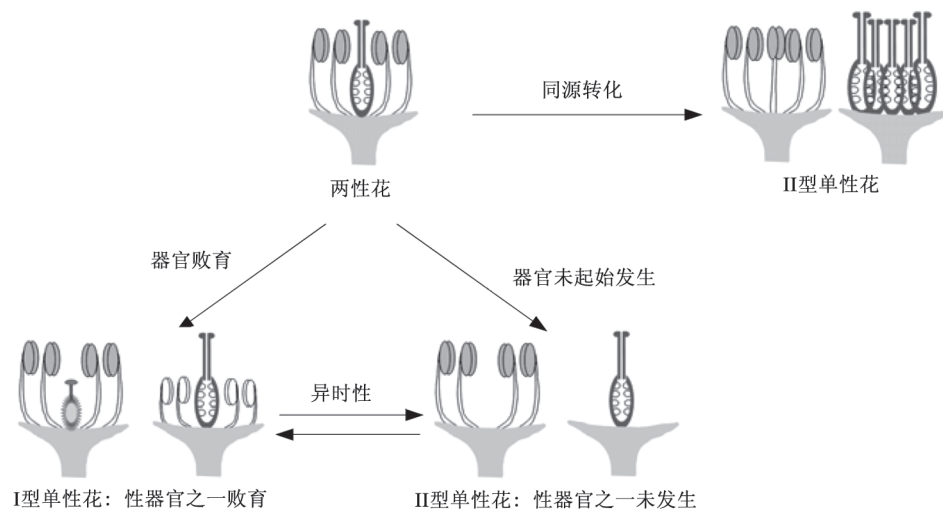


图2 两性花在进化转变过程通过5条发育饰变途径而形成单性花(Sherry等1993)

Fig.2 Five potential modes of developmental modification underlying the evolutionary transition from hermaphroditic to unisexual flower (Sherry et al 1993)

等1997)的单性花形成是异性原基的发育在早期阶段受到抑制的结果;单性花特征也可在花发育的晚期表现,即异性器官在发育晚期受到抑制,如葡萄(*Vitis vinifera*)雄花的心皮由于胚囊的败育而不育(Caporali等2003),薄叶棕竹(*Rhapis subtilis*)雌花形成的原因是由于花药不能产生功能性花粉(Dransfield等2008)。大多数雌雄异花物种是通过I型发育模式形成单性花的,如酸模(*Rumex acetosa*) (Ainsworth等1995)、白麦瓶草(*Silene latifolia*) (Farbos等1997)、黄瓜(*Cucumis sativus*) (Kater等2001)、芦笋(*Asparagus officinalis*) (Park等2003)和大叶桃花心木(*Swietenia macrophylla*) (Gouvêa等2008)等。在II型单性花发育模式中,花发育过程绕过雌雄同体发育阶段,特定生殖器官原基根本就没有发生,即在雄花中没有心皮原基的形成;同样在雌花中也没有雄蕊原基的形成(图2)。如菠菜(*Spinacia oleacea*) (Sherry等1993)、唐松草(*Thalictrum dioicum*) (Di Stilio等2005)、三叶杨(*Populus deltoides*) (Kaul 1995)、雪香兰(*Hedysmum orientale*) (崔永坤等2011)等。

这两种类型单性花的发育过程易于区别,但是,I型与II型单性花发育模式的进化起源却很难区分。两性花可能在进化转变过程通过5条发育饰变途径而形成单性花(图2): (1)起始发生后的雄蕊或雌蕊败育可能是进化简约(evolutionary reduction)结果,但是并没有完全从成熟的花(I型单性花)中消失; (2)性器官之一在成熟的花(II型单性花)中完全缺失; (3)性器官之一发生同源异型转化,增加了另一种性器官数目; *SUPERMAN* (*SUP*)和*B*功能基因可能在花器官同源异型转化过程中发挥着重要作用。*SUP*的作用是在雄蕊和心皮之间建立起边界,该基因突变会导致雄蕊原基分化区域扩展至本应分化雌蕊原基的区域(Smyth 2001); 决定雄蕊和心皮属性的*B*功能基因突变使雄蕊转化为心皮(Schwarz-Sommer等1990); (4)通过改变性器官败育的时期, I型单性花过渡形成II型单性花; (5)II型单性花也可能会形成I型单性花。总之,两性花可以通过多种机制在任何发育阶段终止雄蕊或雌蕊而进化形成单性花。

2.2 单性花形成的发育阶段

从缺乏原基起始到器官不能成熟,在花器官

发育任何阶段都可能会发生性器官功能的缺失而形成单性花。Diggle等将雄蕊或心皮败育的时期划分为4个阶段: 0期,器官败育发生在雄蕊或心皮原基产生之前; 1期,器官败育发生在雄蕊心或皮发育的早期; 2期,器官败育发生于减数分裂以前; 3期,器官败育发生于减数分裂以后(Diggle等2011)。无论是雌雄异花同株物种还是雌雄异株物种,其雌花和雄花的相应性器官在4个阶段发生败育的概率是相等的。器官发育停滞没有倾向于在某一特定阶段发生,说明在雄蕊或雌蕊发育过程中,不存在对单性花起源进化产生重复影响的特定关键阶段。有些物种其个体内或个体间发生性器官败育的时期不同。芦笋(*Asparagus officinalis*)雄花的雌蕊败育发生的时期从花芽形成后一直到减数分裂后(Caporali等1994)。藤地莓(*Epigaea repens*)雌性植株可以在无雄蕊发育至花药发育良好但无花粉的任何阶段终止雄蕊的发育(Clay和Ellstrand 1981)。个体间性器官败育时期的差异是遗传变异和环境影响的结果,而且雌、雄性器官的发育变异不存在关联性。此外,同科不同类群之间性器官发生败育的时期不同,例如仙人掌科(Cactaceae)植物的性器官发育停滞可以发生在从原基起始至开花过程中的任何一个时期,例如番木瓜(*Carica papaya*) (Decraene和Smets 1999)、多刺团扇(*Consolea spinosissima*) (Strittmatter等2002)的雄蕊败育分别发生在0、3和3期; 雌蕊败育分别发生在1、4和3期。

引发生殖器官败育而形成单性花的发育过程主要包括细胞死亡、程序性细胞凋亡(programmed cell death, PCD)、细胞薄壁化、发育停滞、发育时间变化、雌花中无花粉或花粉无萌发孔(Diggle等2011)。细胞死亡是单性花终止性器官发育主要策略。在雄花中,通过细胞死亡(包括PCD),玉米终止早期的雌蕊发育(Cheng等1983)、毛赤杨(*Thymelaea hirsuta*)终止减数分裂(Caporali等2006)。在雌花中,雄蕊组织的细胞死亡发生在黄瓜的雄蕊原基发生时(Bai等2004)、玉米的花药瓣形成后(Cheng等1983)、茜子掌(*Consolea spinosissima*)的绒毡层发育过程中(Strittmatter等2006)、白麦瓶草(*Silene latifolia*)的小孢子囊减数分裂前(Grant等2005)、芦笋(*Asparagus officinalis*)的减数分裂过程

中(Lazarte和Palsler 1979)。细胞薄壁化发生于玉米(Cheng等1983)、白麦瓶草(Grant等2005)、番木瓜(Decraene和Smets 1999)终止雌蕊发育的早期、海枣(*Phoenix dactylifera*) (Daher等2010)的雄蕊发育过程中。

虽然在花发育的任何阶段都可以发生性器官功能的缺失,但是与性器官败育、性别分化相关联的发育事件并不多,而且也不是性器官败育乃至花发育所特有的。植物体通过调动控制这些发育过程的调控元件而实现性别分化。

