

植物 miR169/NF-YA 调控模块研究进展

徐妙云¹, 朱佳旭^{1,2}, 张敏¹, 王磊¹

1. 中国农业科学院生物技术研究所, 北京 100081;

2. 北京农学院, 北京 102206

摘要: MicroRNAs(miRNAs)是真核生物中普遍存在的一类参与基因表达调控的小分子 RNA。miR169 家族是植物中保守且规模较大的一类 miRNA 基因家族,其在转录后水平调控植物中一类保守的转录因子 NF-YA(Nuclear transcription factor Y subunit A)。已有研究表明,miR169/NF-YA 调控模块对植物的发育和逆境响应起着重要作用。本文对植物 miR169 基因家族的起源、进化、分子多样性及 miR169/NF-YA 模块在植物中调控功能的研究进展进行了阐述,特别介绍了 miR169/NF-YA 参与调控“逆境诱导早花”的分子机制,并展望了未来的研究方向。

关键词: miR169 家族; 靶基因; NF-YA; 调控模块; 发育; 逆境响应

Advances on plant miR169/NF-YA regulation modules

Miaoyun Xu¹, Jiayu Zhu^{1,2}, Min Zhang¹, Lei Wang¹

1. Biotechnology Research Institute of Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China;

2. Beijing University of Agriculture, Beijing 102206, China

Abstract: Plant microRNAs (miRNAs) are a class of small non-coding RNAs which target and regulate the expression of genes involved in several growth, development, and metabolism processes. The miR169 family is the largest and most conserved miRNA family in plants. Recent researches have shown involvement of miR169 members in the regulation of plant responding to abiotic stress and development. Computational prediction and experimental analyses suggest that miR169 targets members of the transcription factor NF-YA gene family. In this review, we summarize the origins, evolution and diversity of miR169 family members. In addition, a comprehensive understanding the regulatory functions of the miR169/NF-YA module in plant with particular emphasis on stress-induced flowering is discussed.

Keywords: miR169 family; target; NF-YA; regulation module; development; stress response

植物在长期进化过程中,形态结构、生理生化和分子机制等各方面协调发育,形成了对各种逆境的适应性。干旱、低温、高盐和高温是目前世界范围内影响作物产量的主要非生物逆境。克服干旱、

盐碱和极端温度对农业生产的制约,培育具有良好抗逆特性的作物品种,一直是科研人员的研究焦点。作物对逆境胁迫的抗性十分复杂,由于早期对植物抗逆胁迫的机制认识还不够深入,利用传统的品种

收稿日期: 2015-12-30; 修回日期: 2016-02-19

基金项目: 国家自然科学基金项目(编号: 31270318)资助[Supported by the National Natural Science Foundation of China (No.31270318)]

作者简介: 徐妙云, 博士, 副研究员, 研究方向: 植物逆境生物学。E-mail: xumiaoyun@caas.cn

通讯作者: 王磊, 博士, 研究员, 研究方向: 玉米功能基因组学。E-mail: wanglei01@caas.cn

DOI: 10.16288/j.yczs.15-526

网络出版时间: 2016/7/14 15:51:05

URI: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20160714.1551.006.html>

间或种内杂交等育种手段改良作物对逆境胁迫的抗性成效有限。近年来,随着分子技术手段的发展和对植物响应非生物逆境分子机制的深入研究,一些与逆境响应相关的基因陆续被鉴定,并发现一些基因参与了植物从感受逆境到下游系列基因转录激活的级联反应。但大部分基因功能未知,整个调控网络还不清晰。MicroRNAs(miRNAs)的发现无疑为该领域的研究揭开了一个新视角。研究表明,miRNA参与调控植物生长发育、逆境响应等多个方面。miRNA与其靶基因组成调控模块,像一个开关,可以“启动”和“关闭”其下游分子水平上的代谢途径,使单一的信号被迅速扩大,以满足生命体自身发育、代谢的需求。

