

# 苹果 MdFT基因对番茄的遗传转化

李伟明<sup>1, 2</sup>, 王双双<sup>1</sup>, 姚玉新<sup>1</sup>, 赵长增<sup>2</sup>, 郝玉金<sup>1</sup>, 由春香<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>山东农业大学作物生物学国家重点实验室, 园艺科学与工程学院, 山东泰安 271018; <sup>2</sup>甘肃农业大学农学院园艺系, 兰州 730070)

**摘要:** 通过 RT-PCR 扩增, 从苹果叶片 cDNA 中克隆了 *FT* 基因的同源基因 *MdFT*, 构建了花椰菜病毒 35S 启动子驱动的 *MdFT* 植物表达载体 35S::MdFT, 并利用根癌农杆菌介导法将其导入番茄栽培品种‘中蔬四号’; 同时转化拟南芥 *AtFT* 基因作为阳性对照。从添加卡那霉素的筛选培养基上再生了抗性植株, PCR 扩增证明, 外源基因 *MdFT* 和 *AtFT* 已经整合到转基因番茄的基因组, 半定量 RT-PCR 则证明它们已经在转基因番茄中得到异位过量表达。形态鉴定发现, 转基因番茄植株比非转基因对照植株开花早, 表明成功地从苹果中克隆了成花素基因 *MdFT*, 该基因具有通过转基因缩短苹果树童期的潜在价值。

**关键词:** 苹果; *FT* 基因; 异位过量表达; 番茄

中图分类号: S 661.1 文献标识码: A 文章编号: 0513-353X (2009) 09-1255-06

## Genetic Transformation of Apple MdFT Gene into Tomato

LI Wei-ming<sup>1, 2</sup>, WANG Shuang-shuang<sup>1</sup>, YAO Yu-xin<sup>1</sup>, ZHAO Chang-zeng<sup>2</sup>, HAO Yu-jin<sup>1</sup>, and YOU Chun-xiang<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>State Key Laboratory of Crop Biology, College of Horticulture Science and Engineering, Shandong Agricultural University, Tai'an, Shandong 271018, China; <sup>2</sup>Department of Horticulture, College of Agronomy, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China)

**Abstract:** It is of great importance for field yield of fruit trees to generate flower buds. Recently, FT protein has been proved to be a florigen in higher plants. In this study, full-length cDNA of *MdFT* gene, a homolog of *Arabidopsis AtFT*, was amplified from apple leaf cDNAs with RT-PCR. Subsequently, a plant expression construct containing *MdFT* gene driven by cauliflower mosaic virus 35S promoter was obtained and introduced into tomato cultivar ‘Zhongshu 4’ with *Agrobacterium* mediated transformation. In parallel, *Arabidopsis AtFT* gene was transformed as a positive control. Finally, transgenic tomato lines were regenerated from selection medium plus kanamycin. PCR amplification verified the integration of exogenous genes into the host genome, and semiquantitative RT-PCR displayed their ectopic overexpression in transgenic tomatoes. Furthermore, morphological observation found that transgenic tomato lines flowered earlier than the non-transgenic control, suggestive of our successful cloning of florigen gene *MdFT* from apple, which has the potential as a target gene to shorten juvenility in apple tree.

**Key words:** apple; *FT* gene; ectopic overexpression; tomato

一般说来, 多年生果树都有童期现象, 童期可以使果树在开花结果前完成树体的形态建成, 是果树长期进化的结果。但童期现象严重阻碍了杂交育种的进程, 延长了育种周期, 缩短童期一直是果树育种的重要目标之一。通过常规方法缩短童期非常困难, 最近的研究表明, 基因工程为解决这一难题提供了新途径。Weigel等 (1995) 将拟南芥的 *LFY* 基因导入欧洲山杨, 转基因植株仅需 5 个月即可

收稿日期: 2009 - 04 - 10; 修回日期: 2009 - 07 - 14

基金项目: 国家 ‘863’ 计划项目 (2008AA10Z157); 高等学校博士点基金项目 (20060434009); 山东省良种工程项目

\* 通讯作者 Author for correspondence (E-mail: youchunxiang@sdau.edu.cn)

