

# 植物开花调控中蛋白质相分离机制在从头驯化中的应用价值

田璐妍<sup>1,2</sup>, 黄小珍<sup>1</sup>

1. 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
2. 中国科学院大学, 北京 100049

**摘要:** 全球气候变化和人口快速增长严重威胁世界粮食安全, 现有作物难以满足人类未来的粮食需求, 亟需高产优质且环境适应性强的作物品种。利用野生种质资源进行快速从头驯化, 获得可应用于育种的新种质是应对粮食安全问题的新策略。开花时间性状是决定作物种植区域和最终产量的重要因素, 在作物驯化中常常受到选择。目前在从头驯化中, 通常直接利用控制作物开花的主效基因来改造开花性状, 基因数量非常有限且功能较为单一。植物成花转变受到环境和内源性信号的复杂调控, 本文提出利用调控开花基因表达的重要蛋白质的可逆行为变化——蛋白质相分离定向改造蛋白功能, 从而精准控制开花相关基因的表达, 可能为从头驯化中开花性状的分子设计提供新的选择。

**关键词:** 成花转变; 开花时间; 蛋白质相分离; 从头驯化

## Application value of protein phase separation mechanism of flowering regulation in *de novo* domestication

Luyan Tian<sup>1,2</sup>, Xiaozhen Huang<sup>1</sup>

1. State Key Laboratory of Plant Genomics, Institute of Genetics and Developmental Biology, Innovation Academy for Seed Design, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China
2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

**Abstract:** Global climate change and population growth pose a serious threat to world food security. The current crops varieties will be insufficient to meet food needs in the future, and there is an urgent need for high yielding and quality crops varieties with strong environmental adaptability. The rapid *de novo* domestication of wild species to create new germplasm that can be applied to crop breeding is a new strategy for ensuring food security. The flowering time is an important factor in determining the crop planting area and yield, and is a trait that is often selected in crop domestication. At present, the modification of flowering traits by *de novo* domestication is usually achieved by direct editing of the major genes

收稿日期: 2023-06-12; 修回日期: 2023-07-15; 网络发布日期: 2023-08-01

基金项目: 国家重点研发计划项目(编号: 2018YFA0900603), 三亚崖州湾科技城管理局 2021 年度科技计划项目(编号: SKJC-2021-02-002)和中国科学院青年创新促进会项目(编号: 2022094)资助[Supported by National Key R&D Program of China (No. 2018YFA0900603), the 2021 Research Program of Sanya Yazhou Bay Science and Technology City (No. SKJC-2021-02-002) and the Youth Innovation Promotion Association of the Chinese Academy of Sciences (No. 2022094)]

作者简介: 田璐妍, 硕士研究生, 专业方向: 遗传学。E-mail: lytian@genetics.ac.cn

通讯作者: 黄小珍, 博士, 副研究员, 研究方向: 蛋白质相分离与生命系统稳健性。E-mail: xzhuang@genetics.ac.cn

DOI: 10.16288/j.yczs.23-165

that control flowering in crop, which are very limited in number and relatively homogeneous in function. Floral transition is regulated by the complex network of environmental and endogenous signals. Here, we propose a new strategy that using genome editing to precisely modify protein function by changing protein phase separation capacity of important proteins that regulate expression of flowering genes, which may provide new options for the design of flowering traits in *de novo* domestication.

**Keywords:** floral transition; flowering time; protein phase separation; *de novo* domestication

土地的生产承载力与人口的矛盾是推动社会演变和相关技术进步的重要因素。全球气候变化和现代城市化的推进导致耕地严重流失,同时现代医疗科技的发展导致人口快速增长,有限的土地和剧增的人口使世界粮食安全面临巨大挑战。尽管育种家通过传统育种创制了一系列高产作物品种,但是目前的作物品种并不足以满足人类未来的粮食需求<sup>[1]</sup>。因此,优化农业技术,提高粮食生产量是重中之重,其中作物品种培育是关键。限制作物产量的因素除了作物品种本身的遗传特性外,还包括气候变化的挑战、各种自然灾害和病虫害等。面对这些问题与挑战,亟需培育高产优质、环境适应性强的作物新品种。

在漫长的人类历史中,作物驯化与改良伴随着人类发展不断进行。在科学技术和理论的发展与支持下,农业生产的发展被不断推进,作物育种技术由人工驯化选育,过渡到杂交育种和以基因工程、分子标记为代表的分子育种。目前,现代生物技术和交叉学科的迅猛发展使作物育种迈入生物技术和人工智能深度融合的分子设计育种。近年来,人们通过分子设计育种培育了一系列优良品种,例如“中科发”系列的水稻(*Oryza sativa*)品种<sup>[2]</sup>和“中科糯麦1号”小麦(*Triticum aestivum*)品种,还创制出以种子繁殖的二倍体马铃薯(*Solanum tuberosum*)<sup>[3]</sup>。尽管分子设计育种结合现代测序数据已经在很大程度上提升了育种效率,但是多基因聚合的过程依然需要较长的周期。此外,现代作物育种的主要手段仍是将自然突变或人工诱变得到的基因位点引入到现有的驯化作物品种中,达到育种目标,具有一定局限性。在全球气候变化导致极端天气频发的挑战下,植物对抗逆性有极大的需求。但是,现有驯化种质同质化严重,遗传多样性大幅度降低,众多对植物抗逆、抗病害有重要作用的基因丢失,不足以适应近年来

气候的剧烈变化。植物的耐逆性由位于不同染色体的多个基因和信号途径调控,并且不同基因分别发挥正调控和负调控的作用,将多个抗逆基因同时导入现有的驯化品种中难以实现。近年来,野生种质被广泛收集和鉴定,资源丰富,且表现出优异的抗逆性。如何将野生物种中的优良抗性和驯化品种的优异农艺性状相结合,快速培育高产优质新品种,是当下育种工作需要解决的重大问题<sup>[4]</sup>。针对野生种的从头驯化近年来广受关注,成为应对粮食安全的新策略<sup>[5-7]</sup>。从头驯化是利用基因编辑等现代生物学技术将优异农艺性状导入具有优良抗性的野生种中,一步驯化创制耐逆优异种质的技术。相比于传统育种,从头驯化具有快速、精准定向等特点<sup>[8]</sup>,还可以应用于新作物的创制<sup>[9]</sup>和孤儿作物的快速改良<sup>[10]</sup>,为保障粮食安全提供新的可能。

野生植物生长于不同纬度地区,对光周期极为敏感。例如起源于我国黄淮海区域由野生种驯化而来的栽培大豆(*Glycine max*),在高纬度地区种植,长时间光照会延迟开花,导致大豆超过生长季无法成熟;在低纬度地区种植,短日照使花期提前,导致大豆产量下降<sup>[11,12]</sup>。玉米(*Zea mays*)在开花期间对高温极度敏感<sup>[13]</sup>,如果玉米因光周期敏感,花期延迟至盛夏到来,高温可能对玉米穗的发育等生殖生长过程产生严重影响,导致大幅减产。因此,为了打破日长等地理限制,使作物广泛适应不同地区的种植环境,开花性状是作物驯化中最重要的性状之一,相关基因及调控机制备受关注。目前,在从头驯化研究与开花时间性状相关的基因多为在驯化中受选择的基因<sup>[5-7]</sup>,非常有限且单一,难以适应更广泛的应用需求,亟需开发控制植物开花时间性状的新基因并拓展基因在育种工作中的应用方式。近年来广受关注的蛋白质相分离机制为人们拓展基因应用的方式提供了新思路。蛋白质相分离作为一种