2.3 性器官缺失发育的分子基础

决定雄蕊和心皮特征属性的B和C类花器官同源异型MADS-box基因为研究因性器官缺失而形成的单性花(II型单性花)的分子遗传学基础提供了线索。唐松草(*Thalictrum dioicum*)的B和C类花器官特征决定基因在发育早期的雄花与雌花中表现出不同的表达模式, *ThdAG1*在雄花和雌花的生殖器官中均表达,而*ThdAG2*的表达具有心皮特异性,仅在雌花的生殖器官中表达。*ThdAP3-1*和*ThdPI*在雄花的雄蕊以及雄花和雌花的花被片中表达,而*ThdAP3-2a*和*ThdAP3-2b*仅在雄蕊中表达,对这些基因的表达调控是唐松草性别决定的分子基础(Di Stili等2005)。菠菜(*Spinacia oleracea*)的B功能基因*SpAP3*和*SpPI*在雄花的整个发育过程中均表达,但是在发育的雌花中却没有检测到这两个基因的表达,这与ABC模型B功能基因决定雄蕊属性的结论相一致(Pfent等2005); C功能基因*SpAG*在营养器官中无表达,仅在花组织中表达。而且,在第1轮花器官形成后, *SpAG*的表达被限定在起始生殖器官原基发育的分生组织区域内。*SpAG*起始表达先于生殖器官发育的事实,说明该基因直接参与菠菜性别二态性的形成(Sather等2005)。由于雌雄异株的花器官同源异型等位基因没有差异,那么这些的基因在雌、雄花中差异表达应该是性别特异性反式作用因子调控的结果。利用RNAi技术抑制菠菜雄性植株的B功能基因,则会导致功能性雌蕊的发育,证明B功能基因是雄性决定基因(Sather等2010)。单全异株番木瓜的3个B类基因在所有类型花的花瓣及雄蕊中表达;但*CpTM6-1*在萼片和心皮内的表达水平较低,而*CpTM6-2*虽然在萼片内表现为低水平表达,但在叶片中却表现为强

表达。这种表达水平差异表明*CpTM6-1*、*CpTM6-2*和*CpPI*在基因复制后发生了功能分化(Ackerman等2005);此外*CpPLE*、*CpSTK*和*CpFUL*参与了性别决定(Yu等2008)。杨树的花器官特征决定基因同样在性别决定方面发挥着特定的作用(Sheppard等2000)。已有的研究表明,雌雄异株单性花植物的花器官属性决定参与了II型单性花的形成。然而,在整个被子植物类群中,雌雄异株类群独立进化了100多次, B-和C-功能MADS-box基因在调控被子植物性别二态性方面的功能也必然会发生变化,因此,我们认为非常有必要选取其他雌雄异株单性花物种对花发育调控的关键基因进行深入的功能解析,研究其调控单性花发育机理的共性和个性。

2.4 性器官败育的分子基础

目前,关于麦瓶草属I型单性花发育的分子遗传学机理研究的较为清楚。与唐松草、菠菜不同, I型单性花植物如白麦瓶草、酸模在性别分化之前,雌、雄花B和C功能基因的表达模式并没有发生改变,器官败育过程中伴随着B和C功能基因的表达(Ainsworth等1995; Kazama等2005)。目前已经从白麦瓶草中克隆了性别差异表达的基因,如*Men-9* (Robertson等1997)、*MK17* (Hobza等2006)、*Serendip2*、*Men-470*和*CCLS79.1* (Zluvova等2010),但是具体的功能和调控机制还不清楚。于拟南芥中阻止B类花器官特征决定基因在第4轮中表达的*SUP*基因同源的*SISUP*只在雄花中表达,具有性别特异表达的特征(Kazama等2009)。雄性特异性表达*CUP-SHAPED COTYLEDON 1 (CUC1)*、*CUC2*和*SHOOT MERISTEMLESS (STM)*先于雌蕊败育表达,说明这些基因特异性表达模式是性别分化的结果而不是性别分化的原因(Zluvova等2006)。

根据目前已有的研究结果,还很难在I型单性花物种和II型单性花物种建立起调控性别决定的通用遗传网络。对II型单性花物种而言,调控器官原基发生和决定器官属性的基因应该是性别决定途径中关键点,例如直接或间接决定器官属性与数目的B和C类基因。对I型单性花物种(特别是雌雄异花同株物种)而言,器官败育或发育停滞与植物激素信号途径相关。但是, I型单性花形成的组织、细胞和亚细胞过程还不清楚,需要从分子水

平整合已有的发育途径和调控机制,从而建立起清晰的调控单性花发育的分子网络。

3 性染色体决定的性别分化系统

被子植物单性花的进化是一个复杂进化发育过程。其复杂性在于我们如何定义性别决定,如何区分基因性别决定机制与环境性别决定机制在雌雄同株、雌雄异株的性别分化中发挥的作用,以及如何界定此二者在性别可塑性和不同性别决定系统中的选择作用。因为物种进化的连续性和独立性,注定了被子植物性别分化决定机制的复杂多样与不统一性。

在众多雌雄异株的植物当中,只有一小部分才进化出性染色体。对于这部分雌雄异株被子植物而言,依赖性染色体的存在而决定植株性别是其性别分化的主要机制。在自然界进化过程中,出现了两种决定被子植物性别的性染色体体系:XY体系(包括ZW体系),X/A(常染色体)平衡体系。前者的代表植物有白麦瓶草(*Silene latifolia*)、番木瓜(*Carica papaya*)与芦笋(*Asparagus officinalis*),后者的代表植物有酸模(*Rumex acetosa*)与大麻(*Cannabis sativa*)。

3.1 性染色体的进化过程

性染色体的进化过程细分为六个时期(Ming等2011)。第一个时期的代表植物为弗州草莓(*Fragaria virginiana*),在这个时期在染色体上极为贴近的位置发生了突变因此产生了具有互补显性的雄性或雌性不育突变体。雄性不育的产生是由于XY系统内产生了Y功能缺失的突变,而雌性不育是因为显性的Y-相关等位基因引起了雌配子体的败育。这个情况在ZW决定性别的体系中是相反的,在这个体系中雌性是异形配子体,Z-相关的雌性不育等位基因引起ZZ型雄性的发育,W-相关的雄性不育基因引起ZW雌性的发育。雌性或雄性不育位点的重组是不受抑制的,因此在这类植物中存在雌雄同体和中间形态的植株。第二个时期代表植物为芦笋,这个时期的雌性雄性不育位点的重组是受抑制的,并且该位点的临近区域导致了退化过程的起始,在原始Y染色体上形成了一个小的雄性特异区域。这个阶段的第二种形态是YY基因型是可行的并且存在了全雄植株。第三个时期代表植物为番木瓜,重组的抑制扩散至临

近区域使得大量Y-相关基因退化并在早期的Y染色体上形成了雄性特异区域。雄性特定区域的扩大通过逆转录转座子和移位和基因组片段的复制来完成。XY染色体在这个时期从细胞学角度来看形态是相同的,但是从分子角度来看是异形的。基因容量的缺失足够引起YY基因型生物体的死亡(Charlesworth和Charlesworth 2000)。第四个时期代表植物为白麦瓶草(*Silene latifolia*),雄性特定区域扩展到大部分的Y染色体上,并且引起了进一步的退化。大量的雄性特定区域转座子和复制的积累导致了DNA含量的扩大。在这个时期XY染色体从细胞学角度来看是异形的,并且Y染色体可能比X染色体要大(Delph等 2010)。第五个时期代表植物为裸子植物苏铁(*Cycas revolute*),这个时期的Y染色体发生了严重的退化并由此引发了大量基因功能的缺失,Y染色体上无功能序列的丢失导致了Y染色体的缩减。一些染色体组系统可能不经历这个Y染色体缩减的阶段而是保持Y染色体形态的扩大和退化直到Y染色体完全丢失。在另一些物种中,一小部分的Y染色体持续和X染色体配对并在减数分裂中分离,目前已知的被子植物染色体不存在这种类型。第六个时期代表植物为酸模(*Rumex acetosea*),染色体间的重组扩展至整个Y染色体。Y染色体大小进一步缩减并完全丢失重组的拟常态染色体区域。Y染色体完全丢失并形成了一种新的基于X/常染色体的性别决定系统,一个新的Y染色体可能形成但是在性别决定中不起作用。

3.2 XY体系

白麦瓶草是XY体系的代表,其染色体组型为 $2n=24$ 。雌株染色体组成为 $22A+XX$,雄株染色体组成为 $22A+XY$ 。白麦草作为典型的XY染色体性别决定体系,单一的Y染色体就可以决定植株的性别,而后期植物激素或其他外界因素不能将其逆转。

因为只有雄株白麦瓶草才具有Y染色体,暗示着Y染色体决定着白麦瓶草的性别(Matsunaga等1996)。研究发现白麦瓶草Y染色体上具备至少3套Y染色体连锁基因:雄性致育性基因、雄性促进基因和雌性抑制基因(Ming等2007)。目前已分离的性别连锁基因包括MROS1、MROS2、MROS3