开花, 而欧洲山杨实生苗在自然条件下开花需要 8~20 年。Pen 等 (2001) 将拟南芥的开花调控基因 *LFY* 和 *API* 转入枳壳, 转基因植株 1 年内即可开花结果。两个案例都明显缩短了转基因植物的营养生长期, 表明转基因技术在缩短童期方面具有很大的应用潜力。

在拟南芥中, FLOWER NG LOCUS T (*FT*) 是光周期影响开花途径的促进因子 (Kardailsky et al, 1999), 更重要的是, 研究表明 *FT* 蛋白在叶片中合成后, 能通过韧皮部长距离运输到顶端生长点, 诱导顶端分生组织向生殖发育方向转化, 形成花芽, 这与“开花素”假说完全一致 (Corbesier et al, 2007; Jaeger & Wigge, 2007; Mathieu et al, 2007; Yang et al, 2007)。在苹果中, *FT* 基因的同源基因是 *MdFT*, 其编码框全长序列已经在 2004 年被克隆 (GenBank 登录号 AB161112) (Kotoda & Wada, 2005), 但其功能研究一直未见报道。作者通过构建其植物表达载体并转化番茄, 对其功能进行初步鉴定。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

采用的苹果 (*Malus domestica* Borkh.) 栽培品种为‘嘎拉’, 树龄为 6 年, 在山东农业大学农场自然条件下生长, 2007 年 5 月 5 日摘取充分伸展的幼嫩叶片, 用液氮速冻, 保存于 -80 °C 备用。拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 材料采用生态型 Columbia (Col) 的莲座叶。番茄 (*Lycopersicon esculentum*) 转化采用栽培品种‘中蔬四号’。

### 1.2 菌株和质粒

植物二元载体 pB II21 和根癌农杆菌菌株 LBA4404 为本实验室保存, T/A 克隆载体 pMD18-T 购自 TaKaRa 公司 (中国大连)。

### 1.3 化学试剂和工具酶类

限制性内切酶、T4 DNA 连接酶以及 RT-PCR 试剂盒为 Promega 公司产品。AMV 反转录酶和 LA Taq 耐高温 DNA 聚合酶购自 TaKaRa 公司。其它主要化学试剂为美国 Sigma 公司或国产 AR 级试剂。PCR 引物由上海生工生物工程有限公司合成。

### 1.4 总 RNA 提取和 cDNA 克隆

拟南芥和苹果的总 RNA 提取分别采用 Trizol 试剂法和 CTAB 方法 (Chang et al, 1993)。取 2 µg 总 RNA, 用 oligo (dT) 引物进行反转录。根据 GenBank 公布的序列 (*MdFT* 为 AB161112, *AtFT* 为 NM105222), 设计了两对引物, 一对为 *MdFT*5 (5'-ATGCCTAGGGATAGGGACC-3') 和 *MdFT*3 (5'-TTATCTCTCCTTCCACCGG-3'); 另一对为 *AtFT*5 (5'-GATGTCCTATAAATATAAGAGACCCCTC-3') 和 *AtFT*3 (5'-TCTAAAGTCTTCTTCTCCGACG-3'), 分别用于苹果 *MdFT* 和拟南芥 *AtFT* (即 *FT*) 的 RT-PCR 扩增。反应条件均为 94 °C 预变性 3 min; 94 °C 变性 45 s, 54 °C 退火 45 s, 72 °C 延伸 45 s, 35 个循环; 最后 72 °C 延伸 10 min。将扩增出的特异片段连接到克隆载体 pMD18-T 上, 进行序列测定。

### 1.5 载体构建、番茄遗传转化和鉴定

通过测序确认序列正确后, 将 *MdFT* 和 *AtFT* 分别插入植物表达载体 pB II21, 获得植物表达载体 35S::*MdFT* 和 35S::*AtFT*。然后转化大肠杆菌 DH5 感受态细胞, 筛选连接产物, 提取质粒, 用冻融法将质粒导入根癌农杆菌 LBA4404 感受态细胞中 (Chen et al, 1994)。挑取单菌落进行 PCR 验证, 确认正确后, 采用农杆菌浸染法对番茄进行遗传转化。

