

刘娟, 黎黎, 陆柄辰, 邓朴, 艾辛. 温度调控植物开花研究进展[J]. 应用与环境生物学报, 2020, 26 (3): 713-721

Liu J, Li L, Lu BC, Deng P, Ai X. Research progress on the temperature-regulated flowering of plants [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2020, 26 (3): 713-721

温度调控植物开花研究进展

刘娟 黎黎 陆柄辰 邓朴 艾辛✉

湖南农业大学园艺园林学院 长沙 410128

摘要 开花是植物生命周期中必不可少的阶段,它决定了植物能否顺利繁殖后代,同时也与人类生活息息相关。植物开花受温度、光照强度、日照长短等外界环境的影响,其中温度的调控尤为重要。近几十年来,国内外学者对温度诱导植物开花的分子机理的研究不断深入,研究结果日新月异,揭示了温度调控植物开花的多条途径。本文系统总结了温度调控植物开花(主要包括温度传感、春化和环境温度途径)的研究进展,主要对近期的研究热点温度传感器、开花促进因子、开花抑制因子进行了详细阐述。(1)植物主要通过响应温度的组蛋白修饰、冷诱导转录因子以及温度感应的关键基因来感知温度,Rea L在已知的春化和环境温度途径的基础上提出了4条温度传感途径,即以月(L)、以天(S)、以小时(C)以及昼夜时钟(D)为单位的途径,简称LSCD调节模型,揭示了VIN3表达中的分布式热传感器输入。(2)主要的开花抑制因子有SVP、FLM-β、FLC、FRI-C复合物、SPEN3、KHD1、miR156、PEP1和PEP2,这些负性调节因子的活性被一组促花因子抵消,这些促花因子包括PIF4(在SD条件下)、FCA、PRC2复合物、COOLAIR、COLDAIR、COLDWRAP、miR172和FT。(3)FLC的表达受FLC的反义转录物COOLAIR的抑制,并由COLDAIR和COLDWRAP来维持这种抑制,且FLC还受FT及互作蛋白FD的负反馈调节。最后对该领域的研究成果和发展进行了讨论与展望,认为未来对开花机制的研究应着重从温度依赖的选择性剪接、蛋白质修饰和降解或核小体周围的DNA包裹、对自然条件下环境温度的长期和短期变化作出反应和晚抽薹基因等方面来进行。(图2 参90)

关键词 开花; 温度传感; 春化途径; 分子机理; 环境温度途径

Research progress on the temperature-regulated flowering of plants

LIU Juan, LI Li, LU Bingchen, DENG Pu & AI Xin✉

College of Horticulture and Landscape, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China

Abstract Flowering is an indispensable stage in the life cycle of plants. It determines whether a plant can successfully produce offspring and is closely related to human life. Plant flowering is under the control of environmental factors, such as temperature, light intensity, and day length, among which temperature regulation is particularly important. In recent decades, scholars at home and abroad have studied the molecular mechanisms of plant flowering regulated by temperature in depth, and the research results have seemingly changed with each passing day, revealing many paths of temperature-regulated plant flowering. In this review, we systematically summarize the research progress of temperature-regulated plant flowering, including temperature sensing, vernalization, and environmental temperature pathways, and describe recent research hotspots regarding temperature sensors, flowering promoting factors, and flowering suppressing factors in detail. First, recent studies revealed that plants primarily flower via multiple key genes associated with histone modifications, cold-induced transcription factors, or temperature-sensitive genes that respond to temperature signals. Real *et al.* proposed four temperature sensing pathways based on vernalization and ambient temperature pathways: months (L), days (S), hours (C), and day and night clocks (D). These pathways are collectively referred to as the LSCD adjustment model, which reveals the distributed thermal sensor input in VIN3 expression. Second, the main flowering inhibitors include SVP, FLM-β, FLC, the FRI-C complex, SPEN3, KHD1, miR156, PEP1, and PEP2. The activity of these negative regulators is offset by a group of flower-promoting factors. The flower-promoting factors include PIF4 (under SD conditions), FCA, the PRC2 complex, COOLAIR, COLDAIR, COLDWRAP, miR172, and FT. Third, the expression of FLC is inhibited by the FLC antisense transcript COOLAIR, and this inhibition is maintained by COLDAIR and COLDWRAP, and FLC is also regulated by the negative feedback of FT and the interacting protein FD. At the end of this paper, we discuss future processes that should focus on flowering mechanisms that result from temperature-dependent alternative

收稿日期 Received: 2019-06-10 接受日期 Accepted: 2019-08-13

国家自然科学基金项目(31271788)资助 Supported by the National Natural Science Foundation of China (31271788)

✉通讯作者 Corresponding author (E-mail: hnaixin@126.com)

splicing, protein modification and degradation, or DNA encapsulation around nucleosomes. More importantly, more attention must be paid to genes that respond to long-term and short-term temperature changes under natural conditions and genes that are related to late twitching.

Keywords flowering; temperature sensing; vernalization pathway; molecular mechanism; environmental temperature pathway

开花时间在植物营养生长向生殖生长的过渡过程中起着至关重要的作用,植物开花时间受温度、光照强度、日照长短等环境因素的影响^[1-3]。在拟南芥中,经典的遗传分析定义了6个主要的开花途径:春化途径(vernalization pathway)、环境温度途径(thermosensory pathway)^[2-3]、光周期/昼夜钟途径(photoperiod pathway)、赤霉素(GA)途径(gibberellin pathway)、年龄途径(aging pathway)和自主途径(autonomous pathway)。科学家们广泛研究了拟南芥^[1-3]的开花调控分子机制,共有300多个基因通过单个或多个途径影响拟南芥的开花时间^[4-6]。在双单倍体(DH)种群中的研究表明基因调控拟南芥和油菜开花网络大部分重叠^[4-7]。在许多温带物种中,春化和环境温度途径更为重要。而春化要求确保在长时间(周)低温(< 10 °C)后开花,比如经历寒冷的冬季^[8],环境温度途径则根据12 °C到39 °C之间的短期(d)温度变化调节开花^[9]。

低温是被子植物开花的重要条件,对开花和花器官发育起关键的诱导作用,一直以来,植物的成花诱导是科学家们研究的热点,也不乏一些关于植物开花分子机理的综述。然而国内外关于植物开花的研究日新月异,近几年来有不少新的发现。本文重点综述了近几年国内外有关温度传感、春化和环境温度途径的研究进展,深入解析春化和环境温度调控植物开花的分子机制,以期为进一步深入研究植物成花机制和花期调控奠定理论基础。

1 植物的温度传感器

1.1 植物对温度的感知

由于植物中缺乏明确的温度感受器,环境温度是如何调节一般的生理和发育的研究受到严重阻碍。科学家们普遍认为植物中存在多个温度感受器,并且不同感受器通过不同的温度传感途径来调控植物生长发育。环境温度通过影响分子的运动, RNA稳定性,蛋白质-核酸和蛋白质-蛋白质的相互作用来感知。植物细胞对温度的感受主要通过膜敏感性变化,比如温度能改变脂质双分子层的流动性以及膜结合蛋白如离子通道的活性,在低温刺激下,细胞膜内和细胞核内的Ca²⁺浓度均升高,可能参与了冷反应基因的表达。

1.1.1 响应温度的组蛋白修饰 在小麦春化过程中,低温可诱导春化基因VERNALIZATION1 (VRN1)上组蛋白的磷酸化和乙酰化并促进VRN1的表达,这两种关键的蛋白修饰类型可能参与了长期冷信号的传感^[10]。有研究表明:组蛋白H3-Lys4三甲酰化(H3K4me3)、关键蛋白的磷酸化以及O-glcna修饰等组蛋白修饰,可作为检测春化信号的标志物^[11]。

