



Bitkilerde Vernalizasyon Olgusunun Altında Yatan Doğal Bir Sezgi: Epigenetik

Serdar Altıntaş¹, Behcet İnal^{2*}

¹Siirt Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, 56100 Siirt, Türkiye

²Siirt Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, 56100 Siirt, Türkiye

MAKALE BİLGİSİ

Geliş 18 Haziran 2016
Kabul 27 Ağustos 2016
Çevrimiçi baskı, ISSN: 2148-127X

Anahtar Kelimeler:
Arabidopsis
Çiçeklenme
Epigenetik
Vernalizasyon

*Sorumlu Yazar:

E-mail: behcetinal01@gmail.com

Ö Z E T

Bitkiler çevrelerinde meydana gelen değişiklikleri algılayabilmek, büyüme ve gelişimlerini değişen koşullara göre koordine etmek için çeşitli izleme sistemleri geliştirmişlerdir. Bu bağlamda; bazı bitki gruplarında çiçeklenmenin meydana gelmesi için belli bir süre soğuğa maruz kalması gerekmektedir. Vernalizasyon olarak bilinen bu süreç, bahsedilen sistemler için bir örnektir. Vernalizasyon süreci birçok bitkide çiçeklenmeye geçişi inhibe eden floral baskılayıcı genlerin baskılanmasıyla sonuçlanır. Bu derlemede bitkiler için model bir organizma olarak kabul edilen *Arabidopsis* ve diğer çiçekli bitkilerde, vernalizasyon aracılı çiçeklenmeye geçiş süreciyle ilgili son epigenetik gelişmeler ele alınacaktır. Bu çalışmada ayrıca *Arabidopsis* ve diğer bitkilerde vernalizasyona yanıt olarak verilen düzenleyici döngüler arasındaki benzerlikler ve farklılıkların tartışılması ile beraber vernalizasyonda baskılayıcı etki yapan gen lokuslarında meydana gelen histon modifikasyonundaki değişimler ve vernalizasyonda etkili diğer epigenetik mekanizmalardan da bahsedilecektir. Sonuç olarak bitkilerdeki vernalizasyon olgusunda etkili epigenetik mekanizmaların araştırılması, gelecekte çiçeklenmeye bağlı verim kayıplarının azalmasında etkili olması açısından önemlidir.

Turkish Journal Of Agriculture - Food Science And Technology, 4(11): 973-980, 2016

A Natural Intuition Underlying Vernalization Case in Plants: Epigenetic

ARTICLE INFO

Article history:
Received 18 June 2016
Accepted 27 August 2016
Available online, ISSN: 2148-127X

Keywords:
Arabidopsis
Flowering
Epigenetic
Vernalization

*Corresponding Author:

E-mail: behcetinal01@gmail.com

ABSTRACT

Plants have developed a number of monitoring systems to sense changes occurring in the environment and to coordinate their growth and development accordingly. Some plant groups have cold exposure requirement for a certain period to induce flowering. That process known as vernalization is case in point for mentioned systems. In many plants group, vernalization results in repression of floral repressor genes inhibiting floral transition. In this review, last epigenetic developments about vernalization mediated floral transition in *Arabidopsis* regarded as model organism for plants and other flowering plants will be discussed. Furthermore, similarity and differences in regulatory cycles in *Arabidopsis* and other flowering plants, changes in histone modifications at floral repressor loci and other epigenetic systems effective in vernalization will be discussed. To sum up, profound investigation of epigenetic mechanism behind the vernalization process plays an important role to decrease flowering-dependent yield losses.

Giriş

Çevresel değişikliklerin sürekli izlenmesi bitkinin büyümesi ve gelişmesinde kilit öneme sahiptirler. Bitkiler, metabolizmalarını dış etkilerle meydana gelen günlük değişimlere göre uyarlar ve mevsimsel işaretlere göre gelişim devrelerini belirlerler. Işık miktarı ve kalitesi ile fotoperiyodun algılanması sirkadiyan (günlük) saati ile etkileşimlerin yanı sıra fotoreseptörler vasıtasıyla olmaktadır (Chen ve Chory, 2011). Bitkilerin sıcaklıkları algılama şekli çok iyi anlaşılmamıştır, ancak muhtemelen

bu süreç kromatin kaynaklı mekanizmaları da içeren bir takım reseptörlerle olmaktadır (Kumar ve Wigge, 2010). Bazı durumlarda bu çevresel işaretler bitkinin gelişim dönemi boyunca mitotik olarak sabit kalan değişimlere neden olur. Bugüne kadar bitkilerde bu tür epigenetik hafızaya dair karakterize edilen en iyi örnek vernalizasyon olayıdır, yani kışın soğuğa maruz kalan bitkilerde çiçeklenmenin hızlandırılmasıdır (Chouard, 1960; Lang, 1965). Birçok bitki türü bu anlamda bir

soğuklanma ihtiyacı duymaktadır, yani bu bitkilerde uzun süren bir soğuk döneminin sonuna kadar çiçeklenme baskılanmaktadır. Vernalizasyon olayı, soğuk dönem boyunca meydana gelir, ancak çiçeklenme olayı sadece belirli periyodlarla ve diğer koşullar uygun olduğu zaman meydana gelir (Henderson ve Dean, 2004; Kim ve ark., 2009).

Vernalizasyon olayının ardındaki moleküler mekanizmaya dair mevcut bilginin çoğu model bitki *Arabidopsis thaliana* üzerine yapılan çalışmalardan gelmektedir. *Arabidopsis*'te FLOWERING LOCUS C (*FLC*) geninin kademeli baskılanması ve stabil susturma çalışmaları sonucunda bu genin vernalizasyon olayının merkezinde olduğu tespit edilmiştir (Michaels ve Amasino, 1999; Sheldon ve ark., 1999). Ayrıca diğer bazı genlerde de vernalizasyona bağlı tepkiler olduğu bulunmuştur (Bouveret ve Schonrock, 2006). *Arabidopsis*'te *FLC* geninin vernalizasyonla baskılanması çok belirgin özelliklerle karakterize edilir: (1) Bitkilerin uzun süren soğuklara maruz kalması mitotik olarak sabit durumların ortaya çıkmasına yol açar (Burn ve ark., 1993). (2) Şimdiye kadar yapılan çalışmalar sonucunda, epigenetik baskılamının muhtemelen sadece *FLC* geni ile sınırlı olduğu bulunmuştur. Bununla beraber bu gene komşu olan genlerin soğuk havalardan etkilendiği ve bu durumun *Arabidopsis*'te bulunan birçok gen için yaygın olabileceği de tahmin edilmektedir (Kilian ve ark., 2007); (3) Susturma mekanizmasının kurulması ve devam ettirilmesi arasında zaman açısından kesin bir ayırım söz konusudur, bu ayırım vernalizasyon durumunu belirgin bir şekilde ortaya koymada yardımcı olabilir. (4) Bu bağlamda vernalizasyondan sonra ilgili gen susturmanın derecesi soğuk maruzunun süresini yansıttığı için vernalizasyon olayı için susturma süreci kantitatif bir durum olarak değerlendirilmiştir (Sheldon ve ark., 2009).

