ГЕНЕТИКА, 2020, том 56, № 11, с. 1279–1303

ОБЗОРНЫЕ И ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ СТАТЬИ

УДК 57.017.64+581.1

ЭВОЛЮЦИОННЫЕ АСПЕКТЫ РЕГУЛЯЦИИ ЦВЕТЕНИЯ: “ФЛОРИГЕНЫ” И “АНТИФЛОРИГЕНЫ”

© 2020 г. М. А. Лебедева[1, *], И. Е. Додуева[1], М. С. Ганчева[1], В. Е. Творогова[1], К. А. Кузнецова[1], Л. А. Лутова[1]

[1]*Санкт-Петербургский государственный университет, кафедра генетики и биотехнологии, Санкт-Петербург, 199034 Россия*

**e-mail: m.a.lebedeva@spbu.ru*

Поступила в редакцию 29.04.2020 г.
После доработки 20.05.2020 г.
Принята к публикации 16.06.2020 г.

Для успешного выживания и размножения в различных экологических условиях растения выработали комплекс регуляторных механизмов, которые управляют их развитием в зависимости от изменения условий среды. Переход растений к половому размножению является важным этапом их жизненного цикла, и в зависимости от условий произрастания разные группы растений выбирают оптимальные периоды для запуска этой программы развития. Инициация цветения у покрытосеменных контролируется с помощью ряда сложных регуляторных путей, интегрирующих информацию, поступающую из окружающей среды, – прежде всего изменение температуры и длины светового дня, которые являются показателями смены сезонов и, таким образом, сигналами для запуска программы цветения. У *Arabidopsis thaliana* одним из ключевых регуляторов цветения является белок FLOWERING LOCUS T (FT) – флориген, гомологи которого выявлены у других покрытосеменных. В настоящем обзоре рассмотрены молекулярные механизмы регуляции цветения с участием FT-подобных белков у разных групп растений, а также роль этих белков в других процессах развития. Особое внимание уделено эволюционным изменениям, произошедшим в *FT*-подобных генах в ходе адаптации к определенным условиям среды, а также в ходе селекции растений.

Ключевые слова: FT, TFL1, флориген, цветение, фотопериод, клубни, луковицы.

DOI: 10.31857/S0016675820110065

Переход растений к половому размножению – важный этап их жизненного цикла, и в зависимости от условий произрастания разные группы растений выбирают оптимальные периоды для запуска этой программы развития. Механизмы, лежащие в основе инициации цветения, эволюционно консервативны у разных групп покрытосеменных и имеют общие регуляторные компоненты, способы действия которых определяются индивидуальными биологическими особенностями отдельных видов и условиями их произрастания. В ряде случаев, мутации, приводящие к изменению времени цветения у разных видов растений, наблюдаются в гомологичных генах, и существование таких форм подтверждает сформулированные 100 лет назад Н.И. Вавиловым идеи о закономерностях изменчивости [1], в основе которых лежит эволюционная консервативность регуляторов, контролирующих формирование комплекса признаков живых организмов. Известно несколько путей регуляции цветения: 1) фотопериодическая регуляция, связанная с влиянием изменения длины светового дня, 2) вернализация, определяемая продолжительным воздействием низких температур, 3) гормональная регуляция, в которой центральную роль играет гиббереллин, 4) автономный путь, контролирующий время цветения вне зависимости от условий внешней среды, 5) онтогенетическая регуляция цветения [2].

Один из ключевых регуляторов цветения в зависимости от фотопериода – белок, кодируемый у *Arabidopsis thaliana* геном *FLOWERINGLOCUST* (***FT***), и относящийся к семейству фосфатидилэтаноламин-связывающих белков (Phosphatidylethanolamine-bindingproteins, **PEBP**). Белок **FT** – мобильный регулятор, образующийся в листьях при индуктивных (способствующих запуску цветения) условиях, перемещающийся по флоэме в побеговую апикальную меристему (**ПАМ)** и активирующий экспрессию генов-мишеней, которые определяют закладку флоральных меристем, оказался тем самым флоригеном – активатором цветения, существование которого было предсказано М.Х. Чайлахяном еще в 1937 г. [3]. Близкий гомолог FT у резуховидки белок **TFL1** (TERMINALFLOWER 1) выполняет противопо-

ложную функцию: он подавляет цветение, препятствуя работе FT, и, таким образом, является антифлоригеном. FT-TFL1-подобные белки описаны у разных семейств покрытосеменных, выступая в роли как активаторов, так и репрессоров цветения, при этом активаторы и репрессоры отличаются друг от друга наличием определенных аминокислотных остатков в консервативных позициях. Скоординированное действие таких белков определяет сроки цветения, при этом возникающие в ходе эволюции мутации в FT-TFL1-подобных генах закреплялись отбором при адаптации к конкретным условиям среды. Кроме того, в ряде случаев полученные в ходе селекции формы культурных растений с более ранним цветением (что, в частности, способствует раннему получению урожая) или непрерывным цветением в ходе вегетационного периода, также имеют изменения в генах FT-TFL1-подобных белков. Рассмотрению молекулярных механизмов регуляции цветения с участием FT-TFL1-подобных белков у разных групп растений, а также их участию в других аспектах развития и посвящен настоящий обзор.

1. ФОТОПЕРИОДИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ЦВЕТЕНИЯ У *Arabidopsis thaliana*

Влияние продолжительности светового дня на регуляцию цветения – явление фотопериодизма, было обнаружено 100 лет назад американскими учеными У. Гарнером и Х. Аллардом при изучении цветения у сои и табака [4]. В дальнейшем, в ходе изучения этого явления у растений, советский физиолог растений М.Х. Чайлахян предложил концепцию флоригена – гипотетического гормона цветения, образующегося в листьях при изменении длины светового дня и перемещающегося в ПАМ, где он запускает программу перехода вегетативной меристемы во флоральную [3]. Изменение длины светового дня может по-разному влиять на цветение у разных видов растений. Так, у растений длинного дня (**ДД**) (резуховидка, пшеница, рожь) инициация цветения происходит при увеличении длины светового дня, у растений короткого дня (**КД**) (рис, кукуруза, хризантема) – при снижении. У ряда растений, относимых к нейтральнодневным, фотопериодизм не оказывает влияние на переход к цветению, и этот процесс регулируются с участием других регуляторных путей.

Роль белка CONSTANS в фотопериодической регуляции цветения

Основные гены, ответственные за фотопериодический контроль цветения, были выявлены при анализе мутантов *A. thaliana* с нарушением сроков зацветания. Так, мутант по гену *CONSTANS* (***CO***) характеризовался поздним цветением при ДД (16 ч – день, 8 ч – ночь), при этом сверхэкспрессия *CO* приводила к более раннему цветению как при ДД, так и при КД [6]. Ген *CO* экспрессируется в проводящих тканях листа, и уровень его экспрессии зависит от циркадных часов, изменяясь в течение суток: в начале дня уровень экспрессии *CO* минимален, затем он нарастает и достигает максимума к вечеру, после чего вновь происходит снижение. Экспрессия гена *CO* в течение дня регулируется с участием белка FLAVIN-BINDING KELCH REPEAT F-BOX1 (FKF1), участвующего в рецепции синего света, и ядерного белка GIGANTEA (GI). Белки FKF1 и GI формируют комплекс, опосредующий деградацию репрессора транскрипции гена *CO* – белка CYCLING DOF FACTOR 1 (CDF1) и, как следствие, повышение уровня экспрессии гена *CO* к вечеру [6]. Экспрессия генов *FKF1* и *GI* регулируется циркадными ритмами, их накопление наблюдается в вечернее время. Домен LOV (Light, Oxygen, or Voltage) белка FKF1 способен поглощать синий свет, и предполагается, что активация этого домена под действием синего света стимулирует образование комплекса FKF1-GI на промоторе гена *CO* и его связывание с транскрипционным репрессором CDF1 [7]. Накопление продукта гена *CO* также зависит от наличия синего света: в темноте с участием белка CONSTITUTIVE PHOTOMORPHOGENIC1 (COP1), компонента E3-убиквитин-лигазного комплекса, происходит протеолитическая деградация белка CO, тогда как на свету имеет место опосредованное криптохромами подавление активности COP1, вследствие чего деградации CO не происходит. Таким образом, накопление белка CO наблюдается при ДД, когда пик суточного колебания экспрессии *CO* приходится на светлое время суток.

Ген *CO* кодирует транскрипционный фактор (**ТФ**) с доменом “цинковые пальцы”, и одна из мишеней его действия – ген *FLOWERINGLOCUST* (*FT*). В отличие от растений дикого типа, у мутантов *co* экспрессия гена *FT* при увеличении длины светового дня не усиливается. Для мутантов *ft*, так же, как и для мутантов *co*, характерно позднее цветение при ДД, а сверхэкспрессия *FT* приводит к более раннему зацветанию [8]. Ген *FT* кодирует белок размером около 20 кДа, относящийся к семейству PEBP. Экспрессия *FT* наблюдается во флоэме листа – в клетках-спутницах, при этом сам белок FT также был обнаружен в клетках ПАМ [9]. Более того, активация в отдельном листе экспрессии гена *FT,* находящегося под контролем чувствительного к повышенной температуре промотора белка теплового шока (*HSP*), стимулировала цветение [10]. Таким образом, образовавшийся в листьях белок FT способен перемещаться в ПАМ и инициировать программу цветения, то есть именно он выступает в роли флоригена.

Регуляция экспрессии гена FT, кодирующего флориген

Каким же образом ТФ CO участвует в активации экспрессии гена *FT*? Показано, что CO опосредует снятие репрессии транскрипции *FT,* которое осуществляется за счет эпигенетических механизмов с участием комплексов Polycomb Group (PcG) 1 и 2. Комплекс белков PcG2 осуществляет метилирование гистона H3 по консервативному остатку Lys27 (так называемая репрессирующая метка H3K27me3) в промоторе *FT* [11], тогда как комплекс PcG1 распознает и стабилизирует метку H3K27me3 и наносит дополнительные репрессирующие метки на промоторную область *FT* [12]. Активация транскрипции *FT* осуществляется за счет сложного механизма с участием ремоделирования хроматина. В промоторе гена *FT* имеются регуляторные элементы CONSTANS-RESPONSIVE ELEMENT (CORE1 и CORE2) в пределах 200 пн от стартового кодона, содержащие мотивы CCA-CA, с которыми способен связываться белок CO [13]. Эти элементы участвуют в активации транскрипции *FT* в проводящих тканях листа, и мутации в них приводят к более позднему цветению [14]. Другим важным элементом промотора *FT* является сайт CCAAT, расположенный на расстоянии около 5000 пн от стартового кодона: мутации в нем приводят к практически полному отсутствию экспрессии *FT* в листьях и к еще более сильной задержке цветения, примерно такой же, как наблюдается при делеции гена *FT* [14]. CCAAT известны как сайты связывания комплексов NF-Y (Nuclear Factor Y). Комплекс NF-Y состоит из субъединиц NF-YA, NF-YB и NF-YC, каждый из этих типов субъединиц у растений кодируется целым семейством генов, регулирующим различные процессы [15]. В экспериментах по иммунопреципитации хроматина (ChIP), белок NF-YB2 связывался не только с упомянутым выше сайтом CCAAT, но и с областью, в которой находятся элементы CORE [14]. Кроме того, ТФ CO и сам способен к взаимодействию с субъединицами NF-YB и NF-YC [16], а эксперименты с использованием методов определения конформации хромосом, показали, что в клетках растений область промотора *FT* с сайтами CORE1 и 2 сближается с областью, содержащей сайт CCAAT, причем частота их взаимодействия возрастает в течение светового дня и снижается в темноте. Тример, состоящий из ТФ CO, NF-YB и NF-YC (так называемый NF-CO) способен связывать мотив CORE2, тогда как тример, состоящий из NF-YA, NF-YB и NF-YC, связывается с последовательностью CCAAT в промоторе *FT* [17]. Таким образом, участки промотора *FT*, включающие сайты CORE, расположенные вблизи старт-кодона, и более удаленные CCAAT-содержащие сайты, сближаются друг с другом за счет взаимодействия между белковыми комплексами, включающими CO и NF-Y, образуя хроматиновую петлю. Следствием такого взаимодействия является уменьшение количества комплексов PcG1 и PcG2 в данном локусе и снижение количества репрессирующих меток H3K37me3, что в конечном итоге приводит к активации транскрипции *FT* [14]. Помимо CO-опосредованной активации *FT*, зависимой от фотопериода, его экспрессия также регулируется и с участием других путей, активирующих цветение: пути вернализации, а также факторов, регулирующих цветение в зависимости от его возраста.

В основе пути регуляции цветения после продолжительного воздействия низких температур – вернализации – лежит подавление экспрессии гена *FLOWERING LOCUS C* (*FLC*) за счет эпигенетических модификаций. Репрессор цветения *FLC* кодирует ТФ с доменом MADS, подавляющий преждевременное цветение растений, в том числе за счет репрессии активности гена *FT*, а также других регуляторов цветения, в частности, гена *SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CO 1* (*SOC1*) [18].

С увеличением возраста у растений увеличивается уровень экспрессии генов семейства *SQUAMOSA PROMOTER BINDING PROTEIN-LIKE* (*SPL*), кодирующих ТФ. Активность генов *SPL*, в свою очередь регулируется с участием микроРНК miR156, содержание которых с возрастом, напротив, снижается [19]. У *A. thaliana* miR156 регулирует активность 11 из 17 генов *SPL*, и среди них – гены *SPL3* и *SPL9*, экспрессирующиеся в листьях при ДД [20]. Белок SPL3 напрямую связывается с промотором гена *FT* и активирует его экспрессию [19, 21], тогда как ТФ SPL9 опосредованно регулирует экспрессию гена *FT* через microRNA172, мишенью которой являются гены APETALA2 (AP2)-подобных ТФ – негативных регуляторов *FT* [20]. Кроме того, накопление miR156 также зависит от действия различных факторов среды, таких как доступность минеральных веществ, засуха, засоление. В частности, увеличение концентрации калия в среде замедляет цветение, тогда как более низкие его концентрации оказывают стимулирующий эффект на экспрессию генов *SPL* и, как следствие – на экспрессию гена *FT* [22]. Таким образом, наряду с фотопериодической регуляцией, экспрессия *FT* также регулируется с участием вернализации – за счет подавления активности гена *FLC*, а также с участием регуляторного модуля miR156–SPL, активирующего *FT* под действием факторов, зависимых от возраста растения и доступности минеральных веществ.

Транспорт белка FT по флоэме

Транспорт белка FT по флоэме из листьев в ПАМ регулируется с участием различных белков. Так, за транспорт FT из клеток-спутниц в ситовидные элементы ответственен FT-INTERACT-

INGPROTEIN1 (FTIP1) – мембранный белок эндоплазмтического ретикулума, принадлежащий к семейству MCTP (Multiple C2 domain Transmembrane Proteins) [23]. Недавно было обнаружено, что комплекс, включающий в себя белок SYP121 (SYNTAXINOFPLANTS 121) из семейства SNARE (SolubleN-ethylmaleimide-SensitiveFactor-ProteinAttachmentProteinReceptor) и белок QUIRKY (QKY/MCTP15), относящийся к семейству MCTP, отвечает за экспорт FT из клеток-спутниц через систему везикулярного транспорта [24]. Дальний транспорт FT по флоэме из листьев в ПАМ регулируется белком NaKR1 (SODIUM POTASSIUM ROOT DEFECTIVE1, относящимся к группе белков с доменами HMA (домены, ассоциированные с тяжелыми металлами)) [25]. Экспрессия гена *NaKR1* активируется с участием ТФ CO при длинном дне: мутация *co* приводит к нарушению не только экспрессии гена *FT*, но и транспорта FT в апекс побега, и как следствие – к позднему цветению при ДД. Взаимодействие белков NaKR1 и FT *in vivo* было обнаружено с помощью метода BiFC (Bimolecular Fluorescence Complementation) и коиммунопреципитации комплексов NaKR1-FT в экстрактах листьев *A. thaliana*. Необходимость функционально активного NaKR1 для транспорта FT из листа в ПАМ была продемонстрирована с помощью прививок и визуализации во флоэме гибридного белка FT, слитого с GFP [25].

