

植物再生过程中的表观修饰研究进展

张腾[#], 谢冲[#], 何崇圣^{*}

湖南大学生物学院, 植物功能基因组学与发育调控湖南省重点实验室, 长沙410082

摘要: 当前, 植物再生的研究正不断促进农业技术发展以及农作物再生效率的提高, 有着重要的应用价值。植物的再生过程本质是细胞的命运转变。表观遗传存在于植物各个生长发育过程中, 常伴随着细胞命运的转变, 因而植物再生为研究表观遗传调控提供了很好的模型。在对植物再生过程的研究中, 表观修饰的重要性不断被证实, 已经成为再生领域非常重要的组成部分。本文将主要关注植物再生与表观遗传调控, 介绍最新研究进展, 并探讨植物再生过程中各种表观修饰之间的相互关系。

关键词: 植物再生; 愈伤组织; 器官从头再生; 体细胞胚再生; DNA甲基化; 组蛋白修饰

植物再生是指植物组织或器官在受伤或受到胁迫的情况下自我修复和替代的过程。再生过程广泛存在于植物中, 是植物应对复杂外界环境所必需的能力。与动物相比, 植物具有更强大的再生能力, 最为典型的例子就是植物细胞全能性。植物的分化组织或器官通过一定处理成为单细胞后, 能形成脱分化的细胞团, 进而生成完整的植株。这一实验被人们广泛认为是植物细胞全能性的证据, 证实了植物强大的再生能力。植物再生与农业发展紧密相关, 被广泛运用于农业实践中, 组织培养、扦插、嫁接等都是植物再生应用的实例。

从分子水平上来说, 伤口信号刺激是植物再生的第一步, 这一刺激诱导激素信号的发生, 进而触发转录因子调控网络。近些年来, 越来越多的证据表明表观修饰参与了植物再生过程, 成为了植物再生研究领域的重要组成部分。这些研究成果既拓展了人们对植物再生过程的认识, 也加深了对表观遗传的理解。

1 植物再生的类型

植物再生可以通过不同方式发生, 其实现的途径也有差异, 常见的再生方式包括器官从头发生(*de novo organogenesis*)和体细胞胚发生(*somatic embryogenesis*) (Ikeuchi等2019)。

器官从头发生在自然界中比较常见, 如老树伤口处发出嫩芽。在实验室, 以模式植物拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)为研究对象, 同样可以实现器

官从头发生。将拟南芥的真叶切下, 放在MS或者B5培养基上, 伤口处能形成不定根(Xu 2018)。另外一个常见的途径是植物组织培养: 将植物外植体放在愈伤组织诱导培养基(*callus induced medium*, CIM)上诱导产生非胚性愈伤组织(*non-embryonic callus*), 然后通过改变生长素和细胞分裂素的比例, 诱导愈伤组织产生不定根或者不定芽(Sugimoto等2019)。

体细胞胚发生必须经历形成胚性愈伤组织(*embryonic callus*)这一过程, 再生成不定根和不定芽, 最终形成完整的植株。例如, 植物悬浮细胞或者原生质体能在合适的条件下形成胚性愈伤组织, 然后生成完整植株(Sugimoto等2019)。

这两类再生过程中都发生了细胞命运的极大转变, 涉及细胞的重编程。由于这一过程中不涉及基因组信息的改变, 因而是典型的表观遗传信息变化的案例, 是研究表观遗传的很好的体系。

2 表观修饰与植物再生

表观遗传信息主要包括组蛋白修饰、DNA甲基化、染色质重塑以及非编码RNA等(Yamamuro等2016), 它们常常与染色质结构改变以及基因表

收稿 2019-08-29 修定 2020-01-16

资助 国家自然科学基金(31800687)、中央高校基本科研业务费专项资金(531118010264)和植物分子遗传国家重点实验室。

[#] 并列第一作者。

^{*} 通讯作者(chongshenghe@outlook.com)。

达变化联系在一起。如今人们常常将组蛋白乙酰化、组蛋白H3第四位赖氨酸三甲基化(H3K4me3)、H3K36me3和染色质的开放区域与基因的活跃转录联系在一起,而DNA甲基化、H3K9me2、H3K27me3以及异染色质区被认为贡献于基因的转录沉默(Henikoff和Shilatifard 2011)。表观修饰的变化与细胞命运的转变密切相关。

