

## 光周期途径成花关键基因 *CONSTANS* 的进化机制

帅敏敏, 张启香, 黄有军

(浙江农林大学 林业与生物技术学院, 浙江 杭州 311300)

**摘要:** *CONSTANS(CO)* 是植物响应光周期调节的重要基因和监测日照长度的重要元件, 可将光信号和生物钟信号转变为开花信号, 激活下游基因 (*FT*) 的表达, 从而诱导植物开花。选取 14 个已被测序的物种, 采用生物信息学手段, 从外显子-内含子结构、基因重复、基因差异表达等方面开展 CO 基因家族研究。结果表明: 14 个物种共鉴定到 159 个 CO 家族成员, CO 基因常以多拷贝的形式存在, 多数含 2~4 个外显子, 在进化过程中表现出多样性。CO 家族重复基因的扩张与基因组重复相关。CO 在水稻 *Oryza sativa* 根、旗叶、花和种子中均有表达, 花芽到花的转变过程中 *OsCO3* 的表达量上升, 而 *OsCO7* 下降, 说明水稻 CO 家族成员之间存在功能差异。图 5 参 25

**关键词:** 植物学; CO; CO 家族; 光周期途径; 系统发育; 基因复制

中图分类号: S722

文献标志码: A

文章编号: 2095-0756(2019)01-0007-07

## Evolution of the flowering time gene *CONSTANS* in a photoperiod pathway

SHUAI Minmin, ZHANG Qixiang, HUANG Youjun

(School of Forestry and Biotechnology, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, Zhejiang, China)

**Abstract:** *CONSTANS (CO)*, an essential element for monitoring the duration of a day and an important gene responding to photoperiod regulation, can transform light and biological clock signals into flowering signals, as well as activate the expression of downstream genes (*FT*), which induces plant flowering. However, their evolutionary history and patterns have not been examined systematically. In this study, a total of 14 species, whose whole-genomes have been sequenced, were selected. Then, via the analyses of bioinformatics, the CO family was studied in regards to exon-intron structure, gene duplication, and differential expression. Results showed 159 members in the CO family. For each plant species, the CO family existed in the form of multiple copies. Almost every copy contained 2 to 4 exons indicating diversity in the evolution process. The synteny analysis showed that expansion of duplicate genes in the CO family was related to genome duplication. In addition, the gene differential expression analysis showed that CO members were expressed in roots, flag leaves, flowers, and seeds of rice (*Oryza sativa*). Especially, *OsCO3* was up-regulated in the process of floral development; whereas, the expression of *OsCO7* was down-regulated. This suggested that members of the CO gene family played different roles in rice. [Ch, 5 fig. 25 ref.]

**Key words:** botany; CO; CO family; phylogenetic; synteny analysis; gene duplication

*CONSTANS(CO)* 基因是植物响应光周期调控的重要基因, 位于生物钟的输出途径上, 能正调控下游开花基因 *SOC1* 和 *FT*, 进而调控植物开花。PUTTERILL 等<sup>[1]</sup>首先在拟南芥 *Arabidopsis thaliana* 中分离出 CO 基因, 反转录 PCR(RT-PCR)检测到 CO 基因在根和叶中表达。ONOUCHI 等<sup>[2]</sup>对花椰菜 *Brassica oleracea* 花叶病毒 35S(Cauliflower mosaic virus 35S, CaMV 35S)融合 CO(35S::CO)转化拟南芥研究发现, CO

收稿日期: 2018-01-25; 修回日期: 2018-06-04

基金项目: 浙江省自然科学基金资助项目(LY18C150002); 国家自然科学基金资助项目(31470682, 31670682); 国内访问学者计划项目(FX2015040)

作者简介: 帅敏敏, 从事生物信息学研究。E-mail: 970473846@qq.com。通信作者: 黄有军, 副教授, 博士, 从事植物学研究。E-mail: youjunhuang@163.com