Epigenetik durum, her nesilde yeniden ayarlanır, bu durum her bir nesildeki bitkiler için soğuklanma ihtiyacının ortaya çıkmasını sağlamaktadır (Choi ve ark., 2009; Sheldon ve ark., 2008). Vernalizasyon olayı birçok biyolojik mekanizmada bulunan epigenetik susturma mekanizmasıyla bazı ortak karakteristikler paylaşmaktadır. Bu derlemede başta *Arabidopsis* bitkisinde olmak üzere genel olarak bitkilerde vernalizasyon mekanizmasının epigenetiksel metodları tanımlayacağız ve özellikle de sistem dinamiklerinin matematiksel modellemesiyle elde edilen yaklaşımlara odaklanacağız (Song ve ark., 2012).

Epigenetik, genel olarak genotipik değişikliklerden kaynaklanmayan gen ekspresyonundaki farklılıkları inceler. Bu olayın, moleküler temeli karmaşık bir olay olup belli genlerin aktivasyonunun ne zaman ve nasıl olacağını ele alır. Bu gibi moleküler durumlara açıklık getirirken, DNA metilasyonu, histon modifikasyonu, kromatin şekillenmesi gibi mekanizmalardan yararlanmaktadır.

Epigenetiksel bir mekanizma olan histon modifikasyonundaki değişimler ile bitki floral baskılayıcı lokusunda meydana gelen değişim, bitkiler soğuğa maruz kaldıktan sonra da dengeli bir şekilde devam eder, bu durum aslında çiçeklenme sürecinin sağlıklı bir şekilde gerçekleşmesi için alınmış bir önlemdir (Kim ve Sung, 2014). Bitkilerde gen ifadesindeki değişikliklere bağlı olarak çiçeklenmeyle ilgili iç ve dış sinyallerin

entegrasyonu sağlanır. Örneğin, *Arabidopsis* bitkisinde çevresel ve içsel çiçeklenme yollarında meydana gelen floral gen ekspresyon seviyesindeki bir dizi değişimin etkisi ile floral integratör genlerin regülasyonunu sağlar. Bu floral genleri *FLOWERING LOCUS T* (*FT*:At1g65480), *SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CONSTANS 1* (*SOC1*:At2g45660), ve *AGAMOUS-LIKE 24* (*AGL24*:At4g24540) şeklinde sıralamak mümkündür (Kim ve ark., 2009). Çiçeklenme zamanının ayarlanabilmesi için bitkiler düzenleyici devreler kullanırlar. Bu düzenleyici devrelerin temel bileşenleri çiçeklenme zamanı ile ilgili iki büyük genden oluşmaktadır: *CONSTANS* (*CO*: At5g15840) ve *FLC*: (At5g10140). Bunlardan *CO* floral aktivatör olarak görev yaparken, *FLC* floral represör olarak görev yapar. *CO* geni foto periyod ile uyarılır ve downstream floral integratörlerin ekspresyonunu aktif hale getirir, böylece çiçeklenmeye geçiş süreci başlatılır. Öbür taraftan *FLC* geni downstream floral integratörleri baskılayarak çiçeklenmeye geçişi engeller (Kim ve ark., 2009; Searle ve ark., 2006). Hem otonom yollar hem de vernalizasyon yolları floral represör *FLC*'yi baskılar. *FLC* ekspresyon seviyesi yüksek olduğunda uyarıcı olan uzun gün koşulları altında bile çiçeklenme inhibe edilir. Bu yüzden *Arabidopsis*'te vernalizasyon ihtiyacı *FLC* ifadesinin yüksek olmasından kaynaklanır. (Johanson ve ark., 2000; Michaels ve Amasino, 1999; Sheldon ve ark., 1999). Son yıllarda yapılan geniş ölçekli çalışmalar *Arabidopsis* model bitkisinde içsel ve çevresel sinyallerle çiçeklenmeye geçişi sağlayan moleküler epigenetik mekanizmayı bir nevi aydınlatmıştır (Kim ve Sung, 2014).

Çiçeklenmenin Moleküler Temeli

Vernalizasyon olayının ardındaki moleküler mekanizmaya dair mevcut bilginin çoğu model bitki *Arabidopsis thaliana* üzerine yapılan çalışmalardan gelmektedir. *Arabidopsis*'te *FLC*'nin birinci intron bölgesine bağlı olan histonlar; histon deasetilasyonu ve histon metilasyonu için hedef konumdadırlar (Sheldon ve ark., 2006; Sung ve Amasino, 2004b). Ayrıca bu bölgelerin varlığı çiçeklenmenin baskılanması için gereklidir (Sheldon ve ark., 2002). *FLC* lokusundaki histon modifikasyonları mitoz bölünme boyunca sabittir ve bitkinin hayat döngüsü boyunca devam ettirilir (Bastow ve ark., 2004; Sheldon ve ark., 2006). *FLC* aktivitesinin bu şekilde epigenetik olarak regüle edilmesi *Arabidopsis* için somatik bir hafıza sağlar. *VIN3* (*VERNALIZATION INSENSITIVE 3*) genine vernalizasyonla *FLC* baskılanması için ihtiyaç duyulmaktadır (Sung ve Amasino, 2004b). *VIN3* soğukla uyarılan bir proteini kodlamakta ve *FLC*'yi baskılayan histon modifikasyon kompleksleriyle etkileşime girmektedir. Bu açıdan bakıldığında *VIN3* soğukun algılanmasıyla ilişkili olabilir (Gazzani ve ark., 2003). Vernalizasyon yanıtları *VRN1* (*VERNALIZATION 1*) geninin epigenetik regülasyonunu kapsamaktadır. Vernalizasyon olayı *VRN1* geninin transkripsiyonel aktivitesi üzerinde kümülatif bir etkiye sahiptir ve *FLC* lokusunda olduğu gibi transkripsiyonel baskılama için ihtiyaç duyulan *VRN1* geninin birinci intron kısmında bazı bölgeler bulunmaktadır. Bu bölgeler muhtemelen

FLC baskılanmasına benzer şekilde histon modifikasyon kompleksleri tarafından hedeflenmektedir. Daha önce yapılmış bir çalışmada, tahıllarda vernalizasyon sürecinin somatik hafızası için bir mekanizma sağladığı bulunmuştur. Ayrıca *VRNI* lokusunda ki histon modifikasyonları bitkinin soğuklanma ihtiyaçlarını giderene kadar *VRNI* geninin mitotik olarak baskılanmasına yol açar ve sonra da vernalizasyon olayı *VRNI* ekspresyonunu aktif hale getiren bu modifikasyonları tersine çevirecek protein komplekslerini aktif hale getirir. Sonuç olarak bir sonraki jenerasyonda vernalizasyon yanıtlarının baştaki durumuna döndürmek için mayoz sırasında kromatinler baskılama durumuna döndürülürler (Trevaskis ve ark. 2007).