2.1 组蛋白修饰与植物再生

组蛋白修饰种类丰富。当前研究发现常见的组蛋白修饰都在一定程度上影响了植物再生过程。

Polycomb蛋白复合体(Polycomb group, PcG)贡献于H3K27me3修饰,介导基因的沉默。Polycomb复合体由POLYCOMB REPRESSIVE COMPLEX 2 (PRC2)和PRC1构成。一般认为PRC2复合体在靶基因座位上加上H3K27me3修饰,而PRC1能识别这一修饰,进一步加上H2AK119ub1修饰,使染色质折叠变得紧密,从而沉默基因表达(丰景和卢江 2018)。PRC2的一个重要功能是在成体植物中沉默胚胎发育相关基因,例如*LEAFY COTYLEDON 2* (*LEC2*)、*BABY BOOM* (*BBM*)以及细胞重编程的因子(如*WIND3*),从而促进细胞的分化。在PRC2突变体中,由于上述基因的异位表达,引起植株上胚胎特征结构出现、细胞异常去分化以及类似愈伤组织的结构出现(Mozgová等2017; Ikeuchi等2015)。在PRC1复合体成员*AtBMI1A*和*AtBMI1B*缺失突变体*Atbmi1a/Atbmi1b*中发现有类似愈伤组织的结构,这是由于维持胚胎和顶端发育的基因异位表达所致(Bratzel等2010)。

在组织培养过程中, H3K27me3修饰经历基因组水平的重编程,这种变化对愈伤组织的形成是十分关键的。PRC2缺失的植物叶片无法正常形成愈伤组织,原因在于PRC2缺失使叶片外植体无法擦除叶片属性,也就无法实现细胞命运的转变(He等2012)。植物再生过程中扮演重要角色的*WUSCHEL RELATED HOMEODOMAIN 11* (*WOX11*)和*WOX12*是H3K27me3的下游基因,再生过程开始的时候就需要将这两个基因座位上的H3K27me3修饰擦除,从而释放这两个基因的表达(Liu等2014)。另一个同属于*WOX*基因家族的因子*WUSCHEL* (*WUS*)的表达也受到H3K27me3的严格调节。*WUS*

是组织培养中诱导茎形成的关键因子,在愈伤组织形成茎的过程中,*WUS*基因座位上的H3K27me3修饰水平降低,这一降低很可能是由于细胞快速增殖而被稀释的(Zhang等2017)。这一假说得到了多项实验证据的证实。首先,在野生型植物中,用细胞分裂素抑制剂处理可以延缓*WUS*的表达;其次,在PRC2突变体中,*WUS*表达能被细胞分裂素快速激活。进一步的研究证据表明, H3K27me3水平的降低使得B类细胞分裂素响应因子家族蛋白*ARABIDOPSIS RESPONSE REGULATORS* (*ARRs*)成员*ARR1*、*ARR2*、*ARR10*和*ARR12*结合到*WUS*的启动子上,激活*WUS*的表达(Zhang等2017)。除了被动稀释,主动去除H3K27me3也是植物再生常常采用的方法。有报道发现植物伤口信号能触发H3K27me3修饰的主动去除,比如H3K27me3的下游基因*PLETHORA 3* (*PLT3*)、*PLT5*、*PLT7*和*ETHYLENE RESPONSE FACTOR 115* (*ERF115*) 在细胞快速分裂之前就上调表达(Rosspopoff等2017)。在愈伤组织培养过程中, *GH3.2*和*INDOLE-3-ACETIC ACID INDUCIBLE 2* (*IAA2*)基因座位上的H3K27me3水平在细胞快速分裂被触发之前就已经有明显的降低(He等2012)。

除了H3K27me3修饰,其他组蛋白修饰也被发现与植物再生有密切联系。

以模式植物拟南芥为例,用曲古菌素A (trichostatin A, TSA)来抑制组蛋白去乙酰化酶活性能在叶片上诱导产生类似胚胎的结构,而组蛋白去乙酰化酶基因*HISTONE DEACETYLASE 6* (*HDA6*)和*HDA19*缺失的双突变体*hda6/hda19*也有相似的表型出现(Tanaka等2008)。组蛋白乙酰转移酶*HISTONE ACETYLTRANSFERASE OF THE GNAT FAMILY 1* (*HAG1*)/*GENERAL CONTROL NON-DEREPRESSIBLE 5* (*GCN5*)能直接激活根发育因子*WUSCHEL RELATED HOMEODOMAIN 5* (*WOX5*)、*SCARECROW* (*SCR*)、*PLT1*和*PLT2*的表达。*hag1*突变体虽然能在CIM上正常形成愈伤组织,但是移到茎诱导培养基(shoot induced medium, SIM)上后,其茎再生能力表现出明显缺陷。这一缺陷是由于*HAG1*缺失使得根发育因子无法在愈伤组织诱导阶段正常被激活,从而影响了愈伤组织的茎再生

