

· 专题论坛 ·

被子植物花朵重瓣化分子调控机制

陈雯[†], 周颖盈[†], 罗平, 崔永一

浙江农林大学园艺科学学院, 农业农村部亚热带果品蔬菜质量安全控制重点实验室,
浙江省山区农业高效绿色生产协同创新中心, 杭州 311300

摘要 重瓣花表现为花瓣数目增加、花瓣褶皱或面积增大, 具有较高的观赏价值和经济价值。该文针对重瓣性状中花瓣或花瓣类似器官数目增多的特点, 综述了模式植物和观赏植物中重瓣花形成的分子机理, 包括参与花瓣数量调控的重要转录因子, 以及miRNAs、DNA甲基化、组蛋白修饰和染色质重塑等表观遗传调控方式, 并在此基础上展望未来的研究方向。

关键词 重瓣, 表观遗传调控, 花器官发育, MADS-box, 转录因子

陈雯, 周颖盈, 罗平, 崔永一 (2024). 被子植物花朵重瓣化分子调控机制. 植物学报 59, 257–277.

观赏植物的重瓣花具有很高的观赏价值, 其表现为花瓣或类似瓣化器官数目增加, 花瓣褶皱和面积增大, 以及在花中产生额外的小花等。目前普遍认为自然界中重瓣花的起源方式包括6种, 即积累起源、苞片起源、雌雄蕊起源、台阁起源、重复起源和花序起源(赵印泉和刘青林, 2009)。关于重瓣花形成的分子机制, 已有研究主要集中于花器官发育ABCDE模型及参与该模型的MADS-box基因家族(Theissen and Saedler, 2001; Krizek and Fletcher, 2005; Thomson and Wellmer, 2019)。近年来, 随着高通量测序和基因功能验证等的发展, 人们对花发育的分子调节机制进行了更广泛深入的研究, 研究对象亦从拟南芥(*Arabidopsis thaliana*) (Thomson and Wellmer, 2019)、金鱼草(*Antirrhinum majus*) (Cartolano et al., 2007; 李巍和徐启江, 2014)、矮牵牛(*Petunia hybrida*) (Noor et al., 2014)和水稻(*Oryza sativa*) (Sun and Zhou, 2008)等模式植物扩展到月季(*Rosa chinensis*/R. *hybrida*) (Li et al., 2022)、菊花(*Dendranthema morifolium*) (Wen et al., 2019)、山茶(*Camellia japonica*) (Li et al., 2017)、紫薇(*Lagerstroemia indica*) (Hu et al., 2019)、海棠(*Malus spectabilis*) (Gul et al., 2019)、莲(*Nelumbo nucifera*) (林钟员, 2019)和兰科(Orchidaceae) (Pan et al., 2011)等各类著名观

赏植物。

花型调控被认为是由多基因共同控制的复杂过程。在ABCDE模型中, 除了D类功能基因较少参与花型形成, A、B、C和E类功能基因在萼片、花瓣、雄蕊和雌蕊的身份决定及花瓣数量调控中均发挥重要作用。同时, 越来越多的研究开始关注其它关键因子的调节作用, 包括边界基因、干细胞决定基因和对称性基因等。此外, miRNAs、DNA甲基化、组蛋白修饰及染色质重塑等表观遗传调控也被证明广泛参与花朵的重瓣化进程。这些关键转录因子和表观遗传调控也成为植物激素等内部调节因子及以温度为主的外界环境因子影响植物花器官形态建成的桥梁, 进而共同调节花朵重瓣性状的形成。

1 花器官决定与花发育模型

1.1 ABCDE模型及其它衍生模型

花发育ABC模型自1991年提出以来被广泛采用并沿用至今, 其阐述了A、B、C三类不同功能的同源异形基因通过特定组合参与花器官形成的调节模式(Coen and Meyerowitz, 1991) (图1A)。ABC模型主要以拟南芥和金鱼草等模式植物为代表, 同时也被证明是月

收稿日期: 2023-07-22; 接受日期: 2023-11-14

基金项目: 国家重点研发计划(No.2018YFD1000400)和国家自然科学基金(No.32072612)

[†] 共同第一作者

* 通讯作者。E-mail: askcw2005@zafu.edu.cn

季重瓣品种选育的理论基础(Dubois et al., 2010)。随着研究的不断深入, ABC模型逐步发展到较完善的ABCDE模型(图1C)。其在ABC模型的基础上增加了D类和E类功能基因, 共同调控花器官的发育进程(Theißen and Saedler, 2001; Krizek and Fletcher, 2005; Thomson and Wellmer, 2019)。

在ABCDE模型中, A类功能基因包括*AP1* (*APETALA1*)、*AP2*和*FUL* (*FRUITFULL*), B类功能基因包括*AP3*、*PI* (*PISTILLATA*)和*DEF/GLO* (*GLOBOSA*), C类功能基因包括*AG* (*AGAMOUS*), D类功能基因包括*STK* (*SEEDSTICK*)、*SHP1* (*SHATTERPROOF1*)、*SHP2*、*FBP7* (*FLORAL BINDING PROTEIN 7*)和*FBP11*, E类功能基因包括*SEP1* (*SEPALATA1*)、*SEP2*、*SEP3*和*SEP4*等(孙迎坤等, 2013; Salamah et al., 2018)。如图1C所示, 在该模型中, A类功能基因可单独调控萼片发育, A类和B类功能基因共同调控花瓣发育, B类和C类功能基因共同调控雄蕊发育, C类功能基因也可单独调控心皮发育, D类功能基因调控胚珠的形成和发育, E类功能基因决定花分生组织的形成以及调控所有4轮器官的发育。同时, A类和C类功能基因相互拮抗, 即A类功能基因能够抑制C类功能基因在1、2轮花器官的表达, 反之C类功能基因也能抑制A类功能基因在3、4轮花

器官的表达; 而两类功能基因中任一类基因的失活则导致另一类基因的延伸表达, 从而出现花器官异位生长的现象。此外, A、B、C、D四类功能基因需要与E类功能基因在蛋白水平上相互作用形成四聚体复合物, 才能顺利参与花器官身份决定, 因此该模型也被称为四聚体模型(图1C) (Bowman et al., 1991; Theißen, 2001; Theißen and Saedler, 2001; Salamah et al., 2018)。近年来的研究发现, 该复合物可识别并结合2个CArG顺式作用元件, 形成DNA环, 进而调控下游靶基因的表达(Thomson et al., 2017; 景丹龙等, 2018)。也有学者认为该复合物可能是启动靶基因的先锋, 其结合染色质后可招募表观遗传修饰因子对染色质的构象进行调节, 以促进或抑制转录调节因子与DNA的结合, 从而实现对靶基因的转录调控(Pajoro et al., 2014; Zaret and Mango, 2016; Thomson et al., 2017)。

ABC模型提出以后, 在一些植物中发现了花发育功能基因的表达模式与ABC模型不一致的情况。以单子叶分支郁金香属(*Tulipa*)的花朵为例, 其第1、2轮花器官形态类似且均为花瓣状, 表达检测发现在这两轮花器官中均可检测到A类和B类基因的表达, 即它们都具有相同的“花瓣”身份(van Tunen et al., 1993; Kanno et al., 2003)。为此, van Tunen等(1993)

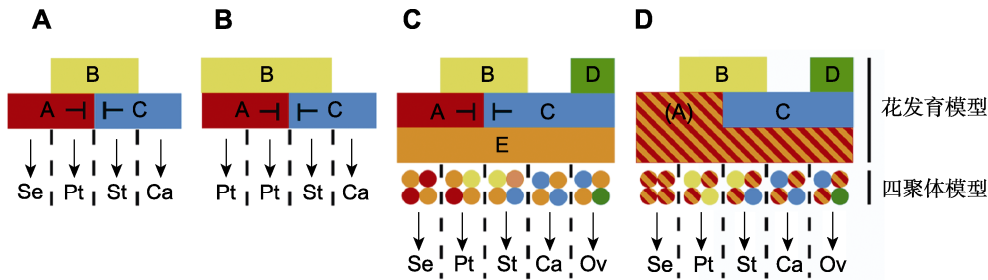


图1 被子植物花发育模型(参考Soltis et al., 2007; Thomson and Wellmer, 2019)
(A) 经典的ABC模型(以拟南芥、金鱼草和月季等植物为代表); (B) 改进的ABC模型(以郁金香属、百合属、毛茛属和耬斗菜属植物为代表); (C) ABCDE模型(以拟南芥和金鱼草等模式植物为代表); (D) (A)BCD模型(以非洲菊和水稻等植物为代表, (A)表示A类和E类基因整合为1个类别)。箭头表示不同类别功能基因对特定花器官的调控作用; T型线代表抑制作用。Se: 萼片; Pt: 花瓣; St: 雄蕊; Ca: 心皮; Ov: 胚珠

Figure 1 Flower development models of Angiosperm (refer to Soltis et al., 2007; Thomson and Wellmer, 2019)
(A) Classic ABC model (represented by plants such as *Arabidopsis thaliana*, snapdragon and rose); (B) Modified ABC model (represented by plants of *Tulipa*, *Lilium*, *Ranunculus* and *Aquilegia*); (C) ABCDE model (represented by model plants such as *Arabidopsis thaliana* and snapdragon); (D) (A)BCD model (represented by plants such as gerbera and rice, the defined (A) combines A and E function genes). Arrows represent the regulation of functional genes on specific floral organs; T-shaped lines represent repression. Se: Sepals; Pt: Petals; St: Stamens; Ca: Carpels; Ov: Ovules

提出了改进的ABC模型(modified ABC model) (图1B)。在该模型中, B类功能基因的表达区域延伸至第1轮花器官的位置。随后, Bowman (1997)提出的移动边界(shifting border)模型和Kramer等(2003)提出的滑动边界(sliding boundary)模型均与此类似, 即B类功能基因的边界能够向内或向外跨区域移动。这些模型阐明了一些植物中形态类似且为花瓣状的内层或外层花器官是由于B类功能基因的表达区域变化造成。目前, 已报道花发育规律符合这类模型的植物包括单子叶分支百合属(*Lilium*)以及基部真双子叶分支毛茛属(*Ranunculus*)和耬斗菜属(*Aquilegia*) (Soltis et al., 2007)。

同时, ABC模型中的A类功能基因也存在较多争议。包括金鱼草属(*Antirrhinum*)在内的大多数被子植物中并未发现类似拟南芥A类功能基因的突变体, 且即使在拟南芥中, 也能发现A类功能基因同时具有决定第1、2轮花器官身份以及参与花分生组织发育的双重功能(Wellmer et al., 2014; Theissen et al., 2016)。因此, Causier等(2010)提出将A类和E类功能基因合并为(A)类功能基因, 组成(ABC)D模型(图1D)。(A)类功能基因的作用包括决定花分生组织的形成, 激活B类和C类功能基因并调控其在花分生组织特异区域的时空表达。该模型已在菊科模式植物非洲菊(*Gerbera hybrida*)以及水稻等禾本科植物中得到证实(Wu et al., 2017; Zhang et al., 2017)。

ABCDE模型及ABC模型衍生出来的其它花发育模型对于被子植物重瓣花形成机制的解析具有重要意义。模型中的很多花器官决定基因在花朵重瓣化进程中发挥重要作用。其中部分关键基因的异位表达或外延表达均可导致第1、3、4轮花器官出现瓣化现象而形成重瓣花; 在不同植物中通过敲除或过表达一些关键基因也可观察到重瓣花表型(Huang and Irish, 2016; Thomson et al., 2017)。许多花器官决定基因亦可响应植物激素和环境信号等影响花器官发育的内外因素, 从而导致花瓣数量改变(Ma et al., 2015; Chen et al., 2021)。此外, 已有研究表明, ABCDE模型可部分解释一些重瓣花起源的方式, 如雌雄蕊起源、苞片起源和花序起源, 其与花器官决定基因的表达量和表达区域密切相关(Fambrini et al., 2014; Ma et al., 2015; Hu et al., 2019; Xia et al., 2020)。

1.2 兰花HOT模型和花被代码

植物花器官具有多样化的形态和复杂的进化历史, ABCDE模型在被子植物中的适用性一直以来都是研究热点(Wu et al., 2017; Martínez-Gómez et al., 2021)。多数学者认为ABCDE模型更适用于核心真双子叶植物。而在基部被子植物、单子叶植物和基部真双子叶植物中, 该模型中相关基因的表达模式则存在较大差异(Zahn et al., 2005; Hileman and Irish, 2009)。以著名单子叶观赏植物兰花为例, B类功能基因AP3-like在兰科植物进化过程中经历了2次基因重复, 共产生4个分支, 即AP3A1、AP3A2、AP3B1和AP3B2 (Pan et al., 2011)。这些基因在花器官决定和花冠发育进程中分别具有不同的表达模式, 且在兰科不同物种中也存在表达特异性。因此, Pan等(2011)提出了适用于兰花的HOT (Homeotic Orchid Tepal)花发育模型(图2A)。兰花HOT模型阐述了花发育阶段中B类(包括4个AP3-like基因和PI基因)、C类、D类功能基因以及其它MADS-box基因在各个花器官中的时空表达特性。在该模型中, 花序发育晚期, PI和AP3Bs共同决定萼片的形成; PI和AP3A1、AP3Bs共同决定侧瓣的形成; 在花芽发育阶段, PI和AP3As基因, 以及AGL6-like和SQUA-like等MADS-box基因共同决定唇瓣的形成。随后, Hsu等(2015)研究了兰花唇瓣和萼片与花瓣之间形态转化的分子调控机制, 提出一种普遍存在于兰科花卉中的花型调控模式, 称为花被代码(perianth code) (图2B)。在该模型中, B类功能基因AP3与E类功能基因AGL6的同源蛋白分别与PI蛋白组成2种不同的异源四聚体, 通过相互竞争形成不同的花器官, 以此决定兰花花被结构。具体而言, 当兰花花瓣中只存在SP (sepal/petal)复合体(OAP3-1/OAGL6-1/OGL6-1/OPI)时形成萼片和花瓣; 相反, 只存在L (lip)复合体(OAP3-2/OAGL6-2/OAGR6-2/OPI)时则形成唇瓣。当花瓣中2种复合体同时存在或同时缺失时, 则会产生介于唇瓣与萼片和花瓣之间的过渡型花瓣结构。HOT模型和花被代码揭示了兰花花器官发育和花被结构的调控机制, 有助于解析兰花两侧对称性花型的产生机理及兰花花型的进化历史。