Механизм действия флоригена

Сам по себе белок FT не обладает ДНК-связывающей активностью, но выступает в качестве коактиватора транскрипции, действуя в комплексе с ТФ семейства bZIP (Basic Leucine Zipper) FLOWERING LOCUS D (FD) [26], который связывается с G-бокс-содержащими мотивами (CCACGTGG) в промоторах генов-мишеней [27]. Ген *FD* экспрессируется в ПАМ, где комплекс FT-FD активирует экспрессию генов, ответственных за развитие флоральных меристем, в частности, *SOC1* и *APETALA1* (*AP1*) [26].

При исследовании молекулярных механизмов действия флоригена у риса показано, что взаимодействие белков, гомологичных FT и FD (белки риса Hd3 и FD1 соответственно), опосредовано белками группы 14-3-3, которые представляют своего рода внутриклеточные рецепторы флоригена. Белки 14-3-3 известны как консервативные адапторные белки, взаимодействующие с фосфорилированными остатками серина и треонина в составе белков эукариот; в частности они входят в состав различных комплексов, включающих ТФ bZIP [28]. Таким образом, флориген действует в составе так называемого флориген-активирующего комплекса (FAC – Florigen Activation Complex) – гетерогексамера, включающего в себя по две молекулы каждого из белков, Hd3a, 14-3-3 и OsFD1 [29]. Для белков FT у *A. thaliana* (сам FT и его гомолог TFL1, TERMINAL FLOWER1), томата (SP, SELF-PRUNING) и львиного зева (CEN, CENTRORADIALIS) также показана способность взаимодействовать с белками 14-3-3 [30], на основании чего предполагается, что образование FAC с участием FT, FD и 14-3-3 консервативно для разных видов растений. У *A. thaliana* для образования FAC необходимо фосфорилирование остатка треонина в положении 282 белка FD (FD T282), которое катализируется кальций-зависимыми протеинкиназами CPK6 и CPK33 [31].

Белок TFL1 как “антифлориген”

Антагонистом белка FT является его близкий гомолог, белок TFL1, который также способен образовывать комплекс с ТФ FD. Связывание с TFL1, как предполагается, блокирует активность FD, подавляя цветение [26]. Мутанты по гену ***TFL1*** *A. thaliana* характеризуются более ранним цветением. Также у них нарушена структура соцветия: в отличие от растений дикого типа, у которых формируется соцветие открытого типа, где меристема долго сохраняет недетерминированное состояние, у мутантов *tfl1* вскоре после зацветания происходит закладка одного–двух боковых цветков, после чего меристема формирует терминальный цветок, и рост соцветия останавливается: образуется соцветие закрытого типа [32]. Таким образом, ген *TFL1* выполняет двойную функцию: он предотвращает преждевременное цветение, а после его начала препятствует закладке детерминированных флоральных (цветковых) меристем, поддерживая недетерминированный рост соцветия. В ходе вегетативного развития ген *TFL1* экспрессируется на низком уровне в центральной зоне ПАМ, при переходе к цветению (то есть при преобразовании вегетативной ПАМ в меристему соцветия) его экспрессия значительно усиливается [33]. Белок TFL1, так же, как и его паралог FT, является мобильным, но для него характерно перемещение только в пределах меристемы: из клеток центральной зоны ПАМ в ее периферические зоны, где он подавляет экспрессию генов, ответственных за закладку флоральных меристем: *LEAFY* (*LFY*) и *AP1*. В меристеме соцветия зоны экспрессии *TFL1* и генов, ответственных за закладку флоральных меристем, разграничены: транскрипты *TFL1* локализованы преимущественно в нижней части центральной зоны меристемы, а экспрессия генов идентичности флоральных меристем – *LFY*, *AP1* и *CAULIFLOWER* (*CAL*) наблюдается в ее периферической части, где происходит закладка меристем цветков [33]. При этом ТФ LFY регулирует перемещение белка TFL1 в верхние слои центральной зоны, препятствуя закладке флоральных меристем в центральной части ПАМ, что способствует поддержанию ее недетерминиро-

ванного состояния [33]. В свою очередь белок TFL1 подавляет экспрессию *LFY* в центральной зоне ПАМ, что способствует поддержанию ее недетерминированного роста: в случае мутации *tfl1* экспрессия *LFY* смещается в центральную зону меристемы, что приводит к образованию терминального цветка [34]. Как было показано недавно с помощью иммунопреципитации хроматина, белковые комплексы, содержащие TFL1, связываются с регуляторными элементами гена *LFY* и ряда других генов-мишеней [35]. В их промоторах TFL1-содержащие белковые комплексы узнают сайты, содержащие G-бокс, для которых ранее было показано связывание с ТФ FD. Однако часть сайтов связывания TFL1-содержащих белковых комплексов имеет другую структуру, то есть TFL1 может регулировать экспрессию генов-мишеней как в комплексе с FD, так и, вероятно, в составе других транскрипционных комплексов [35]. Итак, белки TFL1 и FT, образуя альтернативные комплексы с ТФ FD, выполняют противоположные функции в контроле цветения, и выступают в качестве корепрессора и коактиватора экспрессии одних и тех же мишеней – генов идентичности флоральных меристем.

Роль FT в регуляции цветения пазушных почек

Наряду с активацией программы цветения в ПАМ, у резуховидки *A. thaliana* белок FT вовлечен в регуляцию цветения пазушных почек: белок FT передвигается из листьев как в ПАМ, так в пазушные почки, где взаимодействует с ТФ BRANCHED1 (BRC1), ответственный за подавление их цветения [36]. Взаимодействие белков FT и BRC1 было показано несколькими методами: с помощью двугибридной дрожжевой системы, коиммунореципитации *in vitro* и бимолекулярной флуоресцентной комплементации (BiFC) *in planta*. При этом обнаружено, что белки 14-3-3, которые входят в состав комплекса FAC, не участвуют во взаимодействии FT и BRC1 [36]. Гомолог FT, белок TSF, также оказался способным к взаимодействию с BRC1, тогда так TFL1 не связывается с BRC1. Предполагается, что связывание FT с BRC1 может приводить к подавлению работы FAC (FT/14-3-3/FD) в пазушных почках, что препятствует цветению [36].

2. ЭВОЛЮЦИЯ ГЕНОВ *PEBP* У ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

Белки семейства PEBP, к которым относятся TFL1 и FT, распространены как у эукариот, так и у бактерий, и выполняют разнообразные функции в развитии. Так у млекопитающих N-концевые и C-концевые фрагменты белков PEBP могут отщепляться с образованием коротких пептидов, выполняющих самостоятельные физиологические функции: в частности, из N-концевого фрагмента белка PEBP образуется пептид из 11 аминокислот, регулирующий рост и функционирование холинергических нейронов [37]. У млекопитающих были исследованы комплексы PEBP с лигандами, фосфаэтаноламином и какодилатом, что позволило выявить в структуре белков PEBP консервативные анион-связывающие “карманы” [38]. Белок RKIP, ингибитор Raf-киназы (Raf Kinase Inhibitor Protein), один из наиболее изученных белков PEBP у млекопитающих, с помощью лиганд-связывающего “кармана” связывается с фосфорилированной формой киназы Raf-1. Таким образом, PEBP способны распознавать фосфорилированные аминокислоты белков-партнеров, что определяет их функциональную активность [39]. Для ряда PEBP растений была определена кристаллическая структура, которая, как оказалось, имеет большое сходство со структурой PEBP млекопитающих и характеризуется наличием консервативного лиганд-связывающего “кармана”, что предполагает возможность их взаимодействия с фосфорилированными белками-партнерами; однако белки PEBP растений отличаются по расположению петлевых участков [40].

Наряду с FT иTFL1 у *A. thaliana* также охарактеризованы другие белки семейства PEBP: TWIN SISTER OF FT (TSF), MOTHER OF FT AND TFL1 (MFT), BROTHER OF FT (BFT) и ARABIDOPSIS THALIANA CENTRORADIALIS (ATC). PEBP растений группируются в три основные клады: MFT-подобные, FT-подобные (включают у *A. thaliana* FT и TSF) и TFL1-подобные белки (включают у *A. thaliana* TFL1, ATC и BFT) [41].

У *A. thaliana* представители первой клады PEBP, FT и TSF стимулируют цветение при ДД [42]. Однако экспрессия этих генов может по-разному регулироваться с участием дополнительных факторов: так показано, что цитокинин способен индуцировать цветение через активацию *TSF*, но не *FT* [43]. Кроме того FT и TSF выполняют еще одну функцию, не связанную с регуляцией цветения: они контролируют открытие устьиц в зависимости от синего света [44]. Экспрессия *FT* и *TSF* выявлена в замыкающих клетках устьиц, и у мутантов по этим генам не наблюдалось светозависимое открывание устьиц, тогда как конститутивная экспрессия этих генов в эпидермисе обусловливала их постоянное открытие. Механизм зависимого от синего света открывания устьиц при ДД связан с FT-зависимой активацией экспрессии гена *SOC1*, поскольку у ТФ SOC1 есть дополнительная функция, связанная с регуляцией открывания устьиц: она определяется SOC1-зависимой активацией экспрессии гена *AHA5,* кодирующего одну из изоформплазмалемной H+-АТФазы в замыкающих клетках. Показано, что FT-зависимая активация экспрессии *SOC1* сопровождалась эпигенетическими изменениями

в промоторной области этого гена (триметилированием H3K4) [45]. Таким образом, регуляторный модуль, связанный с фотопериодической активацией *FT,* помимо цветения, также может быть задействован в других светозависимых процессах.

Представители второй клады (TFL1, ATC и BFT) подавляют цветение, при этом для ATC и BFT продемонстрирована способность к взаимодействию с ТФ FD и репрессии транскрипции генов идентичности флоральных меристем, в частности *AP1* [46]. Белки этой клады отчасти различаются функционально: так, белок ATC образуется в проводящих тканях листа при неиндуктивном КД и, как и FT, перемещается по флоэме в ПАМ [46].

Белок MFT *A. thaliana* является слабым индуктором цветения, но его основная функция связана с регуляцией прорастания семян [47]. Мутация по гену *MFT* приводит к нарушению периода покоя семян, что указывает на участие этого гена в установлении периода покоя. В то же время, при действии абсцизовой кислоты (АБК) – растительного “гормона покоя”, скорость прорастания семян у мутантов *mft* была ниже, чем у растений дикого типа, что свидетельствует о неоднозначном действии *MFT* в процессе прорастания семени. W. Xi с соавт. показали, что экспрессия *MFT* активируется в зародыше с участием АБК-индуцируемого ТФ ABI5 (ABA-INSENSITIVE5), при этом MFT по механизму отрицательной обратной связи подавляет экспрессию *ABI5*, связываясь с его регуляторными последовательностями, что было показано методом иммунопреципитации хроматина [47]. Вероятно, ингибирование *ABI5* может опосредовать стимулирующий эффект MFT на прорастание семян. В то же время в другой работе показано, что *MFT* активируется при действии дальнего красного света, и его продукт, как предполагается на основании данных транскриптомного анализа мутантов *mft*, препятствует прорастанию семян за счет активации экспрессии генов, опосредующих ответ на АБК, в частности *ABI2* [48]. Сверхэкспрессия гомологов *MFT* хлопка, *GhMFT1* и *GhMFT2,* ингибировала прорастание семян [49]. Более того, продукты генов *GhMFT1* и *GhMFT2* демонстрировали взаимодействие с белком GhFD в двугибридной дрожжевой системе и при анализе методом BiFC, то есть белки MFT также могут образовывать комплексы с ТФ FD [49].

MFT-подобные белки являются наиболее древней ветвью семейства PEBP у растений: их гены идентифицированы даже в геномах мхов, тогда как *FT-TFL1*-подобные гены обнаружены только у семенных растений [50]. Например в геноме мха *Physcomitrella patens* и плауна *Selaginella moellendorfii* было идентифицировано четыре и два *MFT*-подобных гена, соответственно [50]. У *P. patens MFT*-подобные гены экспрессируются в гаметангиях, что указывает на их возможное участие в развитии органов полового размножения – антеридий и/или архегоний; также для генов *PpMFT2* и *PpMFT4* показан относительно высокий уровень экспрессии на стадии спорофита [50]. На основании динамики экспрессии *MFT*-подобных генов *P. patens* при разных фотопериодических условиях предполагается, что экспрессия *PpMFT2, PpMFT3* и *PpMFT4* может контролироваться с участием компонентов циркадных часов [50]. Таким образом, у мха *P. patens MFT*-подобные гены, так же как и их гомологи у цветковых растений, могут участвовать в регуляции образования репродуктивных органов при оптимальном фотопериоде. У печеночного мха *Marchantia polymorpha* ген *MpMFT* участвует в регуляции прорастания гемм (выводковых почек), которые маршанция использует для вегетативного размножения [51]. Известно, что у маршанции АБК запускает период покоя гемм, при этом ген *MpMFT,* вероятно, является одной из мишеней активируемого АБК сигнального пути, поскольку сверхэкспрессия гомолога *ABI3* (продуктом этого гена является один из АБК-регулируемых ТФ), а также обработка АБК приводила к увеличению экспрессии *MpMFT* [51]. Таким образом, *MFT*-подобный ген маршанции, как и его гомологи у цветковых растений, также задействован в АБК-опосредованной регуляции периода покоя “зародышевых структур”, что определяет их прорастание при наступлении благоприятных условий. Ортолог *MFT* у папоротника адиантум венерин волос (*Adiantum capillus-veneris*), ген *AcMFT*, экспрессируется в ходе вегетативного развития, и его экспрессия снижается при переходе к половому размножению – перед формированием сорусов; кроме того, уровень экспрессии *AcMFT* изменяется в течение суток при ДД, что указывает на существование фотопериодической регуляции его экспрессии [52]. Интересно, что сверхэкспрессия *AcMFT* частично комплементировала мутацию *ft* у *A. thaliana*, ускоряя цветение мутантов и активируя экспрессию гена *AP1.* Более того, белок AcMFT способен взаимодействовать с белком FD, что было показано методами коиммунопреципитации белков и FRET [52].

Возникновение семенных растений в ходе эволюции, как предполагается, сопровождалось дупликацией и последующей дивергенцией *MFT*-подобных генов с появлением *FT/TFL1*-подобных генов у голосеменных [52]. Согласно результатам масштабного филогенетического анализа, проведенного A. Karlgren с соавт. [41], *FT/TFL1*-подобные гены голосеменных формируют отдельный кластер, располагающийся на филогенетическом дереве возле узла, разделяющего два кластера – *FT*-подобных и *TFL1*-подобных генов покрытосеменных. Например у ели обыкновенной *Picea abies* наряду с двумя *MFT*-подобными генами (*PaMFT1* и *PaMFT2*), были выявлены два *FT/TFL1*-подобных гена – *PaFTL1* и *PaFTL2.*

Белки PaFTL1 и PaFTL2 содержат консервативный остаток Tyr в положении, соответствующем позициям Tyr-85 и His-88 в аминокислотных последовательностях белков FT и TFL1 соответственно (см. ниже), что сближает эти белки с репрессорами цветения у цветковых растений. Однако аминокислотная последовательность участка, кодируемого сегментами B и C четвертого экзона (который, как было показано, играет ключевую роль в определении активности FT-подобных белков) в белках PaFTL1 и PaFTL2 оказалась в большей степени схожей с последовательностью, соответствующей FT-подобным белкам, чем с таковой у TFL1-подобных. Таким образом, PaFTL1 и PaFTL2 сосны сочетают черты TFL1-подобных и FT-подобных белков цветковых растений. Сверхэкспрессия генов *PaFTL1* и *PaFTL2* у *A. thaliana* приводила к более позднему цветению, тогда как сверхэкспрессия *MFT*-подобных генов ели (*PaMFT1* и *PaMFT2*) не оказывала влияния на время зацветания. Наиболее высокий уровень экспрессии гена *PaFTL1* детектировался в мужских генеративных побегах, тогда как экспрессия *PaFTL2* выявлялась преимущественно в иглах, а также в вегетативных и генеративных почках, при этом экспрессия *PaFTL2* увеличивалась при КД, когда происходит остановка роста и закладка генеративных побегов у ели. Для *MFT*-подобных генов ели выявлена относительно высокая экспрессия в семенах: как в тканях зародыша, так и в эндосперме. На основании этих данных можно предположить, что *MFT*-подобные гены у голосеменных так же, как и их ближайшие гомологи у цветковых растений, специализируются на регуляции прорастании семян, тогда как функции представителей клады *FT/TFL1* связаны с регуляцией развития репродуктивных органов. Кроме того, M. Karlgren с соавт. высказали предположение, что поскольку такие процессы как остановка роста, переход растений в период покоя и покой семян имеют общие физиологические основы, то общая “предковая” функция генов *PEBP* растений может быть связана как раз с общей регуляцией процессов роста и с вступлением в период покоя перед наступлением неблагоприятного периода, что обеспечивает выживание растений при сезонных изменениях условий окружающей среды [41].