1.1.2 冷诱导转录因子 植物对低温的响应十分复杂,其中冷诱导因子在冷反应中起信号传导的作用,这些冷诱导转录因子对后续短期和长期的下游冷反应至关重要。

拟南芥冷诱导的第一批转录因子有热休克转录因子C1、ZAT12 (*Arabidopsis thaliana* 12)、ZAT10 (*Arabidopsis*

thaliana 10)和盐诱导锌指2^[10]。ZAT12和ZAT10负调控CBF基因的表达,它们和CBF转录因子(repeat binding factor)都能促进冷相关基因COR的表达并有助于提高抗冻性^[12]。CBF转录因子能通过正向调控FLC以及受SOC1的负调控将冷响应与开花时间调控联结。

在拟南芥中,当遇到轻度到重度冷应激时,CBF、WRKY和MYB等调节因子发挥作用^[10]。并有几种转录因子对不同程度的冷应激有特异性,在零/零下温度下,主要激活NAC (NAM, ATAF1,2, CUC2)和bHLH转录因子,而在零度以上,主要激活ZAT12、RAV1和RAP2转录因子^[13],其中零度以上激活的转录因子在植物开花的冷信号传导上发挥作用。

1.1.3 温度感应的关键基因 温度除了影响细胞膜离子通道活性外,还通过组蛋白修饰、DNA的稳定性等来影响一些关键基因的表达。

在水稻中发现了一个耐冷性基因COLD1, COLD1是一个数量性状位点(QTL),它编码G蛋白信号调节器在质膜和内质网(ER)上发挥作用。COLD1蛋白是钙离子通道的一个亚单位,可能代表着钙离子渗透通道,或者是钙离子通道的一个直接调节因子^[10]。COLD1功能是RGA1(G蛋白α亚基)的GTPase加速因子,一旦细胞受到低温刺激,COLD1就会与RGA1一起工作,从而触发Ca²⁺通道和电生理信号的变化,启动下游反应。随后,COLD1加速了RGA1的GTP酶活性,产生更多的GDP结合态,这导致了RGA1的GDP-结合态和GTP-结合态之间的平衡转变,并导致自激活^[14]。钙调蛋白结合的转录激活剂也可以结合CBF基因的启动子和其他转录因子来激活它们的表达,这就促进了由冷诱导的钙离子水平升高的下游反应^[15]。目前,尚不清楚钙离子上调在植物开花调控中的作用,但至少与植物抗寒机制有关。

另外一个温度感应基因VERNALIZATION 3 (VIN3)与春化作用有关,VIN3作为多梳抑制复合物2 (PRC2)中一个重要成分,与FLC的表观遗传沉默有关。VIN3是春化反应的温度感应器,且VIN3的mRNA水平随着低温时间的增加缓慢上升,但回到温暖环境中又迅速下降^[16-18]。有研究表明:高温2 h就可以降低VIN3的表达水平^[19-20],因此在冬季白昼温度均低时才会发生表观遗传沉默^[21]。此外,在长期的低温条件下,幼年态植株比成年态植株的VIN3的转录水平更高,可能因为幼年态植株对低温更为敏感,并且FLC的表达对光周期很敏感,而VIN3则不敏感。VIN3从高表达(high expression)向低表达(low expression)的独立转变是可逆的,因为在缺乏表观遗传沉默的情况下,FLC水平在温暖环境中会被重新激活^[22-23]。并且低表达达到表观沉默和高表达达到表观沉默也直接依赖于温度^[24]。早有学者发现春化受到0 °C或更低温度的阻碍,在高于18 °C或低于-1 °C时FLC无沉默^[19]。

1.2 植物温度传感路径

温度对植物开花时间的调控主要是影响开花抑制基因FLOWERING LOCUS C (FLC)的表达。早有研究表明:至少两个独立的温度传感路径导致了FLC在低温下的下调。第一种

起到下调*FLC*转录的作用,并对短暂低温作出反应^[21, 25],称为环境温度路径。第二种实现了*FLC*的表观遗传沉默,需要保守的多梳抑制复合物2 (PRC2)与锌指蛋白家族成员结合作用,PRC2中包括春化敏感基因*VIN3*,称为春化路径^[17]。

直到近期,Rea L等提出了4条温度传感路径^[26]:揭示了*VIN3*表达中的分布式热传感器输入,包括以月为单位(L、反应慢)、以天为单位(S)和以小时为单位(C)以及昼夜时钟(D)路径。*VIN3*的LSCD调节的总体效果是对寒冷长度的长期记忆,L控制白天*VIN3*表达的峰值(根据D控制达到峰值的时间),并根据即时快反应(C)和前一天S路径反应记忆的高温的值进一步调整。

2 春化途径

2.1 春化记忆模型

植物从营养生长向生殖生长过渡过程中,必须经历一段持续的低温(通常为4℃, 14-15 d),这种现象称为春化作用。春化是诱导某些植物开花的必要条件,幼苗在满足了低温春化需求时不会立即开花,需要在常温下生长数周才能开花。低温诱导和植物开花时间的时空差异表明植物对低温强度和时间的记忆能力^[27]。

在拟南芥中,春化反应取决于*FLC*的表达。*FLC*编码一个MADS盒DNA结合蛋白,作为转录子起作用,通过抑制下游的花整合基因来抑制花的转变,下游基因包括*SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CONSTANS 1* (*SOC1*)、*FLOWERING LOCUS T* (*FT*)、*FLOWERING LOCUS Y* (*FY*)和*AGAMOUS-LIKE 24* (*AGL24*)等^[28-30]。在春化条件下,*FLC*基因的下调间接引起了*FT*和*SOC1*的激活,最终通过激活花分生组织基因来启动开花^[31]。然而,应该指出的是,调节春化反应的表观遗传机制在进化上是保守的,但作用于不同物种的不同基因。例如小麦和拟南芥的春化基因有所不同,小麦基因*APETALA1* (*AP1*)、*VERNALIZATION1* (*VRN1*)、*VERNALIZATION2* (*VRN2*)和拟南芥的*FT*、*VIN3*是同源基因^[32],并且它们都能感受低温。

拟南芥的春化作用是环境信号转化为定量的数字信号进行表观遗传记忆的过程^[33-34]。在春化过程中,低温信号稳定地储存在细胞中,该过程涉及在*FLC*转录区域(10-12)内的两个或3个核小体中H3K27me3的积累(由多梳蛋白复合物介导的组蛋白H3的第27位赖氨酸的三甲基化简称H3K27me3)^[34-35]。H3K27me3在成核区(NR)的积累可以作为春化时间的记录,H3K27me3累积到峰值随后触发H3K27me3的扩散,当春化结束时,在整个*FLC*位点上H3K27me3的增加导致了*FLC*表观遗传沉默的维持。这一后续记忆是定量和数字化的,通过H3K27me3稳定沉默的细胞部分决定了*FLC*表达的总体水平,从而定量调节开花时间^[34, 36]。然而,目前对*FLC*组蛋白修饰水平的检测是基于众多细胞的,不能揭示个体细胞的状态。因此,尚不清楚在低温条件下H3K27me3在核内的积累是在每个细胞(数字)中都以一个“全”还是“无”响应,抑或所有细胞的逐渐累积。

另外,春化记忆能在后代中消除,在胚胎发育早期,调节种子成熟发育的两个同源的B3结构域转录因子*LEAFY COTYLEDON 2* (*LEC2*)和*FUSCA3* (*FUS3*)与两个抑制性B3(包含表观基因组阅读器和多梳结构域,称为*VAL1*和*VAL2*)竞争*FLC*的顺式调节性冷记忆元件(*CME*),以破坏多梳沉默^[37]。*LEC2*和*FUS3*与活性染色质修饰剂联合招募支架

蛋白*FRIGIDA*,在*FLC*处建立活性染色质,从而使沉默的*FLC*重设为活性,并消除早期胚胎对冬季寒冷的表观亲本记忆^[37]。胚胎发育后,*LEC2*和*FUS3*在整个胚胎后阶段都处于发育沉默状态,导致*VAL*在低温条件下的幼株中再次与*CME*结合,并重设为春化敏感^[37]。