miRNAs是一类20~24 nt的非编码RNA,在转录后水平调控基因的表达。随着测序技术的发展,已经在73类植物中鉴定了7057个候选miRNA(<http://www.mirbase.org/>),它们的靶基因大多数是调控生长发育的转录因子^[1~3]。例如,miR165/166与其靶基因HD-ZIP III类转录因子参与了植物顶端分生组织的发育^[4]。同时,越来越多的研究也证明miRNA可以作为植物响应逆境的调节器^[5,6]。借助高通量测序技术,在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)^[7,8]、大豆(*Glycine max*)^[9]和玉米(*Zea mays*)^[10]中均鉴定了逆境诱导的保守miRNA,并预测了其靶基因^[7,10,11]。植物物种不同,miRNA响应逆境的方式也不尽相同,即使是同一物种,由于基因型不同或处于不同的生长发育阶段,miRNA响应逆境的方式也不相同。例如对于大豆干旱敏感型和非敏感型植株,在受到干旱胁迫时miRNA的积累方式不同,其中干旱敏感型植株中miR166-5p、miR169f-3p、miR1513c、miR397ab和miR-seq13的表达与耐旱型植株相比是上调的^[9]。另外,在非生物胁迫影响下miRNA的合成会受到转录后水平的调控,以胡杨(*Populus euphratica* Oliv.)为材料的研究表明胁迫处理(干旱或盐胁迫)可能造成miRNA及其前体的积累方式不同,当植株胁迫处理2 h,miR171a前体的积累量达到了最大值,而成熟的miR171却在4 h达到最大值^[12],由此可以看出miRNA参与植物响应胁迫的调控机制非常复杂精细^[13]。

迄今已经在35个物种中共鉴定出400多个miR169基因家族成员,包括单子叶植物、双子叶植

物及一些古老的裸子植物。miRBase数据库中部分植物miR169基因家族成员数分别为:拟南芥14个、玉米18个、高粱(*Sorghum bicolor*)21个、大豆21个、水稻(*Oryza sativa*)19个、蒺藜苜蓿(*Medicago truncatula*)18个、葡萄(*Vitis* L.)25个、毛果杨(*Populus trichocarpa*)33个等,均为这些物种中最大的miRNA基因家族,说明miR169在植物生长和发育过程中扮演着非常重要的角色。作为多种植物中最大的miRNA基因家族和植物中“逆境诱导的miRNA”,目前miR169基因家族的调控功能还不清楚。本文系统总结了植物miR169家族的发现、进化和表达分化情况,及其靶基因NF-YA类转录因子的研究进展,为进一步的功能解析奠定基础。

1 植物 miR169 家族的发现、进化和多样性

2002年,Reinhart等^[14]首次在拟南芥中克隆到miR169;2007年,本实验室在油菜(*Brassica napus*)中克隆了miR169家族成员^[15]。随着更多物种中miR169家族成员的鉴定,研究发现miR169基因家族成员在染色体上多成簇分布,也就是几个miR169拷贝构成串联重复单元^[16~18]。例如在拟南芥中,miR169d和miR169e串联排列在1号染色体上,miR169i、miR169j、miR169k、miR169l、miR169m和miR169n成簇排列于3号染色体;高粱中21个miR169家族成员分布于9条染色体上,其中12个成员成簇分布,Chr.1、Chr.2、Chr.6各有一个miRNA簇,Chr.7上的miR169r/s、miR169l、miR169m和miR169n聚为最大的一簇;玉米中miR169d、miR169e/h和miR169j成簇排列于4号染色体;毛果杨中有8条染色体上均存在miR169家族成员成簇排列的现象(图1)。通过比较基因组研究发现,不同miR169基因拷贝在染色体片段上成簇排列的现象不仅在高粱、玉米、二穗短柄草(*Brachypodium distachyon*)等单子叶植物中存在,在双子叶植物如葡萄、大豆、木薯(*Manihot* Mill)和木本植物毛果杨中也保守存在,毛果杨33个miR169基因家族成员中有20个成簇分布^[15,18]。对串联重复单元之间的间隔区序列分析表明,没有启动子元件特征,所以它们是作为一个转录单位进行转录的。绝大部分miR169基因家族成员位于基因间区域,也有部分成员位于蛋白质基因内部(包括5'UTR、