潜能(Kim等2018)。过量表达*WOX5*和*SCR*能回复*hag1*的这一缺陷,说明*HAG1*通过组蛋白乙酰化贡献于*WOX5*等基因的激活对茎再生十分重要。另外,*WUS*的表达也受到组蛋白乙酰化的调节,在茎诱导过程早期,*WUS*基因座位上的H3K9Ac修饰明显升高,进一步表明乙酰化在茎再生过程中起着重要作用(Li等2011)。

一项对早期创伤反应的研究发现,创伤反应开启后,环境信号和自身发育状态在转换器细胞中被感应。在伤口产生前,生长素合成通路重要基因*ANTHRANILATE SYNTHASE ALPHA SUBUNIT 1* (*ASA1*)处于“待命”状态。伤口产生10 min后,叶片快速积累茉莉素,并在受伤2 h内激活“茉莉素-ERF109-ASA1”分子通路。*ASA1*基因座位上被SET DOMAIN GROUP 8 (SDG8)加上H3K36me3修饰,使*ASA1*快速激活,促进生长素产生,进而高浓度的生长素通过激活*WOX11*和*WOX12*上调*LATERAL ORGAN BOUNDARIES-DOMAIN 16* (*LBD16*),使伤口处细胞转变为根创始细胞(Zhang等2019)。另一项研究表明,表观修饰因子ATXR2被AUXIN RESPONSE FACTOR 7 (ARF7)和ARF9招募到*LBD16*和*LBD29*启动子上,并通过提高H3K36me3修饰水平激活*LBD*基因的表达,促进细胞去分化和愈伤组织形成(Lee等2017)。

JUMONJI 30 (JM30)是组蛋白去甲基化酶,有报道发现在组织培养过程中, JM30能去除*LBD16*和*LBD29*基因座位上的H3K9me3修饰,促进愈伤组织的生长(Lee等2018)。这说明H3K9me3修饰也参与了植株再生的调节。

2.2 DNA甲基化与植物再生

DNA甲基化主要发生在胞嘧啶和鸟嘌呤上,目前研究较多的是胞嘧啶第五位的甲基化修饰(5mC)。

5mC可以分为两步:从头甲基化和维持甲基化,在模式植物拟南芥中从头甲基化主要由DOMAINS REARRANGED METHYLTRANSFERASE 2 (DRM2)来实现;而维持甲基化通常是由METHYLTRANSFERASE 1 (MET1)、CHROMOMETHYLASE 3 (CMT3)以及DRM2来实现(Law和Jacobsen 2010)。已有的研究发现异染色质区DNA高度甲基化,主

要富集在转座子元件和其他类型的DNA重复序列上。DNA甲基化对细胞状态的维持非常重要,DNA甲基化缺失会导致转座子(transposon element, TE)的活化,许多低拷贝逆转录转座子均可被激活。转座子活化后发生转座,引起一系列基因结构的变化(Zilberman等2007)。

在体细胞胚发生过程中,5mC的变化还存在争议。有报道发现在这一过程中,5mC水平下降,从而使染色质结构变得松散,有利于体细胞胚发生的关键因子的表达(Solis等2015)。但是,另外一些报道发现5mC水平升高或者不发生变化(Fraga等2012; Parra等2001)。这些结果的差异可能是由于培养条件及检测手段的不同导致的。而在从头再生过程中,人们发现在一些基因座位上发生5mC超甲基化现象,帮助愈伤组织形成和维持细胞的脱分化状态(Berdasco等2008)。

