

文章编号: 1004-0374(2012)02-0118-05

种子萌发的抑制调控机制

张 宇, 徐晓峰, 莫蓓莘*
(深圳大学生命科学学院, 深圳 518060)

摘 要: 种子萌发是植物生命周期中一个重要的生理过程, 激素作用、miRNA 抑制、mRNA 区域化、表观遗传调控等多个层次的分子抑制参与该过程的调控。赤霉素(解除抑制的激素)合成和失活的调控主要发生在转录水平, 而脱落酸(引起抑制的激素)信号转导途径的调控则通过蛋白质抑制物的降解来实现。miRNA 在转录后水平使其靶基因的 mRNA 降解, 抑制种子的萌发; 通过 mRNA 的区域化抑制与萌发相关基因的翻译属于另一层次的转录后抑制; 小 RNA 介导的表观遗传机制也可能在种子萌发过程基因表达的协同调控中发挥重要作用。与分子水平的抑制类似, 胚乳和种皮产生的机械抑制也很重要。

关键词: 种子; 萌发; 抑制; 激素; miRNA; mRNA 区域化; 小 RNA

中图分类号: Q945.35

文献标志码: A

Repression regulations of seed germination

ZHANG Yu, XU Xiao-Feng, MO Bei-Xin*
(College of Life Science, Shenzhen University, Shenzhen 518060, China)

Abstract: Seed germination is an important physiological process in plant life cycle. Multiple levels of repressions, which include hormone effect, miRNA repression, mRNA compartmentation, epigenetic regulation, are involved in the control of this process. Regulation of gibberellin (a repression removing hormone) synthesis and deactivation is mainly at transcriptional level; while degradation of repressor proteins is a central mechanism of abscisic acid (a repression inducing hormone) signal transduction in seed dormancy and germination. miRNAs are involved in the repression of their target genes at the mRNA level during seed germination. Compartmentation of mRNAs, which represses the translation of germination-related genes under unfavorable conditions, is another level of post-transcriptional repression. Epigenetic mechanism mediated by small RNA may also play important roles in the regulation of coordinate gene expression during seed germination. Mechanic repression imposed by surrounding tissues such as the endosperm and testa is as important as repression at molecular level for seed germination.

Key words: seed; germination; repression; hormone; miRNA; mRNA compartmentation; small RNA

种子萌发过程中各种程序有序进行, 其中包括基因表达在时间和空间上的调控。在某一阶段, 有些程序被激活, 而有些程序被抑制, 这些程序的抑制对维持正常的发育十分关键。种子的萌发受到多重水平的分子抑制, 决定种子休眠或萌发的激素的合成和失活一般在转录水平受到调控。而激素的信号转导主要取决于蛋白质转录水平和翻译后水平的调控。近年来在拟南芥种子中发现由 miRNA 介导的转录因子的抑制对种子萌发同样重要。研究表明, 通过 mRNA 区域化实现的翻译抑制, 以及小 RNA

介导的表观遗传水平的抑制也参与种子萌发过程的调控。与分子水平的抑制类似, 有些种子中还存在阻止胚生长的机械抑制。不同层次的抑制构成种子萌发过程调控机制。

收稿日期: 2011-08-06; 修回日期: 2011-09-26

基金项目: 国家自然科学基金项目(3097-0265); 广东省自然科学基金项目(9151806001000017); 深圳大学基础研究基金项目(00035222)