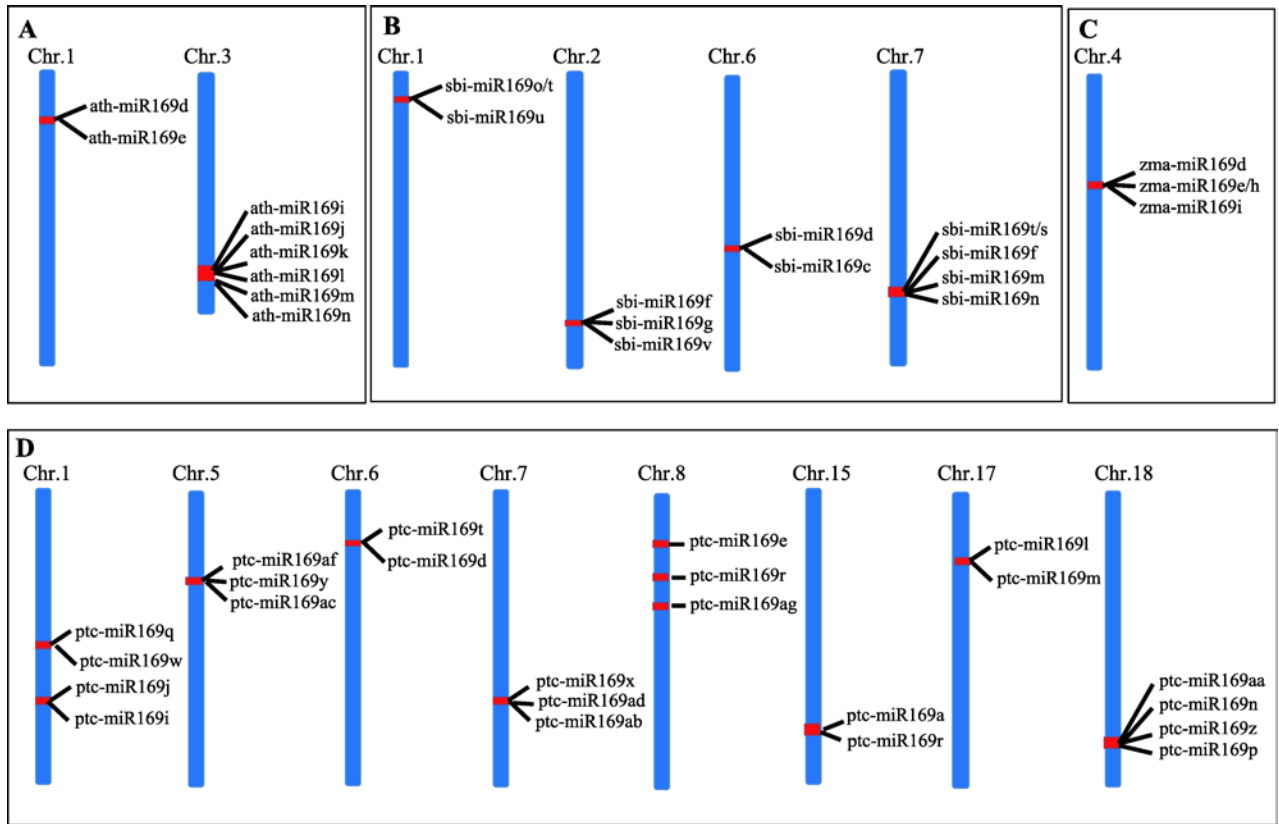


图 1 miR169 家族成员在植物染色体上成簇排列示意图

Fig. 1 Distribution of miR169 gene clusters in the chromosome of plant

A: 拟南芥(*Arabidopsis thaliana*); B: 高粱(*Sorghum bicolor*); C: 玉米(*Zea mays*); D: 毛果杨(*Populus trichocarpa*).

3'UTR)。这些串联重复单元在不同物种的染色体片段中交叉出现并高度保守,说明植物 *miR169* 基因家族的进化主要通过染色体片段的多次重复实现倍数增长。但在进化过程中,在环境选择压力下,家族成员的表达部位和表达情况均不断分化,产生新的功能和新的家族成员。例如,水稻 17 个 *miR169* 家族的成员中只有 *miR169g* 被干旱所诱导,且根中 *miR169g* 比芽中对干旱胁迫更敏感^[19],而 *osa-miR169g* 和 *osa-miR169n* 都可以响应盐胁迫^[20];胡杨 *miR169* 基因家族成员在干旱处理条件下也呈现不一样的表达水平变化^[21]。

2 miR169/NF-YA 调控模块研究进展

NF-Y 是一种真核生物中广泛存在的转录因子,能够特异性地结合 CCAAT-box,CCAAT-box 作为一种顺式元件存在于大约 1/4 的真核生物基因启动子中。NF-Y 包含 NF-YA(CBF-B 或 HAP2)、NF-YB

(CBF-A 或 HAP3)、NF-YC(CBF-C 或 HAP5)3 个亚基。NF-YB 和 NF-YC 通过一个组蛋白折叠域紧紧地结合在一起,NF-YB 和 NF-YC 形成的二聚体没有 DNA 序列结合的特异性^[22],需要在核中与 NF-YA 结合形成最终的三聚体转录因子^[23],三聚体在染色质上滑动寻找 25 bp 的 CCAAT-box 元件,一旦找到 NF-YA 就会与之结合并插入 DNA 双螺旋的小沟中,使 DNA 双螺旋处于一个松弛状态,从而更有利地募集 RNA 聚合酶或者其他的转录因子,进而对其下游的靶基因进行正向或负向调控^[24,25]。

