

## 异源表达甘菊 *CIDEL1* 基因影响拟南芥花瓣形态建成

张梅<sup>1</sup>, 刘波<sup>2</sup>, 王亚慧<sup>1</sup>, 张鹏<sup>1</sup>, 王志敏<sup>1</sup>, 包志龙<sup>1</sup>, 马方放<sup>1\*</sup>

1. 山东农业大学园艺科学与工程学院, 山东泰安 271018

2. 诸城市农业技术推广中心, 山东潍坊 262199

**摘要:** 菊花是一种典型的以头状花序为观赏部位的菊属植物, 其花序发育受到复杂的基因调控网络控制, 其中细胞周期调控因子在花型多样性形成过程中具有重要作用。 *DEL1* (*DP-E2F-like 1*) 基因属于 E2F 转录因子家族, 该基因在拟南芥中被证明在细胞周期调控和植物生长发育过程中发挥重要作用。然而, 目前尚无关于菊花同源基因 *DEL1* 的生物学功能研究的报道。本研究以菊属植物分子研究的模式植物甘菊 (*Chrysanthemum lavandulifolium*) 为试材, 参考拟南芥 *DEL1* 蛋白序列, 克隆并鉴定了甘菊同源基因 *CIDEL1*。 *CIDEL1* 含有两个保守结构域, 定位于细胞核。通过 RT-qPCR 分析 *CIDEL1* 在甘菊根、茎、叶、舌状花和管状花中表达的表达模式, 该基因在舌状花中的表达量最高, 其次是茎、叶和管状花, 在根中的表达量最低。异源过表达 *CIDEL1* 对拟南芥的莲座叶形态影响不显著, 但显著抑制了拟南芥花瓣的生长, 致使花瓣面积变小。基于对拟南芥 *AtDEL1* 突变体及其回补株系的表型分析, 本研究证实了甘菊 *CIDEL1* 与 *AtDEL1* 是功能保守的同源基因, 二者在调控细胞分裂与扩张中表现出相似的生物学功能。细胞学的证据表明 *CIDEL1* 通过抑制细胞分裂和促进细胞扩张来参与调控拟南芥花瓣的形态建成。

**关键词:** 甘菊; 花瓣发育; *CIDEL1*; 细胞分裂; 细胞扩张

中图分类号: S682.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-2324(2025)06-0997-13

## Heterologous Expression of *Chrysanthemum lavandulifolium* *CIDEL1* Gene Affects Petal Morphogenesis in *Arabidopsis thaliana*

ZHANG Mei<sup>1</sup>, LIU Bo<sup>2</sup>, WANG Ya-hui<sup>1</sup>, ZHANG Peng<sup>1</sup>, WANG Zhi-min<sup>1</sup>,  
BAO Zhi-long<sup>1</sup>, MA Fang-fang<sup>1\*</sup>

1. College of Horticulture Science and Engineering/Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, China

2. Agricultural Technology Extension Center of Zhucheng city, Zhucheng 262199, China

**Abstract:** *Chrysanthemum* is a typical species of the genus *Chrysanthemum* with capitula as its ornamental parts. Its inflorescence development is controlled by a complex gene regulatory network, in which cell cycle regulators play an important role in the formation of inflorescence diversity. *DEL1* (*DP-E2F-like 1*), a member of the *E2F* transcription factor family, has been demonstrated to play a significant role in cell cycle regulation and plant growth and development in *Arabidopsis thaliana*. However, there have been no reports to date on the biological function of the homologous gene *DEL1* in *Chrysanthemums*. Using *Chrysanthemum lavandulifolium* as the experimental material, a model plant for molecular research in the *Chrysanthemum* genus, this study clones and identifies the homologous gene *CIDEL1* in *Chrysanthemum lavandulifolium*, with reference to the *DEL1* protein sequence of *Arabidopsis*. *CIDEL1* contains two conserved domains, localized in the nucleus. Through RT-qPCR, this study analyzes the expression pattern of *CIDEL1* in the roots, stems, leaves, ray florets, and tubular florets of *Chrysanthemum lavandulifolium*. The results show that *CIDEL1* exhibits the highest expression level in the ray florets, followed by stems, leaves, and disc florets, while the lowest in roots. Heterologous overexpression of *CIDEL1* has no significant effect on the rosette leaf morphology of *Arabidopsis thaliana*, but it significantly inhibits the growth of *Arabidopsis thaliana* petals, resulting in a reduction in petal area. Based on the phenotypic analysis of *Arabidopsis thaliana* *AtDEL1* mutants and their complementation lines, this study confirms that *CIDEL1* in *Chrysanthemum lavandulifolium* and *AtDEL1* are functionally conserved homologous genes, both exhibiting similar biological functions in regulating cell division and expansion. Cytological evidence further indicates that *CIDEL1* is involved in regulating petal morphogenesis in *Arabidopsis thaliana* by inhibiting cell division and promoting cell expansion.

**Keywords:** *Chrysanthemum lavandulifolium*; petal development; *CIDEL1*; cell division; cell expansion

收稿日期: 2025-01-21

修回日期: 2025-11-14

基金项目: 泰山学者青年专家项目 (tsqn201909073)

第1作者简介: 张梅 (1998-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 菊花发育。E-mail: 1021264310@qq.com

\*通讯作者: Author for correspondence. E-mail: fma@sdau.edu.cn

菊花(*Chrysanthemum × morifolium*)是一种传统的观赏花卉,在世界鲜切花贸易中交易量仅次于月季。菊花的头状花序包含外围呈放射状的舌状花和中间的管状花。舌状花的花冠完全展开,管状花(或称筒状花)的花冠则连合成管状。菊花的瓣型是菊花花型分类的第一级标准,舌状花的形态与相对数量的不同组合共同决定了菊花的瓣型多样性<sup>[1,2]</sup>。因此,揭示舌状花形态建成机制有助于提高菊花的观赏价值和经济价值。

花发育是一个复杂的过程,基于拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)和金鱼草(*Antirrhinum majus* L.)花发育的ABC模型的研究,发现ABCE基因同样调控菊科植物的头状花序的发育<sup>[3-5]</sup>。通过对不同瓣型菊花的形态特征进行系统观察,并结合转录组分析及基因表达分析,发现CYCLOIDEA2(CYC2s)、MADS-box基因、NAC和LOB基因家族,以及与植物激素信号相关的基因共同参与调控菊花花瓣的发育过程。这些基因通过协同作用影响舌状花的形态建成,从而决定菊花瓣型的多样性<sup>[6-9]</sup>。而细胞周期作为细胞分裂与延伸的基础,是影响花器官发育的关键内在因素。花瓣形态发生差异一方面归因于原基分化初期细胞分裂速率的不同,另一方面可能产生于细胞分裂后阶段由膨压驱动及细胞壁重塑介导的差异性扩张过程<sup>[8]</sup>,两者共同构成植物花器官形态建成的关键调控节点,且受细胞周期相关基因的调控<sup>[10]</sup>。E2Fs是一类重要的转录因子,广泛参与细胞周期调控。其具有保守的DNA结合结构域,并与二聚化伴侣(DP)蛋白结合,形成异二聚体复合物。该复合物能够与多种靶基因的启动子结合,调控其表达,E2F-DP异二聚体复合物通过调控DNA复制及细胞周期相关基因的转录,从而精确控制细胞周期的进程<sup>[11,12]</sup>。在模式植物拟南芥中,已经鉴定出三种典型E2F蛋白(E2Fa、E2Fb和E2Fc),同时发现三种非典型E2F蛋白,被命名为DP-E2F-like(DEL1/E2Fe、DEL2/E2Fd和DEL3/E2Ff)<sup>[13-16]</sup>。

DEL1是非典型E2F家族成员,其特征在于拥有两个DNA结合结构域(DBD),不同于典型E2F转录因子,它不依赖与DP蛋白结合形成异二聚体,单体即可结合DNA发挥调控作用<sup>[17]</sup>。在植物中,DEL1在G1-S和G2-M转换期的表达

量最高,但在S期不表达<sup>[15,18]</sup>。在拟南芥中,DEL1通过抑制内复制来维持细胞分裂活性,然而其水平表达过高时会抑制有丝分裂。DEL1通过调控细胞分裂与扩张的平衡进而控制细胞增殖、细胞大小、细胞核内周期。此外,DEL1在DNA损伤下的细胞凋亡反应中发挥着正向促进的作用<sup>[12,18-20]</sup>。研究表明,DEL1蛋白可能通过调控SDG713基因的表达,参与水稻颖壳、叶片和茎秆上表皮毛的形成或发育<sup>[21]</sup>;此外,DEL1可以通过与其他E2F家族成员协同作用,影响玉米种子的萌发过程<sup>[22]</sup>。目前DEL1调控菊花花瓣形态的分子机制尚不明确,研究其作用将完善植物器官发育理论体系,兼具理论创新与潜在应用价值。