2 参与重瓣化进程的关键转录因子

近20多年来的研究发现, 多种转录因子在植物花器

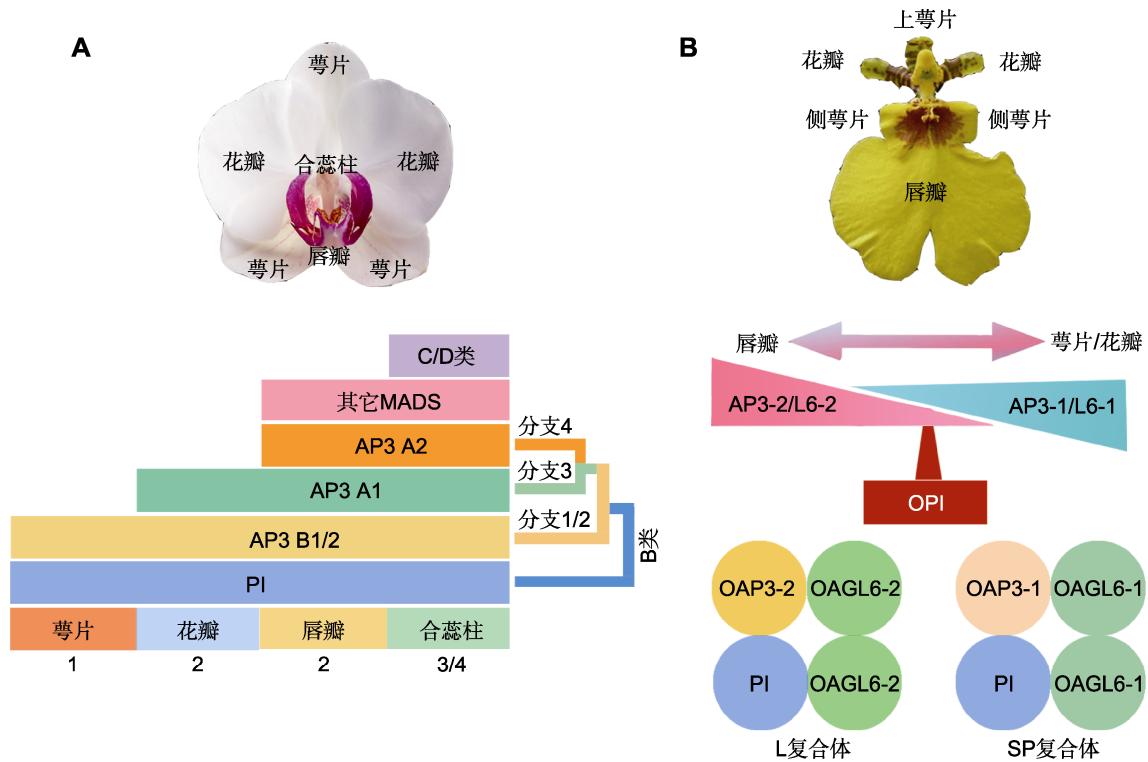


图2 兰花花发育HOTA模型和花被代码(参考Hsu et al., 2015; Zhang et al., 2022)
(A) 兰花花发育HOTA模型(在花序发育晚期和花芽发育时期, B类功能基因PI和AP3四个分支共同决定兰花花器官的形成。花序发育晚期, PI和AP3Bs共同决定萼片的形成; PI、AP3A1和AP3Bs共同决定侧瓣的形成; 花芽发育阶段, PI、AP3As基因以及其它MADS-box基因共同决定唇瓣的形成); (B) 兰花花被代码(在萼片、花瓣和唇瓣中, PI分别与不同的AP3-like或AGL-like蛋白相互作用形成L (OAP3-2/OAGL6-2/OAGR6-2/OPI)或SP (OAP3-1/OAGL6-1/OGL6-1/OPI)复合体。当L复合体单独产生时则形成唇瓣, 当SP复合体单独产生时则形成萼片和花瓣; 两者兼有或缺失时, 则产生形态介于萼片、花瓣及唇瓣的过渡型花器官)。数字1, 2, 3/4代表花器官轮数。

Figure 2 HOTA model and perianth code for flower development of orchids (refer to Hsu et al., 2015; Zhang et al., 2022)
(A) HOTA model for flower development of orchids (PI and four clades of AP3 of B-class genes specify the orchid perianth formation at the late inflorescence and floral bud stages. At the late inflorescence stage, PI and AP3Bs determine the formation of sepals. PI and both AP3A1 and AP3Bs control the lateral petal formation; at the floral bud stage, PI, AP3As and other MADS-box genes control the lip morphogenesis); (B) Perianth code of orchids (in the sepal, petal and lip, PI interacts with different AP3-like and AGL-like proteins to form L complex (OAP3-2/OAGL6-2/OAGR6-2/OPI) or SP complex (OAP3-1/OAGL6-1/OGL6-1/OPI). The presence of L complex results in lip formation, and the presence of SP complex results in sepal/petal formation; the coexistence or co-absence of the SP and L complexes produces sepal/petal and lip intermediate structures). Numbers 1, 2, 3/4 represent flower whorls.

官发育和花朵重瓣化进程中发挥重要作用, 包括MADS-box基因, 边界基因PTL (PETAL LOSS)、HAN (HAN-ABA TARANU)、CUC (CUP-SHAPED COTYLEDON)、SUP (SUPERMAN)和RBE (RABBIT EARS), 干细胞活性调控基因WUS (WUSCHEL), 以及对称性基因CYC (CYCLOIDEA)等(表1)。

2.1 MADS-box基因

MADS-box类转录因子广泛存在于动植物中, 因其氨

基酸的N端序列具有高度保守的MADS-box结构域而得名。根据基因结构和系统进化关系, 植物MADS-box转录因子可分为Type-I型(SRF-like型)和Type-II型(MIKC型) 2个亚类。Type-II型还可细分为MIKC^C和MIKC^{*} (Henschel et al., 2002; Kaufmann et al., 2005)。在ABCDE花发育模型中, 除A类功能基因中的AP2外, 其它基因均编码MIKC型MADS-box转录因子。

目前, MADS-box基因已在月季、梅(*Prunus*

mume)、桃(*P. persica*)、山茶、牡丹(*Paeonia suffruticosa*)、欧洲水仙(*Narcissus tazetta*)和马银花(*Rhododendron ovatum*)等观赏植物的花发育研究中取得了重要进展(Liu et al., 2018; 熊阳阳和王锦, 2019; Cai et al., 2021; 孙福辉等, 2023)。已经证明A、B、C和E四类功能基因的时空表达特性与重瓣性状形成相关(Nakatsuka et al., 2015; Gul et al., 2019; Peng et al., 2023)。Cai等(2021)在单瓣和重瓣观赏桃中分别对A、B、C和E类基因的表达特性进行分析, 发现在花瓣原基分化阶段, 重瓣品种花芽中*PpAP1*、

PpAP3、*PpPI*和*PpSEP1*基因的表达量显著高于单瓣品种, 而*PpAG*、*PpSEP2*和*PpSEP3*的表达趋势则相反。Gul等(2019)对海棠单瓣和重瓣品种进行转录组测序, 共得到46个差异表达的MADS-box基因; 权重基因共表达网络(weighted gene co-expression network analysis, WGCNA)分析发现, *AGL24*可能与重瓣性状密切相关。Hu等(2019)对紫薇单瓣品种和雄蕊瓣化的重瓣变种花芽进行转录组测序和WGCNA分析, 发现*MADS16*、*SOC1*和*AG*等基因在调节雄蕊瓣化中可能发挥重要作用。Peng等(2023)对271个广

表1 参与重瓣化进程的关键转录因子基因及其功能

Table 1 Key transcription factor genes and their functions involved in petal doubling of flower

类型	名称	功能及表型	重瓣起源类型	参考文献
A类功能基因	<i>AP2</i>	月季 <i>RcAP2</i> 表达水平受低温诱导而被高温抑制, 拟南芥异源过表达 <i>RcAP2</i> 可诱导雄蕊瓣化	雌雄蕊起源	Han et al., 2018
B类功能基因 (MADS-box)	<i>PI</i>	拟南芥中异源过表达桃 <i>PpPI</i> 可诱导雄蕊瓣化; 拟南芥中异源过表达枇杷 <i>EjPI</i> 可导致萼片瓣化	雌雄蕊起源或苞片起源	Xia et al., 2020; Cai et al., 2021
	<i>AP3</i>	夏堇中共表达 <i>TIDEF (AP3)</i> 和 <i>TIGLO (PI)</i> 可导致萼片瓣化; 共抑制两者可导致花瓣萼片化	苞片起源	Sasaki et al., 2014
C类功能基因 (MADS-box)	<i>AG</i>	矮牵牛、三花龙胆和月季中沉默 <i>AG</i> 同源基因导致雄蕊瓣化; 低温诱导的月季重瓣化可能与 <i>RhAG</i> 表达区域被低温抑制有关	雌雄蕊起源	Noor et al., 2014; Nakatsuka et al., 2015; Ma et al., 2015
E类功能基因 (MADS-box)	<i>SEP3</i>	莲 <i>NnSEP3</i> 过表达导致花萼和花瓣数量减少, 类似心皮的器官增加	雌雄蕊起源	林钟员, 2019
	<i>SEP4</i>	万寿菊 <i>TeSEP4</i> 过表达导致花瓣和雄蕊数量减少, 该蛋白可与多种MADS-box蛋白互作	雌雄蕊起源	Zhang et al., 2021
干细胞决定基因	<i>WUS</i>	<i>WUS</i> 与 <i>CLV</i> 可形成负反馈回路调控花分生组织活性的终止。 <i>WUS</i> 表达受 <i>AG</i> 和 <i>SEP</i> 抑制。 <i>WUS</i> 功能缺失导致干细胞和花器官数量减少	其它	Ito et al., 2007; 张科等, 2018
边界基因	<i>PTL</i>	<i>PTL</i> 可通过维持生长素平衡确保花瓣正常发育。拟南芥 <i>PTL</i> 缺失可导致花瓣减少。 <i>PTL</i> 抑制C类功能基因在第1、2轮花器官的表达	其它	Lampugnani et al., 2013; Quon et al., 2017
	<i>HAN</i>	<i>HAN</i> 可通过维持边界细胞中细胞分裂素的平衡而调控花器官发育。其突变导致拟南芥萼片融合及花瓣和雄蕊数量减少	其它	Zhao et al., 2004; Ding et al., 2015
	<i>CUC</i>	<i>CUCs</i> 在花器官边界表达并抑制细胞增殖。 <i>CUC1</i> 和 <i>CUC2</i> 基因受 <i>miRNA164a-c</i> 负调控, <i>CUCs</i> 双重突变导致萼片融合和花瓣数量减少	其它	Aida et al., 1997; Baker et al., 2005; Lampugnani et al., 2012
	<i>SUP</i>	<i>SUP</i> 主要控制第3轮与第4轮花器官之间的边界, 可能影响生长素合成。 <i>suplag-1</i> 双突变体在心皮位置较 <i>ag-1</i> 具有更多轮次花瓣的重瓣性状	其它	Prunet et al., 2008; Prunet et al., 2017; Xu et al., 2018
对称性基因	<i>RBE</i>	<i>RBE</i> 可通过抑制 <i>AG</i> 表达而控制第2轮与第3轮花器官边界。其突变导致花瓣被雄蕊或雄蕊类似器官替代	其它	Krizek et al., 2006; Thomson et al., 2017
	<i>CYC</i>	向日葵和非洲菊 <i>CYC</i> 同源基因的异位表达导致管状花向舌状花转变, 并通过调控细胞增殖影响舌状花花瓣的形状和大小	花序起源	Fambrini et al., 2014; Juntheikki-Palovaara et al., 2014; Zhao et al., 2020
其它	<i>MYB</i>	月季中沉默 <i>RhMYB123</i> 导致雄蕊瓣化, <i>RhAG</i> 、 <i>RhAGL15</i> 和 <i>RhSHP1</i> 及生长素信号转导途径中多个基因的表达量下降	雌雄蕊起源	Li et al., 2022
	<i>PAN</i>	拟南芥 <i>pan</i> 突变体前三轮花器官的数量均增加。其可能通过控制花器官原基起始时间间隔影响花器官的数量和位置	其它	Running and Meyero-witz, 1996; Chuang et al., 1999
	<i>ULT</i>	拟南芥中 <i>ULT1</i> 突变导致4轮花器官数量均增多。其可能通过调节 <i>WUS-AG</i> 反馈环参与干细胞的终止	其它	Fletcher, 2001; Carles et al., 2004

泛栽培的牡丹品种24个表型性状进行详细调查,筛选出花瓣数、雄蕊数和心皮数变异丰富的119个代表品种进行转录组测序,并通过全基因组关联研究(genome-wide association studies, GWAS)和表达数量性状位点(eQTL)定位分析,发现86个GWAS相关的cis-eQTLs和3 188个trans-eQTLs与花瓣、雄蕊和心皮数量相关。其中,AP3、AGL6和SEP3/AGL9的cis-eQTLs导致花瓣数目差异显著。该研究解析了花器官数量多态性和遗传变异机制,并提出了牡丹花器官数量变异调控网络模型。