Epigenetik Değişim Olarak Vernalizasyon

Diğer biyolojik yanıtlardan farklı olarak, vernalizasyon yanıtları dış uyartılara bağlı olarak hemen meydana gelmez. Daha çok, orijinal uyarıcı ortadan kaldırıldığında hızlandırılmış çiçeklenme meydana gelir. Vernalizasyonun epigenetik doğası gereği, bitkide düşük sıcaklığın kalıcı genetik değişikliklere neden olduğu tahmin edilmektedir (Lang, 1965). *Arabidopsis* 'te, vernalizasyonla meydana gelen major stabil değişimler floral represörün (*FLC*) stabil olarak baskılanmasıdır. Aynı zamanda *Arabidopsis* model bitkisinde vernalizasyondan önce *FLC* seviyesinin yüksek olması floral geçişi engellemektedir. Soğuğa uzun süre maruz kalan bitkilerde epigenetik *FLC* baskılanması meydana gelmektedir. Düşük sıcaklıklarla uyarılan baskılanmış *FLC* durumu, bitkiler daha uygun büyüme sıcaklıklarına döndürüldüğünde bile ardışık mitotik bölünmeler boyunca sürdürülür. Bu yüzden vernalizasyon yoluyla *FLC*'nin stabil şekilde baskılanması ilkbaharda fotoperiyod yollarının aktif hale gelmesiyle floral geçişe olanak sağlar (Kim and Sung, 2014). Diğer yandan bitkilerde vernalizasyon olgusunun epigenetik mekanizmalarından biri olan nükleer organizasyondaki değişimler, güçlü ve stabil bir epigenetik susturmada yer alan trans-acting faktörler, histon modifikasyonları ve kodlanmayan RNA için tamamlayıcı görevler üstlenmektedir. Ancak bu çoklu katmanların mekanik olarak birbirini nasıl etkiledikleri ise hala bilinmemektedir. Bu bağlantıların analizini kolaylaştıran sistem vernalizasyon sistemidir. Bu sistem uzun süre soğuğa maruz bırakılan *Arabidopsis* bitkilerinde meydana gelen *FLC* lokusunun Polycomb- aracılı epigenetik susturmasını kapsamaktadır.

FLC Lokusunun Soğuklanma Yoluyla Represyonu

Sesil organizmalar olarak bitkiler değişen ortam koşullarına karşı nasıl cevap verecekleri konusunda farklı stratejiler geliştirirler. Bu yüzden bitkiler dış sinyalleri entegre edebilmek için birçok algılayıcı mekanizma geliştirmişlerdir ve bu mekanizmaları büyüme, gelişme ve metabolizmalarının regülasyonunda kullanmaktadırlar. Bu anlamda uzun süreli mevsimsel işaretler gelişimsel sürecin zamanlanması ve çevre koşullarına uygun basamakların sıralanması için kullanılmaktadır. Örneğin artan fotoperiyoda ve günlük sıcaklığa yönelik işaretler sonucu çiçeklenme olayı gerçekleşmektedir. Mevsimsel belirteç olarak algılanan sıcaklığın bir diğer yönü ise uzun

süren kış soğuklarıdır. Bitkiler yeterli miktarda soğuklanmaya maruz kalana kadar çiçeklenme olayı baskılanır. Vernalizasyon olarak bilinen bu süreç kışın ve ilkbaharda ekilen varyetelerin ıslahının merkezinde yer almaktadır. Ayrıca birçok yerel tür de vernalizasyona ihtiyaç duymaktadır. *A. thaliana* model bitkisinde, bu süreç *FLC* lokusunu kodlayan genin epigenetik olarak susturulmasını içermektedir. (Henderson ve Dean, 2004). Bununla beraber *MADS* box proteinleri çiçeklenme evresine geçiş için gerekli olan gen ifadesini bloke eden transkripsiyonel baskılayıcı olarak görev yapar (Michaels ve Amasino, 1999; Sheldon ve ark., 1999).

Soğuğa maruz kalan bitkilerde *FLC* ekspresyonu azalır ve epigenetik olarak susturulur. Vernalizasyon için gerekli olan Trans-faktörleri tanımlayan genetik çalışmalar susturma süreci için gerekli olan birçok bileşeni tanımlamışlardır. Bu çalışmalar sonucunda histon metilasyonunun vernalizasyon sürecinin altında yatan epigenetik susturmanın belirlenmesinde temel faktör olduğu bildirilmiştir. DNA metilasyonu ise şu ana kadar vernalizasyon sürecinde herhangi bir etkiye sahip olmadığı tahmin edilmektedir (Finnegan ve ark., 2007; Jean Finnegan ve ark., 2005).

FLC Lokusunun Nesilsel Düzenlenmesi

Her nesilde *FLC* ekspresyonunun düzenlenmesi gibi epigenetik baskılamalar, DNA metilasyonu ve siRNAs (small interfering RNAs) gibi kalıtsal olan epigenetik susturmalardan farklı bir mekanizma izler (Henderson ve Jacobsen, 2007). Burda yola çıkarak DNA metilasyonunda ki değişimlerin *FLC* ekspresyonunun düzenlenmesiyle ilgisi olmadığı bulunmuştur (Jean Finnegan ve ark., 2005). Soğuklanma sonucunda, *FLC* lokusunun ekspresyonuna yönelik çalışmalar, *FLC* geninin, bitkide vernalizasyon olgusunun nasıl meydana geldiğini ortaya koymuşlardır (Choi ve ark., 2009; Sheldon ve ark., 2008). Bu bağlamda vernalizasyon ile ilgili bir lokus ekspresyondan önce düzenlenebilir, örneğin ekspresyon için gerekli olan transkripsiyon faktörlerinin varlığından önce kilit kromatin değişimleri meydana gelebilir. Ekspresyon çalışmaları, gametogenesis sırasında da *FLC*'nin geçici olarak ifade olduğunu göstermiştir (Sheldon ve ark., 2008). Bu bağlamda hücre hafızasının mitotik olarak sabit kalması vernalizasyon olayının epigenetik doğasını ortaya koymaktadır. Bu durum hayati öneme sahiptir, çünkü bir sonraki nesilde soğuklanma ihtiyacının tekrardan ortaya çıkması için bu hafıza kaybolmaktadır yani her bir nesil için vernalizasyon soğukluğunun algılanması yeniden oluşmaktadır (Sung ve Amasino, 2004a).

Sıcak Ortam Koşulları Sonrası Epigenetik Susturma

Bitkiler uzun süre soğuğa maruz kaldıktan sonra, ortam koşulları normale döndüğünde *FLC* lokusunda göreceli olarak geniş kapsamlı ve hızlı değişimler meydana gelir. Sıcak ortam koşullarına geçişten sadece birkaç gün sonra bütün *FLC* lokusunda PHD-PRC2 (Plant homeodomain proteins-Polycomb repressive complex 2) kompleksleri tespit edilir (De Lucia ve ark., 2008). İlgili gen histon modifikasyonları, H3K27me3, bütün gen boyunca önemli miktarda artar. Bu

modifikasyon gelişiminin geri kalan kısmı boyunca susturma işleminin stabil halde kalması için gerekli bir özelliktir (Angel ve ark., 2011; De Lucia ve ark., 2008). H3K27me3 soğuk maruzundan önce ortamda bulunan aktifleştirici epigenetik işaretlerle yer değiştirir, ama bu işaretler hala tam olarak tanımlanmamıştır.

