



植物基因组与表观遗传学研究进展

肖军^{1,*}, 鲁非¹, 邓娴², 宋显伟², 贺飞¹, 蒋才富³, 刘倩¹, 赵玉胜¹, 姜丹华², 傅向东^{1,*}

¹中国科学院遗传与发育生物学研究所植物细胞与染色体工程国家重点实验室, 北京100101

²中国科学院遗传与发育生物学研究所植物基因组学国家重点实验室, 北京100101

³中国农业大学生物学院植物抗逆高效全国重点实验室, 北京100193

*共同通信作者: 肖军(jxiao@genetics.ac.cn)、傅向东(xdfu@genetics.ac.cn)

摘要: DNA序列信息是基因功能研究的基础, 近10年来随着测序技术的升级迭代, 植物基因组学高速发展。不同倍性植物高质量参考基因组的解析, 重要作物泛基因组的构建, 以及大规模、群体水平的深度重测序等极大推动了作物起源、驯化、农艺性状形成的解析以及育种改良的进程。表观遗传修饰参与植物生长发育的全过程, 调控了植物对环境信号如光、温度、养分、盐碱等的应答和适应性, 介导了同代和代际之间的“胁迫记忆”。除了DNA甲基化、小分子RNA调控、组蛋白修饰, 近几年RNA结构与修饰以及染色体的三维结构也得到越来越多的关注, 逐渐成为表观遗传研究的热点。本文主要概述了近10年来植物基因组和表观遗传学研究的前沿进展, 比较国内外研究的侧重点, 并探讨后续的发展趋势, 提出未来5~10年的研究目标和项目建议。

关键词: 参考基因组; 泛基因组; 起源与驯化; DNA甲基化; 组蛋白修饰; 染色体三维结构; RNA修饰; 小分子RNA

Research progress of plant genomics and epigenetics

XIAO Jun^{1,*}, LU Fei¹, DENG Xian², SONG Xianwei², HE Fei¹, JIANG Caifu³, LIU Qian¹, ZHAO Yusheng¹, JIANG Danhua², FU Xiangdong^{1,*}

¹State Key Laboratory of Plant Cell and Chromosome Engineering, Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

²State Key Laboratory of Plant Genomics, Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

³State Key Laboratory of Plant Environmental Resilience, College of Biological Sciences, China Agricultural University, Beijing 100193, China

*Co-corresponding authors: Xiao J (jxiao@genetics.ac.cn), Fu XD (xdfu@genetics.ac.cn)

Abstract: DNA sequence information is the basis of functional study. In the past decade, with the upgrade and iteration of sequencing technology, plant genomics has developed rapidly. The release of high-quality reference genomes of different ploidy plants, the construction of pan-genomes for important crops, and the large-scale, population-wide deep resequencing have greatly expanded the understanding of crop origin, domestication, agronomic trait formation and promoted the breeding process. Epigenetic modification participates in the whole process of plant growth and development, regulates the response and adaptability.

收稿 2023-02-15 修定 2023-03-29

资助 国家自然科学基金(31921005和31970529)。

ty of plants to environmental signals such as light, temperature, nutrients and salinity, and mediates “stress memory” within and between generations. In addition to DNA methylation, small RNA regulation, and histone modification, RNA structure and modification, and the three-dimensional structure of chromatin have also received more and more attention in recent years, and have gradually become a hot-spot in epigenetics research. Here, we mainly summarize the frontier progresses of plant genomics and epigenetic research in the past ten years, compares research hotspots in China and world-wide, discusses the subsequent research trends, and proposes research goals and project proposals for the next 5–10 years.

Key words: reference genome; pan-genome; origin and domestication; DNA methylation; histone modification; chromatin 3D structure; RNA modification; small RNA

伴随着测序技术的升级迭代,基因组学、表观组学得到了高速发展。复杂的不同倍性作物如小麦(*Triticum aestivum*)、燕麦(*Avena sativa*)、黑麦(*Secale cereale*)的参考基因组得到解析,极大推动了麦类作物功能基因组的研究;主要作物如水稻(*Oryza sativa*)、小麦、玉米(*Zea mays*)、大豆(*Glycine max*)、棉花(*Gossypium* spp.)、番茄(*Lycopersicon esculentum*)、马铃薯(*Solanum tuberosum*)等泛基因组数据的构建,为解析作物驯化和环境适应性提供了基础;而群体水平大范围的重测序加速了作物的起源、驯化、农艺性状形成的遗传基础解析,也促进了作物育种改良的进程;同时以“属”甚至“族”为单位的基因组测序为作物优异种质资源的开发提供了便利,推动了远缘杂交、从头驯化、合成生物学等领域的快速发展。近5~10年,表观遗传参与调控植物生长发育以及响应环境胁迫和适应性建立等方面取得了丰硕的研究进展,包括从DNA和组蛋白共价修饰“Writer”和“Eraser”的研究到多种“Reader”对表观修饰密码图谱的解码过程;从单基因到基因组尺度的表观修饰动态变化与植物发育过程以及环境响应的特异性关联;从广谱的表观修饰变化到特定因子介导的基因组时-空特异性表观修饰的建立与擦除;从基因组局部的染色质动态变化到空间三维的染色质结构建立、维持与重塑等。一系列调控重要农艺性状的功能小分子RNA和非编码RNA被鉴定,为后续应用打下扎实基础。目前我国在作物如水稻表观遗传研究领域已经处于国际领先水平,不仅科研论文的数量和质量位居前列,同时在表观修饰应用于农业生产上也处于领先地位,并形成了稳定的研究队伍。

在一些新兴的表观遗传领域,如RNA修饰、RNA结构和染色质高级结构等,我国植物科研工作者也及时跟上,在模式植物拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)的研究中与国外科学家的差距微弱,而在作物RNA表观遗传研究方向已经跻身国际第一梯队,某些方向已处于国际领先水平。

1 本学科最新研究进展

1.1 基因组学发展推动作物起源驯化、种质创新、育种改良研究

1.1.1 基因组测序技术发展

1977年英国生物化学家弗雷德里克·桑格利用双脱氧链终止法实现了基因组测序,该测序方法被称为第一代测序技术。但是其通量低、成本高,应用受到限制,无法满足物种基因组测序的迫切需求。2007年,第二代测序(next-generation sequencing, NGS)技术公司Illumina开始推出GAIIx机型,极大降低了测序成本。NGS技术的核心是边合成边测序,即通过捕捉新合成碱基的末端标记来确定DNA序列,可以对DNA或RNA样本进行高通量测序(Shendure和Ji 2008)。NGS技术凭借其高通量、低成本以及高准确性等显著优势,成为全球主流的基因测序技术。目前,二代短读长测序技术在测序方面仍然占有绝对优势,但新兴的第三代测序技术近年来也发展迅速。第三代测序技术是指单分子实时测序技术,也叫从头测序技术。与前两代测序技术相比,其最大的特点就是单分子测序,测序读长长、速度快、通量高。第三代测序目前主要有两大技术,包括以美国太平洋生物公司(PacBio)为代表的单分子实时荧光测序以及以英国牛

津纳米孔公司(ONT)为代表的纳米孔测序。其中, PacBio推出的长读长测序数据模式——HiFi测序, 兼顾了长读长(10~20 kb)和高准确度($Q>30$) (Wenger等2019)。ONT利用纳米孔, 能实现最高达到Mb级别长度读长的测序(Jain等2018)。三代测序已广泛应用于作物高质量基因组图谱的构建(Huang等2020; Zhang等2020a)。近年来, Hi-C (high-throughput/resolution chromosome conformation capture)技术的发展将解析染色体三维结构研究推向高潮, Hi-C技术源于染色体构象捕获技术, 研究全基因组范围内染色质在空间位置上的关系, 获得高分辨率的染色质三维结构信息。Hi-C技术不仅可以研究染色体片段之间的相互作用, 还可以应用于基因组组装、辅助宏基因组组装等(Burton等2013; Lieberman-Aiden等2009)。基因组单分子光学图谱是来源于单个DNA分子有序的全基因组限制性内切酶酶切位点图谱, Bionano公司推出的Irys/Saphyr系统可以将原组装片段锚定到光学图谱上, 从而构建出超长组装片段(Lam等2012)。针对二、三代测序技术对重复区域的组装局限性, 光学图谱技术能提供宏观的框架支持, 辅助染色体组装和大片段结构变异的鉴定(Jarvis等2017)。在作物基因组研究中, 面临着基因组庞大、重复序列含量高、倍性结构复杂等困难, 三代测序技术通过结合Hi-C技术、Bionano光学图谱技术等可以更好地解决植物基因组组装的问题。

1.1.2 参考基因组绘制

构建高质量参考基因组是开展多组学研究的基础。得益于长读长测序技术的兴盛, 基因组组装的成本与难度大幅下降。近10年内, 千余篇文献报道了植物参考基因组的组装工作。PacBio的HiFi序列和ONT的Nanopore序列是目前用于基因组组装的主流测序数据, 同时辅以Hi-C序列、Bionano光学图谱序列、10×Genomics连接序列数据构建染色体水平的参考基因组。大量的组装算法和工具也据此开发, 包括Hifiasm (Cheng等2021a)、Canu (Koren等2017)、FALCON (Chin等2016)、Wtdbg2 (Ruan和Li 2020)、Flye (Kolmogorov等2019)等, 这些算法和工具对于基因组的组装准确性有很大提升, 许多具有复杂基因组的重要作物参考基因组组

装也因此有了新的突破。燕麦是世界重要的食用性高营养麦类作物, 且我国是六倍体栽培裸燕麦的起源和主要种植中心。我国学者于2022年结合不同测序技术手段绘制出10.7 Gb的六倍体燕麦基因组, 包括21对染色体的分子图谱(Peng等2022), 获得了裸燕麦的高质量参考基因组, 代表了谷物基因组学的重大进展。黑麦是小麦、大麦和燕麦的近缘物种, 属于异交作物, 基因组具有极高的杂合性, 这是其组装难以逾越的障碍。2021年我国学者综合利用多种测序技术以及组装算法, 完成了中国栽培种‘威宁黑麦’的基因组组装和解析(Li等2021b), 组装大小为7.84 Gb。该参考基因组填补了作物基因组一个重要的缺失环节, 为黑麦驯化、麦类基因组演化和比较基因组研究提供了重要资源, 将促进黑麦、小麦等相关麦类作物的遗传育种改良。

由于植物基因组演化历史上加倍事件较多、基因组中的转座子等重复序列占比大, 目前绝大多数的基因组仍然存在着难以填补的缺口, 也就是基因组中的组装“黑洞”。这些“黑洞”主要存在于着丝粒、端粒、核糖体DNA等大片段高度串联重复的区域。目前, 通过增加数据维度和改进组装算法等手段可以组装出从端粒到端粒无缺口的T2T (telomere-to-telomere)基因组, 如拟南芥(Hou等2022; Naish等2021; Wang等2022a)、水稻(Li等2021c; Song等2021a; Zhang等2022c)、西瓜(*Citrus lanatus*) (Deng等2022)、大麦(Navratilova等2022)、香蕉(*Musa nana*) (Belser等2021)以及部分染色体达到T2T水平的玉米(Liu等2020b)。T2T基因组进一步提高了遗传变异的研究精确性, 同时对于泛基因组的构建而言, T2T可以作为泛基因组稳定的骨架, 提供统一的坐标, 用于交叉比较。

1.1.3 泛基因组与基因挖掘

高质量、无缺口的参考基因组为功能基因组学和分子设计育种奠定了坚实的基础(Li等2021c; Song等2021a)。然而, 单一代表性基因组并不能完全代表该物种的全部遗传信息, 限制了优良基因的育种应用(Huang等2022; Shi等2023)。泛基因组致力于表征物种中所有非冗余DNA信息的总和, 可以突破单个参考基因组的局限性, 能够更加清晰准确的理解复杂性状的调控网络(Liu等2020c; Qin

等2021)。泛基因组的构建主要分为两种类型: 线性参考基因组(Hubner等2019; Wang等2018c)和图形泛基因组(Hufford等2021; Jayakodi等2020; Shang等2022; Tang等2022a; Walkowiak等2020; Zhou等2022)。线性基因组能够代表物种DNA的总和, 却无法表征个体的存在-缺失变异信息; 而图形基因组以节点代表变异等位信息、以边代表不同等位间的联系, 能够有效地将参考基因组和个体的遗传变异结合起来, 对于高度复杂、多态性高的基因组区域有着较高的解析度(Ebler等2022; Wang等2023b)。

目前, 国内外学者先后开展了水稻、小麦、玉米、大豆、大麦、棉花、番茄和马铃薯等的泛基因组学研究, 鉴定得到了一大批控制重要农艺性状的基因资源。33个水稻泛基因组和251份超级稻属泛基因组为深入解析水稻重要农艺性状的驯化和环境适应的遗传基础提供了宝贵资源(Qin等2021; Shang等2022); 15个小麦基因组的从头组装揭示了小麦基因组广泛存在的结构变异, 并提供了丰富的抗病NLR (*nucleotide-binding leucine-rich repeat*)基因资源, 为小麦的抗病育种提供指导(Walkowiak等2020); 12个玉米骨干自交系泛基因组解析了玉米杂种优势的形成机制, 为玉米的改良育种提供理论支持(Wang等2023a); 大豆泛基因组的构建将结构变异和重要农艺性状相关联, 推动了大豆的进化和功能基因组研究(Liu等2020c); 20份大麦种质的基因组破译挖掘了大量的基因组倒位, 加深了对大麦重要农艺性状形成机制的理解(Jayakodi等2020); 棉属泛基因组的构建揭示了纤维品质演化的分子基础, 为野生种质资源的保护和利用提供支持(Wang等2022c); 46份马铃薯及近缘种材料的基因组组装揭示了块茎性状进化的机制, 可推动马铃薯的基因组设计育种(Tang等2022a); 基于图形的番茄泛基因组捕获了单一参考基因组缺失的优良基因资源, 促进了对复杂性状遗传力构成的认识(Zhou等2022)。

1.1.4 群体基因组学与作物起源驯化

随着二代测序技术的进步及成本的不断降低, 作物全基因组测序数据呈现几何式的增长。各大作物上千样本量的测序计划相继提出, 如3K水稻

计划(Wang等2018c)、3K鹰嘴豆计划(Varshney等2021)、玉米HapMap3计划(Hufford等2012)、小麦属全基因组遗传变异图谱计划(VMap) (Zhou等2020; Zhao等2023b)等。目前作物群体遗传的研究热点主要在揭示作物演化、驯化历史和解析重要农艺性状相关的遗传机制两个方面。

了解群体演化历史能帮助解释性状的来源和演化规律, 助力育种改良。例如, 在玉米的驯化和扩张过程中, 发现群体演化历史和选择之间的相互作用共同塑造了玉米种群和基因组的多样性, 揭示了玉米栽培种高突变负荷的原因(Wang等2017)。此外, 小麦属测序揭示了小麦自约11 700年前经历多倍化物种形成, 随后驯化并自新月沃地扩散至全球的演化历史和规律(Zhao等2023b)。对群体演化的分析也为选择育种提供重要总结和参考, 例如通过对中国近代育种材料的测序, 客观揭示了中国近现代小麦育种史, 提出了跨着丝粒的大单倍型片段优劣评估育种价值的策略(Hao等2020)。

通过驯化前后群体的成对测序和比较, 主流作物已经定位出大量与驯化和适应性相关的候选位点(Hufford等2012; Zhao等2023b)。随着对自然和人为选择的深入研究, 虽然不同物种相似的性状通常由不同的基因控制, 但在驯化和育种过程中仍有许多趋同选择的案例(Chen等2021; Lenser和Theissen 2013), 如*Btr* (*Brittle rachis*)、*Q*、*Rht* (*Reduced height*)、*Sh1* (*Shattering 1*)、*Tb1* (*TEOSINTE BRANCHED1*)、*Wx* (*Waxy*)和*KRN2* (*Kernel Row Number 2*)等基因。*KRN2*能在不对其他农艺性状造成明显负面影响的情况下, 使得玉米增产约10%, 水稻增产约8% (Chen等2022)。研究表明, 这种对人为选择的趋同适应是随机预期富集度的2~16倍(Zhou等2020)。通过跨物种进行趋同进化的研究, 可以阐明作物重要农艺性状形成的特性及共性机制, 提供作物间育种经验交叉应用的新思路。

在玉米和水稻等作物中相继发现栽培种有害突变的累积, 证实了“驯化成本”的假说(Liu等2017b; Lozano等2019)。营养繁殖的作物由于无需自交, 有害变异也大量累积。木薯(*Manihot esculenta*)和马铃薯基因组中的一些有害变异甚至是纯合致死的, 严重阻碍了这类作物的杂交育种(Ramu等2017;

Zhang等2019a)。生产上可以利用携带互补有害等位变异的两个自交系产生杂交种,让两套基因组互相掩盖对方的有害等位变异,即杂种优势。黄三文团队提出了“优薯计划”,结合基因组设计,淘汰有害突变、聚合优良基因,最终选育出具有显著杂种优势的‘优薯1号’马铃薯品种(Zhang等2021b)。有害突变的研究为基因组设计育种提供了新的视角。

全基因组关联研究(genome-wide association studies, GWAS)在植物遗传学研究中得到了广泛应用,通过与转录组学、代谢组学等多维组学数据相结合, GWAS在识别变异-性状关联方面成绩斐然(Li等2022a; Mayer等2020; Varshney等2021)。然而自然群体存在明显的群体结构和大量的稀有等位变异,大大限制了复杂农艺性状遗传定位。相较于人类群体遗传学通过扩大样本量来提升定位精度的方法,植物有其独特的优势,即以遗传杂交设计来弥补样本量的不足。除去经典的玉米NAM (Nested Association Mapping)和MAGIC (Multiparent Advanced Generation Inter-Cross)群体,近年来作物创新群体不断涌现,例如,玉米的CUBIC (Complete-diallel design plus Unbalanced Breeding-like Inter-Cross)群体,相较于传统遗传群体,具有遗传多样性高、群体结构不明显、重组事件更加充分、与育种目标更加密切等诸多优势(Liu等2020a)。小麦也建立了一套综合NAM和MAGIC群体优点的AB-NAMIC (Advanced Backcross-Nested Association Mapping Plus Inter-Crossed)群体,用以兼顾育种和定位(Jiao等2023)。