近年来,MADS-box基因在园艺植物中的功能研究进一步证实了其在花朵重瓣化形成中的关键作用,揭示了雌雄蕊起源和苞片起源重瓣花的形成机理。Sasaki等(2014)在夏堇(*Torenia fournieri*)中同时过表达B类功能基因*TfDEF*和*TfGLO*,在转基因植株中可观察到萼片向花瓣状器官转变而形成重瓣花的表型,同时重瓣花花序的花梗缺失;反之,在夏堇中共抑制*TfDEF*和*TfGLO*的表达则可观察到第2轮花器官中产生萼片状的花瓣。Xia等(2020)发现枇杷(*Eriobotrya japonica*) B类功能基因*EjPI*的表达水平与重瓣花中萼片瓣化的程度紧密相关;在拟南芥中异源过表达枇杷*EjPI*使萼片向瓣化萼片转变,从而增加了花瓣总数。Cai等(2021)在拟南芥中过表达观赏桃B类功能基因*PpPI*,可观察到雄蕊瓣化以及花瓣总数增多的表型。上述研究表明,B类功能基因的表达上调引起萼片瓣化或雄蕊瓣化,其产生的重瓣花属于苞片起源或雌雄蕊起源。

Noor等(2014)在4个单瓣矮牵牛品种中,将2个C类功能基因*pMADS3*和*FBP6*同时沉默后出现雄蕊完全瓣化的表型,其中单瓣品种Mambo Purple的第4轮心皮转变成1朵花而大大提高了观赏性。Nakatsuka等(2015)在三花龙胆(*Gentiana triflora*)的重瓣花突变体中,发现C类功能基因*GsAG1*的表达量低于对照,可能与该基因的内含子中额外插入了一段反转录转座子序列相关;而在过表达拟南芥*AtFT*的早花三花龙胆中沉默*GsAG1*,亦出现雄蕊转变成花瓣的重瓣现象。Yan等(2018)在月季嫁接苗中沉默*RhAG*也获得了类似的表型,花瓣总数比对照均显著增加。以上研究表明,C类功能基因的表达下调能普遍引起雌雄蕊瓣化,其产生的重瓣花属于雌雄蕊起源。

林钟员(2019)在拟南芥中异源表达莲的E类功能

基因*NnSEP3*,发现过表达植株缺失1个花萼和1个花瓣,却多了1个类似心皮的器官,表明*NnSEP3*与心皮发育有关。Zhang等(2021)发现在烟草(*Nicotiana tabacum*)中过表达万寿菊(*Tagetes erecta*) *TeSEP4*导致花瓣和雄蕊数量减少;酵母双杂和酵母三杂实验进一步证明,*TeSEPs*蛋白能够与多种MADS-box蛋白互作而共同参与万寿菊舌瓣花和管状花的发育进程。以上研究表明,E类功能基因的表达变化也能引起第2、3和4轮花器官的数量改变,其参与的重瓣化可能属于雌雄蕊起源类型。

2.2 AP2基因

在ABCDE花发育模型中,几乎所有花发育基因均属于MADS-box基因家族,仅有A类功能基因中的AP2基因例外,其属于AP2/EREBP转录因子家族。已有研究表明,AP2在决定花器官身份及重瓣花形成中发挥关键作用(Bowman et al., 1991)。在拟南芥开花早期,第3、4轮花器官中AP2由于受*miRNA172*负调控被限制表达,从而促进雄蕊和雌蕊的发育(景丹龙等, 2018)。Hibrand Saint-Oyant等(2018)对中国古老月季品种月月粉(*Rosa chinensis* cv. 'Old Blush')的双单倍体进行测序,获得一个高质量的参考基因组序列,并在此基础上对蔷薇属8个野生种进行重测序。遗传多样性分析发现,AP2同源基因是调控月季花瓣数量的关键因子。在该基因内含子8的序列中可检测到1个转座元件,该元件的插入与月季重瓣表型存在显著相关性,其可能通过调控AP2同源基因的表达削弱*RhAG*的表达水平,导致产生重瓣花。Han等(2018)发现月季品种月月粉的花瓣数量与气温变化呈负相关,即月月粉在低温环境下易发生雄蕊瓣化并导致花瓣数目增多,而高温环境下则相反。此外,还发现*RcAP2*基因的表达受低温诱导而被高温抑制。进一步研究发现,*RcAP2*在拟南芥中过表达可诱导雄蕊向花瓣转变从而增加花瓣总数,而在月月粉中沉默*RcAP2*则导致花瓣总数比对照显著减少。由此推测,*RcAP2*基因可能介导环境温度对月季重瓣化的调控作用。综上表明,AP2基因正调控花瓣数量,其参与的重瓣化属于雌雄蕊起源类型。

2.3 干细胞决定基因

Homeobox转录因子家族的WUS (*WUSCHEL*)基因

主要在顶端分生组织和花序分生组织的中心区表达, 其与分生组织干细胞(stem cell)的发生和维持密切相关, 因而被称为干细胞决定基因(Fletcher et al., 1999; Yadav et al., 2011; Daum et al., 2014; Rodriguez et al., 2016)。WUS蛋白能够与CLV (CLAVATA)形成负反馈调节回路, 共同维持拟南芥分生组织中干细胞数量以及分生组织大小(Brand et al., 2000; Schoof et al., 2000)。WUS缺失或CLV3超表达均导致分裂组织活性终止和干细胞功能丧失, 进而造成花器官的数量减少(Laux et al., 1996; Brand et al., 2000)。反之, CLV基因突变导致WUS的抑制被解除, 从而使花分生组织中的干细胞增殖并产生额外的花器官。拟南芥*clv3-2*突变体中花瓣、雄蕊和心皮的数目均多于对照(Fletcher et al., 1999; Brand et al., 2000; Schoof et al., 2000)。

当各轮花器官原基成功启动后, 植物通过不同层面的调控方式来抑制WUS的表达, 进而终止花分生组织活性(张科等, 2018)。已有研究表明, C类功能基因AG可通过直接抑制WUS表达终止花分生组织活性(Lenhard et al., 2001; Lohmann et al., 2001; 张科等, 2018)。在AG功能缺失突变体*ag-1*中, WUS因未能适时终止表达而产生严重的花分生组织缺陷, 形成重复的萼片-花瓣-花瓣的重瓣表型(Lenhard et al., 2001; Ito et al., 2007; 张科等, 2018)。AG对于WUS表达的抑制作用也可通过间接调控的方式来实现。在这种情况下, AG可激活C2H2型锌指转录因子KNU (KNUCKLES), 而KNU可与MIF2 (MINI ZINC FINGER2)、TPL (TOPELESS)和HDA19 (HISTONE DEACETYLASE19)等蛋白形成复合物, 直接结合WUS基因位点而导致其沉默(Sun et al., 2009; Bollier et al., 2018)。此外, 其它花发育基因也参与对WUS的调控, 如AP2可通过拮抗AG对于WUS的抑制作用参与花朵干细胞活性的维持(Huang et al., 2017)。SEP基因也可抑制WUS的活性, 在*sep1/2/3*三突变体中所有花器官均被花萼取代(Pelaz et al., 2000)。

2.4 边界基因

在花分生组织的早期发育过程中, 不同轮次的花器官原基之间以及同一轮的各花器官原基之间, 均由生长较慢的边界细胞进行分离。边界基因(boundaries gene)可控制边界细胞的形成和确立, 从而决定各花器

官原基的身份以及不同花器官的数量(Lampugnani et al., 2012)。目前, 在花发育相关研究中已报道的边界基因包括PTL (PETAL LOSS)、HAN (HANABATARANU)、CUC (CUP-SHAPED COTYLEDON)、SUP (SUPERMAN)以及RBE (RABBIT EARS)等转录因子基因。

拟南芥PTL基因主要在发育中的萼片、花瓣和雄蕊边缘部位表达, 其可通过维持生长素的平衡确保花瓣的正常发育(Li et al., 2008; Lampugnani et al., 2013)。PTL功能缺失导致花瓣数量减少和花瓣生长方向紊乱, 该现象可能与谷氧还蛋白基因ROXY1对PTL的激活作用相关(Brewer et al., 2004; Lampugnani et al., 2012; Quon et al., 2017)。另一方面, PTL与ROXY1共同抑制C类功能基因在第1、2轮花器官的表达(Quon et al., 2017)。GATA-3型转录因子基因HAN主要在分生组织、花器官原基的边界以及发育中的雄蕊等器官中表达。HAN可能部分参与干细胞中的WUS-CLV途径, 其突变可导致拟南芥花朵中的萼片融合, 以及花瓣和雄蕊数量减少(Zhao et al., 2004)。HAN蛋白还可以与原基特异性蛋白JAG (JAGGED)发生互作, 直接促进JAG以及另一个原基特异性基因BLADE-ON-PETIOLE 2的表达; 同时, HAN也可调控CYTOKININ OXIDASE 3基因的表达从而维持边界细胞中细胞分裂素的平衡, 进而调控花器官发育(Ding et al., 2015)。NAC转录因子家族的CUC也是重要的边界基因(Aida et al., 1997), 其在花器官边界的表达可以抑制该区域细胞的增殖(Breuil-Broyer et al., 2004)。CUC1和CUC2基因的双重突变导致萼片融合和花瓣数目减少(Aida et al., 1997; Lampugnani et al., 2012)。C2H2型锌指蛋白转录因子基因SUP主要控制第3轮与第4轮花器官之间的边界, 其可能抑制B类功能基因AP3和PI在花分生组织中心的表达, 对雄蕊的发育具有重要的调控作用(Sakai et al., 1995)。SUP突变以后表现为雄蕊数目增多, WUS的表达时间延长, 而且*sup/wus-1*与*wus-1*的表型相同, 说明SUP可通过抑制下游WUS基因的表达使花分生组织的发育终止(Prunet et al., 2008, 2017)。相比*ag-1*突变体, *sup/ag-1*双突变体在心皮位置具有更多轮次花瓣的重瓣性状, 表明SUP与AG对花分生组织的作用位于两条平行的途径上(Prunet et al., 2008)。此外, 近年来的研究亦发现, 拟南芥SUP基因对生长

素合成具有抑制作用, *sup*突变体第3轮和第4轮花器官原基部位的生长素合成过量, 并产生额外的雄蕊原基, 而外施生长素抑制剂PCIP可部分恢复*sup*突变体的多雄蕊表型(Xu et al., 2018)。由于生长素在花发育起始、花器官特征决定和花瓣数量调控等进程中均具有重要作用, *SUP*对于花器官的调节很有可能通过影响生长素的合成来实现(Chen et al., 2021)。锌指蛋白转录因子RBE参与花瓣的形成, 同时其也可通过抑制AG基因表达而控制第2轮和第3轮花器官的边界(Takeda et al., 2004; Krizek et al., 2006; Huang and Irish, 2015)。RBE突变后会出现花瓣被雄蕊或雄蕊类似器官替代, 或者萼片增多和萼片融合等现象。研究发现这些表型缺陷可能是由突变体中AG基因在第2轮花器官的异位表达引起(Krizek et al., 2006)。同时, RBE也是AP3和PI的下游靶基因, 参与花瓣和雄蕊的发育调控(Thomson et al., 2017)。

2.5 对称性基因

花朵的对称性主要包括辐射对称(radial flower symmetry)和两侧对称(bilateral flower symmetry), 而控制花朵对称性的基因则被称为对称性基因。对称性基因CYC (CYCLOIDEA)编码的转录因子属于TCP (TEOSINTE BRANCHED1/CYCLOIDEA/PROLIFERATING CELL FACTOR)蛋白家族(Hileman, 2014; Spencer and Kim, 2018)。对菊科植物的研究表明, CYC类基因中的CYC2-like不仅能调控菊科植物头状花序中舌瓣花的花朵两侧对称性, 还参与舌瓣花和筒状花的身份决定(Chapman et al., 2008; Tähtiharju et al., 2012; Chen et al., 2018; 温小惠, 2019)。鉴于菊科植物的重瓣品种通常由花序内一部分或全部管状花转变为舌状花而获得, 因此研究这2种小花类型的身份决定对于解析花序起源的重瓣化进程具有重要意义。

在非洲菊(*Gerbera hybrida*) (Broholm et al., 2010; Tähtiharju et al., 2012; Juntheikki-Palovaara et al., 2014)、向日葵(*Helianthus annuus*) (Tähtiharju et al., 2012)、欧洲千里光(*Senecio vulgaris*) (Kim et al., 2008; Garcês et al., 2016)、甘菊(*Chrysanthemum lavandulifolium*)和栽培菊花(*Chrysanthemum × morifolium*) (Liu et al., 2016; Wen et al., 2019)等菊科植物中, CYC2-like同源基因在舌状花中的表达量均高于管状花。研究表明, 向日葵舌状花和管状花的身份

决定与HaCYC2c的表达密切相关。在向日葵*chry2*突变体中, HaCYC2c的起始密码子前插入了转座子, 导致其在管状花花冠中表达量升高, 造成辐射对称的管状花向两侧对称的舌状花转变(Fambrini et al., 2014); 反之, 向日葵*turf*突变体中, HaCYC2c因转座子的插入而使终止密码子提前产生, 导致其功能缺失, 使舌状花由不育花转变成同时具有雌蕊和雄蕊的筒状花类似表型(Fambrini et al., 2011; Mizzotti et al., 2015)。Juntheikki-Palovaara等(2014)在非洲菊中亦发现了CYC2-like同源基因的类似功能。GhCYC3和GhCYC4的异位表达使管状花向舌状花类似表型转变, 并通过调控细胞增殖影响舌状花花瓣的形状和大小。此外, Zhao等(2020)通过酵母单杂筛库, 发现GhCYC3基因的表达受上游E类功能基因GRCD5和C类功能基因GAGA1直接调控, 说明TCP和MADS-box转录因子可通过相互作用形成调控网络, 共同参与非洲菊花序的小花身份决定。