蛋白会诱导早花和丧失光周期敏感性。进一步研究发现<sup>[3]</sup>, *CO* 在染色体上的位置介于生物节律钟基因和下游开花基因之间, 可将光信号转变为开花信号。对拟南芥 *CO* 基因过表达研究<sup>[1]</sup>发现, *CO* 基因过表达的植株比野生型提前开花, 表明 *CO* 蛋白的活性决定开花时间; 但这种调控在不同成员间并不一致, 过表达 *COL1* 和 *COL2* 对植株开花时间没有影响<sup>[4]</sup>, 过表达 *COL9* 则导致开花延迟, 但 *COL9* 缺失突变体在长日照下又表现为早花, 说明 *COL9* 不但抑制 *CO* 基因表达调控开花时间, 同时下调 *FT* 的表达水平从而延迟成花转变<sup>[5]</sup>。*COL3* 在拟南芥光形态建成时起正调控作用, 促进侧根生长和花色素苷积累, 并调节长日照敏感植物的花芽分化<sup>[6]</sup>。从形态来看, *CO* 基因常以多拷贝的形式存在, 如拟南芥的 *CO* 家族有 17 个成员<sup>[7]</sup>, 水稻 *Oryza sativa* 中有 16 个成员<sup>[8]</sup>, 甘蓝型油菜 *Brassica napus* 中也克隆到 4 个 *CO* 同源基因<sup>[9]</sup>。但各 *CO* 家族成员的功能存在明显差异。葡萄 *Vitis vinifera* 的 *VvCOL1* 主要在芽休眠过程中起作用, 表明该基因参与光周期, 控制芽休眠的诱导和维持<sup>[10]</sup>。拟南芥中过表达衣藻 *Chlamydomonas reinhardtii* 的 *CrCO* 会表现出早花表型, 结合衣藻的研究发现: *CrCO* 对淀粉的合成和细胞分裂有调节功能, 推测 *CO* 在高等植物中可能仍保持调节淀粉合成<sup>[11]</sup>。大麦 *Hordeum vulgare* 的 *HvCO1* 和 *Hd1* 基因与 *CO* 亲缘关系最近, 可以通过激活 *HvFT1* 诱导大麦开花<sup>[8]</sup>, 但在转基因拟南芥中则丢失该功能<sup>[12]</sup>。拟南芥 *co* 突变体过表达牵牛花 *Ipomoea nil* 的 *PnCO* 基因可促进植物开花<sup>[13]</sup>。黑麦草 *Lolium perenne* 的 *LpCO* 可以互补拟南芥 *co* 突变体的晚花表型<sup>[14]</sup>, 甜菜 *Beta vulgaris* 的 *BvCO1* 可以修复拟南芥 *co-2* 突变体的晚花表型<sup>[15]</sup>。大豆 *Glycine max* 的 *GmCO9* 影响根的发育, 与种子的成熟密切相关<sup>[16]</sup>。毛果杨 *Populus trichocarpa* 的 *PtCO* 促使植株提前开花, 也可调控植株的生长和芽的分化<sup>[17]</sup>。本研究以 14 个已被测序的物种为试验材料, 通过生物信息学手段, 从外显子-内含子结构、基因重复、基因差异表达分析等 3 个方面开展 *CO* 家族研究, 为探讨不同家族成员的潜在功能提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 数据的收集及本地数据库的构建

从植物基因组数据 Phytozome (<http://www.phytozome.net>) 中下载其中 13 个物种的全基因组序列、蛋白质及对应编码序列 (coding sequence, CDS), 分别为藻类植物 1 种, 苔藓植物 1 种, 蕨类植物 1 种, 被子植物 9 种 (长日照植物、短日照植物和日中性植物各 3 种), 以无油樟 *Amborella trichopoda* 作为被子植物的对照。此外裸子植物 1 种 (挪威云杉 *Picea abies*), 其相应序列来源于 <http://congenie.org>。

数据查找步骤: ①从 PFAM 蛋白质数据库获得 *CO* 结构域的隐马尔可夫模型 (PF06203 和 PF00643) 并作为查询序列, 得到的数据储存于 Windows 平台环境下构建的各个物种全基因组氨基酸序列的本地数据库中。②利用 HMMER 软件包的 *hmmsearch* 程序, 默认参数条件下在本地数据库进行 BLASTP 搜索, 筛选出符合  $E\text{-value} \leq 0.01$  的蛋白质序列作为 *CO* 候选同源蛋白。③将备选 *CO* 基因的 CDS 序列通过 BLASTN 的比对, 在全基因组核酸序列中搜索, 获得 *CO* 在染色体上准确定位信息。④在 PFAM 蛋白质数据库和 SMART 蛋白质数据库下对搜索得到的所有同源候选基因蛋白质序列进行鉴定, 剔除不含 *CO* (PF06203 和 PF00643) 结构域的氨基酸序列。以此完成各个物种 *CO* 家族所有成员的鉴定。

### 1.2 多序列比对和系统发育分析

利用 MUSCLE 的默认参数进行蛋白质多序列比对分析; 使用 MEGA 7.0 对完成比对的蛋白质序列构建系统进化树; 构建方法选用邻近法 (NJ); 距离模型采用泊松矫正; 空位缺失数据的处理采用两两删除; 系统发育统计的可靠性检测采用 bootstrap 分析, 使用 1 000 次重复。

### 1.3 外显子-内含子分析

利用在线软件 GSDS (Gene Structure Display Server) 比较 *CO* 家族成员的 CDS 序列和基因序列, 分析 *CO* 家族基因的外显子-内含子组成和分布, 结合系统发育分析, 探究 *CO* 在基因结构上的进化规律。