1.2 表观遗传调控植物发育进程

1.2.1 DNA甲基化修饰

DNA甲基化(5-甲基胞嘧啶, 5mC)是一种进化上保守的重要表观遗传修饰,在植物中可发生在CG、CHG和CHH位点,受甲基化转移酶和去甲基化酶调控。

(1) DNA甲基化功能

DNA甲基化通常在转录水平上调控基因表达及沉默转座子,对生长发育和基因组稳定具有重要作用。维持CG甲基化的甲基转移酶OsMET1-2 (methyltransferase 1-2)及维持DNA甲基化的染色质重塑因子DDM1 (deficient in DNA methylation 1)

功能丧失均导致水稻早亡(Hu等2014; Tan等2016); CHG甲基转移酶编码基因*OsCMT3* (*chromomethylase 3*)突变导致转座子激活及发育异常(Cheng等2015);参与小分子RNA介导的从头甲基化途径的RDR2 (RNA-dependent RNA polymerase 2)和DRM2 (deficient in DNA methylation 2)功能丧失,也会导致水稻矮化、不育(Tan等2016; Wang等2022b)。全基因组消除non-CG DNA甲基化,水稻生长发育严重迟缓(Hu等2021)。在拟南芥减数分裂中,雄性生殖细胞中RNA介导的DNA甲基化(RNA-directed DNA methylation, RdDM)增强,产生很多DNA甲基化新位点,调控基因表达和转座子活性(Walker等2018)。水稻配子和合子发育过程中存在DNA去甲基化酶介导的DNA甲基化动态调控(Zhou等2021)。在水稻营养生长阶段的芽顶端分生组织(shoot apical meristem, SAM)中,转座子上CHH甲基化显著高于分化的叶片,并在生殖生长阶段的SAM中增强,加强转座子沉默(Higo等2020)。

DNA去甲基化在平衡DNA甲基化、建立DNA甲基化边界和基因激活方面发挥重要作用(Zhang等2022a)。植物中DNA去甲基化主要由特有的ROS1 (REPRESSOR OF SILENCING 1)家族的转葡萄糖基酶完成(Zhang等2018a)。ROS1能去除胚乳中父系印记基因*DOGL4* (*DELAY OF GERMINATION1-LIKE 4*)中的DNA甲基化,促进种子的萌发(Zhu等2018)。ROS1与DNA底物复合物的精细结构被解析,阐明了ROS1家族DNA去甲基化酶的分子机制(Du等2023)。番茄去甲基化酶DML2 (DNA demethylase 2)介导DNA主动去甲基化并激活果实成熟相关基因表达(Lang等2017; Liu等2015),同时敲除玉米去甲基化酶MDR1 (maternal depression of R1)和DNG102 (DNA glycosylase 102)导致胚乳发育异常(Gent等2022)。

(2) DNA甲基化变异

DNA甲基化变异在植物进化及地域适应过程具有重要作用,1 000余份拟南芥生态型DNA甲基化组的分析表明甲基化自然变异与其地理分布呈现高相关性(Kawakatsu等2016),在大豆和玉米中也发现DNA甲基化变异与驯化和表型多样性高度相关(Shen等2018; Xu等2019, 2020a)。DNA甲基化

变异介导重要农艺性状形成。番茄果实的维生素E含量与关键合成基因*VTE3(1)* (*vitamin E 2-methyl-6-phytylquinol methyltransferase*)启动子区SINE (short interspersed nuclear element)逆转录转座子DNA甲基化相关(Quadrana等2014)。玉米MITE (miniature inverted-repeat transposable element)转座子插入到NAC家族(NAM, ATAF and CUC2 family)的基因启动子区介导DNA甲基化,抑制基因表达调控耐旱性(Mao等2015)。

环境因素可诱发甲基化的变异,经历10代高盐胁迫的拟南芥较正常生长条件下,积累了多达45%的CG位点甲基化变异,75%的变异可遗传(Jiang等2014)。玉米杂交过程中可诱发几千个位点发生DNA甲基化变异,约3%变异可稳定遗传多代(Cao等2022)。在拟南芥、烟草和水稻中已经构建了DNA甲基化编辑体系,可实现靶位点DNA甲基化修饰改变,创建稳定遗传的表观变体(Gallego-Bartolome等2018; Papikian等2019; Tang等2022b)。

综上所述,尽管DNA甲基化的功能研究已经取得了很大进展,但位点特异性的DNA甲基化调控研究还十分有限,亟需通过表观编辑等手段,人为创建DNA甲基化变异来鉴定,特别是作物中重要性状相关基因的功能与应用研究。

1.2.2 RNA表观遗传修饰

RNA表观遗传修饰是重要的转录后调控方式,大量分布在mRNA和非编码RNA (ncRNA)上,精细调控RNA的加工、运输与定位、三维结构形成、稳定性、互作、翻译等分子过程。

(1) *N*⁶-甲基腺嘌呤修饰(*m*⁶A)

*N*⁶-甲基腺嘌呤(*m*⁶A)是真核生物mRNA上动态可逆的化学修饰,植物中的*m*⁶A集中在起始、终止密码子及3' UTR附近(Dominissini等2012; Li等2014b; Luo等2014),调控mRNA的剪接、稳定性、出核和翻译等,参与植物生长发育和胁迫响应。

*m*⁶A修饰由甲基化酶催化生成,由去甲基化酶去除,并被特定的RNA结合蛋白识别解码其功能(He和He 2021)。拟南芥中,*m*⁶A甲基化酶包括MTA (人类METTL3的同源基因)、MTB (METTL14)、FIP37 (FKBP12 interacting protein 37)、VIR (VIRILIZER)和HAKAI (Ruzicka等2017; Shen等2016;

Zhong等2008); *m*⁶A去甲基化酶包括拟南芥中的ALKBH10B (alkylated DNA repair protein AlkB homolog 10B)和ALKBH9B以及番茄中的SlALKBH2 (Duan等2017; Martinez-Perez等2017; Zhou等2019); *m*⁶A修饰的识别主要由一类含有YTH结构域的蛋白家族成员完成,拟南芥有13个包含YTH (YT521-B homology)结构域的蛋白,其中ECT2 (EVOLUTIONARILY CONSERVED C-TERMINAL REGION2)、ECT3、ECT4以及CPSF30-L (longer isoform of Cleavage and Polyadenylation Stimulatory Factor30)已被证实具有*m*⁶A识别作用(Arribas-Hernandez等2018; Hou等2021; Scutenaire等2018; Song等2021b; Wei等2018)。

*m*⁶A是植物生殖发育所必需的,*m*⁶A甲基转移酶MTA、MTB、VIR和FIP37的突变会导致拟南芥胚胎发育的球形期停滞(Vespa等2004; Zhong等2008),去甲基化酶ALKBH10B突变和识别蛋白ECT及CPSF30-L突变都导致拟南芥开花延迟(Arribas-Hernandez等2018; Duan等2017; Song等2021b),水稻OsFIP和OsMTA2对小孢子发育至关重要(Zhang等2019b)。

利用外源RNA去甲基化酶FTO (fat mass and obesity-associated)对植物的RNA表观遗传修饰特点位点进行去修饰,实现了作物高产育种,改造后的水稻单株产量与生物量增加了约50%;马铃薯中的试验也得到了相同效果,且改造后的水稻和马铃薯品质性状未变(Yu等2021)。RNA *m*⁶A甲基化调控对改善作物产量具有很好的应用前景。

(2) 5-甲基胞嘧啶修饰(*m*⁵C)

RNA 5-甲基胞嘧啶修饰(*m*⁵C)在tRNA、rRNA、mRNA、长非编码RNA中都具有较高丰度且稳定存在(Schaefer等2009)。拟南芥中RNA *m*⁵C主要分布在编码区域(CDS) (David等2017);水稻中RNA *m*⁵C也主要分布在CDS区域,但在起始和终止密码子附近也有明显的富集,且集中在CG富集序列中,物种间分布保守性并不高(Tang等2020)。

催化RNA *m*⁵C修饰的甲基转移酶有两类,一是tRNA天冬氨酸甲基转移酶1 (tRNA aspartic acid methyltransferase 1, TRDMT1),二是tRNA特异性甲基转移酶4 (tRNA methyltransferase 4, TRM4)和NOP2/Sun domain protein 2 (NOP2/Sun RNA methyltrans-

ferase 2, NSUN2)。拟南芥TRM4B是NSUN2的同源蛋白, *trm4b*突变体初生根显著变短且侧根数量减少, 分生组织中细胞分裂能力降低(Chen等2010; David等2017)。OsNSUN2能够调节mRNA的m⁵C修饰, 提高mRNA的翻译效率来维持高温下叶绿体功能稳态(Tang等2020)。

(3) 假尿苷修饰(Ψ)

假尿苷修饰(Ψ)广泛存在于tRNA、rRNA、snRNA、snoRNA、mRNA等中, 分布在rRNA重要功能域的Ψ参与rRNA前体加工、核糖体组装和蛋白翻译; 分布在tRNA上的Ψ参与调节tRNA结构, 促进解码准确性和蛋白合成的真实性(Harrington等1993); 分布在snRNA重要功能域的Ψ参与snRNP的组装和pre-mRNA的剪切(Zhao和Yu 2004); 分布在mRNA中的Ψ更倾向于5'非编码区和编码区, 且三联体密码子第一位的U更容易被假尿苷化, 影响了蛋白质生物合成(Sun等2019)。

真核生物中RNA假尿苷修饰的形成主要有两种机制: 一种是只依赖于假尿苷合酶的机制, 假尿苷合酶包括6个家族, 即RluA、RsuA、TruA、TruB、TruD和Pus10 (Spenkuch等2014); 另一种是依赖于一类H/ACA box小核仁RNA (snoRNA)与相应的蛋白质形成的复合体H/ACA RNP (Ge和Yu 2013)。拟南芥假尿苷合酶SVR1 (SUPPRESSOR OF VARIATION1)突变会导致叶绿体rRNA的生成及质体蛋白(光合作用相关蛋白)翻译发生异常, 影响叶绿体发育及磷饥饿响应(Lu等2017; Sun等2019; Yu等2008); 水稻假尿苷合酶OsPUS1 (pseudouridine synthase)能够与叶绿体rRNA前体直接结合并催化发生假尿苷修饰, 低温下OsPUS1的功能缺失会造成叶绿体rRNA前体异常积累及成熟rRNA减少, 影响叶绿体中核糖体生物合成和翻译, 产生低温白化表型(Wang等2022d)。

1.2.3 小分子RNA

小分子RNA为长度20~30 nt的非编码RNA, 植物中主要包含miRNA (microRNA)和siRNA (small interfering RNA)。能与ARGONAUTE (AGO)蛋白形成沉默复合体, 以碱基互补配对的方式靶向靶mRNA, 通过介导DNA甲基化、RNA切割降解和翻译抑制等方式在转录和转录后水平负调控靶基

因的表达。

(1) miRNA

miRNA是一类进化保守的小分子RNA, 在植物中主要涉及 DCL1 (DICER-LIKE1)等介导的加工、HEN1 (HUA ENHANCER 1)介导的成熟稳定、AGO1介导的功能发挥及SDN1 (SMALL RNA DEGRADING NUCLEASE 1)等介导的降解过程(Song等2019)。

miRNAs通常靶向并负调控一些重要转录因子, 对植物生长发育和环境刺激响应发挥重要调控作用(Song等2019; Tang和Chu 2017)。在拟南芥中miR156靶向转录因子SPL (SQUAMOSA PROMOTER BINDING PROTEIN-LIKE)参与调控开花、避荫反应、抗虫、抗旱、热激记忆、缺磷反应等生物学过程(Arshad等2017; Mao等2017; Stief等2014; Xie等2017; Zhou等2013)。miR156-SPLs模块精细调控了水稻理想株型、抗病、籽粒大小和品质及种子休眠等重要农艺性状(Jiao等2010; Miao等2019; Si等2016; Wang等2015b, 2018a)。减弱miR396-GRF4 (GROWTHREGULATING FACTOR 4)调控, 促使水稻穗子变大、籽粒变长、产量提高(Duan等2016; Gao等2016; Hu等2015; Wang等2015b); 增强miR397-LAC (laccase)基因调控, 可提高水稻穗粒数和种子大小(Zhang等2013)。大豆miR172c可作为长距离移动的共生固氮信号与根瘤固定的氮素整合年龄开花途径促进大豆开花, 调控发育和产量(Yun等2023)。

miRNAs通常处于调控网络的关键节点, 调控不同的靶位点参与生物学过程。在水稻中, miR528-AO (L-ascorbate oxidase)参与水稻抗病毒调控(Wu等2017), miR528-RFI2 (RED AND FAR-RED INSENSITIVE 2)调控开花(Yang等2019b), miR528-UCL-23 (encoding a member of the plant-specific blue copper protein family of phytocyanins)调控花粉内壁发育(Zhang等2020c)。此外, miR528-LAC3/5调控玉米木质素合成, 影响高氮条件下的倒伏性(Sun等2018); miR528-PPO (polyphenol oxidase)参与香蕉低温下果皮褐化调控(Zhu等2020)。

(2) siRNA

siRNA是高等植物中大量存在的一类小RNA

分子, 包括与异染色质相关的hc-siRNAs (heterochromatic siRNAs)和次级tasiRNAs (*trans*-acting small interfering RNAs)及phasiRNAs (phased secondary small interfering RNAs)等。hc-siRNAs主要合成途径早被鉴定, 其在精细调控基因表达方面发挥重要作用。在水稻中, *PigmS* (*Pigm Susceptible*)基因上游MITE转座子产生siRNA, 通过介导DNA甲基化抑制*PigmS*在叶中表达, 进而释放抗病基因*PigmR* (*Pigm Resistant*)实现对稻瘟病的广谱抗性(Deng等2017)。此外, 转座子来源的siRNA也被发现在水稻抗白叶枯病和玉米抗旱中发挥重要调控作用(Mao等2015; Zhang等2016)。在水稻中鉴定AGO1d结合miR2118和miR2275分别起始21-nt和24-nt PHAS前体的加工, 也发现成熟21-nt phasiRNA通过转录后切割负调控靶基因的表达(Jiang等2020; Shi等2022; Zhang等2020c)。phasiRNA在环境依赖的育性调控上发挥重要作用。例如, 在两系杂交稻生产中, 第一个发现的两用光敏不育系农垦58S的环境依赖育性由phasiRNAs位点自然变异所介导(Fan等2016); 在水稻或玉米中也发现phasiRNA合成途径关键成员突变通常会导致高温或低温依赖的雄性不育(Shi等2022; Teng等2020)。

近年来, 一系列重要农艺性状相关的小RNA及其介导的调控网络已被鉴定, 结合基因编辑等技术, 开展小RNA-靶基因精细调控设计、小RNA自身加工表达调控、跨界小RNA靶向设计等应用研究成为热点, 并成为作物育种和性状改良新途径。

1.2.4 组蛋白修饰和组蛋白变体

(1)组蛋白修饰

组蛋白修饰是一种共价修饰, 大多发生在H2A、H2B、H3和H4四种核心组蛋白朝向外部的N端“尾巴”, 包括甲基化、乙酰化、磷酸化、泛素化、类泛素化和ADP-核糖基化等(Kouzarides 2007)。研究表明单独或多种组蛋白翻译后修饰组合可以通过影响转录调控以及染色质构象参与植物的生长发育和胁迫响应等多种生物学过程。

组蛋白修饰的建立和擦除需要相应的“Writer”和“Eraser”分别介导。例如, 植物中组蛋白甲基化的建立主要依赖于包含SET结构域的组蛋白甲基转移酶以及PRMT (protein arginine N-methyltransferase)家族, 如拟南芥中的EZH2 (enhancer of zeste homolog 2)蛋白和ATX (ARABIDOPSIS HOMOLOG OF TRITHORAX)家族蛋白。而去甲基化酶包括LSD1 (lysine-specific demethylase 1)和具有JmjC结构域的JMJs (jumonji domain-containing proteins)蛋白, 如拟南芥的RELATIVE OF EARLY FLOWERING6 (REF6/JMJ12)和水稻的JMJ706 (Liu等2010)。

同理, 组蛋白乙酰化由乙酰转移酶和去乙酰化酶维持动态调控(Marmorstein和Zhou 2014), 如水稻的HDAC (histone deacetylase)家族蛋白(Chung等2009)。

近10年来, 组蛋白修饰的“Reader”相关研究逐渐成为热点, 含有不同结构域的“Reader”蛋白识别了多样化的组蛋白修饰, 如PHD (plant homeodomain)、BAH (bromo adjacent homology)、tudor、chromodomain, bromodomain和PWWP (proline-tryptophane-tryptophane-proline)等对不同组蛋白修饰的特异识别。在一定程度上, “Reader”最终决定了组蛋白修饰的生物学功能(Duan等2018; Liu等2018a; Scheid等2021)。同时, 组蛋白修饰在染色质区域的特异性建立和擦除机制也是领域中研究的焦点。拟南芥中PRC2 (polycomb repressive complex 2)蛋白的招募依赖于PREs (polycomb repressive elements)元件, BPC (BASIC PENTACYSTEINE)、AZF1 (*Arabidopsis* zinc-finger protein 1)、TRB1 (telomere-repeat-binding factor1)、VAL1 (VIVIPAROUS1/ABI3-LIKE1)等转录因子与PRC2互作将其招募至GAGA、Telobox、RY基序等相应的PRE元件进行H3K27me3 (histone 3 lysine 27 trimethylation)修饰, 影响细胞分化、开花等多种发育过程(Xiao等2017; Yuan等2021; Zhou等2018)。另外, 组蛋白去甲基化酶JMJs发挥功能的途径有两种: 一种是与转录因子互作结合靶位点, 如JMJ14与转录因子NAC050/052互作促进H3K4me3 (tri-methylation of lysine 4 on histone H3)去甲基化, 从而调控开花时间(Ning等2015); 另一些具有锌指结构域(zinc-finger domain)的JMJs蛋白能够直接结合至CTCTGYTY基序发挥功能, 如REF16/JMJ12直接结合*CUP-SHAPED CO-TYLEDON 1* (*CUC1*), 调控拟南芥器官边界形成(Cui等2016)。