FLC lokusunun epigenetik susturmasındaki aksaklıklar *VRN1* (Levy ve ark., 2002), *LIKE HETEROCHROMATIN PROTEIN1 (LHP1)* (Mylne ve ark., 2006; Sung ve ark., 2006a) ve *Arabidopsis PROTEIN ARGININE METHYLTRANSFERASE 5 (ATPRMT5)* (Schmitz ve ark., 2008) gibi aktörlerin eksikliğinden de kaynaklanabilir. *VRN1* bitkilere özgü iki tane B3 protein bağlayıcı domeini kodlar ve mitoz sırasında bile vernalizasyondan bağımsız kromatinle bağlantı kurar (Levy ve ark., 2002; Mylne ve ark., 2006). *LHP1* metazoan *HPI* heterokromatin proteinin *Arabidopsis*'teki tek homologudur (Mylne ve ark., 2006; Sung ve ark., 2006a) ve öncelikli olarak kromodomeini vasıtasıyla *H3K27me3* ile bağlantı kurar (Sung ve ark., 2006a; Turck ve ark., 2007). *ATPRMT5* tip 2 protein arjinin metiltransferazı kodlar. Bu proteinlerin polycomb değişim mekanizmasına entegre edilme yolları hala tam olarak bilinmemektedir. Vernalizasyonun bu aşamasına dair önemli bir soru soğuk dönemin ilk aşamalarından ziyade sıcak koşullara dönülür dönülmez sistemin epigenetik durumunu değiştirmesidir. Bu durum muhtemelen değişimin soğuk havalarda perdelenen DNA replikasyonuna ihtiyaç duymasından kaynaklanmaktadır (Shindo ve ark., 2006; Finnegan ve Dennis, 2007). DNA replikasyonu susturmaya dönük değişimi kolaylaştırarak aktif kromatin işaretlerini ortadan kaldırabilir. Ancak replikasyon her 24 saatte bir meydana gelir (Grandjean ve ark. 2004; Reddy ve ark. 2004), yani genel nükleozom döngüsünden çok daha az sıklıkla meydana gelir (Deal ve ark., 2010). Bu konuyla ilgili diğer ilginç bir olasılık ise DNA replikasyonu sırasında ortamda bulunan özelleşmiş bileşenlerin bu değişimi kolaylaştırmasıdır.

Histon Modifikasyon Tabanlı Epigenetik Hafızanın Dijital Doğası

FLC lokusunda olduğu gibi histon modifikasyonlarına bağlı kantitatif susturma (veya aktivasyon) mekanizması aktif ya da pasif hale getirilebilen bir mekanizmadır. Bu durum hücre bölünmesinin birçok safhasında sistem bütünlüğünün korunmasına yönelik gereklilikten kaynaklanmaktadır. DNA replikasyonu sırasında dijital açılıp kapanan hafıza baştanbaşa yazılabilir, oysaki susturma ve aktivasyon mekanizmasının kademeli hafızası çok kolay bir şekilde aksaklığa uğrayabilir. Kantitatif ve organizma seviyesinde bir hafıza oluşturmanın en tutarlı yolu belirli sayıdaki hücrenin popülasyon ortalamasıyla olur. Bu durum ise kantitatif tepkilerin bütün bir organizma seviyesinde nasıl davrandıkları sorusunu ortaya çıkarmaktadır (Corbesier ve ark., 2007).

Vernalizasyon sırasında floral baskılama geninin baskılanması şeklinde ortaya çıkan kantitatif epigenetik hafıza oluşturulur. Deneysel ve bilgisayarlı modelleme tekniklerinin kombinasyonu histon modifikasyonları temelindeki bir mekanizmanın bu hafızanın oluşumuna katkıda bulunduğunu ortaya çıkarmıştır. Bu durum ise

FLC lokusunun stabil bir durumda kalmasını sağlayan ve oldukça dinamik olan okuma ve yazma mekanizmasının varlığına bağlıdır. Sistemde genetiksel yaygın dinamiklerin bir sonucu olarak, küçük bir bölgede susturulan histon modifikasyonlarının nükleazyonu ile *FLC* genin ifadesi baskılanabilmektedir. Vernalizasyonun temelinde yer alan kromatin dinamiklerinin kalıtım kolaylığı ve sağlamlığı bu mekanizmanın biyolojide daha genel roller üstlendiğini göstermiştir. Çimlenme ve tomurcuk dormansisi gibi gelişimsel geçişlerin zamanlamasında kullanılan ölçümler ve diğer çevresel işaretler bu konu için örnek olarak gösterilebilir. Yüksek yapılı ökaryotların gen regülasyonu için önemli olan polikomb ve diğer susturma sistemlerinin korunması, vernalizasyon dinamiklerinin anlaşılmasıyla ortaya çıkan konseptlerin bu konuyla geniş anlamda bir ilgilerinin olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca polikomb ve diğer susturma sistemlerinin ubiquitous, polikomb ve Trithorax grup proteinleri gibi karşıt düzenleyici mekanizmalar arasındaki antagonizmde daha etkin roller üstlenebileceği de düşünülmektedir (Ringrose ve Paro, 2004; Schuettengruber ve ark., 2007; Schwartz ve Pirrotta, 2008).

Bütün kromatin modifikasyonları, hedef genlerin ifade olma durumlarını tanımlamaktan çok ifade olma durumlarını yansıttıkları için epigenetik olarak düşünülmemelidir (Henikoff ve Shilatifard, 2011). Aktif gen ekspresyonuyla ilgili histon modifikasyonlarını; histon asetilasyon, histon H2B mono-ubikitinasyon (H2Bub), histon H3 lizin 36 di-/tri-metilasyon (H3K36me2/3), histonH3 lizin 4 tri-metilasyon (H3K4me3) şeklinde sıralamak mümkündür. *A. thaliana*'da PcG proteinleri histon modifikasyonlarını katalizleyen iki sınıf Polycomb baskılayıcı kompleks (PRCs) oluştururlar. PRC2 kompleksi H3K27me3'ün depozisyonunda görev alır (Mozgova ve Hennig, 2015). PRC1 kompleksleri ise en az iki alt sınıfa ayrılır. Bunlardan PRC1 kompleksinin doğal formu H2Aub'yi (Histone H2A monoubiquitylation) katalizlerken, diğer formu H2Aub'den bağımsız olarak kromatini sıkıştırır (Merini ve Calonje, 2015; Mozgova ve Hennig, 2015). Bitkilerde ve hayvanlarda PRC ve TrxG komplekslerinin antagonist etkilerini gösteren birçok örnek mevcuttur, bununla birlikte her iki kompleks tarafından modifiye edilen bütün genlerin transkripsiyon durumlarının kalıtımı sabit bir şekilde meydana gelmez. (Pu ve Sung, 2015; Steffen ve Ringrose, 2014).

Vernalizasyonda Etkili FT Lokusunun Epigenetik Regülasyonu

FT lokusunda meydana gelen sinyal entegrasyonunun temelinde kromatinlerin üç boyutlu yapısal konfigürasyonları yer almaktadır. *FT* lokusu *A. thaliana* model bitkisinde alışılmışın dışında uzunluğa sahip bir promotör taşıyıcı ve bu gen intron bölgesinde düzenleyici element özelliği gösterir. *FT* geninin *CO* transkripsiyon faktörü tarafından upregülasyonu Turpgiller (Brassicaceae) familyasında bulunan *FT* ortologları arasında bir hayli korunmuş olan iki bölgeye bağlıdır (Adrian ve ark., 2010; Liu ve ark., 2014a). Yakın *FT* promotörü COREs; TGTG(N)2-3AT gibi çeşitli CONSTANS yanıt elementleri içerir, bu elementler *in vitro* koşullarda *CO*

transkripsiyon faktörüne bağlı bulunabilirken (Tiware ve ark., 2010), in vivo koşullarda FT geninin ekspresyonunu etkilemektedir (Adrian ve ark., 2010; Cao ve ark., 2014). BlockC olarak bilinen ikinci düzenleyici bölge ise transkripsiyon başlangıç kısmının upstream yönüne yerleşmiş bulunan ve yaklaşık 5,7 kb uzunluğundaki bir bölgedir. Bu bölge distal hızlandırıcı görevini üstlenmiştir. Her iki bölge FT geninin fotoperiyodik kontrolü için gerekli ve yeterliyken, bu iki kontrol bölgesinin dışında kalan bölgeler daha çok ekspresyonun modülasyonunda rol alırlar (Liu ve ark., 2014a).

