

与拟南芥春化作用相关的基因及其春化记忆模型

汤青林*, 王小佳, 宋明, 李成琼, 张洪

西南大学园艺园林学院, 重庆 400716

Vernalization-Related Genes and Model of Vernalization Memory in *Arabidopsis Thaliana*

TANG Qing-Lin*, WANG Xiao-Jia, SONG Ming, LI Cheng-Qiong, ZHANG Hong

College of Horticulture and Landscape, Southwest University, Chongqing, 400716, China

摘要: 植物能感应春化并记住这一效应, 且通过一系列的信号传导, 最终调控开花。文章就拟南芥的春化相关的基因、春化记忆分子模型、春化记忆与开花调控途径以及与此不同的另一种春化记忆模型和小麦春化记忆分子机制的研究进展作了介绍。

关键词: 春化记忆; 开花调控; 春化相关基因

植物具有随着环境因子的刺激应答而调整自身发育进程的能力。其中, 向开花转变是一个重要的发育进程。而在许多植物中, 这种开花转变进程与季节变化紧密相关。春化是通过延长低温处理促进开花的过程, 春化后的植物不会立刻开花, 但会使植物茎端分生组织具有开花的潜能。一旦分生组织受到长时间的低温处理后, 它们便会产生一种稳定的“春化记忆”(Lang 1965; Wellensiek 1962, 2001; Boss 等 2004; Putterill 等 2004), 并为开花作好准备, 当气温变暖才会开花。

春化研究中还有许多疑问: 如植物怎样记忆长期的低温处理? 为什么短时间低温不产生春化效应而长时间低温则可以? 春化稳定记忆的基础是什么? 春化记忆怎样调控开花时间? 近来, 拟南芥春化路径的遗传和分子机制的研究, 以及这些途径中一些春化相关基因的鉴定所取得的结果, 为回答这些问题提供了一些有益的启示。

1 春化相关基因

在拟南芥中, 至少有以下几个基因与春化记忆有关: *FRI*、*FLC*、*VRN1*、*VRN2*、*VIN3*。
1.1 *FRI* 与 *FLC* Napp-Zinn (1979)的研究表明: 在一些冬性和夏性的拟南芥杂交种中, 冬性习惯受单显性基因控制, 命名为 *FRIGIDA (FRI)*。接下来的几组研究表明 *FRI* 在许多品系中都有控制冬性的特征(Lee 等 1993; Clarke 和 Dean 1994)。对自然界的多个品种研究表明, *FLOWERING*

*LOCUS C (FLC)*对 *FRI*控制冬性特征是必须的(Lee 等 1994; Koornneef 等 1994)。

*FLC*的克隆为探明拟南芥春化的分子特征提供了依据(Michaels 和 Amasino 1999; Sheldon 等 1999)。*FLC*是一个开花抑制基因, 显性等位基因 *FRI*的存在会加强 *FLC*对开花的抑制作用。春化通过抑制 *FLC*表达, 克服 *FRI*的作用, 从而促进开花。*FLC*在活跃区域起主导表达作用, 例如茎尖和根尖分生组织, 均是低温处理的感知位点和获得春化状态的部位(Clarke 和 Dean 1994)。春化的关键作用在于抑制了 *FLC*的表达。

绝大多数冬性作物在开花之前都需要经历长时间的低温(即春化), 而夏性作物的开花则不需要春化。一年生夏性作物中的 *fri* 隐性基因, 通常是由于 *FRI* 显性基因功能缺失突变所致(Johanson 等 2000)。但近年来的研究表明: 某些夏性类型包含一个活跃的 *FRI* 等位基因, 以及一个 *FLC* 等位基因(Michaels 等 2003; Thomashow 2001)。因此, *FLC* 等位基因并不只是受 *FRI* 一个基因调节(Thomashow 2001; Gazzani 等 2003)。在拟南芥中, 存在 *FRI* 相似的基因, 至少还有 *FRI-LIKE1 (FRL1)*, 它也是 *FRI* 向上调节 *FLC* 所需的(Michaels 等 2004)。*FRI* 和 *FRL1* 之间有着