组蛋白修饰随发育进程和环境变化进行动态调整。以小麦胚胎发育为例, 胚发育的早期和晚期的基因表达主要受H3K27me3调控, 而发育中期的基因主要受H3K27ac (histone H3 acetylated at lysine 27)调控, 构成了小麦胚的“时期特异转录调控差异”的模型(Zhao等2023a)。拟南芥中, 开花抑制子FLOWERING LOCUS C (FLC)受到复杂的组蛋白修饰调控, 未春化前H3K4me3与H3K36me3 (histone H3 trimethylated at lysine 36)促进*FLC*表达从而抑制开花, 春化后多种途径建立和维持H3K27me3对*FLC*的抑制从而促进开花(Baulcombe和Dean 2014; Zhu等2015)。

(2)组蛋白变体

组蛋白变体是同一组蛋白家族中分化出的氨基酸序列、表达模式或染色质定位存在差异的成员, 其与组蛋白修饰结合, 能极大增强染色质的多样性。目前研究表明, 除了H4之外, 其他组蛋白家族均存在变体。近年来植物组蛋白变体领域研究取得了较大进展, 发现其参与调控植物基因组稳定性、发育和环境响应等一系列过程。

动物在精细胞发生后期其染色质上的大部分组蛋白被鱼精蛋白替代, 从而重编程染色质并使其压缩, 然而高等植物中并不存在鱼精蛋白。2020年Berger实验室发现一个组蛋白H3的变体H3.10在拟南芥成熟精细胞中特异的大量积累, H3.10第27位赖氨酸附近的变异导致其无法产生H3K27甲基化, 造成H3K27me3的大规模丢失, 进而促进与精子分化相关基因的表达和表观重编程(Borg等2020)。另一个组蛋白变体H2B.S/H2B.8同样在成熟精子中富集, 其能通过液液相分离的方式促进常染色质凝集, 因此能在一定程度上发挥类似鱼精蛋白的作用(Buttress等2022)。种子在发育后期, 其胚胎逐渐获得萌发和胚后发育的能力, 使其具有活力。组蛋白变体H3.3在成熟种子中特异定位于基因的5'调控区域并促进这些区域的染色质开放性, 从而使种子在萌发时感知环境以及胚后发育的基因能够正常表达(Zhao等2022)。

1.2.5 染色质重塑因子和三维染色体结构

植物的DNA并非线性存在, 而是与组蛋白缠绕形成核小体被打包进细胞核中。在植物生长发

育、响应外界刺激、基因组重组过程中都会发生染色质结构的变化(Ouyang等2020)。

(1)染色质重塑因子

染色质重塑因子(chromatin remodeling complex, CRC)分为SWI/SNF (SWItch/Sucrose Non-Fermentable)、ISWI (imitation SWI/SNF)、CHD (chromo-domain helicase DNA-binding)和INO80 (ATP-dependent chromatin remodeler) 4个亚家族, 通过ATP水解作用释放的能量来改变DNA和组蛋白的互作, 从而影响染色质的结构(Ojolo等2018)。CRC参与植物发育、花器官转变、响应环境刺激等多种生物学过程。SWI/SNF亚家族的SYD (SPRAYED)、BRM (BRAHMA)、CHR12 (chromatin remodeller-12)和CHR23都参与维持分生组织的活性(Sang等2012; Wu等2015)。SYD通过激活*WUS* (*WUSCHEL*)表达维持茎尖分生组织, BRM作用于*PLT* (*PLETHORA*)维持根干细胞特征。BRM通过与不同蛋白互作来参与多种发育过程, 如芽发育因子AN3 (*ANGUSTIFOLIA3*)招募促进叶片发育(Vercruyssen等2014), 与PIF1 (PHYTOCHROME-INTERACTING FACTOR 1)互作调控叶绿素合成(Zhang等2017), 以及直接激活*SVP* (*SHORT VEGETATIVEPHASE*)控制开花时间(Li等2015a)。此外, ABA信号通路的组分能够使BRM发生磷酸化或去磷酸化, 从而影响其对ABA的响应(Peirats-Llobet等2016)。在GA信号通路中, BRM可以直接结合*GA3ox1*的启动子促进GA的生物合成(Archacki等2013)。

(2)三维染色体结构

基于染色质构象捕获(Chromatin Conformation Capture, 3C)的染色质高通量测序技术Hi-C及其衍生技术能够在不同水平捕获染色体三维结构(Zhang和Wang 2021)。与哺乳动物类似, 植物的基因组也能够被划分为不同的区室、域和环。在每个染色体疆域(chromosome territory, CT)内部, 染色体被划分为包含常染色质区域的活跃A区室(A compartment)和包含异染色质区域的非活跃B区室(B compartment) (Lieberman-Aiden等2009)。A/B区室并非静态的, 如棉花的异源多倍体化过程中就发生了A/B区室的转化(Wang等2018b)。A/B区室又可以根据染色质互作强度进一步划分为拓扑关联域(to-

pologically associated domains, TADs), TADs内部的染色质互作要显著高于TADs外部。在拟南芥基因组中并未观测到明显的TADs,可能是由于基因组较小(Wang等2015a)。在较大基因组的植物,如玉米和番茄中,可以鉴定到较明显的TAD-like结构域(Dong等2017, 2020; Liu等2017a)。植物中的染色质环(loop)可以连接调控序列和基因的启动子来影响靶基因转录水平(Li等2019)。拟南芥中*FLC*的启动子和转录终止位点形成的染色质环会降低其表达(Dogan和Liu 2018)。负责细胞分裂素合成的IPT3 (adenosine phosphate-isopentenyl transferase 3)和IPT7位点形成的染色质环能够促进细胞分裂素的生成(Jegu等2015)。

植物三维基因组的研究主要集中在利用高通量Hi-C及其衍生技术对单个组织的三维基因组进行描述,包括拟南芥及一些作物,但是缺乏不同组织或者发育时期的三维基因组的动态变化。Hi-C及其衍生技术以及数据分析的流程和软件几乎都由国外团队开发和维护,国内团队仅应用该技术捕获了一些物种的三维基因组,但是并未展开深入研究。

1.3 表观遗传调控植物对环境信号的应答和适应性生长发育

1.3.1 表观遗传调控植物对光信号的应答和适应

光信号为自养植物进行光合作用提供了最初的能量来源,同时也参与了种子萌发、形态建成、避荫反应、开花和衰老等。作为固着生物,植物已进化出复杂的分子机制来感知和适应光照条件的变化,表观遗传在其中也发挥着重要调控作用。

PIF7 (PHYTOCHROME-INTERACTING FACTOR7)通过和组蛋白甲基转移酶MRG1/MRG2 (Morf Related Gene 1/Morf Related Gene 2)互作,增加下游基因*YUCCA8* (*FLAVIN MONOOXYGENASE8*)和*IAA19* (*INDOLE-3-ACETIC ACID INDUCIBLE19*)的H3K4me3/H3K36me3修饰,促进其表达进而调控下胚轴伸长(Peng等2018)。拟南芥组蛋白去甲基化酶JMJ17能直接与叶绿素氧化还原酶C基因的启动子结合,去除H3K4me3甲基化修饰,抑制黄化幼苗中四吡咯生物合成,促进去黄化过程中子叶绿化(Islam等2021)。在光照条件下, phyB (phytoch-

romes B)直接和PRC2复合物组分VIL1 (VERNALIZATION INSENSITIVE 3-LIKE1)互作,通过增加H3K27me3修饰,抑制生长相关基因的转录(Kim等2021)。此外, PKL (PICKLE)还可以在光周期途径参与的开花调控过程中促进*FT* (*FLOWERING LOCUS T*)的激活(Jing等2019)。

在拟南芥光形态建成过程中, NF-Y (nuclear factor-Y)转录因子家族成员NF-YC1、NF-YC3、NF-YC4和NF-YC9通过与组蛋白去乙酰化酶HDA15 (histone deacetylase 15) 相互作用,改变下胚轴伸长相关基因的H4乙酰化修饰水平,抑制这些基因的表达和下胚轴伸长(Tang等2017)。HDA15-PIF1模块通过组蛋白去乙酰化作用降低萌发相关基因的转录活性和表达,抑制种子萌发;相反,在红光信号下,活化的phyB诱导HDA15-PIF1模块从萌发相关基因上解离,解除转录抑制,起始种子的萌发(Gu等2017)。此外, HY5 (ELONGATED HYPOCOTYL5)与HDA15相互作用,并通过光信号依赖的方式降低组蛋白H4乙酰化水平来抑制下胚轴伸长,促进光形态建成(Zhao等2019)。

在植物和其他生物体中,组蛋白变体H2A.Z可以取代典型的H2A以调节基因表达从而响应环境变化。在拟南芥中, H2A.Z掺入主要由染色质重塑因子INO80介导,通过调节核小体密度抑制光形态建成相关基因的表达(Yang等2020a)。NF-YC和SWR1C亚基ARP6 (ACTIN-RELATED PROTEIN6)互作,将H2A.Z沉积在靶基因上,负调控下胚轴生长(Zhang等2021a)。CRY1 (cryptochrome 1)可以促进蓝光信号介导的H2A.Z在HY5靶基因上的占位,从而促进光形态建成(Mao等2021b)。PIF7也可以直接与INO80复合物的EEN亚基相互作用,调节H2A.Z在关键基因座上的沉积从而响应光质的变化(Willige等2021)。

染色质三维结构和基因组在细胞核内的空间分布对基因的转录调控起着举足轻重的作用。当拟南芥幼苗首次感知光信号时,CRY1和CRY2会介导细胞核体积增大,异染色质区域快速形成(Bourbousse等2015)。phyB和PRC2-VIL1复合物在*AT-HB2*启动子区域RE1调节元件和TSS之间形成染色质环,抑制*ATHB2*基因的表达从而抑制下胚轴伸长

(Kim等2021)。另有研究表明, 拟南芥R环(R-loop)在对不同光照条件的反应中几乎保持不变, 而暴露在光照下的植物与生长在黑暗中的植物在R环形成方面存在显著差异(Xu等2020c)。

1.3.2 表观遗传调控植物对环境温度的应答和适应

温度是影响植物生长和发育的关键环境因素之一。近年来表观遗传机制调控植物温度应答和适应性的研究取得了一系列重要进展。

(1) 植物低温胁迫应答的表观遗传调控机制

植物低温应答过程中的表观遗传调控机制主要包括组蛋白修饰、DNA甲基化、非编码RNA等方面。组蛋白去乙酰化酶HDA6突变引起*ICE1 (INDUCER OF CBF EXPRESSION 1)*及*CBF (C-repeat Binding Factor)*等基因表达异常, 导致植物耐冷性降低(He等2011)。冷诱导的HOS15 (HIGH EXPRESSION OF OSMOTICALLY RESPONSIVE GENE15)通过降解组蛋白去乙酰化酶HD2C (HISTONE DEACETYLASE2C)以增强下游靶基因的表达, 从而促进植物耐冷性(Lim等2020; Park等2018)。此外, 染色质重塑因子PKL等在植物耐低温胁迫中也发挥着重要功能(Carter等2018; Yang等2019a)。RDM4通过与RNA聚合酶Pol II和Pol V相互作用参与调控RdDM过程, 同时RDM4促进Pol II在*CBF*基因上的富集调控其组成型表达, 进而调控植物的耐冷性(Chan等2016)。长链非编码RNA SVALKA调控*CBF1*的表达以及植物耐冷性(Kindgren等2018; Tiwari等2020)。

(2) 植物高温胁迫应答的表观遗传调控机制

大量研究揭示组蛋白的动态平衡以及RdDM途径参与植物应答高温胁迫信号, 增强植物对高温胁迫的适应性(Cortijo等2017; He和Li 2018), 高温胁迫引起组蛋白修饰H3K9ac (histone H3 acetylated at lysine 9)以及H3K4me3等的积累, 进而调控植物对高温胁迫信号的记忆(Lamke等2016; Shen等2019)。组蛋白H3K27me3去甲基化酶参与植物适应高温胁迫的过程, 热锻炼通过去甲基化酶引起热激响应蛋白HSP22 (HEAT SHOCK PROTEIN22)以及HSP17.6C位点上H3K27me3的持续去甲基化, 从而帮助植物更好的响应重复发生的高温胁迫(Yamaguchi等2021)。RdDM途径参与调节植物应答高温胁迫信号, 并正调控植物的耐热性(Popova等2013),

包括高温胁迫引起的转座子激活(Liang等2021)。*SDG25 (ATXR7)*和*ATX1 (SDG27)*基因突变通过引起组蛋白修饰H3K4me3的降低以及DNA甲基化的升高, 来调控高温胁迫恢复期热响应基因的表达(Song等2021c)。

(3) 植物热形态建成中的表观遗传调控机制

组蛋白H2A.Z随温度的动态平衡参与调控热形态调控因子PIF4对下游基因的调控(Kumar等2012; Kumar和Wigge 2010)。染色质重塑因子INO80以及PKL参与调控组蛋白H2A.Z的动态变化以及组蛋白甲基化(Xue等2021; Zha等2017)。组蛋白去甲基化酶以及转录因子等通过调控H3K4me3、H3K27me3以及H3K36me3等修饰调控热形态建成下游响应基因的表达(Cui等2021; He等2022; Pajoro等2017)。RNA构象变化在植物热形态建成中起着重要作用, 如PIF7通过其RNA二级结构的构象变化感应高温信号(Chung等2020)。非编码RNA FLINCFLIN也可能参与植物的热形态建成过程(Severing等2018)。

(4) 植物春化过程中的表观遗传调控机制

目前春化作用研究最深的是对拟南芥*FLC*的调控(Luo和He 2020; Whittaker和Dean 2017; Xu和Chong 2018)。低温春化时, *FLC*表达下调, 组蛋白修饰复合体PRC2在其辅助蛋白VIN3 (VERNALIZATION INSENSITIVE 3)的作用下(Fiedler等2022; Franco-Echevarria等2022), 在*FLC*基因第一内含子上建立H3K27me3修饰, 起始*FLC*的表观遗传沉默(Yang等2017; Yuan等2016); 气温回暖时, PRC2会进一步介导H3K27me3扩展至整个*FLC*位点, 产生稳定的表观遗传沉默(Berry等2017; Yang等2017); 在胚胎发育过程, *FLC*表达会被重启(Luo等2020; Tao等2017)。缓慢生长介导的关键调控蛋白浓度的积累可以帮助植物从复杂的温度波动中感知其中的长期温度信号(Zhao等2020), 而FRIGIDA (FRI)蛋白则通过形成蛋白凝聚体帮助植物感知秋季温度波动, 进而在转录水平上调控*FLC*表达(Zhu等2021), 长链非编码RNA COOLAIR (COLD INDUCED LONG ANTISENSE INTRAGENIC RNA)帮助植物精准地感知环境温度的变化并在转录水平上精细调控*FLC*的表达, 影响春化过程中*FLC*的表观遗传沉默(Yang等2022; Zhao等2021)。

小麦中的春化作用主要由VRN1–VRN2–VRN3遗传模块所介导(Xu和Chong 2018), 其中*VRN1*表达量随春化作用逐渐上升, 从而促进*VRN3*的表达以及小麦的生殖转变。一些重要的VRN1调控因子TaGRP2 (glycine-rich RNA-binding protein)、VER2 (vernalization-related 2)、TaRF2b以及TaVRT2 (vegetative-to-reproductive transition 2)等逐渐被鉴定(Xiao等2014; Xie等2021; Xu等2021), 同时研究还发现非编码RNA VAS (TaVRN1 alternative splicing)在*VRN1*的激活过程中发挥着重要作用(Xu等2021)。

1.3.3 表观遗传调控植物对养分的响应和利用

必需营养元素(氮、磷、铁、铜等)的吸收、转运、同化和再利用对植物的生长发育至关重要。表观遗传在调控植物对养分的响应和利用中起着非常重要的作用(Li等2021a; Sere和Martin 2020)。

(1)表观遗传调控植物对氮的响应和利用

高氮下拟南芥RNA聚合酶Pol II复合体组分HNI9 (HIGH NITROGEN INSENSITIVE 9)能够提高活性氧(ROS)解毒基因*DETs* (detoxification responses)的H3K4me3修饰水平, 激活*DETs*基因表达, 促进ROS降解, 从而抑制*NRT2.1* (nitrate transporter 2.1)的表达(Bellegarde等2019)。拟南芥组蛋白甲基转移酶SDG8 (SET DOMAIN GROUP8)通过调控氮吸收和同化基因位点上的H3K36me3水平调控氮代谢(Li等2020b, 2015b)。水稻AP2类转录因子NGR5 (NITROGEN-MEDIATED TILLER GROWTH RESPONSE 5)能够响应高氮招募PRC2复合体对*D14* (*DWARF14*)、*SPL14* (*SQUAMOSA promoter binding protein-like 14*)进行H3K27me3, 调控水稻的分蘖氮响应(Wu等2020b)。