Çiçeklenme olayının zamanında meydana gelmesi rozet yaprakların floem arkada hücrelerinde meydana gelen FT ekspresyonunun zaman ve konum olarak düzenli şekilde kontrol edilmesine bağlıdır. FT ekspresyonunun dokuya özgü şekilde regüle edilmesi olayı tam olarak anlaşılmanmış olsa da, ekspresyonun zamansal kontrolünde PcG aracılı baskılamanın rolü detaylı bir şekilde tanımlanmıştır (Adrian ve ark., 2010; Farrona ve ark., 2011; Takada ve Goto, 2003). *A. thaliana* PcG mutantları olan embryonic flower 2 (emf2) ve emf1, curly leaf (clf), multicopy suppressor of ira 1 (msi1) ve like-heterochromatin protein 1 (lhp1) mutantları hem LDs (Long days) hem de short days (SDs) için erken çiçeklenmeden çok erken çiçeklenene kadar çeşitli fenotipik varyasyonlar göstermektedir. Bu farklılık ise temelde FT lokusunun baskılanmasından kaynaklanmaktadır (Merini ve Calonje, 2015; Mozgova ve Hennig, 2015; Steinbach ve Hennig, 2014). EMF2, CLF ve MS11, baskılayıcı kromatin belirteci olan H3K27me3' ü oluşturan EMF2-PRC2 kompleksinin alt birimidir (Schatlowski ve ark., 2008). H3K27me3 afinitesine sahip ve kromodomain özelliği gösteren LHP1'in PRC2 kompleksiyle etkileşim halinde olduğu belirtilmiş ve PRC1 kompleksinin doğal ve doğal olmayan formlarının bir parçası olduğu bildirilmiştir (Mozgova ve Hennig, 2015; Steinbach ve Hennig, 2014). Ayrıca, me3 de-metilaz aktivitesine sahip jumonji domain proteinini kodlayan RELATED TO EARLY FLOWERING 6 [REF6 (JM12)] geninin aşırı ekspresyonu erken çiçeklenmeyle ve FT ekspresyonunda ki artışla sonuçlanmıştır (Lu ve ark., 2011). *A. thaliana* model bitkisindeki birçok hedef genden farklı olarak, FT lokusundaki H3K27me3 bölgesi sadece gen birimiyle sınırlı değil aynı zamanda promotör ve downstream bölgelere de yayılmış durumdadır (Turck ve ark., 2007). BlockC bölgesi H3K27me3 modifikasyonlarından bağımsız ve genom boyutlu DNaz-I hipersensitif profillemeye göre açık bir kromatin yapısı gösterirken (Zhang ve ark., 2012), yakın promotör bölgesi göreceli olarak daha kapalı bir yapı gösterir ve H3K27me3 modifikasyonlarına daha açık bir bölgedir. Aslında BlockC dizisinin delesyonu yabancı tip yapraklardaki FT gen ekspresyonunu sustururken, lhp1 ve clf mutant bitkilerinde bu durum gerçekleşmez (Adrian ve ark., 2010; Liu ve ark., 2014b). FT aktivasyonu ile kromatin dönüşümünün engelleyici durumdan serbest duruma geçişi beklenmektedir. H3K27me3 yapısında ki dinamik değişimleri ve ekspresyonla pozitif korelasyon gösteren kromatin modifikasyonlarının varlığını yabancı tip bitkilerdeki FT lokusunda tespit etmek zordur, bu durum muhtemelen sınırlı ekspresyon domaininden kaynaklanmaktadır (Adrian ve ark., 2010; Farrona ve ark.,

2011; Oh ve ark., 2008; Yang ve ark., 2010). Bu durumla ilgili genetik kanıtlar CO aracılı FT gen ifadesinin upregülasyonun kromatin faktörleriyle ilişkisini ortaya koymaktadır. İlk olarak MRG (Morf Related Gene) kromodomain proteinleri olan MRG1 ve MRG2 proteinleri CO ve H3K36me/H3K4me histon proteinlerine bağımlı bir şekilde intermediate-yakın FT promotörüne bağlanır (Bu ve ark., 2014).

Kromatin modifikasyonları dolaylı ve direkt olarak MADS domain aracılığıyla FT lokusunun baskılanmasında yer alırlar. Öncelikle FLC ve FLM EMF1c ile etkileşime girerler. Sonrasında SVP (SHORT VEGETATIVE PHASE) bir Myb domain faktörü olan EARLY FLOWERING MYB PROTEIN (EFM) ekspresyonunu artırır, buna karşın FT lokusunda baskılayıcı fonksiyon görevi görür. EFM H3K36 demetilaz JUMONJI 30 (JM30) ile etkileşime girer (Yan ve ark., 2014).

Noncoding RNA'lar Erken Çiçeklenmeyi Önler

İki tane bağlantılı microRNA ve hedef transkripsiyon faktör modülleri birçok bitki familyasında gelişme süreçlerinin herbirinde zamanlayıcı olarak görev alırlar (Teotia ve Tang, 2015). Son zamanlarda yapılan çeşitli derlemelerde bu konu detaylıca tartışılmıştır (Teotia ve Tang, 2015; Wang ve Wang, 2015). Daha önce yapılmış bir çalışmada Yaşa bağlı yolak (Pathway) ilk modül miR156'yı kodlayan sekiz genden oluşmaktadır, miR156, translasyonun degradasyonunda ya da baskılanmasında görev alan alarak çeşitli SQUAMOSABINDING-PROTEIN-LIKE (SPL) transkripsiyon faktörlerini hedeflemektedir (Gandikota ve ark., 2007; Wu ve Poethig, 2006; Yang ve ark., 2010). *A. thaliana*'da SPL transkripsiyon faktörleri üremeye geçişi düzenleyen pozitif düzenleyicilerin ekspresyonunu uyararak direkt olarak çiçeklenmeyi artırabilirler (Wang ve ark. 2009; Yamaguchi ve ark., 2009). SPL aynı zamanda yapraklardaki floem hücrelerinin FT lokusunu pozitif yönde düzenleyebilirler (Wang ve ark., 2009). FT-FD kompleksleri SOC1, FUL ve AP1 ekspresyonu olumlu yönde etkiledikleri için miR156 ileri besleme döngüsünde kilit rol oynamaktadır (Wu ve ark., 2009). Dahası FT, SOC1, FUL ve AP1 dolaylı olarak SPLs tarafından regüle edilirler (Wu ve ark., 2009). Birçok bitki familyasında gelişimin ilk haftalarında miR156 ifadesi kademeli olarak downregüle edilir (Wu ve ark., 2009). *A. thaliana*'da, MADS transkripsiyon faktörleri olan AGL15 ve AGL18 heterodimer yapı oluştururlar, bu yapı direkt olarak (pri-miRNA156a/c. transkripsiyonunu aktif hale getirirler. Bu duruma uygun olarak, agl15;agl18 mutantları erken çiçeklenen fenotipik özellik gösterirler (Serivichyaswat ve ark., 2015). AGL15 ekspresyonu direkt olarak AP2 ile aktif hale getirildiği için düzenleyici geri besleme sistemi düzenleyici dizinin başlama ve bitiş noktalarıyla bağlantı kurar (Yant ve ark., 2010). H3K27me3-positive lokus sayısı göz önünde bulundurulduğunda, miR156 ve miR172 hedef lokuslarının yanı sıra bu miRNA'ların ekspresyonu PcG yolağından etkilenmesi muhtemeldir (Lafos ve ark., 2011). Son zamanlarda yapılan bir çalışmada miR156a ve miR156c transkripsiyon başlangıç kısmındaki (TSS- Transcription start site) H2Aub ve H3K27me3 seviyesinin, AtBMI1A