可以迅速应答环境和植物自身生理条件改变的作用机制, 已经被证实在植物成花转变这一与环境紧密相关的生物学过程中具有重要作用<sup>[14-18]</sup>, 可能为作物开花时间性状的设计提供新的选择与思路。

## 1 作物开花性状的驯化与选择

植物的成花转变是营养生长转为生殖生长的重要标志, 由遗传信息和环境信号共同精准调控。植物开花的时间和数量, 以及花器官的发育状况等重要农艺性状直接决定作物产量, 相关调控基因备受关注<sup>[19-24]</sup>。植物成花转变的过程包括成花诱导、成花启动以及花发育, 由环境和内源开花信号的复杂调控网络共同决定(图 1)。不同植物的成花转变调控具有一定的保守性, 主要由光周期、春化、温度、自主、赤霉素和年龄等 6 个途径调控<sup>[23]</sup>, 这些调控途径将成花转变信号汇集到整合基因, 如成花素编码基因 *FLOWERING LOCUS T (FT)* 和 *SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CONSTANS 1 (SOC1)*, 最终调控与花分生组织发生相关的基因 *CAULIFLOWER*

(*CAL*)、*APETALA1 (API)* 和 *LEAFY (LFY)*<sup>[23]</sup> 等的表达。在成花转变的遗传调控网络中, 多个基因已被证实与自然种群中植物开花时间多样性的产生相关。研究发现, 拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 自然种群中开花时间的变异主要由 *FRIGIDA (FRI)* 及其下游基因 *FLOWERING LOCUS C (FLC)* 突变导致<sup>[25]</sup>。在水稻中, *Hd1*、*Ghd7* 和 *DTH7* 三个开花性状基因座的自然变异在东北南部和北部种群中存在差异, 与中国东北水稻抽穗时间变异相关<sup>[26]</sup>。

### 1.1 作物开花性状被人工驯化选择

作物的成花转变影响花序结构和开花时间, 直接关系到作物产量, 是作物驯化中最重要的性状之一。生长于不同纬度地区的野生种的开花时间往往并不适合生产需求。因此, 在驯化中为了打破日长等地理限制, 使作物适应种植地区的环境, 可以在更广泛的地区种植, 作物品种选育中通常会对开花时间性状进行驯化改良。在大豆中, 长日照下控制开花期的关键基因 *Tof11* 和 *Tof12* 的功能缺失型突变受到人工选择, 使目前的栽培大豆品种不仅可以在

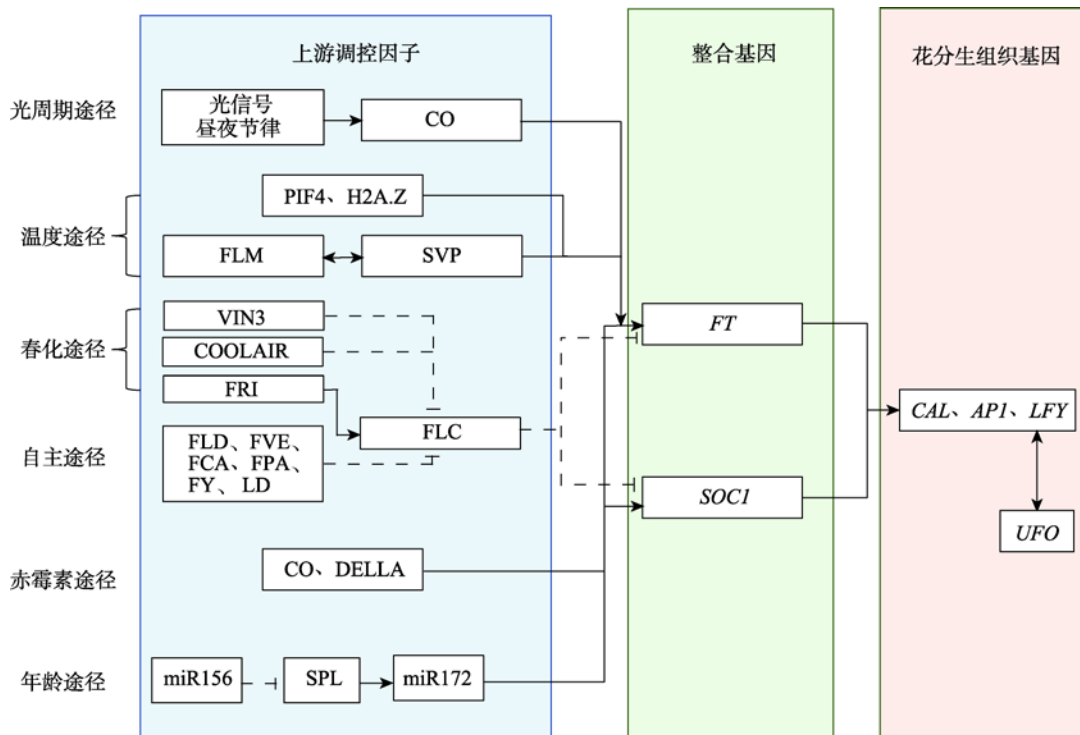


图 1 调控植物开花的信号通路

Fig. 1 Plant flowering regulation pathway

巴西等低纬度地区种植,也可以在俄罗斯等高纬度地区种植<sup>[27]</sup>;大豆中与拟南芥 *ELF3* 基因同源的 *J* 基因突变使大豆在短日照条件下延迟开花,解决了大豆在低纬度地区的产量难题<sup>[28]</sup>。玉米向较高纬度地区的扩散与 *CACTA* 转座子插入 *ZmCCT*(水稻 *Ghd7* 同源基因)启动子相关,*ZmCCT* 表达下调降低了玉米的光周期敏感性<sup>[29]</sup>。在白菜(*Brassica rapa*)驯化中,转座子插入事件同样受到选择,春化关键元件 *FLC* 的抑制因子 *BrVRN1.2* 转座子插入的多态性,赋予白菜不同的春化需求以适应不同栽培环境<sup>[30]</sup>。在番茄(*Solanum lycopersicum*)中,由于驯化过程中对光周期敏感基因 *SP5G* 表达突变型的选择,使栽培番茄不受光周期影响,可以广泛种植<sup>[31]</sup>。重要经济作物棉花(*Gossypium* spp.)的 *COL2* 基因在驯化选择中 DNA 甲基化水平降低,导致棉花的光周期敏感性降低,可以在更广泛的地区栽培<sup>[32]</sup>。