*通信作者: E-mail: bmo@szu.edu.cn; Tel: 0755-26538591

1 转录水平和翻译后水平的抑制

赤霉素 (gibberellin, GA) 和脱落酸 (abscisic acid, ABA) 在种子萌发过程中起重要作用。相比之下, 转录后水平的蛋白质修饰和降解的调控对去除抑制种子萌发的蛋白质似乎更为重要^[1]。赤霉素能促进多种种子的萌发^[1], 对萌发过程中的拟南芥种子进行基因芯片分析发现, 多个基因在种子萌发过程受赤霉素的诱导表达^[2], 大多数被诱导的基因可能参与了种子萌发的诱导。赤霉素的信号转导途径也存在一些抑制物质, RGL2 属于 DELLA 家族蛋白, 该蛋白作用于赤霉素信号识别的下游而且很有可能作用于赤霉素诱导基因表达的上游。RGL2 能抑制拟南芥种子的萌发^[3], 在没有赤霉素时, DELLA 蛋白抑制转录因子 PIF3 与基因启动子结合, 萌发需要的基因不能正常表达, 种子的萌发受到抑制^[3]。DELLA 蛋白上的 GA 信号感知区接收到 GA 信号后, DELLA 蛋白受赤霉素诱导降解, 这种蛋白的阻遏作用被解除, 从而允许 PIF3 与目标启动子结合, 并调控基因表达^[3]。在赤霉素缺失的拟南芥突变体种子中, RGL2 在施加外源赤霉素 5 h 后消失^[4], 说明这种蛋白质能被快速降解。该种子萌发抑制物可能是首先受到 SLEEPY (E3 泛素连接酶) 的泛素化作用, 再由 26S 蛋白酶体降解^[5]。当 RGL2 从赤霉素缺失的拟南芥突变体种子中被剔除后, 突变体种子能在没有外源赤霉素的条件下萌发^[3]。这种赤霉素调控的“去抑制”作用在拟南芥种子萌发过程发挥重要作用。RGL2 的下游靶物尚不清楚, 如上所述, RGL2 可能抑制受赤霉素诱导基因的表达。DELLA 突变体的转录组分析显示, 在种子萌发期间, 360 个受赤霉素正调节的基因受到 DELLA 蛋白的抑制^[6]。尽管这些基因不一定是 RGL2 的靶物, 但数据表明, RGL2 的降解能导致种子中许多与萌发相关基因的表达, 这些基因都是受赤霉素诱导的基因。有趣的是, 受 DELLA 抑制的基因还包括膨胀素、木葡聚糖内转糖基酶/水解酶以及甘露聚糖水解酶等基因, 这些都与胚乳的软化有关^[6-8]。萌发过程按 GA-RGL2-细胞壁蛋白-组织软化-萌发顺序, 所发生的事件实际上包含着抑制、去抑制多层次的调控过程。

脱落酸信号转导对种子萌发起抑制作用。ABI3 是 ABA 信号转导途径的转录激活因子, ABI3 在种子萌发过程中的调控充分说明了这一点^[9], ABI3 的作用能被 AIP2 介导的蛋白质降解所解除。AIP2

高表达或基因剔除的植株分别对脱落酸表现出相对不敏感或超敏感^[10]。这表明当脱落酸的抑制作用不必要继续存在时, 脱落酸反应就要受到 AIP2 的抑制。因此, “去抑制”在脱落酸信号转导的调控中发挥着核心作用。

脱落酸通过直接作用于赤霉素的量对赤霉素诱导的种子萌发产生抑制^[11]。拟南芥种子中的活性赤霉素水平在脱落酸存在情况下, 通过赤霉素生物合成酶的下调和赤霉素失活酶的上调保持在相对较低的水平。在热休眠的实生马铃薯种子中, 赤霉素诱导的甘露聚糖内切酶基因表达可以被氟啶酮 (通过阻碍脱落酸积累) 诱导^[12], 这也支持了赤霉素的积累受脱落酸调节的假说。

2 miRNA介导的靶基因mRNA降解的抑制

种子萌发过程赤霉素和脱落酸的失活或生物合成的调控是基因表达转录水平准确调控的结果; 而通过 26S 蛋白酶体途径在种子萌发过程中的去抑制显示了翻译后水平调控的重要性。另一种在种子萌发过程起重要作用的调控机制是转录后调控。自从小分子 RNA 途径被发现以来, 对转录后水平基因表达控制的理解变得越来越深入^[13]。在拟南芥种子中发现由 miRNA 介导的转录因子的抑制, 以及多种 miRNA 在种子中的存在说明 miRNA 可能参与种子的萌发过程的调控^[13]。