### 1.4 共线性分析

利用植物基因组 PGDD 数据库 (<http://chibba.agtec.uga.edu/duplication/>) 搜索染色体上的共线性片段, 分析含有的 *CO* 基因的共线性区段, 研究 *CO* 家族不同成员的相互联系和进化过程。

### 1.5 水稻 *CO* 家族基因的表达分析

搜索 14 个物种的国际核酸序列数据库 (NCBI, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), 发现水稻关于繁殖发

育的转录组数据最为完整。利用 GEO 数据库(GSE56463)下载水稻 8 个不同时期不同部位(花芽、花、开花前的旗叶、开花后的旗叶、开花前的根、开花后的根、未成熟种子、成熟种子)的植物组织转录组数据(RNA-seq)。转录组数据全部采用 FPKM 标准化后的值。以水稻为例,从转录水平重点分析 CO 家族不同成员在花发育和种子形成过程中的表达变化,从而探讨它们可能的生物学功能。

## 2 结果与分析

### 2.1 CO 家族成员的鉴定

搜索 14 个物种蛋白质数据库中的 CO 家族成员,共鉴定出 159 个含有 CO 结构域的蛋白质序列。结果表明:CO 常以多拷贝的形式存在于植物中,与以往的研究一致<sup>[8]</sup>。拷贝数最多的物种是大豆,鉴定出 25 个家族成员。其次在胡萝卜 *Daucus carota*, 小立碗藓 *Physcomitrella patens*, 菜豆 *Phaseolus vulgaris*, 番茄 *Solanum lycopersicum*, 黄瓜 *Cucumis sativus* 和蓖麻 *Ricinus communis* 中,分别鉴定到 18, 15, 13, 13, 12 和 10 个拷贝。在小麦,无油樟和卷柏 *Selaginella moellendorffii* 中,也发现了 5, 5 和 4 个 CO 基因家族成员。挪威云杉和衣藻中拷贝数最少,各存在 3 个成员。

### 2.2 CO 家族进化分析

使用邻近法对得到的 14 个物种 159 个 CO 蛋白序列构建系统发育进化树。由生成的无根系统进化树(图 1)可知,植物 CO 家族在进化中具有多样性,大部分同一谱系的物种基因都能聚类在同一进化枝上。根据结构域特征,选取支持度高且结构稳定的 3 个亚家族(分别命名为 B1, B2 和 B3)作为后续研究 CO 基因的基础框架。其中 B1 亚家族含 2 个 B-box 结构域和 1 个 CCT 结构域; B2 亚家族含 1 个 B-box 结构域, 1 个 CCT 结构域和 1 个锌指结构; B3 亚家族含 1 个 B-box 结构域和 1 个 CCT 结构域。

### 2.3 内含子和外显子的分布

CO 家族成员的预测结构(图 2)显示,多数物种的 CO 基因中存在 2~4 个外显子,同一亚家族内基因的外显子-内含子结构和长度高度相似,说明这些物种的 CO 基因家族成员之间的亲缘关系也较近,同时也证实了 CO 基因家族系统进化树的可信度。具体而言, B1 亚家族中的大多数基因含 2 个外显子, 1 个内含子; B2 亚家族中则表现为每个 CO 基因含 4 个外显子和 3 个内含子,且排列相位表现出“0, 0, 2”规律; B3 亚家族相对较为复杂,多数的 CO 基因含有 2 个外显子,部分含有 4 个外显子,但也有例外,如 *CrCO3* 基因,不仅长度较大,还发现存在 14 个外显子和 13 个内含子,体现在系统进化树中则出现 *CrCO3* 分化为独立的进化枝。研究还发现, CO 基因包含大量的相位为 0 的内含子,表明外显子改组可能在 CO 基因的进化中起着一定的作用,而外显子的插入和内含子的删除可以认为是形成多元化的 CO 基因以及功能差异的 CO 蛋白的原因之一。

### 2.4 CO 家族成员共线性分析

对拟南芥、菜豆、蓖麻 3 种植物 CO 家族的基因复制事件的研究可以用来检测 CO 基因家族中遗传差异间的联系和相应的扩张模式,CO 家族的成员可作为锚定基因研究所在染色体区段的分子进化历史。染色体定位分析(图 3, 图 4)表明,绝大多数的 CO 基因在基因组中是随机分布的,仅在少数位点形成串联的基因簇,因此大规模的基因复制事件可能在 CO 基因家族的进化过程中扮演着重要的角色。共线性分析发现,拟南芥、菜豆和蓖麻的染色体区域间存在强烈且保守的共线性。由图 3 和图 4 可知:拟南芥 CO 家族所在的共线性区域最多有 22 对基因;菜豆和蓖麻内部也存在广泛的共线性情况,例如 *Pv-*