氮饥饿会导致拟南芥*NIA1* (nitrate reductase 1)、*NIA2*产生大量siRNA, 通过结合AGO1蛋白抑制*NIA1*、*NIA2*的翻译, 降低能量消耗(Wu等2020a)。携带HTNE-2 (high temperature resistant and nitrogen efficient-2)等位基因的水稻材料中sNRT2.3-1 (small RNA NRT2.3-1)、sNRT2.3-2的转录受到抑制, 使得NRT2.3b蛋白水平增加, 提高氮吸收和利用效率(Zhang等2022b)。豆科植物中miR2111能够响应土壤中氮浓度的变化, 从地上部移动到根中, 靶向抑制结瘤负调控基因*TML* (too much love)的表达(Gau-

trat等2020; Tsikou等2018)。

lncRNA T5120能够响应硝酸盐, 促进拟南芥的氮同化和生长, 并且其表达受到NRT1.1和NLP7 (nodule inception protein-like protein 7)的调控(Liu等2019a)。氮代谢关键基因*NRT1.1*、*GLN1* (glutamine synthetase isozyme 1)等都带有m⁶A修饰, 都能被多聚腺苷酸化特异因子CPSF30-L识别进而影响其表达(Hou等2021)。

(2)表观遗传调控植物对磷的响应和利用

拟南芥去泛素化酶OTU5 (OVARIAN TUMOR DOMAIN-CONTAINING DEUBIQUITINATING ENZYME5)能够通过改变根毛相关基因的DNA甲基化和磷响应基因的H3K27me3、H3K4me3水平来调控根系的低磷响应(Yen等2017)。低磷能够通过26S蛋白酶体降解组蛋白去乙酰化酶复合体HDC1 (histone deacetylase complex1), 进而提高*ALMT1* (*ALUMINUM-ACTIVATED MALATE TRANSPORT-ER1*)、*LPR1* (*LOW PHOSPHATE ROOT1*)上的H3ac水平, 调控拟南芥根系结构的重塑(Xu等2020b)。染色质重塑因子BRM能够招募HDA6–HDC对*LPRs*位点的组蛋白H3去乙酰化, 抑制*LPR1/2*表达, 负调控铁依赖的低磷响应(Li等2022c)。水稻中鉴定出了整合H2A.Z、H3K4me3和核小体定位的五种染色质状态(CS1~CS5)能够参与磷响应(Foroozani等2020)。

(3)表观遗传调控植物对其他养分的响应和利用

水稻中铁缺乏能够诱导从头DNA甲基转移酶DRM2对低铁信号转导核心转录因子*OsIRO2* (*IRON-RELATED BHLH TRANSCRIPTION FACTOR 2*)和*OsFIT/OsbHLH156* (*FER-LIKE FE DEFICIENCY-INDUCED TRANSCRIPTION FACTOR*)启动子上的CHH核苷酸进行高甲基化, 激活它们的表达(Sun等2021)。NRF2 (NON-RESPONSE TO Fe-DEFICIENCY2)/ELF8 (EARLY FLOWERING8)能够介导*GRF11* (*GENERAL REGULATORY FACTOR11*)的H3-K4me3, 调控低铁响应基因的表达(Singh等2021)。低铜能促进Cu-miRNA (miR397/398/408/857)的表达。Cu-miRNA能够通过胞间连丝传递低铜信号, 靶向抑制铜蛋白相关基因的表达, 确保铜的最有效分配(Pilon 2017)。

1.3.4 表观遗传调控植物对干旱、盐碱胁迫的应答

干旱、盐碱等非生物胁迫是导致农作物减产的主要环境因素, 本部分主要总结了我国在植物干旱、盐碱胁迫应答的表观遗传机制领域的主要进展。

(1) 植物干旱胁迫应答的表观遗传机制

干旱胁迫下, 拟南芥H3K4组蛋白甲基转移酶ATX1能够结合在*NCED3* (*9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase 3*)等的5'端附近, 增加H3K4me3水平及Pol II结合量, 促进基因表达并提高植物耐旱性(Ding等2011)。ATX4和ATX5可直接结合编码ABA信号途径负调控因子AHG3 (*ABA-HYPERSENSITIVE GERMINATION 3*)的DNA序列, 增加H3K4me3水平及*AHG3*基因表达, 负调控ABA信号及耐旱性(Liu等2018b)。水稻OsNMCP1 (*Nuclear Matrix Constituent Protein1*)通过与染色质重塑蛋白OsSWI3C (*SWITCH3C*)互作抑制其对抗旱基因(*OsNAC10*、*OsERF48*等)的沉默作用, 增加耐旱性(Yang等2020b)。OsHUB2 (*HISTONE MONOUBIQUITINATION2*)具有组蛋白H2B单泛素化(H2Bub1)活性, OsHUB2可与OsbZIP46形成复合体, 通过H2B介导的泛素化调控ABA及干旱应答基因的表达(Ma等2019)。MODD (*mediator of OsbZIP46 deactivation and degradation*)与OsbZIP46互作并抑制其功能, 同时还通过招募H2B去单泛素化酶OsOTLD1 (*otubain-like deubiquitinase 1*)来降低OsbZIP46靶基因区域的H2Bub1水平, 降低水稻的抗旱性(Tang等2016)。

玉米中一个微小反向重复转座元件(MITE)通过RdDM和H3K9me2修饰抑制了*ZmNAC111*的表达, 导致耐旱性降低(Mao等2015)。干旱胁迫下, *MdRFNR1* (*Malus domestica root-type ferredoxin-NADP⁺ oxidoreductase1*)启动子区域的MITE-MdRF1序列被RdDM途径甲基化, 而后与MdSUVH1 [*SU(-VAR)3-9 homolog 1*]和MdSUVH3结合, 通过与MdDNAJ1 (*DnaJ homolog subfamily A member1*)、MdDNAJ2和MdDNAJ5形成复合体增强*MdRFNR1*的表达, 增强苹果的抗旱性(Niu等2022)。

miR169a和miR169l分别在转录和翻译水平上调调控NFYA5, 调控拟南芥干旱应答(Du等2017)。OsHB4 (miR166-HOMEODOMAIN CONTAINING

PROTEIN4)通过调控细胞壁形成和维管束发育相关基因表达促进水稻耐旱(Zhang等2018b)。*Pu-miR172d/Arabidopsis GT-2-like 1 (PuGTL1)/STOMATAL DENSITY AND DISTRIBUTION1 (PuSDD1)*模块通过调控气孔运动和光合作用相关基因的表达, 正调控白杨的耐旱性(Liu等2021a)。玉米中天然反义转录本*cis-NATZmNAC48*负调控*ZmNAC48*的表达, 增加玉米气孔开度, 负调控耐旱性(Mao等2021a)。

(2) 植物盐碱胁迫应答的表观遗传调控机制

拟南芥Linker组蛋白的变体HIS1-3通过竞争WRKY1的结合位点抑制*SOS1* (*salt overly sensitive1*)和*SOS3*的表达, 降低耐盐性(Wu等2022)。水稻中组蛋白去乙酰化酶OsHDA1通过与OsIDS1 (*INDETERMINATE SPIKELET1*)互作被招募至*OsSOS1*启动子区域, 降低H3乙酰化水平, 下调*OsSOS1*的表达, 降低耐盐性(Cheng等2018b)。WRKY53可与组蛋白去乙酰化酶HDA9互作抑制其活性, 促进耐盐; 同时HDA9可通过去除活性WRKY53上的乙酰化修饰来抑制其活性, 降低耐盐性, 二者相互拮抗(Zheng等2020)。具有H3K4组蛋白甲基转移酶活性的SDG721 (*SET DOMAIN GROUP 721*)在盐胁迫下通过结合并调控*HKT1* (*HIGH-AFFINITY POTASSIUM TRANSPORTER1*)的启动子和编码区H3K4me3水平, 上调*HKT1*的表达, 促进水稻抗盐(Liu等2021b)。组蛋白乙酰转移酶TaHAG1 (*histone acetyltransferase1*)介导的H3乙酰化提高盐胁迫应答基因的表达, 并通过调节特异性ROS信号促进小麦耐盐(Zheng等2021)。

正常生长条件下, *MYB74*启动子区通过RdDM途径被高度甲基化, 转录水平较低; 在盐胁迫条件下, *MYB74*甲基化水平下降, 转录水平上升, 促进拟南芥耐盐(Xu等2015), 大豆中也发现了相似的耐盐机制(Zhang等2020b)。盐胁迫会诱导组织特异性的胞嘧啶甲基化变化, 导致小麦的地上部和根中*TaHKT2;1*和*TaHKT2;3*的表达下调, 减少Na⁺吸收, 促进耐盐(Kumar等2017)。

水稻中miR172-IDS1模块通过维持ROS稳态促进耐盐性(Cheng等2021b)。盐胁迫下大豆miR172a表达水平增加, 其靶基因*SSAC1* (*salt suppressed AP2 domain-containing1*)的表达水平下降, 解除*SSAC1*

对 *THI1* (*thiamine thiazole synthase1*) 的转录抑制, 促进耐盐(Pan等2016)。柳枝稷中miR319正调控乙烯的合成和耐盐(Liu等2019c)。陆地棉中lncRNA354可以抑制miR160b诱导的*GhARF17/18* (*auxin response factor 17/18*) RNA降解, lncRNA354-miR160b对*GhARF17/18*表达的影响可能会改变生长素信号, 从而调控耐盐性(Zhang等2021c)。

1.3.5 当代及跨代的表观记忆

(1) 当代表观记忆

为维持细胞命运或记忆, 母细胞需要在细胞分裂时将其表观特征传递给子细胞。比如, 低温春化在拟南芥*FLC*位点积累H3K27me₃, 造成*FLC*表达沉默, 当春化完成, 植物回到常温生长和进行细胞分裂时, *FLC*位点的H3K27me₃仍然维持直至配子和胚胎发育。在DNA复制时负责催化和识别H3K-27me₃的PRC2和PRC1复合体与组蛋白H3.1的分子伴侣CAF1 (*chromatin assembly factor1*)复合体均在DNA复制叉定位。H3.1是H3K27me₃维持所必需的, 因此PRC2和PRC1可能在染色质复制时识别原有的H3K27me₃, 并在H3.1上催化产生新的H3K27me₃以维持H3K27me₃的水平(Jiang和Berger 2017)。配子发生时, 组蛋白H3.10在精细胞染色质上的装配使得H3K27me₃发生重置(Borg等2020), 而卵子中*FLC*位点的H3K27me₃则得以保留(Luo等2020), 直至在胚胎发育时发生重置(Tao等2017)。

除春化外, 逆境胁迫也能引发表观记忆, 使植物在再次遭遇逆境时具有更强的抗逆能力。反复干旱胁迫后, 一些干旱响应基因位点的H3K4me₃水平会持续升高, 这些位点在干旱再次发生时产生更强的转录激活(Ding等2012)。高温胁迫能升高一些高温响应位点的转录及H3K4me₂和H3K4me₃水平, 且在高温后能够维持(Lamke等2016)。相比春化记忆的长期维持, 干旱或高温造成的H3K4me₃水平升高和转录记忆只能持续3~5 d, 其是否能够在细胞分裂时稳定传递或是否存在特殊的记忆维持/重置机制还有待研究。

(2) 跨代表观记忆

表观遗传信息除在细胞间传递外, 也会在亲子代间传递, 这称为跨代表观遗传。跨代表观遗传现象表明遗传信息不仅在DNA序列中, 还在非DNA

序列的表观遗传因子上, 这些因子能影响基因表达并在多代间传递(Quadrana和Colot 2016)。其中介导跨代遗传的非DNA序列信息分子包括DNA甲基化(Williams和Gehring 2017)、组蛋白修饰(Liu等2019b)和非编码RNA (Zhong等2013), 通过复制继承和重建继承的机制进行跨代传递, 产生表观等位变异(*epi-allele*) (Fitz-James和Cavalli 2022)。如某些DNA甲基化位点作为标记通过RdDM途径来帮助后代形成稳定的表观等位变异(Li等2020a)。ROS1 (5-甲基胞嘧啶DNA糖基化酶)在维持后代稳定的DNA甲基化水平中发挥重要的作用(Williams和Gehring 2017)。表观因子作为遗传信息的传递载体, 表明环境因素, 例如温度、水分胁迫, 会对后代个体的表观遗传状态产生持久影响, 进而帮助后代适应复杂的环境变化(Gallusci等2023)。

在拟南芥中发现母本的高温经历会通过激活果实组织中*FT*的表达来控制后代种子的休眠长短(Chen等2014)。后续研究证明母本的高温经历会影响后代中*FLC*及*COOLAIR*的表达(Chen和Penfield 2018)。热胁迫记忆会通过H3K27me₃去甲基化的母系传递导致*HSAF2* (*HEAT SHOCK TRANSCRIPTION FACTOR A2*)及下游基因*HTT5* (*HEAT-INDUCED TAS1 TARGET 5*)的转录激活并产生早花现象(Liu等2019b)。高温胁迫也会通过影响小RNA的产生进行跨代遗传。高温会降低拟南芥亲本中SGS3 (*SUPPRESSOR OF GENE SILENCING 3*)的蛋白丰度, 并抑制后代中siRNAs的产生, 即后代中转录后基因沉默(*post transcriptional gene silencing*, PTGS)抑制现象(Zhong等2013)。盐胁迫会通过母本传递的方式促使后代体内DNA甲基化的重排及胁迫相关基因的表达, 进而增强后代的适应性(Wibowo等2016)。

在作物的杂交和回交过程中, 跨代表观遗传现象也是稳定遗传且广泛存在。玉米杂交亲本之间的不同siRNA可以在杂交种中诱导反式表观上位基因(*trans-acting epi-alleles*), 这将诱导回交和杂交育种过程中表观遗传状态在代际间的稳定遗传, 从而改变基因的表达以促进玉米的生长和适应环境(Cao等2022)。通过研究玉米种群中近1 000个DNA甲基化变异的遗传模式和跨代稳定性, 发现大多数

位点的DNA甲基化差异是稳定遗传的, 不受其他等位基因或基因组区域的影响(Li等2014a)。

2 国内外研究比较

2.1 研究模式和物种的选择

2.1.1 植物基因组学

自2011年以来, 随着测序技术的革新, 植物基因组的测序数量呈爆炸式增长。目前已完成近千种植物的基因组测序工作, 其中90%是被子植物, 主要分布于禾本科、十字花科和豆科(Kersey 2019)。基因组大小的跨度大, 最小的海洋真核微藻只有13 Mb, 最大的糖松竟高达31 Gb。中国、美国、德国、日本和英国主导完成了72%的植物基因组测序工作, 而以国际合作形式开展的更大规模的植物基因组测序计划正拉开帷幕, 比如“10KP”将完成1万种植物的基因组组装(Cheng等2018a)。尽管如此, 目前也仅有0.2%的自然界植物基因组得到组装, 而70%的开花植物尚未得到任何DNA序列信息。135种禾本科植物的基因组已经完成组装(Marks等2021), 主粮作物仍是植物基因组测序的重点。

随着三代测序技术的普及和算法的成熟, 基因组的组装成本和难度大幅下降, 开始对同一种植物的不同个体进行基因组组装。德国领导的“1001 Genomes”项目完成了1 000多份拟南芥基因组的组装(1001 Genomes Consortium 2016)。我国领导的“3K Rice Genome Project”完成了3 000余份水稻的基因组测序(Wang等2018c), 小麦属全基因组遗传变异图谱计划也已经完成了1 000余份小麦的测序(Zhou等2020; Zhao等2023b)。群体水平的植物基因组研究标志着植物泛基因组时代的到来。不同个体之间的基因组变化为理解性状变异提供了全新的策略。对主粮作物、重要经济作物的重测序工作成为植物基因组研究的主流, 而以物种为单位的国际合作组织成为植物泛基因组研究的主要推动力量。值得指出的是, 我国在水稻、玉米、小麦、大豆等重要农作物的基因组研究方面已经和欧美处于同一水平。

2.1.2 植物表观遗传学

植物表观遗传学的研究, 国外目前的主体对象是拟南芥和玉米, 其他作物的研究较少, 也有一

些以进化问题为导向的低等植物, 如地钱(*Marchantia polymorpha*)、小立碗藓(*Physcomitrium patens*)等; 而国内的研究呈现拟南芥和多种作物并行的模式, 拟南芥因为经费支持减弱的原因, 研究速度减缓, 但是一些概念性的研究还是多在拟南芥进行, 如表观遗传跨代记忆、精准的表现遗传编辑, 组蛋白变体的功能等。国内的表现遗传学研究在水稻、玉米、大豆、棉花、油菜(*Brassica rapa*)、番茄、小麦等主粮和经济作物上都有很好的进展。近年来, 牧草、橡胶草(*Taraxacum koksaghyz*)及一些杂粮作物也得到了国家的重视, 相关的研究进入了快车道。表观遗传修饰在不同物种中呈现保守而又特异的调控模式, 如染色质三维结构在不同基因组大小的植物中不同, 转座子的含量在不同物种间也存在较大的差异, 因此研究不同物种间的表观修饰具有很好的意义。同时, 有些作物为多倍体, 如小麦、油菜、棉花等, 与二倍体的拟南芥、玉米、水稻相比, 复杂的亚基因组互作涉及到了表观遗传调控, 因此研究这些物种除了对农业生产的支持以外, 也具有自身理论机制解析的意义。

2.2 研究方向和原创性侧重比较

2.2.1 植物基因组学

植物基因组早期的研究方向主要集中在测序技术、组装算法、质量评估等方面。随着测序成本的降低和组装算法的成熟, 研究开始向植物基因组进化方向转移。通过比较植物基因组, 植物起源与演化的历史得以揭示, 全基因组加倍事件在植物进化历程中的重要作用得以阐明。随着二代测序技术成本下降与三代测序技术的普及, 组装染色体级别的基因组已容易实现, 但是多倍体植物、超大基因组植物的基因组组装仍然存在困难。植物基因组的研究方向开始从个体向群体转变, 研究的突破口从组装向利用组装来解析基本生物学问题转变, 如理解进化规律、揭示农艺性状的机理以及克隆基因等。