2.6 其它转录因子

R2R3 MYB型转录因子可通过参与雄蕊的发育进程影响花瓣数目(Mandaokar and Browse, 2009; Song et al., 2011)。Li等(2022)发现月季中该家族成员RhMYB123在雄蕊和花瓣的同源异形转变中发挥重要作用。在月季中沉默RhMYB123导致瓣化雄蕊的数目显著增加。同时, 沉默样本中RhAG (AGAMOUS)、RhAGL15 (AGAMOUS LIKE 15) 和 RhSHP1 (SHATTERPROOF 1)以及生长素信号转导途径中多个基因的表达量比对照显著下降, 表明RhMYB123可能通过调控MADS-box家族成员和生长素信号转导参与花朵重瓣化进程。bZIP型转录因子PAN (PERIANTHIA)在叶芽和花芽分生组织中均表达。拟南芥pan突变植株前3轮花器官的数量均由4变成5。然而, 突变体花分生组织的大小和细胞数目并未发生变化, 因此PAN可能通过控制花器官原基起始的时间间隔影响花器官的数量和位置(Running and Meyerowitz, 1996; Chuang et al., 1999)。ULT1 (ULTRAPETALA1)编码1个含有SAND基序的转录因子。在拟南芥中ult-1的花朵具有6个萼片、6个花瓣、7个雄蕊和3个心皮, 而ult-2的花朵则具有5个萼片、5个花瓣、6个雄蕊和2个心皮(Fletcher, 2001)。Carles等(2004)认为ULT1基因对于花器官数量的调控可能与花分生

组织中干细胞的终止途径相关。在该进程中, ULT作为TrxG (Trithorax Group)染色质重塑因子通过调节WUS-AG反馈环参与干细胞的终止进程, 并由此影响花器官的数量(Carles et al., 2004)。

3 参与重瓣化进程的表现遗传调控机制

表现遗传调控通过调节真核基因的表达而参与植物生长发育和环境胁迫应答, 是植物科学研究的热点领域之一。表现遗传学现象涉及DNA甲基化(DNA methylation)、组蛋白修饰(histone modification)、染色质重塑(chromatin remodeling)以及非编码RNAs(noncoding RNAs)等(张科等, 2018)。近年来, 越来越多的研究表明, 表现遗传调控在被子植物花朵的重瓣化进程中发挥至关重要的作用(表2)。

3.1 DNA甲基化修饰

植物中DNA甲基化发生在富含CG、CHG和CHH (H包括A、T或C)的胞嘧啶C上, 可改变染色质的结构、DNA的构象及稳定性, 在调控基因转录过程中的主要表现为抑制基因表达(Ehrlich et al., 1982; Wade, 2001)。DNA甲基化水平可由甲基转移酶控制。拟南芥甲基转移酶MET1的缺失导致基因组DNA总体甲基化水平下降, 引起拟南芥生长发育障碍, 包括花发育异常, 表现为花器官发生同源异型转化以及花器官数量变化(Finnegan et al., 1996; Choi et al., 2002; Gan et al., 2013)。在*met1*植株中, 一些花器官的同源异型转化被证实是由于AG以及AP3的异位表达产生(Finnegan et al., 1996)。在拟南芥中还发现了花器官表型与突变体*sup*相似的7个不同突变株系*clark kent 1-7* (*sup*的表现遗传等位基因突变体), 均具有雄蕊和心皮数量增加的特点。研究发现, 这些突变体正是由于SUP基因位点DNA发生了高度甲基化, 伴随着SUP转录水平下降所致(Bowman et al., 1992; Sakai et al., 1995; 唐荣华等, 2003)。在观赏植物方面, 在一些莲品种花发育过程中, 其雄蕊和心皮会发生瓣化现象。林钟员(2019)对重瓣莲品种粉红凌霄花瓣、瓣化雄蕊和雄蕊进行了全基因组DNA甲基化分析, 发现不同花器官基因的CHH位点甲基化水平存在显著差异。对不同器官间的差异甲基化区域相关基因进行GO (gene ontology)富集分析, 结果表明这些基因的

功能可能与碳水化合物代谢、脂质生物合成、有机物响应以及转移酶复合物等相关。Ma等(2015)研究发现, 低温诱导月季的重瓣化可能与*RhAG*的表达区域被低温抑制有关; 亚硫酸氢盐测序结果表明, 低温处理可通过提高*RhAG*启动子中CHH位点的甲基化水平抑制该基因的表达, 进而促进雄蕊的瓣化。Sun等(2022)采用DNA去甲基化试剂氮胞苷(5-azaC)处理牡丹, 有效促进其提前开花; 同时, 5-azaC处理还增加了花瓣的数量和面积, 表明DNA去甲基化可能是促进牡丹生长的有效途径。

3.2 组蛋白修饰

在染色质的组蛋白上存在着多种位点特异的翻译后修饰, 如组蛋白甲基化、乙酰化、泛素化和磷酸化, 这些修饰能够调控染色质的高级结构和功能, 进而影响基因的表达(Ng et al., 2002; Zhang et al., 2003; Xu et al., 2005)。研究表明, 组蛋白甲基化和组蛋白乙酰化在花器官身份决定中发挥重要调控作用。

3.2.1 组蛋白甲基化

组蛋白甲基化是研究最多的组蛋白修饰类型, 其在转录调节和异染色质形成等过程中均发挥重要作用(Liu et al., 2010)。甲基化的转录活性取决于甲基化的位置和程度。通常情况下, 组蛋白H3的第9和第27个赖氨酸残基(H3K9和H3K27)发生甲基化具有抑制基因转录的作用; 而第4和第36个赖氨酸残基(H3K4和H3K36)甲基化则具有激活作用(Pien and Grossniklaus, 2007)。

很多研究证明, H3K9甲基化在花器官发育中具有重要作用。拟南芥中H3K9的甲基转移酶KYP可控制花朵中雄蕊和心皮轮生的边界(Sakai et al., 1995; Jacobsen and Meyerowitz, 1997)。在水稻中, 去甲基酶IBM1同系物JMJ706的功能丧失导致H3K9的二甲基化和三甲基化增加, 从而影响小穗发育, 改变花的形态和器官数量; 还有一些表现为小穗的外稃和/或内稃缺失、小穗长出额外的内稃以及雌雄蕊数量增多等表型。进一步研究发现, JMJ706突变可使*DH1* (*DEGENERATED HELL1*)和*MADS47*的启动子和5'区域的H3K9me2/3增加, 从而抑制*DH1*和*MADS47*基因的表达(Sun and Zhou, 2008)。拟南芥AG蛋白靶基因*G1K* (*GIANT KILLER*)可通过H3K9me2甲基化

抑制 *ETT* (*ETTIN*)、*CRC* (*CRABS CLAW*)、*JAG* (*JAGGED*)以及*KNU*等基因的表达,进而调控花型发育和生殖分化(Ng et al., 2009)。此外,研究发现AG蛋白能够直接结合到下游基因*WUS*的转录起始位点和下游非翻译区,并在这2个区域以直接或间接的方式招募转录抑制复合物PcG (Polycomb Group)蛋白来调控组蛋白H3K27的甲基化状态,最终影响*WUS*的表达和适时终止花分生组织的发育(Liu et al., 2011)。同时,AG也可通过促进*KNU*基因位点H3K27me3的去甲基化直接激活*KNU*的表达,通过*KNU*蛋白间接抑制*WUS*的表达。

在转录激活方面,拟南芥中的研究表明,表观遗传调控元件TrxG蛋白家族可介导H3K4甲基化。TrxG家族成员ATX1除在开花途径中发挥作用外,还参与

花早期发育。*ATX1*功能缺失会使花器官发生同源异型转化,如雄蕊瓣化或雄蕊具柱头乳突。另一个TrxG蛋白SDG8也可能在花器官身份决定中发挥作用。SDG8与H3K36甲基化转移酶ASHH2的*sdg8/ashh2*双突变体会出现第2轮和第3轮器官发生心皮化的表型,或导致萼片转化为心皮,花瓣转化为雄蕊;同时,*AP1*、*AP3*和*PI*基因的表达在*sdg8/ashh2*花序中显著下调(Grini et al., 2009)。

3.2.2 组蛋白乙酰化

组蛋白乙酰化受到组蛋白乙酰转移酶(histone acetyltransferases, HATs)和组蛋白脱乙酰酶(histone deacetylases, HDAs)的精密调控。比较常见的类型是赖氨酸乙酰化,其可通过改变赖氨酸正电性质以及

表2 参与重瓣化进程的表观遗传调控方式及其机理

Table 2 Epigenetic regulations and mechanisms involved in petal doubling of flower

类型	作用机制	相关基因及其在重瓣化进程中的功能	参考文献
DNA甲基化	常发生在CG、CHG和CHH(H包括A、T或C)的胞嘧啶C上,影响染色质结构、DNA构象及基因表达	拟南芥甲基转移酶MET1缺失导致基因组DNA总体甲基化水平下降,引起花器官同源异型转化及数量变化 低温可通过诱导月季 <i>RhAG</i> 启动子中CHH位点甲基化水平升高而抑制 <i>RhAG</i> 表达,导致月季雄蕊瓣化	Finnegan et al., 1996; Choi et al., 2002; Gan et al., 2013 Ma et al., 2015
组蛋白甲基化	在转录调节和异染色质形成中发挥重要作用。通常将H3K9和H3K27甲基化作为抑制标记,而H3K4以及H3K36甲基化则作为激活标记	水稻去甲基酶JMJ706功能丧失导致H3K9甲基化程度增强,影响花的形态和器官数量 拟南芥AG蛋白能够通过调控 <i>WUS</i> 或 <i>KNU</i> 基因位点的H3K27甲基化修饰状态抑制 <i>WUS</i> 表达,进而调控花分生组织的发育 TrxG蛋白家族可调控H3K4甲基化,其家族成员的突变导致拟南芥雄蕊和花瓣间的同源异型转变	Sun and Zhou, 2008 Liu et al., 2011 Grini et al., 2009
组蛋白乙酰化	受组蛋白乙酰转移酶和脱乙酰酶调控。以赖氨酸乙酰化较常见,其通常具有激活靶基因的作用	<i>AP2</i> 能够招募组蛋白脱乙酰化酶复合物TPL-HDA19而抑制 <i>AG</i> 的表达 月季生长素响应因子 <i>RhARF18</i> 能招募组蛋白脱乙酰酶 <i>RhHDA6</i> 到 <i>RhAG</i> 启动子上,降低H3K9/K14乙酰化水平进而抑制其转录,引起雄蕊瓣化	Krogan et al., 2012 Chen et al., 2021
染色质重塑	包括核小体位置改变、核小体去组装及组蛋白修饰等,需要ATP依赖的染色质重塑复合物参与	拟南芥染色质重塑SWI/SNF复合物成员 <i>SYD</i> 和 <i>BRM</i> 基因突变均导致第2、3轮花器官的同源异型转化。 <i>SYD</i> 和 <i>BRM</i> 均能诱导 <i>AP3</i> 和 <i>AG</i> 基因表达从而启动花器官身份决定	Hurtado et al., 2006; Wu et al., 2012
miRNA调控	通过切割靶基因mRNA、抑制其翻译以及介导DNA甲基化等方式调控基因的表达	在桃、香石竹、矮牵牛、月季和玫瑰等植物中发现 <i>miRNA172</i> 能够抑制 <i>AP2</i> 类基因的表达进而影响花器官形态建成。该调控机制在真双子叶植物中保守 拟南芥 <i>miR164</i> 能够通过调控边界基因 <i>CUCs</i> 的表达影响花器官数量。草莓中 <i>miRNA164-CUC</i> 也参与花型调控 金鱼草和矮牵牛 <i>miR169</i> 通过对 <i>NF-YA</i> 的转录后抑制降低C类基因的活性。 <i>miR169</i> 突变导致C类基因异位表达,进而产生雄蕊化的花瓣 山茶 <i>miRNA156</i> 可负调控 <i>CjSPL1/2</i> 表达,使其仅在雄蕊花丝而不在花药中表达,进而引起雄蕊瓣化	Gattolin et al., 2018, 2020 Laufs et al., 2004; Baker et al., 2005; Zheng et al., 2019 Cartolano et al., 2007; 李巍和徐启江, 2014 Li et al., 2017

染色体结构激活靶基因的表达(Davie and Chadee, 1998; Dyson et al., 2001)。在月季中, 生长素响应因子RhARF18通过抑制RhAG基因的表达参与生长素介导的雄蕊瓣化。RhARF18能够与组蛋白脱乙酰酶RhHDA6发生互作, RhHDA6基因沉默导致花瓣数量显著减少, 同时RhAG基因启动子中RhARF18结合区域附近的H3K9/K14乙酰化水平显著升高, 表明RhARF18可能通过招募RhHDA6而加强RhARF18对于RhAG转录的抑制作用(Chen et al., 2021)。Kagale和Rozwadowski (2011)发现含有EAR基序的蛋白质(如AP2和RBE)可通过招募由TPL (TOPLESS)和组蛋白脱乙酰化酶HDA19形成的阻遏复合物来调节下游基因的转录。以AP2为例, 其能够招募TPL-HDA19复合物进而抑制AG的表达, 同时该复合物通过限制AP3和PI等B类功能基因在第1轮花器官的表达来控制萼片花瓣的同一性(Krogan et al., 2012; Gan et al., 2013)。Xu等(2018)的研究表明, SUP可与转录抑制复合物PRC2 (polycomb repressive complex 2)的组分CLF (CURLY LEAF)相互作用, 通过控制生长素生物合成基因的表达来调节花器官边界。

3.3 染色质重塑

染色质重塑包括核小体位置改变、核小体去组装以及组蛋白修饰等过程, 其影响组蛋白与DNA之间的联系, 进而改变DNA与转录因子结合的难易程度(Gan et al., 2013; 张科等, 2018)。染色质重塑需要ATP依赖的染色质重塑复合物参与, 其可利用ATP水解改变DNA与组蛋白之间的相互作用, 达到重塑染色质结构的目的(Varga-Weisz, 2001)。

SWI/SNF复合物是拟南芥中最重要的一类ATP依赖的染色质重塑复合体, 其核心成员包括BRM (BRAHMA) 和SYD (SPRAYED) 等(Reyes et al., 2002; Jarillo et al., 2009)。研究表明, 拟南芥SYD被特异招募到WUS启动子区并激活WUS的表达, 影响茎尖分生组织干细胞的活性(Kwon et al., 2005)。SYD和BRM基因突变均导致严重的花型异常, 包括第2、3轮花器官的同源异型转化(Hurtado et al., 2006; Wu et al., 2012)。SYD和BRM在花型调节方面部分功能冗余。研究表明, LFY (LEAFY)和SEP3等转录因子能将SYD和BRM募集到AP3和AG基因的调控区; 同时, ULT1和其它染色质因子也被招募过来, 共