miRNA 是一种小的单链 RNA (21~24 nt), 抑制靶基因的表达。许多植物 miRNA 的靶基因是转录因子^[14]。转录因子在植物生长过程中具有重要作用; 然而, 当其作用完毕后便不再需要, 甚至可能对下一个生长过程有害, 需要将其消除。转录因子的消除途径除了基因表达的终止 (转录调控) 和蛋白质降解 (翻译后调控) 外, miRNA 介导的转录后抑制也至关重要。“去抑制”实验有力地证明了 miRNA 在负调控中的作用。该实验在不改变氨基酸序列的前提下, 对 miRNA 靶基因的 mRNA 中 miRNA 的互补序列进行突变, 这样会在细胞内产生过量积累的、不受 miRNA 抑制的靶基因的 mRNA。由于突变后的 mRNA 仍然能产生功能蛋白, 故该实验可以导致在某些阶段或某个时间本应被“抑制”的转录因子的累积。实验证明“去抑制”可使许多抗 miRNA 突变体产生明显的表型改变^[15]。例如, 在种子中发现的 miR160, 其目标 mRNA 是 ARF10、ARF16 和 ARF17^[13]。ARF10 的功能及其受 miR160 的调控通过去抑制的实验已得到验证^[16]。突变体中

目的 mRNA 不再受 miRNA 诱导降解而大量积累, 因此功能蛋白也大量积累并引起表型变化。突变体 *mARF10* 表现出多种表型的改变, 并且对 ABA 的敏感性显著提高。

GA 和 ABA 之间的相互作用也能通过 miRNA 来调节。GA 通过两条不同途径促进种子萌发、胚乳的软化和胚的伸展。这两条途径都能加强细胞壁上调节蛋白的功能。ARF10 可能通过提高胚对 ABA 的敏感性和抑制胚的伸展来调控种子的萌发。当 ABA 对胚伸展的抑制作用强过 GA 的促进作用时, 胚的生长潜力不能克服胚乳的抑制力, 种子则不能萌发。ARF10 如何提高 ABA 的敏感性, ARF10 是增加 ABA 转导途径中重要成分如 ABI3 的稳定性还是与之相互作用, 这些问题仍有待于进一步的研究。

3 mRNA 区域化导致的转录后抑制

mRNA 介导的转录后调控是 miRNA 介导基因沉默进行转录后调控的机制被发现之后, 又一种关键的转录后调控方式, 具有非常重要的研究和应用前景。研究表明, 酵母、哺乳动物和植物细胞中存在被称为胁迫颗粒的 mRNA 储存结构和被称为处理小体 (或 P-小体) 的 mRNA 降解结构。处理小体是细胞质中 mRNA 特定的降解场所^[17]。处理小体还为那些既不翻译也不降解的 mRNA 提供储存空间, 这对于维持细胞内蛋白质表达水平有积极意义^[18]。这些结构通过抑制 (将 mRNA 降解) 或延迟 (将 mRNA 随后运送回多核糖体) 特异 mRNA 的翻译来实现转录后蛋白质表达的调控。胁迫颗粒和处理小体在酵母和哺乳动物细胞中的研究进行得比较深入。二者都是受胁迫诱导产生^[19]。在逆境条件下, mRNA 通过从多核糖体转移到胁迫颗粒和处理小体内来抑制特异蛋白质的表达, 从而使其所在的细胞实现对逆境的适应^[20]。与酵母和哺乳动物细胞中的情况^[21]相似, mRNA 在植物细胞中也有三种不同的存在状态: 在多核糖体中处于翻译状态的 mRNA、在胁迫颗粒中处于储存状态 mRNA、在处理小体中处于降解状态的 mRNA^[22]。在拟南芥和烟草细胞中相继发现了处理小体和胁迫颗粒的存在, 在热胁迫诱导下, 在拟南芥根尖细胞和烟草叶肉原生质体中可以观察到处理小体和胁迫颗粒的数量和大小的增加^[22], 该研究结果说明这些结构在植物对逆境的反应中起重要的作用。