NF-Y 作为保守的转录因子在植物的生长发育和对逆境胁迫响应中扮演着重要的角色^[25~27]。有研究表明,玉米中的 NF-YB 可以在不影响产量减少的情况下提高作物的抗旱能力^[25]。NF-YA 作为三聚体重要的组成因子,在结构上包括富含谷氨酰胺和色氨酸或苏氨酸的 N 末端、一个 NF-YB/NF-YC 结合域和一个 DNA 结合域^[28],而这两个结合域是 NF-YA

的保守域。目前在拟南芥和玉米中分别已鉴定了 10 个、14 个 NF-YA 基因^[16]。研究发现在一些 NF-YA 的 3'UTR 有一个 miR169 的切割靶位点^[29], miR169 可以在转录水平调控 NF-YA 转录因子的表达, miR169/NF-YA 调控模块可以受到内源信号或外部环境的激活, 使植物表现出增强适应内外环境变化的特性^[22]。miR169 对靶基因 NF-YA 转录因子的作用及其功能在蒺藜苜蓿^[26]、拟南芥^[27]、水稻^[29]、胡杨^[12]等植物中均已得到验证。因此, 研究 miR169/NF-YA 模块的调控功能具有重要的理论与实际意义。

Combiér 等^[26]对蒺藜苜蓿的研究发现, 在 NF-YA 的 5' 端有一个内含子可以进行选择性剪切, 在这个区域中有一个 ORF 可以编码一个小肽——uORF1p, 该蛋白的表达可以下调 NF-YA^[30], 与 miR169 的功能相似, 经过进一步研究发现 miR169 和 uORF1p 的调控功能并不赘余, 反而功能互补, 在根瘤发育的早期阶段 miR169 调控占主导地位, 而在后期时 uORF1p 发挥显著功能。这些研究使得 NF-YA 的上游调控机制变得更加清晰, 也为植物环境胁迫下的分子应答机制提供了理论支撑。李文学等^[27]的研究表明, miR169/NF-YA5 调控模块可以响应干旱并提高拟南芥的抗旱性, 拟南芥在缺水环境中 miR169 表达受到抑制, NF-YA5 也就脱离了 miR169 的控制而上调表达, 进而使植物抗旱性增强。倪志勇等^[31]发现大豆 miR169/GmNFYA3 调控模块参与植物的旱逆境相应, 过表达 GmNFYA3 的拟南芥植株抗旱性提高, 并对高盐和外源 ABA 敏感。而且在正常条件下, 过表达株系中 ABA 合成、ABA 信号通路及逆境响应基因与野生型相比均上调表达。徐妙云等^[32]发现在拟南芥中受逆境胁迫诱导的另一个模块 miR169/NF-YA2 参与了植物的开花调控。

玉米中有 10 个成熟的 miR169 成员和 14 个 NF-YA 基因家族成员, 在响应不同逆境胁迫时, miR169 家族与 NF-YA 家族成员之间存在复杂的调控关系, 本实验室前期通过靶基因预测和 RLM-5'RACE 确定了玉米中有 7 个 *Zm-NFYA* 是 miR169 的靶基因。对这 7 个 NF-YA 的表达模式进行研究发现, 它们有着不同的组织表达特异性^[16]。为了研究 miR169 家族成员和它们的 NF-YA 靶基因响应逆境的表达模式, 本实验室对玉米幼苗进行了干旱、外源 ABA 激素和

高盐处理。结果发现, 这些基因在不同胁迫处理和不同植物组织中的表达情况不同, 但大部分的靶基因 *Zm-NFYA* 与 zma-miR169 呈现出相反的表达变化, 这就说明玉米根在响应逆境胁迫时, *Zm-NFYA* 主要受到 zma-miR169 的调控^[16]。因此, 建立非生物胁迫下两者之间的调控关系, 阐明 zma-miR169 及其靶基因 *Zm-NFYA* 介导调控玉米抗逆的分子机制, 对完善植物响应非生物胁迫的机理有重要理论价值, 更加利于玉米抗逆新品种的培育。