收稿 2007-03-26 修定 2007-07-14

资助 重庆市自然科学基金(CSTC, 2006BB1337)。

* E-mail: swutql@163.com; Tel: 023-68251274

复杂的关系。那么, *FRI*和*FRL1*是怎样提高*FLC*的mRNA水平的呢? *FRI*和*FRL1*编码哪些特殊蛋白质呢? 这都需要进一步研究。

1.2 *VRN1*、*VRN2*和*VIN3* 拟南芥的2个春化相关基因, *VERNALIZATION1* (*VRN1*)和*VERNALIZATION* (*VRN2*)是组成型表达的。*VRN1*编码1个含有341个氨基酸残基的DNA结合蛋白(Levy等2002), *VRN2*则编码1个包含445个氨基酸残基的锌指蛋白(Bastow等2004)。Gendall等(2001)和Levy等(2002)研究*vrn1*和*vrn2*突变体和野生型时发现: 突变体和野生拟南芥的*FLC*基因在春化时都受到抑制。但当春化植株返回到温暖条件下后, *vrn1*和*vrn2*突变体中*FLC*的抑制状态被解除, 而野生型仍保持稳定的*FLC*抑制状态。因此认为, 可能还有其他相关基因参与春化作用并抑制*FLC*的表达, 而*VRN1*和*VRN2*只是起维持春化状态稳定的作用。究竟还有什么基因参与*FLC*的最初抑制作用尚待探讨。

Sung和Amasino(2004)的工作对*VERNALIZATION INSENSITIVE3* (*VIN3*)的鉴定给此问题提供了答案。他们认为, *VIN3*编码1个PLANT HOMEODOMAIN (PHD)锌指蛋白。PHD-finger被认为是与蛋白质的相互作用有关。在*vin3*突变体中, 即使长期的低温诱导, 也不会抑制*FLC*的表达。在野生型植株中, 只有足够长时间的低温处理才能诱导*VIN3*的表达。随着*VIN3*的诱导, *FLC*就被抑制。有研究表明: 在低温下, *VIN3*在春化初期就参与抑制*FLC*表达的作用。*VIN3*的诱导主要出现在茎和根的顶端分生组织。这是春化冷感知和*FLC*抑制的位点。

1.3 *PAF1*复合物 *FLC*表达控制机制的研究有利于调控植物的开花时间。最近, 在拟南芥突变体筛选过程中, 发现还有一些除了*FRI*和*FRL1*之外能对*FLC*起正调控作用的基因(Zhang 2003; Zhang和van Nocker 2002; Noh和Amasino 2003): *PIE1*、*ELF7*、*ELF8*、*EFS*、*VIP3*、*VIP4*。这些基因能够提高*FLC*的表达水平。在一年生的冬性拟南芥中, *ELF7*、*ELF8*和*VIP4*的存在需经春化处理才能开花, 如果这些基因发生突变, 植株则由需要春化作用的晚花类型转变为对春化作用没有要求的早花类型。*ELF7*和

*ELF8*的功能是协同*FRI*共同促进*FLC*的转录, *ELF7*、*ELF8*和*VIP4*在拟南芥中为单拷贝, 所编码的蛋白质分别与酵母的*PAF1*复合物成分*PAF1*、*CTR9*和*LEO1*同源, 据此可以推测拟南芥中*ELF7*、*ELF8*和*VIP4*对*FLC*的促进作用是通过形成*PAF1*复合物而实现的(He等2004)。*EFS*也是一个晚花控制基因, 它与酵母*PAF1*复合物结合因子*SET1*同源, *EFS*与*PAF1*复合物协同作用促进*FLC*的表达。因此认为一年生冬性拟南芥在开花之前, 必须经过春化作用来抑制*FLC*的表达(He和Amasino等2005)。

2 春化记忆模型

2.1 春化记忆分子模型 拟南芥*VIN3*、*VRN1*和*VRN2*基因如何在春化过程中抑制*FLC*的表达?