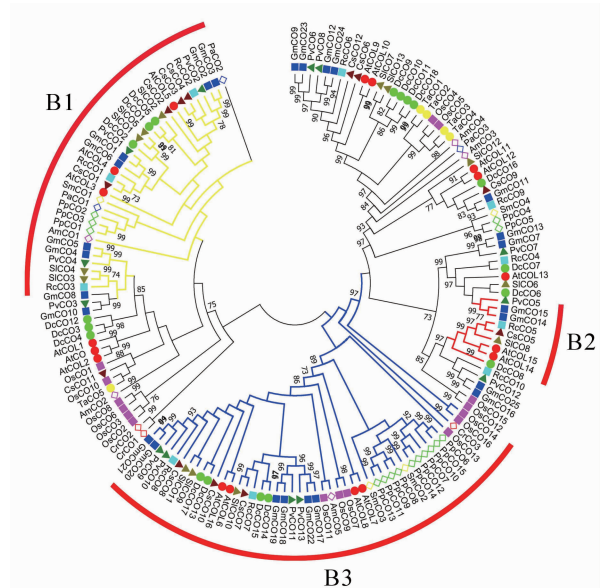


图 1 CO 家族成员的系统发育树  
圆形为长日照植物的 CO 家族成员标记,实心正方形为短日照植物标记,三角形为日中性植物标记。衣藻、小立碗藓、卷柏、挪威云杉和无油樟在进化树上用空心的正方形表示。不同颜色代表不同植物