和MROS4、X-Y染色体上差异显示基因DD44X/DD44Y、白麦瓶草Y/X染色体基因SLY1/SLX1、SLY3/SLX3、SLY4/SLX4、SLY6a/SLX6a、SLY6b/SLX6b、SLY7/SLX7、SLY9/SLX9、SLCypX/SLCypY、SLssX/SLssY、MADS-box基因SLAP3A、SLAP3Y、SLSEP1、SLSEP3、SLMF1。其中MROS1、MROS2、MROS4、SISEP1、SISEP3位于常染色体上, MROS3-Y退化失去活性。

组织学研究结果显示, 白麦瓶草雄花分生组织的中心部位细胞分裂减少进而导致雌蕊发育受到抑制, 而从白麦瓶草中克隆出的拟南芥同源基因STM、CUC1和CUC2恰好在抑制雄花的雌蕊发育中起到类似的作用。杂交分析表明, 这些基因在白麦瓶草雄花芽中特异表达, 且可在雄性结构成型前被检测到。由此暗示STM、CUC1和CUC2可能是白麦草雄性性别决定基因(Zluvova等2005)。另一候选基因SLSUP与拟南芥SUP同源。该基因在雌花中特异表达, 导入SUP基因缺陷的拟南芥突变体sup可弥补雄蕊过度发育的现象。由此暗示SLSUP是白麦瓶草雌花特异基因(Kazama 2009)。

确定模式植物白麦瓶草Y染色体上的性别决定基因, 对于研究被子植物性染色体的进化过程有非常重要的作用。通常认为性染色体由常染色体演变而来, X染色体被认为保留了多数原始基因, 而Y染色体上的对应部位却发生了退化(Bachtrog 2006)。X、Y染色体间的重组抑制被认为是性染色体进化的机制, 该机制可能与染色体倒位有关(Kejnovsky和Vyskot 2010)。

3.3 X/A平衡体系

酸模是X/常染色体平衡体系的代表, 具有异型性染色体。其雌株的染色体组组成为 $2n=12A+XX$, 雄株的染色体组组成为 $2n=12A+XY_1Y_2$ 。由此可见酸模的染色体组并非整倍体, 且与典型的XY决定性别的白麦瓶草有所不同。在白麦瓶草中, Y染色体的存在即能决定植株的性别。而在酸模中, Y染色体却对性别决定不起作用。酸模的性别与性染色体与常染色体(A)的比值有关。如果 $X:A \geq 1$ (XX:AA)时, 植株为雌性。当 $X:A \leq 0.5$ (XY:AA)时, 植株便为雄性。而当三倍体中出现XXYY:AAA的比例时, 比例在0.5~1.0之间则会出现两性花植株(Parker和Clark 1991)。

FISH结果显示, 酸模中 Y_1Y_2 两条染色体上有许多重复序列(Shibata等2000), 运用染色体微分离技术及RAPD分子标记分别获得 Y_1Y_2 染色体重复卫星序列, 其中最显著的就是RAYSI (Mariotti等2006)。实验结果显示, 酸模中两个Y染色体上的重复序列极为相似, 说明 Y_1Y_2 两条染色体有可能来自于同一条原始Y染色体。系统发育研究推测, 酸模的性别决定机制是由XY性别决定机制演化而来(Mariotti等2009)。Y染色体上的序列复制扩增有利于Y染色体的重组进化。

4 激素基因互做决定的性别分化系统

与单纯的雌雄异株植物相比, 雌雄同株植物的性别决定方式相比要复杂的多, 例如玉米(*Zea mays*)、黄瓜(*Cucumis sativus*)和甜瓜(*Cucumis melo*), 它们的染色体组中并不存在性染色体, 它们的性别决定方式是遗传因素调控植物激素和环境因素相互作用的结果。而植物激素如赤霉素(gibberellin, GA)、茉莉酸(jasmonate, JA)和乙烯(ethylene)等与模式植物间的互作关系被了解的最为深入。

4.1 赤霉素、茉莉酸与基因互作体系

玉米作为重要的农作物, 是典型的雌雄同株异花植物。它的雄穗(tassel)生长于茎端, 雌穗(ear)生长在叶腋处, 雄穗与雌穗中的最基本单位小穗均包含第一小花(上位花)与第二小花(下位花)。成熟的雄小穗中两朵雄性小花均可育, 而成熟的雌小穗中只有第一小花可育, 第二小花在发育中已经退化(Cheng等1983)。

研究表明, 玉米单性花的形成是由于花器官原基选择性败育所致。在性别分化之前, 玉米的雌雄花序具有相同的组织结构。性别分化程序启动之后, 雄穗中的雌蕊原基高度液泡化。以4',6-二脒基-2-苯基吲哚二羟基氯(4',6-diamidine-2-phenylindole dihydrochloride, DAPI)对细胞染色, 发现雄穗中雌蕊原基发生细胞核降解进而发生细胞程序性死亡(Calderon-Urrea和Dellaporta 1999)。而在雌蕊发生退化的雌穗中, DAPI染色结果显示雌蕊原基并未发生细胞核降解(Kim等2007)。研究显示, 雌蕊原基中缺乏细胞周期蛋白B基因(CYCLIN B)的表达, 而该蛋白质是从G₁期进入M期所必须的蛋白(Fung和Poon 2005)。同时败育的雌蕊中过量表达WEE1基因, 而WEE1基因编码的一

种Thr/Tyr蛋白激酶能对有丝分裂进行负调控(Murakami和VandeWoude 1998)。雌穗中雌蕊的败育机制与雄穗中雌蕊的败育机制完全不同。

4.1.1 赤霉素与雌性化基因 不同浓度的赤霉素处理玉米可阻止雄穗中雌蕊的败育而形成两性花,而且雌性化雄穗中的内源赤霉素水平远远高于正常雄穗。由此可推断,赤霉素的水平可影响玉米性别分化,高水平的赤霉素将诱导植株趋向雌性发育。

玉米的突变体根据表型可分为两大类:雄性化突变体和雌性化突变体。雄性化突变体又称矮化突变体,其表型突变表现在雌穗中雌花的第一小花转变为两性花,第二小花转变为雄性花(Della-porta和Calderon-Urrea 1994)。根据赤霉素对突变体表型的补偿作用又可细分为两类:一类为突变体*anther ear (an1)*与*dwarf (d1、d2、d3、d5)*,可通过外源施加赤霉素弥补其突变现象,其突变机理被证实与赤霉素合成途径缺陷有关。*D1*编码的多功能酶控制 $GA_{20} \rightarrow GA_1$ 、 $GA_{20} \rightarrow GA$ 、 $GA_5 \rightarrow GA_3$ 的反应步骤(Spray等1996)。*D3*编码的细胞色素酶催化 $GA_{12} \rightarrow GA_{53}$ 的反应(Winkler和Helentjaris 1995)。*ANI*编码环化酶(cyclase),与*D5*先后参与贝壳杉烯(ent-kaurene)的生物合成(Bensen等1995)。另一类为显性突变体*dwarf (D8、D9、D9为D8的等位基因)*对外源赤霉素无反应,实验证实其内源赤霉素水平正常(Fujioka等1988)。研究表明*D8*编码的蛋白质与拟南芥*GIBBERELLIN INSENSITIVE*同源,能够负调控赤霉素合成途径,因此作用于赤霉素传导途径而非生成途径(Peng等1999)。由此可见相关基因通过调控赤霉素生成与传播途径,促进雌穗中雌蕊退化并抑制雄穗中心皮败育(Chunk 2010)。与以上突变体不同,另一种雄性化突变体*silkless1 (sk1)*的雄穗发育正常而雌穗中雌蕊败育,推测*SKI*基因为雌蕊发育所必需。

4.1.2 茉莉酸与雄性化基因 茉莉酸及其衍生物广泛存在于植物的各个器官中,它参与植物包括生长发育在内的多种生理代谢的信号转导过程。近期研究发现,茉莉酸能够催化玉米的雄性化发育。