Появлению цветковых растений предшествовало разделение *FT/TFL1*-подобных генов на две клады: *FT*-подобных и *TFL1*-подобных [53]. У покрытосеменных *FT*- и *TFL1*-подобные гены также определяют переход к репродуктивному развитию, регулируя время цветения, но также приобретают и новые функции, в частности, регулируют покой пазушных почек и образование запасающих органов (см. ниже).

3. СТРУКТУРА FT- И TFL1-ПОДОБНЫХ БЕЛКОВ

Аминокислотная последовательность белка TFL1 имеет достаточно большое сходство (около 60%) с последовательностью белка FT, при этом показано, что противоположные функции этих белков определяются наличием определенных аминокислот в консервативных положениях. Hanzawa с соавт. сравнили последовательности белков FT, TFL1 и CEN и выявили аминокислотные остатки, различающиеся у активатора (FT) и репрессоров (TFL1 и CEN) цветения, которые соответствуют положениям 88/85, 113/110 и 123/120 в последовательности белков FT/TFL1 и расположены в пределах консервативного лиганд-связывающего “кармана” [54]. Последовательно заменяя аминокислотные остатки в белках TFL1 и CEN в этих позициях (в отдельности и в комбинации) на остатки, характерные для белка FT (а в белке FT, аналогичным образом, на остатки, характерные для TFL1), авторы анализировали влияние таких замен на индукцию цветения у резуховидки *A. thaliana*. Сверхэкспрессия измененного гена *FT*, кодирующего белок FT с заменой Y85H (Tyr в 85 положении замещен на His, что соответствует аминокислотному остатку в соответствующем положении у TFL1), вызывала замедленное цветение характерное для растений со сверхэкспрессией *TFL1*. При этом сверхэкспрессия генов *TFL1* и *CEN*, кодирующих белки с заменой H88Y или F123V, приводила, напротив, к более раннему цветению, аналогично тому, как это наблюдалось у растений со сверхэкспрессией *FT*. Таким образом, единичные аминокислотные замены обусловливают превращение белка TFL1 во флориген, а FT – в антифлориген [54]. Таким образом, замена ключевых аминокислот приводит к изменению функций FT- и TFL1-подобных белков *A. thaliana*, при этом у разных видов растений (у *A. thaliana*, львиного зева, томата, гороха) белки с TFL1-подобными функциями в консервативном положении 88/85 содержат His, а белки с FT-подобными функциями – Tyr. Интересно, что белок MFT *A. thaliana*, относящийся к наиболее древней ветви PEBP, в данном консервативном положении содержит Trp и обладает лишь слабой FT-подобной активностью, тогда как основная его функция связана с регуляцией периода покоя семян [54].

В другом исследовании J.H. Ahn с соавт. изучали, какие участки белков FT и TFL1 ответственны за их функции [40]. Для этого авторы сконструировали химерные гены, состоящие из различных комбинаций четырех экзонов генов *FT* и *TFL1*, и проанализировали эффект сверхэкспрессии таких генов на цветение. Было обнаружено, что чет-

вертый экзон генов *FT* и *TFL1* оказывается наиболее важным при определении их функции: сверхэкспрессия химерного гена, в котором первые три экзона были взяты от гена *FT*, а четвертый экзон – от гена *TFL1* (химерный вариант *FFFT*), приводила к позднему цветению. Однако противоположная комбинация в случае, когда в гене *TFL1* последовательность четвертого экзона была заменена последовательностью четвертого экзона гена *FT* (химерный вариант *TTTF*), не оказывал влияния на цветение у резуховидки [40]. Далее авторы дополнительно разделили последовательность четвертого экзона на четыре сегмента (A, B, C и D), и получили дополнительные варианты химерных генов на основе *FT*, в которых сегменты четвертого экзона были заменены на соответствующие последовательности гена *TFL1*. С помощью такого подхода было показано, что FT-специфичная активность (активация цветения) определяется сегментами B и C четвертого экзона *FT*: химерный ген на основе *TFL1*, у которого сегменты B и C были взяты от *FT*, стимулировал цветение, тогда как сверхэкспрессия модифицированного гена *FT*, у которого сегмент B или C были взяты от *TFL1*, замедляла цветение, причем наиболее выраженный фенотип проявлялся при замене сегмента B. При сравнении кристаллических структур белков FT и TFL1 было показано, что наибольшие их различия наблюдаются в области внешней петли (расположенной рядом с входом в лиганд-связывающий “карман”), которая соответствует аминокислотным остаткам в положениях 128–145, кодируемым сегментом B четвертого экзона. Согласно предположению авторов, выступающая на поверхности белка внешняя петля определяет функциональную специфичность белков FT и TFL1, участвуя во взаимодействии с белками-партнерами. Возможно, внешняя петля белка FT, функционирующего как коактиватор транскрипции в комплексе с ТФ FD, ответственна за рекрутирование к комплексу FT-FD дополнительных белков-коактиваторов, тогда как внешняя петля белка TFL1 в комплексе с FD, напротив, опосредует привлечение дополнительных корепрессоров, что в конечном итоге препятствует цветению [40].

Поскольку функциональные различия FT- и TFL1-подобных белков зависят от присутствия определенных аминокислот в консервативных позициях, в ходе эволюции возникновение единичных замен в *FT*- и *TFL1*-подобных генах могло приводить к значительным изменениям в их функциях, оказывая эффект на время цветения и другие регулируемые ими процессы. Как показали исследования *FT*- и *TFL1*-подобных генов у разных видов растений, их эволюция в ряде случаев сопровождалась изменениями функций: у ряда растений *FT*-подобные гены перестали функционировать как активаторы цветения и приобрели функции репрессоров. Так у табака (*Nicotiana tabacum*) известны четыре *FT*-подобных гена: три из них (*NtFT1–NtFT3*) подавляют цветение, тогда как *NtFT4* является его индуктором [55]. У сахарной свеклы (*Beta vulgaris*) – два гомолога *FT-BvFT1* и *BvFT2;* BvFT2 индуцирует цветение, выступая в роли флоригена, тогда как BvFT1 в ходе эволюции приобрел функции репрессора и подавляет активность BvFT2 [56]. В ходе вернализации происходит подавление экспрессии *BvFT1*, что способствует активации *BvFT2* и инициации цветения. Сравнение последовательностей белков BvFT1 и BvFT2 показало, что за репрессорные функции BvFT2 ответственны три аминокислотные замены в позициях, соответствующих положениям 134, 137, 138 белка FT *A. thaliana* (Y134N, G137Q и W138Q): замены аминокислот в этих трех положениях превращали белок BvFT2 из репрессора в активатор цветения [56]. Замены в положениях 134, 137, 138 затрагивают последовательность внешней петли, кодируемую сегментом B четвертого экзона *BvFT2*. Более того, сравнительный анализ последовательностей FT-подобных активаторов и FT-подобных репрессоров цветения у разных видов растений, показал, что все FT с функцией активаторов цветения содержат Tyr в положении 134 (согласно нумерации аминоксилотных позиций в белке FT у резуховидки), тогда как у FT-подобных репрессоров в этом положении находится аминокислота, отличная от Tyr [57]. Еще один аминокислотный остаток, определяющий активирующую цветение функцию FT – Trp-138: FT-подобные репрессоры цветения в этом положении содержат отличный от Trp аминокислотный остаток [57]. В элегантном эксперименте с получением случайных точечных мутаций в гене *FT* с последующей оценкой их влияния на цветение у *A. thaliana*, было показано, что замены Glu-109, Trp-138, Gln-140 и Asn-152, которые затрагивают внешнюю петлю белка FT, расположенного над лиганд-связывающим “карманом”, обусловливали превращение FT в репрессор цветения [58]. Авторы оценили влияние одной из таких замен, Q140K, приводящую к изменению заряда на поверхности белка, на способность связываться с белками-партнерами, и показали, что эта замена не влияет на связывание FT с 14-3-3 и FD. Однако эта замена оказывала эффект на его связывание с ТФ семейства TEOSINTE BRANCHED/CYCLOIDEA/PCF (TCP), для одного из которых, белка BRC1, ранее было показано специ-

фичное взаимодействие с FT, но не с TFL1, при подавлении цветения пазушных почек [36, 58]. Таким образом, аминокислотные остатки, расположенные во внешней петле, определяют способность белков FT-TFL1 взаимодействовать с белками-партнерами, в частности с BRC1. В конечном итоге, композиция сложных белковых комплексов FAC, включающих (помимо FT-TFL1, FD и белков 14-3-3) по-видимому, и другие белки-корегуляторы транскрипции, определяет различное их действие на экспрессию генов-мишеней.

4. РАЗНООБРАЗИЕ МЕХАНИЗМОВ РЕГУЛЯЦИИ И ДЕЙСТВИЯ *FT-TFL1*-ПОДОБНЫХ ГЕНОВ У РАЗНЫХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ

Помимо изменений в консервативных участках белков FT-TFL1, ответственных за взаимодействие с белками-партнерами, эволюция флоригенов, по-видимому, также шла по пути изменения регуляторных механизмов, определяющих экспрессию *FT-TFL1*-подобных генов в разных условиях и их способность к дальнему транспорту. Мы остановимся лишь на некоторых примерах участия FT-TFL1-подобных белков в контроле цветения, а также в регуляции других процессов развития у некоторых групп растений.

Механизмы регуляции цветения у риса – модельного короткодневного растения

Растения, цветущие при КД, встречаются среди обитателей субтропических широт: зацветание у них наступает при укорочении дня до 8–12 ч тогда как ДД задерживает их цветение. “Растения короткого дня” более чувствительны к колебаниям длины освещенного периода, чем “растения длинного дня”: 30-минутное прибавление к световому периоду или краткий (10 мин) период освещения ночью способны супрессировать их цветение [59]. На основе этих данных предположили, что основа контроля цветения при КД – подавление “длиннодневной” программы. В дальнейшем это было подтверждено в исследованиях, проведенных на рисе посевном (*Oryza sativa*) – модельном “растении короткого дня”, у которого были выявлены регуляторные гены, определяющие зацветание при КД.

У риса были выявлены все компоненты эволюционно консервативного пути GI-CO-FT, который так же, как и у резуховидки, играет центральную роль в фотопериодическом контроле зацветания. Однако сверх него у риса присутствует еще целый ряд регуляторов, которые при наличии функционального GI-CO-FT определяют переход к цветению именно при КД: результат их действия сводится к синтезу флоригена при КД, оптимальном для риса. Впрочем рис относится к факультативно короткодневным растениям: он может зацвести и при ДД. Для этого у риса есть два белка-флоригена, один из которых, Heading date 3a (Hd3a), накапливается при КД, а другой, RICE FLOWERING LOCUS T1 (RFT1), – при ДД [60]. Оба гена экспрессируются во флоэме листьев, каждый при соответствующем фотопериоде, а их белковые продукты транспортируются в ПАМ.

Очевидно, что “классический” ТФ CO благодаря своей темновой нестабильности в сочетании с максимумом экспрессии к концу суток не может быть регулятором цветения при КД. Таким образом, CO риса должен функционально отличаться от такового у резуховидки, либо помимо него в пути контроля цветения должны действовать другие регуляторы. Действительно, был обнаружен ряд отличий CO риса и *A. thaliana*. Так, у риса не было выявлено прямого взаимодействия ТФ CO (у риса его гомолог называется Headingdate1, Hd1), с промотором *Hd3a*. Кроме того, в отличие от CO у резуховидки, Hd1 стимулирует переход к цветению при КД и ингибирует его при ДД: мутанты *hd1* поздно зацветают при КД и преждевременно при ДД, причем этот эффект коррелирует с уровнем транскриптов *Hd3a* [61]. Активность Hd1 подавляется при кратковременном освещении растений ночью, при этом снижается экспрессия *Hd3a*; этот эффект зависит от фитохрома B, поскольку у мутанта *phyB* разрыв темнового периода не приводит к снижению экспрессии *Hd3a* [59]. Тем не менее конкретные механизмы такого “альтернативного” действия белка Hd1 не выявлены.

Также, помимо Hd1, у риса имеются альтернативные пути контроля экспрессии флоригенов, – и работа этих путей как раз негативно регулируется светом. Первый из выявленных белков этого пути – ТФ Early headingdate1 (Ehd1), который относится к семейству регуляторов ответа B-типа (B-type response regulators, RR-B): сходные с ним белки действуют в пути ответа на цитокинины. К промоторам генов *FT* риса белок Ehd1 присоединяется в виде гомодимера, причем его димеризация ингибируется цитокинин-зависимым регулятором ответа OsRR1 [62]. Транскрипция гена *Ehd1,* в свою очередь, регулируется рядом ТФ, действующих как супрессоры (Ghd7, Hd1, COL4, AP2, OsLFL1) или активаторы (OsID1, Ehd4, OsMADS51, Hd1) транскрипции, активность большинства из которых также зависит от длины дня [63, 64]. Так, репрессор транскрипции *Ehd1* –

белок с CCT-доменом под названием Grainnumber, plantheightandheadingdate 7 (Ghd7) ограничивает экспрессию *Ehd1* при ДД, когда экспрессия самого *Ghd7* достигает максимума. Белок Ghd7 подавляет активность гена *Ehd1*, связываясь с его цис-регуляторными элементами в комплексе с белком Hd1 [65]. Таким образом, ортолог CO у риса, Hd1 при КД действует как активатор цветения, тогда как при ДД он в комплексе с белком Ghd7 опосредует подавление экспрессии *Ehd1*, что в свою очередь, приводит к снижению уроня экспрессии *Hd3a*. Еще один регулятор экспрессии *Ehd1* – ТФ OsMADS50 – гомолог ТФ *A. thaliana SOC1* [66]. У мутанта *osmads50* имеет местоподавление экспрессии *Ehd1* и *RFT1* при КД, то есть у *OsMADS50*, по сравнению с *SOC1*, есть дополнительная функция, связанная с контролем вышележащих путей контроля зацветания.