## 1.2 作物开花性状在从头驯化中的改造

开花性状除了被人工驯化选择,在利用从头驯化快速改造野生植物的过程中也是被首要改造的性状之一。2018年, Li 等<sup>[5]</sup>利用 CRISPR/Cas9 基因编辑技术对野生醋栗番茄(*Solanum pimpinellifolium*)进行快速驯化时,驯化基因模块中就包括了 CETS 蛋白质家族的编码基因 *SELF-PRUNING 5G (SP5G)* 与 *SELF PRUNING (SP)*。*SP* 基因编码开花抑制因子,在茎分生组织中表达,*SP* 基因的突变使 *SFT* 编码的成花素不再被抑制,使番茄的生长模式由无限生长型变为有限生长型,产生可以同时大规模开花的枝条<sup>[33]</sup>。*SP5G* 是番茄由短日照植物变为日中性植物的关键驯化基因,*SP5G* 表达升高会抑制成花素,延迟开花。顺式作用元件的变异导致长日照对栽培番茄中 *SP5G* 的诱导作用减弱,使栽培番茄丧失日长敏感性<sup>[31]</sup>。由 *SP* 和 *SP5G* 控制的果实成熟一致性和有限型生长的紧密枝条,都是农业生产所需求的优良性状。研究人员通过同时突变 *SP* 和 *SP5G* 基因,获得了具有紧凑的株型,果实密集且几乎同步成熟的番茄<sup>[5]</sup>。另一项针对 *S. pimpinellifolium* 的从头驯化研究中, Zsögön 等<sup>[6]</sup>选择的 6 个编辑基因座中同样包括 *SP* 基因。同年, Lemmon 等<sup>[10]</sup>报道在茄科酸浆属植物 *Physalis pruinosa* 中针对 *SP* 和 *SP5G* 的同源基因 *Ppr-SP* 和 *Ppr-SP5G* 进行基因编辑,实现了瓜

儿作物 *P. pruinosa* 株型和开花时间性状的快速改良。2021年, Yu 等<sup>[7]</sup>实现了野生四倍体水稻的从头驯化,突破了现有二倍体栽培稻的育种局限。野生四倍体种质 *PPR1* 起源于南美洲热带地区,具有较强的日长敏感性,在位于北纬 40 度的北京不开花。研究人员设计的驯化基因模块中, *OaGhd7-CC (OalC07g145340)*、*OaGhd7-DD (OalD07g113810)*、*OaDTH7-CC (OalD04g100060)* 和 *OaDTH7-DD (OalD07g145130)* 均是与水稻开花时间性状相关的基因<sup>[7]</sup>。在二倍体水稻中, *Ghd7* 基因的功能参与温度对水稻抽穗时间的调控<sup>[34]</sup>,而 *DTH7* 基因的功能与水稻的光周期敏感性有关<sup>[35]</sup>。*OaGhd7-CC*、*OaGhd7-DD*、*OaDTH7-CC* 和 *OaDTH7-DD* 被编辑的新材料所需的抽穗时间相比于原始材料 *PPR1* 明显缩短,更适合在北京培育。

由此可见,开花性状是作物驯化的核心性状。成花转变制约作物最终产量,作物花期过早或延迟都可能导致严重减产。植物开花性状受到环境和内源信号的共同调控,利用现代生物学技术调控相关途径关键组分的功能,改变成花基因的表达,可能为作物快速驯化中开花性状的基因组重新设计提供新的驯化模块。

## 2 蛋白质相分离调控的成花转变

植物的成花转变是一个被精准调控的过程,取决于成花基因的时空特异性表达。细胞是生命活动的基础,细胞内复杂生化反应的有序发生依赖于各反应组分的精准定位。近年来,对动植物的研究发现细胞内的组分可以通过蛋白质相分离形成无膜细胞器(membrane-less organelles, MLOs),精确调控生命活动<sup>[14,36-40]</sup>。无膜细胞器具有区别于有膜细胞器被膜包裹的组装方式<sup>[41]</sup>,将细胞组分区室化,在细胞中广泛参与各类生命活动(图 2)<sup>[42]</sup>。蛋白质相分离是指在均相溶液产生不同的相,组装凝聚特定生物分子的机制,是无膜细胞器的组装方式之一,可能是细胞质成分构建中的一种基本的物理化学机制<sup>[43]</sup>。相分离机制使蛋白质、核酸以及各种生物大分子在细胞特定区域中被聚集并形成凝聚物,使生化反应被区室化,提高反应效率<sup>[41]</sup>。相分离凝聚物的形成涉及多种相互作用力,除疏水作用和静电相互作用

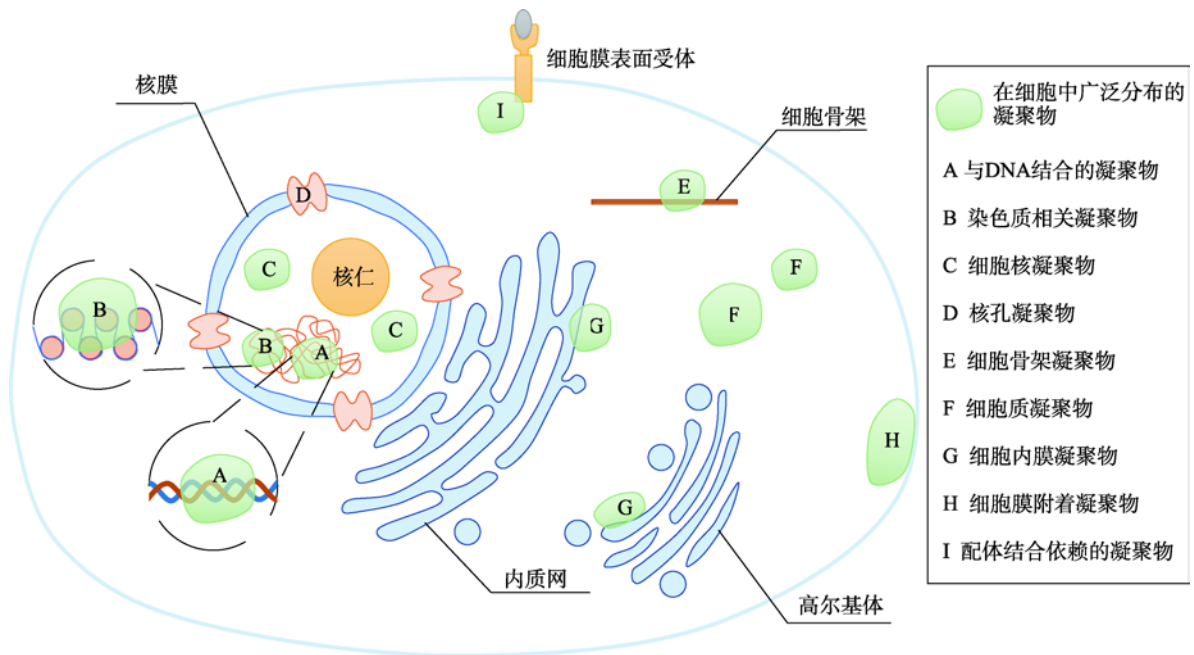


图 2 无膜细胞器在细胞中的分布

Fig. 2 Distribution of membrane-less organelles (MLOs) in cells

等弱相互作用外，还有多价串联结构域和不稳定的蛋白质结构域，其中不稳定的蛋白质结构域包括低复杂度结构域(low-complexity domains, LCDs)和内在无序结构域(intrinsically disordered regions, IDRs)<sup>[42,44]</sup>等，这些相互作用力共同驱动生物大分子形成相分离凝聚物<sup>[45]</sup>。