2.2 开花抑制因子

植物开花时间主要由*FLC*的表达来决定。其中FRI-C复合物、*SPEN3*和*KHD1*能促进*FLC*的表达,间接抑制植物开花。*PEP1*和*PEP2*则分别是*FLC*和*AP2*的直系同源基因,上调的*PEP1*和*PEP2*能抑制植物开花。

2.2.1 FRI-C复合物 在低温处理前,*FLC*主要靠FRI-C复合体、COMPASS (complex of proteins associated with Set1) 复合体和PAF1 (RNA polymerase II associated factor 1) 复合物相互作用以激活*FLC*的转录。

FRI-C的组成包括*FRI*、*FRIGIDA ESSENTIAL1* (*FES1*)、*EARLY FLOWERING IN SHORT DAYS* (*EFS*)、*ISSET DOMAIN GROUP 8* (*SDG8*)、*FRIGIDA LIKE 1* (*FRL1*)、*SUPPRESSOR OF FRIGIDA 4* (*SUF4*)、*FRL2*、*FLX-LIKE 4* (*FLX4*)和*FLC EXPRESSOR* (*FLX*)。在FRI-C的成分中,*SUF4*(锌指蛋白)通过在*FLC*启动子区域与一个15 bp序列基序结合(ccaatttaagtgt-)从而促进FRI-C结合到*FLC*^[38]。含有亮氨酸拉链蛋白的*FLX*和*FLX4*具有转录激活性,说明了FRI-C对*FLC*起转录激活作用^[39]。FRI-C也与染色质重塑复合物的组成密切相关。

COMPASS与甲基转移酶Set1(催化H3K4甲基化)形成一个COMPASS复合物。这种复合物与RNA聚合酶结合,增加了*FLC*染色质区域的H3K4me3水平^[40],并且能够被RNA聚合酶II相关因子PAF1识别并启动转录。

*EFS*虽然作为FRI-C的一种组成成分,但单独的*EFS*也能激活自主途径突变体中的*FLC*^[41]。*EFS*编码了组蛋白甲基反式转移酶,这种转移酶促进组蛋白H3-Lys36 (H3K36)和H3-Lys4 (H3K4)在*FLC*染色质上的二甲基化和三甲基化^[41]。H3K4和H3K36的甲基化是启动染色质转录的标志,是激活*FLC*转录所必需的。

2.2.2 SPEN3和KHD1 另外,近期发现两个开花抑制因子*SPEN3*和*KHD1*,能促进*FLC*表达^[42]。*SPEN3*基因(AT1G27750)长4 326个核苷酸,包含8个外显子,编码 $M_r 117.47 \times 10^3$ 蛋白质。*KHD1*基因(AT1G51580)长2 491个核苷酸,包含7个外显子,编码 $M_r 67.12 \times 10^3$ 蛋白。两种RNA结合域蛋白*SPEN3*和*KHD1*是HUB1/ HUB2复合物的组成部分,HUB1介导的组蛋白H2B单泛素化(H2Bub1)能促进*FLC*转录^[43-44]。此外,*SPEN3*还参与了CIRCADIAN CLOCK ASSOCIATED 1 (*CCA1*) 前体基因的处理和*FLC*反义转录物COOLAIR的形成,*CCA1*和COOLAIR分别是生物钟和开花时间的关键调节器,因此,这些途径在*SPEN3*基因敲除突变体中受到影响。*SPEN3*在COOLAIR多聚腺苷酸化或剪接中起作用,会抑制COOLAIR远端或促进近端转录形成以控制*FLC*转录水平,且独立于H2Bub对HUB1起拮抗作用。在转录延伸过程中,HUB1与*SPEN3*的相互作用影响pre-mRNA处理加工,例如*SPEN3*与HUB1/HUB2介导的H2Bub协同作用于*CCA1*基因(生物钟调节器)的pre-mRNA处理。另外一个开花抑制因子*KHD1*与人工脂质体和内质网(ER)有关,在mRNA稳定、运输或翻译中起作用,并不影响*FLC*的转录,且*KHD1*和mRNA对ER的靶向相互依赖^[42]。

2.2.3 *PEP1*和*PEP2* *PERPETUAL FLOWERING 1* (*PEP1*)及其同系物(*PEP2-PEP7*)与拟南芥的免疫有关,*PEPR1*(*PEP1*激酶)和*PEPR2*(*PEP2*激酶)是通过损伤(DAMPS)、茉莉酸甲酯、*PEP*肽和病原体相关分子模式进行转录诱导的^[45]。

早先报道了小花南芥的*PERPETUAL FLOWERING 2* (*PEP2*)在春化途径中通过增强*PEP1*的表达来抑制开花,*PEP2*和*PEP1*分别是拟南芥*AP2*、*FLC*直系同源基因^[46]。依赖*PEP1*途径的*PEP2*抑制了春化后的主茎尖和腋枝的激活^[47]。然而,*PEP2*也独立于*PEP1*调节依赖年龄的春化反应,活性的*PEP2*阻止了小花南芥的花分生组织决定基因*FRUITFUL* (*AaFUL*), *LEAFY* (*AaLFY*) 和 *APETALA1* (*AaAP1*) 的上调,确保小花南芥在过冬前或越冬时不开花^[47]。*PEP2*在春化反应中的多重作用有助于小花南芥的生命周期。

2.3 开花促进因子

春化作用的调控机制是使*FLC*基因表观遗传沉默。*PRC2*复合物、*COOLAIR*、*COLD AIR*、*COLDWRAP*和*FT*在低温条件下通过抑制*FLC*的表达来促进植物开花。

2.3.1 *PRC2*复合物 拟南芥的春化过程需要*FLC*基因座上的逐步三甲基化,并最终导致*FLC*的表观遗传沉默,并在整个后续的有丝分裂中维持。但是在减数分裂期间,*FLC*的表观遗传沉默被重置,确保了每一代都能再次变得春化敏感^[48]。

拟南芥*FLC*的抑制是通过多梳抑制复合物2 (*PRC2*) 的富集和随后在*FLC*染色质上的H3K27me3来介导的。其中保守的*PRC2*、*PRC2-like*与锌指蛋白发挥重要作用,*PRC2*包括*CURLY LEAF* (*CLF*)、*VRN2*、*EMF2*、*SWINGER* (*SWN*)、*FIE*、*MSI1*和*VIN3*^[40]。

*PRC2*复合物能通过含有特异组分的PHD (plant homeodomain) 的*PRC2*来增强H3K27甲基转移酶的活性,进而促进*FLC*染色质的H3K27me3,而H3K27me3的*FLC*染色质虽不能直接引起染色体螺旋压缩或抑制转录,但能抑制*FLC*转录起始蛋白与*FLC*启动子的结合,从而引起*FLC*沉默。*PRC2-like*复合物的功能是维持*FLC*染色质的沉默状态^[41],并且*PRC2*自身结合了H3K27me3,能对*FLC*上新合成的蛋白三甲基化,从而使该沉默信号通过有丝分裂稳定遗传。*VRN2*、*VIN3*通过对*FLC*染色质上的组蛋白进行表观修饰来调控*FLC*的表达,在低温条件下,*VIN3*转录增加,导致了*FLC*启动子区域组蛋白去乙酰化,从而抑制了*FLC*的表达,同时*VIN3*编码的PHD (参与蛋白-蛋白之间的相互作用) 还可以通过改变*FLC*染色质的空间结构来抑制*FLC*的表达。