在复杂基因组、超大基因组的组装算法方面, 欧美一直处于引领地位, 而我国在利用基因组序列解析农作物的驯化与改良机制方面处于国际领先水平。我国科学家揭示了水稻(Huang等2012)、玉米(Jiao等2012)、小麦(Zhou等2020; Zhao等2023b)、

黄瓜(*Cucumis sativus*) (Li等2022b)、马铃薯(Tang等2022a)等农作物的进化机理, 欧美科学家则侧重植物基因组进化机理的理论研究。我国科学家善于利用大规模测序数据对基因进行定位和克隆, 而欧美学者对群体遗传学与分子进化学策略的使用较多。

2.2.2 植物表观遗传学

植物表观遗传学在过去10年快速发展, 组蛋白修饰、组蛋白变体、DNA甲基化、小分子RNA、染色质结构等已有研究领域国内外的研究都取得了丰硕的成果, 如追踪植物发育或者环境响应偶联的表观修饰的动态变化过程, 探究介导表观修饰特异性建立或擦除的机理, 解析表观修饰如何调控植物对环境信号的应答和调控发育过程, 以及一些表观修饰因子的蛋白结构解析。国内与国际研究差别不大, 也有很好的合作成果产出。在新概念和新方向上, 欧美的研究还是处于领先的地位, 如表观修饰介导的温度感受相关研究(波茨坦大学Philip Wigge), 染色质动态变化在光信号感知和传导的功能(索尔克生物研究所Joanne Chory), 表观遗传介导植物对长时间低温的感知和应答(英国约翰英纳斯中心Caroline Dean), RNA构象对环境的应答(英国约翰英纳斯中心Yiliang Ding), 组蛋白变体在进化上出现的意义(孟德尔研究所Frederic Berger, 英国约翰英纳斯中心Xiaoqi Feng)。国内对于表观修饰在解析作物的复杂性状方面更为突出, 如在植物特别是作物的小分子RNA功能研究和DNA甲基化以及组蛋白修饰方面, 涌现如中国科学院遗传与发育生物学研究所曹晓风、清华大学戚益军、南方科技大学朱健康、中国科学院分子植物科学卓越创新中心何祖华、北京大学何跃辉、中山大学陈月琴等一批优秀的研究团队。

在新兴的表观修饰领域, 如RNA修饰(芝加哥大学Chuan He), RNA的动态构象(滨州州立大学Philip Bevilacqua), 染色质三维结构(埃默里大学Victor Corces, 斯坦福大学Howard Chang)等欧美的研究处于引领位置, 技术方法以及数据分析体系都保有原创性。这些前沿的研究在欧美多集中在动物或者医学方向, 在植物中的研究, 国内发展迅速, 处于并跑或者局部领先的位置, 如RNA修饰在

作物性状改良的应用, 染色质结构变异在棉花演化形成和小麦抗病和稳产等方面。

3 发展趋势与展望

3.1 未来5~10年目标和前景

3.1.1 植物基因组学

通过增长测序片段、降低测序成本、改进分子实验技术、优化组装算法等手段, 我们将克服植物基因组中的超大基因组、多倍化和杂合体等难点。群体规模的重测序工作将进一步普及, 届时我们将更充分、更清晰的描述和展示植物个体间的遗传变异, 更深入地解析序列、结构变异与植物性状之间的内在关系。基因组学的发展将推动植物科学、遗传学、分子生物学、农学等学科的革新, 而传统学科也将借助基因组学的研究展现出新的活力。

3.1.2 植物表观遗传学

随着表观遗传修饰检测方法的丰富、测序成本的降低、以及单细胞水平多维表观组方法的建立, 植物表观遗传领域即将迎来再次的高速发展。植物表观遗传学将向几个不同的维度进行拓展: 单细胞-时空特异的表观遗传动态修饰将推动植物发育调控的精准解析; 群体水平的泛表观组分析, 将助力表观遗传修饰变异位点(epi-allele)的挖掘, 开拓植物性状形成的机制解析以及表观遗传多样性的育种选择; 环境信号应答及环境适应性建立过程中的多维动态表观组修饰整合, 阐明环境因子通过表观修饰调控植物生长发育的机制; 获得性的“记忆”形成及在代际传递的表观遗传机理解析将推动定向的表观训练增强植物特别是作物抗性的建立; 开发定向的表观遗传编辑系统, 定点进行表观遗传修饰以改良作物性状。未来10年表观遗传学的快速发展将解析植物特别是作物复杂性状形成过程中环境变异、表观变异和遗传变异三者的互作关系, 从而形成作物性状精准控制理论, 并利用和创制表观遗传变异, 应用于作物育种改良。

3.2 发展趋势预测

3.2.1 单细胞多组学、时空组学推动植物发育和环境适应性的机理解析

组织水平的分析难以克服细胞异质性的干扰,

且重要因子的表达呈现强烈的时空特异性以及可能受到环境信号的诱导调控。因此,利用目前开发的单细胞多维组学以及时空组技术结合,推动植物发育和环境适应性的机理解析。

3.2.2 复杂性状的三维基因组精准调控

随着基因组大小的增加,非线性远程调控的重要性凸显,对于诸如小麦、玉米、大豆、棉花等主粮和经济作物,染色质的三维空间构象对于基因的转录调控和性状的形成具有较大影响。作物的三维空间构象以及偶联的表观修饰分析将推动作物复杂性状的解析。

3.2.3 群体基因组学揭示复杂性状形成与演化机制

重要农艺性状通常是受到多基因调控、以及不同性状间竞争或者协同互作的复杂性状。传统遗传学方法对单基因进行功能解析,难以全局性地研究多基因模块的互作规律。群体基因组学能够获取物种水平遗传多样性,以演化的全局视角观察多基因互作、多性状耦合的规律,系统性地揭示规律背后复杂性状形成的遗传调控机制,进而推动作物基因组设计育种技术的发展。

3.2.4 泛基因组将被用于揭示植物环境响应的基本规律

依靠参考基因组与重测序技术无法全面探知物种的基因组信息,特别是直接参与环境响应调控的基因组信息难以获取。植物基因组学已经进入了泛基因组时代,泛基因组图谱将通过捕获环境信号响应分子为解析重要农艺性状遗传机制提供新的手段,预测作物泛基因组的研究将迈向新的台阶。

3.2.5 泛表观组助力作物复杂性状形成的机制研究

除了DNA序列变异,越来越多参与基因调控和性状决定的表观变异被发掘,随着表观组学测定技术的成熟和价格的下降,群体水平的表观组数据的获取成为现实。这将大大的开拓表观等位变异的挖掘和表观关联分析(epi-GWAS)促进性状的调控机理解析。

3.2.6 基因组大数据辅助育种

基因组序列与结构变异信息将用于遗传机制解析与品种改良,全基因组编辑、有害位点清除、优异等位基因的聚合将为品种的遗传改良提供新的

契机,基因组辅助育种将成为未来的研究热点。人工智能、大数据挖掘、高通量表型技术、全基因组编辑等将与植物基因组学紧密结合,实现农作物育种技术的全面革新。

3.2.7 表观等位变异、表观修饰编辑在作物育种的应用

自然群体的表观等位变异,以及通过编辑技术实现特定位点的表观遗传编辑改造,能够补充DNA序列遗传多样性的缺失,形成丰富的遗传多样性及性状改良的效果。

3.2.8 多组学联合分析解析作物复杂性状

对于遗传连锁区间大的作物,定位的精度有限,而作物农艺性状的复杂度进一步削弱数量遗传位点的贡献度。精准的表型组、代谢组、蛋白组、转录组、表观组等多维组学数据与GWAS的联合分析将复杂性状降维并提供多层次的关联分析,从而提升基因-表观-环境到表型的关联,助力于解析作物的复杂性状。

3.3 研究方向与项目建议

3.3.1 基因组结构变异塑造农艺性状的分子机制

围绕基因组结构变异,可以从三个方向开展研究:高效构建重要农作物与经济作物的泛基因组图谱;通过比较基因组学手段获取基因组结构变异信息;分析基因组结构变异对农艺性状的影响。项目建议以小麦、玉米、水稻、大豆等作物为重点,开展泛基因组图谱构建的算法研发:对参考基因组、大规模群体重测序数据、长读长测序数据进行整合,以图论为基础,构建核心基因组与可变基因组的参考模型;结构变异的算法研发:利用基因组比对,获得基因组结构变异,对群体重测序数据进行挖掘,研究结构变异的群体分布;从结构变异对基因表达、染色体状态、蛋白质功能变化的影响,探究基因组结构变异对产量、品质、抗病等农艺性状的分子调控机制。

3.3.2 基因组大数据存储、整合、挖掘技术的研发

针对基因组大数据,可以开展三个方向的研究:基因组大数据的高效存储;对公共重测序数据的整合;基于基因组大数据分析的生物学规律探索。项目建议以小麦等具有复杂基因组结构的农作物为对象,开展以物种为单位的公共重测序数

据的整合: 建立重测序数据规范、统一的数据处理标准, 研究不同实验室、不同测序平台、不同测序标准的数据均一化策略; 建立基于大数据技术的农作物基因序列与变异数据库, 研究高效的基因组数据检索方法; 通过大规模的数据挖掘, 研究农作物与模式植物基因组的进化机制。

3.3.3 复杂基因组解码技术的开发

围绕复杂基因组解码的核心问题, 建议开展几项算法的升级: 包括多倍体植物基因组的测序技术与组装算法; 杂合基因组的测序技术与组装算法; 超大基因组的测序技术与组装算法。项目建议支持针对小麦、马铃薯等农作物的测序策略与组装算法研发: 以二代高通量测序技术与三代长读长测序技术为基础, 开发针对复杂基因组的策略以及相应的算法; 对杂合基因组进行单倍型拆分, 研究其遗传规律; 研究多倍体基因组的亚基因组构成, 复杂基因组的染色体行为、染色体状态以及遗传重组规律。

3.3.4 植物组蛋白修饰、组蛋白变体和DNA甲基化研究

围绕DNA和组蛋白修饰, 建议支持几个方向的研究项目: 单细胞全基因组水平组蛋白修饰、组蛋白变体和DNA甲基化的检测和定量分析; 组蛋白修饰、组蛋白变体和DNA甲基化的“Writer”、“Eraser”及“Reader”之间的互作关系以及如何协同参与植物特别是作物的生长发育; 组蛋白修饰、组蛋白变体和DNA甲基化在基因组位点的特异性动态变化与环境信号的关联; 组蛋白修饰、组蛋白变体和DNA甲基化在表观记忆中的功能; 组蛋白修饰、组蛋白变体和DNA甲基化在植物物种进化中的作用。

3.3.5 小分子RNA及非编码RNA研究

小分子RNA与非编码RNA研究领域的前沿方向包括: 非编码RNA参与植物发育的功能解析; 非编码RNA调控基因功能的作用机理; miRNA-靶基因调控网络鉴定; 功能小分子RNA表达的精细调控; 小分子RNA及靶基因在作物性状改良中应用; 小分子RNA移动机制及功能解析; 小分子RNA及靶基因变异在表型多样性及进化中作用。项目建议支持以下研究内容:

(1)开发适应于作物的低成本、高精度的非编

码RNA检测方法, 鉴定不同物种特别是作物中与重要农艺性状相关的非编码RNA, 分析其功能。

(2)对非编码RNA参与转录调控、剪切、翻译、稳定性维持及招募其他生物大分子功能与调节模式解析。

(3)开发高精度的小分子RNA时空表达检测技术, 解析小分子RNA及靶基因时空动态调控规律及功能。

(4)鉴定植物-植物、植物-微生物、植物-动物互作中移动的功能小分子RNA及靶基因, 揭示移动机制, 解析跨界调控的作用。

(5)结合基因编辑技术, 进行小分子RNA调控靶基因的精准设计, 建立靶基因表达多样性, 应用于作物重要农艺性状改良。

(6)群体水平上分析小分子RNA及靶基因变异, 关联重要表型或环境适应性, 揭示其介导表型多样性及在驯化和进化中的作用。

3.3.6 RNA修饰、RNA结构研究

针对该新兴的领域, 建议开展几个方向的研究: 开发适应于作物的低成本、高精度的RNA修饰检测方法, 鉴定不同物种特别是作物中介导RNA修饰的多种“Writer”、“Eraser”及“Reader”, 分析其功能; 进行群体水平的RNA修饰分析, 关联基因型、表型和转录水平的数据, 进行RNA修饰差异位点与作物重要器官发育以及抗逆、抗病、资源高效等农艺性状形成的关联, 解析其调控功能; 功能性RNA结构的分子功能解析, 包括RNA剪切、翻译、稳定性维持及RNA与其他生物大分子互作中发挥关键调控作用的RNA结构元件的鉴定与调节模式解析; RNA高级结构在温度、水分、养分、小分子代谢物等环境响应中的变构模式解析与分子调节功能, 以及调控作物性状形成的关键RNA结构的数字化设计与先导编辑应用; 作物泛RNA修饰及RNA结构组学以及RNA修饰和结构在介导亚种分化与作物驯化中的功能解析和应用。

3.3.7 染色质结构研究

围绕染色质的高级结构, 建议支持几个方向的研究项目: 开发低成本、高分辨率的染色质三维构象检测技术和分析流程, 对主要作物进行多组织、不同发育时期的三维构象分析, 明确不同倍性、大

小基因组的三维构象特征, 探究三维构象改变在亚种分化与作物驯化中的功能; 进行群体水平的染色质构象分析, 鉴定差异的构象位点, 关联基因转录调控以及作物表型, 解析三维构象参与作物性状形成的机理; 鉴定参与塑造染色质三维结构的因子, 探究其功能, 并从进化的角度探讨这些结构因子在物种演化中的作用; 开发特异靶向三维结构形成关键区域的编辑工具, 实现对局部染色质三维构象、甚至于大尺度染色质行为的可操控性的改变。

3.3.8 优异表观修饰变异挖掘及育种应用

在挖掘和应用表观变异的方向, 建议支持几个方向的研究项目: 基于泛表观组学分析, 开拓表观等位变异的挖掘和epi-GWAS促进性状的调控机理解析, 筛选优异的表观等位变异, 用于作物育种; 研究跨代表观修饰位点的擦除与重置机制, 创制优异表观等位变异及保留其在不同代际的稳定遗传, 应用于育种; 开发高效、精准、定向的表观遗传育种新技术, 包括DNA甲基化、RNA甲基化、组蛋白修饰位点的定点编辑等。

参考文献(References)

- 1001 Genomes Consortium (2016). 1,135 genomes reveal the global pattern of polymorphism in *Arabidopsis thaliana*. *Cell*, 166: 481–491
- Archacki R, Buszewicz D, Sarnowski TJ, et al (2013). BRAHMA ATPase of the SWI/SNF chromatin remodeling complex acts as a positive regulator of gibberellin-mediated responses in *Arabidopsis*. *PLOS One*, 8: e58588
- Arribas-Hernandez L, Bressendorff S, Hansen MH, et al (2018). An m⁶A-YTH module controls developmental timing and morphogenesis in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 30: 952–967
- Arshad M, Feyissa BA, Amyot L, et al (2017). MicroRNA156 improves drought stress tolerance in alfalfa (*Medicago sativa*) by silencing *SPL13*. *Plant Sci*, 258: 122–136
- Baulcombe DC, Dean C (2014). Epigenetic regulation in plant responses to the environment. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 6: a019471
- Bellegarde F, Maghiaoui A, Boucherez J, et al (2019). The chromatin factor HNI9 and ELONGATED HYPOCOTYL5 maintain ROS homeostasis under high nitrogen provision. *Plant Physiol*, 180: 582–592
- Belser C, Baurens FC, Noel B, et al (2021). Telomere-to-telomere gapless chromosomes of banana using nanopore sequencing. *Commun Biol*, 4: 1047
- Berry S, Rosa S, Howard M, et al (2017). Disruption of an RNA-binding hinge region abolishes LHP1-mediated epigenetic repression. *Gene Dev*, 31: 2115–2120
- Borg M, Jacob Y, Susaki D, et al (2020). Targeted reprogramming of H3K27me3 resets epigenetic memory in plant paternal chromatin. *Nat Cell Biol*, 22: 621–629
- Bourbousse C, Mestiri I, Zabulon G, et al (2015). Light signaling controls nuclear architecture reorganization during seedling establishment. *Proc Natl Acad Sci USA*, 112: E2836–E2844
- Burton JN, Adey A, Patwardhan RP, et al (2013). Chromosome-scale scaffolding of *de novo* genome assemblies based on chromatin interactions. *Nat Biotechnol*, 31: 1119–1125
- Buttress T, He SB, Wang L, et al (2022). Histone H2B.8 compacts flowering plant sperm through chromatin phase separation. *Nature*, 611: 614–622
- Cao S, Wang LF, Han TW, et al (2022). Small RNAs mediate transgenerational inheritance of genome-wide *trans*-acting epialleles in maize. *Genome Biol*, 23: 53
- Carter B, Bishop B, Ho KK, et al (2018). The chromatin remodelers PKL and PIE1 act in an epigenetic pathway that determines H3K27me3 homeostasis in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 30: 1337–1352
- Chan ZL, Wang YP, Cao MJ, et al (2016). *RDM4* modulates cold stress resistance in *Arabidopsis* partially through the *CBF*-mediated pathway. *New Phytol*, 209: 1527–1539
- Chen M, MacGregor DR, Dave A, et al (2014). Maternal temperature history activates Flowering Locus T in fruits to control progeny dormancy according to time of year. *Proc Natl Acad Sci USA*, 111: 18787–18792
- Chen M, Penfield S (2018). Feedback regulation of *COOLAIR* expression controls seed dormancy and flowering time. *Science*, 360: 1014–1016
- Chen P, Jager G, Zheng B (2010). Transfer RNA modifications and genes for modifying enzymes in *Arabidopsis thaliana*. *BMC Plant Biol*, 10: 201
- Chen QY, Li WY, Tan LB, et al (2021). Harnessing knowledge from maize and rice domestication for new crop breeding. *Mol Plant*, 14: 9–26
- Chen WK, Chen L, Zhang X, et al (2022). Convergent selection of a WD40 protein that enhances grain yield in maize and rice. *Science*, 375: eabg7985
- Cheng CY, Tarutani Y, Miyao A, et al (2015). Loss of function mutations in the rice chromomethylase OsCMT3a cause a burst of transposition. *Plant J*, 83: 1069–1081
- Cheng HY, Concepcion GT, Feng XW, et al (2021a). Haplotype-resolved *de novo* assembly using phased assembly graphs with hifiasm. *Nat Methods*, 18: 170–175
- Cheng SF, Melkonian M, Smith SA, et al (2018a). 10KP: a