玉米雌性化突变体*tassel seed (ts)*的植株具有趋雌性,雄穗小花中本该败育的雌蕊继续发育而雌蕊的生长却受到抑制,因此突变形成具有功能

活性的雌花,授粉后能够产生雄穗结实(tassel seed)现象。*ts*突变体也可分为两类:第一类包括*ts1*、*ts2*和显性突变*Ts3*与*Ts5*,这类突变体的雄穗小花完全转变成雌穗小花。第二类突变体*ts4*与*Ts6*的植株在花序上产生不正常分支(Irish等1994)。现已克隆*TS1*基因,该基因与位于质粒的13-脂肪加氧酶(13-lipoxygenases, 13-LO)高度同源,13-LO在茉莉酸的生物合成中起重要作用。检测缺失*TS1*基因的突变体*ts1*,结果发现其内院茉莉酸浓度降低至野生型的十分之一(Acosta等2009)。*TS2*基因编码一种鱼羟基类固醇脱氢酶同源的酶(Delong等1993),其作用底物可能为茉莉酸代谢途径的中间产物。现已证实*TS2*是雌蕊细胞的拟细胞死亡因子,*TS1*为积累*TS2* RNA所必需。对突变体*ts1*和*ts2*施加外源茉莉酸又可使其发育回复正常。

4.2 乙烯与基因互作体系

黄瓜(*Cucumis sativus*)植株大体可分为两性花植株、雌雄异花同株、雌雄异株。在花器官发育早期具有雌蕊原基与雄蕊原基。然而,在性别分化机制启动以后,雄花中心皮原基以及雌花中的雄性结构如花丝并未败育,而是发育迟缓。

黄瓜是作为研究被子植物性别的模式植物,其性别主要受3个基因控制:*F/f*、*A/a*、*M/m*。其中*F/f*为半显性控制雌性程度的基因。*A/a*基因位于*F*基因上游同为雌性发育所必需,研究结果显示隐性基因*f*与*a*的结合能增加植物的趋雄性。*M/m*基因则是决定雄性器官是否败育,隐性基因*m*可能具有加强雄性发育的作用。

除去自身遗传因素外,黄瓜的性别还与植物激素作用有关。多种实验证明,乙烯的水平会影响黄瓜性别的分化。例如外源施加乙烯抑制剂如赤霉素等,将会抑制雌花促进雄花的发育;若外援施加赤霉素抑制剂如生长素、乙烯利等,又可以通过诱导乙烯的合成进而促进雌花的发育。因此目前认为,乙烯是雌花的促进剂,而赤霉素是雄花的促进剂。

乙烯的合成途径研究较为深入:甲硫氨酸 $\rightarrow S$ -腺苷甲硫氨酸(SAM) $\rightarrow 1$ -氨基环丙烷-1-羧酸(ACC) \rightarrow 乙烯。其中催化SAM形成ACC的ACC合成酶(ACC synthase, ACS)是乙烯合成途径中的一个重要限速酶。植物中ACS是一个庞大的基因家

族, 早期从黄瓜中克隆得到三个ACS基因分别为CS-ACSI (Trebitch等1997)、CS-ACS2 (Kamachi等1997)、CS-ACS3 (Shiomi等1998), 以简并寡核苷酸为引物对CS-ACSI进行PCR扩增并进行Southern blotting分析, 从纯雌株中得到另一个ACS基因CS-ACSIG, 发现其与F基因座之间的相关性为100%, 由此可知CS-ACSIG与F/f之间密切相关, 后续实验证明CS-ACSIG是显性F基因的等位基因(Mibus和Tatioglu 2004)。采用图位克隆鉴定M基因是ACC合成酶基因, m基因由于基因座突变而失去ACC酶活性。CS-ACS2序列分析发现黄瓜中存在4个同等型的CS-ACS2, 位于雄花两性花植株中3个同等型酶无活性, 位于雌雄异花的酶却保持活性(Li等2009)。Yamasaki等证实对于比雌雄异花同株(MMff)及雌株(MMFF)来说, 外源乙烯的作用对雄花两性花同株(mmff)的植物影响不大(Yamasaki等2001)。因此推测M基因的候选基因可能是CS-ACS2, 其基因产物能够调控乙烯信号的转导, 而F基因产物通过调控内源乙烯水平进而影响黄瓜性别分化。

5 环境胁迫与性别决定

与遗传机制所控制的稳定性别决定不同, 环境因子可以通过调控特异基因的表达而诱导植物的性别转换(Korpelainen 1998)。非生物环境因子通过扰乱正常的生理学过程而导致性别决定基因表达模式的改变, 环境胁迫如干旱、低温、弱光、营养匮乏、pH值过低、氮肥不足均利于雄性生殖器官的发育。干旱是使植物雄性化的重要因素, 通过干旱胁迫可以促进雄性植株的形成, 例如, 增加雌雄异花同株个体的雄花数; 在雌雄异株或者雄性两性花异株中增加雄性植株数量, 以及在雌花两性花同株植物、雌花两性花异株植物中增加雌雄异花同株的比例。具有这类性别可塑性植物包括北美刺龙葵(*Solanum carolinense*) (Solomon 1985)、秋水仙(*Colchicum stevenii*) (Dafni和Shmida 2003)、非洲油棕(*Elaeis guineensis*) (Adam等2011)。但是, 褐脉槭(*Acer rufinerve*)在干旱胁迫下产生更多的雌花(Nanami等2004)。

其他促进植物生长和繁育的外界因素如强光照、施肥有利于增加雌花或雌性株的比例。但是同样存在例外, 与预期结果一致, 北美刺龙葵

(*Solanum carolinense*)在暗处理和干旱状态下其雄性株的比例增加, 在富含营养的土壤中也能增加雄性株而不是雌性株的比例(Solomon 1985)。在异常环境条件下, 植物性别的易变性表明植物不能维持性别决定基因的正常表达模式也许是适应环境变化的一种策略。大多数多年生植物都具有性别可塑性特征, 而且木本植物的性别改变还会受到生殖策略如种子传播方式的影响(Takagi和Togashi 2012)。

6 展望

目前研究表明, 表观遗传通过DNA甲基化, 组蛋白修饰, 染色质重塑等方面调控基因表达进而也可以影响植物的性别分化。表观遗传(epigenetics)基因功能的改变并未牵涉到DNA的序列, 但又可以通过细胞的有丝分裂而遗传。例如用5-氮胞苷(5-azacytidine)处理白麦瓶草, 将会导致其部分雄株转变成雌花两性花植株。这是由于5-氮胞苷引起了DNA过甲基化和蛋白H4过乙酰化进而致使Y染色体连锁的雌蕊抑制因子失活。

综上所述, 被子植物的性别决定主要受性染色体Y、性染色体X与常染色体比例、植物激素反作用于基因, 外界环境以及表观遗传等多种因素共同作用。被子植物植株又可细分为雌雄异株、两性花植株, 雌雄同株包括雌雄异花同株, 雌花两性花同株, 雄花两性花同株, 因此被子植物性别分化机制错综复杂。目前在致力于研究其他模式植物如芦笋的性别分化机制同时, 有关性别分化的基因也被陆续克隆并确定了部分基因功能。然而环境因素诱导激素交叉通路的机制还不是很明确, 有待进一步了解。通过了解被子植物的性别分化机制有助于了解植物体内染色体进化史, 进一步明确被子植物进化的机制。

参考文献

- 崔永坤, 徐启江, 孙永华, 孟征(2011). 基部被子植物雪香兰(金粟兰科)单性花的形态发生和发育. 植物学通报, 46 (5): 489-497
- Abe M, Kobayashi Y, Yamamoto S, Daimon Y, Yamaguchi A, Ikeda Y, Ichinoki H, Notaguchi M, Goto K, Araki T (2005). FD, a bZIP protein mediating signals from the floral pathway integrator FT at the shoot apex. Science, 309: 1052-1056
- Achard P, Herr A, Baulcombe D, Harberd N (2004). Modulation of floral development by a gibberellin-regulated microRNA. Development, 131: 3357-3365
- Ackerman CM, Yu Q, Kim S, Paull RE, Moore PH, Ming R (2005).