获得抗生素卡那霉素抗性再生植株后, 从抗性植株中分别提取 DNA 和 RNA, 采用 PCR 和半定量 RT-PCR 法对抗性植株进行鉴定, 确定转基因植株。进行 PCR 检测时, 用引物 Npt 5 (5'-GTG-GAGAGGCTATTCGGCTATGACTG-3') 和 Npt 3 (5'-AGCTCTTCAGCAATATCAGGGTAGC-3') 扩增 *Npt* 基因片段; 用 CaMV 35S 的通用引物 35s (5'-CGCACAAATCCCACTATCCTT-3') 和目的基因下游

引物 *MdFT3* 或 *AtFT3* 扩增目的基因 *MdFT* 或 *AtFT* 片段。进行半定量 RT-PCR 检测时, 用组成型表达的 *-ACTN* 基因检测反转录效果, 并作为上样量对照, 上下游引物分别为 *Actin5* (5'-CTTCAGTCCA-CAATCGGTGG-3') 和 *Actin3* (5'-CATTCGAGTTGAGCTGCTG-3')。将转基因再生植株移到温室后, 统计形成第 1 朵的节位数, 与对照非转基因再生植株比较, 判断其是否早花。

## 2 结果与分析

### 2.1 目的基因的克隆和表达载体构建

用 *MdFT* 基因特异引物 *MdFT5* 和 *MdFT3*, 从 '嘎拉' 苹果叶片 cDNA 中扩增到约 530 bp 的目的片段, 与已公布序列大小相符 (图 1, A)。将其插入 pMD18-T 载体, PCR 鉴定并测序确认, 发现 *MdFT* 基因全长为 525 bp, 包含完整的开放阅读框, 编码 174 个氨基酸残基, 在氨基酸水平上与 *AtFT* 的同源性达 72.6%。同时, 用 *AtFT* 基因特异引物 *AtFT5* 和 *AtFT3*, 从拟南芥叶片 cDNA 中克隆了 *AtFT* 做阳性对照 (图 1, A)。然后, 用 *Xba*、*Sal* 进行双酶切并电泳, 分别回收目的基因 *MdFT* 和 *AtFT*; 同时, 用相同的限制性内切酶消化植物表达载体 pBI121, 并电泳回收切除 *GUS* 基因的 pBI121 空载体, 最后用 T4DNA 连接酶将两个目的基因分别与空载体相连 (图 1, B), 连接产物分别转化大肠杆菌 DH5 感受态细胞。用 35S 和 *MdFT3* 对可能含有 35S::*MdFT* 载体的单菌落进行 PCR 检测, 获得大小约 560 bp 的预期目的片段; 用 35S 和 *AtFT3* 对可能含有 35S::*AtFT* 载体的单菌落进行 PCR 检测, 也获得大小约 560 bp 的预期目的片段; 用 *Npt* 5' 和 *Npt* 3' 对两种菌落进行 PCR 检测, 均获得了 550 bp 的预期目的片段 (图 1, A), 说明目的基因已经插入表达载体, 植物表达载体 35S::*MdFT* 和 35S::*AtFT* 构建成功 (图 1, A)。

从大肠杆菌提取质粒后, 分别导入根癌农杆菌 LBA4404 感受态细胞, 挑取单菌落进行 PCR 检测, 结果与对大肠杆菌进行的检测结果相似, 表明表达载体已经转化入农杆菌 LBA4404 中。