3 miR169 基因参与植物开花时间的调控

本实验室前期一直致力于“miRNA 参与的逆境诱导的开花”调控机制的研究, 首先对不同物种中 miR169 对非生物逆境的响应特性进行分析, 发现 miR169d 在逆境条件下, 表达变化最大。接着对 miR169d 在拟南芥中的功能进行了深入分析, 鉴定了其靶基因为 NF-YA2 和 NF-YA10, 继而分离了 ath-miR169d 的前体序列及两个靶基因的 cDNA 序列并进行了转基因研究, 发现 ath-miR169d 通过对其靶基因 NF-YA2 的作用参与了拟南芥的开花调控。miR169d/NF-YA2 模块响应环境逆境信号, 引起抑制因子 *FLC* 的下调表达, 继而解除对下游开花整合因子 *FT* 的抑制, *FT* 表达上调, 调控植物提前开花。进一步通过实验表明, miR169/NF-YA2 调控模块所引起的早花现象独立于其他开花调控途径^[16]。

Messing 等^[18]也表明 miR169 与植物的开花相关。他们通过比较基因组方法推测 miR169 基因可能通过“连锁累赘”现象参与了植物的开花调控。对高粱 Chr.2 和 Chr.7 上 miR169 家族成员所在区域的分析发现, miR169 拷贝与两个编码 bHLH 蛋白基因、一个 B-box 锌指蛋白基因和一个 CCT-motif 蛋白基因紧密连锁, 其分别与拟南芥 bHLH137 和 CONSTANS-LIKE14 蛋白同源^[18]。拟南芥 bHLH137 和 COL14 基因分别参与株高和开花时间的调控^[33-35]。这种 miR169 同时与 bHLH 和 COL 或与其中一个基因物理紧密连锁的现象在二穗短柄草、玉米(图 2)、水稻和黍(*Semen panici miliacei*)等 4 种单子叶植物, 以及大豆、木薯、葡萄等双子叶植物中也保守存在^[18]。miR169 不同拷贝与 bHLH 和 COL 基因在染色体片段上紧密连锁的现象在育种上称为“连锁累赘”, 可

能正是因为该“连锁累赘”同时参与植物抗逆和开花、发育等过程，才能在长期的选择进化压力下得以保留。总结以上研究结果，作者重新绘制了植物在逆

境条件下提前开花的模型(图 3)，这个遗传模型解释了“生长季中，当植物遭遇干旱会较正常灌溉条件下提前开花结实”的现象^[36]。

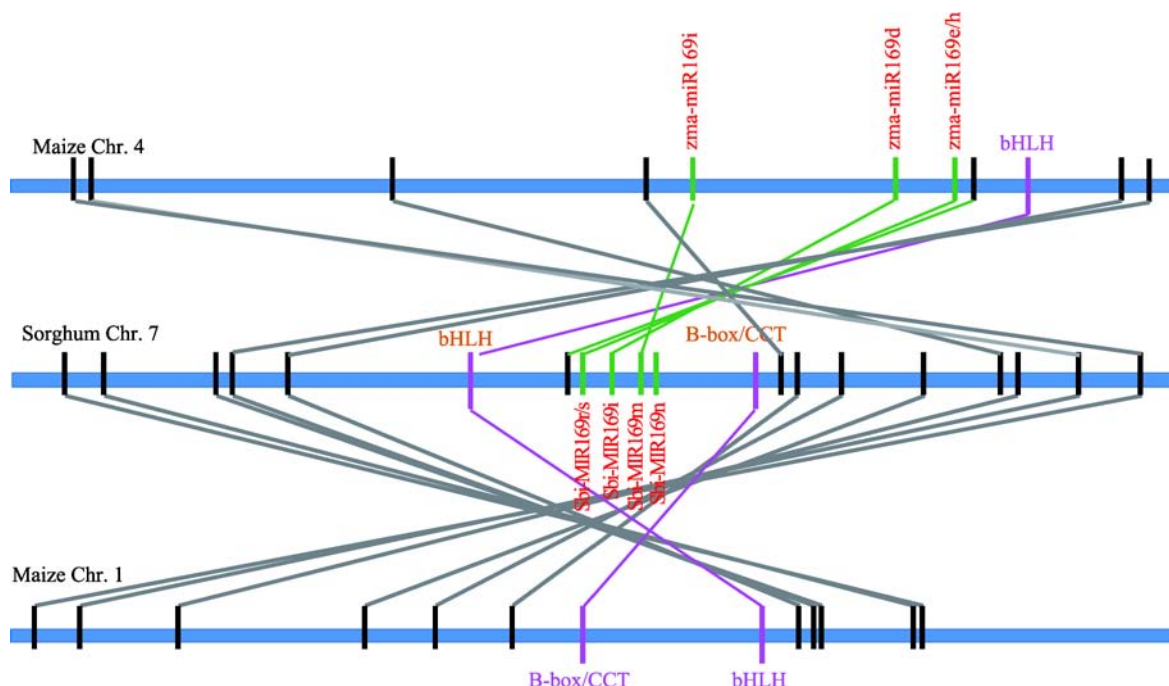


图 2 高粱 7 号染色体上 miR169 簇和玉米同源区域的比对

Fig. 2 Syntenic alignment of maize and sorghum chromosomal segments containing miR169 gene clusters in chromosome 7