菊花的遗传背景复杂,且多为多倍体和非整倍体;而菊属植物甘菊(*Chrysanthemum lavandulifolium*)为二倍体,为典型的短日照植物,是研究菊属植物的理想模式材料<sup>[23,24]</sup>。本研究对甘菊同源CIDEL1基因的生物信息学进行预测,并从甘菊中克隆了CIDEL1基因,异源过表达至拟南芥并观察转基因株系的莲座叶和花器官表型,同时产生了拟南芥AtDEL1敲除突变体及其基因回补株系并对其表型进行分析。通过研究CIDEL1基因在花瓣发育过程中的作用,为菊花瓣型的分子育种提供了基因储备。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

拟南芥种子种植于草炭和蛭石1:1的基质中,在培养箱中培养(光照培养24℃,16h;黑暗培养20℃,8h;光照强度为100 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>,相对湿度约50%)。

### 1.2 CIDEL1基因的克隆

在拟南芥基因组数据库(<https://arabidopsis.org/>)中获取拟南芥DEL1蛋白序列,利用此序列在菊花基因组数据库(<http://210.22.121.250:8880/asteraceae/homePage>)中获得CIDEL1(EVM0034034)基因序列,通过NCBI网站BLAST设计特异性引物(CIDEL1-F: ATGGCGCTACAAACACCTTC; CIDEL1-R: AATTGCTCCAATTGGATCCA)对基因进行扩增,经琼脂糖凝胶电泳分离并纯化PCR扩增产物,采用同源重组的技术将其定向插入

pC414载体,经热激法将重组质粒转化至TOP10大肠感受态细胞,经含卡那霉素的LB平板筛选后获得阳性重组克隆。经菌落PCR验证后选取单克隆通过Sanger测序,确认得到正确的*CIDE1*全长序列。

### 1.3 *CIDE1* 基因的生物信息学分析

利用NCBI获取*CIDE1*在其他物种的同源蛋白序列,使用DNAMAN软件计算蛋白序列相似度,通过MEGA X软件进行系统发育分析;利用Expasy ProtParam (ProtParam - SIB Swiss Institute of Bioinformatics|Expasy)对蛋白质理化性质进行分析;利用SOPMA ([https://npsa.lyon.inserm.fr/cgi-bin/npsa\\_automat.pl?page=NPSA/npsa\\_sopma.html](https://npsa.lyon.inserm.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=NPSA/npsa_sopma.html))进行蛋白质二级结构预测;利用SWISS-MODEL (<https://swissmodel.expasy.org/>)进行蛋白质三维结构预测。

### 1.4 *CIDE1* 基因的表达模式分析

1.4.1 亚细胞定位 采用Gateway克隆技术将PC414-*CIDE1*入门载体质粒中的目标片段通过LR重组反应定向整合至pGWB402Ω-GFP终级载体。通过电击法将重组质粒pGWB402Ω-GFP-*CIDE1*转化至农杆菌株GV3101。选取经菌落PCR验证过的阳性克隆与携带P19辅助农杆菌在添加相应抗生素的LB中过夜活化,离心收集菌体。以包含10 mM MgCl<sub>2</sub>、10 mM MES和100 mM 乙酰丁香酮的侵染缓冲液重悬至OD<sub>600</sub>=0.8,然后按照体积1:1混合悬浊液,采用1 ml无针注射器将混合菌液注射入4周龄完全展开的烟草叶片中。注射后暗培养2 d,取烟草下表皮并滴加DAPI进行细胞核染色,通过荧光显微镜(尼康, Ni-U, 日本)检测在波长488 nm时的GFP信号和波长在461 nm的DAPI信号,并通过多通道图像叠加分析蛋白与细胞核的定位关系。

1.4.2 组织特异性表达 利用RNA提取盒VeZol Reagent(诺唯赞)对两周龄拟南芥叶片及甘菊不同组织的样品提取RNA,用cDNA反转录试剂盒(诺唯赞, R212-01/02)反转录获取cDNA,并置于-20℃冰箱保存备用。根据*CIDE1*基因序列设计荧光定量引物(*CLDE1*-QF: CCGACTC GGACATGCTTTCT; *CLDE1*-QR: TACCCACCCA CCTAAAGGCA),并以*CmUbi* (MW344371.1) (*CmUbi*-F: CTAATGAATGCTTACTGTGACCGAC;

*CmUbi*-R: AGGCGAATCATCAGTACCAAGTG)作为内参,利用荧光定量试剂盒(诺唯赞, Q711-02/03)在实时荧光定量PCR仪(applied biosystems, A28132, 美国)上进行RT-qPCR分析,每个植物组织3次生物学重复,基因的相对表达量通过2<sup>-ΔΔCt</sup>法进行计算。

### 1.5 拟南芥转基因材料的获得及表型分析

1.5.1 拟南芥转基因植株的获得 通过浸花法进行拟南芥遗传转化<sup>[25]</sup>。利用含有50 mg/L Kan的MS培养基播种筛选,筛选得到的转基因植株通过PCR验证,过表达植株通过过表达验证引物(35S promoter-F: CTATCCTTCGCAAGACCCTTC; *CLDE1*-R: AATTGCTCCAATTGGATCCA)验证;*dell*突变植株通过CRISPR-Cas9敲除表达载体验证引物(F: TGTCCCAGGATTAGAATGATTA GGC; R: AGCCCTCTTCTTTTCGATCCATCAAC)和特异性敲除靶点序列验证引物(*CLDE1*-TDF: ATCGTTTGGTCAACCATGTC; *CLDE1*-TDR: TTTGGAGGGATCTGAAGATTGGG)进行验证;回补株系同时验证异源表达载体与敲除载体,以确认*CIDE1*的异源表达及*AtDE1*靶点的有效敲除。

1.5.2 拟南芥转基因植株外观表型分析 通过普通光学立式显微镜(明美, MZ101, 中国)采集记录盛花期拟南芥花瓣形态信息。将花瓣样品经脱色处理液(无水乙醇:冰乙酸=1:1)浸渍20 min,待其组织结构透明化且细胞壁界限分明时,直接压片制备显微标本片,继而通过普通光学显微镜(明美, ML31, 中国)进行拟南芥花瓣细胞形态的观察和图像采集。并通过ImageJ (<https://imagej.nih.gov/ij/>)软件测量花瓣和细胞的相关表型数据,每10朵花作为一个重复,至少3个生物学重复。

1.5.3 拟南芥转基因植株细胞周期测定 花瓣中核DNA倍性的测量是用CytoFLEX流式细胞仪测定,样品在“Aru”缓冲液中切碎,使用碘化丙啶染色,通过流式细胞仪收集不低于5 000个细胞核进行细胞周期测定<sup>[26]</sup>。核内周期指数(endocycle index, EI)的计算使用该公式, EI=(2C% × 0 + 4C% × 1 + 8C% × 2 + 16C% × 3 + 32C% × 4)。

### 1.6 数据分析

本研究使用 ImageJ 软件采集表型数据,利用 Microsoft Excel 软件作图,用 IBM SPSS Statistics 软件的单因素的邓肯检验或 T 检验进行显著性差异分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 CIDE1 的生物信息学分析

2.1.1 CIDE1 基因克隆及蛋白质三维结构预测  
参照拟南芥及菊花基因组数据库,设计了针对甘菊 DEL1 基因的特异性引物,并成功克隆获得 1 104 bp 的全长序列,编码 368 个氨基酸,与甘菊 DEL1 参考序列一致。利用 ExPASy ProtParam 分析 CIDE1 和 AtDEL1 蛋白的理化性质,发现 CIDE1 相对分子质量 41 192.89,理论等电点 8.69,不稳定系数 39.07,属于稳定蛋白,脂肪系

数为 83.53,GRAVY 值为 -0.487;而 AtDEL1 相对分子质量 45 460.61,理论等电点 7.77,不稳定系数 57.32,属于不稳定蛋白,脂肪系数为 70.17,GRAVY 值为 -0.746(表 1)。利用 SOPMA 软件分析 CIDE1 和 AtDEL1 蛋白二维结构,结果表明 CIDE1 蛋白二级结构由  $\alpha$ -螺旋(43.92%)、折叠延伸链(4.71%)、 $\beta$ -转角(0.00%)和无规卷曲(51.36%)组成;而 AtDEL1 蛋白二维结构由  $\alpha$ -螺旋(42.66%)、折叠延伸链(5.16%)、 $\beta$ -转角(0.00%)和无规卷曲(52.17%)组成(表 2)。通过 SWISS-MODEL 在线网站对甘菊和拟南芥的 DEL1 蛋白质三维结构进行预测,CIDE1 和 AtDEL1 均以 Met 氨基酸为序列起始,并且均包含 E2F-TDP 重复保守结构域(图 1)。以上结果表明,CIDE1 和 AtDEL1 蛋白三级结构预测结果与二级结构预测结果一致,且 CIDE1 和 AtDEL1 蛋白具有高度相似性。