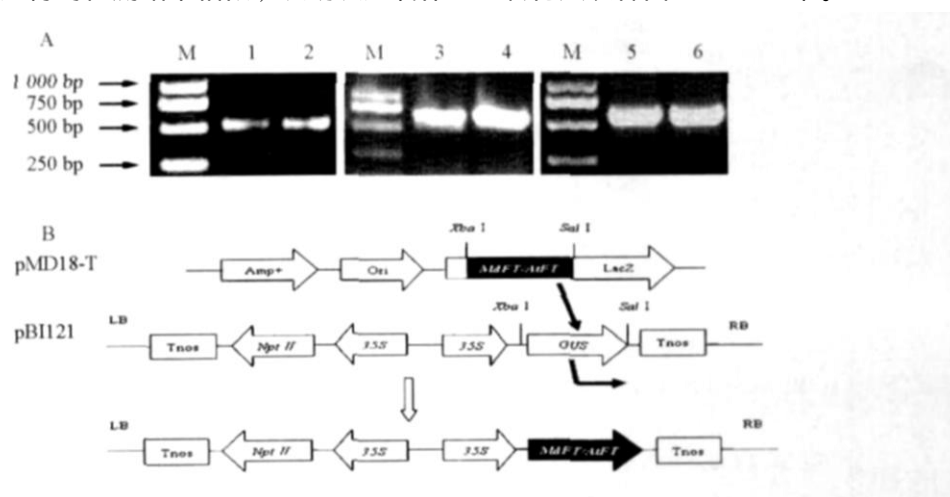


图 1 *MdFT* 和 *AtFT* 基因的克隆及其表达载体构建

A: M, DL2000 DNA 分子量标记; 1 和 5, *MdFT* 扩增条带 (模板分别为苹果叶片 cDNA 和 35S::*MdFT* 载体);  
2 和 6, *AtFT* 扩增条带 (模板分别为拟南芥叶片 cDNA 和 35S::*AtFT* 载体); 3 和 4, *Npt* 扩增条带  
(模板分别为 35S::*MdFT* 载体和 35S::*AtFT* 载体)。B: 35S::*MdFT/AtFT* 基因植物表达载体构建示意图。

Fig 1 Cloning and expression vector construction of *MdFT* and *AtFT* genes

A: M, DL2000 DNA marker, 1 and 5, PCR products of *MdFT* from apple leaf cDNAs and 35S::*MdFT* construct, respectively;  
2 and 6, PCR products of *AtFT* from *Arabidopsis* leaf cDNAs and 35S::*AtFT* construct, respectively;  
3 and 4, PCR products of *Npt* from 35S::*MdFT* and 35S::*AtFT* constructs, respectively.  
B: An illustration for the construction of plant expression vector 35S::*MdFT* and 35S::*AtFT*.

## 2.2 转基因番茄抗性芽的获得

取 8~10 d 番茄无菌苗中段子叶, 置 MS 培养基上预培养 1 d。用含有 35S::MdFT 或 35S::AtFT 质粒的根癌农杆菌 LBA440 ( $OD_{600}$  0.5) 菌液侵染子叶 5~8 min, 灭菌滤纸吸干多余菌液, 重新放回看护 MS 培养基, 黑暗条件下共培养 2 d。2 d 后将子叶转移至筛选培养基上 ( $MS + ZT 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{Cef} 500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{Km} 100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ), 每 15 d 继代一次。当抗性再生芽长至 1 cm 时, 将芽切下, 转移至生根培养基 ( $MS + 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ IAA} + \text{Cef} 300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{Km} 50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 中诱导生根。分别获得了 19 株 35S::MdFT 和 15 株 35S::AtFT Km 抗性植株。生根培养 3~4 周后移栽到育苗钵。

## 2.3 转基因番茄的 PCR 检测和半定量 RT-PCR 分析

对全部 Km 抗性植株和非转化再生植株 (阴性对照), 分别抽提总 DNA 作为各自模板, 以相应质粒作阳性对照, 通过 PCR 方法扩增再生植株中的 *Npt*、*MdFT* 和 *AtFT* 基因。结果表明, 非转化阴性对照植株 DNA 的 PCR 没有扩出任何条带; 19 株 *MdFT* 基因的 Km 抗性植株中, 有 16 株可同时扩增出约 550 bp 和 560 bp 的 *Npt* 和 *MdFT* 基因片段; 而 15 株 *AtFT* 基因的 Km 抗性植株中, 有 12 株可同时扩增出相应大小的片段 (图 2, A)。表明 *MdFT* 或 *AtFT* 已经整合进这些阳性植株的基因组中。