干燥的种子细胞中已发现非翻译状态的

mRNA^[22-24], 说明种子中可能存在 mRNA 的转录后表达调控。在多种植物的干种子中发现含有储存 mRNA^[22-23], 但还不清楚这些储存 mRNA 的存在位置和功能。种子完成发育和成熟过程后, 进入代谢相对静止的状态, 环境条件合适时开始萌发^[25]。种子的萌发过程伴随着与这些生理过程相关蛋白质的有序合成^[7-8, 26]。在番茄种子的萌发过程中, 与胚乳细胞壁降解有关的蛋白——甘露聚糖内切酶的量在种子吸水膨胀起始即呈现增长的趋势, 其合成水平随着萌发的进展而增强^[7-8]。这些与萌发有关的特异酶蛋白的 mRNA 是否在种子萌发过程前即已合成并储存在干种子中, 为种子吸水一开始即迅速进行的活跃的蛋白质合成提供 mRNA 模板? 本课题组研究发现, 在番茄的干种子中不仅确实存在甘露糖内切酶的 mRNA, 还有膨胀素、脂肪氧化酶、谷氨酰胺合成酶、异柠檬酸裂解酶等与萌发有关蛋白质的 mRNA^[23]。同时在大豆和莴苣的干种子中也发现有与萌发有关的蛋白质的 mRNA^[23]。为了探索种子中是否存在处于抑制状态的 mRNA, 这些抑制作用在吸水膨胀后是否能被解除, 本课题组利用转录抑制剂 α -amanitin 在萌发过程抑制新 mRNA 的合成, 对转录抑制条件下莴苣种子的萌发情况以及种子细胞的代谢等的变化进行了分析, 结果发现在新 mRNA 的合成被抑制的条件下, 莴苣种子的萌发得以完成, 只是萌发所需的时间有所延长。说明 mRNA 区域化介导的转录后抑制参与种子萌发过程的调控。

4 小RNA介导的表观遗传抑制在转录水平的调控

小 RNA 通过对目标基因的 mRNA 进行降解或翻译抑制调控目标基因的表达, 这种转录后水平的调控方式在种子萌发过程中的作用已有报道^[13]。近年来的研究发现, 小 RNA 不仅可以在转录后水平, 而且可以通过使 DNA 或组蛋白甲基化在转录水平调控其目标基因的表达。小 RNA 介导的 DNA 或组蛋白甲基化等表观遗传调控在种子萌发过程基因协同表达的调控中可能起重要作用。多个研究小组对种子萌发过程的基因表达进行了研究, 得到的共同结论是: 种子萌发过程特定阶段成套的基因是协同表达或协同抑制的^[7-8, 27-28]。能调控大量基因表达的表观遗传机制, 可能参与种子萌发过程中成百上千基因的协同调控。

目前研究得最清楚的表观遗传机制是通过组

蛋白 H3 赖氨酸 27 三甲基化 (H3K27me3) 来实现对大量基因表达的协同调控。H3K27me3 是基因表达被抑制的染色质标记。Polycomb Group (PcG) 蛋白使成百上千的基因发生 H3K27me3。对于 PcG 如何在萌发过程的特定阶段作用于目标基因的问题, 目前完全不清楚。植物内小 RNA 有成千上万种, 其中大多数是 24 nt 的异染色质 siRNA, 靶向同源的基因组位点导致转录水平上的基因沉默^[29]。对拟南芥、水稻和玉米中的内源小 RNA 高通量测序结果表明, 很多基因组位点 (通常是重复片段或转座子) 能产生 24 nt siRNA^[30-31]。这些重复片段或转座子通过依赖于植物特异 DNA 的 RNA 聚合酶 (Pol IV) 转录成单链 RNA^[32]; 以 RNA 单链为模板, 通过依赖于 RNA 的 RNA 聚合酶 2 (RDR2) 合成 RNA 双链, DICER-LIKE3 (DCL3) 将 RNA 双链加工成 24 nt siRNA; 双链中的一条与 AGO4 结合, 之后复合物被送回同源基因位点引起 DNA 甲基化和 (或) H3K9me2, 从而导致转录水平的基因沉默^[33]。