- phylodiverse genome sequencing plan. *Gigascience*, 7: 1–9
- Cheng XL, He Q, Tang S, et al (2021b). The miR172/*IDS1* signaling module confers salt tolerance through maintaining ROS homeostasis in cereal crops. *New Phytol*, 230: 1017–1033
- Cheng XL, Zhang SX, Tao WC, et al (2018b). INDETERMINATE SPIKELET1 recruits histone deacetylase and a transcriptional repression complex to regulate rice salt tolerance. *Plant Physiol*, 178: 824–837
- Chin CS, Peluso P, Sedlazeck FJ, et al (2016). Phased diploid genome assembly with single-molecule real-time sequencing. *Nat Methods*, 13: 1050–1054
- Chung BYW, Balcerowicz M, Di Antonio M, et al (2020). An RNA thermoswitch regulates daytime growth in *Arabidopsis*. *Nat Plants*, 6: 522–532
- Chung PJ, Kim YS, Jeong JS, et al (2009). The histone deacetylase OsHDAC1 epigenetically regulates the *OsNAC6* gene that controls seedling root growth in rice. *Plant J*, 59: 764–776
- Cortijo S, Charoensawan V, Brestovitsky A, et al (2017). Transcriptional regulation of the ambient temperature response by H2A.Z nucleosomes and HSF1 transcription factors in *Arabidopsis*. *Mol Plant*, 10: 1258–1273
- Cui X, Lu FL, Qiu Q, et al (2016). REF6 recognizes a specific DNA sequence to demethylate H3K27me3 and regulate organ boundary formation in *Arabidopsis*. *Nat Genet*, 48: 694–699
- Cui XY, Zheng Y, Lu Y, et al (2021). Metabolic control of histone demethylase activity involved in plant response to high temperature. *Plant Physiol*, 185: 1813–1828
- David R, Burgess A, Parker B, et al (2017). Transcriptome-wide mapping of RNA 5-methylcytosine in *Arabidopsis* mRNAs and noncoding RNAs. *Plant Cell*, 29: 445–460
- Deng Y, Liu SC, Zhang YL, et al (2022). A telomere-to-telomere gap-free reference genome of watermelon and its mutation library provide important resources for gene discovery and breeding. *Mol Plant*, 15: 1268–1284
- Deng YW, Zhai KR, Xie Z, et al (2017). Epigenetic regulation of antagonistic receptors confers rice blast resistance with yield balance. *Science*, 355: 962–965
- Ding Y, Avramova Z, Fromm M (2011). The *Arabidopsis* trithorax-like factor ATX1 functions in dehydration stress responses via ABA-dependent and ABA-independent pathways. *Plant J*, 66: 735–744
- Ding Y, Fromm M, Avramova Z (2012). Multiple exposures to drought ‘train’ transcriptional responses in *Arabidopsis*. *Nat Commun*, 3: 740
- Dogan ES, Liu C (2018). Three-dimensional chromatin packing and positioning of plant genomes. *Nat Plants*, 4: 521–529
- Dominissini D, Moshitch-Moshkovitz S, Schwartz S, et al (2012). Topology of the human and mouse m⁶A RNA methylomes revealed by m⁶A-seq. *Nature*, 485: 201–206
- Dong PF, Tu XY, Chu PY, et al (2017). 3D chromatin architecture of large plant genomes determined by local A/B compartments. *Mol Plant*, 10: 1497–1509
- Dong PF, Tu XY, Li HX, et al (2020). Tissue-specific Hi-C analyses of rice, foxtail millet and maize suggest non-canonical function of plant chromatin domains. *J Integr Plant Biol*, 62: 201–217
- Du QG, Zhao M, Gao W, et al (2017). microRNA/microRNA* complementarity is important for the regulation pattern of *NFYA5* by miR169 under dehydration shock in *Arabidopsis*. *Plant J*, 91: 22–33
- Du X, Yang ZL, Xie GH, et al (2023). Molecular basis of the plant ROS1-mediated active DNA demethylation. *Nat Plants*, 9: 271–279
- Duan CG, Zhu JK, Cao XF (2018). Retrospective and perspective of plant epigenetics in China. *J Genet Genomics*, 45: 621–638
- Duan HC, Wei LH, Zhang C, et al (2017). ALKBH10B is an RNA N⁶-methyladenosine demethylase affecting *Arabidopsis* floral transition. *Plant Cell*, 29: 2995–3011
- Duan PG, Ni S, Wang JM, et al (2016). Regulation of *OsGRF4* by OsmiR396 controls grain size and yield in rice. *Nat Plants*, 2: 15203
- Ebler J, Ebert P, Clarke WE, et al (2022). Pangenome-based genome inference allows efficient and accurate genotyping across a wide spectrum of variant classes. *Nat Genet*, 54: 518–525
- Fan YR, Yang JY, Mathioni SM, et al (2016). *PMSIT*, producing phased small-interfering RNAs, regulates photoperiod-sensitive male sterility in rice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 113: 15144–15149
- Fiedler M, Franco-Echevarria E, Schulten A, et al (2022). Head-to-tail polymerization by VEL proteins underpins cold-induced Polycomb silencing in flowering control. *Cell Rep*, 41: 111607
- Fitz-James MH, Cavalli G (2022). Molecular mechanisms of transgenerational epigenetic inheritance. *Nat Rev Genet*, 23: 325–341
- Foroozani M, Zahraeifard S, Oh DH, et al (2020). Low-phosphate chromatin dynamics predict a cell wall remodeling network in rice shoots. *Plant Physiol*, 182: 1494–1509
- Franco-Echevarria E, Rutherford TJ, Fiedler M, et al (2022). Plant vernalization proteins contain unusual PHD superdomains without histone H3 binding activity. *J Biol Chem*, 298: 102540

- Gallego-Bartolome J, Gardiner J, Liu WL, et al (2018). Targeted DNA demethylation of the *Arabidopsis* genome using the human TET1 catalytic domain. *Proc Natl Acad Sci USA*, 115: E2125–E2134
- Gallusci P, Agius DR, Moschou PN, et al (2023). Deep inside the epigenetic memories of stressed plants. *Trends Plant Sci*, 28: 142–153
- Gao F, Wang K, Liu Y, et al (2016). Blocking miR396 increases rice yield by shaping inflorescence architecture. *Nat Plants*, 2: 15196
- Gautrat P, Laffont C, Frugier F (2020). Compact Root Architecture 2 promotes root competence for nodulation through the miR2111 systemic effector. *Curr Biol*, 30: 1339–1345
- Ge JH, Yu YT (2013). RNA pseudouridylation: new insights into an old modification. *Trends Biochem Sci*, 38: 210–218
- Gent JJ, Higgins KM, Swentowsky KW, et al (2022). The maize gene *maternal derepression of r1* encodes a DNA glycosylase that demethylates DNA and reduces siRNA expression in the endosperm. *Plant Cell*, 34: 3685–3701
- Gu DC, Chen CY, Zhao ML, et al (2017). Identification of HDA15-PIF1 as a key repression module directing the transcriptional network of seed germination in the dark. *Nucleic Acids Res*, 45: 7137–7150
- Hao CY, Jiao CZ, Hou J, et al (2020). Resequencing of 145 landmark cultivars reveals asymmetric sub-genome selection and strong founder genotype effects on wheat breeding in China. *Mol Plant*, 13: 1733–1751
- Harrington KM, Nazarenko IA, Dix DB, et al (1993). *In vitro* analysis of translational rate and accuracy with an unmodified tRNA. *Biochemistry*, 32: 7617–7622
- He F, Pasam R, Shi F, et al (2019). Exome sequencing highlights the role of wild-relative introgression in shaping the adaptive landscape of the wheat genome. *Nat Genet*, 51: 896–904
- He KX, Mei HL, Zhu JP, et al (2022). The histone H3K27 demethylase REF6/JMJ12 promotes thermomorphogenesis in *Arabidopsis*. *Natl Sci Rev*, 9: nwab213
- He PC, He C (2021). m⁶A RNA methylation: from mechanisms to therapeutic potential. *EMBO J*, 40: e105977
- He XJ, Chen TP, Zhu JK (2011). Regulation and function of DNA methylation in plants and animals. *Cell Res*, 21: 442–465
- He YH, Li ZC (2018). Epigenetic environmental memories in plants: establishment, maintenance, and reprogramming. *Trends Genet*, 34: 856–866
- Higo A, Saihara N, Miura F, et al (2020). DNA methylation is reconfigured at the onset of reproduction in rice shoot apical meristem. *Nat Commun*, 11: 4079
- Hou XR, Wang DP, Cheng ZK, et al (2022). A near-complete assembly of an *Arabidopsis thaliana* genome. *Mol Plant*, 15: 1247–1250
- Hou YF, Sun J, Wu BX, et al (2021). CPSF30-L-mediated recognition of mRNA m⁶A modification controls alternative polyadenylation of nitrate signaling-related gene transcripts in *Arabidopsis*. *Mol Plant*, 14: 688–699
- Hu DH, Yu YM, Wang C, et al (2021). Multiplex CRISPR-Cas9 editing of DNA methyltransferases in rice uncovers a class of non-CG methylation specific for GC-rich regions. *Plant Cell*, 33: 2950–2964
- Hu J, Wang YX, Fang YX, et al (2015). A rare allele of *GS2* enhances grain size and grain yield in rice. *Mol Plant*, 8: 1455–1465
- Hu LJ, Li N, Xu CM, et al (2014). Mutation of a major CG methylase in rice causes genome-wide hypomethylation, dysregulated genome expression, and seedling lethality. *Proc Natl Acad Sci USA*, 111: 10642–10647
- Huang G, Wu ZG, Percy RG, et al (2020). Genome sequence of *Gossypium herbaceum* and genome updates of *Gossypium arboreum* and *Gossypium hirsutum* provide insights into cotton A-genome evolution. *Nat Genet*, 52: 516–524
- Huang XH, Huang SW, Han B, et al (2022). The integrated genomics of crop domestication and breeding. *Cell*, 185: 2828–2839
- Huang XH, Kurata N, Wei XH, et al (2012). A map of rice genome variation reveals the origin of cultivated rice. *Nature*, 490: 497–501
- Hubner S, Bercovich N, Todesco M, et al (2019). Sunflower pan-genome analysis shows that hybridization altered gene content and disease resistance. *Nat Plants*, 5: 54–62
- Hufford MB, Seetharam AS, Woodhouse MR, et al (2021). *De novo* assembly, annotation, and comparative analysis of 26 diverse maize genomes. *Science*, 373: 655–662
- Hufford MB, Xu X, van Heerwaarden J, et al (2012). Comparative population genomics of maize domestication and improvement. *Nat Genet*, 44: 808–811
- Islam MT, Wang LC, Chen IJ, et al (2021). *Arabidopsis* MJ17 promotes cotyledon greening during de-etiolation by repressing genes involved in tetrapyrrole biosynthesis in etiolated seedlings. *New Phytol*, 231: 1023–1039
- Jain M, Koren S, Miga KH, et al (2018). Nanopore sequencing and assembly of a human genome with ultra-long reads. *Nat Biotechnol*, 36: 338–345
- Jarvis DE, Ho YS, Lightfoot DJ, et al (2017). The genome of *Chenopodium quinoa*. *Nature*, 542: 307–312
- Jayakodi M, Padmarasu S, Haberer G, et al (2020). The barley pan-genome reveals the hidden legacy of mutation breeding. *Nature*, 588: 284–289
- Jegu T, Domenichini S, Blein T, et al (2015). A SWI/SNF

- chromatin remodelling protein controls cytokinin production through the regulation of chromatin architecture. *PLOS One*, 10: e0138276
- Jiang CF, Mithani A, Belfield EJ, et al (2014). Environmentally responsive genome-wide accumulation of *de novo Arabidopsis thaliana* mutations and epimutations. *Genome Res*, 24: 1821–1829
- Jiang DH, Berger F (2017). DNA replication-coupled histone modification maintains Polycomb gene silencing in plants. *Science*, 357: 1146–1149
- Jiang PF, Lian B, Liu CZ, et al (2020). 21-nt phasiRNAs direct target mRNA cleavage in rice male germ cells. *Nat Commun*, 11: 5191
- Jiao C, Hao C, Li T, et al (2023). Fast integration and accumulation of breeding beneficial alleles through AB-NAMIC strategy in wheat. *Plant Commun*, 4: 100549
- Jiao YP, Zhao HN, Ren LH, et al (2012). Genome-wide genetic changes during modern breeding of maize. *Nat Genet*, 44: 812–815
- Jiao YQ, Wang YH, Xue DW, et al (2010). Regulation of *Os-SPL14* by OsmiR156 defines ideal plant architecture in rice. *Nat Genet*, 42: 541–544
- Jing YJ, Guo Q, Zha P, et al (2019). The chromatin-remodelling factor PICKLE interacts with CONSTANS to promote flowering in *Arabidopsis*. *Plant Cell Environ*, 42: 2495–2507
- Kawakatsu T, Huang SSC, Jupe F, et al (2016). Epigenomic diversity in a global collection of *Arabidopsis thaliana* accessions. *Cell*, 166: 492–505
- Kersey PJ (2019). Plant genome sequences: past, present, future. *Curr Opin Plant Biol*, 48: 1–8
- Kim J, Bordiya Y, Kathare PK, et al (2021). Phytochrome B triggers light-dependent chromatin remodelling through the PRC2-associated PHD finger protein VIL1. *Nat Plants*, 7: 1213–1219
- Kindgren P, Ard R, Ivanov M, et al (2018). Transcriptional read-through of the long non-coding RNA *SVALK*A governs plant cold acclimation. *Nat Commun*, 9: 4561
- Kolmogorov M, Yuan J, Lin Y, et al (2019). Assembly of long, error-prone reads using repeat graphs. *Nat Biotechnol*, 37: 540–546
- Koren S, Walenz BP, Berlin K, et al (2017). Canu: scalable and accurate long-read assembly via adaptive *k*-mer weighting and repeat separation. *Genome Res*, 27: 722–736
- Kouzarides T (2007). Chromatin modifications and their function. *Cell*, 128: 693–705
- Kumar S, Beena AS, Awana M, et al (2017). Salt-induced tissue-specific cytosine methylation downregulates expression of *HKT* genes in contrasting wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes. *DNA Cell Biol*, 36: 283–294
- Kumar SV, Lucyshyn D, Jaeger KE, et al (2012). Transcription factor PIF4 controls the thermosensory activation of flowering. *Nature*, 484: 242–245
- Kumar SV, Wigge PA (2010). H2A.Z-containing nucleosomes mediate the thermosensory response in *Arabidopsis*. *Cell*, 140: 136–147
- Lam ET, Hastie A, Lin C, et al (2012). Genome mapping on nanochannel arrays for structural variation analysis and sequence assembly. *Nat Biotechnol*, 30: 771–776
- Lamke J, Brzezinka K, Altmann S, et al (2016). A hit-and-run heat shock factor governs sustained histone methylation and transcriptional stress memory. *EMBO J*, 35: 162–175
- Lang ZB, Wang YH, Tang K, et al (2017). Critical roles of DNA demethylation in the activation of ripening-induced genes and inhibition of ripening-repressed genes in tomato fruit. *Proc Natl Acad Sci USA*, 114: E4511–E4519
- Lenser T, Theissen G (2013). Molecular mechanisms involved in convergent crop domestication. *Trends Plant Sci*, 18: 704–714
- Li AF, Hu B, Chu CC (2021a). Epigenetic regulation of nitrogen and phosphorus responses in plants. *J Plant Physiol*, 258–259: 153363
- Li AL, Hao CY, Wang ZY, et al (2022a). Wheat breeding history reveals synergistic selection of pleiotropic genomic sites for plant architecture and grain yield. *Mol Plant*, 15: 504–519
- Li CL, Chen C, Gao L, et al (2015a). The *Arabidopsis* SWI2/SNF2 chromatin remodeler BRAHMA regulates Polycomb function during vegetative development and directly activates the flowering repressor gene *SVP*. *PLOS Genet*, 11: e1004944
- Li E, Liu H, Huang LL, et al (2019). Long-range interactions between proximal and distal regulatory regions in maize. *Nat Commun*, 10: 2633
- Li GW, Wang LJ, Yang JP, et al (2021b). A high-quality genome assembly highlights rye genomic characteristics and agronomically important genes. *Nat Genet*, 53: 574–584
- Li HB, Wang SH, Chai S, et al (2022b). Graph-based pan-genome reveals structural and sequence variations related to agronomic traits and domestication in cucumber. *Nat Commun*, 13: 682
- Li JW, Yang DL, Huang H, et al (2020a). Epigenetic memory marks determine epiallele stability at loci targeted by *de novo* DNA methylation. *Nat Plants*, 6: 661–674
- Li K, Jiang WK, Hui YY, et al (2021c). Gapless *indica* rice genome reveals synergistic contributions of active transposable elements and segmental duplications to rice genome evolution. *Mol Plant*, 14: 1745–1756