Флориген риса Hd3a связывается с белками семейства 14-3-3, опосредующими его взаимодействие с ТФ OsFD1, при этом образуется комплекс FAC. Мишенями этого FAC являются гены, регулирующие переход к цветению: *OsMADS14*, *OsMADS15*, *OsMADS18* и *OsMADS34*, Hd3a в составе FAC активирует их транскрипцию, напрямую связываясь с промоторами [29]. Флориген RFT1 также может формировать FAC, связываясь с 14-3-3 и OsFD1 [67]. Про мишени RFT1 известно меньше, но уровень транскриптов *OsMADS14*, *OsMADS15*, *OsMADS18* и *OsMADS34* повышался при транзиентной индукции экспрессии как *Hd3a*, так и *RFT1* [67], он резко снижался при РНК-интерференции любого из этих генов [63], что позволяет предположить наличие у них общих мишеней. Об этом также свидетельствуют сходные эффекты сверхэкспрессии *Hd3a* и *RFT1*: преждевременное и эктопическое формирование колосков на растениях, а также прямо в каллусной культуре [68]. В то же время подавление экспрессии *Hd3a* и *RFT1* оказывает противоположное влияние на цветение при разном фотопериоде: РНК-интерференция *Hd3a* вызывает задержку цветения при КД, но не при ДД, тогда как РНК-интерференция *RFT1* не имеет эффекта при КД, но задерживает цветение при ДД [69]. Таким образом, два флоригена риса необходимы при цветении при разной длине дня и, очевидно, должны иметь также и разные мишени и/или вышележащие регуляторы. Интересно, что при сверхэкспрессии *RFT1* имеет место активация экспрессии генов *OsFD2* и *OsFD3*, которые также могут входить в состав неких альтернативных FAC с участием RFT1 [68]. Помимо участия в контроле цветения у флоригенов риса могут быть и другие функции. Например Hd3a также участвует в контроле ветвления, накапливаясь в пазушных (придаточных) меристемах и образуя там комплексы с OsFD1 [70]. Оба флоригена, а также комплексы Hd3a и RFT1 с 14-3-3 и OsFD1 были также обнаружены в листьях, где они вызывают повышение уровня транскриптов OsMADS14 и OsMADS15 [67].

Механизмы цветения при КД были изучены не только у риса, а также на примере ряда других растений. При этом было отмечено, что для зацветания одних короткодневных растений достаточно однократного перехода к условиям КД – к таковым относятся дурнушник (*Xanthium strumarium*), плевел (*Lolium temulentum*) и пурпурный вьюнок (*Pharbitis nil*), тогда как для других – например двух видов хризантем (*Chrysanthemum morifolium* и *C. seticuspe*) необходимо довольно длительное выдерживание в условиях КД: именно у таких растений легко вызвать ингибирование цветения однократным прибавлением длины дня или кратковременным освещением ночью [71].

FT-TFL1-подобные гены хризантемы: системный репрессор цветения и авторегуляция экспрессии

У хризантем *C. seticuspe* и *C. morifolium* выявлены по три *FT*-подобных гена, среди которых центральную роль в контроле цветения играет *FTL3* (*CsFTL3* или *CmFTL3*) [71], а также по одному *TFL1*-подобному гену (*CsAFT*, *CmAFT*), продуктами которых являются антифлоригены [71]. Два других *FT*-подобных гена хризантемы играют менее заметную роль в контроле цветения: так, *FTL1* у *C. morifolium* индуцируется при КД, но не может, в отличие от *CmFTL3*, компенсировать дефекты цветения у мутанта *ft* резуховидки, а *FTL2* хотя и может восстановить нормальный фенотип у *ft*, но индуцируется под влиянием не фотопериода, а повышения уровня сахарозы [73].

Гены флоригена (*FTL3*) и антифлоригена (*AFT*) хризантемы экспрессируются в листьях под влиянием фотопериода, оттуда их белковые продукты перемещаются в ПАМ, регулируя переход к цветению. Таким образом, в отличие от резуховидки, у которой ген *TFL1* экспрессируется в ПАМ и действует локально, TFL1-подобный белок хризантемы, AFT, системно подавляет цветение, перемещаясь из листьев в ПАМ. Уровень экспрессии *CsAFT* снижается уже при кратковременном воздействии КД [74], но уровень экспрессии *CsFTL3* в этих условиях повышается лишь незначительно, чего недостаточно для инициации цветения: существенное повышение его экспрессии имеет место только после нескольких недель воздействия КД. Напротив, при последующем воздействии ДД уровень экспрессии *CsFTL3*

быстро снижается [75]. Белки CsAFT и CsFTL3 в ПАМ взаимодействуют с ТФ FD (CsFDL1), активируя экспрессию *AP1*-подобного гена *CsAFL1*. Интересно, что *CsFDL1* у хризантемы экспрессируется не только в ПАМ, но и в листьях, более того, в листьях (и даже листовых протопластах) также происходит индукция экспрессии *CsAFL1* при КД, на основании чего предположили, что в листьях хризантемы могут также формироваться и действовать FAC-комплексы с участием CsFTL3 и CsFDL1 [73]. Мишенями таких комплексов в листьях могут быть не столько "гены цветения", сколько сами *FT-TFL1*-подобные гены. Так у трансгенных растений со сверхэспрессией *CsFTL3* наблюдалось не только ускоренное зацветание и активация экспрессии *CsAFL1*, но и повышение уровня экспрессии самого *CsFTL3* в листьях – причем только в условиях КД; при этом экспрессия двух "минорных" флоригенов, *CsFTL1* и *CsFTL2*, не изменялась. Аналогично, у растений *35S:CsAFT* наблюдалось специфическое повышение экспрессии *CsAFT* в листьях при ДД и отсутствовало повышение экспрессии *CsFTL3* при КД. Было высказано предположение о том, что во *FT-TFL1*-зависимой регуляции цветения хризантемы существует обратная связь, и гены *CsFTL3* и *CsAFT* могут быть мишенями комплексов CsFTL3-CsFDL1 и CsAFT-CsFDL1. Действительно, наблюдаемые эффекты "авторегуляции" экспрессии *CsFTL3* и *CsAFT* прекращались при РНК-интерференции гена *CsFDL1*, а у растений с индуцибельной супрессией *CsFDL1* (*35S:CsFDL1-SRDX*) не только не формировалось соцветие, но и не происходило повышение экспрессии *CsFTL3* и *CsAFT* в листьях при КД и ДД соответственно [75].

Таким образом, у хризантем выявлено участие комплексов FAC в регуляции экспрессии *FT-TFL1*-подобных генов по принципу обратной связи (позитивной в случае "авторегуляции" CsFTL3-CsFTL3 и CsAFT-CsAFT и негативной в случае регуляции CsAFT-CsFTL3). Эта особенность не является уникальной для хризантемы: данные о том, что FT и TFL1 могут регулировать экспрессию *FT-TFL1*-подобных генов были получены для других "растений короткого дня" – гороха *Pisum sativum* [76] и картофеля *Solanum tuberosum* [77].

Пшеница, ячмень и сахарная свекла: зависимость экспрессии FT от вернализации

У ряда злаковых культур (пшеницы, ржи, ячменя) существуют яровые сорта, которые высевают весной, и озимые, которые высевают осенью: они прорастают до наступления зимы, а весной возобновляют рост. Озимым, но не яровым формам злаков, требуется вернализация (яровизация) – продолжительное воздействие низких температур для индукции цветения.

У пшеницы (*Triticum aestivum*) и ячменя (*Hordeum vulgare*) мутации в *FT*-подобном гене, известном также как *VRN3*, оказывают влияние на время цветения. Так у пшеницы известна доминантная мутация *Vrn3*, обусловленная инсерцией ретротранспозона в промотор гена *TaFT,* которая приводит к более раннему цветению. У ячменя описан рецессивный аллель *vrn3*, который вызывает задержку цветения [78]. У озимых форм ячменя и пшеницы экспрессия *FT*-подобного гена *VRN3* регулируется также фотопериодом (усиливается при ДД). У озимых форм до вернализации экспрессия гена *VRN3* подавляется с участием белка VRN2 – ТФ с доменами "цинковые пальцы" и CCT (от: CO, CO-like и TOC), который относится к CO-подобным белкам [78] и является ортологом белка Ghd7 риса [79]. VRN2 действует как репрессор цветения, и его активность подавляется при вернализации, в результате чего становится возможной экспрессия гена *VRN3* при наступлении индуктивного ДД. У форм ячменя и пшеницы, несущих мутации в гене *VRN2*, цветение не зависит от вернализации, и такие формы являются яровыми [80]. Фактором, активирующим экспрессию *FT*-подобного гена *VRN3* при ДД, является PPD-H1 (PHOTOPERIOD-H1), белок, который, как и VRN2, содержит домен CCT, но также имеет домен RR и относится к группе белков PRR (Pseudo Response Regulators) [81]. Важную роль в цветении у злаков также играет ген *VRN1*, кодирующий ТФ MADS, схожий с AP1 у *A. thaliana* и ответственный за формирование флоральных меристем. До вернализации экспрессия *VRN1* подавлена, тогда как во время холодового периода, предшествующего вернализации, происходит его активация с участием эпигенетических механизмов, в частности, за счет изменения паттерна метилирования гистонов в промоторной области *VRN1* [82]. ТФ VRN1 напрямую подавляет экспрессию гена *VRN2* [83], что в свою очередь, приводит к снятию репрессии гена *VRN3*, что делает возможным его последующую активацию при ДД с участием PPD-H1.

Таким образом, у пшеницы и ячменя потребность в вернализации для индукции цветения зависит от гена VRN2 – репрессора цветения, ортолога Ghd7 риса. Таким образом, VRN2 у ячменя и пшеницы и Ghd7 у риса подавляют экспрессию флоригенов, но при этом их активность контролируется различными факторами: вернализацией и фотопериодом соответственно. Интересно, что, согласно филогенетическому анализу, ветвь генов

VRN2/Ghd7 возникла в ходе эволюции злаков в результате дупликации CO-подобных генов [79]. Таким образом, в отличие от CO-зависимой регуляции *FT* у *A. thaliana*, у злаков появилась новая ветвь CO-подобных генов, *VRN2/Ghd7*, вовлеченных в альтернативные пути регуляции активности флоригена. Вероятно, в ходе последующей эволюции у ряда злаков, включая ячмень и пшеницу, ген *VRN2* стал мишенью VRN1-зависимой регуляции, что способствовало появлению дополнительного пути регуляции флоригена с участием вернализации [79].

У сахарной свеклы в ходе вернализации подавляется активность репрессора цветения – гена *BvFT1*. За это отвечает продукт гена *BvBTC1* (*BOLTINGTIMECONTROL 1*) – белок группы PRR, родственный белку PPD-H1 пшеницы [84]. Аллели гена *BvBTC1* различаются у двулетних (нуждающихся в вернализации для индукции цветения) и однолетних (не нуждающихся в вернализации) форм сахарной свеклы. Так двулетние формы содержат инсерцию около 28 нуклеотидов в промоторной области гена *BvBTC1* (так называемый аллель *Bvbtc1*), что приводит к частичной потере функции вследствие снижения уровня экспрессии этого гена. Предполагается, что в результате этой полудоминантной мутации концентрация белка BvBTC1 не достигает критического уровня необходимого для репрессии *BvFT1*, поэтому такие формы свеклы не переходят к цветению в первый год вегетации. В ходе вернализации уровень экспрессии *Bvbtc1* значительно возрастает, накапливается белок BvBTC1, подавляющий экспрессию гена *BvFT1*, что приводит к активации экспрессии его мишени – гена *BvFT2*, стимулирующего цветение. У однолетних форм сахарной свеклы экспрессия гена *BvFT1* остается низкой вследствие ее подавления с участием BvBTC1, в результате чего цветение наступает при КД под действием BvFT2 [84].

Таким образом, у злаков и сахарной свеклы в ходе эволюции независимо появились формы, нуждающиеся в вернализации для цветения, за счет возникновения дополнительных регуляторных путей, контролирующих активность флоригенов. В отличие от резуховидки, у которой ключевым моментом при вернализации является эпигенетическое подавление экспрессии гена *FLC* при воздействии низких температур, у злаков эпигенетические изменения в ходе вернализации активируют экспрессию другого гена ТФ MADS – *VRN1*, функция которого связана не с репрессией, а с активацией цветения.

Тополь: роль белков FT в регуляции цветения и периода покоя почек

Развитие древесных растений, особенно в умеренных широтах, строго связано с сезонностью и всегда носит циклический характер, где периоды активного развития (роста ввысь и утолщением, ветвления, цветения) сменяются периодами покоя при наступлении неблагоприятных условий. Флориген-подобные белки выступают в качестве регуляторов такой периодичности развития деревьев, что было продемонстрировано на примере тополя.

У тополя *Populus trichocarpa*, многолетнего древесного растения, вегетативные ПАМ сохраняют недетерминированное состояние в течение всей жизни, при этом первое цветение происходит в возрасте 8–12 лет. У тополя, как и у многих других древесных растений умеренного климата, существует сезонная цикличность активности ПАМ: при уменьшении длины светового дня и понижении температуры осенью происходит остановка роста, закладка почек (как вегетативных, так и генеративных) и их переход в период покоя, тогда как весной при потеплении и увеличении длины светового дня покоящиеся почки возобновляют рост и развитие [85]. У тополя обнаружено два паралога *FT*: *PtFT1* и *PtFT2* [86]. Сверхэкспрессия гена *PtFT1* у гибридного тополя *P. tremula* × *P. tremuloides* стимулировала более раннее цветение: соцветия формировались на трансгенных побегах в возрасте около четырех недель, тогда как растения дикого типа переходили к цветению только в возрасте более восьми лет. Более того, у трансгенных растений со сверхэкспрессией гена *PtFT1*, в отличие от растений дикого типа, при воздействии КД и низких температур не наблюдалось остановки роста и формирования покоящихся почек, что указывает на то, что *PtFT1* подавляет эти процессы. Показано, что с увеличением возраста растений уровень транскриптов *PtFT1* повышается и достигает порогового уровня, достаточного для запуска цветения. H. Böhlenius с соавт. показали, что экспрессия *PtFT1* зависит от фотопериода: при ДД уровень экспрессии *PtFT1* высок, при этом уровень транскриптов изменяется в течение суток, достигая максимума к началу темнового периода, тогда как при наступлении КД экспрессия *PtFT1* значительно снижается и практически исчезает в течение недели [86]. Однако по данным другого исследования, экспрессия *PtFT1* не зависит от длины светового дня и находится только под контролем температуры, активируясь при вернализации [87]. У растений с подавлением экспрессии *PtFT1* наблюдалась более ранняя закладка почек даже при незначительном уменьшении длины

дня. На основании этого предполагается, что подавление экспрессии *PtFT1* необходимо для остановки роста и закладки покоящихся почек осенью [86]. Согласно данным C.Y. Hsu и соавт., паралог *PtFT1*, ген *PtFT2* также вовлечен в регуляцию периода покоя почек, при этом именно ген *PtFT2* находится под контролем фотопериода: его экспрессия активируется при ДД [87].

На гибридном тополе *P. tremula XP. temuloides* показано, что основным регулятором экспрессии генов *FT* при КД является не ТФ CO, а вышележащий регулятор GI, который в контроле роста пазушных почек может действовать независимо от CO. Известно, что у резуховидки белок GI физически ассоциирован с промотором *FT*, причем с теми его областями, на которых имеются сайты присоединения транскрипционных репрессоров [88]. Основной установленной мишенью GI является транскрипционный репрессор CDF1 – через его деградацию GI регулирует экспрессию *CO* [6]. У гибридного тополя ген *PttFT2*, контролирующий остановку роста и закладку покоящихся почек, является прямой мишенью репрессора PttCDF1, тогда как PttGI активирует эти процессы, устраняя репрессор с промотора *PttFT2* [89]. Поскольку уровни экспрессии *PttGI* и его гомолога *PttGIL* не зависят от длины дня и осциллируют с одинаковой периодичностью в любых условиях, эти белки могут быть регуляторами экспрессии *PttFT2* у тополей в разных широтах. Сверхэкспрессия *PttGI* вызывала повышение уровня экспрессии *PttFT2* и продление сроков активной вегетации: при КД остановка роста и закладка почек у растений со сверхэкспрессией *PttGI* происходила гораздо позже, чем у дикого типа. При этом РНК-интерференция гена *PttGI* вызывала быструю остановку роста при КД, а у некоторых линий трансгенных растений – даже при ДД [89]. В отличие от резуховидки, у которой сверхэкспрессия *GI* вызывает повышение экспрессии *CO* [90], сверхэкспрессия *PttGI* не оказывала значительного влияния на экспрессию *PttCO2* – гомолога гена *CO* у тополя. На основании этого авторы предположили, что у тополя активация PttFT2 с участием GI происходит независимо от CO [89].