DNA甲基化与植物再生研究的遗传证据主要来自拟南芥。与野生型相比,5mC甲基转移酶*DRM1*和*DRM2*缺失突变体(*dd/ddc*)形成体细胞胚能力更强。而用5-氮杂胞嘧啶核苷(5-azacytidine, 5-azac)抑制5mC甲基转移酶活性使体细胞胚形成受阻(Grzybkowska等2018)。这两者似乎形成了相悖的现象,其原因可能是由于5mC甲基化在体细胞胚发生的不同阶段功能不同。在起始阶段,DNA甲基化需要被抑制,使体细胞胚发生的关键因子*LEC1*、*LEC2*、*BBM*和*CUP SHAPED COTYLEDON 1* (*CUC1*)表达出来(宋玉光等2016);而到了成熟阶段,5mC的从头甲基化又是必不可少的。来自欧洲油菜(*Brassica napus*)和大麦(*Hordeum vulgare*)中的研究支持这一假说,研究发现短时间抑制5mC甲基转移酶活性有助于体细胞胚发生,而长时间抑制处理会降低体细胞胚发生的能力(Solis等2015)。

在器官从头发生的过程中,人们发现茎再生的关键因子*WUS*的表达受到5mC甲基化修饰的调节。在茎诱导过程中,*MET1*的表达受到E2Fa依赖的细胞分裂的调节。在CIM上,*MET1*抑制*WUS*的表达,也抑制了茎的再生。当愈伤组织被移到SIM上,*MET1*的表达被局限在愈伤组织的最外层,从而解除了对*WUS*的抑制,*WUS*的表达使茎得以顺利

再生(Liu等2018)。遗传证据很好地支持了这一发现,与野生型相比,*met1*突变体的茎再生能力有很大提高(Li等2011),而*drm1/drm2/cmt3*三突变体能跳过CIM培养,直接将外植体放置在SIM上诱导茎再生(Shemer等2015)。这些证据都表明5mC甲基化对茎再生起着负调控作用。

除了拟南芥,水稻中的发现也表明DNA甲基化与再生关系密切。与正常植株相比,水稻再生苗的5mC甲基化水平较低,并且在几代之内保持稳定,而愈伤组织中5mC甲基化水平更低。水稻中5mC甲基化位点与拟南芥具有很大的不同,主要发生在启动子的CHH序列上,当去除CHH甲基化时植株再生能力降低(Stroud等2013)。

最近在多个物种中发现了鸟嘌呤第六位的甲基化修饰(6mA) (Luo等2015),引起了人们的极大兴趣,拟南芥中也被报道有6mA的存在(Liang等2018),但是6mA与植物再生之间的关系还有待人们去探索。

2.3 染色质重塑与植物再生

染色质重塑因子由IMITATION SWITCH (ISWI)、CHROMODOMAIN HELICASE DNA-BINDING (CHD)、SWITCH/SUCROSE NON-FERMENTABLE (SWI/SNF)和INO80四个家族组成。这些因子利用水解ATP的能量来改变核小体的相对排布和组蛋白八聚体的组成(Shen和Xu 2009)。

已有的报道发现属于SWI/SNF家族的*SPL-AYED (SYD)*对茎顶端分生组织(shoot apical meristem, SAM)的维持十分重要。SYD能直接结合到*WUS*基因的启动子上,促进*WUS*的表达。而另一属于CHD家族的蛋白PICKLE (PKL)通过拮抗Polycomb复合体的功能来维持*WOX5*的表达,从而维持根顶端分生组织(root apical meristem, RAM)的活性(Han等2015)。这些证据表明染色质重塑因子对维持干细胞属性具有十分重要的作用,暗示这些因子也参与了对植物再生过程的调节。

2.4 非编码RNA与植物再生

非编码RNA (non-coding RNA, ncRNA)是RNA的重要组成部分,其功能多样,在生物体内起着重要的调控作用。小RNA (small RNA, sRNA)是ncRNA的一类,其中一类称为microRNA (miRNA)

的sRNA是植物生长发育的重要调控因子(Bartel 2009)。

年龄是植物再生过程的重要影响因素,老的器官再生能力明显弱于幼嫩的器官。在miRNA中,miR156能控制植物从幼年到成年的转变,而最近的研究发现miR156能够调节拟南芥根从头再生过程,植物的再生能力与miR156的表达水平正相关。这一调控过程是通过直接靶向*SPL*基因家族,在转录后水平调节*SPL*基因来实现的。*spl*突变体根从头再生能力明显增强,这与miR156过量表达植株表型一致(Ye等2019)。

另外一项研究发现miR393也参与了植物再生过程。过量表达miR393会显著降低茎再生频率,而敲低miRNA393显著增强茎再生。进一步研究发现miR393直接靶向*TRANSPORT INHIBITOR RESPONSE 1 (TIR1)*,抑制生长素的响应,进而抑制*WUS*和*CLAVATA3 (CLV3)*的表达,从而对茎顶端原基的形成起负调控作用(Wang等2018b)。