*VRN1*编码1个Myb相关的DNA锚定蛋白; 但是*VRN2*却编码1个poly-comb组蛋白, 它和果蝇的SUPPRESSOR OF ZESTE-12 (Su[z]12)相似。在哺乳动物中, Su(z)12类似物是PRC2 (polycomb repressor complex 2)的1个组分, 它具有组蛋白转甲基化酶活性(Kuzmichev等2002)。PRC2也含有Zeste[E(z)]增强子, 拟南芥中至少有3个E(z)类似物(Reyes等2002)。这类聚合梳子组合基因引起稳定的基因抑制, 这一抑制作用受到一系列的组蛋白改变的促进(Grewal和Moazed 2003)。因此认为, 可能*VRN1*、*VRN2*、*VIN3*参与*FLC*染色质重构。事实上, 用*vin3*、*vrn2*和*vrn1*突变体的染色质免疫沉淀(ChIP)检验的结果表明, 春化导致一系列的染色质改变(图1)。

在春化过程中, *FLC*染色质特异区的乙酰化水平下降, 这是随着组蛋白H3的Lys9和Lys27的甲基化而发生的。在*vin3*中, 没有发现调节春化的组蛋白改变, 这暗示: 在春化过程中, *VIN3*是一个染色质改变的决定因素。在*vrn1*和*vrn2*突变体中, 大量的乙酰化作用(*FLC*的抑制)在春化过程中被发现, 但是, 大量的乙酰化作用和*FLC*的抑制在温度回暖后并不维持稳定。而且, 在*vrn2*突变体中, 没有组蛋白甲基化作用, 只有组蛋白H3的Lys27甲基化在*vrn1*中曾经观察到。这些结果表明这样一个模型: 通过乙酰化作用, *VIN3*与*FLC*的最初抑制有关。*FLC*染色质乙酰化状态为*VRN1*和*VRN2*相关的组蛋白的改变创造了

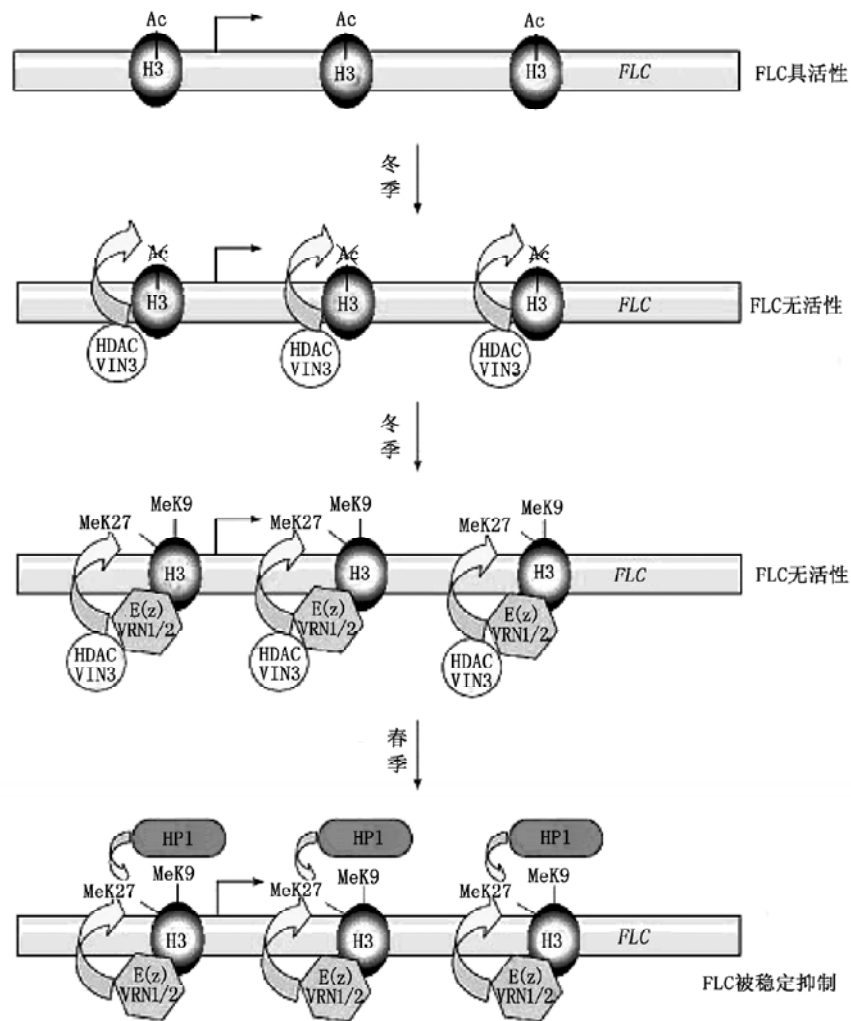


图1 拟南芥春化记忆分子模型(Sung 和 Amasino 2004, 略有改动)