对可同时扩增出 *Npt* 和 *MdFT/AtFT* 基因片段的再生植株和非转化再生植株, 各自抽提总 RNA, 反转录合成 cDNA 第一链, 然后进行 PCR 扩增。电泳结果显示, 有 5 株小苗扩出了 560 bp 左右的 *MdFT* 基因片段, 有 4 株小苗扩出了 560 bp 左右的 *AtFT* 基因片段, 而阴性对照没有条带, 说明外源基因已经在这些阳性转基因番茄中转录表达 (图 2, B)。

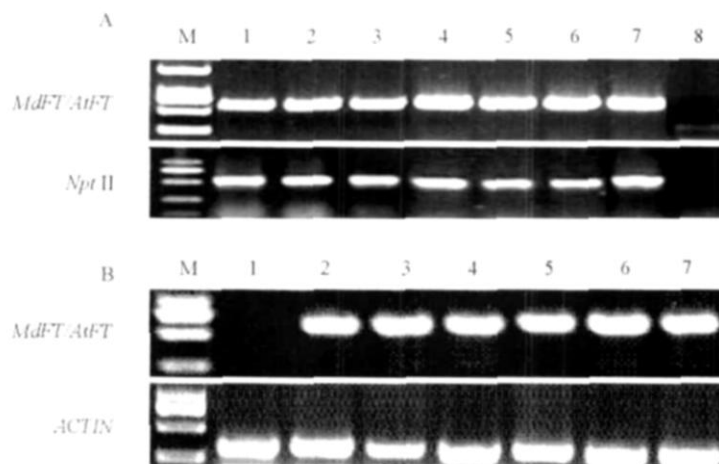


图 2 转基因植株的 PCR 检测 (A) 和半定量 RT-PCR 检测 (B)

A: M, DL2000 DNA 分子量标记; 1, 质粒 (阳性对照); 2~4, 转 35S::MdFT 基因的不同植株; 5~7, 转 35S::AtFT 基因的不同植株; 8, 非转基因植株 (阴性对照)。

B: M, DL2000 DNA 分子量标记; 1, 非转基因植株; 2~4, 转 35S::MdFT 基因的不同植株; 5~7, 转 35S::AtFT 基因的不同植株。

Fig. 2 PCR (A) and semi-quantitative RT-PCR (B) checks of transgenic plants

A: M is DL2000 DNA marker; lane 1, plasmid (positive control); 2~4, different 35S::MdFT transgenic lines; 5~7, different 35S::AtFT transgenic lines; 8, non-transgenic plant (negative control).

B: M, DL2000 DNA marker; 1, non-transgenic plant; 2~4, different 35S::MdFT transgenic lines; 5~7, different 35S::AtFT transgenic lines

## 2.4 转基因番茄出现早花现象

正如所期望的那样, 转基因番茄植株表现出了早花现象。部分 35S::AtFT 转基因植株在生根培养基中就能进行花芽分化, 形成花蕾 (图 3, C)。个别 35S::MdFT 转基因植株也能在生根培养基中

形成花蕾，只是频率低于 35S:: *AtFT* 转基因植株（图 3，A）。将生根小苗移栽到温室中，转基因植株能在很低的节位上（第 4~9 节位）形成花器官（图 3，B），在 5 株 35S:: *MdFT* 转基因植株中，花芽分别为第 4、8、11、7 和 9 节位形成，在 4 株 35S:: *AtFT* 转基因植株中，花芽分别为第 8、11、6 和 7 节位形成，而在 10 株非转基因再生对照植株中，均在第 11 节位以上形成花芽（表 1）。说明在番茄中异位过量表达苹果 *MdFT* 基因和拟南芥 *AtFT* 基因，能导致番茄出现早花现象，但苹果 *MdFT* 基因在促进番茄提早开花方面的效果略逊于拟南芥 *AtFT* 基因。