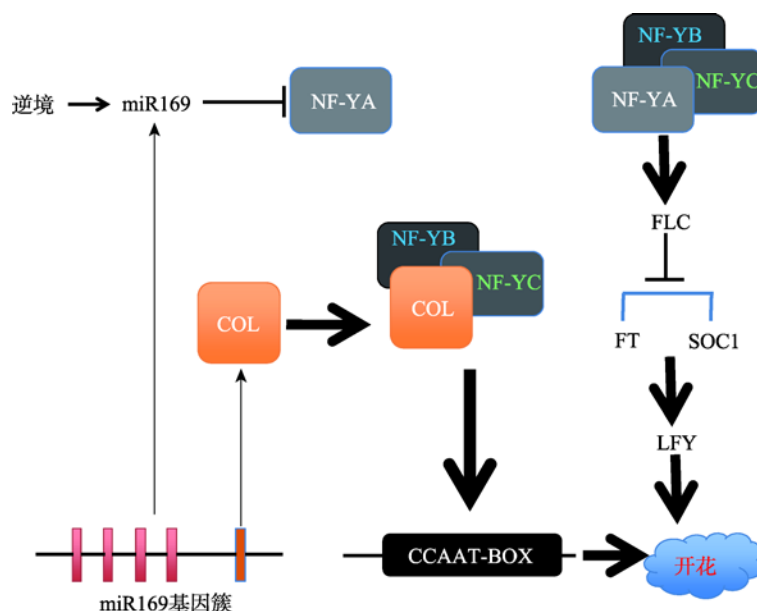


图 3 逆境诱导植物早花分子机制模型

Fig. 3 A molecular model of stress-induced flowering in plant

与高粱 Chr.7 相比，玉米 Chr.1 上删除了 *miR169* 基因拷贝，但保留了两侧的 B-box/CCT 和 *bHLH* 基因。Chr.4 上保留了 3 个 *miR169* 拷贝和一个 *bHLH* 基因。

4 展 望

研究 miRNA/靶基因介导的调控网络可以为植物在发育和抗逆方面的遗传改良提供新的思路和方法, 有助于为作物提高对疾病和环境胁迫的抵抗能力提供新的有效途径。从 2002 年第一个植物 miRNA 被克隆^[14]开始, 大量 miRNAs 被鉴定, 在过去的 5 年间, 新克隆的植物 miRNAs 数量从 10 898 增加到 15 041, 靶基因扩展到 178 138 个, 遍布于 46 个物种^[37]。大多数 miRNAs 的调控功能及其靶基因还未知, 未来需要进一步探讨已克隆的 miRNAs 靶基因及其调控功能。

已有的研究表明, miR169d 不仅参与植物对逆境的响应, 也参与开花时间的调控, 一个 miRNA 将植物对逆境的响应和发育关联起来, 拓宽了我们对 miRNAs 功能的认知, 除了 miR169 家族还有很多其他逆境响应的 miRNAs, 它们如何参与植物的逆境响应, 是否也同时调控植物的其他生物学过程? 这是未来一个值得思考的方向。另一方面, 尽管一些 miRNA 家族基因在许多植物物种中的功能相对保守, 但是大部分逆境诱导的 miRNA 表现出物种和逆境响应的特异性, 即使是同一物种的不同亚种表达模式也不同。因此不同的物种中进一步研究这些响应逆境的植物 miRNA 及其参与调控的路径是非常必要的。不仅对完善植物发育和响应非生物胁迫的机理有重要理论价值, 更有利于优良品种的培育。

参考文献(References):