以上结果表明miRNA调控了植物再生过程,而是否有更多的ncRNA参与其中还有待进一步的研究。

2.5 RNA修饰与植物再生

RNA修饰是表观修饰研究领域的新成员。从RNA腺嘌呤第六位甲基化(m6A)修饰被重新发现以来(Meyer等2012),对RNA修饰的研究一直是人们关注的焦点。

目前还没有关于RNA修饰参与植物再生的报道,但是在动物中已经有关于RNA修饰和再生的证据。一项对中枢神经系统创伤修复的研究发现,m6A修饰能影响轴突的再生(Weng等2018)。另外,m6A修饰也被发现参与造血干细胞的再生调节(Wang等2018a)。RNA修饰是否参与植物再生、如何参与还是一片未知的领域,需要人们去探索。

3 总结与展望

植物受伤后主要通过胚性愈伤组织和非胚性愈伤组织再生方式产生新的组织和器官,一系列转录因子和表观遗传修饰共同调控这一过程。表观遗传修饰在愈伤组织形成的早期阶段主要通过调控关键转录因子的表达来参与细胞命运转变。

各种信号途径如何通过表观遗传修饰进行协调, 从而形成有序的再生过程是人们想要回答的关键问题。表观修饰之间存在相互影响, 在植物再生过程中各种修饰或协同或拮抗, 保证了再生的顺利进行。H3K27me3和H3Ac在胚性愈伤组织及非胚性愈伤组织的再生途径中广泛存在, 其中H3K27me3通过抑制*WIND3*、*WOX11*、*PLT1*、*PLT2*、*PLT5*、*WOX5*、*LEC1*和*LEC2*等基因表达水平维持分化状态。而H3Ac功能较为复杂, 一方面与H3K27me3相拮抗, 激活根发育关键基因*PLT1*和*PLT2*; 另一方面, 与H3K27me3协同作用, 抑制胚

胎发生的关键因子*LEC1*和*LEC2*, 维持愈伤组织的分化能力。H3K36me3目前只发现存在于*LBD16*和*LBD29*上, 促进外植体的去分化。H3K9me3修饰与H3K36me3拮抗, 抑制*LBD16*和*LBD29*的激活。在茎从头再生过程中, *WUS*基因座位上发生剧烈的表观修饰变化, 5mC、H3K27me3和H3K9me2水平降低, H3K4me3和H3K9ac水平升高。这些变化表明了各修饰对关键基因的精细调节。另外, miR393间接抑制*WUS*的表达, 从而抑制茎从头再生, 这一调节似乎是与其它表观修饰并行的(图1)。