2.3.2 *COOLAIR* 目前关于长非编码RNA (lncRNA) 的功能是科学家们研究的热点。拟南芥种质中开花的大部分天然变异是由于非编码顺式多态性决定了*FLC*的不同单倍型。一些lncRNA可以在它们被转录的位点起作用(顺式作用),还有的lncRNA也可以作为反式作用因子来调节其转录单元外的基因,另外还有许多lncRNA功能模型介于这两种之间^[49-50]。有研究表明lncRNA与染色质修饰机制之间存在相互作用^[51-52];一方面,lncRNA可通过基因配对或三链体形成DNA或RNA^[53];另一方面,lncRNA与蛋白质相互协调将染色质修饰复合物靶向目标染色质^[40]。

*COOLAIR*是拟南芥*FLC*基因座上的反义lncRNA。*COOLAIR*的主要变体是高度结构化的,由外显子组成,具有5'帽子和3'poly A结构^[54]。根据*COOLAIR*剪接的poly A位点的不同可分为近端和远端两种类型,近端3'poly A与*FLC*低丰度

有关,远端3'poly A与*FLC*高丰度有关,且远端poly A的转录物具有复杂的多结构域结构,可由单个非编码SNP改变。

为了在春季开花,*FLC*需要通过自主途径和春化途径加以抑制。在自主途径中,*FLC*被*FRI*促进,而被*FCA*抑制,在春化途径中,*FLC*的表达因长期低温而降低,基因座表观沉默。这两条途径都涉及*COOLAIR*。

在自主通路中,*FCA*、*FY*、*CSTF64* (pre-mRNA 3'处理因子) 和 *CSTF77* (Cleavage stimulation Factor 77) 降低了*FLOWERING LOCUS D* (*FLD*) 的H3K4me3,从而促进*COOLAIR*的近端接合位点转录来抑制*FLC*^[55]。*FCA*改变*COOLAIR* (I类) 反义转录物的多聚腺苷酸位点,诱导其转录物沉默*FLC*^[55]。RNA结合蛋白*FCA*还能与*PRC2*亚单位卷曲叶 (*CLF*) 相互作用并结合至*COOLAIR*上,从而增加了*FLC*上H3K27me3的水平,抑制了*FLC*表达从而促进开花。拟南芥蛋白磷酸酶*SSU72*通过与*FCA*上的RRM1基序相互作用来阻碍*FCA*结合到*COOLAIR*上从而促进了*FLC*表达,*SSU72*突变则导致*CLF*富集和*FLC*上H3K27me3增加,并增强了*FCA*和*COOLAIR*之间的亲和力,降低了*FLC*转录水平,导致早花,表明了*FCA*和*SSU72*具有拮抗作用^[56]。

在春化途径中,反义转录物*COOLAIR*能被低温诱导,并在2周后达到最大表达水平^[25]。上调的*COOLAIR*结合到*FLC*位点并通过增加*FLC*基因上的H3K27me3来抑制*FLC*的转录。*COOLAIR*缺失则会破坏*FLC*位点内H3K27me3对H3K36me3的同步置换,而H3K27me3与H3K36me3具有拮抗作用^[57]。由于远端polyA位点*COOLAIR*拼接时间长,因此*FLC*抑制较慢^[58],表明*COOLAIR*在自然变化中具有重要作用。

2.3.3 *COLD AIR*和*COLDWRAP* *FLC*的稳定沉默与另外两个lncRNA (*COLD AIR*和*COLDWRAP*) 有关,这两个lncRNA将PHD-*PRC2*招募到特定的染色质区域^[57, 59-60]发挥作用,如图1所示。

COLD AIR (*COLD ASSISTED INTRONIC NON-CODING RNA*) 是由*FLC*正义链第1个内含子转录形成的,具有5'帽子结构但缺少3'poly A结构,春化中的*COLD AIR*参与共转录顺式调控。

在拟南芥春化期间,*COLD AIR*可以抑制*FLC*。Kim等研究发现*COLD AIR*与*FLC*染色质的相互作用只发生在*COLD AIR*转录本的中心区域^[61]。*COLD AIR*碱基与*FLC* DNA配对,并且*COLD AIR*的结构化区域与*PRC2*复合体的催化亚基卷曲叶蛋白*CLF*相互作用以形成RNA-蛋白质,这个过程有助于*PRC2*与*FLC*结合。并且与*PRC2*结合的*COLD AIR*基序内的突变导致春化不敏感,最终破坏了春化后*FLC*沉默的维持,并且突变导致的春化不敏感可以通过野生型*COLD AIR*的异位表达来恢复^[61]。

在早期春化反应,*COLDWRAP*在*FLC*的第一个内含子区起到招募*PRC2*的作用。随后,*COLDWRAP*有助于*PRC2*扩散到启动子区域,从而导致抑制性组蛋白H3K27me3的扩散。这种扩散部分是通过在*COLD AIR*转录区和*FLC*启动子之间形成基因内染色质环来实现的^[61]。*COLDWRAP*和*COLD AIR*是否能够与其他蛋白结合,从而将*PRC2*靶向*FLC*/或通过与其他染色质重塑复合物的直接关联来介导其他染色质修饰活性,仍有待解决。

2.3.4 成花素*FT*及其互作蛋白*FD* *FT*基因是成花的重要整合因子,*FT*基因在叶片中表达并通过维管束运输到顶端分生组织与*FD*蛋白 (*bZIP*转录因子) 相互作用来调控植物开

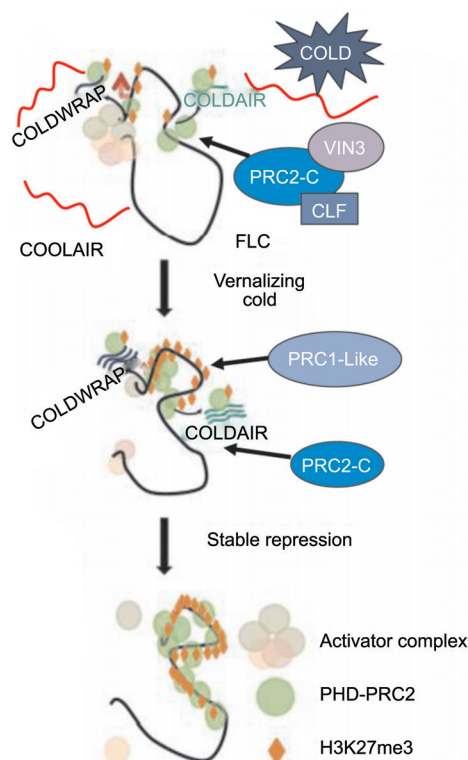


图1 *FLC*位点抑制染色质环的形成(根据文献[59]修改)。

Fig. 1 The formation of a repressive chromatin loop at the *FLC* locus (revised according to Ref [59]).

花^[62]。在光周期途径中,植物通过不同的光受体(红光/远红光受体PhyA和PhyB,蓝光受体Phot1和Phot2,隐花色素CRY1和CRY2,紫外光受体抑制子UVR8等)感受环境光信号^[63-65],并通过不同途径调控CO基因的转录和翻译水平,且CO蛋白可直接激活FT转录。在春化途径中,科学家们认为*FLC*直接结合至FT基因抑制其表达,从而防止植物在过冬前或越冬时开花^[66]。*FLC*也受FT的负反馈调节,有研究暗示:拟南芥中的FT蛋白结合到*FLC*的3'启动子区域,激活COOLAIR的表达,从而抑制*FLC*的表达^[67]。直到近期,何跃辉课题组罗晓等人发现,成花素FT与其互作蛋白FD对*FLC*负反馈调控途径中,仅在*FLC*的5'端启动子区域发挥作用,而不是*FLC*的3'端启动子区域,证明了FT对*FLC*的抑制独立于COOLAIR。