## 2.1 蛋白质相分离调控植物开花性状的变异和选择

植物成花转变依赖于环境因素与自身内源信号的协调<sup>[23,46]</sup>。蛋白质相分离凝聚组装的动态特性使植物可以灵活响应生长与环境变化，调节植物的生长发育和抗逆性<sup>[36,47-49]</sup>。近年来，植物成花转变调控中的蛋白质相分离现象不断被报道<sup>[14-18]</sup>。成花转变调控的自主途径重要组分 FLOWERING LOCUS CA (FCA)<sup>[21,50]</sup>和 *AT1G67170* 基因编码的卷曲螺旋蛋白 FLL2 发生相互作用，共同介导相分离的发生，形成具有 RNA 3'端加工功能的 FCA 核小体<sup>[14]</sup>，分隔参与 RNA 3'端加工的元件，调控 FLC 反义转录本的表达(图 3A)<sup>[14]</sup>。此外，RNA 结合蛋白 hnRNP R-LIKE PROTEIN (HRLP) 可以与剪接因子 ARGININE/SERINE-RICH 45 (SR45)相互作用，发生

液-液相分离，形成核凝聚体，增强 *FLC* 内含子 I 附近 R-loop 的形成，阻碍 RNA 聚合酶 II 结合 DNA，抑制 *FLC* 表达，促进成花转变(图 3B)<sup>[15]</sup>。由此可见，*FLC* 基因表达受到蛋白质相分离的调控，其作为多个开花调控途径下游关键基因，在自然变异群体和人工驯化选择中都占有重要地位，说明蛋白质相分离在植物开花性状的自然变异和人工选择驯化中发挥重要调控作用。

## 2.2 蛋白质相分离响应环境信号调控植物开花

相分离还可能作为植物的温度感受机制，参与温度对成花转变的调控<sup>[16]</sup>。植物生物钟的核心信号中枢晚间复合体是温度响应性转录抑制因子，包括支架蛋白 EARLY FLOWERING 3 (ELF3)、小  $\alpha$  螺旋蛋白 EARLY FLOWERING 4 (ELF4)和转录靶点结合蛋白 LUX ARRHYTHMO (LUX)<sup>[51]</sup>，晚间复合体综合光和温度等环境信号和植物自身生长状态，调控下游基因的表达，调控植物生长发育<sup>[52,53]</sup>。蛋白质 ELF3 具有 PrD (predicted prion domain)结构，在高温下形成多聚体，导致 ELF3 在靶基因上的占用率随温度的升高而降低，从而减弱晚间复合体对靶基因的转录抑制作用<sup>[16]</sup>(图 3C)。ELF3 的 PrD 区域

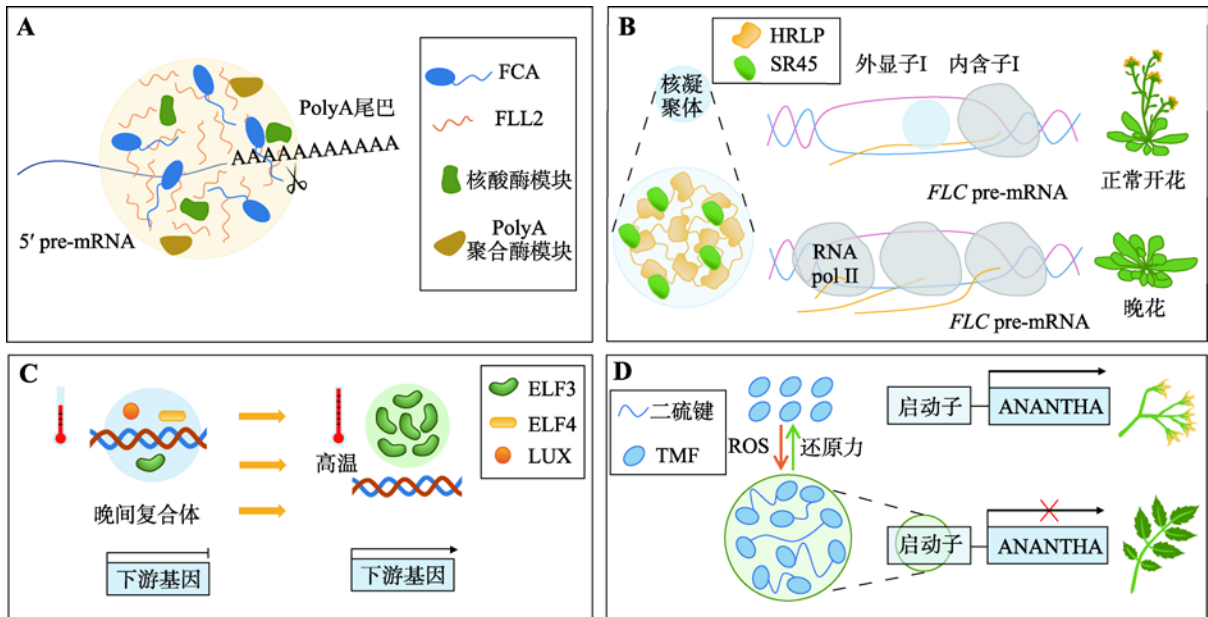


图 3 开花调控中的蛋白质相分离现象

Fig. 3 Phase separation in flowering regulation

A: 卷曲螺旋蛋白 FLL2 促进核小体作用的工作模型; B: HRLP 通过相分离调控 FLC 共转录剪接的工作模型; C: ELF3 响应温度影响晚间复合体的转录抑制作用的工作模型; D:  $H_2O_2$  促进开花时间控制因子 TMF 转录凝聚物形成的工作模型。

在具有不同气候适应性的不同物种中存在差异, 例如生长在温带的茄属植物马铃薯中 ELF3 同源蛋白的 PrD 区域相比拟南芥 ELF3 较短, 而在更温暖的气候下生长的二穗短柄草 (*Brachypodium distachyon*) 中的同源蛋白没有 PrD 区域, 这种差异可能是不同物种适应不同气候, 获得成花转变时间变异的驱动力之一<sup>[16]</sup>。

与温度信号高度相关的光信号同样可以通过相分离调控成花转变。光信号对植物的调控作用涉及光敏色素核体的形成, 其组分包括光敏色素和其他光信号相关组分<sup>[54]</sup>。在光诱导下, 蓝光受体隐花色素 2 (cryptochrome 2, CRY2) 通过液液相分离招募 METTL3/14 型  $N^6$ -甲基腺苷 RNA 甲基转移酶形成复合物, 促进分子振荡器的核心组分 CIRCADIAN CLOCK ASSOCIATED 1 (CCA1) 的 mRNA 发生  $m^6A$  甲基化, 从而抑制其降解, 延长生物钟周期, CRY2 突变导致拟南芥晚花<sup>[55-57]</sup>。光敏色素 B (phytochrome B, phyB) 不仅参与植物对光信号的响应, 也参与植物对温度信号的响应。当 phyB 被光由 Pr 构象激活为 Pfr 构象时, phyB 可以通过液液相分离形成光小体, 并且其 N 端的 IDR 区域可以响应温度变

化, 促进光小体在高温时解离<sup>[58]</sup>。值得一提的是, 植物开花性状与温度和光信号高度相关, 其中的重要调控因子 phyB 和 ELF3 除了可以分别通过蛋白质相分离调控植物开花外, 两者之间也存在一定的分子联系。例如: phyB 通过影响 ELF3 的细胞定位, 介导 ELF3 与光信号通路间的联系<sup>[59]</sup>; 同时 ELF3 可以在 phyB 下游参与调控小麦抽穗的光周期<sup>[60]</sup>。