在表观修饰研究中, 上游信号一直是人们关

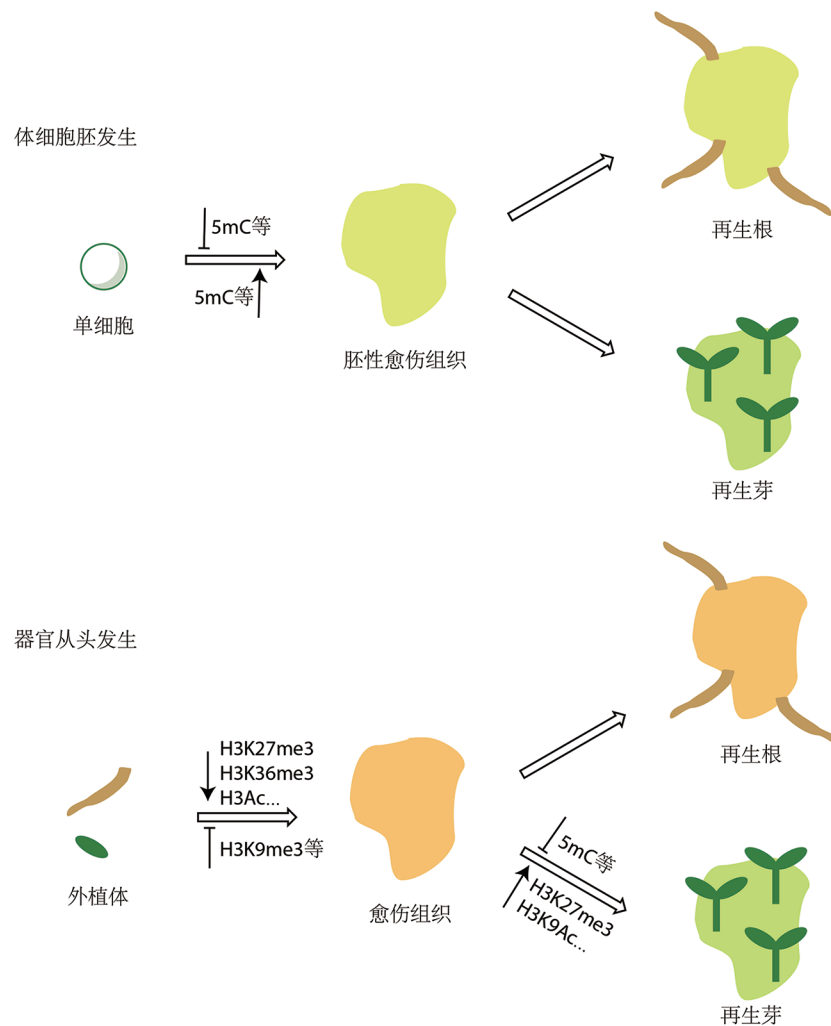


图1 表观修饰对植物再生过程的调节

Fig.1 The regulation of plant regeneration by epigenetic modifications

实心箭头表示表观修饰促进该过程的发生, T型箭头表示表观修饰抑制该过程, 体细胞胚发生和器官从头发生的状态转变由空心箭头来表示。

注的焦点。植物再生过程通过两种植物激素就能实现表观修饰的调节,是一个很好的研究表观修饰的系统。植物激素如何指导表观修饰的重编程这一问题的研究有助于回答表观修饰领域的重要问题,即表观修饰是如何受到上游信号调节、选择下游靶基因的。表观修饰的成员还在不断增加,新的修饰如6mA、RNA修饰是否参与及如何参与植物再生过程,是植物再生领域非常有趣尚未解答的问题。

很多重要的农作物都不能或者很难再生,这极大限制了科学研究和农业生产。在发现了一批植物再生过程中的关键表观因子之后,我们可以开始对植物的再生能力进行人工干预。已经有科学家通过化学药剂阻断的方法来改变表观修饰,从而增强植物的再生能力(Li等2014)。而近些年来,CRISPR-Cas9技术的运用使得通过遗传操作来改变表观修饰状态成为了可能(舒攀等2019)。通过CRISPR-Cas9一方面可以实现基因组范围的表观修饰改变,进而改变植物再生能力;另一方面也可以精确调节特定基因座位上的表观修饰,从而调控该基因的表达,实现对植物的再生能力精准、可逆的调节。

参考文献(References)