同解除转录抑制复合物PRC1、PRC2以及H3K27me3的抑制作用, 诱导H3K4me3积累, 从而上调AP3和AG基因的表达并启动花器官身份决定(Bezhani et al., 2007; Wu et al., 2012)。

3.4 miRNA调控

MicroRNAs (miRNAs)是一类长度为20–24 nt的非编码小分子RNA, 其通常由具有发卡结构的前体切割产生。miRNAs通过切割靶基因mRNA、抑制其翻译以及介导DNA甲基化等方式调控基因的表达(张俊红等, 2014)。miRNAs广泛参与植物生长发育的各个方面, 在调控植物花发育和花朵重瓣性状中发挥关键作用的成员主要包括miRNA172、miRNA164和miRNA169等。

研究发现, miRNA172通过抑制AP2和TOE1等靶基因的表达而影响多种植物花器官的形态建成(王劲东等, 2020)。睦梦洁等(2019)利用高通量测序技术, 对中国古老月季绿萼和月月粉花蕾期的miRNA进行测序和分析, 发现2个月季品种中差异表达的miRNA有31个。其中, miRNA172在月季绿萼花瓣、雄蕊和雌蕊中的表达水平比月月粉显著下调, 其预测靶基因RcAP2则在这些器官中显著上调。Gattolin等(2018)分析了来自桃单瓣和重瓣品系的基因组重排数据, 发现1个编码euAP2家族TOE (TARGET OF EAT)分支转录因子的Prupe.6G242400基因, 其DNA上缺失了一段包含miR172结合位点的序列, 基因表达检测表明该基因可能参与桃花瓣数量的调控。同时, 在重瓣月季Prupe.6G242400同源基因中也发现了miR172结合位点的类似突变。随后, Gattolin等(2020)在具有显性重瓣花特征的香石竹(*Dianthus caryophyllus*)、矮牵牛和玫瑰(*Rosa rugosa*)等植物中, 发现TOE分支PET (PETALOSA)基因的miRNA172结合位点也存在变异, 导致PET无法被miRNA172调控并由此形成重瓣花。以上结果均证明, miR172对AP2类基因的调控在花朵重瓣化中具有关键作用, 且该机制在真双子叶植物中保守。

miR164通过调控边界基因CUCs的表达而建立花器官轮次之间或花器官边界, 从而影响花原基大小和花器官数量(Luo et al., 2013)。拟南芥边界基因CUC1和CUC2是miRNA164a–c的靶基因。过表达miRNA164a或miRNA164b均导致CUC1和CUC2表

达量降低,并产生类似*cuc1/2*双突变体的表型,即萼片融合和花瓣数目减少(Laufs et al., 2004);相反,在*miR164c*突变体*eep1 (extra early petals-1)*中,*CUC*发生异位表达,导致最初形成花朵中的花瓣数目显著增加(Baker et al., 2005; Lampugnani et al., 2012)。Huang等(2012)发现边界基因*RBE*在花型调控中的作用可能依赖于*miRNA164-CUC*途径。拟南芥*RBE*能够通过结合*miRNA164c*的启动子抑制其表达,也能间接调节*miRNA164alb*的时空表达特性,并可诱导*CUC1/2*的表达水平。进一步研究表明,在拟南芥花瓣发育早期*RBE*可通过*miRNA164-CUC*模块调控萼片和花瓣的器官发生(Huang et al., 2012)。Zheng等(2019)在草莓(*Fragaria vesca*)中亦发现*miRNA164-CUC*途径参与花器官形态发生,说明该途径在不同植物间具有一定的保守性。

此外,一些报道指出其它*miRNA*也能通过调控靶基因的表达参与花型调控。如金鱼草*FIS (FISTULATA)*基因和矮牵牛*BL (BLIND)*基因均可编码*miRNA169*。*miR169*能够抑制*NF-YA*转录因子基因的表达,而*NF-YA*转录因子则可诱导*C*类基因的表达,因此推测*miR169*通过转录后水平抑制*NF-YA*的表达进而抑制*C*类基因的活性,并将其活性限制在内2轮花器官,以此调控雄蕊和心皮的发育(Jones-Rhoades and Bartel, 2004)。*FIS*和*BL*的缺失导致*C*类基因的异位表达,造成第2轮花器官中出现雄蕊化的花瓣(Cartolano et al., 2007; 李巍和徐启江, 2014)。Li等(2017)对山茶重瓣化机制的研究表明,*miRNA156*通过负调控*SPL (SQUAMOSA PROMOTER BINDING PROTEIN LIKE)*家族成员*CjSPL1/2*的表达,使其仅在雄蕊花丝中表达而不在花药组织表达,并由此产生雄蕊瓣化现象,从而形成重瓣花。

4 展望

观赏植物花朵的重瓣性状具有重要的观赏价值和经济价值,一直受到国内外育种家的高度重视。重瓣花的遗传模式较为复杂,在不同物种及品种间可能具有不同的遗传特性。总体而言,重瓣花的遗传特性涉及等位基因控制、主基因和修饰基因共同控制、微效多基因控制、倍性遗传和细胞质遗传等(赵印泉和刘青林, 2009)。自然界一些观赏植物的重瓣性表现为由多

基因控制的数量性状,如大丽花(*Dahlia pinnata*)和万寿菊(赵印泉和刘青林, 2009)。在另一些观赏植物中,单瓣和重瓣虽然为质量性状,但是花瓣数量的多少则为数量性状,如月季和菊花(姜珊等, 2021)。这种多基因控制的重瓣性部分解释了温度、光照和水肥等环境因子对重瓣花花瓣数量的调控作用,也为多代杂交选育超亲重瓣新品种提供了理论依据(姜珊等, 2021)。在倍性方面,目前被子植物的花型调控是否具有这一遗传特性尚无统一论。例如, Kermani等(2003)利用植物微管抑制剂Oryzalin处理二倍体月季Thérèse Bugnet的茎尖,获得了四倍体月季,表型观察发现四倍体月季的花瓣数量约为二倍体月季的2倍。Ning等(2009)将纯合四倍体的重瓣矮牵牛与二倍体的单瓣矮牵牛自交系杂交,产生倍性和花型性状分离的F₁群体。对该群体的统计分析发现,矮牵牛的染色体倍性与花瓣数量之间无直接关联。然而,半重瓣性状的产生可能与花粉倍性相关。这些研究表明,重瓣与染色体倍性之间的相关性可能在不同物种间存在差异。另一方面,作为观赏花卉的重要育种目标,重瓣栽培品种的出现也是人类长期驯化与人为选择的结果。重瓣性状在花卉育种史中得到不断积累和加强,其背后的分子调控机理也逐渐被揭示,并证实与花发育关键基因的表达调控相关。以月季为例,中国和地中海沿岸是世界上重瓣月季育种的两大主要区域。Dubois等(2010)对2个地区现代月季及其原始亲本中的花发育基因进行表达分析,发现其在欧洲/中东和中国的驯化过程中,*C*类功能基因*RhAG*在月季中的表达区域大小均与花瓣数量存在相关性,即花瓣数量越多的栽培品种,其花原基中*RhAG*的表达区域越狭窄。该研究结果也说明,人类培育重瓣花的育种史定向改变了花发育基因的表达,从而促进重瓣表型的发生。

关于观赏植物中重瓣性状形成的分子机理,本文探讨了参与被子植物花发育进程的转录因子,尤其是参与分生组织大小和活性的终止、花器官属性决定及花器官发育进程的关键基因(Thomson and Wellmer, 2019),主要包括MIKC型MADS-box转录因子基因、干细胞决定基因、边界基因和对称性基因等(Huang and Irish, 2016; Thomson et al., 2017; Thomson and Wellmer, 2019)。A、B、C和E类功能基因在多种园艺作物的单瓣和重瓣品种中表现出时空表达的

显著差异(Li et al., 2017; Liu et al., 2018; Hu et al., 2019)。功能研究亦表明这些花发育功能基因参与的重瓣化进程主要涉及花器官中同源异型器官的转变,其中以雄蕊和雌蕊瓣化居多。在矮牵牛、三花龙胆、月季和观赏桃等多种植物中,发现A、B、C类功能基因的表达变化均可导致生殖器官发生瓣化现象(Noor et al., 2014; Nakatsuka et al., 2015; Yan et al., 2018; Cai et al., 2021),为重瓣花起源方式中的雌雄蕊起源提供了重要的理论支撑。在夏堇和枇杷等少数植物的花朵中也发现了B类功能基因的表达变化可诱导萼片向花瓣状器官转变,为苞片起源重瓣花提供了证据。菊科植物花序中管状花向舌状花的转变是花序起源重瓣花的典型案例,其主要归因于对称性基因*TCP*的作用。向日葵和非洲菊等植物中的研究表明,*TCP*基因参与控制舌瓣花的花朵两侧对称性以及舌瓣花和筒状花的身份决定,为菊科花卉重瓣分子育种奠定了理论基础(Fambrini et al., 2014; Juntheikki-Palovaara et al., 2014)。此外,干细胞决定基因*WUS*和边界基因(如*PTL*、*SUP*和*RBE*)也被证实花朵重瓣化进程中扮演重要角色,且这些转录因子在该途径中的调控作用多数与*MADS-box*基因相关,从而构成了复杂的调控网络(Prunet et al., 2008; Quon et al., 2017; Thomson et al., 2017; 张科等, 2018)。另一方面,*MADS-box*主要通过控制具有调节功能的靶基因表达水平起作用(Kaufmann et al., 2010; Wuest et al., 2012; Ó'Maoiléidigh et al., 2013; Pajoro et al., 2014)。从植物进化的角度看,某一特定*MADS-box*因子的靶基因在近缘物种间乃至不同科远缘植物间的差异,可以解释花型在进化中的许多改变,而这些物种间共享的核心靶基因则为建立不同类型花器官发育模型的分子机理提供了必要的基础信息(Muiño et al., 2016)。然而,目前关于*MADS-box*蛋白在分子水平上如何精准调控特异靶基因仍不清楚。

表观遗传学作为近年来转录调控的研究热点之一,在花发育研究中也取得了诸多进展。遗传学、反向遗传学和基因组学等领域的研究表明,表观遗传因子通过调控染色体状态在花发育相关的细胞分化起始和维持中发挥重要作用(Gan et al., 2013)。组蛋白和DNA甲基化修饰、染色质重塑和miRNAs均参与调节花发育进程中数以千计基因的时空表达特异性,从而确保花朵具有正确数量的花器官。然而,目前对植

物表观遗传学的研究主要聚焦于拟南芥、矮牵牛和金鱼草等模式植物,亟待拓宽花发育表观遗传学的研究对象,并在观赏植物中进行更为深入的探究。此外,为进一步了解不同花器官细胞分化和活性维持中表观遗传的功能机制,需要在特定的发育背景下对单个细胞类型进行表观遗传学分析,但目前关于该领域的研究较少,尤其是对于某些特定细胞类型中表观遗传调控特异靶点的招募机制仍知之甚少。后续可通过对特定类型的细胞进行GFP或生物素标记,利用分离和细胞核亲和纯化等技术对这些问题进行深入研究(Birnbaum et al., 2005; Yadav et al., 2009; Deal and Henikoff, 2010; Gan et al., 2013)。此外,冷冻电子显微镜、环状染色体构象捕获(circular chromosome conformation capture, 4C)、3C碳拷贝(3C-carbon copy, 5C)、高通量染色体构象捕获(high-throughput/resolution chromosome conformation capture, Hi-C)以及染色质远程交互测序(chromatin interaction analysis by paired-end tag sequencing, ChIA-PET)等新兴技术的发展(张科等, 2018),将为表观遗传调控和染色质修饰特征相关研究奠定技术基础,帮助研究者了解表观遗传调控在花器官细胞分化中的作用,并为探明表观遗传在园艺植物花朵重瓣化进程中的作用机制提供理论依据。

综上所述,重瓣形成的遗传特性较为复杂,且同时具有质量性状和数量性状的特点。虽然可通过多代杂交选育超亲重瓣新品种,但是在选育过程中易出现性状分离,也易受到环境变化的影响,因而采用这种方式培育重瓣新品种效率低且耗时长。可以预见,借助分子育种技术是解决该难题的有效手段,也为育种家设计新的重瓣花型提供了可能。随着生物技术、高通量测序技术和生物信息分析技术的不断发展,被子植物重瓣性状形成的分子调控机理研究将会取得更大的突破,可为重瓣性遗传改良提供重要的理论支撑。同时,在观赏植物中建立高效的遗传转化体系,结合基因编辑等现代分子生物学技术,将极大地促进重瓣性状的应用研究,并培育出更多类型丰富的重瓣花新品种。