细胞内活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 水平随环境和生理条件的改变迅速变化, 可以作为信号分子调节生物体的生命活动<sup>[61-63]</sup>。在番茄中, 茎尖干细胞边缘的过氧化氢可以氧化 ALOG (*Arabidopsis* LSH1 and *Oryza* G1) 家族成员 TMF 蛋白第 112 位、124 位和 126 位的半胱氨酸残基, 形成分子间和分子内二硫键, 连接多个 TERMINATING FLOWER (TMF) 分子, 驱动蛋白质相分离形成凝聚物, 靶向成花基因 ANANTHA (AN, 与拟南芥 UFO 基因同源) 启动子抑制其表达, 进而控制番茄茎尖分生组织的成熟和开花 (图 3D)<sup>[17]</sup>。如 TMF 编码基因发生突变, AN 等成花基因被提前激活表达, 导致番茄提前开花并且由多花序转变为单花序<sup>[64]</sup>。基因组复制产生家族成员的扩张是保障遗传稳定性

和发育稳健性的基础。在番茄 ALOG 家族中,除 TMF 外的其他家族成员(TMF FAMILY MEMBERS, TFAMs)同样具有发生相分离的能力,并且 TFAMs 与 TMF 通过蛋白质相互作用和相分离形成功能更加强大的异质性凝聚体,靶向成花基因的启动子,精准维持茎尖干细胞的发育稳健性,进而决定番茄的开花时间和果实数量<sup>[18]</sup>,说明蛋白质相分离是 ALOG 家族成员实现功能的驱动力。

### 3 调控成花转变的蛋白质相分离在从头驯化中的应用潜力

目前在从头驯化中应用的基因多为在本作物或亲缘关系较近的作物驯化的性状改良中的主效基因,针对这些基因进行编辑,往往可以得到可预见的表型,有助于在分子设计育种中对目标表型的确定。但是,这些来源于驯化历史中的基因种类较为单一,具有自身的功能局限性,从头驯化的可用基因库急需扩展;并且,目前在作物从头驯化和传统育种工作中,应用较多的仍然是对基因及其调控元件的主要功能序列进行编辑,突变方向具有不可预知性。为了突破限制,为分子设计育种提供更多可能,开发针对控制重要性状基因的功能调控的更多方式十分必要。

在调控有机生命体的正常生命活动中发挥重要作用的蛋白质相分离为人们带来新选择。近年来,有多种疾病的发生已经被证实与重要蛋白的相分离异常相关<sup>[65-67]</sup>,这些发现为疾病治疗提供了新思路。例如与人类努南综合征、多发性雀斑努南综合征以及癌症相关的非受体蛋白酪氨酸磷酸酶 Src homology-2 (SH2) domain-containing protein tyrosine phosphatase 2 (SHP2)突变体就具有液-液相分离行为,相分离的发生导致其蛋白酪氨酸磷酸酶活性被异常促进,而 SHP2 变构抑制剂可以减弱其突变型的相分离行为,可能为疾病靶向治疗提供新策略<sup>[65]</sup>。相分离不仅可以应用于疾病治疗,在作物驯化中也大有可为。发生相分离的蛋白能够通过改变凝聚状态,灵活响应环境和植物自身生理条件的变化。多项研究已经证实,植物成花转变这一受到环境和内源性信号调控的过程中有众多相分离蛋白质参与<sup>[14-18]</sup>,通过人工干预这些蛋白的相分离,实现下游开花基因

表达的精准控制,可能为作物育种中开花性状的个性化设计提供新的分子模块。

*FLC* 作为春化途径<sup>[68]</sup>和自主途径<sup>[69]</sup>的重要开花抑制因子,在作物育种中被广泛应用。在驯化中受到选择的春化基因在育种中同样受到关注,Jeong 等<sup>[70]</sup>利用 CRISPR/Cas9 基因编辑技术敲除大白菜 (*Brassica rapa* ssp. *pekinensis*)中 *FLC* 同源基因,可以得到无需春化的早花大白菜。相分离机制同样可以参与调控春化途径关键基因 *FLC* 的表达,无论是 FCA 核凝聚体的无法正常形成,还是 HRLP 核凝聚体的形成障碍,均会导致 *FLC* 的表达上调,抑制成花转变,造成植物晚花表型<sup>[14,15]</sup>。因此,对调控 *FLC* 表达的上游相关组分进行改造,改变凝聚体的形成状态和功能,可以被应用于相关育种工作。ELF3 和 phyB 作为植物光温信号调控的重要组分,在植物环境适应性中具有重要作用。在相分离参与的晚间复合体功能调控中,ELF3 的相分离影响晚间复合体的转录抑制作用,ELF3 的相分离能力与植物物种间温度适应性的自然变异相关<sup>[16]</sup>。通过改变 ELF3 的蛋白相分离能力,改造相关调控通路,可能赋予植物新的温度适应性,在作物育种中具有巨大应用潜力。CRY2 和 phyB 应用在分子设计育种中可能赋予植物新的光温适应性,有助于作物种植地区的拓展<sup>[60,61]</sup>。番茄 ALOG 家族成员通过蛋白质相分离抑制成花基因的过早表达,维持番茄适时开花和花序的正常发育<sup>[17,18]</sup>,在按需设计作物花序结构和开花时间的分子设计育种中具有重要应用价值。

相分离机制具有高度的环境敏感性,pH 值、温度和氧化还原状态等与蛋白质相分离的发生密切相关,相分离现象在成花转变调控中广泛存在。相对于针对基因功能序列进行编辑的不可预知性和在转录水平上对基因表达进行调控的传统方法,改变重要调控蛋白的相分离能力,是在蛋白质行为上对调控元件的功能进行定向改造,从而实现对目标性状的精准控制,可以为基因组重新设计提供新的思路,也可能为作物育种开辟新途径。

### 4 结语与展望

从头驯化具有速度快、种质遗传多样性丰富等

优势, 是广受瞩目的育种新策略。作为新策略, 作物从头驯化的技术路线和方法等都还需要进一步完善。此外, 从头驯化策略对基因资源和种质资源均具有较高要求, 但目前可用的基因资源非常有限, 亟需进一步鉴定具有育种价值的基因。此外, 利用现有作物的野生祖先作为从头驯化的底盘材料具有一定局限性, 扩大野生种质资源的收集与筛选鉴定, 丰富可用于从头驯化的底盘材料的资源库可以有效提高从头驯化育种的效率。

成花转变不仅决定作物最终产量, 还制约着作物的种植区域。开花时间性状的调控基因在现有作物的驯化过程中被选择, 为这些作物在不同地区广泛种植奠定了基础。从头驯化以野生种作为底盘材料, 而生长于不同纬度地区的野生种, 开花时间往往不适合生产需求。因此, 开花时间是从头驯化中需要重点关注的性状之一。蛋白质相分离因其高度的环境敏感性, 广泛参与生物体内各种生命活动的调控, 在成花转变的调控中同样发挥重要作用。聚焦于成花转变过程中重要蛋白质的相分离能力调控, 定向改造蛋白功能, 可能会为分子设计育种和从头驯化育种带来新的突破。