3 环境温度途径

我们对春化作用已经有了较为清楚的认识,然而,直到最近几年人们对环境温度调节开花时间的分子机制才有所了解。许多研究揭示了温度调控植物开花的复杂遗传和分子电路^[9]。环境温度的高低直接影响植物的开花时间,并且不同植物之间影响效果有所差异。早有研究发现:在波动的14.2℃下,VIN3水平比恒定的14.2℃更高,且*FLC*的下调幅度也较恒定的14.2℃大,这就表明VIN3独立途径抑制了*FLC*^[21]。VIN3的转录还受昼夜节律钟调节,有研究表明,在恒温条件下,VIN3转录水平在下午达到峰值^[21],这是通过昼夜节律调节器CCA1与VIN3启动子结合引起的VIN3的转录上调^[69]。这些结果表明,VIN3独立转录下调*FLC*的途径是以光依赖或昼夜节律来进行门控的,环境温度能通过依赖于VIN3途径或独立的温度传感途径对*FLC*表达产生影响。近几年研究发现SVP-FLM抑制剂复合物、miRNAs和H2A.Z在环境温度途径中起重要作用,

如图2所示。

3.1 SVP-FLM抑制剂复合物

环境温度调控植物开花受多条路径的影响,其中SVP或FLM及其同源基因起到关键作用^[70-71]。SVP是一种开花抑制因子,编码一个MADS盒DNA结合蛋白,作为转录子起作用,通过与FT、SCO1基因启动子元件结合来抑制植物开花,自主调控因子FCA和FVE通过对SVP的抑制来参加环境温度调控途径。FLM是*FLC*的分支成员,且FLM转录一对互斥-剪接体:FLM-β和FLM-δ^[72-73]。有证据表明,SVP和FLM基因相互作用^[74],FLM和SVP共同表达,并且表达蛋白相互作用形成SVP-FLM复合物^[73]。Balasubramanian等观察到FLM剪接模式随环境温度的变化而变化,FLM-β和FLM-δ的剪接受温度的影响是相反的,其中在低温下(16℃)主要存在FLM-β剪接变异体,而在较高温度下(27℃)主要存在FLM-δ^[73, 75],FLM-β过表达推迟了花芽的诱导,FLM-δ的高表达加速了开花^[73]。高温不仅促进了FLM-δ剪接体的形成,而且加快了26S蛋白酶体降解SVP蛋白的速度,进一步降低了阻遏物SVP-FLM-β复合物的丰度,同时减少了SVP-FLC的数量,促进了开花^[73]。在低温下,FLM-β过表达,增加了SVP-FLM-β的丰度,抑制了开花,且SVP或FLM功能的丧失会导致植物对温度不敏感^[75-76]。然而,虽然有报道称SVP主要作用于FCA和FVE下游的热感觉通路,但也受春化和光周期途径的调控^[73, 76]。

3.2 miRNAs: miR156和miR172

此外,多个microRNAs(miRNAs)也参与环境温度调控植物开花路径,miRNAs是一类由21-22个核苷酸组成的非编码RNA小分子。有研究表明,miRNAs是植物发育的中枢调节因子^[77]。miRNA由miRNA基因在细胞核内被RNA多聚酶II转录成原miRNA(primary miRNA, pri-miRNA),然后被核酸内切酶Drosha RNaseIII剪切成长度为70-80 nt的具发夹环结构的前体miRNA(miRNA precursor, pre-miRNA),随后被加工成21-22个核苷酸的短双链RNA^[78-79]。成熟的miRNA被整合到由RNA诱导的沉默复合体(RISC)中,被整合的复合体直接或间接促进转录或转录后基因沉默。

两个主要的miRNAs家族成员miR156和miR172,是植物由营养生长向生殖生长过渡的重要调控者^[80]。miR172和miR156的表达受到相反的调控:miR156在幼株中高表达,随着植物成熟而减少。相反,miR172的表达随着植物的年龄增加而增加。Tao等人发现,在16℃下,miR156过表达下调了SPL3,从而延迟了植物开花,并且高表达SVP和FLM-δ直接与miR172a启动子结合,下调了miR172的表达,从而有助于

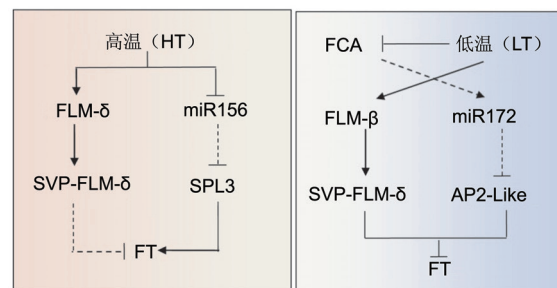


图2 环境温度对开花时间的调节。箭头和区块线分别表示促进和抑制,虚线箭头和块线表示效果较低,字体大小表示丰度。

Fig. 2 Regulation of flowering time by ambient temperature. Arrows and block lines denote activation and repression, respectively. Dotted arrows and block lines indicate a lower effect of this regulation. The font size indicates abundance.

抑制物的形成^[81]。国内学者发现,在植物成年期诱导miR156过表达并不能延迟开花时间^[82],说明成年态的开花时间建立过程是不可逆的。有研究表明,在23℃下的miR172的转录本明显增加,而在这两种温度下,pri-miR172的转录水平都较低^[83],表明环境温度主要调控pri-miR172的加工,而不是miR172基因的转录^[84]。FCA的高表达和蛋白水平在23℃与pri-miR172茎环结构的侧翼序列结合,调节miR172的加工过程,促进miR172的积累^[83]。

3.3 开花抑制因子: H2A.Z

翻译后组蛋白修饰和组蛋白变体H2A.Z的相互作用是成花转变的关键机制。有研究表明,含有组蛋白变体H2A.Z的核小体比常规核小体更紧密地结合DNA,使得转录因子无法结合到DNA上,并减缓了RNA聚合酶II的作用^[85]。研究表明,H2A.Z和APR6突变体在表型上非常相似,并且H2A.Z核小体需要APR6介导来结合到DNA上^[85-86]。PIF4是b HLH家族的转录因子,可与光敏色素phy B互作参与植物光形态建成,同时PIF4也与热形态建成有关,SD条件下的温度调控植物开花需要PIF4介导,PIF4对FT的调控是直接的,FT位点上的染色质在高温下打开,使PIF4更多地与FT结合,并直接激活FT的表达^[87]。已有研究证明PIF4和它的同系物PIF5主要在夜间发挥它们的促花功能,此外,发现PIF4和PIF5在温暖的夜晚启动FT表达,在温暖的白天启动FT独立机制促进开花^[88]。在SD条件下,高温促进含H2A.Z的核小体从DNA中释放,从而促进PIF4与FT启动子结合来促进FT的表达。由于H2A.Z被整合到整个基因组的核小体中,因此它的结合模式不仅影响植物成花诱导,而且还影响到其他性状,包括免疫、磷酸盐饥饿等^[54]。

YAF9是NUA4乙酰转移酶和SWR1(参与了H2A.Z的沉积)染色质重塑复合物的组成部分^[89]。YAF9蛋白是新的组蛋白阅读器,能结合改性和乙酰化组蛋白H3,YAF9可通过FLC依赖和独立机制调控花期。YAF9蛋白调控H2A.Z和H4的乙酰化,但不影响H2A.Z在FLC位点的累积^[90]。

4 总结与展望

植物开花受内源、外源等因素调节,有着多条开花调

控途径。各途径之间相互重叠交错,形成了复杂的开花网络。现有的研究进展揭示了温度如何调控植物开花时间,从这些研究中可以明显看出,SVP、FLM-β、FLC、FRI-C复合物、SPEN3、KHD1、PEP1和PEP2直接或间接抑制了开花。此外,成熟的miR156的水平也会升高来抑制开花。这些负性调节因子的活性被一组促花因子抵消,这些促花因子包括PIF4(在SD条件下)、FCA、PRC2复合物、COOLAIR、COLDAIR、miR172和FT。最终,阻遏剂和活化剂之间的平衡决定了开花时间,并根据环境温度的变化调整开花时间。