作者贡献声明

崔永一和陈雯: 构思论文主题和框架; 周颖盈和陈雯: 搜集文献资料并撰写初稿; 陈雯和罗平: 修改初

稿和定稿。

参考文献

- Aida M, Ishida T, Fukaki H, Fujisawa H, Tasaka M** (1997). Genes involved in organ separation in *Arabidopsis*: an analysis of the cup-shaped cotyledon mutant. *Plant Cell* **9**, 841–857.
- Baker CC, Sieber P, Wellmer F, Meyerowitz EM** (2005). The *early extra petals1* mutant uncovers a role for microRNA *miR164c* in regulating petal number in *Arabidopsis*. *Curr Biol* **15**, 303–315.
- Bezhani S, Winter C, Hershman S, Wagner JD, Kennedy JF, Kwon CS, Pfluger J, Su YH, Wagner D** (2007). Unique, shared, and redundant roles for the *Arabidopsis* SWI/SNF chromatin remodeling ATPases BRAHMA and SPLAYED. *Plant Cell* **19**, 403–416.
- Birnbaum K, Jung JW, Wang JY, Lambert GM, Hirst JA, Galbraith DW, Benfey PN** (2005). Cell type-specific expression profiling in plants via cell sorting of protoplasts from fluorescent reporter lines. *Nat Methods* **2**, 615–619.
- Bollier N, Sicard A, Leblond J, Latrasse D, Gonzalez N, Gévaudant F, Benhamed M, Raynaud C, Lenhard M, Chevalier C, Hernould M, Delmas F** (2018). At-MINI ZINC FINGER2 and SI-INHIBITOR OF MERISTEM ACTIVITY, a conserved missing link in the regulation of floral meristem termination in *Arabidopsis* and tomato. *Plant Cell* **30**, 83–100.
- Bowman JL** (1997). Evolutionary conservation of angiosperm flower development at the molecular and genetic levels. *J Biosci* **22**, 515–527.
- Bowman JL, Sakai H, Jack T, Weigel D, Mayer U, Meyerowitz EM** (1992). SUPERMAN, a regulator of floral homeotic genes in *Arabidopsis*. *Development* **114**, 599–615.
- Bowman JL, Smyth DR, Meyerowitz EM** (1991). Genetic interactions among floral homeotic genes of *Arabidopsis*. *Development* **112**, 1–20.
- Brand U, Fletcher JC, Hobe M, Meyerowitz EM, Simon R** (2000). Dependence of stem cell fate in *Arabidopsis* on a feedback loop regulated by *CLV3* activity. *Science* **289**, 617–619.
- Breuil-Broyer S, Morel P, De Almeida-Engler J, Cous-tham V, Negrutiu I, Trehin C** (2004). High-resolution boundary analysis during *Arabidopsis thaliana* flower development. *Plant J* **38**, 182–192.
- Brewer PB, Howles PA, Dorian K, Griffith ME, Ishida T, Kaplan-Levy RN, Kilinc A, Smyth DR** (2004). *PETAL LOSS*, a trihelix transcription factor gene, regulates perianth architecture in the *Arabidopsis* flower. *Development* **131**, 4035–4045.
- Broholm SK, Pöllänen E, Ruokolainen S, Tähtiharju S, Kotilainen M, Albert VA, Elomaa P, Teeri TH** (2010). Functional characterization of B class MADS-box transcription factors in *Gerbera hybrida*. *J Exp Bot* **61**, 75–85.
- Cai YM, Wang L, Ogutu CO, Yang QR, Luo BW, Liao L, Zheng BB, Zhang RX, Han YP** (2021). The MADS-box gene *PpPI* is a key regulator of the double-flower trait in peach. *Physiol Plantarum* **173**, 2119–2129.
- Carles CC, Lertpiriyapong K, Reville K, Fletcher JC** (2004). The *ULTRAPETALA1* gene functions early in *Arabidopsis* development to restrict shoot apical meristem activity and acts through *WUSCHEL* to regulate floral meristem determinacy. *Genetics* **167**, 1893–1903.
- Cartolano M, Castillo R, Efremova N, Kuckenberg M, Zethof J, Gerats T, Schwarz-Sommer Z, Vandenbussche M** (2007). A conserved microRNA module exerts homeotic control over *Petunia hybrida* and *Antirrhinum majus* floral organ identity. *Nat Genet* **39**, 901–905.
- Causier B, Schwarz-Sommer Z, Davies B** (2010). Floral organ identity: 20 years of ABCs. *Semin Cell Dev Biol* **21**, 73–79.
- Chapman MA, Leebens-Mack JH, Burke JM** (2008). Positive selection and expression divergence following gene duplication in the sunflower *CYCLOIDEA* gene family. *Mol Biol Evol* **25**, 1260–1273.
- Chen J, Shen CZ, Guo YP, Rao GY** (2018). Patterning the Asteraceae capitulum: duplications and differential expression of the flower symmetry *CYC2*-like genes. *Front Plant Sci* **9**, 551.
- Chen JW, Li Y, Li YH, Li YQ, Wang Y, Jiang CY, Choisy P, Xu T, Cai YM, Pei D, Jiang CZ, Gan SS, Gao JP, Ma N** (2021). AUXIN RESPONSE FACTOR 18-HISTONE DEACETYLASE 6 module regulates floral organ identity in rose (*Rosa hybrida*). *Plant Physiol* **186**, 1074–1087.
- Choi Y, Gehring M, Johnson L, Hannon M, Harada JJ, Goldberg RB, Jacobsen SE, Fischer RL** (2002). DEMETER, a DNA glycosylase domain protein, is required for endosperm gene imprinting and seed viability in *Arabidopsis*. *Cell* **110**, 33–42.
- Chuang CF, Running MP, Williams RW, Meyerowitz EM** (1999). The *PERIANTHIA* gene encodes a bZIP protein involved in the determination of floral organ number in *Arabidopsis thaliana*. *Genes Dev* **13**, 334–344.
- Coen ES, Meyerowitz EM** (1991). The war of the whorls:

- genetic interactions controlling flower development. *Nature* **353**, 31–37.
- Daum G, Medzihradsky A, Suzaki T, Lohmann JU** (2014). A mechanistic framework for noncell autonomous stem cell induction in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA* **111**, 14619–14624.
- Davie JR, Chadee DN** (1998). Regulation and regulatory parameters of histone modifications. *J Cell Biochem* **72**, 203–213.
- Deal RB, Henikoff S** (2010). A simple method for gene expression and chromatin profiling of individual cell types within a tissue. *Dev Cell* **18**, 1030–1040.
- Ding L, Yan SS, Jiang L, Zhao WS, Ning K, Zhao JY, Liu XF, Zhang J, Wang Q, Zhang XL** (2015). *HANABA TAR-ANU (HAN)* bridges meristem and organ primordia boundaries through *PINHEAD*, *JAGGED*, *BLADE-ONPETIOLE2* and *CYTOKININ OXIDASE 3* during flower development in *Arabidopsis*. *PLoS Genet* **11**, e1005479.
- Dubois A, Raymond O, Maene M, Baudino S, Langlade NB, Boltz V, Vergne P, Bendahmane M** (2010). Tinkering with the C-function: a molecular frame for the selection of double flowers in cultivated roses. *PLoS One* **5**, e9288.
- Dyson MH, Rose S, Mahadevan LC** (2001). Acetyllysine-binding and function of bromodomain-containing proteins in chromatin. *Front Biosci* **6**, 853–865.
- Ehrlich M, Gama-Sosa MA, Huang LH, Midgett RM, Kuo KC, McCune RA, Gehrke C** (1982). Amount and distribution of 5-methylcytosine in human DNA from different types of tissues or cells. *Nucleic Acids Res* **10**, 2709–2721.
- Fambrini M, Salvini M, Basile A, Pugliesi C** (2014). Transposon-dependent induction of Vincent van Gogh's sunflowers: exceptions revealed. *Genesis* **52**, 315–327.
- Fambrini M, Salvini M, Pugliesi C** (2011). A transposon-mediate inactivation of a *CYCLOIDEA*-like gene originates polysymmetric and androgynous ray flowers in *Helianthus annuus*. *Genetica* **139**, 1521–1529.
- Finnegan EJ, Peacock WJ, Dennis ES** (1996). Reduced DNA methylation in *Arabidopsis thaliana* results in abnormal plant development. *Proc Natl Acad Sci USA* **93**, 8449–8454.
- Fletcher JC** (2001). The *ULTRAPETALA* gene controls shoot and floral meristem size in *Arabidopsis*. *Development* **128**, 1323–1333.
- Fletcher JC, Brand U, Running MP, Simon R, Meyerowitz EM** (1999). Signaling of cell fate decisions by *CLAVATA3* in *Arabidopsis* shoot meristems. *Science* **283**, 1911–1914.
- Gan ES, Huang JB, Ito T** (2013). Functional roles of histone modification, chromatin remodeling and microRNAs in *Arabidopsis* flower development. *Int Rev Cell Mol Biol* **305**, 115–161.
- Garcês HMP, Spencer VMR, Kim M** (2016). Control of floret symmetry by *RAY3*, *SvDIV1B*, and *SvRAD* in the capitulum of *Senecio vulgaris*. *Plant Physiol* **171**, 2055–2068.
- Gattolin S, Cirilli M, Chessa S, Stella A, Bassi D, Rossini L** (2020). Mutations in orthologous *PETALOSA* TOE-type genes cause a dominant double-flower phenotype in phylogenetically distant eudicots. *J Exp Bot* **71**, 2585–2595.
- Gattolin S, Cirilli M, Pacheco I, Ciacciulli A, Da Silva Linge C, Mauroux JB, Lambert P, Cammarata E, Bassi D, Pascal T, Rossini L** (2018). Deletion of the miR172 target site in a TOE-type gene is a strong candidate variant for dominant double-flower trait in Rosaceae. *Plant J* **96**, 358–371.
- Grini PE, Thorstensen T, Alm V, Vizcay-Barrena G, Windju SS, Jørstad TS, Wilson ZA, Aalen RB** (2009). The ASH1 HOMOLOG 2 (ASHH2) histone H3 methyltransferase is required for ovule and anther development in *Arabidopsis*. *PLoS One* **4**, e7817.
- Gul H, Tong ZG, Han XL, Nawaz I, Wahocho SA, Khan S, Zhang CX, Tian Y, Cong PH, Zhang LY** (2019). Comparative transcriptome analysis between ornamental apple species provides insights into mechanism of double flowering. *Agronomy* **9**, 112.
- Han Y, Tang AY, Wan HH, Zhang TX, Cheng TR, Wang J, Yang WR, Pan HT, Zhang QX** (2018). An *APETALA2* homolog, *RcAP2*, regulates the number of rose petals derived from stamens and response to temperature fluctuations. *Front Plant Sci* **9**, 481.
- Henschel K, Kofuji R, Hasebe M, Saedler H, Münster T, Theißen G** (2002). Two ancient classes of MIKC-type MADS-box genes are present in the moss *Physcomitrella patens*. *Mol Biol Evol* **19**, 801–814.
- Hibbrand Saint-Oyant L, Ruttink T, Hamama L, Kirov I, Lakhwani D, Zhou NN, Bourke PM, Daccord N, Leus L, Schulz D, Van de Geest H, Hesselink T, Van Laere K, Debray K, Balzergue S, Thouroude T, Chastellier A, Jeauffre J, Voisine L, Gaillard S, Borm TJA, Arens P, Voorrips RE, Maliepaard C, Neu E, Linde M, Le Paslier MC, Bérard A, Bounon R, Clotault J, Choise N, Quesneville H, Kawamura K, Aubourg S, Sakr S, Smulders MJM, Schijlen E, Bucher E, Debener T, De Riek J, Foucher F** (2018). A high-quality genome sequence of *Rosa chinensis* to elucidate ornamental traits.

- Nat Plants* **4**, 473–484.
- Hileman LC** (2014). Bilateral flower symmetry—how, when and why? *Curr Opin Plant Biol* **17**, 146–152.
- Hileman LC, Irish VF** (2009). More is better: the uses of developmental genetic data to reconstruct perianth evolution. *Am J Bot* **96**, 83–95.
- Hsu HF, Hsu WH, Lee YI, Mao WT, Yang JY, Li JY, Yang CH** (2015). Model for perianth formation in orchids. *Nat Plants* **1**, 15046.
- Hu L, Zheng TC, Cai M, Pan HT, Wang J, Zhang QX** (2019). Transcriptome analysis during floral organ development provides insights into stamen petaloidy in *Lagerstroemia speciosa*. *Plant Physiol Biochem* **142**, 510–518.
- Huang TB, Irish VF** (2015). Temporal control of plant organ growth by TCP transcription factors. *Curr Biol* **25**, 1765–1770.
- Huang TB, Irish VF** (2016). Gene networks controlling petal organogenesis. *J Exp Bot* **67**, 61–68.
- Huang TB, López-Giráldez F, Townsend JP, Irish VF** (2012). RBE controls microRNA164 expression to effect floral organogenesis. *Development* **139**, 2161–2169.
- Huang ZG, Shi T, Zheng BL, Yumul RE, Liu XG, You CJ, Gao ZH, Xiao LT, Chen XM** (2017). *APETALA2* antagonizes the transcriptional activity of *AGAMOUS* in regulating floral stem cells in *Arabidopsis thaliana*. *New Phytol* **215**, 1197–1209.
- Hurtado L, Farrona S, Reyes JC** (2006). The putative SWI/SNF complex subunit *BRAHMA* activates flower homeotic genes in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Mol Biol* **62**, 291–304.
- Ito T, Ng KH, Lim TS, Yu H, Meyerowitz EM** (2007). The homeotic protein *AGAMOUS* controls late stamen development by regulating a jasmonate biosynthetic gene in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **19**, 3516–3529.
- Jacobsen SE, Meyerowitz EM** (1997). Hypermethylated *SUPERMAN* epigenetic alleles in *Arabidopsis*. *Science* **277**, 1100–1103.
- Jarillo JA, Piñeiro M, Cubas P, Martínez-Zapater JM** (2009). Chromatin remodeling in plant development. *Int J Dev Biol* **53**, 1581–1596.
- Jiang S, Yi XW, Xu TL, Yang Y, Yu C, Luo L, Cheng TR, Wang J, Zhang QX, Pan HT** (2021). Genetic analysis of petal number in *Rosa*. *Plant Sci J* **39**, 142–151. (in Chinese)
- 姜珊, 易星湾, 徐庭亮, 杨艺, 于超, 罗乐, 程堂仁, 王佳, 张启翔, 潘会堂 (2021). 月季花瓣数量遗传分析. 植物科学学报 **39**, 142–151.
- Jing DL, Guo QG, Chen WW, Xia Y, Wu D, Dang JB, He Q, Liang GL** (2018). Model evolution and molecular mechanism of angiosperm flower development. *Plant Physiol J* **54**, 355–362. (in Chinese)
- 景丹龙, 郭启高, 陈薇薇, 夏燕, 吴嶙, 党江波, 何桥, 梁国鲁 (2018). 被子植物花器官发育的模型演变和分子调控. 植物生理学报 **54**, 355–362.
- Jones-Rhoades MW, Bartel DP** (2004). Computational identification of plant microRNAs and their targets, including a stress-induced miRNA. *Mol Cell* **14**, 787–799.
- Juntheikki-Palovaara I, Tähtiharju S, Lan TY, Broholm SK, Rijpkema AS, Ruonala R, Kale L, Albert VA, Teeri TH, Elomaa P** (2014). Functional diversification of duplicated *CYC2* clade genes in regulation of inflorescence development in *Gerbera hybrida* (Asteraceae). *Plant J* **79**, 783–796.
- Kagale S, Rozwadowski K** (2011). EAR motif-mediated transcriptional repression in plants: an underlying mechanism for epigenetic regulation of gene expression. *Epigenetics* **6**, 141–146.
- Kanno A, Saeki H, Kameya T, Saedler H, Theissen G** (2003). Heterotopic expression of class B floral homeotic genes supports a modified ABC model for tulip (*Tulipa gesneriana*). *Plant Mol Biol* **52**, 831–841.
- Kaufmann K, Melzer R, Theißen G** (2005). MIKC-type MADS-domain proteins: structural modularity, protein interactions and network evolution in land plants. *Gene* **347**, 183–198.
- Kaufmann K, Wellmer F, Muiño JM, Ferrier T, Wuest SE, Kumar V, Serrano-Mislata A, Madueño F, Krajewski P, Meyerowitz EM, Angenent GC, Riechmann JL** (2010). Orchestration of floral initiation by *APETALA1*. *Science* **328**, 85–89.
- Kermani MJ, Sarasan V, Roberts AV, Yokoya K, Wentworth J, Sieber VK** (2003). Oryzalin-induced chromosome doubling in *Rosa* and its effect on plant morphology and pollen viability. *Theor Appl Genet* **107**, 1195–1200.
- Kim M, Cui ML, Cubas P, Gillies A, Lee K, Chapman MA, Abbott RJ, Coen E** (2008). Regulatory genes control a key morphological and ecological trait transferred between species. *Science* **322**, 1116–1119.
- Kramer EM, Di Stilio VS, Schluter PM** (2003). Complex patterns of gene duplication in the *APETALA3* and *PIS-TILLATA* lineages of the Ranunculaceae. *Int J Plant Sci* **164**, 1–11.
- Krizek BA, Fletcher JC** (2005). Molecular mechanisms of