ve AtBMI1B fonksiyonuna bağlı olduğu gösterilmiştir (Picó ve ark. 2015).

Sonuç

Bu çalışmanın sonucunda vernalizasyon yollarının bitki familyaları arasında önemli ölçüde farklılıklar gösterdiği anlaşılmaktadır.

Bu bağlamda moleküler detayları hakkında çok fazla bilgi sahibi olmadığımız diğer familyalardaki vernalizasyon yolları da hızlı bir şekilde evrimleşmiştir. Bitkilerin ılıman iklimlere adaptasyonu, çevre sıcaklıklarında ki dalgalanmalara karşı kromatin ve kromatin düzenleyici yolların kalıtsal hassasiyetiyle kolaylaştırılabilir. Genom boyutunda çevre sıcaklıklarına kromatinlerin verdiği tepkileri incelemeye ve kıyaslamaya imkân veren bu olasılık kromatinlerin kapsamlı bir bitki termometresi olup olmadığı ve öyleyse bunun hangi ölçekte olduğu sorusuna cevap verecektir *Arabidopsis*'te şimdiye değin yapılmış çalışmalar vernalizasyon olayının moleküler mekanizmasının anlaşılmasına ışık tutmaktadır. Vernalizasyonun temelini oluşturan mekanizmalar histon modifikasyonlarından kodlama yapmayan RNA' lara kadar çeşitli gen ekspresyonu modellerini içermektedir. Bu yüzden vernalizasyon olayına yönelik çalışmalardan elde edilen bilgiler gen ekspresyonunu anlamamıza katkıda bulunacaktır. Gen ekspresyonunun uyarılabilir doğası vernalizasyonu ökaryotlarda çevresel değişimlerle uyarılan gen ifadesindeki değişimlerin mekanik detaylarını çalışmak için ideal bir sistem olduğu anlaşılmıştır. Geniş genetik kaynaklar ve son teknolojik gelişmeler kombine edildiğinde *Arabidopsis* ve diğer çiçekli bitkilerde yapılan vernalizasyon çalışmaları ökaryotlardaki gen regülasyonuna anlamamıza önemli derecede yardımcı olacaktır. Vernalizasyon ile ilgili çalışmalar, epigenetik baskılanması sonucu çiçeklenmeyi teşvik eden genlerin olduğunu, bununla beraber kromatin modifikasyonlarının, histon kodlarının, RNA intrerferans gibi epigenetik mekanizmaların vernalizasyonda çok önemli olduğunu ortaya koymuştur. Uzun süren soğukların vernalizasyonda etkili genleri nasıl baskıladığına dair mekanizmayı bildiğimiz için, sorulması gereken en önemli soru uzun süren soğukların VIN3 genini nasıl uyardığıdır. Aynı zamanda bitkilerde bu hücrel hafızanın biyokimyasal detaylarını ele alan VIN3- ve VRN1-/VRN2 taşıyan protein komplekslerin yapısını keşfetmek, bitkilerde vernalizasyon olgusunun altında yatan doğal bir sezgi olan epigenetiğin ne kadar ilginç olduğu ortaya çıkacaktır.

Kaynaklar

Adrian J, Farrona S, Reimer JJ, Albani MC, Coupland G, Turck F. 2010. cis-Regulatory elements and chromatin state coordinately control temporal and spatial expression of FLOWERING LOCUS T in Arabidopsis. The Plant Cell 22: 1425-1440.

Angel A, Song J, Dean C, Howard M. 2011. A Polycomb-based switch underlying quantitative epigenetic memory. Nature 476: 105-108.

Bastow R, Mylne JS, Lister C, Lippman Z, Martienssen RA, Dean C. 2004. Vernalization requires epigenetic silencing of FLC by histone methylation. Nature 427: 164-167.

Bernier G. 1988. The control of floral evocation and morphogenesis. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 39: 175-219.

Bouveret R, Schonrock N. 2006. Polycomb-group proteins repress the floral activator AGL19 in the FLC-independent vernalization pathway. Genes & development: 1667-1678.

Bratzel F, Turck F. 2015. Molecular memories in the regulation of seasonal flowering: from competence to cessation. Genome biology 16: 1-14.

Bu Z, Yu Y, Li Z, Liu Y, Jiang W, Huang Y, Dong A-W. 2014. Regulation of Arabidopsis flowering by the histone mark readers MRG1/2 via interaction with CONSTANS to modulate FT expression. PLoS Genet 10: e1004617.

Burn J, Bagnall D, Metzger J, Dennis E, Peacock W. 1993. DNA methylation, vernalization, and the initiation of flowering. Proceedings of the National Academy of Sciences 90: 287-291.

Cao S, Kumimoto RW, Gnesutta N, Calogero AM, Mantovani R, Holt BF. 2014. A distal CCAAT/NUCLEAR FACTOR Y complex promotes chromatin looping at the FLOWERING LOCUS T promoter and regulates the timing of flowering in Arabidopsis. The Plant Cell 26: 1009-1017.

Chen M, Chory J. 2011. Phytochrome signaling mechanisms and the control of plant development. Trends in cell biology 21: 664-671.

Choi J, Hyun Y, Kang MJ, In Yun H, Yun JY, Lister C, Dean C, Amasino RM, Noh B, Noh YS. 2009. Resetting and regulation of FLOWERING LOCUS C expression during Arabidopsis reproductive development. The Plant Journal 57: 918-931.

Chouard P. 1960. Vernalization and its relations to dormancy. Annual Review of Plant Physiology 11: 191-238.

Corbesier L, Vincent C, Jang S, Fornara F, Fan Q, Searle I, Giakountis A, Farrona S, Gissot L, Turnbull C. 2007. FT protein movement contributes to long-distance signaling in floral induction of Arabidopsis. science 316: 1030-1033.

Deal RB, Henikoff JG, Henikoff S. 2010. Genome-wide kinetics of nucleosome turnover determined by metabolic labeling of histones. Science 328: 1161-1164.