尽管取得了许多进展,但有关环境温度对开花时间的调节的重要问题仍未解决。首先,植物如何感知环境温度还没有完全得到解释。其次需要解决的重要问题是植物如何在自然条件下对温度作出反应,迄今为止,大多数研究都是在人工温度条件下进行的。由于人工温度条件不包括每日温度波动,这种温度波动对开花时间的影响还有待考证。另外,目前对植物成花诱导主要集中在拟南芥、水稻等少数模式植物,对木本植物等多年生植物的成花分子机理较为模糊,还有许多非生物因素(干旱、盐碱、营养缺失等逆境)调控开花也没有得到全面解释,各种促进或抑制开花的信号感应机制也需进一步研究。

未来的研究也将着重解决上述分子机制,可以从温度依赖的选择性剪接、蛋白质降解或核小体周围的DNA包裹,对自然条件下环境温度的长期和短期变化作出反应以及晚抽薹基因等方面来进行研究。另外,本课题研究发现,十字花科植物即使通过春化,在同一条件下品种间的花芽分化时间也有显著差异。可能存在某些调控时间的基因,在春化结束后,延迟了植物的花芽分化。接下来本课题组也将着重研究这一方向。

目前全球气候的变化(尤其是温度)对植物的物候有着显著的影响,包括开花时间和物种损失^[91]。因此,深入了解植物对环境温度变化响应的分子机制十分重要,在不断深入的研究中,我们将对植物开花调控的分子机理有更加全面的认识,以期对分子生物学在花期调控、遗传改良、农业生产上应用奠定理论基础,并有望减少全球变暖对作物生产力的影响。

参考文献 [References]

- Koornneef M, Alonsoblanco C, Vreugdenhil D. Naturally occurring genetic variation in *arabidopsis thaliana* [J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2004, **55** (1): 141
- Roux F, Touzet P, Cuguen J, Le Corre V. How to be early flowering: an evolutionary perspective [J]. *Trends Plant Sci*, 2006, **11** (8): 375-381
- Hedhly A. Sensitivity of flowering plant gametophytes to temperature fluctuations [J]. *Environ Exp Bot*, 2011, **74** (12): 9-16
- Anusha S, Markus S. Regulation of flowering time: all roads lead to Rome [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2011, **68** (12): 2013-2037
- Leonie V, Angenent GC, Immink RGH. Research on floral timing by ambient temperature comes into blossom [J]. *Trends Plant Sci*, 2014, **19** (9): 583-591
- Airolidi CA, Mckay M, Davies B. MAF2 is regulated by temperature-dependent splicing and represses flowering at low temperatures in parallel with FLM [J]. *PLoS ONE*, 2015, **10** (5): 1-15
- Dong X, Huang W, Ram Kumar B, Lin K, Hou X, Bonnema G. Genetic dissection of leaf development in *Brassica rapa* using a genetical genomics approach [J]. *Plant Physiol*, 2014, **164** (3): 1309-1325
- Kim DH, Doyle MR, Sung SB, Amasino RM. Vernalization: winter and the timing of flowering in plants [J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2009, **25** (1): 277
- Wigge PA. Ambient temperature signalling in plants [J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2013, **16** (5): 661-666
- Zhang JY, Li XM, Lin HX, Chong K. Crop improvement through temperature resilience [J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2019, **70**: 753-780
- Xiao J, Xu S, Li C, Xu Y, Xing L, Niu Y. O-GlcNAc-mediated

- interaction between *VER2* and *TaGRP2* elicits *TaVRN1* mRNA accumulation during vernalization in winter wheat [J]. *Nat Commun*, 2014, **5** (2): 4572
- 12 Sunchung P, Chin-Mei L, Doherty CJ, Gilmour SJ, Kim YS. Regulation of the Arabidopsis *CBF* regulon by a complex low-temperature regulatory network [J]. *Plant J*, 2015, **82** (2): 193-207
 - 13 Vogel JT, Zarka DG, Buskirk HAV, Fowler SG. Roles of *CBF2* and *ZAT12* transcription factors in configuring the low temperature transcriptome of Arabidopsis [J]. *Plant J*, 2005, **41** (2): 17
 - 14 Ma Y, Dai XY, Xu YY, Luo W, Zheng XM, Zeng DL, Pan YJ, Lin XL, Liu HH, Zhang DJ, Xiao J, Guo XY, Xu SJ, Niu YD, Jin JB, Zhang H, Xu X, Li LG, Wang W, Qian Q, Ge S, Chong K. *COLD1* confers chilling tolerance in rice [J]. *Cell*, 2015, **160**: 1209-21
 - 15 Doherty CJ, Buskirk HA, Myers SJ, Thomashow MF. Roles for Arabidopsis CAMTA transcription factors in cold-regulated gene expression and freezing tolerance [J]. *Plant Cell*, 2009, **21** (3): 972-984
 - 16 Bond DM, Dennis ES, Pogson BJ, Finnegan, EJ. Histone Acetylation, *VERNALIZATION INSENSITIVE 3*, *FLOWERING LOCUS C*, and the vernalization response [J]. *Mol Plant*, 2009, **2** (4): 724-737
 - 17 Lucia FD, Crevillen P, Jones AME, Greb T, Dean C. A PHD-polycomb repressive complex 2 triggers the epigenetic silencing of *FLC* during vernalization [J]. *PNAS*, 2008, **105** (44): 16831-16836
 - 18 Finnegan E, Jean, Bond DM, Buzas DM, Goodrich J, Helliwell CA, Tamada Y. Polycomb proteins regulate the quantitative induction of *VERNALIZATION INSENSITIVE 3* in response to low temperatures [J]. *Plant J*, 2011, **65** (3): 382-391
 - 19 Duncan S, Holm S, Questa J, Irwin J, Grant A, Dean C. Seasonal shift in timing of vernalization as an adaptation to extreme winter [J]. *Elife*, 2015, **4**: e06620
 - 20 Wollenberg AC, Amasino RM. Natural variation in the temperature range permissive for vernalization in accessions of Arabidopsis thaliana [J]. *Plant Cell Environ*, 2012, **35** (12): 2181-2191
 - 21 Hepworth J, Antoniou-Kourounioti RL, Bloomer RH, Selga C, Berggren K, Cox D, Collier Harris BR, Irwin JA, Holm S, Säll T, Howard M, Dean C. Absence of warmth permits epigenetic memory of winter in Arabidopsis [J]. *Nat Commun*, 2018, **9** (1): 639
 - 22 Gendall AR, Levy YY, Wilson A, Dean C. The *VERNALIZATION 2* gene mediates the epigenetic regulation of vernalization in Arabidopsis [J]. *Cell*, 2001, **107** (4): 525-35
 - 23 Helliwell CA, Robertson M, Finnegan EJ, Buzas DM, Dennis ES, Blazquez MA. Vernalization-repression of Arabidopsis *FLC* requires promoter sequences but not antisense transcripts [J]. *PLoS ONE*, 2011, **6** (6): 240-247
 - 24 Kim DH, Sung S. The binding specificity of the PHD-Finger domain of *VIN3* moderates vernalization response [J]. *Plant Physiol*, 2017, **173** (2): 1258
 - 25 Swiezewski S, Liu F, Magusin A, Dean C. Cold-induced silencing by long antisense transcripts of an arabidopsis polycomb target [J]. *Nature*, 2009, **462** (7274): 799-802
 - 26 Antoniou-Kourounioti RL, Hepworth J, Heckmann A, Duncan S, Qüesta J, Rosa S, Säll T, Holm S, Dean C, Howard M. Temperature sensing is distributed throughout the regulatory network that controls *FLC* epigenetic silencing in vernalization [J]. *Cell Syst*, 2018, **7** (6): 643-655
 - 27 李巍, 徐启江. 被子植物开花时间和花器官发育的表观遗传调控研究进展[J]. 园艺学报, 2014, **41** (6): 1245-1256 [Li W, Xu JQ. Epigenetic research progress on flowering time and flower organ development in angiosperms [J]. *Acta Horti Sin*, 2014, **41** (6): 1245-1256]
 - 28 Lin SI, Wang JG, Poon SY, Su CL, Wang SS, Chiou TJ. Differential regulation of *FLOWERING LOCUS C* expression by vernalization in cabbage and Arabidopsis [J]. *Plant Physiol*, 2005, **137** (3): 1037-1048
 - 29 Searle I, He Y, Turck F, Vincent C, Fornara F, Kröber S, Amasino RA, Coupland G. The transcription factor *FLC* confers a flowering response to vernalization by repressing meristem competence and systemic signaling in Arabidopsis [J]. *Genes Dev*, 2006, **20** (7): 898-912
 - 30 Immink RG, Posé D, Ferrario S, Ott F, Kaufmann K, Valentim FL, de Folter S, van der Wal F, van Dijk AD, Schmid M, Angenent GC. Characterization of *SOC1*'s central role in flowering by the identification of its upstream and downstream regulators [J]. *Plant Physiol*, 2013, **162** (4): 2151-2151
 - 31 Sheldon CC, Rouse DT, Finnegan EJ, Peacock WJ, Dennis ES. The molecular basis of vernalization: the central role of *FLOWERING LOCUS C (FLC)* [J]. *PNAS*, 2000, **97** (7): 3753-3758
 - 32 Trevaskis B, Hemming MN, Dennis ES, Peacock WJ. The molecular basis of vernalization-induced flowering in cereals [J]. *Trends Plant Sci*, 2007, **12** (8): 352-357
 - 33 Richard A. Seasonal and developmental timing of flowering [J]. *Plant J*, 2010, **61** (6): 1001-1013
 - 34 Song J, Angel A, Howard M, Dean C. Vernalization - a cold-induced epigenetic switch [J]. *J Cell Sci*, 2012, **125** (16): 3723-31
 - 35 Finnegan EJ, Dennis ES. Vernalization-induced trimethylation of histone H3 lysine 27 at *FLC* is not maintained in mitotically quiescent cells [J]. *Curr Biol*, 2007, **17** (22): 1978-1983
 - 36 Satake A, Iwasa Y. A stochastic model of chromatin modification: cell population coding of winter memory in plants [J]. *J Theor Biol*, 2012, **302** (17): 6-17
 - 37 Tao Z, Hu H, Luo X, Jia B, Du J, He Y. Embryonic resetting of the parental vernalized state by two B3 domain transcription factors in Arabidopsis [J]. *Nat Plants*, 2019, **5** (4): 424-435
 - 38 Choi K, Kim S, Kim SY, Kim M, Hyun Y, Lee H, Choe S, Kim SG, Michaels S, Lee I. SUPPRESSOR OF *FRIGIDA3* encodes a nuclear *ACTIN-RELATED PROTEIN6* required for floral repression in Arabidopsis [J]. *Plant Cell*, 2005, **17** (10): 2647-2660
 - 39 Ding L, Kim SY, Michaels SD. *FLOWERING LOCUS C EXPRESSOR* family proteins regulate *FLOWERING LOCUS C* expression in both winter-annual and rapid-cycling Arabidopsis [J]. *Plant Physiol*, 2013, **163** (1): 243-252
 - 40 Jeon Y, Lee JH. YY1 tethers xist RNA to the inactive X nucleation center [J]. *Cell*, 2011, **146** (1): 119-133
 - 41 Kim DH, Doyle MR, Sung S, Amasino RM. Vernalization: winter