表 1 拟南芥与甘菊 DEL1 的基因信息

Table 1 Gene information of DEL1 in *Arabidopsis thaliana* and *Chrysanthemum lavandulifolium*

基因名	基因 ID	氨基酸长度/aa	相对分子质量/Da	等电点	不稳定系数	脂肪系数	疏水性
Gene name	Gene ID	Number of amino acids	Molecular weight	Theoretical pI	Instability index	Aliphatic index	GRAVY
AtDEL1	AT3G48160.237	403	45 460.61	7.77	57.32	70.17	-0.746
CIDE1	CHR00012952	368	41 192.89	8.69	39.07	83.53	-0.487

表 2 拟南芥与甘菊 DEL1 的二级结构分析

Table 2 Secondary structure analysis of DEL1 in *Arabidopsis thaliana* and *Chrysanthemum lavandulifolium*

蛋白质 Protein	相对含量 Relative content			
	$\alpha$ -螺旋 $\alpha$ -Helix	延伸链 Extended strand	$\beta$ -转角 $\beta$ -Turn	无规则卷曲 Random coil
AtDEL1	42.66%	5.16%	0.00%	52.17%
CIDE1	43.92%	4.71%	0.00%	51.36%

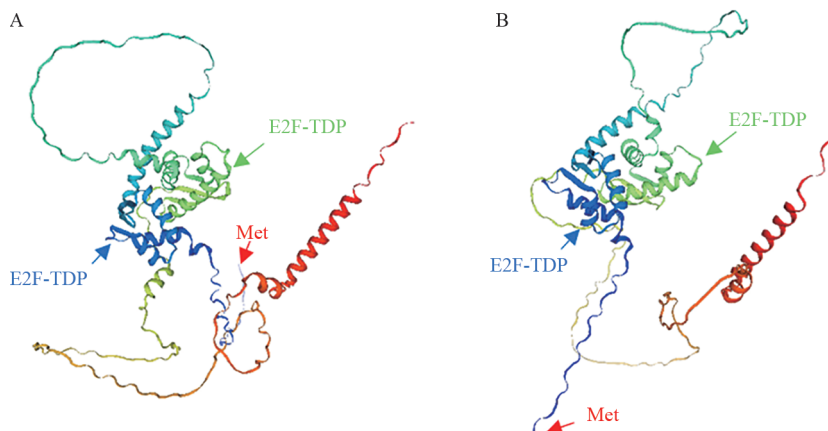


图 1 甘菊 DEL1(A)与拟南芥 DEL1(B)的蛋白质三维结构预测

Fig. 1 Predicted three-dimensional protein structures of DEL1 in *Chrysanthemum lavandulifolium* (A) and *Arabidopsis thaliana* (B)

2.1.2 *CIDEL1* 氨基酸序列分析 通过 DEL1 蛋白家族的系统发育分析,采用邻接法构建进化树,选取选取青蒿 (*Artemisia annua*)、向日葵 (*Helianthus annuus*)、除虫菊 (*Tanacetum cinerariifolium*)、洋蓟 (*Cynara cardunculus*)、烟草 (*Nicotiana tabacum*)、胡萝卜 (*Daucus carota*)、生菜 (*Lactuca sativa*) 及猕猴桃 (*Actinidia chinensis*) 等代表性物种 DEL1 同源序列进行比对。拓扑结构显示 *CIDEL1* 与青蒿的同源关系最为接近, *CIDEL1* 与青蒿等菊科植物序列一致性较高,表明

该蛋白在菊科植物中具有显著功能保守型(图2)。进一步在 NCBI 上对 *CIDEL1* 的同源序列进行 BLAST 搜索,选择不同物种的 DEL1 蛋白序列进行分析,揭示所有 DEL1 蛋白均完整保留 E2F-TDP 超家族结构域,该结构域包含典型的  $\alpha$ -螺旋- $\beta$ -折叠重复单元,具有结合靶基因启动子区 TSS 核心元件(TTTSSCGCC)及调控细胞周期进程的分子功能(图3)。结合系统发育分析及蛋白结构比对分析表明, *CIDEL1* 在进化过程中高度保守,其功能可能涉及系统发育调控的保守通路。

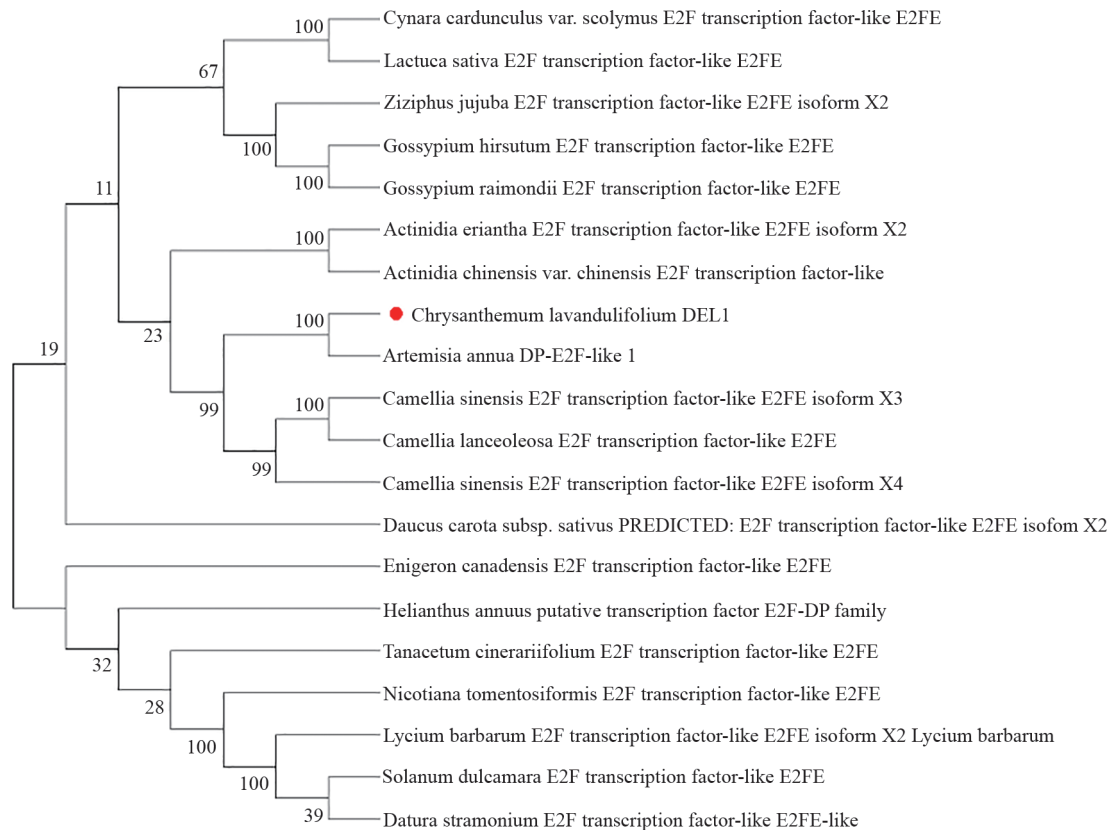


图2 甘菊 DEL1 蛋白的系统发育分析

Fig. 2 Phylogenetic analysis of DEL1 protein in *Chrysanthemum lavandulifolium*

## 2.2 *CIDEL1* 基因的表达模式分析

2.2.1 亚细胞定位 为明确 *CIDEL1* 蛋白的亚细胞定位特征,本研究构建了 35S 启动子驱动的 *pGWB402 $\Omega$ -GFP-CIDEL1* 的融合表达载体,并转入 *GV3101* 农杆菌感受态细胞。以空载 35S::GFP 为阴性对照注射烟草叶片。激光共聚焦显微镜检测显示:注射空载 35S::GFP 阴性对照菌液的烟草表皮细胞中,GFP 信号广泛分布于细胞整体,经 DAPI 染色显示细胞核内有显著的荧光信号;而注射 35S::*CIDEL1*:GFP 菌液的烟草表