## 致谢:

感谢中国科学院遗传与发育生物学研究所许操研究员在文章写作方面给予的帮助。

## 参考文献(References):

- [1] Hickey LT, N Hafeez A, Robinson H, Jackson SA, Leal-Bertioli SCM, Tester M, Gao CX, Godwin ID, Hayes BJ, Wulff BBH. Breeding crops to feed 10 billion. *Nat Biotechnol*, 2019, 37(7): 744–754. [DOI]
- [2] Chen Z, Bu QY, Liu GF, Wang MQ, Wang HR, Liu HZ, Li XF, Li H, Fang J, Liang Y, Teng ZF, Kang S, Yu H, Cheng ZK, Xue YB, Liang CZ, Tang JY, Li JY, Chu CC. Genomic decoding of breeding history to guide breeding-by-design in rice. *Natl Sci Rev*, 2023, 10(5): nwad029. [DOI]
- [3] Zhang CZ, Yang ZM, Tang D, Zhu YH, Wang P, Li DW, Zhu GT, Xiong XY, Shang Y, Li CH, Huang SW. Genome design of hybrid potato. *Cell*, 2021, 184(15): 3873–3883.e12. [DOI]
- [4] Yu H, Li JY. Breeding future crops to feed the world through *de novo* domestication. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 1171. [DOI]
- [5] Li TD, Yang XP, Yu Y, Si XM, Zhai XW, Zhang HW, Dong WX, Gao CX, Xu C. Domestication of wild tomato is accelerated by genome editing. *Nat Biotechnol*, 2018, 36(12): 1160–1163. [DOI]
- [6] Zsögön A, Čermák T, Naves ER, Notini MM, Edel KH, Weigl S, Freschi L, Voytas DF, Kudla J, Peres LEP. *De novo* domestication of wild tomato using genome editing. *Nat Biotechnol*, 2018, 36(12): 1211–1216. [DOI]
- [7] Yu H, Lin T, Meng XB, Du HL, Zhang JK, Liu GF, Chen MJ, Jing YH, Kou LQ, Li XX, Gao Q, Liang Y, Liu XD, Fan ZL, Liang YT, Cheng ZK, Chen MS, Tian ZX, Wang YH, Chu CC, Zuo JR, Wan JM, Qian Q, Han B, Zuccolo A, Wing RA, Gao CX, Liang CZ, Li JY. A route to *de novo* domestication of wild allotetraploid rice. *Cell*, 2021, 184(5): 1156–1170.e14. [DOI]
- [8] Bartlett ME, Moyers BT, Man J, Subramaniam B, Makunga NP. The power and perils of *de novo* domestication using genome editing. *Annu Rev Plant Biol*, 2022, 74: 727–750. [DOI]
- [9] Zhao PS, Li XF, Sun H, Zhao X, Wang XH, Ran RL, Zhao JC, Wei YM, Liu X, Chen GX. Healthy values and *de novo* domestication of sand rice (*Agriophyllum squarrosum*), a comparative view against *Chenopodium quinoa*. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2021, 63(19): 4188–4209. [DOI]
- [10] Lemmon ZH, Reem NT, Dalrymple J, Soyk S, Swartwood KE, Rodriguez-Leal D, Van Eck J, Lippman ZB. Rapid improvement of domestication traits in an orphan crop by genome editing. *Nat Plants*, 2018, 4(10): 766–770. [DOI]
- [11] Lin XY, Liu BH, Weller JL, Abe J, Kong FJ. Molecular mechanisms for the photoperiodic regulation of flowering in soybean. *J Integr Plant Biol*, 2020, 63(6): 981–994. [DOI]
- [12] Lu SJ, Fang C, Abe J, Kong FJ, Liu BH. Current overview on the genetic basis of key genes involved in soybean domestication. *ABIOTECH*, 2022, 3(2): 126–139. [DOI]
- [13] Sánchez B, Rasmussen A, Porter JR. Temperatures and the growth and development of maize and rice: a review. *Glob Chang Biol*, 2014, 20(2): 408–417. [DOI]
- [14] Fang XF, Wang L, Ishikawa R, Li YX, Fiedler M, Liu FQ, Calder G, Rowan B, Weigel D, Li PL, Dean C. *Arabidopsis* FLL2 promotes liquid-liquid phase separation of polyadenylation complexes. *Nature*, 2019, 569(7755): 265–269. [DOI]
- [15] Zhang Y, Fan S, Hua CM, Teo ZWN, Kiang JX, Shen LS, Yu H. Phase separation of HRLP regulates flowering time