- Li Q, Eichten SR, Hermanson PJ, et al (2014a). Inheritance patterns and stability of DNA methylation variation in maize near-isogenic lines. *Genetics*, 196: 667–676
- Li T, Zhang RY, Satheesh V, et al (2022c). The chromatin remodeler BRAHMA recruits HISTONE DEACETYLASE6 to regulate root growth inhibition in response to phosphate starvation in *Arabidopsis*. *J Integr Plant Biol*, 64: 2314–2326
- Li Y, Brooks M, Yeoh-Wang J, et al (2020b). SDG8-mediated histone methylation and RNA processing function in the response to nitrate signaling. *Plant Physiol*, 182: 215–227
- Li Y, Mukherjee I, Thum KE, et al (2015b). The histone methyltransferase SDG8 mediates the epigenetic modification of light and carbon responsive genes in plants. *Genome Biol*, 16: 79
- Li Y, Wang X, Li C, et al (2014b). Transcriptome-wide N^6 -methyladenosine profiling of rice callus and leaf reveals the presence of tissue-specific competitors involved in selective mRNA modification. *RNA Biol*, 11: 1180–1188
- Liang ZK, Anderson SN, Noshay JM, et al (2021). Genetic and epigenetic variation in transposable element expression responses to abiotic stress in maize. *Plant Physiol*, 186: 420–433
- Lieberman-Aiden E, van Berkum NL, Williams L, et al (2009). Comprehensive mapping of long-range interactions reveals folding principles of the human genome. *Science*, 326: 289–293
- Lim CJ, Park J, Shen M, et al (2020). The histone-modifying complex PWR/HOS15/HD2C epigenetically regulates cold tolerance. *Plant Physiol*, 184: 1097–1111
- Liu C, Cheng YJ, Wang JW, et al (2017a). Prominent topologically associated domains differentiate global chromatin packing in rice from *Arabidopsis*. *Nat Plants*, 3: 742–748
- Liu CY, Lu FL, Cui X, et al (2010). Histone methylation in higher plants. *Annu Rev Plant Biol*, 61: 395–420
- Liu F, Xu YR, Chang KX, et al (2019a). The long noncoding RNA *T5120* regulates nitrate response and assimilation in *Arabidopsis*. *New Phytol*, 224: 117–131
- Liu HJ, Wang XQ, Xiao YJ, et al (2020a). CUBIC: an atlas of genetic architecture promises directed maize improvement. *Genome Biol*, 21: 20
- Liu JN, Seetharam AS, Chougule K, et al (2020b). Gapless assembly of maize chromosomes using long-read technologies. *Genome Biol*, 21: 121
- Liu JZ, Feng LL, Gu XT, et al (2019b). An H3K27me3 demethylase-HSFA2 regulatory loop orchestrates transgenerational thermomemory in *Arabidopsis*. *Cell Res*, 29: 379–390
- Liu QG, Wang ZC, Yu S, et al (2021a). Pu-miR172d regulates stomatal density and water-use efficiency via targeting *PuGTL1* in poplar. *J Exp Bot*, 72: 1370–1383
- Liu QP, Zhou YF, Morrell PL, et al (2017b). Deleterious variants in Asian rice and the potential cost of domestication. *Mol Biol Evol*, 34: 908–924
- Liu R, Li XQ, Chen W, et al (2018a). Structure and mechanism of plant histone mark readers. *Sci China Life Sci*, 61: 170–177
- Liu RE, How-Kit A, Stammitti L, et al (2015). A DEMETER-like DNA demethylase governs tomato fruit ripening. *Proc Natl Acad Sci USA*, 112: 10804–10809
- Liu Y, Chen X, Xue S, et al (2021b). SET DOMAIN GROUP 721 protein functions in saline-alkaline stress tolerance in the model rice variety Kitaake. *Plant Biotechnol J*, 19: 2576–2588
- Liu Y, Li D, Yan J, et al (2019c). MiR319-mediated ethylene biosynthesis, signalling and salt stress response in switchgrass. *Plant Biotechnol J*, 17: 2370–2383
- Liu YC, Du HL, Li PC, et al (2020c). Pan-genome of wild and cultivated soybeans. *Cell*, 182: 162–176
- Liu YT, Zhang A, Yin H, et al (2018b). Trithorax-group proteins ARABIDOPSIS TRITHORAX4 (ATX4) and ATX5 function in abscisic acid and dehydration stress responses. *New Phytol*, 217: 1582–1597
- Lozano R, Gazave E, dos Santos JPR, et al (2019). Comparative evolutionary analysis and prediction of deleterious mutation patterns between sorghum and maize. *bioRxiv*, doi: 10.1101.777623
- Lu S, Li CY, Zhang Y, et al (2017). Functional disruption of a chloroplast pseudouridine synthase desensitizes *Arabidopsis* plants to phosphate starvation. *Front Plant Sci*, 8: 1421
- Luo GZ, MacQueen A, Zheng G, et al (2014). Unique features of the m^6A methylome in *Arabidopsis thaliana*. *Nat Commun*, 5: 5630
- Luo X, He YH (2020). Experiencing winter for spring flowering: a molecular epigenetic perspective on vernalization. *J Integr Plant Biol*, 62: 104–117
- Luo X, Ou Y, Li R, et al (2020). Maternal transmission of the epigenetic ‘memory of winter cold’ in *Arabidopsis*. *Nat Plants*, 6: 1211–1218
- Ma SQ, Tang N, Li X, et al (2019). Reversible histone H2B monoubiquitination fine-tunes abscisic acid signaling and drought response in rice. *Mol Plant*, 12: 263–277
- Mao HD, Wang HW, Liu SX, et al (2015). A transposable element in a *NAC* gene is associated with drought tolerance in maize seedlings. *Nat Commun*, 6: 8326
- Mao Y, Xu J, Wang Q, et al (2021a). A natural antisense transcript acts as a negative regulator for the maize drought stress response gene *ZmNAC48*. *J Exp Bot*, 72: 2790–

- 2806
- Mao YB, Liu YQ, Chen DY, et al (2017). Jasmonate response decay and defense metabolite accumulation contributes to age-regulated dynamics of plant insect resistance. *Nat Commun*, 8: 13925
- Mao ZL, Wei XX, Li L, et al (2021b). *Arabidopsis* cryptochrome 1 controls photomorphogenesis through regulation of H2A.Z deposition. *Plant Cell*, 33: 1961–1979
- Marks RA, Hotelling S, Frandsen PB, et al (2021). Representation and participation across 20 years of plant genome sequencing. *Nat Plants*, 7: 1571–1578
- Marmorstein R, Zhou MM (2014). Writers and readers of histone acetylation: structure, mechanism, and inhibition. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 6: a018762
- Martinez-Perez M, Aparicio F, Lopez-Gresa MP, et al (2017). *Arabidopsis* m⁶A demethylase activity modulates viral infection of a plant virus and the m⁶A abundance in its genomic RNAs. *Proc Natl Acad Sci USA*, 114: 10755–10760
- Mayer M, Holker AC, Gonzalez-Segovia E, et al (2020). Discovery of beneficial haplotypes for complex traits in maize landraces. *Nat Commun*, 11: 4954
- Miao CB, Wang Z, Zhang L, et al (2019). The grain yield modulator miR156 regulates seed dormancy through the gibberellin pathway in rice. *Nat Commun*, 10: 3822
- Naish M, Alonge M, Wlodzimierz P, et al (2021). The genetic and epigenetic landscape of the *Arabidopsis* centromeres. *Science*, 374: eabi7489
- Navratilova P, Toegelova H, Tulpova Z, et al (2022). Prospects of telomere-to-telomere assembly in barley: analysis of sequence gaps in the MorexV3 reference genome. *Plant Biotechnol J*, 20: 1373–1386
- Ning YQ, Ma ZY, Huang HW, et al (2015). Two novel NAC transcription factors regulate gene expression and flowering time by associating with the histone demethylase JMJ14. *Nucleic Acids Res*, 43: 1469–1484
- Niu CD, Jiang LJ, Cao FG, et al (2022). Methylation of a MITE insertion in the *MdRFNRI-1* promoter is positively associated with its allelic expression in apple in response to drought stress. *Plant Cell*, 34: 3983–4006
- Ojolo SP, Cao SJ, Priyadarshani SVGN, et al (2018). Regulation of plant growth and development: a review from a chromatin remodeling perspective. *Front Plant Sci*, 9: 1232
- Ouyang WZ, Xiong D, Li GL, et al (2020). Unraveling the 3D genome architecture in plants: present and future. *Mol Plant*, 13: 1676–1693
- Pajoro A, Severing E, Angenent GC, et al (2017). Histone H3 lysine 36 methylation affects temperature-induced alternative splicing and flowering in plants. *Genome Biol*, 18: 102
- Pan WJ, Tao JJ, Cheng T, et al (2016). Soybean *miR172a* improves salt tolerance and can function as a long-distance signal. *Mol Plant*, 9: 1337–1340
- Papikian A, Liu WL, Gallego-Bartolome J, et al (2019). Site-specific manipulation of *Arabidopsis* loci using CRISPR-Cas9 SunTag systems. *Nat Commun*, 10: 729
- Park J, Lim CJ, Shen MZ, et al (2018). Epigenetic switch from repressive to permissive chromatin in response to cold stress. *Proc Natl Acad Sci USA*, 115: E5400–E5409
- Peirats-Llobet M, Han SK, Gonzalez-Guzman M, et al (2016). A direct link between abscisic acid sensing and the chromatin-remodeling ATPase BRAHMA via core ABA signaling pathway components. *Mol Plant*, 9: 136–147
- Peng M, Li Z, Zhou N, et al (2018). Linking PHYTOCHROME-INTERACTING FACTOR to histone modification in plant shade avoidance. *Plant Physiol*, 176: 1341–1351
- Peng YY, Yan HH, Guo LC, et al (2022). Reference genome assemblies reveal the origin and evolution of allohexaploid oat. *Nat Genet*, 54: 1248–1258
- Pilon M (2017). The copper microRNAs. *New Phytol*, 213: 1030–1035
- Popova OV, Dinh HQ, Aufsatz W, et al (2013). The RdDM pathway is required for basal heat tolerance in *Arabidopsis*. *Mol Plant*, 6: 396–410
- Qin P, Lu HW, Du HL, et al (2021). Pan-genome analysis of 33 genetically diverse rice accessions reveals hidden genomic variations. *Cell*, 184: 3542–3558
- Quadrana L, Almeida J, Asis R, et al (2014). Natural occurring epialleles determine vitamin E accumulation in tomato fruits. *Nat Commun*, 5: 4027
- Quadrana L, Colot V (2016). Plant transgenerational epigenetics. *Annu Rev Genet*, 50: 467–491
- Ramu P, Esuma W, Kawuki R, et al (2017). Cassava haplotype map highlights fixation of deleterious mutations during clonal propagation. *Nat Genet*, 49: 959–963
- Ruan J, Li H (2020). Fast and accurate long-read assembly with wtdbg2. *Nat Methods*, 17: 155–158
- Ruzicka K, Zhang M, Campilho A, et al (2017). Identification of factors required for m⁶A mRNA methylation in *Arabidopsis* reveals a role for the conserved E3 ubiquitin ligase HAKAI. *New Phytol*, 215: 157–172
- Sang Y, Silva-Ortega CO, Wu S, et al (2012). Mutations in two non-canonical *Arabidopsis* SWI2/SNF2 chromatin remodeling ATPases cause embryogenesis and stem cell maintenance defects. *Plant J*, 72: 1000–1014
- Schaefer M, Pollex T, Hanna K, et al (2009). RNA cytosine methylation analysis by bisulfite sequencing. *Nucleic Acids Res*, 37: e12

- Scheid R, Chen JN, Zhong XH (2021). Biological role and mechanism of chromatin readers in plants. *Curr Opin Plant Biol*, 61: 102008
- Scutenaire J, Deragon JM, Jean V, et al (2018). The YTH domain protein ECT2 is an m⁶A reader required for normal trichome branching in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 30: 986–1005
- Sere D, Martin A (2020). Epigenetic regulation: another layer in plant nutrition. *Plant Signal Behav*, 15: e1686236
- Severing E, Faino L, Jamge S, et al (2018). *Arabidopsis thaliana* ambient temperature responsive lncRNAs. *BMC Plant Biol*, 18: 145
- Shang LG, Li XX, He HY, et al (2022). A super pan-genomic landscape of rice. *Cell Res*, 32: 878–896
- Shen LS, Liang Z, Gu XF, et al (2016). N⁶-methyladenosine RNA modification regulates shoot stem cell fate in *Arabidopsis*. *Dev Cell*, 38: 186–200
- Shen Y, Lei TT, Cui XY, et al (2019). *Arabidopsis* histone deacetylase HDA15 directly represses plant response to elevated ambient temperature. *Plant J*, 100: 991–1006
- Shen YT, Zhang JX, Liu YC, et al (2018). DNA methylation footprints during soybean domestication and improvement. *Genome Biol*, 19: 128
- Shendure J, Ji H (2008). Next-generation DNA sequencing. *Nat Biotechnol*, 26: 1135–1145
- Shi CL, Zhang J, Wu BJ, et al (2022). Temperature-sensitive male sterility in rice determined by the roles of AGO1d in reproductive phasiRNA biogenesis and function. *New Phytol*, 236: 1529–1544
- Shi JP, Tian ZX, Lai JS, et al (2023). Plant pan-genomics and its applications. *Mol Plant*, 16: 168–186
- Si LZ, Chen JY, Huang XH, et al (2016). *OsSPL13* controls grain size in cultivated rice. *Nat Genet*, 48: 447–456
- Singh S, Kailasam S, Lo JC, et al (2021). Histone H3 lysine4 trimethylation-regulated *GRF11* expression is essential for the iron-deficiency response in *Arabidopsis thaliana*. *New Phytol*, 230: 244–258
- Song JM, Xie WZ, Wang S, et al (2021a). Two gap-free reference genomes and a global view of the centromere architecture in rice. *Mol Plant*, 14: 1757–1767
- Song PZ, Yang JB, Wang CL, et al (2021b). *Arabidopsis* N⁶-methyladenosine reader CPSF30-L recognizes FUE signals to control polyadenylation site choice in liquid-like nuclear bodies. *Mol Plant*, 14: 571–587
- Song XW, Li Y, Cao XF, et al (2019). MicroRNAs and their regulatory roles in plant-environment interactions. *Annu Rev Plant Biol*, 70: 489–525
- Song ZT, Zhang LL, Han JJ, et al (2021c). Histone H3K4 methyltransferases SDG25 and ATX1 maintain heat-stress gene expression during recovery in *Arabidopsis*. *Plant J*, 105: 1326–1338
- Spenkuch F, Motorin Y, Helm M (2014). Pseudouridine: still mysterious, but never a fake (uridine)! *RNA Biol*, 11: 1540–1554
- Stief A, Altmann S, Hoffmann K, et al (2014). *Arabidopsis miR156* regulates tolerance to recurring environmental stress through *SPL* transcription factors. *Plant Cell*, 26: 1792–1807
- Sun L, Xu Y, Bai S, et al (2019). Transcriptome-wide analysis of pseudouridylation of mRNA and non-coding RNAs in *Arabidopsis*. *J Exp Bot*, 70: 5089–5600
- Sun Q, Liu XG, Yang J, et al (2018). MicroRNA528 affects lodging resistance of maize by regulating lignin biosynthesis under nitrogen-luxury conditions. *Mol Plant*, 11: 806–814
- Sun S, Zhu JM, Guo RZ, et al (2021). DNA methylation is involved in acclimation to iron-deficiency in rice (*Oryza sativa*). *Plant J*, 107: 727–739
- Tan F, Zhou C, Zhou QW, et al (2016). Analysis of chromatin regulators reveals specific features of rice DNA methylation pathways. *Plant Physiol*, 171: 2041–2054
- Tang D, Jia YX, Zhang JZ, et al (2022a). Genome evolution and diversity of wild and cultivated potatoes. *Nature*, 606: 535–541
- Tang JY, Chu CC (2017). MicroRNAs in crop improvement: fine-tuners for complex traits. *Nat Plants*, 3: 17077
- Tang N, Ma SQ, Zong W, et al (2016). MODD mediates deactivation and degradation of OsbZIP46 to negatively regulate ABA signaling and drought resistance in rice. *Plant Cell*, 28: 2161–2177
- Tang SJ, Yang C, Wang D, et al (2022b). Targeted DNA demethylation produces heritable epialleles in rice. *Sci China Life Sci*, 65: 753–756
- Tang Y, Liu XC, Liu X, et al (2017). *Arabidopsis* NF-YCs mediate the light-controlled hypocotyl elongation via modulating histone acetylation. *Mol Plant*, 10: 260–273
- Tang YY, Gao CC, Gao Y, et al (2020). OsNSUN2-mediated 5-methylcytosine mRNA modification enhances rice adaptation to high temperature. *Dev Cell*, 53: 272–286
- Tao Z, Shen L, Gu X, et al (2017). Embryonic epigenetic reprogramming by a pioneer transcription factor in plants. *Nature*, 551: 124–128
- Teng C, Zhang H, Hammond R, et al (2020). *Dicer-like 5* deficiency confers temperature-sensitive male sterility in maize. *Nat Commun*, 11: 2912
- Tiwari B, Habermann K, Arif MA, et al (2020). Identification of small RNAs during cold acclimation in *Arabidopsis thaliana*. *BMC Plant Biol*, 20: 298
- Tsikou D, Yan Z, Holt DB, et al (2018). Systemic control of legume susceptibility to rhizobial infection by a mobile