- B-class MADS-box genes in *trioecious papaya*: two paleo *AP3* paralogs, *CpTM6-1* and *CpTM6-2*, and a *PI* ortholog *CpPI*. *Planta*, 227: 741~753
- Acosta IF, Laparra H, Romero SP, Schmelz E, Hamberg M, Mottinger JP, Moreno MA, Dellaporta SL (2009). *Tasselseed1* is a lipoxygenase affecting jasmonic acid signaling in sex determination of maize. *Science*, 323: 262~265
- Adam H, Collin M, Richaud F, Beule T, Cros D, Omoro A, Nodichao L, Nouy B, Tregear JW (2011). Environmental regulation of sex determination in oil palm: current knowledge and insights from other species. *Ann Bot*, 108: 1529~1537
- Ainsworth C, Crossley S, Buchanan-Wollaston V, Thangavelu M, Parker J (1995). Male and female flowers of the dioecious plant sorrel show different patterns of MADS box gene expression. *Plant Cell*, 7: 1583~1598
- Ainsworth C, Rahman A, Parker J, Edwards G (2005). Intersex inflorescences of *Rumex acetosa* demonstrate that sex determination is unique to each flower. *New Phytol*, 165: 711~720
- Ausin I, Alonso-Blanco C, Jarillo J, Ruiz-García L, Martínez-Zapater J (2004). Regulation of flowering time by FVE, a retinoblastoma-associated protein. *Nat Genet*, 36: 162~166
- Bachtrog D (2006). A dynamic view of sex chromosome evolution. *Curr Opin Gen Dev*, 16: 578~585
- Bai SL, Peng YB, Cui JX, Gu HT, Xu LY, Li YQ, Xu ZH, Bai SN (2004). Development analyses reveal early arrests of the spore-bearing parts of reproductive organs in unisexual flowers of cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Planta*, 220: 230~240
- Balasubramanian S, Sureshkumar S, Lempe J, Weigel D (2006). Potent induction of *Arabidopsis thaliana* flowering by elevated growth temperature. *PLOS Genetics*, 2: 980~989
- Bensen RJ, Johal GS, Crane VC, Tossberg JT, Schnable PS, Meeley RB, Briggs SP (1995). Cloning and characterization of the maize *An1* gene. *Plant Cell*, 7: 75~84
- Blázquez MA, Weigel D (2000). Integration of floral inductive signals in *Arabidopsis*. *Nature*, 404: 889~892
- Calderon-Urrea A, Dellaporta SL (1999). Cell death and cell protection genes determine the fate of pistils in maize. *Development*, 126: 435~441
- Caporali E, Carboni A, Galli MG, Rossi G, Spada A, Marziani-Longo GP (1994). Development of male and female flower in *Asparagus officinalis*. Search for point of transition from hermaphroditic to unisexual developmental pathway. *Sex Plant Reprod*, 7: 239~249
- Caporali E, Spada A, Marziani G, Failla O, Scienza A (2003). The arrest of development of abortive reproductive organs in the unisexual flower of *Vitis vinifera* ssp. *silvestris*. *Sex Plant Reprod*, 15: 291~300
- Caporali E, Roccotiello E, Cornara L, Casazza G, Minuto L (2006). An anatomical study of floral variation in *Thymelaea hirsuta* (L.) Endl. related to sexual dimorphism. *Plant Biosys*, 140: 123~131
- Cartolano M, Castillo R, Efreмова N, Kuckenberг M, Zethof J, Gerats T, Schwarz-Sommer Z, Vandenbussche M (2007). A conserved microRNA module exerts homeotic control over *Petunia hybrida* and *Antirrhinum majus* floral organ identity. *Nat Genet*, 39: 901~905
- Chae E, Tan QK, Hill TA, Irish VF (2008). An *Arabidopsis* F-box protein acts as a transcriptional co-factor to regulate floral development. *Development*, 135: 1235~1245
- Charlesworth B, Charlesworth D (2000). The degeneration of Y chromosomes. *Phil Trans R Soc Lond B*, 355 (1403): 1563~1572
- Charlesworth D (2002). Plant sex determination and sex chromosomes. *Heredity*, 88: 94~101
- Chen X (2004). A microRNA as a translational repressor of *APETALA2* in *Arabidopsis* flower development. *Science*, 303: 2022~2025
- Cheng PC, Greyson RI, Walden DB (1983). Organ initiation and the development of unisexual flowers in the tassel and ear of *Zea mays*. *Amer J Bot*, 70: 450~462
- Chunk G (2010). Molecular mechanisms of sex determination in monoecious and dioecious plants. *Adv Bot Res*, 54: 65~83
- Clay K, Ellstrand N (1981). Styler polymorphism in *Epigaea repens*, a dioecious species. *Bull Torrey Bot Club*, 108: 305~310
- Coen ES, Meyerowitz EM (1991). The war of the whorls: Genetic interactions controlling flower development. *Nature*, 353: 31~37
- Dafni A, Shmida A (2003). Andromonecy in *Colchicum stevenii* C Koch (*Liliaceae*)—Frequency, phenology, and reserve allocation. *Israel J Plant Sci*, 50: 51~57
- Daher A, Adam H, Chabrilange N, Collin M, Mohamed N, Tregear JW, Aberlenc-Bertossi F (2010). Cell cycle arrest characterizes the transition from a bisexual floral bud to a unisexual flower in *Phoenix dactylifera*. *Ann Bot*, 106: 255~266
- Decraene LPR, Smets EF (1999). The floral development and anatomy of *Carica papaya* (Caricaceae). *Can J Bot*, 77: 582~598
- Dellaporta SL, Calderon-Urrea A (1994). The sex determination process in maize. *Science*, 266: 1501~1505
- Delong A, Calderon-Urrea A, Dellaporta SL (1993). Sex determination gene *TASSELSEED2* of maize encodes a short-chain alcohol dehydrogenase required for stage-specific floral organ abortion. *Cell*, 74: 757~768
- Delph LF, Arntz AM, Scotti-Saintagne C, Scotti I (2010). The genomic architecture of sexual dimorphism in the dioecious plant *Silene latifolia*. *Evolution*, 64: 2873~2886
- De Lucia F, Crevillen P, Jones AM, Greb T, Dean C (2008). A PHD-polycomb repressive complex 2 triggers the epigenetic silencing of *FLC* during vernalization. *Proc Natl Acad Sci USA*, 105: 16831~16836
- Di Stilio VS, Kramer EM, Baum DA (2005). Floral MADS box genes and homeotic gender dimorphism in *Thalictrum dioicum* (Ranunculaceae) — a new model for the study of dioecy. *Plant J*, 41: 755~766
- Diggle PK, Di Stilio VS, Gschwend AR, Golenberg EM, Moore RC, Russell JRW, Sinclair JP (2011). Multiple developmental processes underlie sex differentiation in angiosperms. *Trends Gene*, 27: 368~376
- Dransfield J, Uhl NW, Amussen CB, Baker WJ, Harley M, Lewis CL (2008). *Genera Palmarum. The Evolution and Classification of Palms*. Kew: Royal Botanic Gardens, 732
- Eriksson S, Böhlenius H, Moritz T, Nilsson O (2006). *GA₄* is the