- flower development: an armchair guide. *Nat Rev Genet* **6**, 688–698.
- Krizek BA, Lewis MW, Fletcher JC** (2006). *RABBIT EARS* is a second-whorl repressor of *AGAMOUS* that maintains spatial boundaries in *Arabidopsis* flowers. *Plant J* **45**, 369–383.
- Krogan NT, Hogan K, Long JA** (2012). *APETALA2* negatively regulates multiple floral organ identity genes in *Arabidopsis* by recruiting the co-repressor *TOPELESS* and the histone deacetylase *HDA19*. *Development* **139**, 4180–4190.
- Kwon CS, Chen CB, Wagner D** (2005). *WUSCHEL* is a primary target for transcriptional regulation by *SPLAYED* in dynamic control of stem cell fate in *Arabidopsis*. *Genes Dev* **19**, 992–1003.
- Lampugnani ER, Kilinc A, Smyth DR** (2012). *PETAL LOSS* is a boundary gene that inhibits growth between developing sepals in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J* **71**, 724–735.
- Lampugnani ER, Kilinc A, Smyth DR** (2013). Auxin controls petal initiation in *Arabidopsis*. *Development* **140**, 185–194.
- Laufs P, Peaucelle A, Morin H, Traas J** (2004). MicroRNA regulation of the *CUC* genes is required for boundary size control in *Arabidopsis* meristems. *Development* **131**, 4311–4322.
- Laux T, Mayer KF, Berger J, Jürgens G** (1996). The *WUSCHEL* gene is required for shoot and floral meristem integrity in *Arabidopsis*. *Development* **122**, 87–96.
- Lenhard M, Bohnert A, Jürgens G, Laux T** (2001). Termination of stem cell maintenance in *Arabidopsis* floral meristems by interactions between *WUSCHEL* and *AGAMOUS*. *Cell* **105**, 805–814.
- Li K, Li YQ, Wang Y, Li YH, He JN, Li YJ, Du LS, Gao YR, Ma N, Gao JP, Zhou XF** (2022). Disruption of transcription factor *RhMYB123* causes the transformation of stamens to malformed petal in rose (*Rosa hybrida*). *Plant Cell Rep* **41**, 2293–2303.
- Li W, Xu QJ** (2014). Epigenetic research progress on flowering time and flower organ development in angiosperms. *Acta Hortic Sin* **41**, 1245–1256. (in Chinese)
- 李巍, 徐启江** (2014). 被子植物开花时间和花器官发育的表观遗传调控研究进展. *园艺学报* **41**, 1245–1256.
- Li X, Qin GJ, Chen ZL, Gu HY, Qu LJ** (2008). A gain-of-function mutation of transcriptional factor *PTL* results in curly leaves, dwarfism and male sterility by affecting auxin homeostasis. *Plant Mol Biol* **66**, 315–327.
- Li XL, Li JY, Fan ZQ, Liu ZC, Tanaka T, Yin HF** (2017). Global gene expression defines faded whorl specification of double flower domestication in *Camellia*. *Sci Rep* **7**, 3197.
- Lin ZY** (2019). Studies on the regulatory mechanism of floral organ petaloid in lotus (*Nelumbo nucifera*). Doctoral dissertation. Beijing: University of Chinese Academy of Sciences (Wuhan Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences). pp. 13–86. (in Chinese)
- 林钟员** (2019). 莲的花器官瓣化分子调控机制的研究. 博士论文. 北京: 中国科学院大学(中国科学院武汉植物园). pp. 13–86.
- Liu CY, Lu FL, Cui X, Cao XF** (2010). Histone methylation in higher plants. *Annu Rev Plant Biol* **61**, 395–420.
- Liu H, Sun M, Du DL, Pan HT, Cheng TR, Wang J, Zhang QX, Gao YK** (2016). Whole-transcriptome analysis of differentially expressed genes in the ray florets and disc florets of *Chrysanthemum morifolium*. *BMC Genomics* **17**, 398.
- Liu JY, Fu XD, Dong YW, Lu J, Ren M, Zhou NN, Wang CQ** (2018). *MIKC^C*-type MADS-box genes in *Rosa chinensis*: the remarkable expansion of ABCDE model genes and their roles in floral organogenesis. *Hortic Res* **5**, 25.
- Liu XG, Kim YJ, Müller R, Yumul RE, Liu CY, Pan YY, Cao XF, Goodrich J, Chen XM** (2011). *AGAMOUS* terminates floral stem cell maintenance in *Arabidopsis* by directly repressing *WUSCHEL* through recruitment of Polycomb group proteins. *Plant Cell* **23**, 3654–3670.
- Lohmann JU, Hong RL, Hobe M, Busch MA, Parcy F, Simon R, Weigel D** (2001). A molecular link between stem cell regulation and floral patterning in *Arabidopsis*. *Cell* **105**, 793–803.
- Luo Y, Guo ZH, Li L** (2013). Evolutionary conservation of microRNA regulatory programs in plant flower development. *Dev Biol* **380**, 133–144.
- Ma N, Chen W, Fan TG, Tian YR, Zhang S, Zeng DX, Li YH** (2015). Low temperature-induced DNA hypermethylation attenuates expression of *RhAG*, an *AGAMOUS* homolog, and increases petal number in rose (*Rosa hybrida*). *BMC Plant Biol* **15**, 237.
- Mandaokar A, Browse J** (2009). *MYB108* acts together with *MYB24* to regulate jasmonate-mediated stamen maturation in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* **149**, 851–862.
- Martínez-Gómez J, Galimba KD, Coté EY, Sullivan AM, Di Stilio VS** (2021). Spontaneous homeotic mutants and genetic control of floral organ identity in a ranunculid. *Evol Dev* **23**, 197–214.

- Mizzotti C, Fambrini M, Caporali E, Masiero S, Pugliesi C (2015). A *CYCLOIDEA*-like gene mutation in sunflower determines an unusual floret type able to produce filled achenes at the periphery of the pseudanthium. *Botany* **93**, 171–181.
- Muiño JM, de Bruijn S, Pajoro A, Geuten K, Vingron M, Angenent GC, Kaufmann K (2016). Evolution of DNA-binding sites of a floral master regulatory transcription factor. *Mol Biol Evol* **33**, 185–200.
- Nakatsuka T, Saito M, Yamada E, Fujita K, Yamagishi N, Yoshikawa N, Nishihara M (2015). Isolation and characterization of the C-class MADS-box gene involved in the formation of double flowers in Japanese gentian. *BMC Plant Biol* **15**, 182.
- Ng HH, Feng Q, Wang HB, Erdjument-Bromage H, Tempst P, Zhang Y, Struhl K (2002). Lysine methylation within the globular domain of histone H3 by Dot1 is important for telomeric silencing and Sir protein association. *Genes Dev* **16**, 1518–1527.
- Ng K, Yu H, Ito T (2009). AGAMOUS controls *GIANT KILLER*, a multifunctional chromatin modifier in reproductive organ patterning and differentiation. *PLoS Biol* **7**, e1000251.
- Ning GG, Shi XP, Hu HR, Yan Y, Bao MZ (2009). Development of a range of polyploid lines in *Petunia hybrida* and the relationship of ploidy with the single-/double-flower trait. *HortScience* **44**, 250–255.
- Noor SH, Ushijima K, Murata A, Yoshida K, Tanabe M, Tanigawa T, Kubo Y, Nakano R (2014). Double flower formation induced by silencing of C-class MADS-box genes and its variation among petunia cultivars. *Sci Hortic* **178**, 1–7.
- Ó'Maoiléidigh DS, Wuest SE, Rae L, Raganelli A, Ryan PT, Kwaśniewska K, Das P, Lohan AJ, Loftus B, Graciet E, Wellmer F (2013). Control of reproductive floral organ identity specification in *Arabidopsis* by the C function regulator AGAMOUS. *Plant Cell* **25**, 2482–2503.
- Pajoro A, Madrigal P, Muiño JM, Matus JT, Jin J, Metchia MA, Debernardi JM, Palatnik JF, Balazadeh S, Arif M, Ó'Maoiléidigh DS, Wellmer F, Krajewski P, Riechmann JL, Angenent GC, Kaufmann K (2014). Dynamics of chromatin accessibility and gene regulation by MADS-domain transcription factors in flower development. *Genome Biol* **15**, 1–19.
- Pan ZJ, Cheng CC, Tsai WC, Chung MC, Chen WH, Hu JM, Chen HH (2011). The duplicated B-class MADS-box genes display dualistic characters in orchid floral organ identity and growth. *Plant Cell Physiol* **52**, 1515–1531.
- Pelaz S, Ditta GS, Baumann E, Wisman E, Yanofsky MF (2000). B and C floral organ identity functions require *SEPALLATA* MADS-box genes. *Nature* **405**, 200–203.
- Peng LP, Li Y, Tan WQ, Wu SW, Hao Q, Tong NN, Wang ZY, Liu Z, Shu QY (2023). Combined genome-wide association studies and expression quantitative trait locus analysis uncovers a genetic regulatory network of floral organ number in a tree peony (*Paeonia suffruticosa* Andrews) breeding population. *Hortic Res* **10**, uhad110.
- Pien S, Grossniklaus U (2007). *Polycomb* group and *trithorax* group proteins in *Arabidopsis*. *Biochim Biophys Acta* **1769**, 375–382.
- Prunet N, Morel P, Thierry AM, Eshed Y, Bowman JL, Negrutiu I, Trehin C (2008). *REBELOTE*, *SQUINT*, and *ULTRAPETALA1* function redundantly in the temporal regulation of floral meristem termination in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell* **20**, 901–919.
- Prunet N, Yang WB, Das P, Meyerowitz EM, Jack TP (2017). *SUPERMAN* prevents class B gene expression and promotes stem cell termination in the fourth whorl of *Arabidopsis thaliana* flowers. *Proc Natl Acad Sci USA* **114**, 7166–7171.
- Quon TL, Lampugnani ER, Smyth DR (2017). *PETAL LOSS* and *ROXY1* interact to limit growth within and between sepals but to promote petal initiation in *Arabidopsis thaliana*. *Front Plant Sci* **8**, 152.
- Reyes JC, Hennig L, Gruijssem W (2002). Chromatin-re-modeling and memory factors. New regulators of plant development. *Plant Physiol* **130**, 1090–1101.
- Rodriguez K, Perales M, Snipes S, Yadav RK, Diaz-Mendoza M, Reddy GV (2016). DNA-dependent homodimerization, sub-cellular partitioning, and protein destabilization control *WUSCHEL* levels and spatial patterning. *Proc Natl Acad Sci USA* **113**, E6307–E6315.
- Running MP, Meyerowitz EM (1996). Mutations in the *PERIANTHIA* gene of *Arabidopsis* specifically alter floral organ number and initiation pattern. *Development* **122**, 1261–1269.
- Sakai H, Medrano LJ, Meyerowitz EM (1995). Role of *SUPERMAN* in maintaining *Arabidopsis* floral whorl boundaries. *Nature* **378**, 199–203.
- Salamah A, Prihatiningsih R, Rostina I, Dwiranti A (2018). Comparative morphology of single and double flowers in *Hibiscus rosa-sinensis* L. (Malvaceae): a homeosis study. *AIP Conf Proc* **2023**, 020136.
- Sasaki K, Yamaguchi H, Nakayama M, Aida R, Ohtsubo