Farrona S, Thorpe FL, Engelhorn J, Adrian J, Dong X, Sarid-Krebs L, Goodrich J, Turck F. 2011. Tissue-specific expression of FLOWERING LOCUS T in Arabidopsis is maintained independently of polycomb group protein repression. The Plant Cell 23: 3204-3214.

Finnegan E, Genger RK, Kovac K, Peacock W, Dennis E. 1998. DNA methylation and the promotion of flowering by vernalization. Proceedings of the National Academy of Sciences 95: 5824-5829.

Finnegan EJ, Dennis ES. 2007. Vernalization-induced trimethylation of histone H3 lysine 27 at FLC is not maintained in mitotically quiescent cells. Current Biology 17: 1978-1983.

Gandikota M, Birkenbihl RP, Höhmann S, Cardon GH, Saedler H, Huijser P (2007) The miRNA156/157 recognition element in the 3' UTR of the Arabidopsis SBP box gene SPL3 prevents early flowering by translational inhibition in seedlings. The Plant Journal 49: 683-693.

Gazzani S, Gendall AR, Lister C, Dean C. 2003. Analysis of the molecular basis of flowering time variation in Arabidopsis accessions. Plant physiology 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.

Grandjean O, Vernoux T, Laufs P, Belcram K, Mizukami Y, Traas J. 2004. In vivo analysis of cell division, cell growth, and differentiation at the shoot apical meristem in Arabidopsis. The Plant Cell 16: 74-87.

Grewal SI, Moazed D. 2003. Heterochromatin and epigenetic control of gene expression. science 301: 798-802.

- 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 & development* 18: 2774-2784.
- Henderson IR, Dean C. 2004. Control of Arabidopsis flowering: the chill before the bloom. *Development* 131: 3829-3838.
- Henderson IR, Jacobsen SE. 2007. Epigenetic inheritance in plants. *Nature* 447: 418-424.
- Henikoff S, Shilatifard A. 2011. Histone modification: cause or cog? *Trends in Genetics* 27: 389-396.
- Hu Y, Zhu N, Wang X, Yi Q, Zhu D, Lai Y, Zhao Y. 2013. Analysis of rice Snf2 family proteins and their potential roles in epigenetic regulation. *Plant physiology and biochemistry* 70: 33-42.
- Huff JT, Zilberman D. 2012. Regulation of biological accuracy, precision, and memory by plant chromatin organization. *Current opinion in genetics & development* 22: 132-138.
- Jean Finnegan E, Kovac KA, Jaligot E, Sheldon CC, James Peacock W, Dennis ES. 2005. The downregulation of FLOWERING LOCUS C (FLC) expression in plants with low levels of DNA methylation and by vernalization occurs by distinct mechanisms. *The Plant Journal* 44: 420-432.
- 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.
- Kilian J, Whitehead D, Horak J, Wanke D, Weigl S, Batistic O, D'Angelo C, Bornberg-Bauer E, Kudla J, Harter K. 2007. The AtGenExpress global stress expression data set: protocols, evaluation and model data analysis of UV-B light, drought and cold stress responses. *The Plant Journal* 50: 347-363.
- Kim D-H, Doyle MR, Sung S, Amasino RM. 2009. Vernalization: winter and the timing of flowering in plants. *Annual Review of Cell and Developmental* 25: 277-299.
- Kim D-H, Sung S. 2013. Coordination of the vernalization response through a VIN3 and FLC gene family regulatory network in Arabidopsis. *The Plant Cell* 25: 454-469.
- Kim D-H, Sung S. 2014. Genetic and epigenetic mechanisms underlying vernalization. *The Arabidopsis Book*: e0171.
- Kim JJ, Lee JH, Kim W, Jung HS, Huijser P, Ahn JH. 2012. The microRNA156-SQUAMOSA PROMOTER BINDING PROTEIN-LIKE3 module regulates ambient temperature-responsive flowering via FLOWERING LOCUS T in Arabidopsis. *Plant Physiology* 159: 461-478.
- Kumar SV, Wigge PA. 2010. H2A. Z-containing nucleosomes mediate the thermosensory response in Arabidopsis. *Cell* 140: 136-147.
- Lafos M, Kroll P, Hohenstatt ML, Thorpe FL, Clarenz O, Schubert D. 2011. Dynamic regulation of H3K27 trimethylation during Arabidopsis differentiation. *PLoS Genet* 7: e1002040.
- Lang A. 1965. *Physiology of flower initiation*: Springer.
- Levy YY, Mesnage S, Mylne JS, Gendall AR, Dean C. 2002. Multiple roles of Arabidopsis VRN1 in vernalization and flowering time control. *Science* 297: 243-246.
- Li C, Distelfeld A, Comis A, Dubcovsky J. 2011. Wheat flowering repressor VRN2 and promoter CO₂ compete for interactions with NUCLEAR FACTOR-Y complexes. *The Plant Journal* 67: 763-773.
- Liu L, Adrian J, Pankin A, Hu J, Dong X, von Korff M, Turck F. 2014a. Induced and natural variation of promoter length modulates the photoperiodic response of FLOWERING LOCUS T. *Nature communications* 5.
- Liu L, Farrona S, Klemme S, Turck F. 2014b. Post-fertilization expression of FLOWERING LOCUS T suppresses reproductive reversion. *Frontiers in plant science* 5.
- Lu F, Cui X, Zhang S, Jenuwein T, Cao X. 2011. Arabidopsis REF6 is a histone H3 lysine 27 demethylase. *Nature genetics* 43: 715-719.
- Merini W, Calonje M. 2015. PRC1 is taking the lead in PcG repression. *The Plant Journal* 83: 110-120.
- Michaels S, Amasino R. 2000. Memories of winter: vernalization and the competence to flower. *Plant, Cell & Environment* 23: 1145-1153.
- Michaels SD, Amasino RM. 1999. FLOWERING LOCUS C encodes a novel MADS domain protein that acts as a repressor of flowering. *The 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. *The Plant Cell* 13: 935-941.
- Mozgova I, Hennig L. 2015. The polycomb group protein regulatory network. *Annual review of plant biology* 66: 269-296.
- Mylne JS, Barrett L, Tessadori F, Mesnage S, Johnson L, Bernatavichute YV, Jacobsen SE, Franz P, Dean C. 2006. LHP1, the Arabidopsis homologue of HETEROCHROMATIN PROTEIN1, is required for epigenetic silencing of FLC. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103: 5012-5017.
- Oh S, Park S, van Nocker S. 2008. Genic and global functions for Paf1C in chromatin modification and gene expression in Arabidopsis. *PLoS Genet* 4: e1000077.
- Picó S, Ortiz-Marchena MI, Merini W, Calonje M. 2015. Deciphering the role of POLYCOMB REPRESSIVE COMPLEX1 variants in regulating the acquisition of flowering competence in Arabidopsis. *Plant physiology* 168: 1286-1297.
- Pu L, Sung ZR. 2015. PcG and trxG in plants—friends or foes. *Trends in Genetics* 31: 252-262.
- Reddy GV, Heisler MG, Ehrhardt DW, Meyerowitz EM. 2004. Real-time lineage analysis reveals oriented cell divisions associated with morphogenesis at the shoot apex of Arabidopsis thaliana. *Development* 131: 4225-4237.
- Richards EJ, Elgin SC. 2002. Epigenetic codes for heterochromatin formation and silencing: rounding up the usual suspects. *Cell* 108: 489-500.
- Ringrose L, Paro R. 2004. Epigenetic regulation of cellular memory by the Polycomb and Trithorax group proteins. *Annu Rev Genet* 38: 413-443.
- Schatlowski N, Creasey K, Goodrich J, Schubert D. 2008. Keeping plants in shape: Polycomb-group genes and histone methylation. In *Seminars in cell & developmental biology*, Vol. 19, pp 547-553.
- Schmitz RJ, Sung S, Amasino RM. 2008. Histone arginine methylation is required for vernalization-induced epigenetic silencing of FLC in winter-annual Arabidopsis thaliana. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105: 411-416.
- Schuettengruber B, Chourrout D, Vervoort M, Leblanc B, Cavalli G. 2007. Genome regulation by polycomb and trithorax proteins. *Cell* 128: 735-745.
- Schwartz YB, Pirrotta V. 2008. Polycomb complexes and epigenetic states. *Current opinion in cell biology* 20: 266-273.
- Searle I, He Y, Turck F, Vincent C, Fornara F, Kröber S, Amasino RA, Coupland G. 2006. The transcription factor FLC confers a flowering response to vernalization by repressing meristem competence and systemic signaling in Arabidopsis. *Genes & development* 20: 898-912.
- Serivichyaswat P, Ryu H-S, Kim W, Kim S, Chung KS, Kim JJ, Ahn JH. 2015. Expression of the floral repressor miRNA156 is positively regulated by the AGAMOUS-like proteins AGL15 and AGL18. *Molecules and cells* 38: 259.
- Sheldon CC, Burn JE, Perez PP, Metzger J, Edwards JA, Peacock WJ, Dennis ES. 1999. The FLM MADS box gene: a repressor of flowering in Arabidopsis regulated by vernalization and methylation. *The Plant Cell* 11: 445-458.