- active gibberellin in the regulation of *LEAFY* transcription and *Arabidopsis* floral initiation. *Plant Cell*, 18: 2172~2181
- Farbos I, Oliveira M, Negrutiu I, Mouras A (1997). Sex organ determination and differentiation in the dioecious plant *Melandrium album* (*Silene latifolia*): a cytological and histological analysis. *Sex Plant Reprod*, 10: 155~167
- Finnegan EJ, Dennis ES (2007). Vernalization-induced trimethylation of histone H3 lysine 27 at FLC is not maintained in mitotically quiescent cells. *Curr Biol*, 17: 1978~1983
- Fornara F, de Montaigu A, Coupland G (2010). SnapShot: control of flowering in *Arabidopsis*. *Cell*, 141: 550~550
- Fornara F, Panigrahi K, Gissot L, Sauerbrunn N, Rühl M, Jarillo J, Coupland G (2009). *Arabidopsis* DOF transcription factors act redundantly to reduce *CONSTANS* expression and are essential for a photoperiodic flowering response. *Dev Cell*, 17: 75~86
- Fujioka S, Yamane H, Spray CR, Katsumi M, Phinney BO, Gaskin P, MacMillan J, Takahashi N (1988). The dominant non-gibberellin-responding dwarf (*D8*) of maize accumulates native gibberellins. *Proc Natl Acad Sci USA*, 85: 9031~9035
- Fung TK, Poon RYC (2005). A roller coaster ride with the mitotic cyclins. *Semin Cell Develop Biol*, 16: 335~342
- Geraldo N, Bäurle I, Kidou S, Hu X, Dean C (2009). FRIGIDA delays flowering in *Arabidopsis* via a cotranscriptional mechanism involving direct interaction with the nuclear cap-binding complex. *Plant Physiol*, 150: 1611~1618
- Gocal GF, Sheldon CC, Gubler F, Moritz T, Bagnall DJ, MacMillan CP, Li SF, Parish RW, Dennis ES, Weigel D et al (2001). *GAMYB-like* genes, flowering, and gibberellin signaling in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 127: 1682~1693
- Golenberg EM, West NW (2013). Hormonal interactions and gene regulation can link monoecy and environmental plasticity to the evolution of dioecy in plants. *Amer J Bot*, 100: 1022~1037
- Gomez-Mena C, de Folter S, Costa MM, Angenent GC, Sablowski R (2005). Transcriptional program controlled by the floral homeotic gene *AGAMOUS* during early organogenesis. *Development*, 132: 429~438
- Gouvêa CF, Dornelas MC, Martinelli AP (2008). Characterization of unisexual flower development in the endangered mahogany tree *Swietenia macrophylla* King. (Meliaceae). *Bot J Lin Soc*, 156: 529~535
- Grant S, Houben A, Vyskot B, Siroky J, Pan WH, Macas J, Saedler H (2005). Genetics of sex determination in flowering plants. *Develop Genet*, 15: 214~230
- Gregis V, Sessa A, Colombo L, Kater MM (2008). *AGAMOUSLIKE24* and *SHORT VEGETATIVE PHASE* determine floral meristem identity in *Arabidopsis*. *Plant J*, 56: 891~902
- Gregis V, Sessa A, Dorca-Fornell C, Kater MM (2009). The *Arabidopsis* floral meristem identity genes *API*, *AGL24* and *SVP* directly repress class B and C floral homeotic genes. *Plant J*, 60: 626~637
- Griffiths J, Murase K, Rieu I, Zentella R, Zhang Z, Powers S, Gong F, Phillips A, Hedden P, Sun T et al (2006). Genetic characterization and functional analysis of the *GID1* gibberellin receptors in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 18: 3399~3414
- Grigorova B, Mara C, Hollender C, Sijacic P, Chen X, Liu Z (2011). LEUNIG and SEUSS co-repressors regulate *miR172* expression in *Arabidopsis* flowers. *Development*, 138: 2451~2456
- Harberd NP, Belfield E, Yasumura Y (2009). The angiosperm gibberellin-GID1-DELLA growth regulatory mechanism: how an 'inhibitor of an inhibitor' enables flexible response to fluctuating environments. *Plant Cell*, 21: 1328~1339
- He Y, Michaels S, Amasino R (2003). Regulation of flowering time by histone acetylation in *Arabidopsis*. *Science*, 302: 1751~1754
- Heo JB, Sung S (2011). Vernalization-mediated epigenetic silencing by a long intronic noncoding RNA. *Science*, 331: 76~79
- Hobza R, Hrusakova P, Safar J, Bartos J, Janousek B, Zluvova J, Michu E, Dolezel J, Vyskot B (2006). *MK17*, a specific marker closely linked to the gynoeceum suppression region on the Y chromosome in *Silene latifolia*. *Theor Appl Genet*, 113: 280~287
- Horniyk C, Terzi LC, Simpson GG (2010). The spen family protein FPA controls alternative cleavage and polyadenylation of RNA. *Dev Cell*, 18: 203~213
- Irish EE, Langdale JA, Nelson TM (1994). Interactions between tasselseed genes and other sex determining genes in maize. *Develop Genet*, 15: 155~171
- Jaeger KE, Pullen N, Lamzin S, Morris RJ, Wigge PA (2013). Interlocking feedback loops govern the dynamic behavior of the floral transition in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 25: 820~833
- Jang S, Marchal V, Panigrahi K, Wenkel S, Soppe W, Deng X, Valverde F, Coupland G (2008). *Arabidopsis* COP1 shapes the temporal pattern of CO accumulation conferring a photoperiodic flowering response. *EMBO J*, 27: 1277~1288
- Kamachi S, Sekimoto H, Kondo N, Sakai S (1997). Cloning of a cDNA for a 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase that is expressed during development of female flowers at the spines of *Cucumis sativus* L. *Plant Cell Physiol*, 38: 1197~1206
- Kazama Y, Fujiwara MT, Koizumi A, Nishihara K, Nishiyama R, Kifune E, Abe T, Kawano S (2009). A *SUPERMAN-like* gene is exclusively expressed in female flowers of the dioecious plant *Silene latifolia*. *Plant Cell Physiol*, 50: 1127~1141
- Kazama Y, Koizumi A, Uchida W, Ageez A, Kawano S (2005). Expression of the floral B-function gene *SLM2* in female flowers of *Silene latifolia* infected with the smut fungus *Microbotryum violaceum*. *Plant Cell Physiol*, 46: 806~811
- Kater MM, Franken J, Carney KJ, Colombo L, Angenent G (2001). Sex determination in the monoecious species cucumber is confined to specific floral whorls. *Plant Cell*, 13: 481~493
- Kaufmann K, Muiño JM, Jauregui R, Airoidi CA, Smaczniak C, Krajewski P, Angenent GC (2009). Target genes of the MADS transcription factor *SEPALLATA3*: integration of developmental and hormonal pathways in the *Arabidopsis* flower. *PLoS Biol*, 7: 854~875
- Kaufmann K, Wellmer F, Muiño JM, Ferrier T, Wuest SE, Kumar V, Serrano-Mislata A, Madueño F, Krajewski P, Meyerowitz EM et al (2010). Orchestration of floral initiation by *APETALA1*. *Science*, 328: 85~89
- Kaul RB (1995). Reproductive structure and organogenesis in a cottonwood, *Populus deltoides* (Salicaceae). *Internat J Plant Sci*, 156: 172~180