图 1 CO 家族成员的系统发育树  
Figure 1 Phylogenetic tree of CO family members

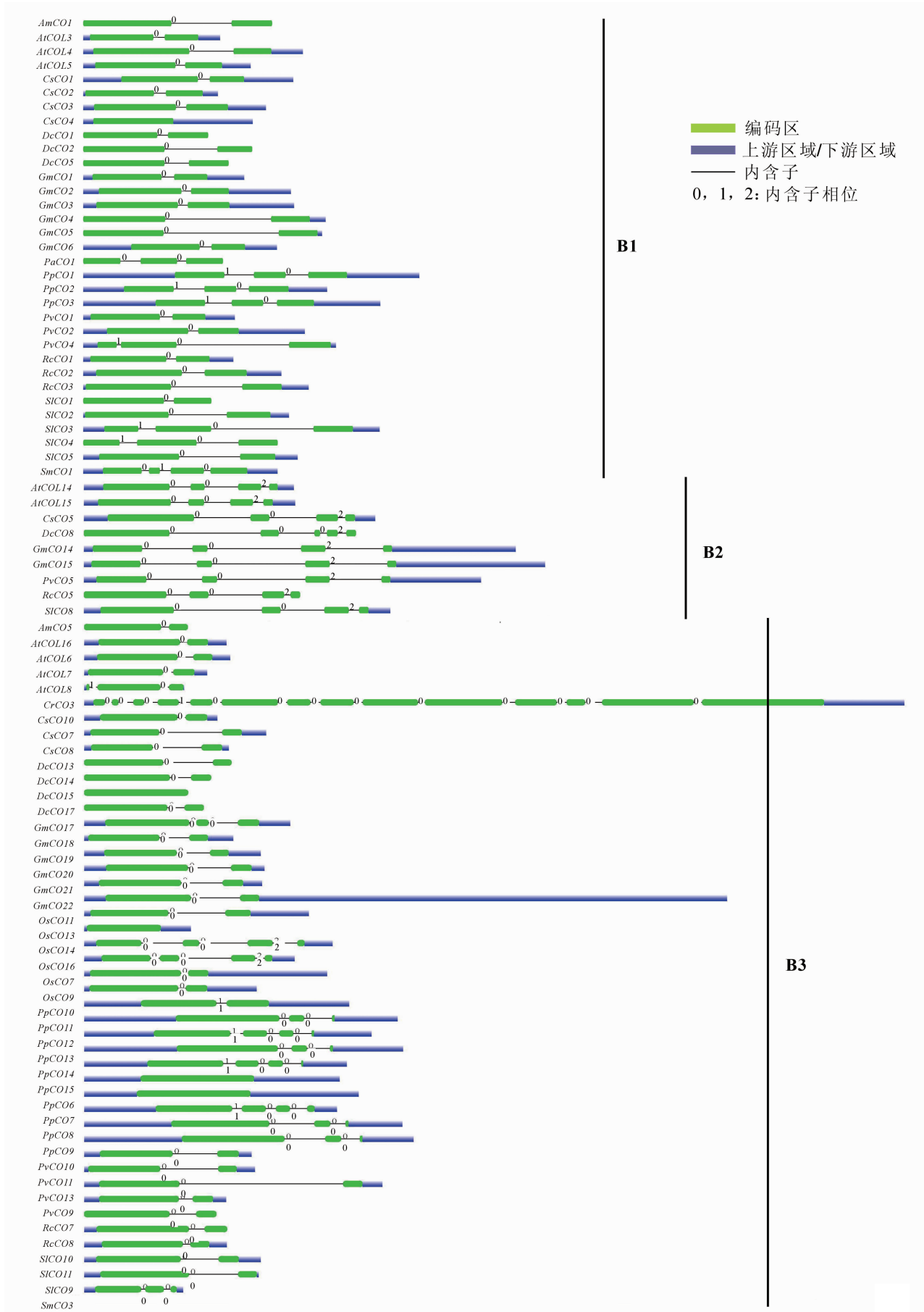


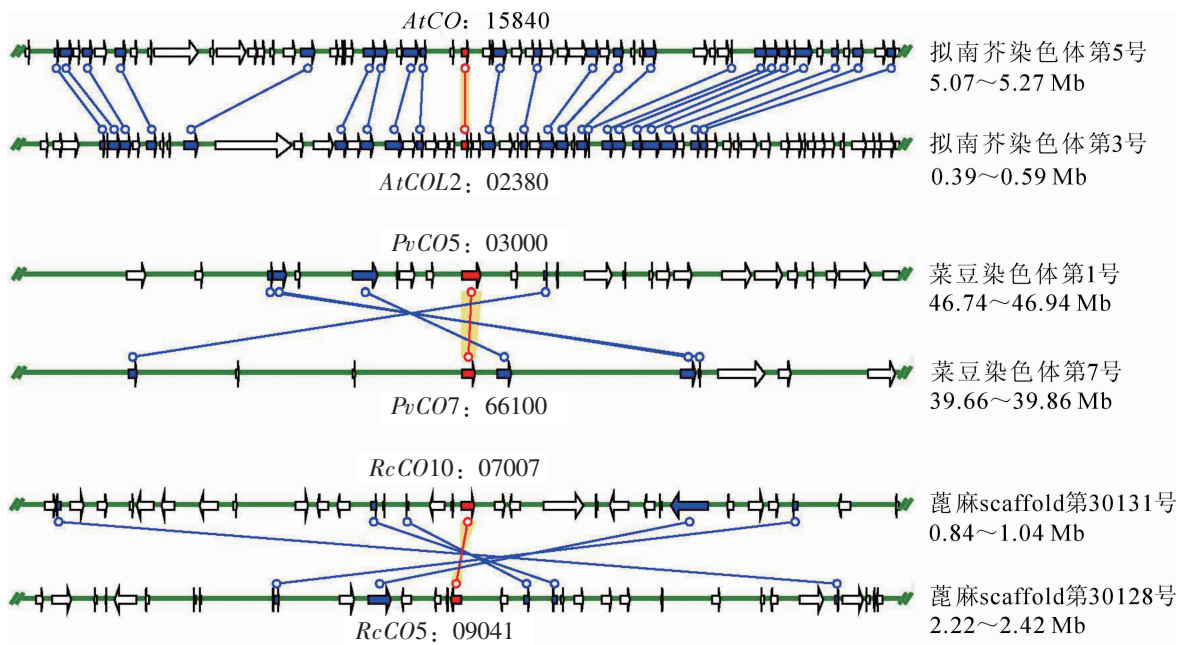
图2 B1, B2 和 B3 亚家族 CO 基因外显子和内含子分布

Figure 2 Exon-intron structures of CO genes in B1, B2 and B3 subfamily

*CO5-PvCO7*, *RcCO5-RcCO10*; 此外, 拟南芥与菜豆和蓖麻之间的共线性情况也非常普遍, 例如 *AtCOL3-RcCO1*, *AtCOL3-PvCO1*, *PvCO7-RcCO4*。根据这些基因共线性分析结果可推测, CO 家族中重复基因的扩张与基因组重复有着密切的联系。