- and the timing of flowering in plants [J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2009, **25** (1): 277
- 42 Woloszynska M, Le Gall S, Neyt P, Boccardi TM, Grasser M, Längst G, Aesaert S, Coussens G, Dhondt S, Van De Slijke E, Bruno L, Fung-Uceda J, Mas P, Van Montagu M, Inzé D, Himanen K, De Jaeger G, Grasser KD, Van Lijsebettens M. Histone 2B monoubiquitination complex integrates transcript elongation with RNA processing at circadian clock and flowering regulators [J]. *PNAS*, 2019, **116** (16): 8060-8069
 - 43 Cao Y, Dai Y, Cui S, Ma L. Histone H2B monoubiquitination in the chromatin of *FLOWERING LOCUS C* regulates flowering time in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell*, 2008, **20** (10): 2586-2602
 - 44 Crevillén P, Dean C. Regulation of the floral repressor gene : the complexity of transcription in a chromatin context [J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2011, **14** (1): 38-44
 - 45 Albani MC, Castaings L, Wötzel S, Mateos JL, Wunder J, Wang R, Reymond M, Coupland G. *PEP1* of *Arabis alpina* is encoded by two overlapping genes that contribute to natural genetic variation in perennial flowering [J]. *PLoS Genet*, 2012, **8** (12): e1003130
 - 46 Wang R, Farrona S, Vincent C, Joecker A, Schoof H, Turck F, Alonso-Blanco C, Coupland G, Albani MC. *PEP1* regulates perennial flowering in *Arabis alpina* [J]. *Nature*, 2009, **459** (7245): 423
 - 47 Lazaro A, Zhou Y, Giesguth M, Nawaz K, Bergonzi S, Pecinka A, Coupland G, Albani MC. *PERPETUAL FLOWERING2* coordinates the vernalization response and perennial flowering in *Arabis alpina* [J]. *J Exp Bot*, 2019, **70** (3): 949-961
 - 48 Sheldon CC, Hills MJ, Lister C, Dean C, Dennis ES, Peacock WJ. Resetting of *FLOWERING LOCUS C* expression after epigenetic repression by vernalization [J]. *PNAS*, 2008, **105** (6): 2214-2219
 - 49 Dimitrova N, Zamudio JR, Jong RM, Resnick R, Sarma K, Ward AJ, Raj A, Lee JT, Sharp PA, Jacks T. LincRNA-p21 Activates p21 In cis to promote Polycomb target gene expression and to enforce the G1/S checkpoint [J]. *Mol Cell*, 2014, **54** (5): 777-790
 - 50 Huarte M, Guttman M, Feldser D, Garber M, Koziol MJ, Kenzelmann-Broz D, Khalil AM, Zuk O, Amit I, Rabani M, Attardi LD, Regev A, Lander ES, Jacks T, Rinn JL. A large intergenic noncoding RNA induced by p53 mediates global gene repression in the p53 response [J]. *Cell*, 2010, **142** (3): 409-419
 - 51 Mitchell G, Rinn JL. Modular regulatory principles of large non-coding RNAs [J]. *Nature*, 2012, **482** (7385): 339-46
 - 52 Bonasio R, Shiekhattar R. Regulation of transcription by long noncoding RNAs [J]. *Annu Rev Genet*, 2014, **48** (48): 433-455.
 - 53 Postepska-Igielska A, Giwojna A, Gasri-Plotnitsky L, Schmitt N, Dold A, Ginsberg D, Grummt I. LncRNA Khps1 regulates expression of the proto-oncogene *SPHK1* via triplex-mediated changes in chromatin structure [J]. *Mol Cell*, 2015, **60** (4): 626-636
 - 54 Smith AP, Jain A, Deal RB, Nagarajan VK, Poling MD, Raghothama KG, Meagher RB. Histone H2A.Z regulates the expression of several classes of phosphate starvation response genes but not as a transcriptional activator [J]. *Plant Physiol*, 2010, **152** (5): 217-25
 - 55 Liu F, Marquardt S, Lister C, Swiezewski S, Dean C. Targeted 3' processing of antisense transcripts triggers *Arabidopsis FLC* chromatin silencing [J]. *Science*, 2010, **327** (5961): 94-97
 - 56 Tian Y, Zheng H, Zhang F, Wang S, Ji X, Xu C, He Y, Ding Y. PRC2 recruitment and H3K27me3 deposition at require *FCA* binding of COOLAIR [J]. *Sci Adv*, 2019, **5** (4): eaau7246
 - 57 Yang H, Howard M, Dean C. Antagonistic roles for H3K36me3 and H3K27me3 in the cold-induced epigenetic switch at *Arabidopsis FLC* [J]. *Curr Biol*, 2014, **24** (15): 1793-1797
 - 58 Li P, Tao Z, Dean C. Phenotypic evolution through variation in splicing of the noncoding RNA COOLAIR [J]. *Genes Dev*, 2015, **29** (7): 696-701
 - 59 Kim DH, Sung S. Vernalization-triggered intragenic chromatin loop formation by long noncoding RNAs [J]. *Dev Cell*, 2017, **40** (3): 302-312
 - 60 Heo JB, Sung S. Vernalization-mediated epigenetic silencing by a long intronic noncoding RNA [J]. *Science*, 2011, **331** (6013): 76-79
 - 61 Kim DH, Xi Y, Sung S. Modular function of long noncoding RNA, COLDAIR, in the vernalization response [J]. *PLoS Genet*, 2017, **13** (7): e1006939
 - 62 李莉, 李旭, 刘亚文, 刘宏涛. 光和温度调控开花时间的研究进展[J]. 中国科学: 生命科学, 2016, **46** (3): 253 [Li L, Li X, Liu YW, Liu HT. Flowering responses to light and temperature [J]. *Sci China Life Sci*, **46** (3): 253]
 - 63 Quail PH. Photosensory perception and signalling in plant cells: new paradigms? [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2002, **14** (2): 180-188
 - 64 Briggs WR, Christie JM. Phototropins 1 and 2: versatile plant blue-light receptors [J]. *Trends Plant Sci*, 2002, **7** (5): 204-210.
 - 65 Lin C. Blue light receptors and signal transduction [J]. *Plant Cell*, 2002, **14**: S207-25
 - 66 吕有军, 王彩霞, 杨卫军, 张永山. 高等植物成花素 FT 基因: 基因与机制的研究进展[J]. 分子植物育种, 2015, **13** (6): 1415-1423 [Lu YJ, Wang CX, Yang WJ, Zhang YS. *FT* homologous gene in higher plants: progress on genes and mechanisms [J]. *Mol Plant Breed*, 2015, **13** (6): 1415-1423]
 - 67 Chen M, Penfield S. Feedback regulation of COOLAIR expression controls seed dormancy and flowering time [J]. *Science*, 2018, **360** (6392): 1014-1017
 - 68 Luo X, Chen T, Zeng X, He D, He Y. Feedback regulation of *FLC* by *FLOWERING LOCUS T (FT)* and *FD* through a 5' *FLC* promoter region in *Arabidopsis* [J]. *Mol Plant*, 2019, **12** (3): 285-288
 - 69 Werner JD, Borevitz JO, Warthmann N, Trainer GT, Ecker JR, Chory J, Weigel D. Quantitative trait locus mapping and DNA array hybridization identify an *FLM* deletion as a cause for natural flowering-time variation [J]. *PNAS*, 2005, **102** (7): 2460-5
 - 70 Méndez-Vigo B, Martínez-Zapater JM, Alonso-Blanco C. The flowering repressor *SVP* underlies a novel *Arabidopsis thaliana* QTL interacting with the genetic background [J]. *PLoS Genet*, 2013, **9** (1): e1003289
 - 71 Scortecci K, Michaels SD, Amasino RM. Genetic interactions between *FLM* and other flowering-time genes in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Mol Biol*, 2003, **52** (5): 915-922
 - 72 Lee JH, Ryu HS, Chung KS, Posé D, Kim S, Schmid M, Ahn JH. Regulation of temperature-responsive flowering by MADS-box