Наряду с генами *FT*, у тополя также были идентифицированы *TFL1*-подобные гены, *PtCEN1* и *PtCEN2*. У растений со сверхэкспрессией *PtCEN1* наблюдалась задержка в развитии почек весной, тогда как подавление активности *PtCEN1* и *PtCEN2* с помощью РНК-интерференции приводило к более раннему началу первого цветения в ходе жизненного цикла, а также к более интенсивному цветению, обусловленному формированием большего количества генеративных почек из пазушных меристем [85]. Таким образом, ген *PtCEN1* подавляет выход почек из состояния покоя, а также ответственен за поддержание пазушных меристем в вегетативном состоянии, препятствуя их преждевременному развитию в меристемы соцветия. Предполагается, что относительные уровни белков FT1 и CEN1 определяют время возобновления активности покоящихся почек и идентичность их меристем: повышение содержания FT1 и снижение уровня CEN1 способствуют выходу почек из состояния покоя и стимулируют преобразование пазушных меристем в меристемы соцветий. Показано, что весной повышается уровень экспрессии генов *FT*, а также генов, кодирующих 1,3-β-глюканазы. Эти ферменты опосредуют разрушение отложений каллозы, блокирующих плазмодесмы в ходе периода покоя, что способствует восстановлению межклеточных контактов и делает возможным транспорт белка FT, накапливающегося в зачатках листьев покоящихся почек, в меристемы, что приводит к активации процессов роста и развития побегов [91]. После цветения наблюдается снижение уровня экспрессии *FT1* и активация экспрессии гена *CEN1*, поддерживающего формирущиеся пазушные почки в вегетативном состоянии [92]. Таким образом, у тополя гомологи FT и TFL1 выполняют противоположные функции не только в ходе инициации цветения, но также и в процессах, связанных с регуляцией циклов покоя и активности вегетативных меристем.

5. FT-ПОДОБНЫЕ БЕЛКИ В ФОРМИРОВАНИИ ЗАПАСАЮЩИХ ОРГАНОВ

Еще одним примером, так или иначе связанным с регуляцией FT-подобными белками циклов активной вегетации и покоя, является их участие в формировании видоизмененных подземных побегов – клубней и луковиц, которые позволяют растениям пережить неблагоприятные условия.

FT-подобные белки в регуляции клубнеобразования у картофеля

Клубень картофеля представляет собой видоизмененный побег, образующийся при разрастании субапикальной части столона (подземного побега). У дикорастущих форм картофеля формирование клубней происходит при КД, однако многие современные сорта утратили фотопериодический контроль клубнеобразования [93]. Опыты 1979–1981 гг. с прививками табака на виды картофеля, образующие клубни только в условиях КД, показали, что вещество, вызывающее цветение табака,

также вызывает образование клубней; на основании этого была выдвинута гипотеза о существовании специального вещества, которое перемещается из побега в столон и вызывает клубнеобразование. Это вещество было названо туберигеном, предполагалось, что тубериген представляет собой комплекс фитогормонов [94]. Впрочем уже тогда было высказано предположение, что тубериген может быть сходен с гормоном цветения – флоригеном. C. Navarro с соавт. показали, что у картофеля цветение и клубнеобразование контролируются двумя различными генами – *StSP3D* и *StSP6A* соответственно [77]. Высокий уровень экспрессии *StSP6A* наблюдался в листьях и столонах КД-индуцированных растений, белок StSP6A транспортируется в столон и может вызывать клубнеобразование. Растения со сверхэкспрессией *StSP6A* давали клубни независимо от длины дня, а подавление экспрессии этого гена задерживало клубнеобразование даже при индуктивном КД, что подтверждает его важную роль в формировании клубня. Анализ экспрессии гена *StSP6A* у сортов картофеля с различными периодами клубнеобразования – ранних, поздних и промежуточных – показал, что накопление его транскриптов в листьях коррелирует со временем формирования клубней у этих сортов [77].

StSP3D и StSP6A картофеля являются FT-подобными белками; помимо них к этой группе относятся белки StSP5G и SP5G-like, обнаруженные позже. РНК-интерференция гена *StSP3D* приводит к позднему цветению, хотя при КД эти растения образуют клубни так же, как и контрольные, что свидетельствует о важной роли этого гена в цветении, но не в клубнеобразовании [77]. Однозначные данные о механизме регуляции экспрессии *StSP3D* отсутствуют, его экспрессия на относительно низком уровне была обнаружена в листьях как при ДД, так и КД [95]. В то же время, ген *StSP6A* явно ассоциирован с клубнеобразованием, а также стимулирует цветение [77]. Если снизить экспрессию *CO*, то картофель будет образовывать клубни и при ДД, при этом экспрессия *StSP6A* возрастает, что говорит о наличии негативной регуляции экспрессии *StSP6A* со стороны CO [77, 96]. Действительно, сверхэкспрессия *CO* приводит к задержке клубнеобразования при индуктивном КД [96].

Два других члена семейства *FT*-подобных генов картофеля (*StSP5G* и *StSP5G-like*) экспрессируются при неиндуктивном ДД и, предположительно, являются антагонистами *StSP6A* [77]. Оказалось, что ТФ CO, накапливаясь на свету, непосредственно активирует экспрессию *StSP5G*, который репрессирует клубнеобразование при ДД благодаря подавлению экспрессии *StSP6A* в листьях. Предполагается, что StSP5G не напрямую репрессирует *StSP6A*, а ограничивает активность одного или нескольких еще неизвестных факторов, а подавление экспрессии *StSP5G* при КД освобождает эти регуляторы, в результате чего у них появляется возможность активировать экспрессию *StSP6A* [97]. Показано, что у картофеля белок StSP6A, взаимодействуя с белками St14-3-3 и StFDL1, формирует TAC (Tuberigen-Activating Complex) так же, как это было описано для флоригена риса. Возможно, что репрессорная функция антитуберигена StSP5G может быть обусловлена его конкуренцией с туберигеном StSP6A за связывание с белками 14-3-3 и StFDL1, аналогично с флоригеном FT и антифлоригеном TFL1 у резуховидки. Белок StSP3D также способен образовывать комплекс с белками 14-3-3 и StFDL1, но механизм действия этого флоригена у картофеля остается неизученным [95].

Таким образом, у картофеля в связи с ролью фотопериода в клубнеобразовании возникает система регуляции схожая с системой регуляции цветения и образующаяся путем расхождения функций белков FT. Помимо флоригена StSP3D, который вовлечен исключительно в контроль цветения, у картофеля были обнаружены тубериген (StSP6A) и антитубериген (StSP5G и StSP5G-like), регулирующие образование клубня. Интересно, что у томата *Solanum lycopersicum* обнаружен близкий гомолог туберигена картофеля – SlSP6A, однако у современных сортов томата ген *SlSP6A* не функционален, так как содержит вставку одного нуклеотида, обусловливающую появление преждевременного стоп-кодона и образование укороченного нефункционального продукта [98].

FT-подобные белки в образовании луковиц у лилейных

Помимо клубнеобразования, FT-подобные белки также играют роль в формировании запасающих органов другого типа – луковиц у растений семейства лилейных. Луковицы представляют собой видоизмененные побеги (как правило – подземные), состоящие из короткого плоского стебля и разросшихся бесцветных листьев (чешуй), запасающих воду и питательные вещества. В пазухах чешуй находятся почки, из которых могут развиваться как надземные побеги так и дочерние луковицы (детки): у сложных луковиц (например у чеснока) в пазухе каждой чешуи формируется несколько луковиц-деток (зубчиков). Роль фотопериода и FT-подобных белков в развитии луковиц была изучена на примере представителей рода *Alli-*

um – лука (*A. cepa*) и чеснока (*A. sativum*). Как инициация так и утолщение луковиц у этих объектов требует условий ДД: при выращивании в условиях КД у лука наблюдается задержка формирования луковиц или полное их отсутствие, тогда как последующее увеличение продолжительности светового периода хотя бы до 11 часов запускает утолщение луковиц у таких растений [99]. Впрочем, субтропическим "короткодневным" сортам лука и чеснока требуется меньшая продолжительность светового периода для формирования луковиц. От фотопериода не зависят только виды *Allium*, не формирующие луковиц, например лук-порей (*A. porrum*), который одинаково развивается в широком диапазоне широт. Помимо фотопериода на формирование луковиц *Allium* влияет ряд других факторов: спектральный состав света (дальний красный свет является основным стимулятором этого процесса), температура, доступность воды и углеводного питания, а также фитогормоны: так, цитокинины нужны для инициации луковиц, а гиббереллины являются ингибиторами их формирования [100].

У лука было выявлено семь *FT*-подобных генов (*AcFT1–AcFT7*), их экспрессия наблюдается в вегетативных листьях и растущих луковицах и регулируется фотопериодом [101]. Гены *AcFT* играют разную роль в регуляции цветения: в опытах по сверхэкспрессии *AcFT* у мутанта *ft* резуховидки *AcFT1* и *AcFT2* компенсировали у мутанта задержку цветения, сверхэкспрессия *AcFT4* усиливала эффект мутации, а прочие *AcFT* не оказывали никакого влияния – то есть в контроле цветения продукты генов *AcFT1* и *AcFT2* предположительно выполняют функцию флоригенов, тогда как *AcFT4* действует как их антагонист. Экспрессия *AcFT2* коррелирует с зацветанием лука: этот ген экспрессируется практически только в тканях луковицы и активируется при ДД и вернализации, достигая максимального уровня экспрессии при появлении цветоноса: считается, что именно *AcFT2* является основным регулятором цветения лука, тогда как прочие важны для формирования луковиц [101]. В то же время, *AcFT2* может играть роль и в развитии луковицы: в ходе ее роста у субтропических сортов лука экспрессия пяти *AcFT* повышается, а экспрессия *AcFT2* снижается: предполагается, что снижение его экспрессии делает возможным формирование луковиц при КД [100].

Анализ экспрессии генов *AcFT* у "длиннодневной" и "короткодневной" линий лука в условиях разной длины дня показал, что у "короткодневной" формы динамика их экспрессии зависит исключительно от сроков вегетации. В то же время, у "длиннодневной" экспрессия генов *AcFT*, за исключением *AcFT2* и *AcFT5*, зависит от фотопериода: так, при КД имело место резкое снижение уровней экспрессии *AcFT1* и *AcFT3* и повышение уровней экспрессии *AcFT4* и *AcFT6* [102]. Гены *AcFT1* и *AcFT4* могут быть антагонистами в процессе формирования луковиц, так как у них выявлена противоположная динамика экспрессии в луковицах при ДД и КД и противоположный эффект на проявление мутации *ft* резуховидки. Это предположение подтвердилось на трансгенных растениях лука, сверхэспрессирующих *AcFT1* или *AcFT4*: растения *35S:AcFT1* характеризовались быстрым развитием луковиц и формировали луковицеподобные структуры даже в культуре тканей *in vitro*, тогда как растения *35S:AcFT4* вовсе не формировали луковиц и продолжали вегетировать даже при наступлении зимы. Более того, у растений *35S:AcFT4* наблюдалось резкое снижение уровня экспрессии *AcFT1* – то есть *AcFT4* вероятно является не только антагонистом, но и негативным регулятором *AcFT1* [101]. Экспрессия генов *AcFT* регулируется не только длиной дня, но и другими внешними факторами: так, в условиях засухи наблюдалось ингибирование экспрессии *AcFT5* и *AcFT7* [102].

У чеснока формирование луковиц зависит не столько от фотопериода, сколько от температуры: низкая (2°C) или высокая (33°C) температуры выращивания способствуют закладке и росту дополнительных зубчиков в сложной луковице чеснока, тогда как средние температуры ститмулируют прорастание луковиц и формирование вегетативных листьев. У чеснока выявлены гомологи генов *AcFT1, AcFT2* и *AcFT4* (*AsFT 1*, *2* и *4* соответственно), которые различались по динамике экспрессии в зависимости от температуры. Так, уровни экспрессии *AsFT1* и *AsFT2* в почке и запасающих листьях луковицы резко повышались при температуре 2°C и не менялись при выращивании в тепле, тогда как экспрессия *AsFT4* повышалась только в случае выращивании при 33°C [103].

Гомолог *FT* – *NtFT* был выявлен также у нарцисса (*Narcissus tazetta*). Его роль в образовании луковицы не была изучена, но экспрессия его строго приурочена к ПАМ и чешуям луковицы и стимулируется при повышении температуры в темноте – то есть в условиях, способствующих переходу к цветению [104]. Таким образом, *NtFT* не регулируется фотопериодом и участвует в температурозависимом контроле цветения (вернализации), характерном для луковичных лилейных.

ИЗМЕНЕНИЯ В *FT-TFL1*-ПОДОБНЫХ ГЕНАХ В ХОДЕ СЕЛЕКЦИИ

Доместикация многих сельскохозяйственных растений сопровождалась изменениями в фотопериодической регуляции цветения, делающими возможным цветение и плодоношение в оптимальное для человека время. Селекция многих культурных растений и сейчас направлена на выведение сортов с ускоренным цветением, что позволяет быстрее получить урожай; также для некоторых форм двулетних и многолетних растений может быть желательным неоднократное цветение в ходе периода вегетации. Согласно данным, полученным при исследовании геномов культурных растений, доместикация многих сельскохозяйственных растений сопровождалась изменениями в *FT-TFL1*-подобных генах и их регуляторах, и в данном разделе мы рассмотрим некоторые примеры этого.

Утрата чувствительности к длине светового дня у культурных форм томата и картофеля

Предком культурного томата *Solanum lycopersicum* является *S. pimpinellifolium*, растущий в Южной Америке вблизи экватора [105]. Дикие предки томатов – облигатные короткодневные растения, в то время, как современные сорта являются нейтральнодневными. В геномах томатов имеются четыре *FT*-подобных гена *SELF PRUNING* (*SP*): *SP3D*, *SP5G*, *SP5G2* и *SP5G3*. Ген *SP3D* (также называемый *SINGLE-FLOWER TRUSS*) является активатором цветения – флоригеном, но его экспрессия не зависит от фотопериода. *SP5G*, напротив, является репрессором цветения – антифлоригеном; его экспрессия выше при ДД, чем при КД, что приводит к цветению томатов при КД. Дальнейшие исследования показали, что уровень экспрессии гена *SP5G* отличает культурный томат от дикого – у культурного его экспрессия снижена [106]. Оказалось, что дело в *cis*-регуляторном элементе гена *SP5G*, мутация в котором приводит к снижению экспрессии *SP5G* у культурного томата и более раннему цветению [107].

Культурные формы картофеля, доместикация которого также произошла в Южной Америке, тоже отличаются по чувствительности к длине светового дня от диких, так как способны образовывать клубни при ДД, что важно для выращивания в умеренном поясе. Оказалось, что эта способность связана с возникновением аллельных вариантов гена *CDF1* [108]. У резуховидки ТФ CDF1 является репрессором цветения: он подавляет экспрессию гена *CO,* при этом стабильность CDF1 регулируется с участием синего света. У картофеля, напротив, StCDF1 является позитивным регулятором клубнеобразования благодаря положительному влиянию на экспрессию *StSP6A* через ингибирование экспрессии *StCO*. Виды картофеля, которые образуют клубни вне зависимости от длины дня, как оказалось, содержат мутации в гене *StCDF1*, которые обусловливают образование укороченного белка StCDF1 с утратой С-концевого домена. Утрата С-концевого домена приводит к неспособности укороченного белка StCDF1 связываться с комплексом FKF1-GI и, таким образом, укороченный белок StCDF1 оказывается стабильным (не подвергается деградации с участием FKF1-GI) и конститутивно подавляет экспрессию *CO* [108]. У картофеля выявлены четыре аллеля гена *StCDF1*: *StCDF1.1* – нормальный аллель, кодирующий полноразмерный продукт, *StCDF1.3* – мутантной аллель (предположительно со вставкой транспозона), *StCDF1.2* и *StCDF1.4* – два мутантных аллеля со вставками семи нуклеотидов, приводящими к сдвигу рамки считывания, и как следствие, к утрате С-терминального домена [108, 109]. Конститутивная экспрессия аллеля *StCDF1.2* у дикорастущего *S. tuberosum* group *andigenum* приводила к образованию клубней при ДД, при этом у контрольных растений клубни в этих условиях не образовывались [108]. Наличие таких дефектных аллелей у культурных форм картофеля приводит к тому, что экспрессия *StSP6A* не подавляется с участием ТФ CO (а экспрессия *StSP5G*, наоборот, подавлена из-за отсутствия CO), и такие растения образуют клубни при ДД [108]. Предположительно, дефектные аллели *StCDF* возникли *de novo* в Европе в начале XIX в. и могли быть “зафиксированы”, так как имели селекционное преимущество [109].