- Kejnovsky E, Vyskot B (2010). *Silene latifolia*: The classical model to study heteromorphic sex chromosomes. *Cytogenet Genome Res*, 129: 250~262
- Kim JC, Laparra H, Calderon-Urrea A, Mottinger JP, Moreno MA, Dellaporta SL (2007). Cell cycle arrest of stamen initials in maize sex determination. *Genetics*, 177: 2547~2551
- Kim S, Choi K, Park C, Hwang HJ, Lee I (2006). *SUPPRESSOR OF FRIGIDA4*, encoding a C₂H₂-type zinc finger protein, represses flowering by transcriptional activation of *Arabidopsis FLOWERING LOCUS C*. *Plant Cell*, 18: 2985~2998
- Kinney MS, Columbus JT, Friar EA (2008). Unisexual flower, spikelet, and inflorescence development in monoecious/dioecious *Bouteloua Dimorpha* (Poaceae, Chloridoideae). *Amer J Bot*, 95: 123~132
- Korpelainen H (1998). Labile sex expression in plants. *Biologic Rev Camb Philosophic Soc*, 73: 157~180
- Krizek BA, Lewis MW, Fletcher JC (2006). RABBIT EARS is a second-whorl repressor of *AGAMOUS* that maintains spatial boundaries in *Arabidopsis* flowers. *Plant J*, 45: 369~383
- Kumar SV, Lucyshyn D, Jaeger KE, Alós E, Alvey E, Harberd NP, Wigge PA (2012). Transcription factor PIF4 controls the thermosensory activation of flowering. *Nature*, 484: 242~245
- Lamb RS, Hill TA, Tan QK, Irish VF (2002). Regulation of *APETALA3* floral homeotic gene expression by meristem identity genes. *Development*, 129: 2079~2086
- Laubinger S, Marchal V, Le Gourrierec J, Gentilhomme J, Wenkel S, Adrian J, Jang S, Kulajta C, Braun H, Coupland G et al (2006). *Arabidopsis* SPA proteins regulate photoperiodic flowering and interact with the floral inducer CONSTANS to regulate its stability. *Development*, 133: 3213~3222
- Lazarte J, Palser B (1979). Morphology, vascular anatomy and embryology of pistillate and staminate flowers of *Asparagus officinalis*. *Amer J Bot*, 66: 753~764
- Lee J, Lee I (2010). Regulation and function of SOC1, a flowering pathway integrator. *J Exp Bot*, 61: 2247~2254
- Lee J, Oh M, Park H, Lee I (2008). SOC1 translocated to the nucleus by interaction with AGL24 directly regulates *LEAFY*. *Plant J*, 55: 832~843
- Lee J, Yoo S, Park S, Hwang I, Lee J, Ahn J (2007). Role of SVP in the control of flowering time by ambient temperature in *Arabidopsis*. *Gene Dev*, 21: 397~402
- Li B, Carey M, Workman JL (2007). The role of chromatin during transcription. *Cell*, 128: 707~719
- Li D, Liu C, Shen L, Wu Y, Chen H, Robertson M, Helliwell C, Ito T, Meyerowitz E, Yu H (2008). A repressor complex governs the integration of flowering signals in *Arabidopsis*. *Dev Cell*, 15: 110~120
- Li Z, Huang SW, Liu SQ, Pan J, Zhang ZH, Tao QY, Shi QX, Jia ZQ, Zhang WW, Chen HM et al (2009). Molecular isolation of the *M* gene suggests that a conserved-residue conversion induces the formation of bisexual flowers in cucumber plants. *Genetics*, 182: 1381~1385
- Lim MH, Kim J, Kim YS, Chung KS, Seo YH, Lee I, Hong CB, Kim HJ, Park CM (2004). A new *Arabidopsis* gene, *FLK*, encodes an RNA binding protein with K homology motifs and regulates flowering time via *FLOWERING LOCUS C*. *Plant Cell*, 16: 731~740
- Litt A, Kramer EM (2010). The ABC model and the diversification of floral organ identity. *Semin Cell Dev Biol*, 21: 129~137
- Liu C, Chen H, Er H, Soo H, Kumar P, Han J, Liou Y, Yu H (2008). Direct interaction of AGL24 and SOC1 integrates flowering signals in *Arabidopsis*. *Development*, 135: 1481~1491
- Liu C, Xi W, Shen L, Tan C, Yu H (2009). Regulation of floral patterning by flowering time genes. *Dev Cell*, 16: 711~722
- Liu F, Quesada V, Crevillén P, Bäurle I, Swiezewski S, Dean C (2007). The *Arabidopsis* RNA-binding protein FCA requires a lysine-specific demethylase 1 homolog to downregulate *FLC*. *Mol Cell*, 28: 398~407
- Liu L, Zhang Y, Li Q, Sang Y, Mao J, Lian H, Wang L, Yang H (2008). COP1-mediated ubiquitination of CONSTANS is implicated in cryptochrome regulation of flowering in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 20: 292~306
- Maier AT, Stehling-Sun S, Wollmann H, Demar M, Hong RL, Haubeiss S, Weigel D, Lohmann JU (2009). Dual roles of the bZIP transcription factor PERIANTHIA in the control of floral architecture and homeotic gene expression. *Development*, 136: 1613~1620
- Mariotti B, Manzano S, Kejnovský E, Vyskot B, Jamilena M (2009). Accumulation of Y-specific satellite DNAs during the evolution of *Rumex acetosa* sex chromosomes. *Mol Genet Genom*, 281: 249~259
- Mariotti B, Navajas-Pérez R, Lozano R, Parker JS, Herrán R, Rejón CR, Rejón MR, Garrido-Ramos M, Jamilena M (2006). Cloning and characterization of dispersed repetitive DNA derived from microdissected sex chromosomes of *Rumex acetosa*. *Genome*, 49: 114~121
- Matsunaga S, Kawano S, Takano H, Uchida H, Sakai A, Kuroiwa T (1996). Isolation and developmental expression of male reproductive organ-specific genes in a dioecious campion, *Melandrium album* (*Silene latifolia*). *Plant J*, 10: 679~689
- Mibus H, Tatioglu T (2004). Molecular characterization and isolation of the *F/f* gene for femaleness in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Theor Appl Genet*, 109: 1669~1676
- Michaels SD, Ditta G, Gustafson-Brown C, Pelaz S, Yanofsky M, Amasino RM (2003). AGL24 acts as a promoter of flowering in *Arabidopsis* and is positively regulated by vernalization. *Plant J*, 33: 867~874
- Ming R, Bendahmane A, Renner SS (2011). Sex chromosomes in land plants. *Annu Rev Plant Biol*, 62: 485~514
- Ming R, Wang J, Moore PH, Paterson AH (2007). Sex chromosomes in flowering plants. *Amer J Bot*, 94: 141~150
- Mitchell CH, Diggle PK (2005). The evolution of unisexual flowers: morphological and functional convergence results from diverse development transitions. *Amer J Bot*, 92: 1068~1076
- Moon J, Suh S, Lee H, Choi K, Hong C, Paek N, Kim S, Lee I (2003). The *SOC1* MADS-box gene integrates vernalization and gibberellin signals for flowering in *Arabidopsis*. *Plant J*, 35: 613~623
- Moyroud E, Minguet EG, Ott F, Yant L, Posé D, Monniaux M, Blanchet S, Bastien O, Thévenon E, Weigel D et al (2011).

- Prediction of regulatory interactions from genome sequences using a biophysical model for the *Arabidopsis* *LEAFY* transcription factor. *Plant Cell*, 23: 1293~1306
- Murakami MS, Vande Woude GF (1998). Analysis of the early embryonic cell cycles of *Xenopus*; regulation of cell cycle length by Xee-1 and Mos. *Development*, 125: 237~248
- Murase K, Hirano Y, Sun T, Hakoshima T (2008). Gibberellin-induced DELLA recognition by the gibberellin receptor GID1. *Nature*, 456: 459~463
- Nanami S, Kawaguchi H, Yamakura T (2004). Sex change towards female in dying *Acer rufinerve* trees. *Ann Bot*, 93: 733~740
- Palatnik JF, Allen E, Wu X, Schommer C, Schwab R, Carrington JC, Weigel D (2003). Control of leaf morphogenesis by microRNAs. *Nature*, 425: 257~263
- Park JH, Ishikawa Y, Yoshida R, Kanno A, Kameya T (2003). Expression of *AODEF*, a B-functional MADS-box gene, in stamens and inner tepals of the dioecious species *Asparagus officinalis* L. *Plant Mol Biol*, 51: 867~875
- Parker JS, Clark MS (1991). Dosage sex-chromosome systems in plants. *Plant Sci*, 80: 79~92
- Peng J, Richards DE, Hartley NM, Murphy GP, Devos KM, Flintham JE, Beales J, Fish LJ, Worland AJ, Pelica F et al (1999). Green revolution's genes encode mutant gibberellin response modulators. *Nature*, 400: 256~261
- Pfent C, Pobursky KJ, Sather DN, Golenberg EM (2005). Characterization of *SpAPETALA3* and *SpPISTILLATA*, B class floral identity genes in *Spinacia oleracea*, and their relationship to sexual dimorphism. *Develop Genes Evolut*, 215: 132~142
- Renner SS, Ricklefs RE (1995). Dioecy and its correlates in the flowering plants. *Amer J Bot*, 82: 596~606
- Richards AJ (1997). *Plant Breeding Systems* (2nd ed). London: Chapman and Hall, 529~529
- Robertson SE, Li Y, Scutt CP, Willis ME, Gilmartin PM (1997). Spatial expression dynamics of *Men-9* delineate the third floral whorl in male and female flowers of dioecious *Silene latifolia*. *Plant J*, 12: 155~168
- Sakai H, Medrano LJ, Meyerowitz EM (1995). Role of *SUPERMAN* in maintaining *Arabidopsis* floral whorl boundaries. *Nature*, 378: 199~202
- Sather DN, Jovanovic M, Golenberg EM (2010). Functional analysis of B and C class floral organ genes in spinach demonstrates their role in sexual dimorphism. *BMC Plant Biol*, 10: 1~14
- Sather DN, York A, Pobursky KJ, Golenberg EM (2005). Sequence evolution and sex-specific expression patterns of the C class floral identity gene, *SpAGAMOUS*, in dioecious *Spinacia oleracea* L. *Planta*, 222: 284~292
- Sawa M, Nusinow D, Kay S, Imaizumi T (2007). FKF1 and GIGANTEA complex formation is required for day-length measurement in *Arabidopsis*. *Science*, 318: 261~265
- Schwarz-Sommer Z, Huijser P, Nacken W, Saedler H, Sommer H (1990). Genetic control of flower development by homeotic genes in *Antirrhinum majus*. *Science*, 250: 931~936
- Schwechheimer C, Willige BC (2009). Shedding light on gibberellic acid signalling. *Curr Opin Plant Biol*, 12: 57~62
- Searle I, He Y, Turck F, Vincent C, Fornara F, Krober S, Amasino RA, Coupland G (2006). The transcription factor FLC confers a flowering response to vernalization by repressing meristem competence and systemic signaling in *Arabidopsis*. *Gene Dev*, 20: 898~912
- Sheppard LA, Brunner AM, Krutovskii KV, Rottmann WH, Skinner JS, Vollmer SS, Strauss SH (2000). A *DEFICIENS* homolog from the dioecious tree black cottonwood is expressed in female and male floral meristems of the two-whorled, unisexual flowers. *Plant Physiol*, 124: 627~639
- Sherry RA, Eckard KJ, Lord EM (1993). Flower development in dioecious *Spinacia oleracea* (Chenopodiaceae). *Amer J Bot*, 80: 283~291
- Shibata F, Hizume M, Kuroki Y (2000). Differentiation and the polymorphic nature of the Y chromosome revealed by repetitive sequence in the dioecious plant, *Rumex acetosa*. *Chrom Res*, 8: 229~236
- Shiomi S, Yamamoto M, Ono T, Kakiuchi K, Nakamoto J, Kubo Y, Nakamura R, Inaba A, Imaseki H (1998). cDNA cloning of ACC synthase and ACC oxidase genes in cucumber fruit and their differential expression by wounding and auxin. *J Jap Soc Hort Sci*, 67: 685~692
- Sieburth LE, Running MP, Meyerowitz EM (1995). Genetic separation of third and fourth whorl functions of *AGAMOUS*. *Plant Cell*, 7: 1249~1258
- Simpson GG (2004). The autonomous pathway: epigenetic and post-transcriptional gene regulation in the control of *Arabidopsis* flowering time. *Curr Opin Plant Biol*, 7: 570~574
- Simpson GG, Dijkwel PP, Quesada V, Henderson I, Dean C (2003). FY is an RNA 3' end-processing factor that interacts with FCA to control the *Arabidopsis* floral transition. *Cell*, 113: 777~787
- Smaczniak C, Immink RG, Muiño JM, Blanvillain R, Busscher M, Busscher-Lange J, Dinh QD, Liu S, Westphal AH, Boeren S et al (2012). Characterization of MADS-domain transcription factor complexes in *Arabidopsis* flower development. *Proc Natl Acad Sci USA*, 109: 1560~1565
- Smith HMS, Ung N, Lal S, Courtier J (2011). Specification of reproductive meristems requires the combined function of SHOOT MERISTEMLESS and floral integrators FLOWERING LOCUS T and FD during *Arabidopsis* inflorescence development. *J Exp Bot*, 62: 583~593
- Smyth DR (2001). Flower development. *Curr Biol*, 10: 82~84
- Solomon B (1985). Environmentally influenced changes in sex expression in an andromonoecious plant. *Ecology*, 66: 1321~1332
- Spray CR, Kobayashi M, Suzuki Y, Phinney BO, Gaskin P, MacMillan J (1996). The *dwarf-1* (*d1*) mutant of *Zea mays* blocks three steps in the gibberellin-biosynthetic pathway. *Proc Natl Acad Sci USA*, 93: 10515~10518
- Sridhar VV, Surendrarao A, Liu Z (2006). APETALA1 and SEPALLATA3 interact with SEUSS to mediate transcription repression during flower development. *Development*, 133: 3159~3166
- Strittmatter LI, Negrón-Ortiz V, Hickey RJ (2002). Subdioecy in *Consolea spinosissima* (Cactaceae): breeding system and embryological studies. *Amer J Bot*, 89: 1373~1387