- in *Arabidopsis*. *Sci Adv*, 2022, 8(25): eabn5488. [DOI]
- [16] Jung JH, Barbosa AD, Hutin S, Kumita JR, Gao MJ, Derwort D, Silva CS, Lai XL, Pierre E, Geng F, Kim SB, Baek S, Zubieta C, Jaeger KE, Wigge PA. A prion-like domain in ELF3 functions as a thermosensor in *Arabidopsis*. *Nature*, 2020, 585(7824): 256–260. [DOI]
- [17] Huang XZ, Chen SD, Li WP, Tang LQ, Zhang YQ, Yang N, Zou YP, Zhai XW, Xiao N, Liu W, Li PL, Xu C. ROS regulated reversible protein phase separation synchronizes plant flowering. *Nat Chem Biol*, 2021, 17(5): 549–557. [DOI]
- [18] Huang XZ, Xiao N, Zou YP, Xie Y, Tang LL, Zhang YQ, Yu Y, Li YT, Xu C. Heterotypic transcriptional condensates formed by prion-like paralogous proteins canalize flowering transition in tomato. *Genome Biol*, 2022, 23(1): 78. [DOI]
- [19] Wang MM, Zhu XP, Peng GQ, Liu ML, Zhang SQ, Chen MH, Liao ST, Wei XY, Xu P, Tan XY, Li FP, Li ZC, Deng L, Luo ZL, Zhu LY, Zhao S, Jiang DG, Li J, Liu ZL, Xie XR, Wang SK, Wu AM, Zhuang CX, Zhou H. Methylesterification of cell-wall pectin controls the diurnal flower-opening times in rice. *Mol Plant*, 2022, 15(6): 956–972. [DOI]
- [20] Michaels SD, Amasino RM. Loss of FLOWERING LOCUS C activity eliminates the late-flowering phenotype of FRIGIDA and autonomous pathway mutations but not responsiveness to vernalization. *Plant Cell*, 2001, 13(4): 935–941. [DOI]
- [21] Simpson GG, Dijkwel PP, Quesada V, Henderson I, Dean C. FY is an RNA 3' end-processing factor that interacts with FCA to control the *Arabidopsis* floral transition. *Cell*, 2003, 113(6): 777–787. [DOI]
- [22] Wang HP, Pan JJ, Li Y, Lou DJ, Hu YR, Yu DQ. The DELLA-CONSTANS transcription factor cascade integrates gibberellic acid and photoperiod signaling to regulate flowering. *Plant Physiol*, 2016, 172(1): 479–488. [DOI]
- [23] Cho LH, Yoon J, An G. The control of flowering time by environmental factors. *Plant J*, 2017, 90(4): 708–719. [DOI]
- [24] Debernardi JM, Woods DP, Li K, Li CX, Dubcovsky J. MiR172-APETALA2-like genes integrate vernalization and plant age to control flowering time in wheat. *PLoS Genet*, 2022, 18(4): e1010157. [DOI]
- [25] Kong XX, Luo LD, Zhao JJ, Chen Q, Chang GX, Huang JL, Yang YP, Hu XY. Expression of FRIGIDA in root inhibits flowering in *Arabidopsis thaliana*. *J Exp Bot*, 2019, 70(19): 5101–5114. [DOI]
- [26] Ye J, Niu XJ, Yang YL, Wang S, Xu Q, Yuan XP, Yu HY, Wang YP, Wang S, Feng Y, Wei XH. Divergent *Hdl1*, *Ghd7*, and *DTH7* alleles control heading date and yield potential of *Japonica* rice in northeast China. *Front Plant Sci*, 2018, 9: 35. [DOI]
- [27] Lu SJ, Dong LD, Fang C, Liu SL, Kong LP, Cheng Q, Chen LY, Su T, Nan HY, Zhang D, Zhang L, Wang ZJ, Yang YQ, Yu DY, Liu XL, Yang QY, Lin XY, Tang Y, Zhao XH, Yang XQ, Tian CG, Xie QG, Li X, Yuan XH, Tian ZX, Liu BH, Weller JL, Kong FJ. Stepwise selection on homeologous PRR genes controlling flowering and maturity during soybean domestication. *Nat Genet*, 2020, 52(4): 428–436. [DOI]
- [28] Lu SJ, Zhao XH, Hu YL, Liu SL, Nan HY, Li XM, Fang C, Cao D, Shi XY, Kong LP, Su T, Zhang FG, Li SC, Wang Z, Yuan XH, Cober ER, Weller JL, Liu BH, Hou XL, Tian ZX, Kong FJ. Natural variation at the soybean J locus improves adaptation to the tropics and enhances yield. *Nat Genet*, 2017, 49(5): 773–779. [DOI]
- [29] Yang Q, Li Z, Li WQ, Ku LX, Wang C, Ye JR, Li K, Yang N, Li YP, Zhong T, Li JS, Chen YH, Yan JB, Yang XH, Xu ML. CACTA-like transposable element in ZmCCT attenuated photoperiod sensitivity and accelerated the postdomestication spread of maize. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(42): 16969–16974. [DOI]
- [30] Cai X, Lin RM, Liang JL, King GJ, Wu J, Wang XW. Transposable element insertion: a hidden major source of domesticated phenotypic variation in *Brassica rapa*. *Plant Biotechnol J*, 2022, 20(7): 1298–1310. [DOI]
- [31] Soyk S, Müller NA, Park SJ, Schmalenbach I, Jiang K, Hayama R, Zhang L, Van Eck J, Jiménez-Gómez JM, Lippman ZB. Variation in the flowering gene SELF PRUNING 5G promotes day-neutrality and early yield in tomato. *Nat Genet*, 2017, 49(1): 162–168. [DOI]
- [32] Song QX, Zhang TZ, Stelly DM, Chen ZJ. Epigenomic and functional analyses reveal roles of epialleles in the loss of photoperiod sensitivity during domestication of allotetraploid cottons. *Genome Biol*, 2017, 18(1): 99. [DOI]
- [33] Park SJ, Jiang K, Tal L, Yichie Y, Gar O, Zamir D, Eshed Y, Lippman ZB. Optimization of crop productivity in tomato using induced mutations in the florigen pathway. *Nat Genet*, 2014, 46(12): 1337–1342. [DOI]
- [34] Xue WY, Xing YZ, Weng XY, Zhao Y, Tang WJ, Wang L, Zhou HJ, Yu SB, Xu CG, Li XH, Zhang QF. Natural variation in *Ghd7* is an important regulator of heading date

- and yield potential in rice. *Nat Genet*, 2008, 40(6): 761–767. [DOI]
- [35] Gao H, Jin MN, Zheng XM, Chen J, Yuan DY, Xin YY, Wang MQ, Huang DY, Zhang Z, Zhou KN, Sheng PK, Ma J, Ma WW, Deng HF, Jiang L, Liu SJ, Wang HY, Wu CY, Yuan LP, Wan JM. Days to heading 7, a major quantitative locus determining photoperiod sensitivity and regional adaptation in rice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(46): 16337–16342. [DOI]
- [36] Zhu SB, Gu JG, Yao JJ, Li YC, Zhang ZT, Xia WC, Wang Z, Gui XR, Li LT, Li D, Zhang H, Liu C. Liquid-liquid phase separation of RBGD2/4 is required for heat stress resistance in *Arabidopsis*. *Dev Cell*, 2022, 57(5): 583–597. [DOI]
- [37] Boke E, Ruer M, Wühr M, Coughlin M, Lemaitre R, Gygi SP, Alberti S, Drechsel D, Hyman AA, Mitchison TJ. Amyloid-like self-assembly of a cellular compartment. *Cell*, 2016, 166(3): 637–650. [DOI]
- [38] Hampoelz B, Schwarz A, Ronchi P, Bragulat-Teixidor H, Tischer C, Gaspar I, Ephrussi A, Schwab Y, Beck M. Nuclear pores assemble from nucleoporin condensates during oogenesis. *Cell*, 2019, 179(3): 671–686. [DOI]
- [39] Rai AK, Chen JX, Selbach M, Pelkmans L. Kinase-controlled phase transition of membraneless organelles in mitosis. *Nature*, 2018, 559(7713): 211–216. [DOI]
- [40] Wang H, Yan X, Aigner H, Bracher A, Nguyen ND, Hee WY, Long BM, Price GD, Hartl FU, Hayer-Hartl M. Rubisco condensate formation by CcmM in  $\beta$ -carboxysome biogenesis. *Nature*, 2019, 566(7742): 131–135. [DOI]
- [41] Banani SF, Lee HO, Hyman AA, Rosen MK. Biomolecular condensates: organizers of cellular biochemistry. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2017, 18(5): 285–298. [DOI]
- [42] Gao YF, Li X, Li PL, Lin Y. A brief guideline for studies of phase-separated biomolecular condensates. *Nat Chem Biol*, 2022, 18(12): 1307–1318. [DOI]
- [43] Brangwynne CP, Eckmann CR, Courson DS, Rybarska A, Hoege C, Gharakhani J, Jülicher F, Hyman AA. Germline P granules are liquid droplets that localize by controlled dissolution/condensation. *Science*, 2009, 324(5935): 1729–1732. [DOI]
- [44] Shen B, Chen Z, Yu C, Chen T, Shi M, Li T. Computational screening of phase-separating proteins. *Genomics Proteomics Bioinformatics*, 2021, 19(1): 13–24. [DOI]
- [45] Martin EW, Thomasen FE, Milkovic NM, Cuneo MJ, Grace CR, Nourse A, Lindorff-Larsen K, Mittag T. Interplay of folded domains and the disordered low-complexity domain in mediating hnRNP A1 phase separation. *Nucleic Acids Res*, 2021, 49(5): 2931–2945. [DOI]
- [46] Srikanth A, Schmid M. Regulation of flowering time: all roads lead to Rome. *Cell Mol Life Sci*, 2011, 68(12): 2013–2037. [DOI]
- [47] Zavaliev R, Mohan R, Chen TY, Dong XN. Formation of NPR1 condensates promotes cell survival during the plant immune response. *Cell*, 2020, 182(5): 1093–1108.e18. [DOI]
- [48] Wang BY, Zhang HH, Huai JL, Peng FY, Wu J, Lin RC, Fang XF. Condensation of SEUSS promotes hyperosmotic stress tolerance in *Arabidopsis*. *Nat Chem Biol*, 2022, 18(12): 1361–1369. [DOI]
- [49] Dorone Y, Boeynaems S, Flores E, Jin B, Hateley S, Bossi F, Lazarus E, Pennington JG, Michiels E, De Decker M, Vints K, Baatsen P, Bassel GW, Otegui MS, Holehouse AS, Exposito-Alonso M, Sukenik S, Gitler AD, Rhee SY. A prion-like protein regulator of seed germination undergoes hydration-dependent phase separation. *Cell*, 2021, 184(16): 4284–4298.e27. [DOI]
- [50] Quesada V, Macknight R, Dean C, Simpson GG. Autoregulation of FCA pre-mRNA processing controls *Arabidopsis* flowering time. *EMBO J*, 2003, 22(12): 3142–3152. [DOI]
- [51] Nusinow DA, Helfer A, Hamilton EE, King JJ, Imaizumi T, Schultz TF, Farré EM, Kay SA. The ELF4-ELF3-LUX complex links the circadian clock to diurnal control of hypocotyl growth. *Nature*, 2011, 475(7356): 398–402. [DOI]
- [52] Andrade L, Lu YL, Cordeiro A, Costa JMF, Wigge PA, Saibo NJM, Jaeger KE. The evening complex integrates photoperiod signals to control flowering in rice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2022, 119(26): e2122582119. [DOI]
- [53] Zhao YP, Zhao BB, Xie YR, Jia H, Li YX, Xu MY, Wu GX, Ma XJ, Li QQ, Hou M, Li CY, Xia ZC, He G, Xu H, Bai ZJ, Kong DX, Zheng ZG, Liu Q, Liu YT, Zhong JS, Tian F, Wang BB, Wang HY. The evening complex promotes maize flowering and adaptation to temperate regions. *Plant Cell*, 2022, 35(1): 369–389. [DOI]
- [54] Chen M. Phytochrome nuclear body: an emerging model to study interphase nuclear dynamics and signaling. *Curr Opin Plant Biol*, 2008, 11(5): 503–508. [DOI]
- [55] Más P, Devlin PF, Panda S, Kay SA. Functional interaction of phytochrome B and cryptochrome 2. *Nature*, 2000, 408(6809): 207–211. [DOI]
- [56] Guo H, Yang H, Mockler TC, Lin C. Regulation of flowering time by *Arabidopsis* photoreceptors. *Science*,