皮中,GFP 荧光信号显著富集于 DAPI 标记的细胞核,表明 *CIDEL1*-GFP 融合蛋白特异性定位于细胞核(图4)。上述结果表明,甘菊 *CIDEL1* 蛋白作为核定位转录因子,可能通过调控核内靶基因表达参与植物发育进程。

2.2.2 组织特异性表达 为进一步探索 *CIDEL1* 在甘菊组织中的表达模式,采用 RT-qPCR 分析了甘菊的根、茎、叶、舌状花及管状花的 *CIDEL1* 表达情况,发现 *CIDEL1* 在甘菊组织中均有表达,但相对表达量差异明显(图5)。以根的表达水平为参照标

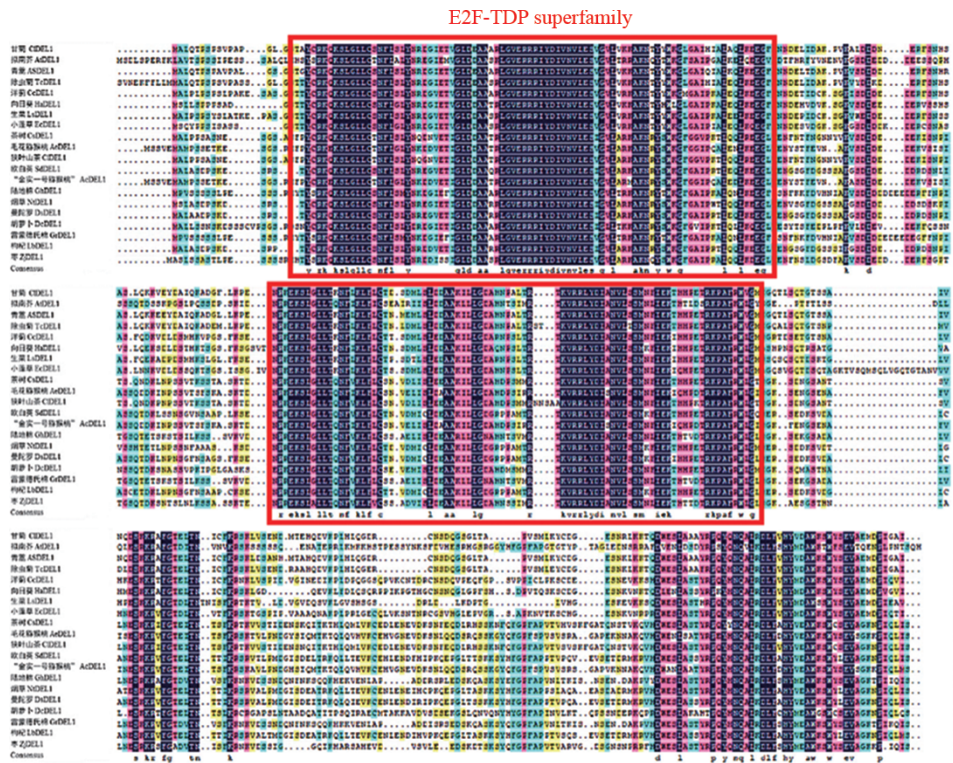


图 3 甘菊 DEL1 蛋白的保守结构域分析

Fig. 3 Conserved domain analysis of DEL1 protein in *Chrysanthemum lavandulifolium*

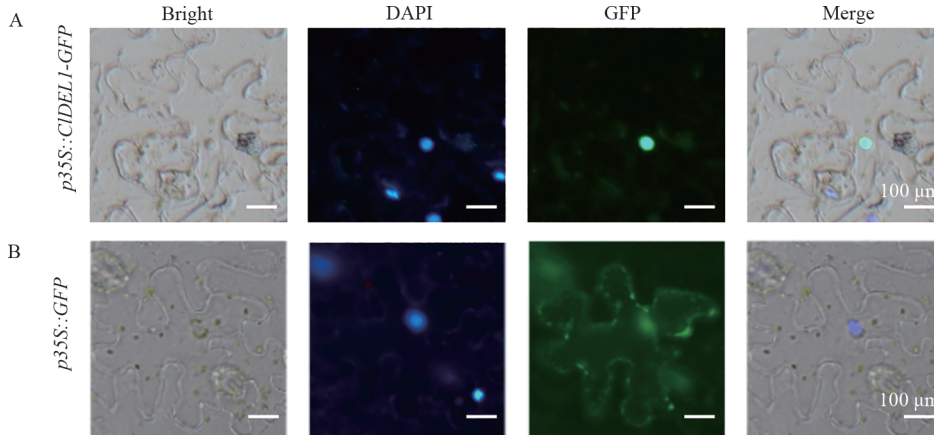


图 4 甘菊 CIDEL1 蛋白的烟草表皮亚细胞定位

Fig. 4 Subcellular localization of CIDEL1 protein in tobacco epidermis

注: CIDEL1-GFP 蛋白的亚细胞定位(A); GFP 空载体对照(B)。

Note: Subcellular localization of CIDEL1-GFP protein (A); GFP empty vector control (B).

准,其中 *CIDEL1* 在舌状花中的表达量最高,相对表达量达到 15.39,其次是管状花、茎和叶。这种表达模式可能暗示了 *CIDEL1* 在甘菊舌状花的发育过程中扮演着重要角色,与其潜在的功能相关联。

### 2.3 拟南芥异源表达 *CIDEL1* 株系的获得及莲座叶表型分析

为探究 *CIDEL1* 在植株发育中的生物学功

能,通过农杆菌介导的浸花法在拟南芥中异源表达 *CIDEL1*,选取过表达拟南芥株系 OE-1、OE-3 和 OE-5,半定量结果表明拟南芥中 *CIDEL1* 异源表达阳性载体成功转入(图 6A)。通过统计转基因株系莲座叶第六片真叶的叶片形态和叶片面积(图 6B,C),确定过表达甘菊 *DEL1* 基因不会影响拟南芥莲座叶的形态,这与 *AtDEL1* 在拟南芥中的研究结果一致<sup>[27]</sup>。

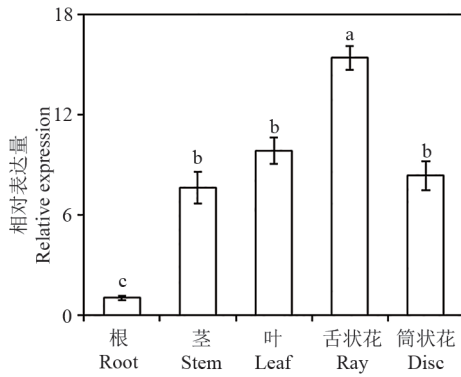


图 5 甘菊 *CIDE1* 基因在不同组织中的相对表达量  
**Fig. 5 Relative expression levels of *CIDE1* gene in *Chrysanthemum lavandulifolium* different tissues**

注:不同字母表示在不同组织中基因表达差异显著(邓肯检验,  $P < 0.05$ )。

Note: Different letters indicate significant differences of genes expression in different tissues (Duncan test,  $P < 0.05$ ).

## 2.4 拟南芥异源表达 *CIDE1* 株系花瓣形态表型分析

为进一步探究 *CIDE1* 对拟南芥花瓣生长发育的调控作用,本研究对野生型(WT)和异源表达 *CIDE1* 株系(OE-1、OE-3、OE-5)拟南芥的花部形态及花瓣细胞表型进行了系统分析(图 7A)。首先,利用流式细胞术检测了花瓣的细胞核倍性,可观测到 2C, 4C, 8C, 16C 及 32C 的多倍体特征谱峰,并计算 2C, 4C, 8C, 16C 及 32C 的相对含量(图 7B),其中 C 代表单倍体基因组 DNA 含量。观察到三个转基因株系中 4C 细胞核的相对含量较 WT 下降明显,16C 和 32C 的相对含量则表现出一定的上升,说明转基因株系花瓣中出现了较为活跃的核内周期;经计算,发现转基因