- Sheldon CC, Conn AB, Dennis ES, Peacock WJ. 2002. Different regulatory regions are required for the vernalization-induced repression of FLOWERING LOCUS C and for the epigenetic maintenance of repression. *The Plant Cell* 14: 2527-2537.
- Sheldon CC, Hills MJ, Lister C, Dean C, Dennis ES, Peacock WJ. 2008. Resetting of FLOWERING LOCUS C expression after epigenetic repression by vernalization. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105: 2214-2219.
- Sheldon CC, Jean Finnegan E, Dennis ES, James Peacock W. 2006. Quantitative effects of vernalization on FLC and SOC1 expression. *The Plant Journal* 45: 871-883.
- Sheldon CC, Jean Finnegan E, James Peacock W, Dennis ES. 2009. Mechanisms of gene repression by vernalization in Arabidopsis. *The Plant Journal* 59: 488-498.
- Shindo C, Lister C, Crevillen P, Nordborg M, Dean C. 2006. Variation in the epigenetic silencing of FLC contributes to natural variation in Arabidopsis vernalization response. *Genes & Development* 20: 3079-3083.
- Song J, Angel A, Howard M, Dean C. 2012. Vernalization—a cold-induced epigenetic switch. *Journal of Cell Science* 125: 3723-3731.
- Steffen PA, Ringrose L. 2014. What are memories made of? How Polycomb and Trithorax proteins mediate epigenetic memory. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 15: 340-356.
- Steinbach Y, Hennig L. 2014. Arabidopsis MSII functions in photoperiodic flowering time control. *Frontiers in plant science* 5.
- Sung S, Amasino RM. 2004a. Vernalization and epigenetics: how plants remember winter. *Current opinion in plant biology* 7: 4-10.
- Sung S, Amasino RM. 2004b. Vernalization in Arabidopsis thaliana is mediated by the PHD finger protein VIN3. *Nature* 427: 159-164.
- Takada S, Goto K. 2003. TERMINAL FLOWER2, an Arabidopsis homolog of HETEROCHROMATIN PROTEIN1, counteracts the activation of FLOWERING LOCUS T by CONSTANS in the vascular tissues of leaves to regulate flowering time. *The Plant Cell* 15: 2856-2865.
- Teotia S, Tang G. 2015. To bloom or not to bloom: role of microRNAs in plant flowering. *Molecular plant* 8: 359-377.
- Tiwari SB, Shen Y, Chang HC, Hou Y, Harris A, Ma SF, McPartland M, Hymus GJ, Adam L, Marion C. 2010. The flowering time regulator CONSTANS is recruited to the FLOWERING LOCUS T promoter via a unique cis-element. *New Phytologist* 187: 57-66.
- Trevaskis B. 2010. The central role of the VERNALIZATION1 gene in the vernalization response of cereals. *Functional Plant Biology* 37: 479-487.
- Trevaskis B, Hemming MN, Dennis ES, Peacock WJ. 2007. The molecular basis of vernalization-induced flowering in cereals. *Trends in plant science* 12: 352-357.
- Turck F, Roudier F, Farrona S, Martin-Magniette M-L, Guillaume E, Buisine N, Gagnot S, Martienssen RA, Coupland G, Colot V. 2007. Arabidopsis TFL2/LHP1 specifically associates with genes marked by trimethylation of histone H3 lysine 27. *PLoS Genet* 3: e86.
- Wang H, Wang H. 2015. The miR156/SPL module, a regulatory hub and versatile toolbox, gears up crops for enhanced agronomic traits. *Molecular plant* 8: 677-688.
- Wang J-W, Czech B, Weigel D. 2009. miR156-regulated SPL transcription factors define an endogenous flowering pathway in Arabidopsis thaliana. *Cell* 138: 738-749.
- Wu G, Park MY, Conway SR, Wang J-W, Weigel D, Poethig RS. 2009. The sequential action of miR156 and miR172 regulates developmental timing in Arabidopsis. *Cell* 138: 750-759.
- Wu G, Poethig RS. 2006. Temporal regulation of shoot development in Arabidopsis thaliana by miR156 and its target SPL3. *Development* 133: 3539-3547.
- Yamaguchi A, Wu M-F, Yang L, Wu G, Poethig RS, Wagner D. 2009. The microRNA-regulated SBP-Box transcription factor SPL3 is a direct upstream activator of LEAFY, FRUITFULL, and APETALA1. *Developmental cell* 17: 268-278.
- Yan Y, Shen L, Chen Y, Bao S, Thong Z, Yu H. 2014. A MYB-domain protein EFM mediates flowering responses to environmental cues in Arabidopsis. *Developmental cell* 30: 437-448.
- Yang W, Jiang D, Jiang J, He Y. 2010. A plant-specific histone H3 lysine 4 demethylase represses the floral transition in Arabidopsis. *The Plant Journal* 62: 663-673.
- Yant L, Mathieu J, Dinh TT, Ott F, Lanz C, Wollmann H, Chen X, Schmid M. 2010. Orchestration of the floral transition and floral development in Arabidopsis by the bifunctional transcription factor APETALA2. *The Plant Cell* 22: 2156-2170.
- Zhang W, Zhang T, Wu Y, Jiang J. 2012. Genome-wide identification of regulatory DNA elements and protein-binding footprints using signatures of open chromatin in Arabidopsis. *The Plant Cell* 24: 2719-2731.
- Zografos BR, Sung S. 2012. Vernalization-mediated chromatin changes. *Journal of experimental botany*.