Изменения в FT-подобных генах в ходе доместикации подсолнечника

История доместикации подсолнечника *Helianthus annuus* насчитывает около 5000 лет: в ходе селекции эта культура претерпела значительные изменения, в результате которых из предковых ветвящихся форм со множественными цветками и мелкими семенами были выведены сорта с неветвящимися побегами и одним крупным цветком [110]. Среди сортов подсолнечника встречаются формы с разной зависимостью цветения от длины светового дня: факультативно длиннодневные или короткодневные, а также нейтральнодневные формы, хотя большинство диких популяций подсолнечника представляют собой факультативно короткодневные растения [110]. У подсолнечника описано четыре *FT*-подобных ге-

на: *HaFT1–HaFT4*, среди которых *HaFT3* вероятно является псевдогеном. Гены *HaFT2* и *HaFT4* экспрессируются в листьях при индуктивной длине дня и активируют цветение, *HaFT1* экспрессируется в ПАМ. Как оказалось, у культурных сортов подсолнечника распространены аллели *HaFT1*, содержащие мутацию в третьем экзоне, приводящую к сдвигу рамки считывания (аллель *HaFT1-D*): кодируемый данным аллелем белок содержит 17 дополнительных аминокислот. Мутантный белок HaFT1-D функционирует как репрессор цветения: наличие мутантного аллеля вызывает более позднее цветение у культурных форм подсолнечника по сравнению с исходными дикими. Более того, тогда как сверхэкспрессия *HaFT4* у мутантов *ft* арабдопсиса комплементировала мутантный фенотип и ускоряла цветение, совместная сверхэкспрессия аллеля *HaFT1-D*, полученного от культурных сортов, и *HaFT4* у мутантов *ft* обусловливала более позднее цветение: то есть аллель *HaFT1-D* подавляет действие *HaFT4* [111]. Предполагается, что мутантная форма белка, кодируемая аллелем *HaFT1-D*, может конкурировать с белком HaFT4 за связывания с FD-подобным ТФ в составе FAC. Вероятно мутантный аллель *HaFT1-D*, помимо более позднего цветения, также имеет дополнительные селективные преимущества, в результате чего в ходе селекции у культурных сортов подсолнечника сохранился именно он [111]. Другая особенность некоторых культурных форм подсолнечника – переход к цветению вне зависимости от длины дня (нейтральнодневность) связана с мутациями в *cis*-регуляторных элементах гена *HaFT4*, вызывающих его экспрессию в листьях как при ДД, так и при КД.

Возникновение форм с непрерывным цветением у розоцветных

Цветковые растения различаются по способности образовывать цветки в течение года: как правило цветение наблюдается один раз в году, некоторые многолетние растения способны цвести несколько раз в год или даже непрерывно в течение благоприятного сезона; у ряда растений повторное цветение также может быть вызвано случайными причинами. Как правило, у представителей семейства Rosaceae цветочные почки закладываются осенью при КД и низких температурах, а их пробуждение и формирование цветков наблюдается следующей весной [112]. У некоторых розоцветных, в частности у представителей родов *Fragaria* и *Rosa*, известны формы с непрерывным цветением в течение всего вегетационного сезона: считается, что формы роз с непрерывным цветением имеют древнюю историю и были получены из сортов, культивируемых еще при династии Сун в Китае (X–XIII в. н. э.). Этот признак, как было показано в ходе генетического анализа, является рецессивным и определяется геном *RECURRENT BLOOMING/KOUSHIN* (*RB/KSN*) у представителей рода *Rosa* [113] и *SEASONAL FLOWERING LOCUS* (*SFL*) у земляники лесной *Fragaria vesca* [114].

В работе H. Iwata и соавт. было показано, что в обоих случаях непрерывное цветение связано с мутациями в генах, гомологичных гену *TFL1*. Так, у розы в *TFL1*-подобном гене *RoKSN* обнаружена инсерция ретротранспозона, вызывающая потерю функции этого гена, а в ортологичном гене земляники, *FvKSN* – делеция двух нуклеотидов в первом экзоне, приводящая к сдвигу рамки считывания, а также к потере функции. Наличие мутантного аллеля *FvKSN* в гомозиготном состоянии у 37 проанализированных генотипов земляники ассоциировано с признаком непрерывного цветения [112]. Вместе с тем, у форм земляники, цветущих при КД, ключевую роль в определении времени зацветания играет другой TFL1-подобный ген, *FvTFL1* – репрессор цветения, который активируется ТФ SOC1. При ДД, несмотря на накопление продукта гена *FvFT1*, цветение подавляется, поскольку FvFT1 активирует экспрессию гена *FvSOC1*, а ТФ FvSOC1, в свою очередь, активирует экспрессию *FvTFL1* [115]. При КД экспрессия *FvFT1* и *FvSOC1* снижается, что приводит к снижению экспрессии *FvTFL1* и делает возможным запуск программы цветения [115]. При этом мутация в гене *FvTFL1*, как было показано, делает возможным цветение при любой длине дня [116].

У розы *R. wichurana,* характеризующейся однократным цветением в ходе периода вегетации (весной или в начале лета), экспрессия гена *RoKSN* была снижена перед цветением, тогда как экспрессия генов *RoFT* и *RoLFY* при инициации цветения увеличивалась. После цветения при неиндуктивном ДД во вновь формирующихся побегах наблюдалось увеличение содержания транскриптов *RoKSN,* что как предполагается, приводит к подавлению программы цветения. У форм роз с непрерывным цветением, у которых отсутствует функциональный ген *RoKSN* – репрессор цветения, непрерывная закладка флоральных меристем происходит в ходе всего периода вегетации [112]. Ключевая роль TFL1-подобных репрессоров в определении времени цветения была экспериментально доказана и для других розоцветных. Так, у груши (*Pyrus communis*) и яблони (*Malus domestica*) РНК-интерференция *TFL1*-подобных ге-

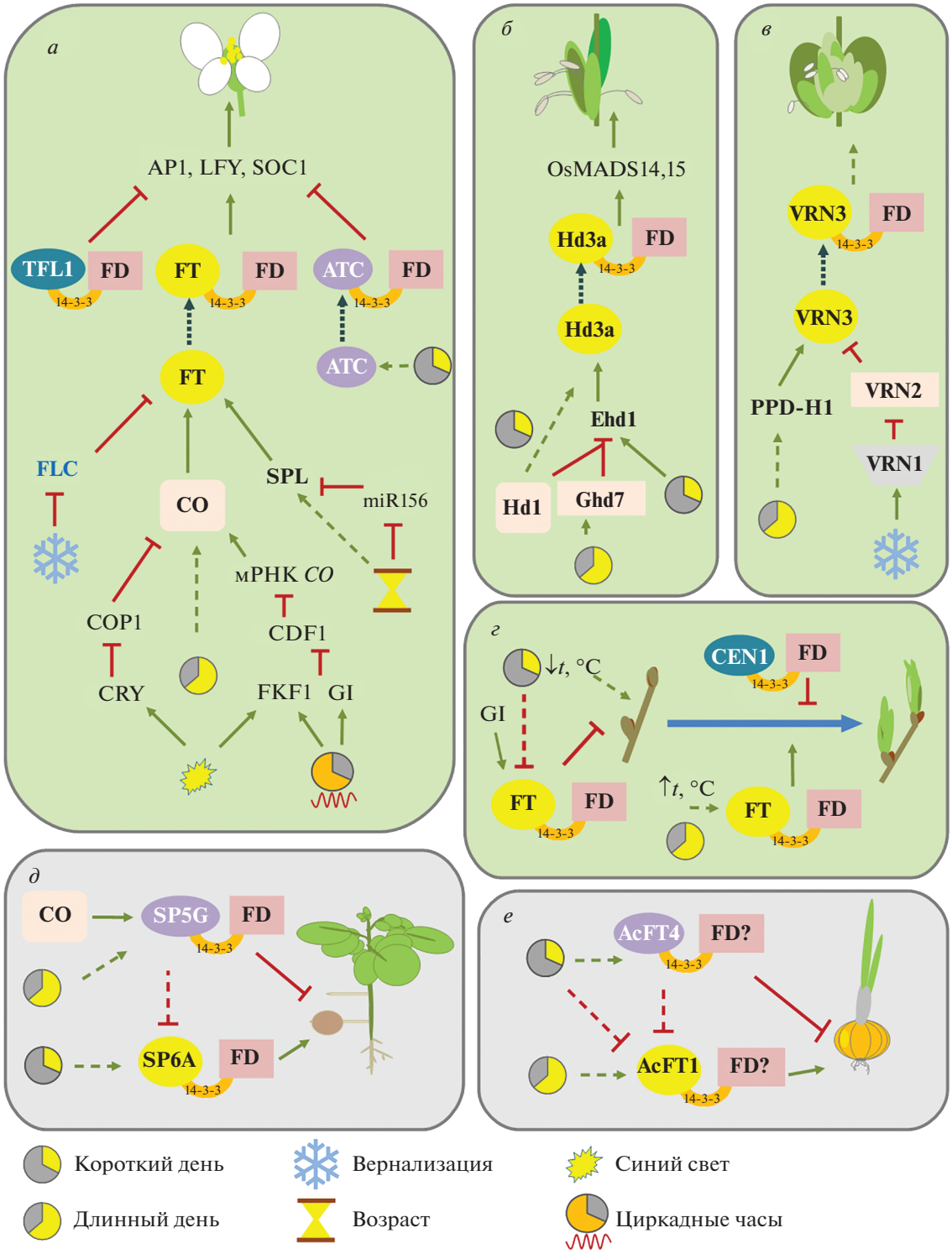
а
AP1, LFY, SOC1
TFL1
FD
14-3-3
FT
FD
14-3-3
ATC
FD
14-3-3
FT
ATC
FLC
CO
SPL
miR156
мРНК CO
COP1
CDF1
CRY
FKF1
GI
б
OsMADS14,15
Hd3a
FD
14-3-3
Hd3a
Ehd1
Hd1
Ghd7
в
VRN3
FD
14-3-3
VRN3
PPD-H1
VRN2
VRN1
г
↓t, °C
GI
CEN1
FD
14-3-3
FT
FD
14-3-3
↑t, °C
FT
FD
14-3-3
д
CO
SP5G
FD
14-3-3
SP6A
FD
14-3-3
е
AcFT4
FD?
14-3-3
AcFT1
FD?
14-3-3
Короткий день
Длинный день
Вернализация
Возраст
Синий свет
Циркадные часы

Рис. 1. Участие FT-TFL1-подобных белков в регуляции процессов развития у растений. Инициация цветения у резуховидки *Arabidopsis thaliana* (*а*), риса *Oryza sativa* (*б*), пшеницы *Triticum aestivum* (*в*), регуляция периода покоя почек у тополя *Populus trichocarpa* (*г*), формирование запасающих органов: клубня картофеля *Solanum tuberosum* (*д*) и луковиц у лука *Allium cepa* (*е*). Белки, являющиеся близкими гомологами у разных видов, обозначены одинаковыми символами. *а* – у резуховидки флориген FT стимулирует цветение, активируя в комплексе с белками FD и 14-3-3 экспрессию генов-мишеней, ответственных за развитие флоральных меристем (*AP1*, *LFY*, *SOC1*). Экспрессия гена *FT* активируется при ДД с участием CO. Кроме того, экспрессия FT активируется при вернализации, а также с участием компонентов пути, зависимого от возраста. TFL1 и ATC – репрессоры цветения, в комплексе с белками FD и 14-3-3 подавляют экспрессию генов идентичности флоральных меристем; *б* – цветение риса активируется при КД с участием флоригена Hd3a. Экспрессия гена *Hd3a* активируется с помощью Ehd1, активность которого подавляется репрессором цветения – белком Ghd7; *в* – у озимых форм пшеницы цветение активируется при вернализации, в результате которой происходит активация экспрессии гена *VRN1* – одного из ключевых регуляторов цветения. VRN1 подавляет экспрессию *VRN2*, кодирующего ингибиор цветения – репрессор гена *VRN3*, продуктом которого является флориген. Экспрессия *VRN3* также активируется при ДД с участием белка PPD-H1; *г* – у тополя образование покоящихся почек происходит при КК и при снижении температуры. Выход почек из состояния покоя подавляется с помощью CEN1, TFL1-подобного белка тополя. Увеличение длины светового дня и повышение температуры стимулируют выход почек из состояния покоя и активируют их рост, при этом FT стимулирует этот процесс; *д* – формирование клубней у картофеля индуцируется при КД с участием FT-подобного белка SP6A, тогда другой FT-подобный белок, SP5G, подавляет образование клубней при ДД, ингибируя действие SP6A; *е* – индукция образования луковиц происходит при ДД с участием FT-подобного белка AcFT1. Этот процесс подавляется при ДД с участием другого FT-подобного белка – AcFT4, активирующегося при КД.

нов обусловливала более раннее цветение [117]. Кроме того, трансгенные растения *M. domestica* с подавленной экспрессией *MdTFL1*, помимо раннего цветения, также характеризовались неспособностью поддерживать вегетативный рост, поскольку после цветения происходила остановка их роста и гибель. Этот результат указывает на важную роль *TFL1*-подобных генов в поддержании вегетативного роста у многолетних растений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Итак, белки семейства PEBP представляют собой консервативные регуляторы, которые выполняют у растений функцию “переключателей”, контролирующих смену программ развития: переход от вегетативного развития к генеративному, переход из состояния активного роста к периоду покоя с возможностью возобновления процессов роста при наступлении благоприятного периода (рис. 1). Активность таких регуляторов развития контролируется факторами среды, прежде всего фотопериодом и температурой, значения которых циклически меняются в течение года, и которые, таким образом, являются для растений индикаторами сезонных изменений. Роль белков PEBP как “переключателей” программ развития подразумевает существование у них двух альтернативных функций – активации и репрессии того или иного пути развития. В ходе эволюции у покрытосеменных растений произошло разделение FT-TFL1-подобных белков на две группы: флоригенов (как правило, FT-подобных активаторов цветения) и антифлоригенов (TFL1-подобных репрессоров цветения, отвечающих за поддержание вегетативного роста растений). Благодаря тому, что эти белки обладают большим сходством, они способны входить в состав одних и тех же белковых комплексов (с ТФ FD, белками 14-3-3, а также вероятно и другими корегуляторами транскрипции), однако незначительные различия в структуре FT- и TFL1-подобных белков (которые, в ряде случаев могут быть обусловлены заменой единственной аминокислоты) могут превращать такие комплексы из активаторов в репрессоров транскрипции генов-мишеней. По-видимому флоригены и антифлоригены способны конкурировать между собой за связывание с компонентами комплексов FAC, что определяет их антагонистические функции.