- transcription factor repressors [J]. *Science*, 2013, **342** (6158): 628-632
- 73 Sureshkumar B, Detlef W. Temperature induced flowering in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Signal Behav*, 2006, **1** (5): 227-228
- 74 Scortecci KC, Michaels SD, Amasino RM. Identification of a MADS-box gene, *FLOWERING LOCUS M*, that represses flowering [J]. *Plant J*, 2010, **26** (2): 229-236
- 75 Lee JH, Yoo SJ, Park SH, Hwang I, Lee JS, Ahn JH. Role of *SVP* in the control of flowering time by ambient temperature in *Arabidopsis* [J]. *Genes Dev*, 2007, **21** (4): 397-402
- 76 Ayako Y, Mitsutomo A. Regulation of reproductive development by non-coding RNA in *Arabidopsis*: to flower or not to flower [J]. *J Plant Res*, 2012, **125** (6): 693-704
- 77 Lee Y, Ahn C, Han J, Choi H, Kim J, Yim J, Lee J, Provost P, Rådmark O, Kim S, Kim VN. The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing [J]. *Nature*, 2012, **425** (6956): 415-419
- 78 周琴, 张思思, 包满珠, 刘国锋. 高等植物成花诱导的分子机理研究进展[J]. 分子植物育种, 2018, **16** (11): 3681-3692 [Zhou Q, Zhang SS, Bao MZ, Liu GF. Advances on molecular mechanism of floral initiation in higher plants [J]. *Mol Plant Breed*, 2018, **16** (11): 3681-3692]
- 79 Eleonora S, Stephen J. The role of microRNAs in the control of flowering time [J]. *J Exp Bot*, 2014, **65** (2): 365-380
- 80 Tao Z, Shen L, Liu C, Liu L, Yan Y, Yu H. Genome-wide identification of *SOC1* and *SVP* targets during the floral transition in *Arabidopsis* [J]. *Plant J*, 2012, **70** (4): 549-561
- 81 Ye BB, Zhang K, Wang JW. The role of miR156 in rejuvenation in *Arabidopsis thaliana* [J]. *J Integr Plant Biol*, 2019, **62** (5): 550-555
- 82 Jung JH, Seo PJ, Ahn JH, Park CM. *Arabidopsis* RNA-binding protein *FCA* regulates microRNA172 processing in thermosensory flowering [J]. *J Biol Chem*, 2012, **287** (19): 16007-16016
- 83 Knight H, Trewavas AJ, Knight MR. Cold calcium signaling in *Arabidopsis* involves two cellular pools and a change in calcium signature after acclimation [J]. *Plant Cell*, 1996, **8** (3): 489-503
- 84 Kumar SV, Wigge PA. H2A.Z-containing nucleosomes mediate the thermosensory response in *Arabidopsis* [J]. *Cell*, 2010, **140** (1): 136-147
- 85 Devin CD, Daniel Z. Deposition of histone variant H2A.Z within gene bodies regulates responsive genes [J]. *PLoS Genet*, 2012, **8** (10): e1002988
- 86 Kumar SV, Lucyshyn D, Jaeger KE, Alós E, Alvey E, Harberd NP, Wigge PA. Transcription factor PIF4 controls the thermosensory activation of flowering [J]. *Nature*, 2012, **484** (7393): 242
- 87 Thines BC, Youn Y, Duarte MI, Harmon FG. The time of day effects of warm temperature on flowering time involve PIF4 and PIF5 [J]. *J Exp Bot*, 2014, **65** (4): 1141-1151
- 88 Klein BJ, Ahmad S, Vann KR, Andrews FH, Mayo ZA, Bourriquen G, Bridgers JB, Zhang J, Strahl BD, Côté J, Kutateladze TG. Yaf9 subunit of the NuA4 and SWR1 complexes targets histone H3K27ac through its YEATS domain [J]. *Nucleic Acids Res*, 2018, **46** (1): 421-430
- 89 Crevillén P, Gómez-Zambrano Á, López JA, Vázquez J, Piñeiro M, Jarillo JA. *Arabidopsis* YAF9 histone readers modulate flowering time through NuA4-complex-dependent H4 and H2A.Z histone acetylation at *FLC* chromatin [J]. *New Phytol*, 2019, **222** (4): 1893-1908
- 90 Fitter AH, Fitter RS. Rapid changes in flowering time in British plants [J]. *Science*, 2002, **296** (5573): 1689-1691