近年来的研究发现, miRNA 也可以通过使 DNA 甲基化调控其目标基因的表达。在水稻中发现 24 nt miRNA 与 AGO4 的复合物能够引起目标基因的甲基化^[34]。miRNA 通常调控大量的目标基因, 既能在转录水平, 也能在转录后水平上实现其对多个基因的协同调控^[34]。DNA 甲基化介导的表观遗传机制在种子萌发过程可能也参与基因协同表达的调控。拟南芥种子胚乳中基因组范围去甲基化影响基因印迹的发生^[35]。对拟南芥种子萌发过程转录组的研究发现基因组中位置靠近的, 由 4~5 个基因组成的基因簇是协同调控的; 含有 10 个或更多的基因的大基因簇是协同抑制的^[36]。这些区域通常含有胞嘧啶甲基化的 TEs 和重复片段。因为 H3K27me3 主要发生在单个基因上而不是在大区域中发生^[37]。这些研究结果表明, 在种子中除 H3K27me3 外还存在 DNA 甲基化介导的表观遗传机制控制基因协同表达。本课题组一直关注小 RNA 所介导的表观遗传调控在种子萌发中的作用, 并在大豆种子的萌发过程检测到小 RNA 的表达是动态变化的。进一步的研究将揭示小 RNA 介导的 DNA 甲基化或 H3K9me2 在种子萌发过程中的调控作用。

5 种皮和胚乳产生的机械抑制

与分子水平的“抑制”类似, 种子萌发还存在由包裹胚的种皮和胚乳产生的机械抑制。萌发过程在正常的种子发育过程不会发生, 但是在胎萌突变

体上会发生萌发现象。然而, 胚的生长能力或萌发潜能, 在幼胚中已形成^[1], 很多情况下, 胚的生长被胚乳或种皮的机械阻力所抑制。存在于成熟种子中的机械屏障在种子自然脱落或收获后常常导致种皮因素引起的休眠^[38]。在硬皮种子, 最明显的种皮限制导致的休眠是由于种皮阻止了水分进入种子。有些种皮或胚乳本身对胚根的伸长产生机械阻力^[39]。这些类型的种子一般种皮破损后, 胚在包裹胚的胚乳乳尖的位置会伸长。所以, 即使胚具有生长潜能, 但是, 胚的伸展还是被胚乳抑制了^[40]。胚乳在胚根伸出之前被细胞壁降解酶软化的现象在辣椒^[41]和番茄^[42]的种子的研究中都有报道。这种阻止胚根延长的机械阻力使得不同的种子在不同的时间萌发, 这样更有利于新生命在自然条件下的存活。组织的软化包括抑制的解除, 与分子水平的“解除抑制”^[43]类似。

6 展望

种子的萌发是一个复杂的, 涉及多层次调控的过程。过去对种子萌发过程调控的理解主要局限于由激素所介导的转录水平和翻译后水平的调控, 以及种皮和胚乳引起的机械抑制; 近年来的研究发现 miRNA 介导的转录后抑制、mRNA 介导的转录后抑制, 以及小 RNA 介导的表观遗传水平的抑制等调控机制可能在种子萌发过程起重要调控作用。这些发现为种子生物学提供了新的研究方向, 将丰富种子萌发领域的知识。随着研究的深入, 会有更多的问题等着我们去探索和发现。

[参 考 文 献]

- [1] Bewley JD, Black M. Seeds. Physiology of development and germination[M]. New York: Plenum Press, 1994: 192
- [2] Ogawa M, Hanada A, Yamauchi Y, et al. Gibberellin biosynthesis and response during *Arabidopsis* seed germination. *Plant Cell*, 2003, 15: 1591-604
- [3] Lee S, Cheng H, King KE, et al. Gibberellin regulates *Arabidopsis* seed germination via RGL2, a GAI/RGA-like gene whose expression is up-regulated following imbibitions. *Genes Dev*, 2002, 16: 646-58
- [4] Tyler L, Thomas SG, Hu J, et al. DELLA proteins and gibberellin-regulated seed germination and floral development in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2004, 135(2): 1008-19
- [5] McGinnis KM, Thomas SG, Soule JD, et al. The *Arabidopsis* SLEEPY1 gene encodes a putative F-box subunit of an SCF E3 ubiquitin ligase. *Plant Cell*, 2003, 15(5): 1120-30
- [6] Cao D, Cheng H, Wu W, et al. Gibberellin mobilizes distinct DELLA-dependent transcriptomes to regulate seed germination and floral development in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2006, 142(2): 509-25