FT- и *TFL1*-подобные гены изучены у представителей различных семейств цветковых растений, а их гомологи, кодирующие белки PEBP, также описаны и у других групп высших растений, что позволяет воссоздать общую картину их эволюции. Идеи о закономерностях изменчивости, столетие назад высказанные Н.И. Вавиловым [1], подтверждаются результатами исследований регуляции цветения у родственных такосонов, указывающими на консервативную роль *FT*- и *TFL1*-подобных генов в контроле цветения. Однако накопленные за последние десятилетия данные об особенностях функционирования *FT-TFL1*-подобных генов у различных представителей цветковых растений значительно усложняют наши представления о роли этих генов в развитии растений. В результате дупликаций и последующей дивергенции у ряда видов растений возник целый набор *FT-TFL1*-подобных генов, активирующихся при воздействии различных факторов среды, продукты которых могут выступать в роли как флоригенов, так и антифлоригенов, оказывая противоположное действие на экспрессию генов-мишеней, ответственных за развитие флоральных

меристем. Кроме того, у некоторых групп растений в ходе эволюции *FT-TFL1*-подобные гены приобрели специализированные функции, например, контроль формирования клубней и луковиц – видоизмененных побегов, предназначенных для пережидания неблагоприятных периодов.

Флоригены, а в ряде случаев и антифлоригены, являются мобильными сигнальными молекулами, поступающими из листьев в ПАМ, где их баланс позволяет растениям на системном уровне, "взвесив все за и против", принять стратегически важное решение – стоит ли сменить программу развития и перейти к цветению или при данных условиях лучше продолжить вегетативное развитие? Расшифровка молекулярной природы флоригена, открытие FT- и TFL1-подобных белков и выяснение механизмов их действия позволило приблизиться к пониманию сложно организованных процессов системного контроля развития растений.

У ряда культурных растений мутации в *FT-TFL1*-подобных генах были закреплены в ходе селекции, поскольку их возникновение сопровождалось появлением ряда признаков, желательных для человека. Таким образом, использование направленной селекции *FT-TFL1*-подобных генов, широкие возможности для которой открывают современные методы генной инженерии и генного редактирования, может иметь большие перспективы в плане повышения урожайности и реализации продовольственной программы.

Работа выполнена при поддержке грантов РНФ 16-16-10011, РФФИ 18-04-01017, 19-016-00177 и 20-016-00129, а также при поддержке гранта Санкт-Петербургского государственного университета ID 60256785.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием в качестве объекта животных. Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием в качестве объекта людей.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Вавилов Н.И.* Закон гомологических рядов в наследственной изменчивости // Труды III Всероссийского съезда по селекции и семеноводству (4–13 июня 1920 г.). Саратов: 1920. Вып. 1. С. 41–56.
2. *Лутова Л.А., Додуева И.Е., Ежова Т.А., Осипова М.А.* // Генетика развития растений / Под ред. Инге-Вечтомова С.Г. Л.: Наука, 2010. 432 с.
3. *Чайлахян М.Х.* // Гормональная теория развития растений. М.–Л.: 1937. С. 200.
4. *Garner W.W., Allard H.A.* Effect of the relative length of day and night and other factors of the environment on growth and reproduction in plants // J. Agricultural Res. 1920. V. 18. P. 553–606.
5. *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 // Cell. 1995. V. 80. I. 6. P. 847–857. https://doi.org/10.1016/0092-8674(95)90288-0
6. *Imaizumi T., Schultz T.F., Harmon F.G. et al.* FKF1 F-box protein mediates cyclic degradation of a repressor of CONSTANS in Arabidopsis // Science. 2005. V. 309(5732). P. 293–297. https://doi.org/10.1126/science.1110586
7. *Sawa M., Nusinow D.A., Kay S.A. et al.* FKF1 and GIGANTEA complex formation is required for day-length measurement in Arabidopsis // Science. 2007. V. 318. I. 5848. P. 261–265. https://doi.org/10.1126/science.1146994
8. *Kardailsky I., Shukla V.K., Ahn J.H. et al.* Activation tagging of the floral inducer FT // Science. 1999. V. 286. P. 1962–1965.
9. *Jaeger K.E., Wigge P.A.* FT protein acts as a long-range signal in Arabidopsis // Curr. Biol. 2007. V. 17. I. 12. P. 1050–1054. https://doi.org/10.1016/j.cub.2007.05.008
10. *Notaguchi M., Abe M., Kimura T. et al.* Long-distance, graft-transmissible action of Arabidopsis FLOWERING LOCUS T protein to promote flowering // Plant Cell Physiol. 2008. V. 49. I. 11. P. 645–1658. https://doi.org/10.1093/pcp/pcn154
11. *Jiang D., Wang Y., Wang Y., He Y.* Repression of FLOWERING LOCUS C and FLOWERING LOCUS T by the Arabidopsis Polycomb repressive complex 2 components // PLoS One. 2008. V. 3. e3404.
12. *Wang Y., Gu X., Yuan W. et al.* Photoperiodic control of the floral transition through a distinct polycomb repressive complex // Dev. Cell. 2014. V. 28. I. 6. P. 727–736.
13. *Tiwari S.B., Shen Y., Chang H.-C. et al.* The flowering time regulator CONSTANS is recruited to the FLOWERING LOCUS T promoter via a unique cis-element // New Phytologist. 2010. V. 187. I. 1. P. 57–66.
14. *Cao S., Kumimoto R.W., Gnesutta N. et al.* A distal CCAAT/NUCLEAR FACTOR Y complex promotes chromatin looping at the FLOWERING LOCUS T promoter and regulates the timing of flowering in Arabidopsis // The Plant Cell. 2014. V. 26. I. 3. P. 1009–1017. https://doi.org/10.1105/tpc.113.120352
15. *Laloum T., De Mita S., Gamas P. et al.* CCAAT-box binding transcription factors in plants: Y so many? // Trends Plant Sci. V. 2013. P. 18. I. 3. P. 157–166.
16. *Wenkel S., Turck F., Singer K. et al.* CONSTANS and the CCAAT box binding complex share a functionally

important domain and interact to regulate flowering of Arabidopsis // The Plant Cell. 2006. V. 18. I. 11. P. 2971–2984.

17. *Gnesutta N., Kumimoto R.W., Swain S. et al.* CONSTANS imparts DNA sequence specificity to the histone fold NF-YB/NF-YC dimer // The Plant Cell. 2017 V. 29. I. 6. P. 1516–1532.

18. *Bloomer R.H., Dean C.* Fine-tuning timing: natural variation informs the mechanistic basis of the switch to flowering in *Arabidopsis thaliana* // J. Exp. Botany. 2017. V. 68. I. 20. P. 5439–5452.

19. *Wang J.W., Czech B., Weigel D.* miR156-regulated SPL transcription factors define an endogenous flowering pathway in *Arabidopsis thaliana* // Cell. 2009. V. 138. I. 4. P. 738–749. https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.06.014

20. *Teotia S., Tang G.* To bloom or not to bloom: Role of microRNAs in plant flowering // Mol. Plant. 2015. V. 8. P. 359–377.

21. *Kim J.J., Lee J.H., Kim W. et al.* The microRNA156-SQUAMOSA PROMOTER BINDING PROTEIN-LIKE3 module regulates ambient temperature-responsive flowering via FLOWERING LOCUS T in Arabidopsis // Plant Physiol. 2012. V. 159. I. 1. P. 461–478.

22. *Tian H., Baxter I.R., Lahner B. et al.* Arabidopsis NPCC6/NaKR1 is a phloem mobile metal binding protein necessary for phloem function and root meristem maintenance // Plant Cell. 2010. V. 22. I. 12. P. 3963–3979.

23. *Liu L., Liu C., Hou X. et al.* FTIP1 is an essential regulator required for florigen transport // PLoS Biol. 2012. V. 10. I. 4. e1001313. https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001313

24. *Liu L., Li C., Teo Z.W.N. et al.* The MCTP-SNARE complex regulates florigen transport in Arabidopsis // Plant Cell. 2019. V. 31. I. 10. P. 2475–2490. https://doi.org/10.1105/tpc.18.00960

25. *Zhu Y., Liu L., Shen L. et al.* NaKR1 regulates long-distance movement of FLOWERING LOCUS T in Arabidopsis // Nat. Plants. 2016. V. 2. I. 6. P. 16075.

26. *Wigge P.A., Kim M.C., Jaeger K.E. et al.* Integration of spatial and temporal information during floral induction in Arabidopsis // Science. 2005. V. 309. I. 5737. P. 1056–1059.

27. *Collani S., Neumann M., Yant L. et al.* FT modulates genome-wide DNA-binding of the b ZIP transcription factor FD // Plant Physiol. 2019. V. 180. I. 1. P. 367–380.

28. *de Boer A.H., van Kleeff P.J., Gao J.* Plant 14-3-3 proteins as spiders in a web of phosphorylation // Protoplasma. 2013 V. 250. P. 425–440.

29. *Taoka K., Ohki I., Tsuji H. et al.* 14-3-3 proteins act as intracellular receptors for rice Hd3a florigen // Nature. 2011. V. 476. I. 7360. P. 332–335. https://doi.org/10.1038/nature10272

30. *Pnueli L., Gutfinger T., Hareven D. et al.* Tomato SP-interacting proteins define a conserved signaling system that regulates shoot architecture and flowering // Plant Cell. 2001. V. 13. P. 2687–2702.

31. *Kawamoto N., Sasabe M., Endo M. et al.* Calcium-dependent protein kinases responsible for the phosphorylation of a b ZIP transcription factor FD crucial for the florigen complex formation // Sci. Rep. 2015. V. 5. P. 8341.

32. *Shannon S., Meeks-Wagner D.R.* A mutation in the Arabidopsis TFL1 gene affects inflorescence meristem development // Plant Cell. 1991. V. 3. I. 9. P. 877–892.

33. *Conti L., Bradley D.* TERMINAL FLOWER1 is a mobile signal controlling Arabidopsis architecture // Plant Cell. 2007. V. 19. I. 3. P. 767–778.

34. *Baumann K., Venail J., Berbel A., et al.* Changing the spatial pattern of TFL1 expression reveals its key role in the shoot meristem in controlling Arabidopsis flowering architecture // J. Exp. Bot. 2015. V. 66. I. 15. P. 4769–4780.

35. *Goretti D., Silvestre M., Collani S. et al.* TERMINAL FLOWER1 functions as a mobile transcriptional cofactor in the shoot apical meristem // Plant Physiol. 2020. V. 182. I. 4. P. 2081–2095. https://doi.org/10.1104/pp.19.00867

36. *Niwa M., Daimon Y., Kurotani K. et al.* BRANCHED1 Interacts with FLOWERING LOCUS T to repress the floral transition of the axillary meristems in Arabidopsis // The Plant Cell. 2013. V. 25. I. 4. P. 1228–1242. https://doi.org/10.1105/tpc.112.109090

37. *Vallée B.S., Coadou G., Labbé H. et al.* Peptides corresponding to the N- and C-terminal parts of PEBP are well-structured in solution: New insights into their possible interaction with partners *in vivo* // J. Peptide Res.: Official J. Am. Peptide Society. 2003. V. 61. I. 2. P. 47–57.

38. *Banfield M.J., Barker J.J., Perry A.C., Brady R.L.* Function from structure? The crystal structure of human phosphatidylethanolamine-binding protein suggests a role in membrane signal transduction // Structure. 1998. V. 6. I. 10. P. 1245–1254.

39. *Rath O., Park S., Tang H.H. et al.* The RKIP (Raf-1 Kinase Inhibitor Protein) conserved pocket binds to the phosphorylated N-region of Raf-1 and inhibits the Raf-1-mediated activated phosphorylation of MEK // Cell Signal. 2008. V. 20. P. 935–941.

40. *Ahn J.H., Miller D., Winter V.J. et al.* A divergent external loop confers antagonistic activity on floral regulators FT and TFL1 // The EMBO J. 2006. V. 25. I. 3. P. 605–614.

41. *Karlgren A., Gyllenstrand N., Källman T. et al.* Evolution of the PEBP gene family in plants: Functional diversification in seed plant evolution // Plant Physiol. 2011. V. 156. I. 4. P. 1967–1977. https://doi.org/10.1104/pp.111.176206

42. *Yamaguchi A., Kobayashi Y., Goto K. et al.* TWIN SISTER OF FT (TSF) acts as a floral pathway integrator redundantly with FT // Plant Cell Physiol. 2005. V. 46. P. 1175–1189.

43. *D'Aloia M., Bonhomme D., Bouché F. et al.* Cytokinin promotes flowering of Arabidopsis via transcriptional activation of the FT paralogue TSF // Plant J. 2011. V. 65. P. 972–979.

44. *Kinoshita T., Ono N., Hayashi Y. et al.* FLOWERING LOCUS T regulates stomatal opening // Curr. Biol. 2011. V. 21. I. 14. P. 1232–1238.

45. *Aoki S., Toh S., Nakamichi N. et al.* Regulation of stomatal opening and histone modification by photoperiod in *Arabidopsis thaliana* // Sci. Reports. 2019. V. 9. P. 10054.

46. *Huang N.C., Jane W.N., Chen J., Yu T.S. Arabidopsis thaliana* CENTRORADIALIS homologue (ATC) acts systemically to inhibit floral initiation in Arabidopsis // Plant J. 2012. V. 72. I. 2. P. 75–184.

47. *Xi W., Liu C., Hou X., Yu H.* MOTHER OF FT AND TFL1 regulates seed germination through a negative feedback loop modulating ABA signaling in Arabidopsis // Plant Cell. 2010. V. 22. I. 6. P. 1733–1748.

48. *Vaistij F.E., Barros-Galvão T., Cole A.F. et al.* MOTHER-OF-FT-AND-TFL1 represses seed germination under far-red light by modulating phytohormone responses in Arabidopsis thaliana // PNAS USA. 2018. V. 115. I. 33. P. 8442–8447. https://doi.org/10.1073/pnas.1806460115

49. *Yu X., Liu H., Sang N. et al.* Identification of cotton MOTHER OF FT AND TFL1 homologs, GhMFT1 and GhMFT2, involved in seed germination // PLoS One. 2019. V. 14. I. 4. P. e0215771. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0215771

50. *Hedman H., Källman T., Lagercrantz U.* Early evolution of the MFT-like gene family in plants // Plant Mol. Biol. 2009. V. 70. I. 4. P. 359–369.

51. *Eklund D.M., Kanei M., Flores-Sandoval E. et al.* An evolutionarily conserved abscisic acid signaling pathway regulates dormancy in the liverwort *Marchantia polymorpha* // Curr. Biol. 2018. V. 28. I. 22. P. 3691–3699.e3. https://doi.org/10.1016/j.cub.2018.10.018

52. *Hou C.-J., Yang C.-H.* Comparative analysis of the pteridophyte Adiantum MFT ortholog reveals the specificity of combined FT/MFT C and N terminal interaction with FD for the regulation of the downstream gene AP1 // Plant Mol. Biol. 2016. V. 91. I. 4–5. P. 563–579.

53. *Liu Y.-Y., Yang K.-Z., Wei X.-X. et al.* Revisiting the phosphatidylethanolamine-binding protein (PEBP) gene family reveals cryptic FLOWERING LOCUS T gene homologs in gymnosperms and sheds new light on functional evolution // The New Phytologist. 2016. V. 212. I. 3. P. 730–744. https://doi.org/10.1111/nph.14066

54. *Hanzawa Y., Money T., Bradley D.* A single amino acid converts a repressor to an activator of flowering // PNAS USA. 2005. V. 102. I. 21. P. 7748–7753. https://doi.org/10.1073/pnas.0500932102

55. *Harig L., Beinecke F.A., Oltmanns J. et al.* Proteins from the FLOWERING LOCUS T-like subclade of the PEBP family act antagonistically to regulate floral initiation in tobacco // The Plant J.: For Cell and Mol. Biol. 2012. V. 72. I. 6. P. 908–921.

56. *Pin P.A., Benlloch R., Bonnet D. et al.* An antagonistic pair of FT homologs mediates the control of flowering time in sugar beet // Science. 2010. V. 330. I. 6009. P. 1397–1400.

57. *Wickland D.P., Hanzawa Y.* The FLOWERING LOCUS T/TERMINAL FLOWER 1 gene family: Functional evolution and molecular mechanisms // Mol. Plant. 2015. V. 8. I. 7. P. 983–997. https://doi.org/10.1016/j.molp.2015.01.007

58. *Ho W.W.H., Weigel D.* Structural features determining flower-promoting activity of Arabidopsis FLOWERING LOCUS T // The Plant Cell. 2014. V. 26. I. 2. P. 552–564.