一个合适的环境, *VRN1* 和 *VRN2* 对 *FLC* 起着稳定的抑制的作用。在动物中, 组蛋白 H3 的 Lys9 甲基化被认为是通过 HETEROCHROMATIN PROTEIN 1 (HP1) 促进稳定的异染色质形成的 (Kuzmichev 等 2002; Reyes 等 2002; Schultz 等 2002)。HP1 在加入植物常染色质中的抑制作用近来也有报道 (Kotake 等 2003)。因此, 春化触发了一系列的组蛋白改变, 最终导致稳定的异染色质处于抑制状态。

为深入探讨低温是怎样抑制拟南芥 *FLC* 表达的, Greb 等 (2007) 对突变体进行了研究, 发现了 1 个 PHD 的锌指蛋白和 *VIN3* 的同系物, 即 *VERNALIZATION5* (*VRN5*)。从而暗示: 在延长低温处理后诱导染色体改变、组蛋白脱乙酰化、H3-

L27 三甲基化的过程中, 需要 1 个 *VRN5* 和 *VIN3* 组成的二聚物异构体, 它会抑制 *FLC* 的表达。他们的双突变和 *FLC* 混合表达试验结果, 也表明 *VRN5* 在 *FLC* 的抑制中起作用。

2.2 春化记忆的其他模型 现在有许多关于春化机制的研究都是以拟南芥作为模式植物, 这些研究表明春化促进开花是通过对开花抑制基因 *FLC* 的抑制完成的。*FLC* 受抑制的机制与一系列的 *FLC* 染色质改变有关, 并最终导致稳定的抑制状态。但不同物种, 春化的机制可能有异。近来的研究发现, 小麦的春化途径并不与 *FLC* 有关 (Yan 等 2003)。

小麦春化记忆与 *VRN1* 和 *VRN2* 有关, 它们与拟南芥中的 2 个春化相关基因有着相同命名但彼

此之间没有关系。小麦的 *VRN1* 编码 1 个促进开花的含 MADS 结构域的蛋白(Yan 等 2003)。在许多冬小麦品种中, *VRN1* 受低温诱导(de la Esperón 和 Sapienza 2003; Danyluk 等 2003; Murai 等 2003; Trevaskis 等 2003)。*VRN2* 是 1 个 *VRN1* 的抑制子, 小麦 *VRN2* 编码 1 个具有锌指结构域的蛋白, *VRN2* 的表达受春化抑制。

虽然在氨基酸水平上没有相关性, 但小麦 *VRN2* 和拟南芥 *FLC* 的作用相似: 两基因都参与开花抑制, 并都受春化的抑制。在小麦中, *VRN2* 抑制 *VRN1*, 在拟南芥中, *FLC* 抑制开花促进因子 *SOC1* 和 *FT*, *SOC1* 和 *FT* 也可受光周期调节。*SOC1* 和 *FT* 激活 *LEAFY* 和 *API* 基因, *LEAFY* 和 *API* 促进开花分裂组织的形成。据此认为, *FLC* 间接抑制与开花分裂组织形成相关的基因。小麦的 *VRN1*(与拟南芥的 *API* 相似)是否起开花分裂组织基因的作用或者更上游的 *SOC1* 的作用, 对此还不清楚。*VRN2* 是直接还是间接抑制 *VRN1* 呢, 这也不清楚。

大麦和小麦均有 1 个与春化基因 *VRN3* 完全连锁的基因, 此基因的功能与拟南芥的 *FT* 相似, 它们分别为 *HvFT* 和 *TaFT*。叶中的 *HvFT* 和 *TaFT* 均会激发开花促进因子的信号转导。在小麦中, 显性的 *VRN3* 与 *TaFT* 启动子中激发元件的插入有关; 而在大麦中, *HvFT* 第 1 内含子的突变可区分植物 *VRN3* 等位基因的显隐性(Yan 等 2006)。