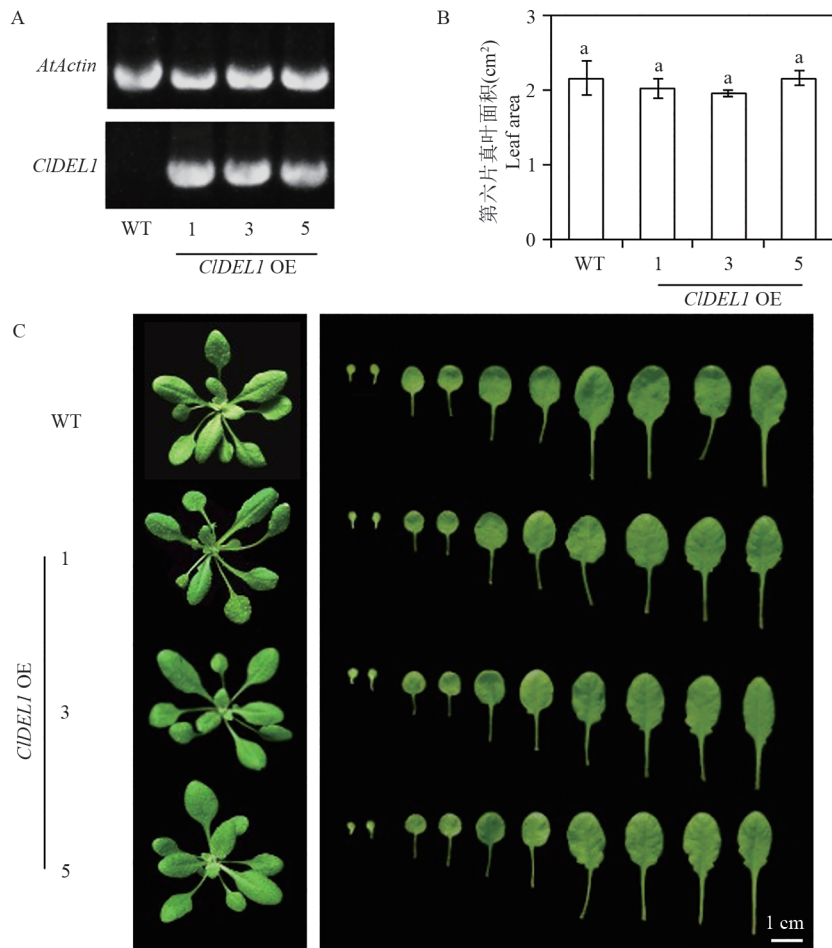


图 6 异源表达 *CIDE1* 对拟南芥叶片的影响

**Fig. 6 Heterologous expression of *CIDE1* on leaves of *Arabidopsis thaliana***

注:野生型和异源表达 RT-PCR 分析(A)、第六片真叶叶面积(B)和 *CIDE1* 的拟南芥表型(C)。不同字母表示在统计学差异显著(邓肯检验,  $P < 0.05$ )。

Note: RT-PCR analysis (A), the sixth true leaf area (B), and the phenotypes (C) of wild type (WT) and three *CIDE1* overexpression (OE) lines of *Arabidopsis*. Different letters indicate statistically significant (Duncan test,  $P < 0.05$ ).

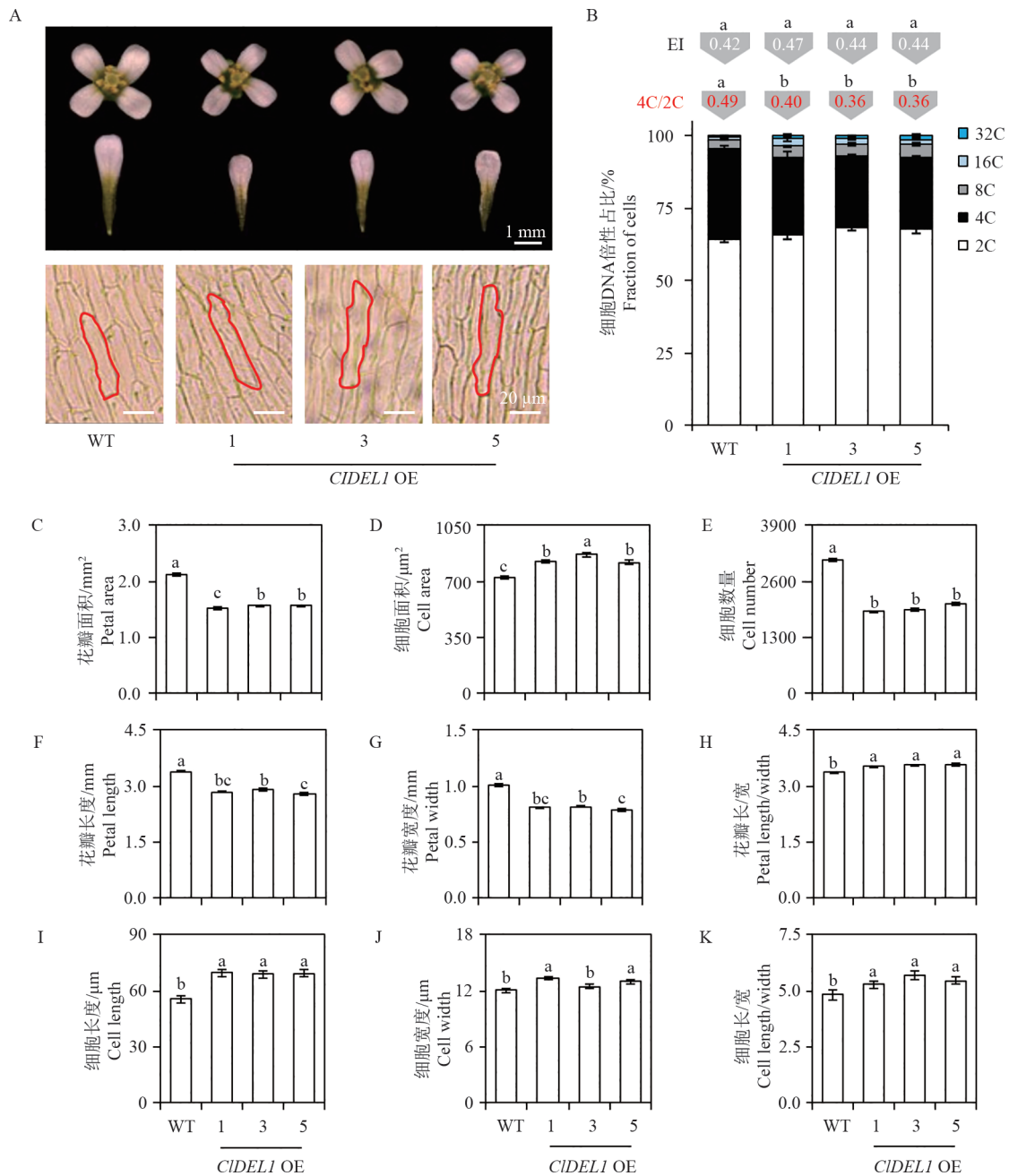


图 7 异源表达 *CIDEL1* 对拟南芥花瓣生长的影响

Fig. 7 Heterologous expression of *CIDEL1* on petal growth in *Arabidopsis thaliana*

注:野生型和异源表达 *CIDEL1* 拟南芥花和花瓣细胞的表型(A)、花瓣的细胞核倍性数据以及 4C/2C 和 EI 值(B)和花瓣的表型数据和细胞学数据(C-K)。不同字母表示在统计学差异显著(邓肯检验,  $P < 0.05$ )。

Note: Images of flowers and petal cells (A), Nuclear DNA ploidy distribution as well as 4C/2C and EI values in petals (B), and phenotypic and cytological data of petal (C-K) of WT and three *CIDEL1* OE lines in *Arabidopsis*. Different letters indicate statistically significant (Duncan test,  $P < 0.05$ ).

株系花瓣的 EI 值(核内周期活跃程度的表征)均有不同程度的上升,但统计学上并无显著差异。进一步计算 4C/2C 的比值(有丝分裂活性的表征)后发现三个转基因株系的 4C/2C 的值显著低于 WT,这意味着过表达 *CIDEL1* 抑制了拟南芥

花瓣的有丝分裂活性。

基于表型组学分析,对 WT 及三个独立 *CIDEL1* 过表达株系的花瓣形态参数进行量化比较。ImageJ 软件测量显示:与 WT 相比,三个 *CIDEL1* 过表达株系花瓣面积分别减少 28.42%、

26.09%和26.09%,且差异具有统计学显著性(图7C)。然而通过脱色法(无水乙醇:冰乙酸=1:1)对花瓣细胞进行形态学计量分析( $n=300$ 个细胞/株系),我们发现 *CIDE1* 过表达株系花瓣细胞的面积显著大于WT,且三个株系分别增加了14.74%,20.47%和13.49%(图7D)。进一步分析表明, *CIDE1* 过表达株系花瓣的细胞数目显著降低,与WT相比,分别减少了38.6%,37.5%,33.2%(图7E)。这些结果表明, *CIDE1* 对细胞分裂的抑制作用更加显著。由于过表达株系花瓣细胞的数目降低过多,与WT相比,即使单个花瓣细胞面积增大,花瓣的总面积依然变小。