- [7] Mo B, Bewley JD. The relationship between β -mannosidase and endo- β -mannanase activities in tomato seeds during and following germination: a comparison of seed populations and individual seeds. *J Exp Bot*, 2003, 54(392): 2503-10
- [8] Mo B, Bewley JD. β -Mannosidase (EC 3.2.1.25) activity during and following germination of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) seeds. Purification, cloning and characterization. *Planta*, 2002, 215(1): 141-52
- [9] Koornneef M, Hanhart CJ, Hilhorst HW, et al. *In vivo* inhibition of seed development and reserve protein accumulation in recombinants of abscisic acid biosynthesis and responsiveness mutants in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol*, 1989, 90(2): 463-9
- [10] Zhang X, Garretton V, Chua NH. The AIP2 E3 ligase acts as a novel negative regulator of ABA signaling by promoting ABI3 degradation. *Genes Dev*, 2005, 19(13): 1532-43
- [11] Oh E, Yamaguchi S, Kamiya Y, et al. Light activates the degradation of PIL5 protein to promote seed germination through gibberellins in *Arabidopsis*. *Plant J*, 2006, 47(1): 124-39
- [12] Alvarado V, Nonogaki H, Bradford KJ. Expression of endo- β -mannanase and SNF-related protein kinase genes in true potato seeds in relation to dormancy, gibberellin and abscisic acid[M]//Viemont JD, Crabbe J. Dormancy in plants: from whole plant behaviour to cellular control. Wallingford: CABI Publishing, 2000: 347-64
- [13] Martin RC, Liu PP, Nonogaki H. MicroRNAs in seeds: modified detection techniques and potential applications. *Can J Bot*, 2006, 84(2): 189-98
- [14] Rhoades MW, Reinhart BJ, Lim LP, et al. Prediction of plant microRNA targets. *Cell*, 2002, 110(4): 513-20
- [15] Chen X. A microRNA as a translational repressor of APETALA2 in *Arabidopsis* flower development. *Sci*, 2004, 303(5666): 2022-5
- [16] Liu PP, Montgomery TA, Fahlgren N, et al. Repression of AUXIN RESPONSE FACTOR10 by microRNA160 is critical for seed germination and post-germination stages. *Plant J*, 2007, 52(1): 133-46
- [17] Fenger-Gron M, Fillman C, Norrild B, et al. Multiple processing body factors and the ARE binding protein TTP activate mRNA decapping. *Mol Cell*, 2005, 20(6): 905-15
- [18] 魏晓明, 汤华. P小体的研究进展. *细胞生物学杂志*, 2007, 29(3): 346-50
- [19] Anderson P, Kedersha N. RNA granules. *J Cell Biol*, 2006, 172(6): 803-8
- [20] Brengues M, Teixeira D, Parker R. Movement of eukaryotic mRNAs between polysomes and cytoplasmic processing bodies. *Science*, 2005, 310(5747): 486-9
- [21] Parker R, Sheth U. P bodies and the control of mRNA translation and degradation. *Mol Cell*, 2007, 25(5): 635-46
- [22] Weber C, Nover L, Fauth M. Plant stress granules and mRNA processing bodies are distinct from heat stress granules. *Plant J*, 2008, 56(4): 517-30
- [23] Mo BX, Bewley JD. The utilization of stored and newly-synthesized mRNAs during seed germination[C]. Ottawa: Proceedings of the Plant Development Workshop & the Canadian Society of Plant Physiologists Eastern Regional Meeting, 2008: 32
- [24] Pramanik SK, Krochko JE, Bewley JD. Distribution of cytosolic mRNAs between polysomal and ribonucleoprotein complex fractions in alfalfa embryos. *Plant Physiol*, 1992, 99(4): 1590-6