3 春化记忆与开花调控途径

植物开花时间的决定因素主要包括光照(例如日照长度、日照强度)和温度等外在环境以及植物生长状态和发育阶段等内在条件。拟南芥主要有四条途径促进开花(图 2): 春化途径和自主(或自发)途径都是通过抑制 *FLC* 的表达, 从而解除对 *SOC1* 基因的抑制, 进而促进开花; 赤霉素途径通过促进 *SOC1* 和 *LEAFY* 基因的表达从而促进开花; 光周期途径是通过促进 *CO* 表达进而促进开花(彭凌涛 2006)。此外, 在拟南芥中, PAF1 复合物还会通过促进 *FLC* 的表达进而抑制开花。

这些途径组合起来会触发其下游基因 *SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CONSTANS1* (*SOC1*)和 *FT* (Boss 等 2004; Putterill 等 2004), 开花时间整合子 *SOC1* 和 *FT* 的激活进而会激活开花

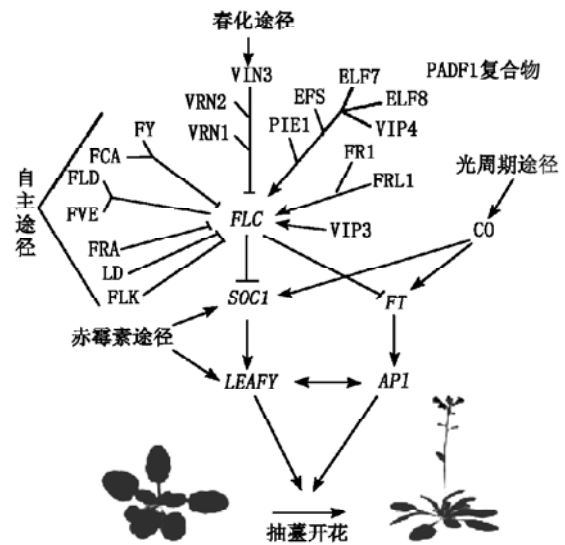


图2 拟南芥中调节开花时间的途径
(Yuehui 等 2005, 略有改动)

相关基因 *LEAFY* 和 *APETALAI*, *LEAFY* 和 *APETALAI* 会促使花芽原基产生。

不同拟南芥的自然开花时间不同。冬性类型(不经春化的晚花类型)与快速开花类型(早花类型)受等位基因 *FRIGIDA* (*FRI*)和 *FLOWERING LOCUS C* (*FLC*)的变化所决定(Johanson 等 2000; Michaels 等 2003; Gazzani 等 2003)。冬性类型有显性等位基因 *FRI* 和 *FLC*, 然而快速开花类型有功能缺失的隐性等位基因 *fri* 或者 *flc*。*FLC* 编码 1 种 MADS 转录因子, 它阻止开花转录(Michaels 和 Amasino 1999; Sheldon 等 1999), 并在一定程度上抑制开花时间整合子 *SOC1* 和 *FT* 的表达(Hepworth 等 2002)。有人在筛选拟南芥晚花突变体中发现, 拟南芥还具有光周期途径和自主开花途径(Koornneef 等 1991)。自主途径中的基因在开花中是抑制 *FLC* 的表达的(Michaels 和 Amasino 2001)。许多夏性一年生植物类型之所以不经过春化而很早开花, 是因为其缺失 *FRI* 等位基因, 自主途径中的 *FLC* 维持在一个低水平(Michaels 和 Amasino 2001)。在冬性一年生植物类型中, *FRI* 阻止自主途径对 *FLC* 的抑制作用。因此认为, *FLC* 是受春化、*FRI*、自主开花途径调节的交汇点(图 2)。

近年来, 在早花突变体筛选过程中发现拟南芥中存在 *FLC* 正调节因子。这些调节因子能够提

高 *FLC* 的表达水平。这类基因有 *PHOTOPERIOD-INDEPENDENTEARLYFLOWERING1 (PIE1)* (Noh 和 Amasino 2003), *VERNALIZATIONINDEPENDENCE3 (VIP3)* (Zhang 2003), *VIP4* (Zhang 和 van Nocker 2002)、*FRI LIKE1 (FRL1)* (Bastow 等 2004)。