### 2.5 水稻 CO 家族基因的表达和功能分化

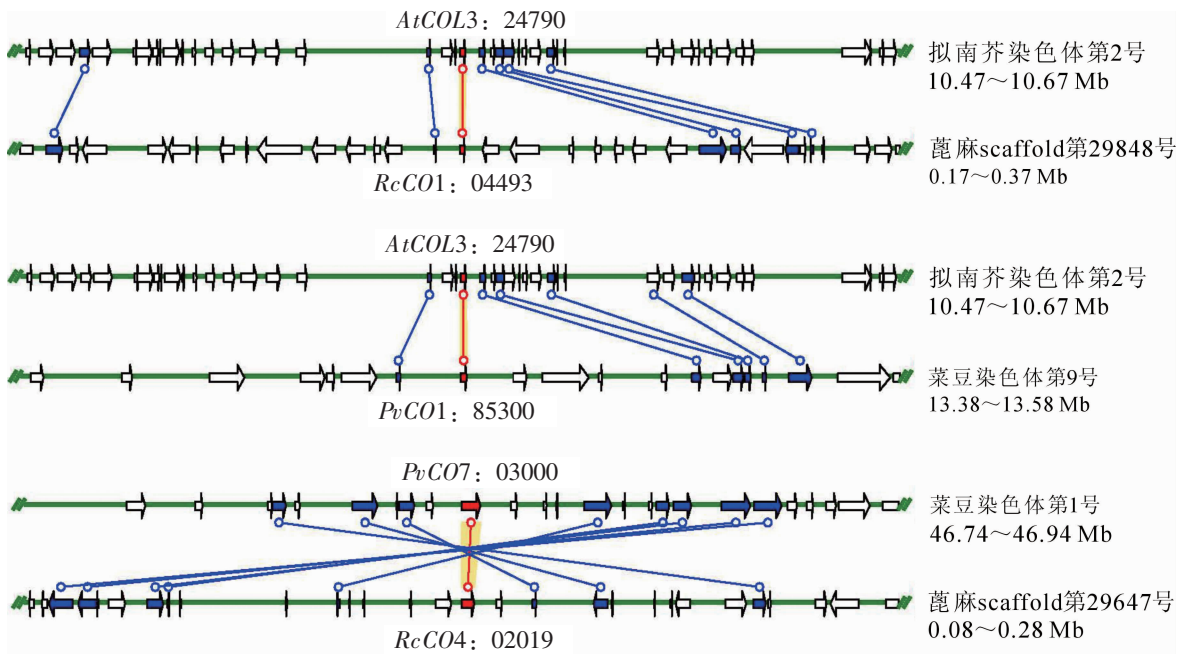
基因表达的差异性反映了基因的功能分化。水稻转录组表达谱显示(图 5), *CO* 基因在花芽、花、根、旗叶和种子中都有表达, 以 *OsCO3*, *OsCO6*, *OsCO7*, *OsCO8*, *OsCO9*, *OsCO11*, *OsCO12* 和 *OsCO16* 这 8 个基因的表达量较高, 尤其是在开花后的根和开花前后的旗叶中的表达量更为明显。具体来



图中红色连线对应的是 CO 家族基因, 红色箭头为该基因 ID; 深蓝色箭头是共线区域非 CO 家族基因

图 3 物种内 CO 家族成员的共线性分析

Figure 3 Synteny analysis of CO family genes in species



红色连线对应 CO 基因位置。At 为拟南芥, Pv 为菜豆, Rc 为蓖麻

图 4 物种之间 CO 家族基因共线性分析

Figure 4 Synteny analysis of CO family genes among species

看, *OsCO3* 和 *OsCO6* 基因在花芽到花的转变过程、开花前后的根和旗叶中的表达量升高, 在根中的表达量升高, 在乳粒(未成熟的种子)到成熟种子的过程中表达量下降, 说明 *OsCO3* 和 *OsCO6* 基因负向调控花芽到花的转变过程。*OsCO8* 在花芽到花的转变过程、开花前后的根、开花前后的旗叶和乳粒到成熟种子的过程中表达量都呈现上升趋势, 说明 *OsCO8* 对花的发育以及果实成熟有重要的调控作用。*OsCO12* 在花芽到花的转变过程、开花前后的根和乳粒到成熟种子的过程中表达量上升, 在开花前后的旗叶中的表达量下降, 说明 *OsCO12* 对水稻花的发育起着最为关键的调控作用。*OsCO7*, *OsCO9* 和 *OsCO11* 基因在花芽到花的转变过程、开花前后的旗叶和乳粒到成熟种子的过程中表达量下降, 在开花前后的根中的表达量明显上升, 说明 *OsCO7*, *OsCO9* 和 *OsCO11* 基因可以正向调控花芽到花的转变过程。*OsCO16* 在花芽到花的转变过程中表达量下降, 在开花前后的根和旗叶、乳粒到成熟种子的过程中表达量上升, 说明 *OsCO16* 对花的发育和果实成熟有重要的调控作用。水稻中不同 *CO* 基因在不同时期不同组织器官中的表达量不同, 表明同一家族不同基因之间存在功能上的差异。