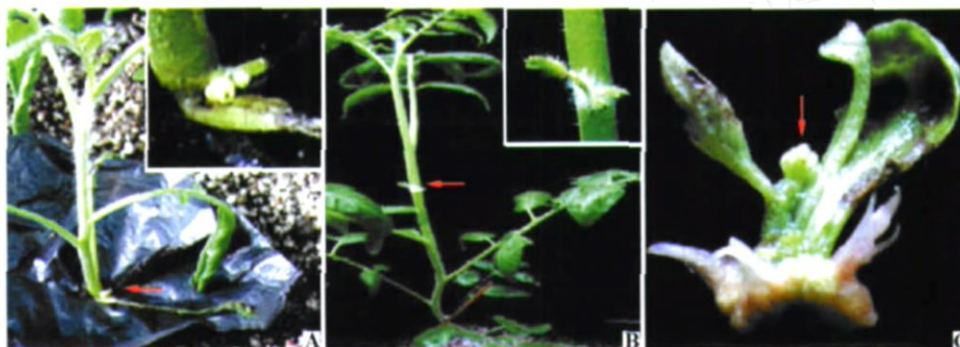


图 3 转基因番茄的早花现象

A: *MdFT* 转基因番茄生根苗的早花现象；B: 温室中生长的 *MdFT* 转基因番茄的低节位成花现象；  
C: *AtFT* 转基因番茄在培养基上的早花现象；箭头指示成花位置。

Fig. 3 Transgenic tomatoes flowered early

A: *MdFT*-overexpressing seedling set flowers at the base of stem (flowers formed on rooting medium);  
B: *MdFT*-overexpressing seedling formed flower at a relative low-node position, grown under glasshouse conditions;  
C: *AtFT*-overexpressing seedling showed extremely early flowering (flower formed on rooting medium).  
Arrowheads in A, B and C indicated the positions of flowers

表 1 转基因番茄不同开花节位的株数

Table 1 The number of plant of different flower setting node in transgenic tomatoes

植株 Plants	总株数 Total number	开花节位 Number of flower setting node												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
对照 Control	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	5	3
35S:: <i>MdFT</i>	5	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0	1	0	0
35S:: <i>AtFT</i>	4	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	1	0	0

### 3 讨论

高等植物的花芽形成是一个十分复杂的过程，目前普遍认为存在着 4 条发育途径，即光周期途径、自主途径、春化途径和 GA 途径，这些途径之间又存在着复杂的调节网络，单独或共同决定花的形成与否，这或许是常规方法难以缩短童期的原因。但是遗传学研究表明，这些调节途径存在着几个共同的整合因子（Yoo et al, 2005），如 CO、FT、SOC1、LFY 和 API 等，且单个整合因子的异位过量表达可能极大地缩短多年生木本植物的童期，使其在短时间内开花结果（Weigel & Nilsson, 1995; Pen à et al, 2001）。然而，许多转基因试验也表明，由于不同种类植物对密码子有着不同的偏好性及一些尚未明确的原因，有时在植物体内过量表达外源基因效果并不理想（Nilsson & Weigel, 1997），因此还需要不断挖掘相应植物的自身基因，并对其进行功能鉴定。转基因研究还表明，促进开花的基因很可能会同时对花和果实的发育产生影响（Kardailsky et al, 1999; Endo et al, 2005），

因此将其导入以果实为收获对象的植物时, 应选择适合于果实性状研究的模式植物作为受体材料。

在拟南芥中, *AtFT*基因的功能和作用机理已经得到广泛的研究, 其基因表达产物已被证明是“成花素”物质 (Corbesier et al, 2007; Jaeger & Wigge, 2007; Mathieu et al, 2007; Yang et al, 2007), 这必将会对植物的育种研究产生深远的影响 (Kobayashi & Weigel, 2007)。近年来, 多年生木本植物的开花相关基因也在不断地得到克隆和鉴定, 其中, *AtFT*基因在杨树、柑桔和苹果中的同源基因已经得到克隆, 而且 Böhlenius等 (2006) 的研究已经揭示了杨树 *CO/FT*基因的特异时空表达对其季节性生长和花芽形成具有调控作用。但目前尚无报道表明 FT蛋白在木本植物的叶片中合成后, 可以作为“成花素”物质, 被长距离运输到枝梢顶端或腋芽处促使植物开花, 同样地, 其运转过程中是否有辅助因子参与也还不清楚。