- N (2014). Co-modification of class B genes *TfDEF* and *TfGLO* in *Torenia fournieri* Lind. alters both flower morphology and inflorescence architecture. *Plant Mol Biol* **86**, 319–334.
- Schoof H, Lenhard M, Haecker A, Mayer KFX, Jürgens G, Laux T (2000). The stem cell population of *Arabidopsis* shoot meristems is maintained by a regulatory loop between the *CLAVATA* and *WUSCHEL* genes. *Cell* **100**, 635–644.
- Soltis DE, Chanderbali AS, Kim S, Buzgo M, Soltis PS (2007). The ABC model and its applicability to basal angiosperms. *Ann Bot* **100**, 155–163.
- Song SS, Qi TC, Huang H, Ren QC, Wu DW, Chang CQ, Peng W, Liu YL, Peng JR, Xie DL (2011). The jasmonate-ZIM domain proteins interact with the R2R3-MYB transcription factors MYB21 and MYB24 to affect jasmonate-regulated stamen development in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **23**, 1000–1013.
- Spencer V, Kim M (2018). Re“CYC”ling molecular regulators in the evolution and development of flower symmetry. *Semin Cell Dev Biol* **79**, 16–26.
- Sui MJ, Yan HJ, Wang ZZ, Qiu XQ, Jian HY, Wang QG, Chen M, Zhang H, Tang KX (2019). Identification of microRNA associated with flower organ development in *Rosa chinensis* ‘Viridiflora’. *Plant Sci J* **37**, 37–46. (in Chinese)
- 睦梦洁, 晏慧君, 王珍珍, 邱显钦, 蹇洪英, 王其刚, 陈敏, 张颢, 唐开学 (2019). 月季‘绿萼’花器官发育相关microRNA的鉴定及分析. 植物科学学报 **37**, 37–46.
- Sun B, Xu YF, Ng KH, Ito T (2009). A timing mechanism for stem cell maintenance and differentiation in the *Arabidopsis* floral meristem. *Genes Dev* **23**, 1791–1804.
- Sun FH, Fang HY, Wen XH, Zhang LS (2023). Phylogenetic and expression analysis of MADS-box gene family in *Rhododendron ovatum*. *Chin Bull Bot* **58**, 404–416. (in Chinese)
- 孙福辉, 方慧仪, 温小蕙, 张亮生 (2023). 马银花MADS-box基因家族系统进化与表达分析. 植物学报 **58**, 404–416.
- Sun KR, Xue YQ, Prijic Z, Wang SL, Markovic T, Tian CH, Wang YY, Xue JQ, Zhang XX (2022). DNA demethylation induces tree peony flowering with a low deformity rate compared to gibberellin by inducing *PsFT* expression under forcing culture conditions. *Int J Mol Sci* **23**, 6632.
- Sun QW, Zhou DX (2008). Rice jmjC domain-containing gene *JMJ706* encodes H3K9 demethylase required for floral organ development. *Proc Natl Acad Sci USA* **105**, 13679–13684.
- Sun YK, Li JY, Yin HF, Fan ZQ, Zhou XW (2013). Cloning and expression analysis of C function *CjAGL6* gene cDNA from *Camellia japonica* ‘Jinpanlizhi’. *Bull Bot Res* **33**, 330–338. (in Chinese)
- 孙迎坤, 李纪元, 殷恒福, 范正琪, 周兴文 (2013). 重瓣山茶花‘金盘荔枝’ C功能基因*CjAGL6*的全长克隆与表达分析. 植物研究 **33**, 330–338.
- Tähtiharju S, Rijpkema AS, Vetterli A, Albert VA, Teeri TH, Elomaa P (2012). Evolution and diversification of the *CYC/ITB1* gene family in Asteraceae—a comparative study in *Gerbera* (Mutisieae) and sunflower (Heliantheae). *Mol Biol Evol* **29**, 1155–1166.
- Takeda S, Matsumoto N, Okada K (2004). *RABBIT EARS*, encoding a SUPERMAN-like zinc finger protein, regulates petal development in *Arabidopsis thaliana*. *Development* **131**, 425–434.
- Tang RH, Zhang JC, Zhuang WJ, Wu WR (2003). Progress of the *SUPERMAN* epigenetic mutation in *Arabidopsis*. *Hereditas* **25**, 620–622. (in Chinese)
- 唐荣华, 张君诚, 庄伟建, 吴为人 (2003). 拟南芥*SUPERMAN*基因表观突变的研究进展. 遗传 **25**, 620–622.
- Theißen G (2001). Development of floral organ identity: stories from the MADS house. *Curr Opin Plant Biol* **4**, 75–85.
- Theißen G, Melzer R, Rümpler F (2016). MADS-domain transcription factors and the floral quartet model of flower development: linking plant development and evolution. *Development* **143**, 3259–3271.
- Theißen G, Saedler H (2001). Floral quartets. *Nature* **409**, 469–471.
- Thomson B, Wellmer F (2019). Molecular regulation of flower development. *Curr Top Dev Biol* **131**, 185–210.
- Thomson B, Zheng BB, Wellmer F (2017). Floral organogenesis: when knowing your ABCs is not enough. *Plant Physiol* **173**, 56–64.
- van Tunen AJ, Eikelboom W, Angenent GC (1993). Floral organogenesis in *Tulipa*. *Flowering News* (16), 33–35, 37–38.
- Varga-Weisz P (2001). ATP-dependent chromatin remodeling factors: nucleosome shufflers with many missions. *Oncogene* **20**, 3076–3085.
- Wade PA (2001). Methyl CpG binding proteins: coupling chromatin architecture to gene regulation. *Oncogene* **20**, 3166–3173.
- Wang JD, Zhou Y, Yu JW, Fan XL, Zhang CQ, Li QF, Liu QQ (2020). Advances in the regulation of plant growth and development and stress response by miR172-AP2 module. *Chin Bull Bot* **55**, 205–215. (in Chinese)

- 王劲东, 周豫, 余佳雯, 范晓磊, 张昌泉, 李钱峰, 刘巧泉 (2020). miR172-AP2模块调控植物生长发育及逆境响应的研究进展. *植物学报* **55**, 205–215.
- Wellmer F, Graciet E, Riechmann JL (2014). Specification of floral organs in *Arabidopsis*. *J Exp Bot* **65**, 1–9.
- Wen XH (2019). The construction of genetic network underlying ray and disc florets on capitulum in *Chrysanthemum lavandulifolium*. Doctoral dissertation. Beijing: Beijing Forestry University. pp. 69–92. (in Chinese)
- 温小慧 (2019). 甘菊头状花序上舌状花和管状花发育调控网络的构建. 博士论文. 北京: 北京林业大学. pp. 69–92.
- Wen XH, Qi S, Huang H, Wu XY, Zhang BH, Fan GX, Yang LW, Hong Y, Dai SL (2019). The expression and interactions of ABCE-class and CYC2-like genes in the capitulum development of *Chrysanthemum lavandulifolium* and *C. × morifolium*. *Plant Growth Regul* **88**, 205–214.
- Wu F, Shi XW, Lin XL, Liu Y, Chong K, Theissen G, Meng Z (2017). The ABCs of flower development: mutational analysis of *AP1/FUL*-like genes in rice provides evidence for a homeotic (A)-function in grasses. *Plant J* **89**, 310–324.
- Wu MF, Sang Y, Bezhani S, Yamaguchi N, Han SK, Li ZT, Su YH, Slewinski TL, Wagner D (2012). SWI2/SNF2 chromatin remodeling ATPases overcome polycomb repression and control floral organ identity with the LEAFY and SEPALLATA3 transcription factors. *Proc Natl Acad Sci USA* **109**, 3576–3581.
- Wuest SE, O' Maoileidigh DS, Rae L, Kwasniewska K, Raganelli A, Hanczaryk K, Lohan AJ, Loftus B, Graciet E, Wellmer F (2012). Molecular basis for the specification of floral organs by APETALA3 and PISTILLATA. *Proc Natl Acad Sci USA* **109**, 13452–13457.
- Xia Y, Shi M, Chen WW, Hu RQ, Jing DL, Wu D, Wang SM, Li QF, Deng HH, Guo QG, Liang GL (2020). Expression pattern and functional characterization of *PIS-TILLATA* ortholog associated with the formation of petaloid sepals in double-flower *Eriobotrya japonica* (Rosaceae). *Front Plant Sci* **10**, 1685.
- Xiong YY, Wang J (2019). Review of the research progress and prospect of double petals. *Nor Hortic* (9), 153–158. (in Chinese)
- 熊阳阳, 王锦 (2019). 重瓣花研究进展与展望. *北方园艺* (9), 153–158.
- Xu F, Zhang KL, Grunstein M (2005). Acetylation in histone H3 globular domain regulates gene expression in yeast. *Cell* **121**, 375–385.
- Xu YF, Prunet N, Gan ES, Wang YB, Stewart D, Wellmer F, Huang JB, Yamaguchi N, Tatsumi Y, Kojima M, Kiba T, Sakakibara H, Jack TP, Meyerowitz EM, Ito T (2018). SUPERMAN regulates floral whorl boundaries through control of auxin biosynthesis. *EMBO J* **37**, e97499.
- Yadav RK, Girke T, Pasala S, Xie MT, Reddy GV (2009). Gene expression map of the *Arabidopsis* shoot apical meristem stem cell niche. *Proc Natl Acad Sci USA* **106**, 4941–4946.
- Yadav RK, Perales M, Gruel J, Girke T, Jönsson H, Reddy GV (2011). WUSCHEL protein movement mediates stem cell homeostasis in the *Arabidopsis* shoot apex. *Genes Dev* **25**, 2025–2030.
- Yan HJ, Shi SC, Ma N, Cao XQ, Zhang H, Qiu XQ, Wang QG, Jian HY, Zhou NN, Zhang Z, Tang KX (2018). Graft-accelerated virus-induced gene silencing facilitates functional genomics in rose flowers. *J Integr Plant Biol* **60**, 34–44.
- Zahn LM, Kong HZ, Leebens-Mack JH, Kim S, Soltis PS, Landherr LL, Soltis DE, Depamphilis CW, Ma H (2005). The evolution of the SEPALLATA subfamily of MADS-box genes: a preangiosperm origin with multiple duplications throughout angiosperm history. *Genetics* **169**, 2209–2223.
- Zaret KS, Mango SE (2016). Pioneer transcription factors, chromatin dynamics, and cell fate control. *Curr Opin Genet Dev* **37**, 76–81.
- Zhang CL, Wei LD, Yu XM, Li H, Wang WJ, Wu SZ, Duan F, Bao MZ, Chan Z, He YH (2021). Functional conservation and divergence of *SEPALLATA*-like genes in the development of two-type florets in marigold. *Plant Sci* **309**, 110938.
- Zhang DY, Zhao XW, Li YY, Ke SJ, Yin WL, Lan SR, Liu ZJ (2022). Advances and prospects of orchid research and industrialization. *Hortic Res* **9**, uhac220.
- Zhang JH, Zhang SG, Qi LW, Tong ZK (2014). Research advances in post-transcriptional modification and degradation of mature microRNAs in plants. *Chin Bull Bot* **49**, 483–489. (in Chinese)
- 张俊红, 张守攻, 齐力旺, 童再康 (2014). 植物成熟microRNA转录后修饰与降解的研究进展. *植物学报* **49**, 483–489.
- Zhang K, Guo XX, Liu XG, Guo L (2018). Advances in research on floral meristem determinacy mechanisms in plants. *Chin J Eco-Agricul* **26**, 1573–1584. (in Chinese)
- 张科, 郭鑫鑫, 刘西岗, 郭琳 (2018). 植物花分生组织终止发育机制的研究进展. *中国生态农业学报* **26**, 1573–1584.
- Zhang LW, Eugeni EE, Parthun MR, Freitas MA (2003).

Identification of novel histone post-translational modifications by peptide mass fingerprinting. *Chromosoma* **112**, 77–86.

Zhang T, Zhao YF, Juntheikki I, Mouhu K, Broholm SK, Rijpkema AS, Kins L, Lan TY, Albert VA, Teeri TH, Elomaa P (2017). Dissecting functions of *SEPALLATA*-like MADS box genes in patterning of the pseudanthial inflorescence of *Gerbera hybrida*. *New Phytol* **216**, 939–954.

Zhao YF, Broholm SK, Wang F, Rijpkema AS, Lan TY, Albert VA, Teeri TH, Elomaa P (2020). TCP and MADS-box transcription factor networks regulate heteromorphic flower type identity in *Gerbera hybrida*. *Plant Physiol* **184**, 1455–1468.

Zhao YQ, Liu QL (2009). Research advances in the forma-

tion mechanism and genetic characters of double flowers. *Acta Bot Boreal Occident Sin* **29**, 832–841. (in Chinese)

赵印泉, 刘青林 (2009). 重瓣花的形成机理及遗传特性研究进展. 西北植物学报 **29**, 832–841.

Zhao YX, Medrano L, Ohashi K, Fletcher JC, Yu H, Sakai H, Meyerowitz EM (2004). HANABA TARANU is a GATA transcription factor that regulates shoot apical meristem and flower development in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **16**, 2586–2600.

Zheng GH, Wei W, Li YP, Kan LJ, Wang FX, Zhang X, Li F, Liu ZC, Kang CY (2019). Conserved and novel roles of *miR164-CUC2* regulatory module in specifying leaf and floral organ morphology in strawberry. *New Phytol* **224**, 480–492.

Molecular Mechanism of Petal Doubling of Flower in Angiosperm

Wen Chen^{†*}, Yingying Zhou[†], Ping Luo, Yongyi Cui

Collaborative Innovation Center for Efficient and Green Production of Agriculture in Mountainous Areas of Zhejiang Province, Key Laboratory of Quality and Safety Control for Subtropical Fruit and Vegetable, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, College of Horticulture Science, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, China

Abstract Double flower is characterized by the increase in the number of petals, the folding of petal or the increase in area of petal, which usually has higher ornamental and economic value. Focusing on the increased number of petal and petal-like organ in double flower, we summarized and discussed the molecular mechanism of the formation of double flower in some model plants and ornamental plants, including the key transcription factors and the epigenetic modifications such as miRNAs, DNA methylation, histone modification and chromatin remodeling involved in the regulation of petal number. And based on this, we discussed the developing trend of the future research.

Key words double flower, epigenetic modification, floral organ development, MADS-box, transcription factor

Chen W, Zhou YY, Luo P, Cui YY (2024). Molecular mechanism of petal doubling of flower in angiosperm. *Chin Bull Bot* **59**, 257–277.

[†] These authors contributed equally to this paper

* Author for correspondence. E-mail: askcw2005@zafu.edu.cn