- Bartel DP (2009). MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *Cell*, 136: 215–233
- Berdasco M, Alcázar R, García-Ortiz MV, et al (2008). Promoter DNA hypermethylation and gene repression in undifferentiated *Arabidopsis* cells. *PLOS One*, 3 (10): e3306
- Bratzel F, López-Torrejón G, Koch M, et al (2010). Keeping cell identity in *Arabidopsis* requires PRC1 RING-finger homologs that catalyze H2A monoubiquitination. *Curr Biol*, 20: 1853–1859
- Feng J, Lu J (2018). Advances in PRC1 protein functions in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol J*, 54: 702–708 (in Chinese with English abstract) [丰景, 卢江(2019). 拟南芥PRC1蛋白功能研究进展. *植物生理学报*, 54: 702–708]
- Fraga HPF, Vieira LN, Caprestano CA, et al (2012). 5-Azacytidine combined with 2,4-D improves somatic embryogenesis of *Acca sellowiana* (O. Berg) burret by means of changes in global DNA methylation levels. *Plant Cell Rep*, 31: 2165–2176
- Grzybkowska D, Morończyk J, Wójcikowska B, et al (2018). Azacitidine (5-AzaC)-treatment and mutations in DNA methylase genes affect embryogenic response and expression of the genes that are involved in somatic embryogenesis in *Arabidopsis*. *Plant Growth Regul*, 85: 243–256
- Han SK, Wu MF, Cui S, et al (2015). Roles and activities of chromatin remodeling ATPases in plants. *Plant J*, 83: 62–77
- He C, Chen X, Huang H, et al (2012). Reprogramming of H3K27me3 is critical for acquisition of pluripotency from cultured *Arabidopsis* tissues. *PLOS Genet*, 8 (8): e1002911
- Henikoff S, Shilatifard A (2011). Histone modification: cause or cog? *Trends Genet*, 27: 389–396
- Ikeuchi M, Favero DS, Sakamoto Y, et al (2019). Molecular mechanisms of plant regeneration. *Annu Rev Plant Biol*, 70: 377–406
- Ikeuchi M, Iwase A, Rymen B, et al (2015). PRC2 represses dedifferentiation of mature somatic cells in *Arabidopsis*. *Nat Plants*, 1: 15089
- Kim JY, Yang W, Forner J, et al (2018). Epigenetic reprogramming by histone acetyltransferase HAG1/AtGCN5 is required for pluripotency acquisition in *Arabidopsis*. *EMBO J*, 37: E98726
- Laugesen A, Højfeldt JW, Helin K (2019). Molecular mechanisms directing PRC2 recruitment and H3K27 methylation. *Mol Cell*, 74: 8–18
- Law JA, Jacobsen SE (2010). Establishing, maintaining and modifying DNA methylation patterns in plants and animals. *Nat Rev Genet*, 11: 204–220
- Lee K, Park OS, Seo PJ (2017). *Arabidopsis* ATXR2 deposits H3K36me3 at the promoters of *LBD* genes to facilitate cellular dedifferentiation. *Sci Signal*, 10: eaan0316
- Lee K, Park OS, Seo PJ (2018). JMJ30-mediated demethylation of H3K9me3 drives tissue identity changes to promote callus formation in *Arabidopsis*. *Plant J*, 95: 961–975
- Li H, Soriano M, Cordewener J, et al (2014). The histone deacetylase inhibitor trichostatin a promotes totipotency in the male gametophyte. *Plant Cell*, 26: 195–209
- Li W, Liu H, Cheng ZJ, et al (2011). DNA methylation and histone modifications regulate *de novo* shoot regeneration in *Arabidopsis* by modulating *WUSCHEL* expression and auxin signaling. *PLOS Genet*, 7 (8): e1002243
- Liang Z, Shen L, Cui X, et al (2018). DNA N⁶-adenine methylation in *Arabidopsis thaliana*. *Dev Cell*, 45: 406–416
- Liu H, Zhang H, Dong YX, et al (2018). *DNA METHYLTRANSFERASE1*-mediated shoot regeneration is regulated by cytokinin-induced cell cycle in *Arabidopsis*. *New Phytol*, 217: 219–232