- [1] Mallory AC, Vaucheret H. Functions of microRNAs and related small RNAs in plants. *Nat Genet*, 2006, 38(Supp. 1): S31–S36. [DOI]
- [2] Voinnet O. Origin, biogenesis, and activity of plant microRNAs. *Cell*, 2009, 136(4): 669–687. [DOI]
- [3] Cuperus JT, Fahlgren N, Carrington JC. Evolution and functional diversification of *MIRNA* genes. *Plant Cell*, 2011, 23(2): 431–442. [DOI]
- [4] Zhu HL, Hu FQ, Wang RH, Zhou X, Sze SH, Liou LW, Barefoot A, Dickman M, Zhang XR. *Arabidopsis* Argonaute10 specifically sequesters miR166/165 to regulate shoot apical meristem development. *Cell*, 2011, 145(2): 242–256. [DOI]
- [5] Chiou TJ, Aung K, Lin SI, Wu CC, Chiang SF, Su CL. Regulation of phosphate homeostasis by microRNA in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2006, 18(2): 412–421. [DOI]
- [6] Ruiz-Ferrer V, Voinnet O. Roles of plant small RNAs in biotic stress responses. *Annu Rev Plant Biol*, 2009, 60: 485–510. [DOI]
- [7] Sunkar R, Zhu JK. Novel and stress-regulated microRNAs and other small RNAs from *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2004, 16(8): 2001–2019. [DOI]
- [8] Zhao M, Ding H, Zhu JK, Zhang FS, Li WX. Involvement of miR169 in the nitrogen-starvation responses in *Arabidopsis*. *New Phytol*, 2011, 190(4): 906–915. [DOI]
- [9] Kulcheski FR, de Oliveira LF, Molina LG, Almerao MP, Rodrigues FA, Marcolino J, Barbosa JF, Stolf-Moreira R, Nepomuceno AL, Marcelino-Guimaraes FC, Abdelnoor RV, Nascimento LC, Carazzolle MF, Pereira GAG, Margis R. Identification of novel soybean microRNAs involved in abiotic and biotic stresses. *BMC Genomics*, 2011, 12: 307. [DOI]
- [10] Zhao YP, Xu ZH, Mo QC, Zou C, Li WX, Xu YB, Xie CX. Combined small RNA and degradome sequencing reveals novel miRNAs and their targets in response to low nitrate availability in maize. *Ann Bot*, 2013, 112(3): 633–642. [DOI]
- [11] Shen JQ, Xie KB, Xiong LZ. Global expression profiling of rice microRNAs by one-tube stem-loop reverse transcription quantitative PCR revealed important roles of microRNAs in abiotic stress responses. *Mol Genet Genom*, 2010, 284(6): 477–488. [DOI]
- [12] Qin YR, Duan ZX, Xia XL, Yin WL. Expression profiles of precursor and mature microRNAs under dehydration and high salinity shock in *Populus euphratica*. *Plant Cell Rep*, 2011, 30(10): 1893–1907. [DOI]
- [13] Contreras-Cubas C, Palomar M, Arteaga-Vázquez M, Reyes JL, Covarrubias AA. Non-coding RNAs in the plant response to abiotic stress. *Planta*, 2012, 236(4): 943–958. [DOI]
- [14] Reinhart BJ, Weinstein EG, Rhoades MW, Bartel B, Bartel DP. MicroRNAs in plants. *Genes Dev*, 2002, 16(13): 1616–1626. [DOI]
- [15] Wang L, Wang MB, Tu JX, Helliwell CA, Waterhouse PM, Dennis ES, Fu TD, Fan YL. Cloning and characterization of microRNAs from *Brassica napus*. *FEBS Lett*, 2007, 581(20): 3848–3856. [DOI]
- [16] Luan MD, Xu MY, Lu YM, Zhang QX, Zhang L, Zhang CY, Fan YL, Lang ZH, Wang L. Family-wide survey of miR169s and NF-YAs and their expression profiles response to abiotic stress in maize roots. *PLoS One*, 2014,