### 3 讨论

*CO* 基因是植物光周期途径中调控开花时间的重要基因。光周期途径中, *PHYA*, *CRY1* 和 *CRY2* 基因相互作用, 影响 *GI* 等生物节律钟基因, 促进 *CO* 基因的表达; *CO* 编码转录因子作用于 *FT*<sup>[18]</sup>, 使 *FT* 从维管束组织转移到茎顶端分生组织, 致使花器官发育<sup>[19]</sup>。通过对 14 个物种的 *CO* 基因的分析, 本研究发现: *CO* 基因常以多拷贝的形式存在于植物中, 与已有研究结果一致<sup>[20]</sup>; 亲缘关系较近的物种, 其 *CO* 基因的相似性较高; *CO* 基因在裸子植物和被子植物、双子叶植物与单子叶植物、不同科和不同属植物之间都存在明显分化, 表明 *CO* 基因在植物进化中既相对保守又不断进化, 其进化过程与整个物种进化过程相对同步, 说明 *CO* 基因可能对植物进化起到了重要作用。研究发现: 单子叶植物发生过 2 次基因组重复<sup>[21]</sup>, 一半的水稻基因组基因来源于基因组重复<sup>[22]</sup>。对水稻的基因表达分析发现: *CO* 基因在花、叶、根和茎中都有表达, *OsCO3* 的表达量在花芽到花的转变过程中上升, 推测 *OsCO3* 负调控花芽到花的转变过程, 与 KIM 等<sup>[23]</sup>发现的 *OsCO3* 通过负调控 *Hd3a* 和 *FT-like (FTL)* 的表达延迟短日照下水稻开花的结果一致; *OsCO7* 基因在花芽到花的转变过程中表达量下降, 说明 *OsCO7* 正调控 *Hd3a* 的表达, 促进短日照下水稻的开花, 与 XUE 等<sup>[24]</sup>研究结果一致。在短日照条件下, 水稻的 *Hd1* 抑制 *Hd3a* 的转录从而控制开花转型<sup>[25]</sup>, 这一结果和拟南芥 *CO* 基因在短日照条件下促进 *FT* 的表达控制开花转型相反, 说明 *CO* 基因对于花芽到花的发育起到重要调控作用, 进一步证实了水稻不同 *CO* 基因在功能上存在差异。本研究结果有助于更加深入地了解 *CO* 基因家族成员的潜在功能, 为 *CO* 基因在光周期途径中调控成花发育过程提供理论依据。

### 4 参考文献

- [1] PUTTERILL J, ROBSON F, LEE K, *et al.* The *CONSTANS* gene of *Arabidopsis* promotes flowering and encodes a protein showing similarities to zinc finger transcription factors [J]. *Cell*, 1995, **80**(6): 847 - 857.
- [2] ONOUCHI H, IGEÑO M I, PÉRILLEUX C, *et al.* Mutagenesis of plants overexpressing *CONSTANS* demonstrates novel interactions among *Arabidopsis* flowering-time genes [J]. *Plant Cell*, 2000, **12**(6): 885 - 900.
- [3] SUÁREZ-LÓPEZ P, WHEATLEY K, ROBSON F, *et al.* *CONSTANS* mediates between the circadian clock and the control of flowering in *Arabidopsis* [J]. *Nature*, 2001, **410**(6832): 1116 - 1120.
- [4] LEDGER S, STRAYER C, ASHTON F, *et al.* Analysis of the function of two circadian-regulated *CONSTANS-LIKE*