FLC 抑制子和激活子的特性表明, 这些调节蛋白参与 *FLC* 染色质的共价改变(He 等 2003)。例如特异组蛋白残基的乙酰化和甲基化等染色质改变, 通常称为“组蛋白编码”(Iizuka 和 Smith 2003; Turner 2002)。染色质环境的改变可改变植物的生育进程。

4 展望

总的说来, 迄今人们从分子水平上认识春化进程的知识甚少。实际上, 如果春化途径严格的定义为是感知延长的低温处理, 并将低温刺激信号传给下游的目标基因, 那么春化途径中的各种元件还不是完全清楚的。*VIN3* 是拟南芥春化途径的上游基因, *FLC* 位于 *VIN3* 下游。而 *VRN2* 是小麦春化途径的上游基因(Yan 等 2004)。因此认为, 拟南芥和小麦可能有不同的上游春化途径。但是, 就像在拟南芥中 *VIN3* 是 *FLC* 的上游基因一样, 很可能在小麦当中有 1 个类似于拟南芥 *VIN3* 的基因作用于小麦 *VRN2* 的上游。但至今人们对这个感知低温刺激和传递刺激信号的春化系统还不清楚。

尽管目前人们对春化的分子机制有了一定的认识, 但是, 植物在春化过程中用于感知低温刺激时间长短的机制是什么。例如, 植物怎样区别几天的低温刺激和几周的低温刺激? 与低温刺激感应相关的是拟南芥中 *VIN3* 的表达。*VIN3* 只有在经过几周的低温诱导后才能表达。当植物转到温暖环境中时, *VIN3* 的 mRNA 即检测不到(例如, *VIN3* 不像 *FLC* 一样, 会经历一个稳定的、外成性的基因表达转换)。

有关植物怎样感知低温刺激时间长短的详细机制也未弄清楚。春化的低温传感器是什么? 在单纯的冷诱导中, 钙离子通道可通过改变钙离子的流量来传导冷信号(Story 等 2003)。但是, 钙离子通道可能不会参与感知低温刺激时间长短的功能, 因为细胞会重新调整离子流量。有人推测:

春化模型应该是在延长低温处理过程中, 一些因子减少或增加得非常缓慢, 直到一定的时间后, 才能累积到一定量, 从而促进开花。但这只是一种假设, 实际上, 春化过程中感知低温时间长短的分子机制研究将是一个非常具有前景的课题。另外, 既然有了解释拟南芥延长低温抑制 *FLC* 的基础知识, 那么, 低温又是如何诱导 *VIN3* 表达的? 探索 *VIN3*、*VRN1* 和 *VRN2* 蛋白复合体的特性并用来解释植物细胞记忆生化和分子机制也是一个非常有意义的课题。