另外,花瓣的长度和宽度一定程度上会影响花瓣的形态。与WT相比, *CIDE1* 过表达拟南芥花瓣的长度和宽度显著变小;而由于宽度的减小更为显著,导致过表达株系花瓣的长宽比分别增加了9.47%,18.17%,13.11%。而在细胞层面上, *CIDE1* 异源表达株系花瓣细胞的长、宽和长宽比都显著高于WT(图7F-K)。这说明, *CIDE1* 会促进细胞横向和纵向的扩张,这与转基因株系中上升的EI值数据相吻合。结合上述细胞数目的数据表明, *CIDE1* 对细胞扩张的促进作用并不能抵消其对细胞分裂的显著抑制,因此花瓣面积的减小是通过抑制细胞分裂,大幅减少细胞数量来实现的。

## 2.5 拟南芥 *AtDEL1* 突变体及其回补株系花瓣表型分析

为了深入探究 *CIDE1* 对拟南芥花瓣生长发育的调控作用,本研究通过CRISPR-Cas9基因编辑技术成功创制了拟南芥 *dell* 敲除突变体。经表达盒验证及敲除靶点分析,我们获得了3个不同敲除突变类型的株系, *del-4*, *del-9* 和 *dell19* 分别缺失了441,245和552个碱基(图8A)。随后,以 *dell* 突变体为母本, *CIDE1* 异源过表达株系为父本进行杂交,对杂交 $F_2$ 代同时进行 *CIDE1* 过表达载体验证和 *AtDEL1* 敲除靶点验证,获得3个基因回补株系。首先利用流式细胞术对突变体株系和回补株系拟南芥的花瓣进行了细胞核倍性的检测,结果显示三个 *dell* 突变体花瓣中4C细胞核的相对含量较WT降低,8C和16C的相对含量表现出一定程度的上升;回补株系花瓣中4C细胞核的相对含量较WT显著降低,而8C

和16C的相对含量则与WT相近。发现 *dell* 突变体花瓣的EI值均显著上升,但回补株系的EI值显著下降(图8C)。进一步分析发现,突变体和回补材料中4C/2C的值均显著低于WT。结果表明,突变体 *Atdell* 会导致花瓣细胞进入核内周期,而回补甘菊 *CIDE1* 基因可以恢复拟南芥自身 *dell* 缺失对核内周期的影响。

进一步对不同基因型拟南芥的花瓣进行表型组分析,对WT及三个 *dell* 突变体和三个回补株系的花瓣形态参数进行量化比较。结果显示:与WT相比,三个 *dell* 突变体的花瓣面积分别减少29.58%、28.34%和31.05%;而回补株系的花瓣面积与WT没有显著性差异(图8D)。然后通过脱色法对花瓣细胞进行量化分析( $n=300$ 个细胞/株系),发现 *dell* 突变体花瓣细胞的面积显著小于WT,三个株系分别减少了17.17%,13.24%和14.95%;而三个回补株系花瓣面积较WT略有上升,分别增加了9.87%、0.15%和11.87%,但无显著性差异(图8E)。进一步分析表明,三个 *dell* 突变体的花瓣细胞数显著减少,与WT相比,分别减少了14.75%,15.45%和14.81%;而三个回补株系花瓣的细胞数目较少幅度较小,仅减少6.91%-9.58%(图8F),回补株系的花瓣细胞数目有所恢复。这些结果表明,拟南芥 *dell* 突变体通过抑制细胞分裂和细胞扩张来限制花瓣的发育,而甘菊 *CIDE1* 基因回补材料可以弥补拟南芥自身 *dell* 突变对花瓣发育产生的不利影响。

另外,为进一步探究不同基因型拟南芥花瓣形态的变化,检测了 *dell* 突变体与回补株系花瓣的长度和宽度。结果发现,与WT相比,拟南芥 *dell* 突变体的花瓣长度和宽度显著减小,而回补株系对花瓣长度与宽度均有不同程度的恢复,这使WT与转基因株系花瓣形态无显著差别(图8G-I)。在细胞层面上, *dell* 突变体花瓣细胞的长、宽和长宽比都显著低于WT,且细胞长度减小更为显著,较WT分别减小36.80%,41.05%,45.00%;回补株系花瓣细胞长度和宽度也都有不同程度的恢复,其中长度恢复到WT的83.56%-86.60%(图8J-L)。这说明, *AtDEL1* 的缺失不利于细胞横向和纵向的扩张,而这种不利影响会通过 *CIDE1* 的表达恢复。以上数据表明,在拟南芥中,甘菊 *CIDE1* 可以恢复 *AtDEL1* 突变所造成的表型缺陷,证明了 *CIDE1* 和 *AtDEL1* 为具有

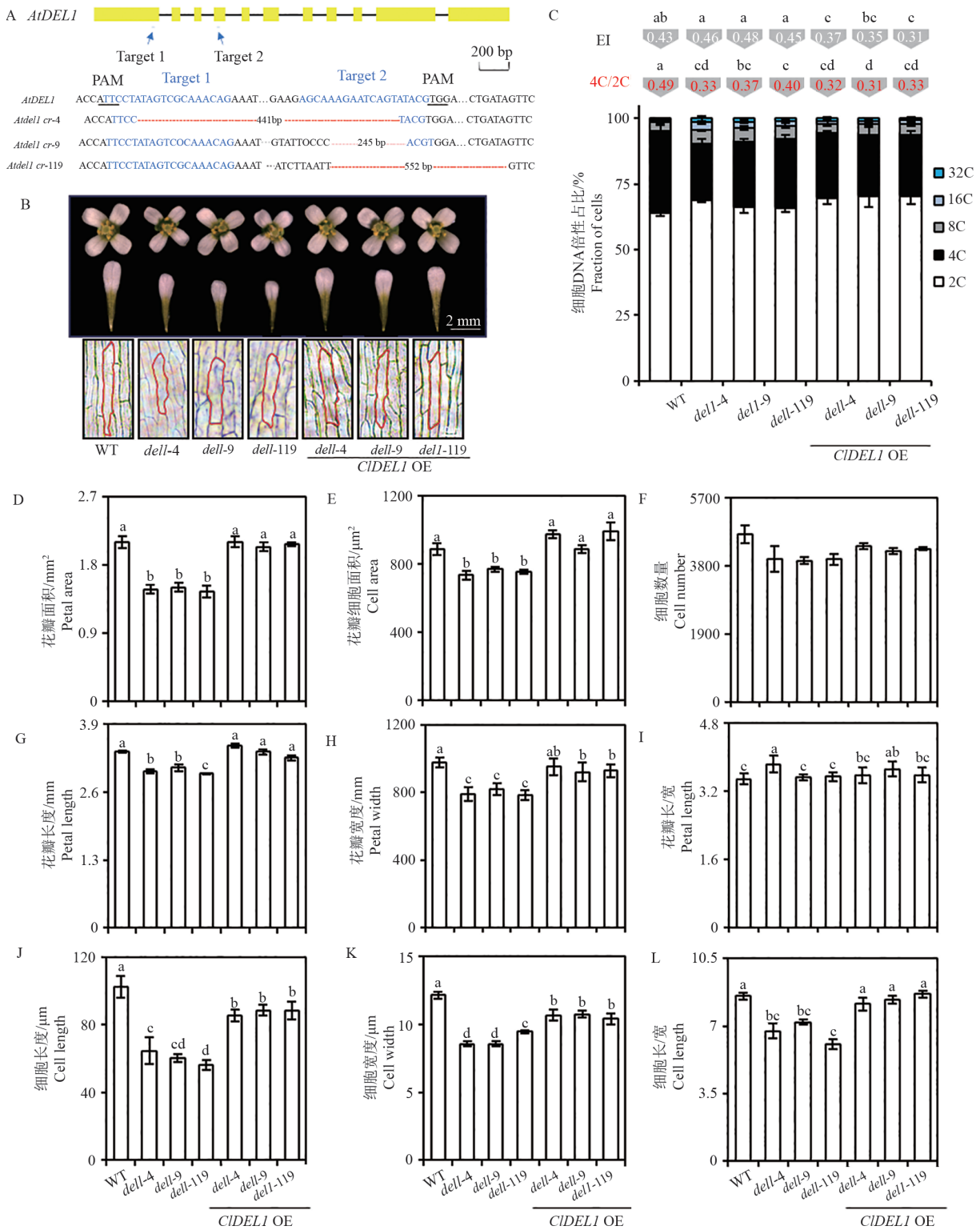


图 8 拟南芥 *del1* 突变与回补的花瓣表型

Fig. 8 Petal phenotypes of *Arabidopsis thaliana del1* mutant and complementation lines

注:AtDEL1 基因结构与突变体敲除靶点位置(A)、拟南芥 *del1* 突变及回补株系花和花瓣细胞的表型(B)、花瓣的细胞核倍性数据以及 4C/2C 和 EI 值(C)、和花瓣的表型数据和细胞学数据(D-L)。不同字母表示在统计学差异显著(邓肯检验,  $P < 0.05$ )。

Note: Gene structure of AtDEL1 and the knockout target site (A), phenotypes of flowers and petal cells in *Arabidopsis del1* mutants and complemented lines (B), ploidy data of petal nuclei and 4C/2C and EI values (C), and phenotypic and cytological data of petals (D-L). Different letters indicate statistically significant (Duncan test,  $P < 0.05$ ).