- Liu J, Sheng L, Xu Y, et al (2014). *WOX11* and *12* are involved in the first-step cell fate transition during *de novo* root organogenesis in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 26: 1081–1093
- Luo GZ, Blanco MA, Greer EL, et al (2015). DNA *N*⁶-methyladenine: a new epigenetic mark in eukaryotes? *Nat Rev Mol Cell Biol*, 16: 705–710
- Meyer KD, Saletore Y, Zumbo P, et al (2012). Comprehensive analysis of mRNA methylation reveals enrichment in 3' UTRs and near stop codons. *Cell*, 149: 1635–1646
- Mozgová I, Muñoz-Viana R, Hennig L (2017). PRC2 represses hormone-induced somatic embryogenesis in vegetative tissue of *Arabidopsis thaliana*. *PLOS Genet*, 13 (1): e1006562
- Parra R, Pastor MT, Pérez-Payá E, et al (2001). Effect of *in vitro* shoot multiplication and somatic embryogenesis on 5-methylcytosine content in DNA of *Myrtus communis* L. *Plant Growth Regul*, 33: 131–136
- Rival A, Ilbert P, Labeyrie A, et al (2013). Variations in genomic DNA methylation during the long-term *in vitro* proliferation of oil palm embryogenic suspension cultures. *Plant Cell Rep*, 32: 359–368
- Rosspopoff O, Chelysheva L, Saffar J, et al (2017). Direct conversion of root primordium into shoot meristem relies on timing of stem cell niche development. *Development*, 144: 1187–1200
- Shemer O, Landau U, Candela H, et al (2015). Competency for shoot regeneration from *Arabidopsis* root explants is regulated by DNA methylation. *Plant Sci*, 238: 251–261
- Shen WH, Xu L (2009). Chromatin remodeling in stem cell maintenance in *Arabidopsis thaliana*. *Mol Plant*, 2: 600–609
- Shu P, Cui XX, Li FJ, et al (2019). Application of CRISPR/Cas9 gene editing technology in fruit and vegetable crops. *Plant Physiol J*, 55: 107–116 (in Chinese with English abstract) [舒攀, 崔席席, 李富军等(2019). CRISPR/Cas9基因编辑技术在果蔬作物中的应用. *植物生理学报*, 55: 107–116]
- Solis MT, El-Tantawy AA, Cano V, et al (2015). 5-azacytidine promotes microspore embryogenesis initiation by decreasing global DNA methylation, but prevents subsequent embryo development in rapeseed and barley. *Front Plant Sci*, 6: 472
- Song YG, Ma ZQ, Qiu NW, et al (2016). DNA methylation modification status of *CUC1* during *in vitro* organogenesis in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol J*, 52: 926–932 (in Chinese with English abstract) [宋玉光, 马宗琪, 邱念伟等(2016). 拟南芥离体器官再生过程中*CUC1*的DNA甲基化修饰状态分析. *植物生理学报*, 52: 926–932]
- Stroud H, Ding B, Simon SA, et al (2013). Plants regenerated from tissue culture contain stable epigenome changes in rice. *eLife*, 2: e00354
- Sugimoto K, Temman H, Kadokura S, et al (2019). To regenerate or not to regenerate: factors that drive plant regeneration. *Curr Opin Plant Biol*, 47: 138–150
- Tanaka M, Kikuchi A, Kamada H (2008). The *Arabidopsis* histone deacetylases HDA6 and HDA19 contribute to the repression of embryonic properties after germination. *Plant Physiol*, 146: 149–161
- Wang H, Zuo H, Liu J, et al (2018a). Loss of YTHDF2-mediated m⁶A-dependent mRNA clearance facilitates hematopoietic stem cell regeneration. *Cell Res*, 28: 1035–1038
- Wang L, Liu Z, Qiao M, et al (2018b). miR393 inhibits *in vitro* shoot regeneration in *Arabidopsis thaliana* via repressing *TIR1*. *Plant Sci*, 266: 1–8
- Weng YL, Wang X, An R, et al (2018). Epitranscriptomic m⁶A regulation of axon regeneration in the adult mammalian nervous system. *Neuron*, 97: 313–325
- Xu L (2018). *De novo* root regeneration from leaf explants: wounding, auxin, and cell fate transition. *Curr Opin Plant Biol*, 41: 39–45
- Yamamuro C, Zhu JK, Yang Z (2016). Epigenetic modifications and plant hormone action. *Mol Plant*, 9: 57–70
- Ye BB, Shang GD, Pan Y, et al (2019). AP2/ERF transcription factors integrate age and wound signals for root regeneration. *Plant Cell*, 32: 226–241
- Zhang G, Zhao F, Chen L, et al (2019). Jasmonate-mediated wound signalling promotes plant regeneration. *Nat Plants*, 5: 491–497
- Zhang TQ, Lian H, Zhou CM, et al (2017). A two-step model for *de novo* activation of *WUSCHEL* during plant shoot regeneration. *Plant Cell*, 29: 1073–1087
- Zilberman D, Gehring M, Tran RK, et al (2007). Genome-wide analysis of *Arabidopsis thaliana* DNA methylation uncovers an interdependence between methylation and transcription. *Nat Genet*, 39: 61–69

Research progress of epigenetic modification in plant regeneration

ZHANG Teng[#], XIE Chong[#], HE Chongsheng^{*}

Hunan Key Laboratory of Plant Functional Genomics and Developmental Regulation, College of Biology, Hunan University, Changsha 410082, China

Abstract: Research of plant regeneration helps people to improve agriculture technique and regeneration efficiency of crops. Epigenetic regulation, which plays an important role in plant development, is usually accompanied with cell fate transition. Plant regeneration is a process of cell fate transition which makes it to be a good model to study epigenetic regulation. The importance of epigenetic regulation in plant regeneration has been proven by more and more evidence. Epigenetic modification becomes a new player in the plant regeneration field. Here, we review recent findings about epigenetic regulation in plant regeneration and discuss the crosstalk of epigenetic modifications in this process.

Key words: plant regeneration; callus; *de novo* organogenesis; somatic embryogenesis; DNA methylation; histone modification

Received 2019-08-29 Accepted 2020-01-16

This work was supported by National Natural Science Foundation of China (31800687), the Fundamental Research Funds for the Central Universities of China (531118010264), and National Key Laboratory of Plant Molecular Genetics.

[#]Co-first authors.

^{*}Corresponding author (chongshenghe@outlook.com).