- Strittmatter LI, Negron-Ortiz V, Hickey JR (2006). Comparative microsporangium development in male-fertile and male-sterile flowers of *Consolea* (Cactaceae): when and how does pollen abortion occur. *Grana*, 45: 81~100
- Suárez-López P, Wheatley K, Robson F, Onouchi H, Valverde F, Coupland G (2001). CONSTANS mediates between the circadian clock and the control of flowering in *Arabidopsis*. *Nature*, 410: 1116~1120
- Swiezewski S, Liu F, Magusin A, Dean C (2009). Cold-induced silencing by long antisense transcripts of an *Arabidopsis* Polycomb target. *Nature*, 462: 799~802
- Takagi E, Togashi K (2012). Evidence of sex change in *Ilex integra*. *Botany*, 90: 75~78
- Tanurdzic M, Banks JA (2004). Sex-determining mechanisms in land plants. *Plant Cell*, 16: 61~71
- Taoka K, Ohki I, Tsuji H, Furuita K, Hayashi K, Yanase T, Yamaguchi M, Nakashima C, Purwestri YA, Tamaki S et al (2011). 14-3-3 proteins act as intracellular receptors for rice Hd3a florigen. *Nature*, 476: 332~335
- Trebitsh T, Staub JE, O'Neill SD (1997). Identification of a 1-aminocyclopropane-1-carboxylate acid synthase gene linked to the *female* (*F*) locus that enhances sex in cucumber. *Plant Physiol*, 113: 987~995
- Wang JW, Czech B, Weigel D (2009). *miR156*-regulated *SPL* transcription factors define an endogenous flowering pathway in *Arabidopsis thaliana*. *Cell*, 138: 738~749
- Wigge PA, Kim MC, Jaeger KE, Busch W, Schmid M, Lohmann JU, Weigel D (2005). Integration of spatial and temporal information during floral induction in *Arabidopsis*. *Science*, 309: 1056~1059
- Willmann MR, Poethig RS (2011). The effect of the floral repressor FLC on the timing and progression of vegetative phase change in *Arabidopsis*. *Development*, 138: 677~685
- Winkler RG, Helentjaris T (1995). The maize *Dwarf3* gene encodes a cytochrome P450-mediated early step in gibberellin biosynthesis. *Plant Cell*, 7: 1307~1317
- Wollmann H, Mica E, Todesco M, Long JA, Weigel D (2010). On reconciling the interactions between *APETALA2*, *miR172* and *AGAMOUS* with the ABC model of flower development. *Development*, 137: 3633~3642
- Wuest SE, O'Maoileidigh DS, Rae L, Kwasniewska K, Raganelli A, Hanczaryk K, Lohan AJ, Loftus B, Graciet E, Wellmer F (2012). Molecular basis for the specification of floral organs by *APETALA3* and *PISTILLATA*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 109: 13452~13457
- Yamaguchi A, Wu MF, Yang L, Wu G, Poethig RS, Wagner D (2009). The microRNA-regulated SBP-Box transcription factor SPL3 is a direct upstream activator of *LEAFY*, *FRUITFULL*, and *APETALA1*. *Dev Cell*, 17: 268~278
- Yamasaki S, Fujii N, Matsuura S, Mizusawa H, Takahashi H (2001). The *M* locus and ethylene-controlled sex determination in andromonoecious cucumber plants. *Plant Cell Physiol*, 42: 608~619
- Yant L, Mathieu J, Dinh TT, Ott F, Lanz C, Wollmann H, Chen X, Schmid M (2010). Orchestration of the floral transition and floral development in *Arabidopsis* by the bifunctional transcription factor *APETALA2*. *Plant Cell*, 22: 2156~2170
- Yu Q, Steiger D, Kramer EM, Moore PH, Ming R (2008). Floral MADS-box genes in *Trioeocious Papaya*: characterization of *AG* and *API* subfamily genes revealed a sex-type-specific gene. *Tropic Plant Biol*, 1: 97~107
- Zhao L, Kim Y, Dinh TT, Chen X (2007). *MIR172* regulates stem cell fate and defines the inner boundary of *APETALA3* and *PISTILLATA* expression domain in *Arabidopsis* floral meristems. *Plant J*, 51: 840~849
- Zluvova J, Janousek B, Negrutiu I, Vyskot B (2005). Comparison of the X and Y chromosome organization in *Silene latifolia*. *Genetics*, 170: 1431~1434
- Zluvova J, Nicolas M, Berger A, Negrutiu I, Monéger F (2006). Premature arrest of the male flower meristem precedes sexual dimorphism in the dioecious plant *Silene latifolia*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 103: 18854~18859
- Zluvova J, Zak J, Janousek B, Vyskot B (2010). Dioecious *Silene latifolia* plants show sexual dimorphism in the vegetative stage. *BMC Plant Biol*, 10: 1~5