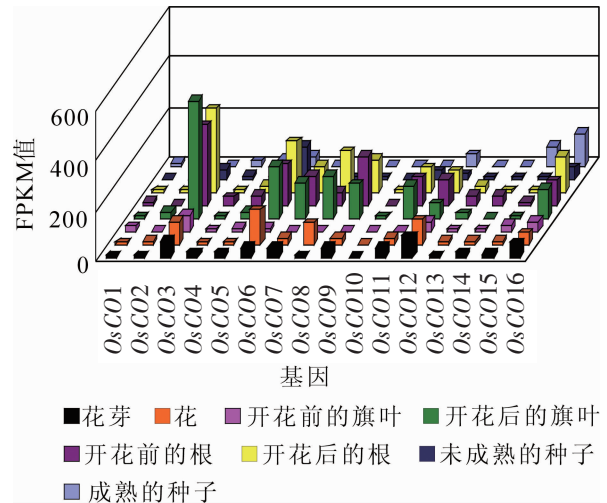


图 5 水稻 *CO* 基因的表达谱  
Figure 5 Expression profile of *CO* gene in rice

- genes [J]. *Plant J*, 2001, **26**(1): 15 – 22.
- [5] CHENG Xiaofei, WANG Zengyu. Over expression of *COL9*, a *CONSTANS-LIKE* gene, delays flowering by reducing expression of *CO* and *FT* in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant J*, 2005, **43**(5): 758 – 768.
- [6] DATTA S, HETTIARACHCHI G H C M, DENG Xingwang, *et al.* *Arabidopsis CONSTANS-LIKE3* is a positive regulator of red light signaling and root growth [J]. *Plant Cell*, 2006, **18**(1): 70 – 84.
- [7] ROBSON F, COSTA M M R, HEPWORTH S R, *et al.* Functional importance of conserved domains in the flowering-time gene *CONSTANS* demonstrated by analysis of mutant alleles and transgenic plants [J]. *Plant J*, 2001, **28**(6): 619 – 631.
- [8] GRIFFITHS S, DUNFORD R P, COUPLAND G, *et al.* The evolution of *CONSTANS-like* gene families in barley, rice, and *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiol*, 2003, **131**(4): 1855 – 1867.
- [9] ROBERT L S, ROBSON F, SHARPE A, *et al.* Conserved structure and function of the *Arabidopsis* flowering time gene *CONSTANS* in *Brassica napus* [J]. *Plant Mol Biol*, 1998, **37**(5): 763 – 772.
- [10] ALMADA R, CABRERA N, CASARETTO J A, *et al.* *VvCO* and *VvCOL1*, two *CONSTANS* homologous genes, are regulated during flower induction and dormancy in grapevine buds [J]. *Plant Cell Rep*, 2009, **28**(8): 1193 – 1203.
- [11] TENORIO G, OREA A, ROMERO J M, *et al.* Oscillation of mRNA level and activity of granule-bound starch synthase in *Arabidopsis* leaves during the day/night cycle [J]. *Plant Mol Biol*, 2003, **51**(6): 949 – 958.
- [12] CAMPOLI C, DROSSE B, SEARLE I, *et al.* Functional characterisation of *HvCO1*, the barley (*Hordeum vulgare*) flowering time ortholog of *CONSTANS* [J]. *Plant J*, 2012, **69**(5): 868 – 880.
- [13] HAYAMA R, AGASHE B, LULEY E, *et al.* A circadian rhythm set by dusk determines the expression of *FT* homologs and the short-day photoperiodic flowering response in *Pharbitis* [J]. *Plant Cell*, 2007, **19**(10): 2988 – 3000.
- [14] MARTIN J, STORGAARD M, ANDERSEN C H, *et al.* Photoperiodic regulation of flowering in perennial ryegrass involving a *CONSTANS-like* homolog [J]. *Plant Mol Biol*, 2004, **56**(2): 159 – 169.
- [15] CHIA T Y P, MÜLLER A, JUNG C, *et al.* Sugar beet contains a large *CONSTANS-LIKE* gene family including a *CO* homologue that is independent of the early-bolting (*B*) gene locus [J]. *J Exp Bot*, 2008, **59**(10): 2735 – 2748.
- [16] HUANG Guowen, MA Jinghua, HAN Yuzhen, *et al.* Cloning and expression analysis of the soybean *CO-Like* gene *GmCOL9* [J]. *Plant Mol Biol Rep*, 2011, **29**: 352 – 359.
- [17] BÖHLENIUS H, HUANG Tao, CHARBONNEL-CAMPAA L, *et al.* *CO/FT* regulatory module controls timing of flowering and seasonal growth cessation in trees [J]. *Science*, 2006, **312**(5776): 1040 – 1043.
- [18] PAZHOUHANDEH M, MOLINIER J, BERR A, *et al.* *MSI4/FVE* interacts with *CUL4-DDB1* and a *PRC2-like* complex to control epigenetic regulation of flowering time in *Arabidopsis* [J]. *Proc Nat Acad Sci USA*, 2011, **108**(8): 3430 – 3435.
- [19] AHN J H, MILLER D, WINTER V J, *et al.* A divergent external loop confers antagonistic activity on floral regulators *FT* and *TFL1* [J]. *EMBO J*, 2006, **25**(3): 605 – 614.
- [20] LAGERCRANTZ U, AXELSSON T. Rapid evolution of the family of *CONSTANS LIKE* genes in plants [J]. *Mol Biol Evol*, 2000, **17**(10): 1499 – 1507.
- [21] TANG Haibao, BOWERS J E, WANG Xiyin, *et al.* Angiosperm genome comparisons reveal early polyploidy in the monocot lineage [J]. *Proc Nat Acad Sci USA*, 2010, **107**(1): 472 – 477.
- [22] YU Jun, WANG Jun, LIN Wei, *et al.* The genomes of *Oryza sativa*: a history of duplications [J]. *PLoS Biol*, 2005, **3**(2): 266 – 281.
- [23] KIM S K, YUN C H, LEE J H, *et al.* *Os-CO3*, a *CONSTANS-LIKE* gene, controls flowering by negatively regulating the expression of *FT-LIKE* genes under SD conditions in rice [J]. *Planta*, 2008, **228**(2): 355 – 365.
- [24] XUE Weiya, XING Yongzhong, WENG Xiaoyu, *et al.* Natural variation in *Ghd7* in an important regulator of heading date and yield potential in rice [J]. *Nat Genet*, 2008, **40**(6): 761 – 767.
- [25] KOJIMA S, TAKAHASHI Y, KOBAYASHI Y, *et al.* *Hd3a*, a rice ortholog of the *Arabidopsis FT* gene, promotes transition to flowering downstream of *Hd1* under short-day conditions [J]. *Plant Cell Physiol*, 2002, **43**(10): 1096 – 1105.