- microRNA. *Science*, 362: 233–236
- Varshney RK, Roorkiwal M, Sun S, et al (2021). A chickpea genetic variation map based on the sequencing of 3,366 genomes. *Nature*, 599: 622–627
- Vercruyssen L, Verkest A, Gonzalez N, et al (2014). ANGUSTIFOLIA3 binds to SWI/SNF chromatin remodeling complexes to regulate transcription during *Arabidopsis* leaf development. *Plant Cell*, 26: 210–229
- Vespa L, Vachon G, Berger F, et al (2004). The immunophilin-interacting protein AtFIP37 from *Arabidopsis* is essential for plant development and is involved in trichome endoreduplication. *Plant Physiol*, 134: 1283–1292
- Walker J, Gao HB, Zhang JY, et al (2018). Sexual-lineage-specific DNA methylation regulates meiosis in *Arabidopsis*. *Nat Genet*, 50: 130–137
- Walkowiak S, Gao LL, Monat C, et al (2020). Multiple wheat genomes reveal global variation in modern breeding. *Nature*, 588: 277–283
- Wang B, Hou M, Shi J, et al (2023a). *De novo* genome assembly and analyses of 12 founder inbred lines provide insights into maize heterosis. *Nat Genet*, 55: 312–323
- Wang B, Yang XF, Jia YY, et al (2022a). High-quality *Arabidopsis thaliana* genome assembly with nanopore and HiFi long reads. *Genom Proteom Bioinf*, 20: 4–13
- Wang CM, Liu C, Roqueiro D, et al (2015a). Genome-wide analysis of local chromatin packing in *Arabidopsis thaliana*. *Genome Res*, 25: 246–256
- Wang J, Zhou L, Shi H, et al (2018a). A single transcription factor promotes both yield and immunity in rice. *Science*, 361: 1026–1028
- Wang L, Beissinger TM, Lorant A, et al (2017). The interplay of demography and selection during maize domestication and expansion. *Genome Biol*, 18: 215
- Wang LL, Zheng KZ, Zeng LJ, et al (2022b). Reinforcement of CHH methylation through RNA-directed DNA methylation ensures sexual reproduction in rice. *Plant Physiol*, 188: 1189–1209
- Wang M, Li J, Qi Z, et al (2022c). Genomic innovation and regulatory rewiring during evolution of the cotton genus *Gossypium*. *Nat Genet*, 54: 1959–1971
- Wang MJ, Wang PC, Lin M, et al (2018b). Evolutionary dynamics of 3D genome architecture following polyploidization in cotton. *Nat Plants*, 4: 90–97
- Wang S, Qian YQ, Zhao RP, et al (2023b). Graph-based pan-genomes: increased opportunities in plant genomics. *J Exp Bot*, 74: 24–39
- Wang SK, Li S, Liu Q, et al (2015b). The *OsSPL16-GW7* regulatory module determines grain shape and simultaneously improves rice yield and grain quality. *Nat Genet*, 47: 949–954
- Wang WS, Mauleon R, Hu ZQ, et al (2018c). Genomic variation in 3,010 diverse accessions of Asian cultivated rice. *Nature*, 557: 43–49
- Wang Z, Sun J, Zu XF, et al (2022d). Pseudouridylation of chloroplast ribosomal RNA contributes to low temperature acclimation in rice. *New Phytol*, 236: 1708–1720
- Wei LH, Song PZ, Wang Y, et al (2018). The m⁶A reader ECT2 controls trichome morphology by affecting mRNA stability in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 30: 968–985
- Wenger AM, Peluso P, Rowell WJ, et al (2019). Accurate circular consensus long-read sequencing improves variant detection and assembly of a human genome. *Nat Biotechnol*, 37: 1155–1162
- Whittaker C, Dean C (2017). The *FLC* locus: a platform for discoveries in epigenetics and adaptation. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 33: 555–575
- Wibowo A, Becker C, Marconi G, et al (2016). Hyperosmotic stress memory in *Arabidopsis* is mediated by distinct epigenetically labile sites in the genome and is restricted in the male germline by DNA glycosylase activity. *eLife*, 5: e13546
- Williams B, Gehring M (2017). Stable transgenerational epigenetic inheritance requires a DNA methylation-sensing circuit. *Nat Commun*, 8: 2124
- Willige BC, Zander M, Yoo CY, et al (2021). PHYTOCHROME-INTERACTING FACTORS trigger environmentally responsive chromatin dynamics in plants. *Nat Genet*, 53: 955–961
- Wu HH, Li BS, Iwakawa HO, et al (2020a). Plant 22-nt siRNAs mediate translational repression and stress adaptation. *Nature*, 581: 89–93
- Wu JG, Yang RX, Yang ZR, et al (2017). ROS accumulation and antiviral defence control by microRNA528 in rice. *Nat Plants*, 3: 16203
- Wu K, Wang SS, Song WZ, et al (2020b). Enhanced sustainable green revolution yield via nitrogen-responsive chromatin modulation in rice. *Science*, 367: eaaz2046
- Wu MF, Yamaguchi N, Xiao J, et al (2015). Auxin-regulated chromatin switch directs acquisition of flower primordium founder fate. *eLife*, 4: e09269
- Wu X, Xu JN, Meng XN, et al (2022). Linker histone variant *HIS1-3* and *WRKY1* oppositely regulate salt stress tolerance in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 189: 1833–1847
- Xiao J, Jin R, Yu X, et al (2017). *Cis* and *trans* determinants of epigenetic silencing by Polycomb repressive complex 2 in *Arabidopsis*. *Nat Genet*, 49: 1546–1552
- Xiao J, Xu SJ, Li CH, et al (2014). O-GlcNAc-mediated interaction between VER2 and TaGRP2 elicits *TaVRN1* mRNA accumulation during vernalization in winter wheat. *Nat Commun*, 5: 4572

- Xie L, Zhang Y, Wang K, et al (2021). *TaVrt2*, an SVP-like gene, cooperates with *TaVrn1* to regulate vernalization-induced flowering in wheat. *New Phytol*, 231: 834–848
- Xie YR, Liu Y, Wang H, et al (2017). Phytochrome-interacting factors directly suppress *MIR156* expression to enhance shade-avoidance syndrome in *Arabidopsis*. *Nat Commun*, 8: 348
- Xu G, Lyu J, Li Q, et al (2020a). Evolutionary and functional genomics of DNA methylation in maize domestication and improvement. *Nat Commun*, 11: 5539
- Xu J, Chen G, Hermanson PJ, et al (2019). Population-level analysis reveals the widespread occurrence and phenotypic consequence of DNA methylation variation not tagged by genetic variation in maize. *Genome Biol*, 20: 243
- Xu JM, Wang ZQ, Wang JY, et al (2020b). Low phosphate represses histone deacetylase complex1 to regulate root system architecture remodeling in *Arabidopsis*. *New Phytol*, 225: 1732–1745
- Xu R, Wang YH, Zheng H, et al (2015). Salt-induced transcription factor *MYB74* is regulated by the RNA-directed DNA methylation pathway in *Arabidopsis*. *J Exp Bot*, 66: 5997–6008
- Xu SJ, Chong K (2018). Remembering winter through vernalisation. *Nat Plants*, 4: 997–1009
- Xu SJ, Dong Q, Deng M, et al (2021). The vernalization-induced long non-coding RNA *VAS* functions with the transcription factor *TaRF2b* to promote *TaVRN1* expression for flowering in hexaploid wheat. *Mol Plant*, 14: 1525–1538
- Xu W, Li K, Li S, et al (2020c). The R-loop atlas of *Arabidopsis* development and responses to environmental stimuli. *Plant Cell*, 32: 888–903
- Xue MD, Zhang HR, Zhao FY, et al (2021). The INO80 chromatin remodeling complex promotes thermomorphogenesis by connecting H2A.Z eviction and active transcription in *Arabidopsis*. *Mol Plant*, 14: 1799–1813
- Yamaguchi N, Matsubara S, Yoshimizu K, et al (2021). H3K27me3 demethylases alter *HSP22* and *HSP17.6C* expression in response to recurring heat in *Arabidopsis*. *Nat Commun*, 12: 3480
- Yang CW, Yin LF, Xie FM, et al (2020a). *AtINO80* represses photomorphogenesis by modulating nucleosome density and H2A.Z incorporation in light-related genes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 117: 33679–33688
- Yang HC, Berry S, Olsson TSG, et al (2017). Distinct phases of Polycomb silencing to hold epigenetic memory of cold in *Arabidopsis*. *Science*, 357: 1142–1145
- Yang J, Chang Y, Qin YH, et al (2020b). A lamin-like protein OsNMCP1 regulates drought resistance and root growth through chromatin accessibility modulation by interacting with a chromatin remodeller OsSWI3C in rice. *New Phytol*, 227: 65–83
- Yang M, Zhu P, Cheema J, et al (2022). *In vivo* single-molecule analysis reveals *COOLAIR* RNA structural diversity. *Nature*, 609: 394–399
- Yang R, Hong YC, Ren ZZ, et al (2019a). A role for PICKLE in the regulation of cold and salt stress tolerance in *Arabidopsis*. *Front Plant Sci*, 10: 900
- Yang RX, Li PC, Mei HL, et al (2019b). Fine-tuning of MiR528 accumulation modulates flowering time in rice. *Mol Plant*, 12: 1103–1113
- Yen MR, Suen DF, Hsu FM, et al (2017). Deubiquitinating enzyme OTU5 contributes to DNA methylation patterns and is critical for phosphate nutrition signals. *Plant Physiol*, 175: 1826–1838
- Yu F, Liu X, Alsheikh M, et al (2008). Mutations in *SUPPRESSOR OF VARIEGATION1*, a factor required for normal chloroplast translation, suppress *var2*-mediated leaf variegation in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 20: 1786–1804
- Yu Q, Liu S, Yu L, et al (2021). RNA demethylation increases the yield and biomass of rice and potato plants in field trials. *Nat Biotechnol*, 39: 1581–1588
- Yuan LB, Song X, Zhang L, et al (2021). The transcriptional repressors VAL1 and VAL2 recruit PRC2 for genome-wide Polycomb silencing in *Arabidopsis*. *Nucleic Acids Res*, 49: 98–113
- Yuan WY, Luo X, Li ZC, et al (2016). A *cis* cold memory element and a *trans* epigenome reader mediate Polycomb silencing of *FLC* by vernalization in *Arabidopsis*. *Nat Genet*, 48: 1527–1534
- Yun JX, Wang C, Zhang FR, et al (2023). A nitrogen fixing symbiosis-specific pathway required for legume flowering. *Sci Adv*, 9: eade1150
- Zha P, Jing YJ, Xu G, et al (2017). PICKLE chromatin-remodeling factor controls thermosensory hypocotyl growth of *Arabidopsis*. *Plant Cell Environ*, 40: 2426–2436
- Zhang CY, Qian Q, Huang X, et al (2021a). NF-YCs modulate histone variant H2A.Z deposition to regulate photomorphogenic growth in *Arabidopsis*. *J Integr Plant Biol*, 63: 1120–1132
- Zhang CZ, Wang P, Tang D, et al (2019a). The genetic basis of inbreeding depression in potato. *Nat Genet*, 51: 374–378
- Zhang CZ, Yang ZM, Tang D, et al (2021b). Genome design of hybrid potato. *Cell*, 184: 3873–3883
- Zhang D, Li YH, Zhang XY, et al (2017). The SWI2/SNF2 chromatin-remodeling ATPase BRAHMA regulates chlorophyll biosynthesis in *Arabidopsis*. *Mol Plant*, 10: 155–167
- Zhang F, Zhang YC, Liao JY, et al (2019b). The subunit of RNA *N*⁶-methyladenosine methyltransferase OsFIP reg-

- ulates early degeneration of microspores in rice. *PLOS Genet*, 15: e1008120
- Zhang H, Gong ZZ, Zhu JK (2022a). Active DNA demethylation in plants: 20 years of discovery and beyond. *J Integr Plant Biol*, 64: 2217–2239
- Zhang HM, Lang ZB, Zhu JK (2018a). Dynamics and function of DNA methylation in plants. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 19: 489–506
- Zhang HT, Tao Z, Hong HM, et al (2016). Transposon-derived small RNA is responsible for modified function of *WRKY45* locus. *Nat Plants*, 2: 16016
- Zhang JS, Zhang H, Srivastava AK, et al (2018b). Knockdown of rice microRNA166 confers drought resistance by causing leaf rolling and altering stem xylem development. *Plant Physiol*, 176: 2082–2094
- Zhang JX, Lei YY, Wang BT, et al (2020a). The high-quality genome of diploid strawberry (*Fragaria nilgerrensis*) provides new insights into anthocyanin accumulation. *Plant Biotechnol J*, 18: 1908–1924
- Zhang WX, Wang N, Yang JT, et al (2020b). The salt-induced transcription factor GmMYB84 confers salinity tolerance in soybean. *Plant Sci*, 291: 110326
- Zhang XP, Shen J, Xu QJ, et al (2021c). Long noncoding RNA lncRNA354 functions as a competing endogenous RNA of miR160b to regulate *ARF* genes in response to salt stress in upland cotton. *Plant Cell Environ*, 44: 3302–3321
- Zhang XX, Wang TZ (2021). Plant 3D chromatin organization: important insights from chromosome conformation capture analyses of the last 10 years. *Plant Cell Physiol*, 62: 1648–1661
- Zhang Y, Tateishi-Karimata H, Endoh T, et al (2022b). High-temperature adaptation of an *OsNRT2.3* allele is thermoregulated by small RNAs. *Sci Adv*, 8: eadc9785
- Zhang YC, Lei MQ, Zhou YF, et al (2020c). Reproductive phasiRNAs regulate reprogramming of gene expression and meiotic progression in rice. *Nat Commun*, 11: 6031
- Zhang YC, Yu Y, Wang CY, et al (2013). Overexpression of microRNA OsmiR397 improves rice yield by increasing grain size and promoting panicle branching. *Nat Biotechnol*, 31: 848
- Zhang YL, Fu J, Wang K, et al (2022c). The telomere-to-telomere gap-free genome of four rice parents reveals SV and PAV patterns in hybrid rice breeding. *Plant Biotechnol J*, 20: 1642–1644
- Zhao L, Yang Y, Chen J, et al (2023a). Dynamic chromatin regulatory programs during embryogenesis of hexaploid wheat. *Genome Biol*, 24: 7
- Zhao LM, Peng T, Chen CY, et al (2019). HY5 interacts with the histone deacetylase HDA15 to repress hypocotyl cell elongation in photomorphogenesis. *Plant Physiol*, 180: 1450–1466
- Zhao T, Lu J, Zhang H, et al (2022). Histone H3.3 deposition in seed is essential for the post-embryonic developmental competence in *Arabidopsis*. *Nat Commun*, 13: 7728
- Zhao X, Guo Y, Kang L, et al (2023b). Population genomics unravels the Holocene history of bread wheat and its relatives. *Nat Plants*, 9: 403–419
- Zhao X, Yu YT (2004). Pseudouridines in and near the branch site recognition region of U2 snRNA are required for snRNP biogenesis and pre-mRNA splicing in *Xenopus oocytes*. *RNA*, 10: 681–690
- Zhao Y, Antoniou-Kourounioti RL, Calder G, et al (2020). Temperature-dependent growth contributes to long-term cold sensing. *Nature*, 583: 825–829
- Zhao Y, Zhu P, Hepworth J, et al (2021). Natural temperature fluctuations promote *COOLAIR* regulation of *FLC*. *Genes Dev*, 35: 888–898
- Zheng M, Lin JC, Liu XB, et al (2021). Histone acetyltransferase TaHAG1 acts as a crucial regulator to strengthen salt tolerance of hexaploid wheat. *Plant Physiol*, 186: 1951–1969
- Zheng Y, Ge JY, Bao C, et al (2020). Histone deacetylase HDA9 and WRKY53 transcription factor are mutual antagonists in regulation of plant stress response. *Mol Plant*, 13: 598–611
- Zhong SH, Liu JZ, Jin H, et al (2013). Warm temperatures induce transgenerational epigenetic release of RNA silencing by inhibiting siRNA biogenesis in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 110: 9171–9176
- Zhong SL, Li HY, Bodi Z, et al (2008). MTA is an *Arabidopsis* messenger RNA adenosine methylase and interacts with a homolog of a sex-specific splicing factor. *Plant Cell*, 20: 1278–1288
- Zhou CM, Zhang TQ, Wang X, et al (2013). Molecular basis of age-dependent vernalization in *Cardamine flexuosa*. *Science*, 340: 1097–1100
- Zhou LL, Tian SP, Qin GZ (2019). RNA methylomes reveal the m⁶A-mediated regulation of DNA demethylase gene *SIDML2* in tomato fruit ripening. *Genome Biol*, 20: 156
- Zhou SL, Li X, Liu Q, et al (2021). DNA demethylases remodel DNA methylation in rice gametes and zygote and are required for reproduction. *Mol Plant*, 14: 1569–1583
- Zhou Y, Wang YJ, Krause K, et al (2018). Telobox motifs recruit CLF/SWN-PRC2 for H3K27me3 deposition via TRB factors in *Arabidopsis*. *Nat Genet*, 50: 638–644
- Zhou Y, Zhang ZY, Bao ZG, et al (2022). Graph pangenome captures missing heritability and empowers tomato breeding. *Nature*, 606: 527–534
- Zhou Y, Zhao XB, Li YW, et al (2020). *Triticum* population

- sequencing provides insights into wheat adaptation. *Nat Genet*, 52: 1412–1422
- Zhu DL, Rosa S, Dean C (2015). Nuclear organization changes and the epigenetic silencing of *FLC* during vernalization. *J Mol Biol*, 427: 659–669
- Zhu H, Chen CJ, Zeng J, et al (2020). MicroRNA528, a hub regulator modulating ROS homeostasis via targeting of a diverse set of genes encoding copper-containing proteins in monocots. *New Phytol*, 225: 385–399
- Zhu HF, Xie WX, Xu DC, et al (2018). DNA demethylase ROS1 negatively regulates the imprinting of *DOGL4* and seed dormancy in *Arabidopsis thaliana*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 115: E9962–E9970
- Zhu P, Lister C, Dean C (2021). Cold-induced *Arabidopsis* FRIGIDA nuclear condensates for *FLC* repression. *Nature*, 599: 657–661