参考文献

- 彭凌涛(2006). 控制拟南芥和水稻开花时间光周期途径的分子机制. 植物生理学通讯, 42 (6): 1021~1031
- Bastow R, Mylne JS, Lister C, Lippman Z, Martienssen RA, Dean C (2004). Vernalization requires epigenetic silencing of *FLC* by histone methylation. *Nature*, 427 (6970): 164~167
- Boss PK, Bastow RM, Mylne JS, Dean C (2004). Multiple pathways in the decision to flower: enabling, promoting, and resetting. *Plant Cell*, 16 (Supp): S18~S31
- Clarke JH, Dean C (1994). Mapping *FRI*, a locus controlling flowering time and vernalization response in *Arabidopsis thaliana*. *Mol Gen Genet*, 242: 81~89
- Danyluk J, Kane NA, Breton G, Limin AE, Fowler DB, Sarhan F (2003). TaVRT-1, a putative transcription factor associated with vegetative to reproductive transition in cereals. *Plant Physiol*, 132: 1849~1860
- de la Casa-Esperón E, Sapienza C (2003). Natural selection and the evolution of genome imprinting. *Annu Rev Genet*, 37: 349~370
- Gazzani S, Gendall AR, Lister C, Dean C (2003). Analysis of the molecular basis of flowering time variation in *Arabidopsis* accessions. *Plant Physiol*, 132: 1107~1114
- Gendall AR, Levy YY, Wilson A, Dean C (2001). The *VERNALIZATION 2* gene mediates the epigenetic regulation of vernalization in *Arabidopsis*. *Cell*, 107: 525~535
- Greb T, Mylne JS, Crevillen P, Geraldo N, An H, Gendall AR, Dean C (2007). The PHD finger protein *VRN5* functions in the epigenetic silencing of *Arabidopsis FLC*. *Curr Biol* 17: 73~78
- Grewal SIS, Moazed D (2003). Heterochromatin and epigenetic control of gene expression. *Science*, 301: 798~802
- He Y, Michaels SD, Amasino RM (2003). Regulation of flowering time by histone acetylation in *Arabidopsis*. *Science*, 302: 1751~1754
- He Y, Doyle MR, Amasino RM (2004). PAF1 complex-mediated histone methylation of *FLOWERING LOCUS C* chromatin is required for the vernalization-responsive, winter-annual habit in *Arabidopsis*. *Genes Dev*, 18: 2774~2784
- Hepworth SR, Valverde F, Ravenscroft D, Mouradov A, Coupland G (2002). Antagonistic regulation of flowering-time gene *SOC1* by *CONSTANS* and *FLC* via separate promoter motifs. *EMBO J*, 21: 4327~4337
- He YH, Amasino RM (2005). Role of chromatin modification in