相似功能的同源基因。

### 3 讨论

中国栽培菊花品类繁多,花型丰富。作为最重要观赏植物重要的经济性状之一,菊花花型的调控已成为育种工作的关键目标。对花瓣形态建立科学系统的形态分类,为菊花品种鉴定分类提供合理依据,也为花瓣形态的深入研究奠定基础<sup>[28]</sup>。通过对不同花形态、不同花发育时期进行形态观察,并结合快速发展的全基因组测序技术及转录组测序技术,以探究菊花花发育调控网络,发现 *TCP* 基因家族中 *CYC2-like*,在花发育中尤其是在花对称性方面发挥了重要作用;*MADS-box* 基因家族成员、*NAC* 家族转录因子在花器官原基起始及花器官身份决定等方面发挥了重要作用;众多植物激素参与且多种激素协同调控菊花花发育过程<sup>[6-9]</sup>。以甘菊作为模式植物研究菊花观赏性状形成的分子机理,对解析菊花相关性状的调控机制具有重要参考价值,但菊花外源基因的稳定表达较为困难。因此,本研究选择在模式植物拟南芥中过表达甘菊同源基因 *CIDEL1*,同时敲除拟南芥自身 *AtDEL1* 以及创制回补材料,研究 *CIDEL1* 基因通过调控细胞分裂和增大对花瓣形态的影响,为菊花及其他菊属植物的观赏性状研究提供了重要的理论依据。对菊花花瓣发育分子调控机制的研究,为指导和实现人工调控菊花花型及菊花花型定向育种等提供坚实的分子生物学理论基础,具有重要的现实意义,能够推动菊花育种效率和观赏价值的提升。

花器官发生和发育依赖细胞分裂和细胞扩张,而细胞周期是细胞分裂和分化的基础。细胞周期蛋白 *CYC* (*Cyclin*) 与细胞周期蛋白依赖性激酶 *CDK* (*Cyclin dependent kinase*) 在细胞周期调控中发挥核心作用<sup>[29]</sup>。前人研究发现, *CICYCA2;1* 在舌状花中的表达与花瓣宽度负相关, *CmCDKL9* 超量表达会促进开花,说明细胞周期调控因子可以调控菊花的开花时间和花瓣形态<sup>[30,31]</sup>。基因的表达受转录因子调控,在之前的研究中,拟南芥典型 E2F 转录因子中的 *E2Fa*、*E2Fb* 是转录激活因子,而 *E2Fc* 是转录抑制因子,而非典型 E2Fs 可以通过调控细胞分裂和细胞扩张来影响植物生长<sup>[32]</sup>。与拟南芥典型 E2F 转录因子(如 *E2Fa* 和 *E2Fc*)不同, *CIDEL1* 作为

一个非典型 E2F 转录因子,其功能可能更为复杂。*DEL1* 通过调节 *CCS52A2* 的表达控制内复制的起始,从而影响细胞的增殖与扩增,进而影响植物整体生长<sup>[18]</sup>。而 *E2Fb* 和 *E2Fc* 受光调节通过竞争同一个 DNA 结合位点而拮抗控制 *DEL1* 的转录水平<sup>[33]</sup>。之前的研究表明, *AtDEL1* 功能缺失会导致细胞数量减少和核内周期增加,最终使莲座叶和子叶都略小于 WT,本研究的结果进一步印证了这一结论<sup>[19,34]</sup>。在拟南芥中, *CIDEL1* 的异源表达及 *AtDEL1* 的敲除都对花瓣形态建成产生影响,说明 *CIDEL1* 积极参与花瓣形态建成。本研究发现, *CIDEL1* 异源过表达至拟南芥并不影响莲座叶的发育,但抑制了花瓣的有丝分裂活性,表现为过表达株系花瓣细胞数目的显著下降。另外,虽然并未显著影响花瓣的核内周期指数,但与野生型相比,过表达株系花瓣中出现了更多的多倍化细胞(16C 和 32C)。同时,与报道结果一致的是 *dell* 突变体株系花瓣的核内周期指数均上升,而且回补株系的核内周期指数显著下降,细胞学数据证明过表达株系的花瓣细胞面积显著增大,与 *dell* 突变体的表型相反,并且 *CIDEL1* 可以恢复 *dell* 突变对花瓣细胞的影响。这些结果表明了, *CIDEL1* 和 *AtDEL1* 为同源基因,二者在促进细胞扩张和抑制核内周期等细胞学进程中发挥相似的生物学功能。核内周期是一种变异的有丝分裂周期,只有 G 和 S 两个时期,没有分裂期,不发生明显的 DNA 浓缩和解凝,也没有染色体数目的改变<sup>[35]</sup>,从而引发细胞核内 DNA 含量(细胞核倍性)呈指数级增长。根据“karyoplasmic ratio theory”(核质比理论),细胞核倍性与细胞的体积存在着一定的因果关系<sup>[36]</sup>,倍性越高,细胞越大。因此,表型和细胞学的数据表明 *CIDEL1* 可通过调控细胞分裂和扩张影响花瓣形态的形成,这种功能多样性可能与菊科植物复杂的花型进化密切相关。

花瓣的形成是植物形态发生中的一个复杂过程,涉及细胞分裂、细胞扩展以及细胞极性的动态变化。在花瓣发育过程中,细胞首先通过分裂增加数量,随后通过扩展来塑造花瓣的最终形状与大小。花瓣的形态是由内外多个基因网络协同作用来决定的,尤其是通过极性轴(如近轴-背轴、内侧-外侧、近端-远端)的建立,确定花瓣的宽度、长度和形状<sup>[37]</sup>。在拟南芥中,近轴-远轴

极性通过近轴和远轴基因的拮抗作用来指定,同时也影响了内侧-外侧和近端-远端极性的建立<sup>[38]</sup>。例如,花瓣的横向生长受 *WOX* 转录因子基因 *WUSCHEL* 相关同源框 1 (*WOX1*) 和 *PRESSED FLOWER* (*PRS*) 控制, *WOX1* 和 *PRS* 的突变体表现出极窄的花瓣。此外, *C2H2* 锌指转录因子基因 *JAGGED* (*JAG*) 通过形成发散极性场来促进花瓣生长,这一极性场与生长素在花瓣远端边缘的连续分布相关<sup>[39,40]</sup>。*JAG* 基因的失活导致花瓣远端部分减少,且花瓣边缘呈现锯齿状<sup>[40,41]</sup>。*DELI* 基因在本研究中被发现也在花瓣形态发生中起着关键作用。我们观察到, *DELI* 基因通过调节细胞延伸,调控植物生长,尤其是对花瓣的长宽比和形态的最终形成具有显著影响。与 *WOX1*、*PRS* 和 *JAG* 等基因不同, *DELI* 基因的作用可能通过直接调控细胞的延伸,进一步推动了花瓣形态的塑造。这一发现不仅为我们深入理解菊花花瓣形态发生的分子机制提供了新的视角,还可能为菊花品种的定向育种和花型改良提供理论依据。

#### 4 结论

本研究成功克隆了甘菊的细胞周期转录因子基因 *CIDELI*, 并探讨了该基因的生物学特性及其在花瓣形态发生中的作用。通过在模式植物拟南芥中的功能分析,发现 *CIDELI* 通过调控细胞分裂和扩张,显著抑制花瓣的生长发育,进而在一定程度上改变了花瓣的形态。这一发现为我们理解 *DELI* 基因在菊属植物花发育中的多样性功能提供了新的视角,并丰富了细胞周期相关基因在形态发生中的理论基础。未来的研究可进一步探索 *CIDELI* 与激素信号通路及其他转录因子之间的相互作用机制,为菊花等观赏植物的花型改良及定向育种提供精准的分子基础,并推动花卉育种技术的发展。