- [25] Bewley JD. Seed germination and dormancy. *Plant Cell*, 1997, 9(7): 1055-66
- [26] 邹希豪, 李卫, 莫蓓莘. 番茄种子萌发和干燥耐受能力与蛋白质表达关系研究. *广东农业科学*, 2008(1): 11-3
- [27] Nakabayashi K, Okamoto M, Koshiba T, et al. Genome-wide profiling of stored mRNA in *Arabidopsis thaliana* seed germination: epigenetic and genetic regulation of transcription in seed. *Plant J*, 2005, 41(5): 697-709
- [28] Okamoto M, Tatematsu K, Matsui A, et al. Genome-wide analysis of endogenous abscisic acid-mediated transcription in dry and imbibed seeds of *Arabidopsis* using tiling arrays. *Plant J*, 2010, 62(1): 39-51
- [29] Chen X. Small RNAs and their roles in plant development. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2009(25): 21-44
- [30] Xie Z, Johansen LK, Gustafson AM, et al. Genetic and functional diversification of small RNA pathways in plants. *PLoS Biol*, 2004, 2(5): E104
- [31] Alleman M, Sidorenko L, McGinnis K, et al. An RNA-dependent RNA polymerase is required for paramutation in maize. *Nature*, 2006, 442(7100): 295-98
- [32] Sidorenko L, Dorweiler JE, Cigan AM, et al. A dominant mutation in mediator of paramutation2, one of three second-largest subunits of a plant-specific RNA polymerase, disrupts multiple siRNA silencing processes. *PLoS Genet*, 2009, 5(11): e1000725
- [33] Zheng X, Zhu J, Kapoor A, et al. Role of *Arabidopsis* AGO6 in siRNA accumulation, DNA methylation and transcriptional gene silencing. *EMBO J*, 2007, 26(6): 1691-701
- [34] Wu L, Zhou H, Zhang Q, et al. DNA methylation mediated by a microRNA pathway. *Mol Cell*, 2010, 38(3): 465-75
- [35] Hsieh TF, Ibarra CA, Silva P, et al. Genome-wide demethylation of *Arabidopsis* endosperm. *Science*, 2009, 324(5933): 1451-4
- [36] Nakabayashi K, Okamoto M, Koshiba T, et al. Genome-wide profiling of stored mRNA in *Arabidopsis thaliana* seed germination: epigenetic and genetic regulation of transcription in seed. *Plant J*, 2005, 41(5): 697-709
- [37] Zhang X, Clarenz O, Cokus S, et al. Whole-genome analysis of histone H3 lysine 27 trimethylation in *Arabidopsis*. *PLoS Biol*, 2007, 5(5): e129
- [38] Finch-Savage WE, Leubner-Metzger G. Seed dormancy and the control of germination. *New Phytol*, 2006, 171(3): 501-23
- [39] Debeaujon I, Léon-Kloosterziel KM, Koornneef M. Influence of the testa on seed dormancy, germination, and longevity in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2000, 122(2): 403-14
- [40] Liu PP, Koizuka N, Martin RC, et al. The BME3 (Blue Micropylar End 3) GATA zinc finger transcription factor is a positive regulator of *Arabidopsis* seed germination. *Plant J*, 2005, 44(6): 960-71
- [41] Watkins JT, Cantliffe DJ, Huber DJ, et al. Gibberellic acid stimulated degradation of endosperm in pepper. *J Am Soc Hort Sci*, 1985, 110(1): 61-5
- [42] Nonogaki H, Matsushima H, Morohashi Y. Galactomannan hydrolyzing activity develops during priming in the micropylar endosperm tip of tomato seeds. *Physiol Plant*, 1992, 85(2): 167-72
- [43] Silverstone AL, Jung HS, Dill A, et al. Repressing a repressor: gibberellins-induced rapid reduction of the RGA protein in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2001, 13(7): 1555-66