本研究克隆的 *MdFT*序列包含完整的 ORF, 在氨基酸水平上与 *AtFT*高度同源。遗传转化的结果进一步表明, 两个基因在转基因番茄植株中都得到了表达, 转基因番茄均表现出早花性状, 相比之下, 拟南芥 *AtFT*比苹果 *MdFT*的转基因效果更明显。转化模式植物番茄, 有利于同时对苹果 *MdFT*和拟南芥 *AtFT*两个不同来源的同源基因进行比较, 然而, 要充分理解 *MdFT*基因在苹果发育中 (尤其是开花结果方面) 的功能, 证明其“成花素”的本质, 还需要通过苹果遗传转化来获得更直接的结果和证据, 相关研究正在进行当中。

## References

- Böhlenius H, Huang T, Charbonnel-Campaa L, Brunner A M, Jansson S, Strauss S H, Nilsson O. 2006. *CO/FT* regulatory module controls timing of flowering and seasonal growth cessation in trees. *Science*, 312: 1040 - 1043.
- Chang S, Puryear J, Caimey J. 1993. A simple and sufficient method for isolating RNA from pine trees. *Plant Molecular Biology Report*, 11: 113 - 116.
- Chen H, Nelson R S, Sherwood J L. 1994. Enhanced recovery of transformants of *Agrobacterium tumefaciens* after freeze-thaw transformation and drug selection. *Biotechniques*, 16: 664 - 670.
- Corbesier L, Vincent C, Jang S, Fomara F, Fan Q, Searle I, Giakountis A, Farrona S, Gissot L, Tumbull C, Coupland G. 2007. FT protein movement contributes to long-distance signaling in floral induction of *Arabidopsis*. *Science*, 316: 1030 - 1033.
- Endo T, Shimada T, Fujii H, Kobayashi Y, Araki T, Omura M. 2005. Ectopic expression of an *FT* homolog from Citrus confers an early flowering phenotype on trifoliate orange (*Poncirus trifoliata* L. Raf.). *Transgenic Research*, 14: 703 - 712.
- Jaeger K E, Wigge P A. 2007. FT protein acts as a long-range signal in *Arabidopsis*. *Current Biology*, 17: 1050 - 1054.
- Kardailsky I, Shukla V K, Ahn J H, Dagenais N, Christensen S K, Nguyen J T, Chory J, Harrison M J, Weigel D. 1999. Activation tagging of the floral inducer *FT*. *Science*, 286: 1962 - 1965.
- Kobayashi Y, Weigel D. 2007. Move on up, it's time for change-mobile signals controlling photoperiod-dependent flowering. *Genes & Development*, 21: 2371 - 2384.
- Kotoda N, Wada M. 2005. *MdFTL1*, a *TFL1*-like gene of apple, retards the transition from the vegetative to reproductive phase in transgenic *Arabidopsis*. *Plant Science*, 168: 95 - 104.
- Mathieu J, Warthmann N, Kuttner F, Schmid M. 2007. Export of FT protein from phloem companion cells is sufficient for floral induction in *Arabidopsis*. *Current Biology*, 17: 1055 - 1060.
- Nilsson O, Weigel D. 1997. Modulating the timing of flowering. *Current Opinion in Biotechnology*, 8: 195 - 199.
- Pen  L, Mart  ez-Trillo M, Ju  ez J, Pina J A, Navarro L, Mart  ez-Zapater J M. 2001. Constitutive expression of *Arabidopsis* *LEAFY* or *APETALA1* genes in citrus reduces their generation time. *Nature Biotechnology*, 19: 263 - 267.
- Weigel D, Nilsson O. 1995. A developmental switch sufficient for flower initiation in diverse plants. *Nature*, 377: 495 - 500.
- Yang Y J, Klejnot J, Yu X H, Liu X M, Lin C T. 2007. Florigen ( ): It is a mobile protein. *Journal of Integrative Plant Biology*, 49: 1665 - 1669.
- Yoo S K, Chung K S, Kim J, Lee J H, Hong S M, Yoo S J, Yoo S Y, Lee J S, Ahn J H. 2005. CONSTANS activates suppressor of overexpression of CONSTANS 1 through Flowering Locus T to promote flowering in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 139: 770 - 778.