59. *Ishikawa R., Tamaki S., Yokoi S. et al.* Suppression of the floral activator Hd3a is the principal cause of the night break effect in rice // Plant Cell. 2005. V. 17. P. 3326–3336.

60. *Komiya R., Ikegam A., Tamaki S. et al.* Hd3a and RFT1 are essential for flowering in rice // Development. 2008. V. 135. P. 767–774. https://doi.org/10.1242/dev.008631

61. *Izawa T., Oikawa T., Sugiyama N. et al.* Phytochrome mediates the external light signal to repress FT ortholog // Genes and Development. 2002. V. 16. P. 2006–2020.

62. *Cho L.H., Yoon J., Pasriga R., An G.* Homodimerization of Ehd1 is required to induce flowering in rice // Plant Physiol. 2016. V. 170. P. 2159–2171. https://doi.org/10.1104/pp.15.01723

63. *Cho L.H., Yoon J., An G.* The control of flowering time RFT1-OX can induce early flowering by environmental factors // Plant J. 2017. V. 90. P. 708–719.

64. *Tsuji H., Taoka K., Shimamoto K.* Regulation of flowering in rice: Two florigen genes, a complex gene network, and natural variation // Curr. Op. in Plant Biol. 2011. V. 14. I. 1. P. 45–52. https://doi.org/10.1016/j.pbi.2010.08.016

65. *Nemoto Y., Nonoue Y., Yano M. et al.* Hd1, a CONSTANS ortholog in rice, functions as an Ehd1 repressor through interaction with monocot-specific CCT-domain protein Ghd7 // The Plant J. 2016. V. 86. I. 3. P. 221–233. https://doi.org/10.1111/tpj.13168

66. *Lee S., Kim J., Han J.J. et al.* Functional analyses of the fiowering time gene OsMADS50, the putative SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CO 1/AGAMOUS-LIKE 20 (SOC1/AGL20) ortholog in rice // Plant J. 2004. V. 38. P. 754–764.

67. *Brambilla V., Martignago D., Goretti D. et al.* Antagonistic transcription factor complexes modulate the floral transition in rice // Plant Cell. 2017. V. 29. P. 2801–2816.
https://doi.org/10.1105/tpc.17.00645

68. *Pasriga R., Yoon J., Cho L.H., An G.* Overexpression of *RICE FLOWERING LOCUS* T 1 (*RFT1*) induces extremely early flowering in rice // Molecules and Cells. 2019. V. 42. P. 406–417.
https://doi.org/10.14348/molcells.2019.0009

69. *Komiya R., Yokoi S., Shimamoto K.* A gene network for long-day flowering activates RFT1 encoding a mobile flowering signal in rice // Development. 2009. V. 136. P. 3443–3450.

70. *Tsuj H., Tachibana C., Tamaki S. et al.* Hd3a promotes lateral branching in rice // Plant J. 2015. V. 82. P. 256–266.
https://doi.org/10.1111/tpj.12811

71. *Oda A., Narumi T., Li T. et al.* CsFTL3, a chrysanthemum FLOWERING LOCUS T-like gene, is a key regulator of photoperiodic flowering in chrysanthemums // J. Exp. Botany. 2012. V. 63. P. 1461–1477.
https://doi.org/10.1093/jxb/err387

72. *Higuchi Y., Hisamatsu T.* CsTFL1, a constitutive local repressor of flowering, modulates floral initiation by antagonising florigen complex activity in chrysanthemum // Plant Sci. 2015. V. 237. P. 1–7.
https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2015.04.01

73. *Sun J., Wang H., Ren L. et al. CmFTL2* is involved in the photoperiod- and sucrose-mediated control of flowering time in chrysanthemum // Horticulture Res. 2017. V. 4. P. 17001.
https://doi.org/10.1038/hortres.2017.1

74. *Higuchi Y., Hisamatsu T.* CsTFL1, a constitutive local repressor of flowering, modulates floral initiation by antagonising florigen complex activity in chrysanthemum // Plant Sci. 2015. V. 237. P. 1–7.
https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2015.04.01

75. *Nakano Y., Takase T., Takahashi S. et al.* Chrysanthemum requires short-day repeats for anthesis: Gradual CsFTL3 induction through a feedback loop under short-day conditions // Plant Sci. 2019. V. 283. P. 247–255.
https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2019.01.023

76. *Hecht R.E., Laurie J.K., Vander Schoor S. et al.* The pea GIGAS gene is a FLOWERING LOCUS T homolog necessary for graft-transmissible specification of flowering but not for responsiveness to photoperiod // Plant Cell. 2011. V. 23. P. 147–161.

77. *Navarro C., Abelenda J.A., Cruz-Ory E. et al.* Control of flowering and storage organ formation in potato by FLOWERING LOCUS T // Nature. 2011. V. 478. I. 7367. P. 119–122.
https://doi.org/10.1038/nature10431

78. *Yan L., Fu D., Li C. et al.* The wheat and barley vernalization gene VRN3 is an orthologue of FT // PNAS USA. 2006. V. 103. I. 51. P. 19581–19586.
https://doi.org/10.1073/pnas.0607142103

79. *Woods D.P., McKeown M.A., Dong Y. et al.* Evolution of VRN2/Ghd7-like genes in vernalization-mediated repression of grass flowering1 [OPEN] // Plant Physiol. 2016. V. 170. I. 4. P. 2124–2135.
https://doi.org/10.1104/pp.15.01279

80. *Dubcovsky J., Chen C., Yan L.* Molecular characterization of the allelic variation at the VRN-H2 vernalization locus in barley // Mol. Breeding. 2005. V. 15. I. 4. P. 395–407.
https://doi.org/10.1007/s11032-005-0084-6

81. *Turner A., Beales J., Faure S. et al.* The pseudo-response regulator Ppd-H1 provides adaptation to photoperiod in barley // Science. 2005. V. 310. I. 5750. P. 1031–1034.

82. *Oliver S.N., Finnegan E.J., Dennis E.S. et al.* Vernalization-induced flowering in cereals is associated with changes in histone methylation at the VERNALIZATION1 gene // PNAS USA. 2009. V. 106. I. 20. P. 8386–8391.
https://doi.org/10.1073/pnas.0903566106

83. *Deng W., Casao M.C., Wang P. et al.* Direct links between the vernalization response and other key traits of cereal crops // Nat. Communications. 2015. V. 6. P. 5882.

84. *Pin P.A., Zhang W., Vogt S.H. et al.* The role of a pseudo-response regulator gene in life cycle adaptation and domestication of beet // Curr. Biol. 2012. V. 22. I. 12. P. 1095–1101.
https://doi.org/10.1016/j.cub.2012.04.007

85. *Mohamed R., Wang C.-T., Ma C. et al.* Populus CEN/TFL1 regulates first onset of flowering, axillary meristem identity and dormancy release in Populus // The Plant J. 2010. V. 62. I. 4. P. 674–688.
https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2010.04185.x

86. *Böhlenius H., Huang T., Charbonnel-Campaa L. et al.* CO/FT regulatory module controls timing of flowering and seasonal growth cessation in trees // Science. 2006. V. 312. I. 5776. P. 1040–1043.
https://doi.org/10.1126/science.1126038

87. *Hsu C.-Y., Adams J.P., Kim H. et al.* FLOWERING LOCUS T duplication coordinates reproductive and vegetative growth in perennial poplar // PNAS USA. 2011. V. 108. I. 26. P. 10756–10761.

88. *Sawa M., Kay S.A.* GIGANTEA directly activates Flowering Locus T in *Arabidopsis thaliana* // PNAS USA. 2011. V. 108. I. 28. P. 11698–11703.
https://doi.org/10.1073/pnas.1106771108

89. *Ding J., Böhlenius H., Rühl M.G. et al.* GIGANTEA-like genes control seasonal growth cessation in Populus // New Phytologist. 2018. V. 218. I. 4. P. 1491–1503.

90. *Mizoguchi T., Wright L., Fujiwara S. et al.* Distinct roles of GIGANTEA in promoting flowering and regulating circadian rhythms in Arabidopsis // The Plant Cell. 2005. V. 17. I. 8. P. 2255–2270.
https://doi.org/10.1105/tpc.105.033464

91. *Rinne P.L.H., Welling A., Vahala J. et al.* Chilling of dormant buds hyperinduces FLOWERING LOCUS T and recruits GA-inducible 1,3-beta-glucanases to reopen signal conduits and release dormancy in Populus // The Plant Cell. 2011. V. 23. I. 1. P. 130–146.

92. *Brunner A.M., Evans L.M., Hsu C.-Y. et al.* Vernalization and the chilling requirement to exit bud dormancy: Shared or separate regulation? // Frontiers in Plant Sci. 2014. V. 5. P. 732.

93. *Маркаров А.М., Головко Т.К., Табаленкова Г.Н.* Морфофизиология клубнеобразующих растений. СПб.: Наука, 2001. 208 с.

94. *Чайлахян М.Х.* Фотопериодическая и гормональная регуляция клубнеобразования у растений. Москва. Наука, 1984. 69 с.

95. *Teo C.-J., Takahashi K., Shimizu K. et al.* Potato tuber induction is regulated by interactions between components of a tuberigen complex // Plant & Cell Physiol. 2017. V. 58. I. 2. P. 365–374. https://doi.org/10.1093/pcp/pcw197

96. *González-Schain N.D., Díaz-Mendoza M., Zurczak M. et al.* Potato CONSTANS is involved in photoperiodic tuberization in a graft-transmissible manner // The Plant J. 2012. V. I. 4. P. 678–690. https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2012.04909

97. *Abelenda J.A., Cruz-Oró E., Franco-Zorrilla J.M. et al.* Potato StCONSTANS-like1 suppresses storage organ formation by directly activating the FT-like StSP5G repressor // Curr. Biol. 2016. V. 26. I. 7. P. 872–881. https://doi.org/10.1016/j.cub.2016.01.066

98. *Carmel-Goren L., Liu Y.S., Lifschitz E. et al.* The SELF-PRUNING gene family in tomato // Plant Mol. Biol. 2003. V. 52. I. 6. P. 1215–1222.

99. *Wickramasinghe U.L., Wright C.J., Currah L.* Bulbing responses of two cultivars of red tropical onions to photoperiod, light integral and temperature under controlled growth conditions // J. Horticultural Sci. and Biotechnol. 2000. V. 75. P. 304–311.

100. *Atif M.J., Ahanger M.A., Amin B. et al.* Mechanism of allium crops bulb enlargement in response to photoperiod: A review // Int. J. Mol. Sci. 2020. V. 21. I. 4.

101. *Lee R., Baldwin S., Kenel F. et al.* FLOWERING LOCUS T genes control onion bulb formation and flowering // Nat. Communucations. 2013. V. 4. 2884.

102. *Manoharan R.K., Han J.S.H., Vijayakumar H. et al.* Molecular and functional characterization of FLOWERING LOCUS *T* homologs in *Allium cepa* // Molecules. 2016. V. 21. 217. https://doi.org/10.3390/molecules21020217

103. *Rohkin Shalom S., Gillett D., Zemach H. et al.* Storage temperature controls the timing of garlic bulb formation via shoot apical meristem termination // Planta. 2015. V. 242. P. 951–962. https://doi.org/10.1007/s00425-015-2334-0

104. *Noy-Porat T., Cohen D., Mathew D. et al.* Turned on by heat: differential expression of FT and LFY-like genes in *Narcissus tazetta* during floral transition // J. Exp. Botany. 2013. V. 64. P. 3273–3284. https://doi.org/10.1093/jxb/ert165

105. *Jenkins J.A.* The origin of the cultivated tomato // Economic Botany. 1948. V. 2. P. 379–392.

106. *Soyk S., Müller N.A., Park S.J. et al.* Variation in the flowering gene SELF PRUNING 5G promotes day-neutrality and early yield in tomato // Nat. Genetics. 2017. V. 49. I. 1. P. 162–168. https://doi.org/10.1038/ng.3733

107. *Zhang S., Jiao Z., Liu L. et al.* Enhancer-promoter interaction of SELF PRUNING 5G shapes photoperiod adaptation // Plant Physiol. 2018. V. 178. I. 4. P. 1631–1642.

108. *Kloosterman B., Abelenda J.A., Gomez Mdel M. et al.* Naturally occurring allele diversity allows potato cultivation in northern latitudes // Nature. 2013. V. 49. I. 7440. P. 246–250.

109. *Gutaker R.M., Weiß C.L., Ellis D. et al.* The origins and adaptation of European potatoes reconstructed from historical genomes // Nat. Ecol. and Evol. 2019. V. 3. I. 7. P. 930–1101. https://doi.org/10.1038/s41559-019-0921-3

110. *Blackman B.K.* Interacting duplications, fluctuating selection, and convergence: The complex dynamics of flowering time evolution during sunflower domestication // J. Exp. Botany. 2013. V. 64. I. 2. P. 421–431. https://doi.org/10.1093/jxb/ers359

111. *Blackman B.K., Strasburg J.L., Raduski A.R. et al.* The role of recently derived FT paralogs in sunflower domestication // Curr. Biol. 2010. V. 20. I. 7. P. 629–635.

112. *Iwata H., Gaston A., Remay A. et al.* The TFL1 homologue KSN is a regulator of continuous flowering in rose and strawberry // The Plant J. 2012. V. 69. I. 1. P. 116–125.

113. *Semeniuk P.* Inheritance of recurrent and nonrecurrent blooming in 'Goldilocks' × Rosa wichuraiana progeny // J. Heredity. 1971. V. 62. I. 5. P. 319–320.

114. *Brown T., Wareing P.F.* The genetical control of everbearing habit and three other characters in varieties of *Fragaria vesca* // Euphytica. 1965. V. 14. P. 97–112.

115. *Mouhu K., Kurokura T., Koskela E.A. et al.* The *Fragaria vesca* homolog of suppressor of overexpression of constans1 represses flowering and promotes vegetative growth // The Plant Cell. 2013. V. 25. I. 9. P. 3296–3310. https://doi.org/10.1105/tpc.113.115055

116. *Koskela E.A., Mouhu K., Albani M.C. et al.* Mutation in TERMINAL FLOWER1 reverses the photoperiodic requirement for flowering in the wild strawberry *Fragaria vesca* // Plant Physiology. 2012. V. 159. I. 3. P. 1043–1054. https://doi.org/10.1104/pp.112.196659

117. *Flachowsky H., Szankowski I., Waidmann S. et al.* The MdTFL1 gene of apple (*Malus* × *domestica* Borkh.) reduces vegetative growth and generation time // Tree Physiology. 2012. V. 32. I. 10. P. 1288–1301. https://doi.org/10.1093/treephys/tps080

The Evolutionary Aspects of Flowering Control: Florigens and Antiflorigens

M. A. Lebedeva[a, *], I. E. Dodueva[a], M. S. Gancheva[a], V. E. Tvorogova[a], K. A. Kuznetsova[a], and L. A. Lutova[a]

[a] *Department of Genetics and Biotechnology, Saint-Petersburg State University, Saint-Petersburg, 199034 Russia*

**e-mail: m.a.lebedeva@spbu.ru*

Plants have evolved a complex regulatory network to control their developmental in changing environmental conditions. The transition to reproductive development is an important stage of plant life cycle, and different plant species chose the optimal period to induce this developmental program depending on their ecological conditions. Flowering induction is regulated by complex mechanisms that integrate diverse signals from the environment, including the changing in temperature and day length. In arabidosis, a key regulator of flowering is FLOWERING LOCUS T (FT), florigen, the monologues of which were characterized in other plant species. This review focuses on conserved regulatory mechanisms of flower initiation where FT-like proteins play a key role in different groups of plants, and the role of these proteins in other regulatory processes is discussed. The special focus of this review covers evolutionary changes in FT-like genes during plant adaptation to different environments and during plant domestication.

Keywords: FT, TFL1, florigen, flowering, photoperiod, tuberigen, bulbs.