#### 参考文献

- [1] 张树林. 菊花品种分类的研究[J]. 园艺学报, 1965, 4(01):36-48.
- [2] Xuebin Song, Kang Gao, Guangxun Fan, et al. Quantitative classification of the morphological traits of ray florets in large-flowered chrysanthemum[J]. Horticulture Research, 2018, 53(9): 1258-1265.
- [3] Coen E S, Meyerowitz E M. The war of the whorls: genetic interactions controlling flower development [J]. Nature, 1991, 353(6339): 31-37.
- [4] Kramer E M, Irish V F. Evolution of genetic mechanisms controlling petal development[J]. Nature, 1999, 399(6732): 144-148.
- [5] Roosa A E Laitinen, Suvi Broholm, Victor A Albert, et al. Patterns of MADS-box gene expression mark flower-type development in *Gerbera hybrida* (Asteraceae)[J]. BMC Plant Biol, 2006, 9: 6-11.
- [6] Ding Lian, Song Aiping, Zhang Xue, et al. The core regulatory networks and hub genes regulating flower development in *Chrysanthemum morifolium*[J]. Plant Molecular Biology, 2020, 103(6): 669-688.
- [7] Jiawei Fan, Jialu Huang, Ya Pu, et al. Transcriptomic analysis reveals the formation mechanism of anemone-type flower in chrysanthemum[J]. BMC Genomics, 2022, 23(1): 846.
- [8] Ya Pu, He Huang, Xiaohui Wen, et al. Comprehensive transcriptomic analysis provides new insights into the mechanism of ray floret morphogenesis in chrysanthemum[J]. BMC Genomics, 2020, 21: 728.
- [9] Xiaohui Wen, Junzhuo Li, Lili Wang, et al. The *Chrysanthemum lavandulifolium* genome and the molecular mechanism underlying diverse capitulum types[J]. Horticulture Research, 2022, 9: 22.
- [10] 吕有军, 刘彦珍, 朱守鸿, 等. 植物细胞周期调控机制研究进展[J]. 分子植物育种, 2021, 19(24): 8160-8169.
- [11] Sander van den Heuvel, Nicholas Dyson. Conserved functions of the pRB and E2F families[J]. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2008, 9(9): 713-724.
- [12] P Lavia, P Jansen-Dürr. E2F target genes and cell-cycle checkpoint control[J]. BiolEssays, 1999, 21(3): 221-230.
- [13] Lieven De Veylder, John C Larkin, Arp Schnittger. Molecular control and function of endoreplication in development and physiology[J]. Trends in Plant Science, 2011, 16(11): 624-634.
- [14] Shunichi Kosugi, Yuko Ohashi. E2Fs, E2F-like repressors of *Arabidopsis* that bind to E2F sites in a monomeric form[J]. Journal of Biological Chemistry, 2002, 277(19): 16553-16558.
- [15] Luisa Mariconti, Barbara Pellegrini, Rita Cantoni, et al. The E2F family of transcription factors from *Arabidopsis thaliana*. Novel and conserved components of the retinoblastoma/E2F pathway in plants[J]. Journal of Biological Chemistry, 2002, 277(12): 9911-9919.
- [16] Klaas Vandepoele, Jeroen Raes, Lieven De Veylder, et al. Genome-wide analysis of core cell cycle genes in *Arabidopsis* [J]. The Plant Cell, 2002, 14(4):

- 903-916.
- [17] Tim Lammens, Jing Li, Gustavo Leone, et al. Atypical E2Fs: new players in the E2F transcription factor family [J]. *Trends in Cell Biology*, 2009, 14(4): 111-118.
- [18] Tim Lammens, Véronique Boudolf, Leila Kheibarshekan, et al. Atypical E2F activity restrains APC/CCCS52A2 function obligatory for endocycle onset[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008, 105(38): 14721-14726.
- [19] Kobe Vlieghe, Véronique Boudolf, Gerrit T S Beemster, et al. The DP-E2F-like gene DEL1 controls the endocycle in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Current Biology*, 2005, 15(1): 59-63.
- [20] Amandine Radziejwoski, Kobe Vlieghe, Tim Lammens, et al. Atypical E2F activity coordinates PHR1 photolyase gene transcription with endoreduplication onset[J]. *The EMBO Journal*, 2011, 30(2): 355-363.
- [21] 宋建. 水稻细胞周期关键调节基因的全基因组分析及 *Oryza*;DEL1 功能的初步鉴定[D]. 泰安:山东农业大学,2008.
- [22] Víctor A. Sánchez-Camargo, Cassandra Suárez-Espinoza, Samantha Romero-Rodríguez, et al. Maize E2F transcription factors. Expression, association to promoters of S-phase genes and interaction with the RBR1 protein in chromatin during seed germination [J]. *Plant Science*, 2020, 296: 110491.
- [23] Xuebin Song, Yuhui Xu, Kang Gao, et al. High-density genetic map construction and identification of loci controlling flower-type traits in *Chrysanthemum* (*Chrysanthemum × morifolium* Ramat.) [J]. *Horticulture Research*, 2020, 7(1): 108.
- [24] 元帅. 甘菊和菊花头状花序花发育相关基因表达模式[D]. 北京:北京林业大学,2017.
- [25] Clough SJ, Bent AF. Floral dip: a simplified method for *Agrobacterium*-mediated transformation of *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Molecular Biology*, 1998, 16(6): 735-743.
- [26] Jillian D Bainard, Luke D Bainard, Thomas A Henry, et al. A multivariate analysis of variation in genome size and endoreduplication in angiosperms reveals strong phylogenetic signal and association with phenotypic traits[J]. *New Phytologist*, 2012, 196(4): 1240-1250.
- [27] Xuebin Song, Kang Gao, Guangxun Fan, et al. Quantitative classification of the morphological traits of ray florets in large-flowered chrysanthemum[J]. *HortScience*, 2018, 53(9): 1258-1265.
- [28] Divya Chandran, Joshua Rickert, Yingxiang Huang, et al. Atypical E2F transcriptional repressor DEL1 acts at the intersection of plant growth and immunity by controlling the hormone salicylic acid[J]. *Cell Host and Microbe*, 2014, 15: 506-513.
- [29] Peter K Jackson. The hunt for cyclin[J]. *Cell*, 2008, 134(2):199-202.
- [30] Peng Zhang, Yahui Wang, Zhimin Wang, et al. *Chrysanthemum lavandulifolium* homolog CYCLIN A2;1 modulates cell division in ray florets[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2024, 75(20):6423-6440.
- [31] 司超娜. 菊花 CmCDKL9 调控开花的分子机理研究[D]. 南京:南京农业大学,2021.
- [32] Rosangela Sozzani, Caterina Maggio, Roberta Giordo, et al. The E2FD/DEL2 factor is a component of a regulatory network controlling cell proliferation and development in *Arabidopsis* [J]. *Plant Molecular Biology*, 2010, 72(4-5): 381-395.
- [33] Berckmans B, Lammens T, Van Den Daele H, et al. Light-dependent regulation of DEL1 is determined by the antagonistic action of E2Fb and E2Fc[J]. *Plant Physiology*, 2011, 157: 1440-1451.
- [34] Heyman J, Polyn S, Eekhout T, et al. Tissue-specific control of the endocycle by the anaphase promoting complex/cyclosome inhibitors UVI4 and DEL1[J]. *Plant Physiology*, 2017, 175(1): 303-313.
- [35] J Joubès, C Chevalier. Endoreduplication in higher plants[J]. *Plant Molecular Biology*, 2000, 43: 735-745.
- [36] Keiko Sugimoto-Shirasu, Keith Roberts. "Big it up": endoreduplication and cell-size control in plants[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2003, 6: 544-553.
- [37] Tengbo Huang, Vivian F Irish. Gene networks controlling petal organogenesis[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2016, 67: 61-68.
- [38] Jojn L Bowman, Yuval Eshed, Stuart F Baum. Establishment of polarity in angiosperm lateral organs[J]. *Trends in Genetics*, 2002, 18: 134-141.
- [39] Michiel Vandenbussche, Anneke Horstman, Jan Zethof, et al. Differential recruitment of WOX transcription factors for lateral development and organ fusion in *Petunia* and *Arabidopsis*[J]. *The Plant Cell*, 2009, 21: 2269-2283.
- [40] Bowman JL, Eshed Y, Baum SF. Establishment of polarity in angio sperm lateral organs[J]. *Trends in Genetics*, 2002, 18: 134-141.
- [41] Sauret-Gueto S, Schiessl K, Bangham A, et al. JAGGED controls *Arabidopsis* petal growth and shape by interacting with a divergent polarity field [J]. *PLoS Biology*, 2013, 11.