- 9(3): e91369. [DOI]
- [17] Xu MY, Dong Y, Zhang QX, Zhang L, Luo YZ, Sun J, Fan YL, Wang L. Identification of miRNAs and their targets from *Brassica napus* by high-throughput sequencing and degradome analysis. *BMC Genomics*, 2012, 13: 421. [DOI]
- [18] Calvino M, Messing J. Discovery of MicroRNA169 gene - copies in genomes of flowering plants through positional information. *Genome Biol Evol*, 2013, 5(2): 402–417. [DOI]
- [19] Zhao BT, Liang RQ, Ge LF, Li W, Xiao HS, Lin HX, Ruan KC, Jin YX. Identification of drought-induced microRNAs in rice. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 354(2): - 585–590. [DOI]
- [20] Zhou XF, Sunkar R, Jin HL, Zhu JK, Zhang WX. Genome-wide identification and analysis of small RNAs originated from natural antisense transcripts in *Oryza sativa*. *Genome Res*, 2009, 19(1): 70–78. [DOI]
- [21] Li BS, Qin YR, Duan H, Yin WL, Xia XL. Genome-wide - characterization of new and drought stress responsive microRNAs in *Populus euphratica*. *J Exp Bot*, 2011, 62(11): 3765–3779. [DOI]
- [22] Dolfini D, Gatta R, Mantovani R. NF-Y and the transcriptional activation of CCAAT promoters. *Crit Rev Biochem Mol*, 2012, 47(1): 29–49. [DOI]
- [23] Mantovani R. The molecular biology of the CCAAT-binding factor NF-Y. *Gene*, 1999, 239(1): 15–27. [DOI]
- [24] Donati G, Gatta R, Dolfini D, Fossati A, Ceribelli M, Mantovani R. An NF-Y-dependent switch of positive and negative histone methyl marks on CCAAT promoters. *PLoS One*, 2008, 3(4): e2066. [DOI]
- [25] Nelson DE, Repetti PP, Adams TR, Creelman RA, Wu J, Warner DC, Anstrom DC, Bensen RJ, Castiglioni PP, Donnarummo MG, Hinchey BS, Kumimoto RW, Maszle DR, Canales RD, Krolkowski KA, Dotson SB, Gutterson N, Ratcliffe OJ, Jacqueline E. Heard Plant nuclear factor Y (NF-Y) B subunits confer drought tolerance and lead to improved corn yields on water-limited acres. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(42): 16450–16455. [DOI]
- [26] Combier JP, Frugier F, de Billy F, Boualem A, El-Yahyaoui F, Moreau S, Vernie T, Ott T, Gamas P, Crespi M, Niebel A. MtHAP2–1 is a key transcriptional regulator of symbiotic nodule development regulated by microRNA-169 in *Medicago truncatula*. *Genes Dev*, 2006, 20(22): 3084–3088. [DOI]
- [27] Li WX, Oono Y, Zhu J, He XJ, Wu JM, Iida K, Lu XY, Cui X, Jin H, Zhu JK. The *Arabidopsis* NFYA5 transcription factor is regulated transcriptionally and posttranscriptionally to promote drought resistance. *Plant Cell*, 2008, 20(8): 2238–2251. [DOI]
- [28] Sinha S, Maity SN, Lu J, de Crombrughe B. Recombinant rat CBF-C, the third subunit of CBF/NFY, allows formation of a protein-DNA complex with CBF-A and CBF-B and with yeast HAP2 and HAP3. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92(5): 1624–1628. [DOI]
- [29] Zhao BT, Ge LF, Liang RQ, Li W, Ruan KC, Lin HX, Jin YX. Members of miR-169 family are induced by high salinity and transiently inhibit the NF-YA transcription factor. *BMC Mol Biol*, 2009, 10: 29. [DOI]
- [30] Combier JP, de Billy F, Gamas P, Niebel A, Rivas S. Trans-regulation of the expression of the transcription factor MtHAP2–1 by a uORF controls root nodule development. *Genes Dev*, 2008, 22(11): 1549–1559. [DOI]
- [31] Ni ZY, Hu Z, Jiang QY, Zhang H. *GmNFYA3*, a target gene of miR169, is a positive regulator of plant tolerance to drought stress. *Plant Mol Biol*, 2013, 82(1–2): 113–129. [DOI]
- [32] Xu MY, Zhang L, Li WW, Hu XL, Wang MB, Fan YL, Zhang CY, Wang L. Stress-induced early flowering is mediated by miR169 in *Arabidopsis thaliana*. *J Exp Bot*, 2014, 65(1): 89–101. [DOI]
- [33] Griffiths S, Dunford RP, Coupland G, Laurie DA. The evolution of *CONSTANS*-like gene families in barley, rice, and *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2003, 131(4): 1855–1867. [DOI]
- [34] Wenkel S, Turck F, Singer K, Gissot L, Le Gourrierc J, Samach A, Coupland G. *CONSTANS* and the CCAAT - box binding complex share a functionally important domain and interact to regulate flowering of *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2006, 18(11): 2971–2984. [DOI]
- [35] Zentella R, Zhang ZL, Park M, Thomas SG, Endo A, Murase K, Fleet CM, Jikumaru Y, Nambara E, Kamiya Y, Sun TP. Global analysis of *della* direct targets in early gibberellin signaling in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2007, 19(10): 3037–3057. [DOI]
- [36] Franks SJ, Sim S, Weis AE. Rapid evolution of flowering time by an annual plant in response to a climate fluctuation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(4): 1278–1282. [DOI]
- [37] Yi X, Zhang ZH, Ling Y, Xu WY, Su Z. PNRD: a plant non-coding RNA database. *Nucleic Acids Res*, 2015, 43(D1): D982–D989. [DOI]