- flowering-time control. *Trends Plant Sci*, 10: 30~35
- Iizuka M, Smith MM (2003). Functional consequences of histone modifications. *Curr Opin Genet Dev*, 13: 154~160
- Johanson U, West J, Lister C, Michaels S, Amasino R, Dean C (2000). Molecular analysis of FRIGIDA, a major determinant of natural variation in *Arabidopsis* flowering time. *Science*, 290: 344~347
- Koornneef M, Blankestijn-de Vries H, Hanhart C, Soppe W, Peeters T (1994). The phenotype of some late-flowering mutants is enhanced by a locus on chromosome 5 that is not effective in the landsberg erecta wild-type. *Plant J*, 6: 911~919
- Koornneef M, Hanhart CJ, van der Veen JH (1991). A genetic and physiological analysis of late flowering mutants in *Arabidopsis thaliana*. *Mol Gen Genet*, 229: 57~66
- Kotake T, Takada S, Nakahigashi K, Ohto K (2003). *Arabidopsis* TERMINAL FLOWER 2 gene encodes a HETEROCHROMATIN PROTEIN 1 homolog and represses both FLOWERING LOCUS T to regulate flowering time and several floral homeotic genes. *Plant Cell Physiol*, 44: 555~564
- Kuzmichev A, Reinberg D, Nishioka K, Erdjument-Bromage H, Tempst P, Reinberg D (2002). Histone methyltransferase activity associated with a human multiprotein complex containing the enhancer of Zeste protein. *Genes Dev*, 16: 2893~2905
- Lang A (1965). Physiology of flower initiation. In: Ruhland W (ed). *Encyclopedia of Plant Physiology* (Vol 15). Berlin: Springer-Verlag, 1371~1536
- Lee I, Bleecker A, Amasino R (1993). Analysis of naturally occurring late flowering in *Arabidopsis thaliana*. *Mol Gen Genet*, 237: 171~176
- Lee I, Michaels DS, Masshardt AS, Amasino Rm (1994). The late flowering phenotype of FRIGIDA and LUMINIDEPENDENT is suppressed in the Landsberg erecta strain of *Arabidopsis*. *Plant J*, 6: 903~909
- Levy YY, Mesnage S, Mylne JS, Gendall AR, Dean C (2002). Multiple roles of *Arabidopsis* VRN1 in vernalization and flowering time control. *Science*, 297 (5579): 243~246
- Michaels SD, Amasino MR (1999). FLOWERING LOCUS C encodes a novel MADS domain protein that acts as a repressor of flowering. *Plant Cell*, 11: 949~956
- Michaels SD, Amasino RM (2001). Loss of FLOWERING LOCUS C activity eliminates the late-flowering phenotype of FRIGIDA and autonomous pathway mutations but not responsiveness to vernalization. *Plant Cell*, 13: 935~941
- Michaels SD, Bezerra IC, Amasino RM (2004). FRIGIDA-related genes are required for the winter-annual habit in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 101: 3281~3285
- Michaels SD, He Y, Scortecci KC, Amasino RM (2003). Attenuation of FLOWERING LOCUS C activity as a mechanism for the evolution of summer-annual flowering behavior in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 100: 10102~10107
- Murai K, Miyamae M, Kato H, Takumi S, Ogihara Y (2003). WAP1, a wheat APETALA1 homolog, plays a central role in the phase transition from vegetative to reproductive growth. *Plant Cell Physiol*, 44: 1255~1265
- Napp-Zinn K (1979). On the genetical basis of vernalization requirement in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. In: Champagnat P, Jaques R (eds). *La Physiologie de la floraison*. Paris: Coll Int CNRS, 217~220
- Noh YS, Amasino RM (2003). PIE1, an ISWI family gene, is required for FLC activation and floral repression in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 15: 1671~1682
- Putterill J, Laurie R, Macknight R (2004). It's time to flower: the genetic control of flowering time. *BioEssays*, 26: 363~373
- Reyes JC, Henning L, Gruisem W (2002). Chromatin-remodeling and memory factors. New regulators of plant development. *Plant Physiol*, 130: 1090~1101
- Schultz DC, Ayyanathan K, Negorev D, Maul GG, Rauscher FJ (2002). SETDB1, a novel KAP-1-associated histone H3, lysine 9-specific methyltransferase that contributes to HP1-mediated silencing of euchromatin genes by KRAB zinc-finger proteins. *Genes Dev*, 16: 919~932
- Sheldon CC, Bum JE, Perez PP, Metzger J, Edwards JA, Peacock WJ, Dennis ES (1999). The FLOWERING LOCUS MADS box gene. A repressor of flowering in *Arabidopsis* regulated by vernalization and methylation. *Plant Cell*, 11: 445~458
- Story GM, Peier AM, Reeve AJ (2003). ANKTM1, a TRP-like channel expressed in nociceptive neurons, is activated by old temperatures. *Cell*, 112: 819~829
- Sung S, Amasino R (2004). Vernalization in *Arabidopsis thaliana* is mediated by the PHD-finger protein VIN3. *Nature*, 427 (6970): 159~164
- Thomashow MF (2001). So what's new in the field of plant cold acclimation? Lots! *Plant Physiol*, 125: 89~93
- Trevaskis B, Bagnall DJ, Ellis MH, Peacock WJ, Dennis ES (2003). MADS box genes control vernalization-induced flowering in cereals. *Proc Natl Acad Sci USA*, 100: 13099~13104
- Turner BM (2002). Cellular memory and the histone code. *Cell*, 111: 285~291
- Wellensiek SJ (1962). Dividing cells as the locus for vernalization. *Nature*, 195: 307~308
- Wellensiek SJ (2001). Dividing cells as the prerequisite for vernalization. *Plant Physiol*, 39: 832~835
- Yan L, Fu D, Li C, Blencl A, Tranquilli G, Bonafede M, Sanchez A, Valarik M, Yasud S, Dubcovsky J (2006). The wheat and barley vernalization gene VRN3 is an orthologue of FT. *Proc Natl Acad Sci USA*, 103 (51): 19581~19586
- Yan L, Loukoianov A, Blechl A (2004). The wheat VRN2 gene is a flowering repressor down-regulated by vernalization. *Science*, 303: 1640~1644
- Yan L, Loukoianov A, Tranquilli G, Helguera M, Fahima T, Dubcovsky J (2003). Positional cloning of the wheat vernalization gene VRN1. *Proc Natl Acad Sci USA*, 100: 6263~6268
- Zhang H, Ransom C, Ludwig P, van Nocker S (2003). Genetic analysis of early flowering mutants in *Arabidopsis* defines a class of pleiotropic developmental regulator required for expression of the flowering-time switch flowering locus c. *Genetics*, 164: 347~358
- Zhang H, van Nocker S (2002). The VERNALIZATION INDEPENDENCE 4 gene encodes a novel regulator of flowering locus c. *Plant J*, 31: 663~673