- 1998, 279(5355): 1360–1363 [DOI]
- [57] Wang X, Jiang BC, Gu LF, Chen YD, Mora M, Zhu M, Noory E, Wang Q, Lin CT. A photoregulatory mechanism of the circadian clock in *Arabidopsis*. *Nat Plants*, 2021, 7(10): 1397–1408. [DOI]
- [58] Chen D, Lyu MH, Kou XX, Li J, Yang ZX, Gao LL, Li Y, Fan LM, Shi H, Zhong SW. Integration of light and temperature sensing by liquid-liquid phase separation of phytochrome B. *Mol Cell*, 2022, 82(16): 3015–3029.e6. [DOI]
- [59] Ronald J, Su C, Wang L, Davis SJ. Cellular localization of *Arabidopsis* EARLY FLOWERING3 is responsive to light quality. *Plant Physiol*, 2022, 190(2): 1024–1036. [DOI]
- [60] Alvarez MA, Li CX, Lin HQ, Joe A, Padilla M, Woods DP, Dubcovsky J. EARLY FLOWERING 3 interactions with PHYTOCHROME B and PHOTOPERIOD1 are critical for the photoperiodic regulation of wheat heading time. *PLoS Genet*, 2023, 19(5): e1010655. [DOI]
- [61] He JJ, Zhang RX, Kim DS, Sun P, Liu HG, Liu ZM, Hetherington AM, Liang YK. ROS of distinct sources and salicylic acid separate elevated CO<sub>2</sub>-mediated stomatal movements in *Arabidopsis*. *Front Plant Sci*, 2020, 11: 542. [DOI]
- [62] Yamada M, Han XW, Benfey PN. RGF1 controls root meristem size through ROS signalling. *Nature*, 2020, 577(7788): 85–88. [DOI]
- [63] Nadarajah KK. ROS homeostasis in abiotic stress tolerance in plants. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(15): 5208. [DOI]
- [64] MacAlister CA, Park SJ, Jiang K, Marcel F, Bendahmane A, Izkovich Y, Eshed Y, Lippman ZB. Synchronization of the flowering transition by the tomato TERMINATING FLOWER gene. *Nat Genet*, 2012, 44(12): 1393–1398. [DOI]
- [65] Zhu GY, Xie JJ, Kong WN, Xie JF, Li YC, Du L, Zheng QG, Sun L, Guan MF, Li H, Zhu TX, He H, Liu ZY, Xia X, Kan C, Tao YQ, Shen HC, Li D, Wang SY, Yu YG, Yu ZH, Zhang ZY, Liu C, Zhu JD. Phase separation of disease-associated SHP2 mutants underlies MAPK hyperactivation. *Cell*, 2020, 183(2): 490–502 e18. [DOI]
- [66] Li CH, Coffey EL, Dall'Agnese A, Hannett NM, Tang X, Henninger JE, Platt JM, Oksuz O, Zamudio AV, Afeyan LK, Schuijers J, Liu XS, Markoulaki S, Lungjangwa T, LeRoy G, Svoboda DS, Wogram E, Lee TI, Jaenisch R, Young RA. MeCP2 links heterochromatin condensates and neurodevelopmental disease. *Nature*, 2020, 586(7829): 440–444. [DOI]
- [67] Ahn JH, Davis ES, Daugird TA, Zhao S, Quiroga IY, Uryu H, Li J, Storey AJ, Tsai YH, Keeley DP, Mackintosh SG, Edmondson RD, Byrum SD, Cai L, Tackett AJ, Zheng DY, Legant WR, Phanstiel DH, Wang GG. Phase separation drives aberrant chromatin looping and cancer development. *Nature*, 2021, 595(7868): 591–595. [DOI]
- [68] Sheldon CC, Rouse DT, Finnegan EJ, Peacock WJ, Dennis ES. The molecular basis of vernalization: the central role of FLOWERING LOCUS C (FLC). *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97(7): 3753–3758. [DOI]
- [69] Simpson GG. The autonomous pathway: epigenetic and post-transcriptional gene regulation in the control of *Arabidopsis* flowering time. *Curr Opin Plant Biol*, 2004, 7(5): 570–574. [DOI]
- [70] Jeong SY, Ahn H, Ryu J, Oh Y, Sivanandhan G, Won K, Park YD, Kim JS, Kim H, Lim YP, Kim S. Generation of early-flowering Chinese cabbage (*Brassica rapa* spp. *pekinensis*) through CRISPR/Cas9-mediated genome editing. *Plant Biotechnol Rep*, 2019, 13(5): 491–499. [DOI]

(责任编辑: 孔凡江)